



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201713332 A

(43)公開日：中華民國 106 (2017) 年 04 月 16 日

(21)申請案號：105122337

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 07 月 14 日

(51)Int. Cl.：

A61K31/4245 (2006.01)

A61K31/498 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61K45/06 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2015/07/14

美國

62/192,173

(71)申請人：協和醱酵麒麟有限公司 (日本) KYOWA HAKKO KIRIN CO., LTD. (JP)

日本

(72)發明人：德永昌浩 TOKUNAGA, AKIHIRO (JP)；石井俊彦 ISHII, TOSHIHIKO (JP)；三
元弥 MIE, MOTOYA (JP)；安藤宗稔 ANDO, MUNETOSHI (JP)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：210 項 圖式數：18 共 201 頁

(54)名稱

包含與抗體組合投予之 IDO 抑制物之腫瘤治療劑

A THERAPEUTIC AGENT FOR A TUMOR COMPRISING AN IDO INHIBITOR ADMINISTERED IN
COMBINATION WITH AN ANTIBODY

(57)摘要

本發明提供一種治療腫瘤之方法，其包含向有需要之人類投予有效量之特異性結合於人類 CC
趨化因子受體 4、人類表皮生長因子受體 2、人類 CD20 或表皮生長因子受體之抗體及吲哚胺 2,3-
雙加氧酶抑制物及其類似物。

The present invention provides a method for treating a tumor comprising administering an effective
amount of an antibody which specifically binds to human CC chemokine receptor 4, human epidermal
growth factor receptor 2, human CD20, or epidermal growth factor receptor, and an indoleamine 2,3-
dioxygenase inhibitor to a human in need thereof, and the like.

指定代表圖：

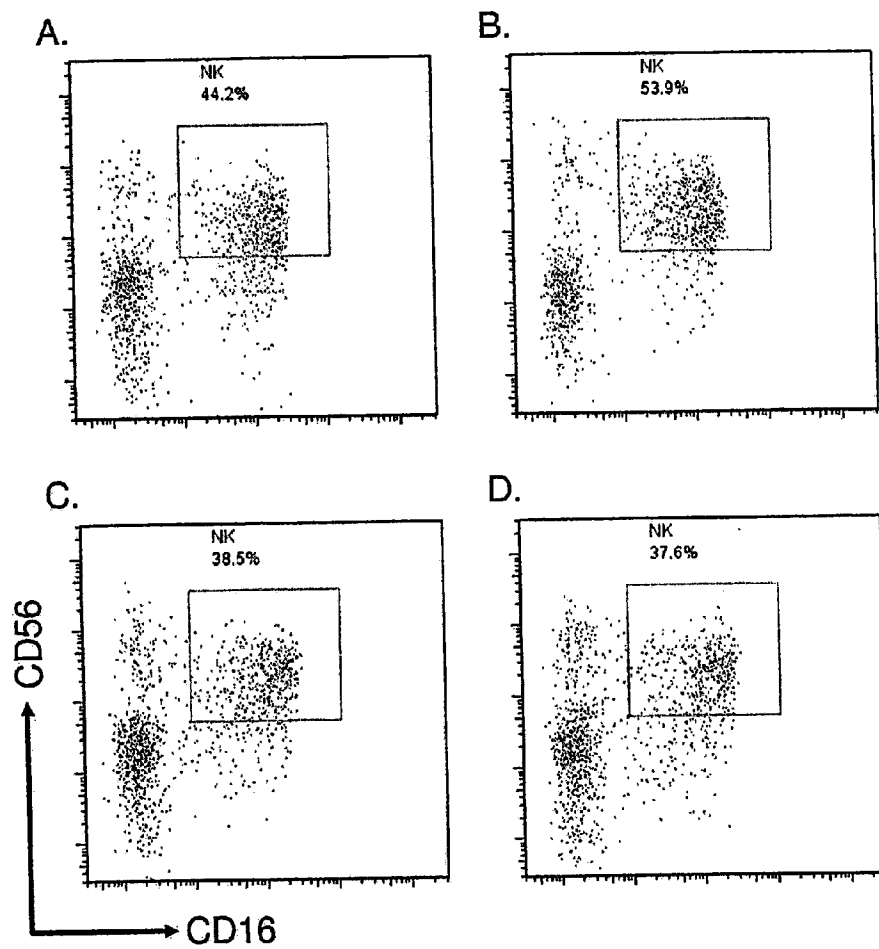
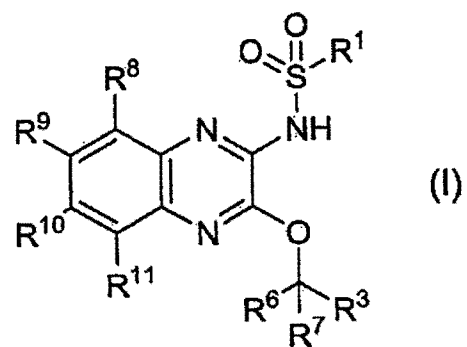


圖2

特徵化學式：



201713332

發明摘要

※ 申請案號： 16512337

※ 申請日： 105.7.14

※IPC 分類：

Ab1K $\frac{31}{45}$ $\frac{31}{498}$ (2006.01)

Ab1K $\frac{39}{95}$ (2006.01)

Ab1K $\frac{45}{66}$ (2006.01)

Ab1P $\frac{35}{60}$ (2006.01)

【發明名稱】

包含與抗體組合投予之IDO抑制物之腫瘤治療劑

A THERAPEUTIC AGENT FOR A TUMOR COMPRISING AN IDO
INHIBITOR ADMINISTERED IN COMBINATION WITH AN
ANTIBODY

【中文】

本發明提供一種治療腫瘤之方法，其包含向有需要之人類投予有效量之特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體及吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制物及其類似物。

【英文】

The present invention provides a method for treating a tumor comprising administering an effective amount of an antibody which specifically binds to human CC chemokine receptor 4, human epidermal growth factor receptor 2, human CD20, or epidermal growth factor receptor, and an indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitor to a human in need thereof, and the like.

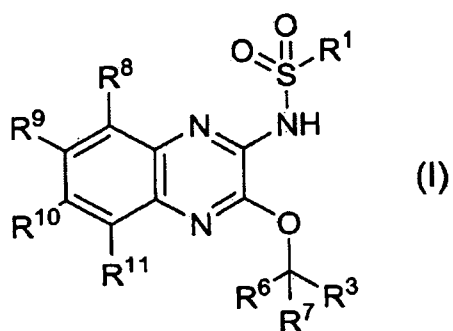
【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（2）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

包含與抗體組合投予之IDO抑制物之腫瘤治療劑

A THERAPEUTIC AGENT FOR A TUMOR COMPRISING AN IDO INHIBITOR ADMINISTERED IN COMBINATION WITH AN ANTIBODY

【技術領域】

本發明係關於一種包含與抗體或其類似物組合投予之IDO抑制物之腫瘤治療劑。

【先前技術】

近來已報導作為色胺酸代謝酶之吡咯胺2,3-雙加氧酶(IDO)抑制T細胞及自然殺手細胞(NK細胞)之增殖且活化調節T細胞，從而引起宿主免疫系統減弱。在腫瘤組織中IDO之表現增加且由癌細胞及樹突狀細胞中之IFN- γ 刺激誘發(例如J. Clin. Invest., 第117卷，第5期，第1147-1154頁(2007))。人體中，90%必需胺基酸為色胺酸，其在犬尿胺酸途徑中代謝成犬尿胺酸並隨後代謝成3OH-犬尿胺酸、喹啉酸及其類似物，犬尿胺酸途徑之開始步驟涉及IDO。

IDO之活化以局部或全身方式降低色胺酸濃度且增加犬尿胺酸濃度，且包括犬尿胺酸之色胺酸代謝物誘發T細胞及NK細胞死亡(例如J. Exp. Med., 第196卷，第4期，第447-457頁(2002))。色胺酸代謝亦誘發CD4+CD25- T細胞轉化成調節T細胞(例如Blood, 第109卷，第7期，第2871-2877頁(2007))。在INF- γ 誘發IDO表現之樹突狀細胞的培養物上清液中，色胺酸濃度降低且犬尿胺酸濃度增加。當T細胞與此類樹突狀細胞共同培養時，相比於與未經刺激之樹突狀細胞共同培養，T

細胞增殖得到抑制(例如J. Exp. Med., 第196卷, 第4期, 第447-457頁(2002))。

綜上所述, 在IDO表現增加之腫瘤環境中, 由色胺酸代謝誘發之犬尿胺酸濃度增加抑制抗腫瘤效應細胞, 此被視為腫瘤中免疫逃逸機制之一(例如J. Clin. Invest., 第117卷, 第5期, 第1147-1154頁(2007))。

已報導結腸直腸癌及前列腺癌之腫瘤組織中IDO表現增加(例如Clin. Cancer Res., 第12卷, 第4期, 第1144-1151頁(2006); 及Eur. J. Cancer, 第44卷, 第15期, 第2266-2275頁(2008))。在急性骨髓性白血病細胞中, IDO恆定地表現(例如Leukemia, 第21卷, 第353-355頁(2007))。亦已報導當子宮內膜癌、黑色素瘤或卵巢癌患者之IDO表現增加時, 患者將具有不良預後(例如Br. J. Cancer, 第95卷, 第11期, 第1555-1561頁(2006); J. Clin. Invest., 第114卷, 第2期, 第280-290頁(2004); 及Clin. Cancer Res., 第11卷, 第16期, 第6030-6039頁(2005))。在成人T細胞白血病淋巴瘤及急性骨髓性白血病中, 血液中犬尿胺酸/色胺酸比率增加(例如Leuk. Res., 第33卷, 第1期, 第39-45頁(2009); 及Leuk. Res., 第33卷, 第3期, 第490-494頁(2009))。亦已報導血液中犬尿胺酸/色胺酸比率增加之黑色素瘤患者將具有不良預後(例如Dermatology, 第214卷, 第1期, 第8-14頁(2007))。如上所述, 認為IDO及/或犬尿胺酸與各種類型實體癌症及血液癌症有關。

色胺酸衍生物1-甲基色胺酸(1-MT)對色胺酸具有拮抗作用, 從而抑制犬尿胺酸之產生(例如Cancer Res., 第67卷, 第2期, 第792-800頁(2007))。1-MT消除在表現IDO之癌細胞或表現IDO之樹突狀細胞存在下T細胞增殖之抑制(例如Cancer Res., 第67卷, 第2期, 第792-800頁(2007))。此外, 1-MT誘發同種異體妊娠小鼠中主要組織相容性複合體(MHC)限制之排斥反應(例如Nat. Immunol., 第2卷, 第1期, 第64-68

頁(2001))。這些結果表明IDO之抑制使犬尿胺酸之產生抑制且誘發免疫性。

1-MT在具有小鼠黑素瘤細胞之負載腫瘤小鼠中展示抗腫瘤作用。此作用在免疫缺乏小鼠中消失(例如Cancer Res., 第67卷, 第2期, 第792-800頁(2007))。此等結果表明1-MT之抗腫瘤作用係基於IDO抑制介導之對犬尿胺酸產生之抑制作用的免疫刺激。

另外, 已知對犬尿胺酸之產生及/或IDO展示抑制作用之化合物展現免疫刺激作用(例如Nat. Immunol., 第2卷, 第64-68頁(2001))。

IDO抑制物之實例包括上文所提及之色胺酸衍生物, 包括WO99/29310中描述之1-MT、WO2010/053182、WO2011/142316及WO2013/069765中描述之喹啉衍生物、WO2006/122150及WO2010/005958中描述之1,2,5-噁二唑衍生物、WO2015/002918中描述之脲衍生物及WO2015/002918中描述之醯苯胺衍生物。

已知IDO1在腫瘤或微環境中表現, 且在免疫抑制機制中起重要調節作用, 免疫抑制機製造成腫瘤逃脫宿主免疫監視。已報導色胺酸(Trp)代謝物, 諸如犬尿胺酸(Kyn), 誘發NK細胞死亡, 且藉由抑制NK細胞受體表現而減弱NK細胞之細胞毒性。因此, 有可能IDO1活性影響抗體依賴性細胞毒性(ADCC)。

來那度胺(Lenalidomide)為多發性骨髓瘤之一種標準治療劑且已知其增強諸如抗CD20抗體及抗CD40抗體之治療抗體之ADCC活性(參見非專利文獻1及2)。

伊馬替尼(Imatinib)抑制c-kit (幹細胞因子受體)及血小板衍生生長因子受體且亦經由樹突狀細胞活化NK細胞, 從而展示抗腫瘤作用(參見非專利文獻3)。

此外, 已知作為黑色素瘤治療劑之達卡巴嗪(dacarbazine)及作為腎細胞癌及肝癌治療劑之索拉非尼(sorafenib)活化NK細胞(參見非專

利文獻4及5)。

{引用清單}

{非專利文獻}

非專利文獻1：Clin. Cancer Res. 第11卷，第5984頁，2005

非專利文獻2：Br. J. Hematol. 第144卷，第848頁，2009

非專利文獻3：J Clin Invest. 2004年8月1日；114(3): 379-388

非專利文獻4：Journal of Investigative Dermatology (2013) 133, 499-508

非專利文獻5：HEPATOLOGY, 第57卷，第6期，2013, 2358-2368

【發明內容】

{技術問題}

本發明之一個目標為提供一種腫瘤治療劑，其包含與抗體或其類似物組合投予之IDO抑制物。

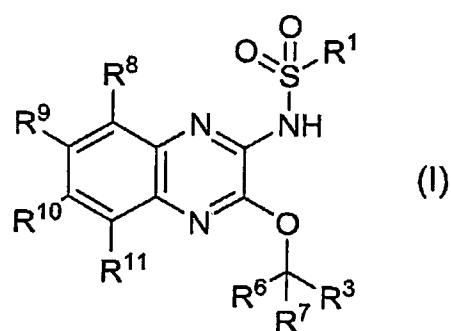
{問題之解決方案}

本發明係關於以下(1)至(210)。

(1)一種用於治療腫瘤之方法，其包含向有需要之人類投予有效量之特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體及吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物。

(2)根據(1)之方法，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式1}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

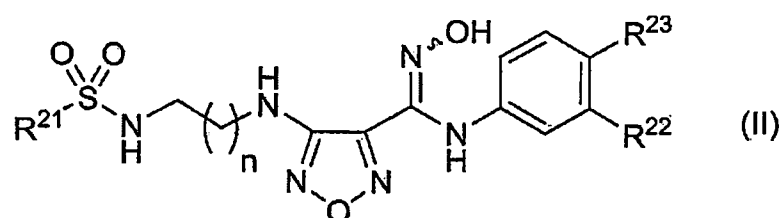
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式2}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

(3)根據(1)或(2)之方法，其中該特異性結合於人類CC趨化因子受

體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體分別為莫格利珠單抗(mogamulizumab)、曲妥珠單抗(trastuzumab)、利妥昔單抗(rituximab)或西妥昔單抗(cetuximab)。

(4)根據(1)至(3)中任一項之方法，其中該抗體及該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物同時或依序投予。

(5)根據(1)至(4)中任一項之方法，其中該腫瘤為表現人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之腫瘤。

(6)根據(5)之方法，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為T細胞淋巴瘤。

(7)根據(5)之方法，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為外周T細胞淋巴瘤、皮膚T細胞淋巴瘤或成人T細胞白血病淋巴瘤。

(8)根據(5)之方法，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌、胃癌、卵巢癌、骨肉瘤或子宮內膜癌。

(9)根據(5)之方法，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌。

(10)根據(5)之方法，其中該表現人類CD20之腫瘤為慢性白血病或非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma)。

(11)根據(10)之方法，其中該慢性白血病為慢性淋巴細胞性白血病。

(12)根據(10)之方法，其中該非霍奇金氏淋巴瘤為B細胞淋巴瘤。

(13)根據(12)之方法，其中該B細胞淋巴瘤為套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤或伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)。

(14)根據(12)之方法，其中該B細胞淋巴瘤為伯基特氏淋巴瘤。

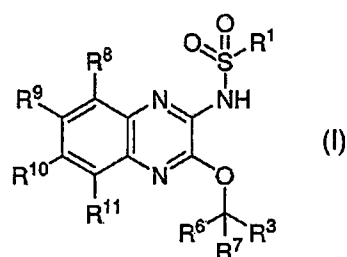
(15)根據(5)之方法，其中該表現表皮生長因子受體之腫瘤為結腸

癌、頭頸癌、胃癌、肝癌。

(16)一種抑制以減少特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體之抗體依賴性細胞毒性活性的方法，其包含投予吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物。

(17)根據(16)之方法，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式3}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

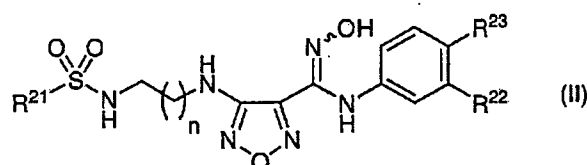
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式4}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

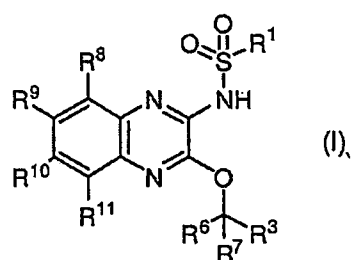
n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

(18)一種醫藥組合物，其用於投予有效量之特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體及吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物。

(19)根據(18)之醫藥組合物，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式5}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

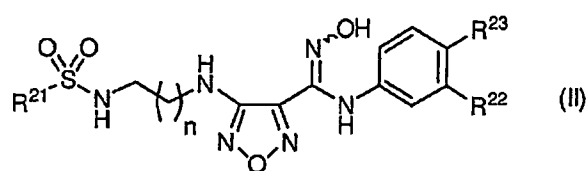
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式6}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

(20)根據(18)或(19)之醫藥組合物，其中該特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體分別為莫格利珠單抗、曲妥珠單抗、利妥昔單抗或西妥昔單抗。

(21)根據(18)至(20)中任一項之醫藥組合物，其包含該抗體及該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物同時或依序投予。

(22)根據(18)至(21)中任一項之醫藥組合物，其中該腫瘤為表現人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之腫瘤。

(23)根據(22)之醫藥組合物，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為T細胞淋巴瘤。

(24)根據(22)之醫藥組合物，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為外周T細胞淋巴瘤、皮膚T細胞淋巴瘤或成人T細胞白血病淋巴瘤。

(25)根據(22)之醫藥組合物，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌、胃癌、卵巢癌、骨肉瘤或子宮內膜癌。

(26)根據(22)之醫藥組合物，其中該表現人類表皮生長因子受體2

之腫瘤為乳癌。

(27)根據(22)之醫藥組合物，其中該表現人類CD20之腫瘤為慢性白血病或非霍奇金氏淋巴瘤。

(28)根據(27)之醫藥組合物，其中該慢性白血病為慢性淋巴細胞性白血病。

(29)根據(27)之醫藥組合物，其中該非霍奇金氏淋巴瘤為B細胞淋巴瘤。

(30)根據(29)之醫藥組合物，其中該B細胞淋巴瘤為套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤或伯基特氏淋巴瘤。

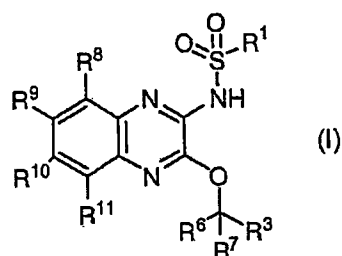
(31)根據(29)之醫藥組合物，其中該B細胞淋巴瘤為伯基特氏淋巴瘤。

(32)根據(22)之醫藥組合物，其中該表現表皮生長因子受體之腫瘤為結腸癌、頭頸癌、胃癌、肝癌。

(33)一種吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體的組合，其用於治療腫瘤。

(34)根據(33)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體的組合，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式7}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

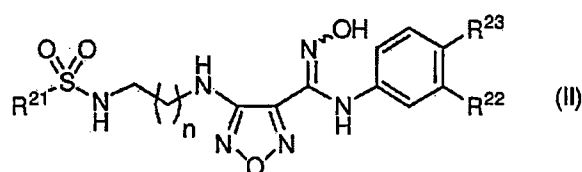
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式8}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

(35)根據(33)或(34)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體的組合，其中該特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體分別為莫格利珠單抗、曲妥珠單抗、利妥昔單抗或西妥昔單抗。

(36)根據(33)至(35)中任一項之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體的組合，其中該抗體及該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物同時或依序投予。

(37)根據(33)至(36)中任一項之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體的組合，其中該腫瘤為表現人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之腫瘤。

(38)根據(37)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體的組合，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為T細胞淋巴瘤。

(39)根據(37)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體的組合，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為外周T細胞淋巴瘤、皮膚T細胞淋巴瘤或成人T細胞白血病淋巴瘤。

(40)根據(37)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體的組合，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌、胃癌、卵巢癌、骨肉瘤或子宮內膜癌。

(41)根據(37)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體的組合，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌。

(42)根據(37)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體的組合，其中該表現人類CD20之腫瘤為慢性白血病或非霍奇金氏淋巴瘤。

(43)根據(42)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體的組合，其中該慢性白血病為慢性淋巴細胞性白血病。

(44)根據(42)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體的組合，其中該非霍奇金氏淋巴瘤為B細胞淋巴瘤。

(45)根據(44)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體的組合，其中該B細胞淋巴瘤為套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤或伯基特氏淋巴瘤。

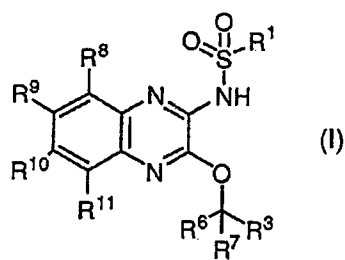
(46)根據(44)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體的組合，其中該B細胞淋巴瘤為伯基特氏淋巴瘤。

(47)根據(37)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體的組合，其中該表現表皮生長因子受體之腫瘤為結腸癌、頭頸癌、胃癌或肝癌。

(48)一種吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其用於抑制以減少特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體之抗體依賴性細胞毒性活性。

(49)根據(48)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式9}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

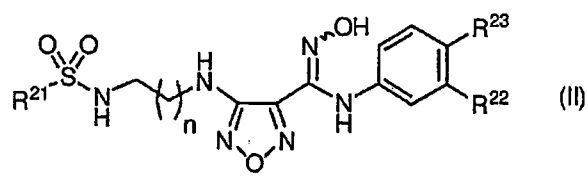
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式10}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

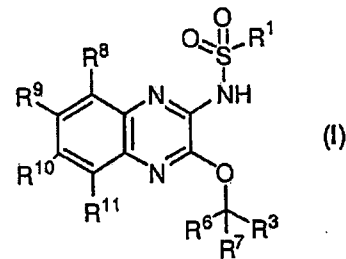
n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

(50)一種腫瘤治療劑，其包含吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物作為活性成分，其中該治療劑與有效量之特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體組合投予。

(51)根據(50)之腫瘤治療劑，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式11}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

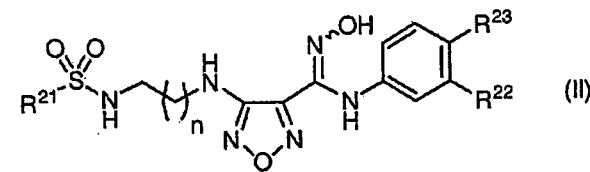
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式12}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

(52)根據(50)或(51)之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體分別為莫格利珠單抗、曲妥珠單抗、利妥昔單抗或西妥昔單抗。

(53)根據(50)至(52)中任一項之腫瘤治療劑，其中該治療劑及該抗體同時或依序投予。

(54)根據(50)至(53)中任一項之腫瘤治療劑，其中該腫瘤為表現人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之腫瘤。

(55)根據(54)之腫瘤治療劑，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為T細胞淋巴瘤。

(56)根據(54)之腫瘤治療劑，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為外周T細胞淋巴瘤、皮膚T細胞淋巴瘤或成人T細胞白血病淋巴瘤。

(57)根據(54)之腫瘤治療劑，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌、胃癌、卵巢癌、骨肉瘤或子宮內膜癌。

(58)根據(54)之腫瘤治療劑，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌。

(59)根據(54)之腫瘤治療劑，其中該表現人類CD20之腫瘤為慢性白血病或非霍奇金氏淋巴瘤。

(60)根據(59)之腫瘤治療劑，其中該慢性白血病為慢性淋巴細胞性白血病。

(61)根據(59)之腫瘤治療劑，其中該非霍奇金氏淋巴瘤為B細胞淋巴瘤。

(62)根據(61)之腫瘤治療劑，其中該B細胞淋巴瘤為套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤或伯基特氏淋巴瘤。

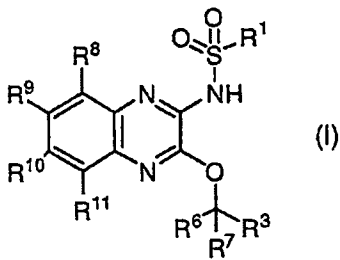
(63)根據(61)之腫瘤治療劑，其中該B細胞淋巴瘤為伯基特氏淋巴瘤。

(64)根據(54)之腫瘤治療劑，其中該表現表皮生長因子受體之腫瘤為結腸癌、頭頸癌、胃癌或肝癌。

(65)一種抑制劑，其用於減少特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體之抗體依賴性細胞毒性活性，其包含吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物作為活性成分。

(66)根據(65)之抑制劑，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式13}



其中

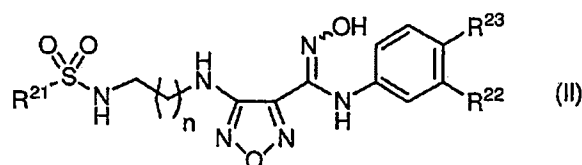
R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，
 或由式(II)表示之化合物(II)
 {化學式14}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

(67)根據(16)或(17)之方法，其中該抗體及該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物同時或依序投予。

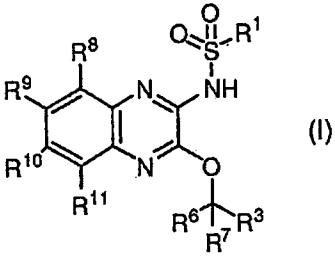
(68)根據(16)或(17)之方法，其中該特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體分別為莫格利珠單抗、曲妥珠單抗、利妥昔單抗或西妥昔單抗。

(69)根據(48)或(49)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體分別為莫格利珠單抗、曲妥珠單抗、利妥昔單抗或西妥昔單抗。

(70)一種腫瘤治療劑，其包含特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體作為活性成分，其中該治療劑與有效量之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物組合投予。

(71)根據(70)之腫瘤治療劑，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式15}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

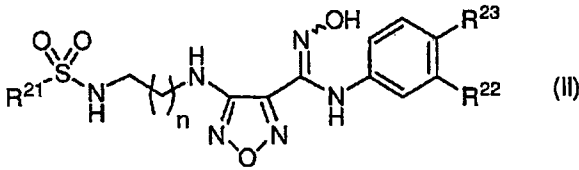
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式16}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

(72)根據(70)或(71)之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體分別為莫格利珠單抗、曲妥珠單抗、利妥昔單抗或西妥昔單抗。

(73)根據(70)至(72)中任一項之腫瘤治療劑，其中該治療劑及該吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制物同時或依序投予。

(74)根據(70)至(73)中任一項之腫瘤治療劑，其中該腫瘤為表現人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之腫瘤。

(75)根據(74)之腫瘤治療劑，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為T細胞淋巴瘤。

(76)根據(74)之腫瘤治療劑，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為外周T細胞淋巴瘤、皮膚T細胞淋巴瘤或成人T細胞白血病淋巴瘤。

(77)根據(74)之腫瘤治療劑，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌、胃癌、卵巢癌、骨肉瘤或子宮內膜癌。

(78)根據(74)之腫瘤治療劑，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌。

(79)根據(74)之腫瘤治療劑，其中該表現人類CD20之腫瘤為慢性白血病或非霍奇金氏淋巴瘤。

(80)根據(79)之腫瘤治療劑，其中該慢性白血病為慢性淋巴細胞性白血病。

(81)根據(79)之腫瘤治療劑，其中該非霍奇金氏淋巴瘤為B細胞淋巴瘤。

(82)根據(81)之腫瘤治療劑，其中該B細胞淋巴瘤為套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤或伯基特氏淋巴瘤。

(83)根據(81)之腫瘤治療劑，其中該B細胞淋巴瘤為伯基特氏淋巴瘤。

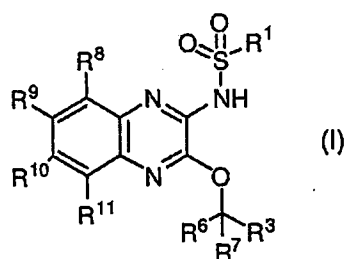
(84)根據(74)之腫瘤治療劑，其中該表現表皮生長因子受體之腫瘤為結腸癌、頭頸癌、胃癌或肝癌。

(85)根據(65)或(66)之抑制劑，其中該特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體分別為莫格利珠單抗、曲妥珠單抗、利妥昔單抗或西妥昔單抗。

(86)一種用於治療腫瘤之方法，其包含向有需要之人類投予有效量之特異性結合於人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體及吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物。

(87)根據(86)之方法，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式17}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

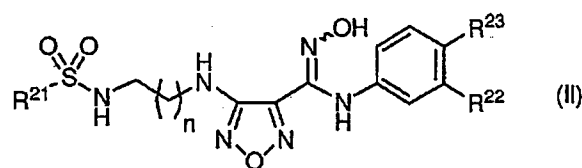
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式18}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

(88)根據(86)或(87)之方法，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為單株抗體。

(89)根據(86)或(87)之方法，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為選自以下(a1)-(c1)之單株抗體：

(a1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列；

(b1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列，且由SEQ ID NO. 3表示之胺基酸序列(抗體H鏈之CDR3)中之半胱胺酸經蘇胺酸、甲硫胺酸、異白胺酸、纈胺酸、苯丙胺酸或麩醯胺酸取代；以及

(c1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈包含由SEQ ID NO. 7表示之胺基酸序列，且該抗體L鏈包含由SEQ ID NO. 8表示之胺基酸序列。

(90)根據(86)或(87)之方法，其中該特異性結合於人類IL-3R α 之

抗體為人類IL-3R α 鏈之抗體，其不抑制IL-3信號傳導且結合於該人類IL-3R α 鏈之B域，但不結合於該人類IL-3R α 鏈之C域。

(91)根據(90)之方法，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含選自由以下(a2)至(e2)組成之群的重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列；

(a2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:9至11之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:24至26之胺基酸序列，

(b2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:12至14之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:27至29之胺基酸序列，

(c2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:15至17之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:30至32之胺基酸序列，

(d2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:18至20之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:33至35之胺基酸序列，以及

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

(92)根據(90)之方法，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含由以下(e2)組成之重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列；

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

(93)根據(86)或(87)之方法，其中該特異性結合於人類TIM-3之抗體為結合於人類TIM-3之胞外區之單株抗體。

(94)根據(93)之方法，其中該單株抗體為選自由以下(i)至(iii)組成之群的一者：

(i)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:39至41表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:42至44表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(ii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:45至

47表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:48至50表示之胺基酸序列的抗體L鏈，以及

(iii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:51至53表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:54至56表示之胺基酸序列的抗體L鏈。

(95)根據(93)之方法，其中該單株抗體為選自由以下(a3)及(b3)組成之群的一者：

(a3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:57表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:58表示之胺基酸序列的抗體VL，以及

(b3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:59表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:60表示之胺基酸序列的抗體VL。

(96)根據(86)至(95)中任一項之方法，其中該抗體及該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物同時或依序投予。

(97)根據(86)至(96)中任一項之方法，其中該腫瘤為與人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3相關之腫瘤。

(98)根據(97)之方法，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌、間皮瘤或胰臟癌。

(99)根據(97)之方法，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為卵巢癌。

(100)根據(97)之方法，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴細胞性白血病、非典型白血病、慢性淋巴細胞性白血病、成人T細胞白血病、NK/T細胞淋巴瘤、顆粒狀淋巴

細胞增多症(LGL白血病)、真性紅血球增多症、原發性血小板增多症、嗜伊紅白血球增多症候群、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、MALT淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、淋巴母細胞性淋巴瘤或卡斯特萊曼氏疾病(Castleman disease)。

(101)根據(97)之方法，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。

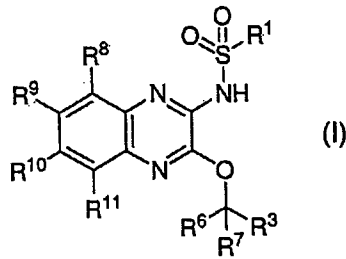
(102)根據(97)之方法，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌及胰臟癌。

(103)根據(97)之方法，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。

(104)一種用於抑制以減少特異性結合於人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體之抗體依賴性細胞毒性活性的方法，其包含投予吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物。

(105)根據(104)之方法，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式19}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰

基或低碳烷基，

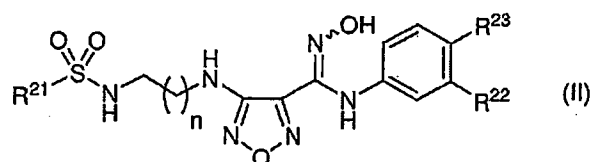
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式20}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

(106)根據(104)或(105)之方法，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為單株抗體。

(107)根據(104)或(105)之方法，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為選自由以下(a1)-(c1)組成之群的單株抗體：

(a1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列；

(b1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列，且由SEQ ID NO. 3表示之胺基酸序列(抗體H鏈之CDR3)中之半胱胺酸經蘇胺酸、甲硫胺酸、異白

胺酸、纈胺酸、苯丙胺酸或麩醯胺酸取代；以及

(c1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈包含由SEQ ID NO. 7表示之胺基酸序列，且該抗體L鏈包含由SEQ ID NO. 8表示之胺基酸序列。

(108)根據(104)或(105)之方法，其中該特異性結合於人類IL-3R α 之抗體為人類IL-3R α 鏈之抗體，其不抑制IL-3信號傳導且結合於該人類IL-3R α 鏈之B域，但不結合於該人類IL-3R α 鏈之C域。

(109)根據(108)之方法，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含選自由以下(a2)至(e2)組成之群的重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列；

(a2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:9至11之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:24至26之胺基酸序列，

(b2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:12至14之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:27至29之胺基酸序列，

(c2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:15至17之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:30至32之胺基酸序列，

(d2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:18至20之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:33至35之胺基酸序列，以及

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

(110)根據(108)之方法，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含由以下(e2)組成之重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列；

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

(111)根據(104)或(105)之方法，其中該特異性結合於人類TIM-3之抗體為結合於人類TIM-3之胞外區之單株抗體。

(112)根據(111)之方法，其中該單株抗體為選自由以下(i)至(iii)組成之群的一者：

(i)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:39至41表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:42至44表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(ii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:45至47表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:48至50表示之胺基酸序列的抗體L鏈，以及

(iii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:51至53表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:54至56表示之胺基酸序列的抗體L鏈。

(113)根據(111)之方法，其中該單株抗體為選自由以下(a3)及(b3)組成之群的一者：

(a3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:57表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:58表示之胺基酸序列的抗體VL，以及

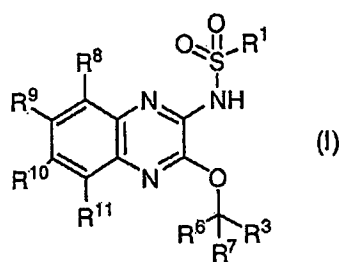
(b3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:59表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:60表示之胺基酸序列的抗體VL。

(114)根據(104)至(113)中任一項之方法，其中該抗體及該吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制物同時或依序投予。

(115)一種醫藥組合物，其用於投予有效量之特異性結合於人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體及吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制物。

(116)根據(115)之醫藥組合物，其中該吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式21}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

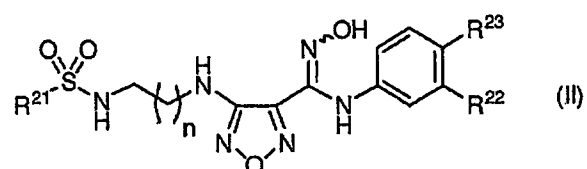
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式22}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

(117)根據(115)或(116)之醫藥組合物，其中特異性結合於人類葉酸受體1為單株抗體。

{0133}

(118)根據(115)或(116)之醫藥組合物，其中特異性結合於人類葉酸受體1為選自由以下(a1)-(c1)組成之群的單株抗體：

(a1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列；

(b1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列，且由SEQ ID NO. 3表示之胺基酸序列(抗體H鏈之CDR3)中之半胱胺酸經蘇胺酸、甲硫胺酸、異白胺酸、纈胺酸、苯丙胺酸或麩醯胺酸取代；以及

(c1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈包含由SEQ ID NO. 7表示之胺基酸序列，且該抗體L鏈包含由SEQ ID NO. 8表示之胺基酸序列。

(119)根據(115)或(116)之醫藥組合物，其中該特異性結合於人類IL-3R α 之抗體為人類IL-3R α 鏈之抗體，其不抑制IL-3信號傳導且結合於該人類IL-3R α 鏈之B域，但不結合於該人類IL-3R α 鏈之C域。

(120)根據(119)之醫藥組合物，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含選自由以下(a2)至(e2)組成之群的重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列；

(a2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:9至11之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:24至26之胺基酸序列，

(b2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:12至14之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:27至29之胺基酸序列，

(c2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:15至17之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:30至32之胺基酸序列，

(d2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:18至20之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:33至35之胺基酸序列，以及

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

(121)根據(119)之醫藥組合物，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含由以下(e2)組成之重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列；

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

(122)根據(115)或(116)之醫藥組合物，其中該特異性結合於人類TIM-3之抗體為結合於人類TIM-3之胞外區之單株抗體。

(123)根據(122)之醫藥組合物，其中該單株抗體為選自由以下(i)至(iii)組成之群的一者：

(i)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:39至41表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:42至44表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(ii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:45至47表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:48至50表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(iii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:51至53表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:54至56表示之胺基酸序列的抗體L鏈。

(124)根據(122)之醫藥組合物，其中該單株抗體為選自由以下(a3)及(b3)組成之群的一者：

(a3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:57表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:58表示之胺基酸序列的抗體VL，以及

(b3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:59表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:60表示之胺基酸序列的抗

體VL。

(125)根據(115)或(116)之醫藥組合物，其包含該抗體及該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物同時或依序投予。

(126)根據(115)至(125)中任一項之醫藥組合物，其中該腫瘤為與人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3相關之腫瘤。

(127)根據(126)之醫藥組合物，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌、間皮瘤或胰臟癌。

(128)根據(126)之醫藥組合物，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為卵巢癌。

(129)根據(126)之醫藥組合物，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴細胞性白血病、非典型白血病、慢性淋巴細胞性白血病、成人T細胞白血病、NK/T細胞淋巴瘤、顆粒狀淋巴細胞增多症(LGL白血病)、真性紅血球增多症、原發性血小板增多症、嗜伊紅白血球增多症候群、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、MALT淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、淋巴母細胞性淋巴瘤或卡斯特萊曼氏疾病。

(130)根據(126)之醫藥組合物，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。

(131)根據(126)之醫藥組合物，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌及胰臟癌。

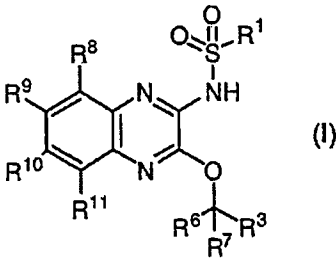
(132)根據(126)之醫藥組合物，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤

為急性骨髓性白血病(AML)。

(133)一種吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與特異性結合於人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體的組合，其用於治療腫瘤。

(134)根據(133)之組合，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式23}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

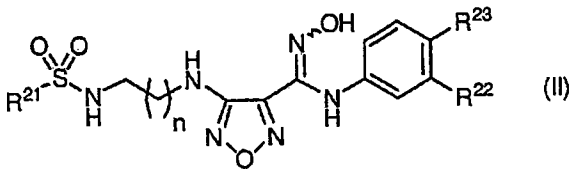
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式24}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

(135)根據(133)或(134)之組合，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為單株抗體。

(136)根據(133)或(134)之組合，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為選自由以下(a1)-(c1)組成之群的單株抗體：

(a1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列；

(b1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列，且由SEQ ID NO. 3表示之胺基酸序列(抗體H鏈之CDR3)中之半胱胺酸經蘇胺酸、甲硫胺酸、異白胺酸、纈胺酸、苯丙胺酸或麩醯胺酸取代；以及

(c1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈包含由SEQ ID NO. 7表示之胺基酸序列，且該抗體L鏈包含由SEQ ID NO. 8表示之胺基酸序列。

(137)根據(133)或(134)之組合，其中該特異性結合於人類IL-3R α 之抗體為人類IL-3R α 鏈之抗體，其不抑制IL-3信號傳導且結合於該人類IL-3R α 鏈之B域，但不結合於該人類IL-3R α 鏈之C域。

(138)根據(137)之組合，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含選自由以下(a2)至(e2)組成之群的重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列；

(a2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:9至11之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:24至26之胺基酸序列，

(b2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:12至14之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:27至29之胺基酸序列，

(c2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:15至17之胺基酸序列，
且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:30至32之胺基酸序列，

(d2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:18至20之胺基酸序列，
且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:33至35之胺基酸序列，以及

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，
且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

(139)根據(137)之組合，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含由以下
(e2)組成之重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列；

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，
且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

(140)根據(133)或(134)之組合，其中該特異性結合於人類TIM-3
之抗體為結合於人類TIM-3之胞外區之單株抗體。

(141)根據(140)之組合，其中該單株抗體為選自由以下(i)至(iii)
組成之群的一者：

(i)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:39至
41表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ
ID NO:42至44表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(ii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:45至
47表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ
ID NO:48至50表示之胺基酸序列的抗體L鏈，以及

(iii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:51
至53表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ
ID NO:54至56表示之胺基酸序列的抗體L鏈。

(142)根據(140)之組合，其中該單株抗體為選自由以下(a3)及(b3)
組成之群的一者：

(a3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:57表示之胺基酸

序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:58表示之胺基酸序列的抗體VL，以及

(b3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:59表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:60表示之胺基酸序列的抗體VL。

(143)根據(133)至(142)中任一項之組合，其中該抗體及該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物同時或依序投予。

(144)根據(133)至(143)中任一項之組合，其中該腫瘤為與人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3相關之腫瘤。

(145)根據(144)之組合，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌、間皮瘤或胰臟癌。

(146)根據(144)之組合，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為卵巢癌。

(147)根據(144)之組合，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴細胞性白血病、非典型白血病、慢性淋巴細胞性白血病、成人T細胞白血病、NK/T細胞淋巴瘤、顆粒狀淋巴細胞增多症(LGL白血病)、真性紅血球增多症、原發性血小板增多症、嗜伊紅白血球增多症候群、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、MALT淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、淋巴母細胞性淋巴瘤或卡斯特萊曼氏疾病。

(148)根據(144)之組合，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。

(149)根據(144)之組合，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為血液

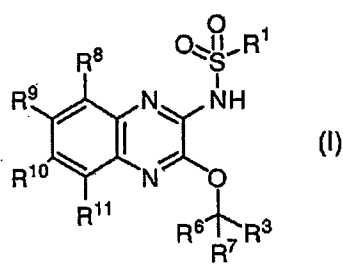
癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌及胰臟癌。

(150)根據(144)之組合，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。

(151)一種吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其用於減少特異性結合於人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體之抗體依賴性細胞毒性活性之抑制。

(152)根據(151)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式25}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

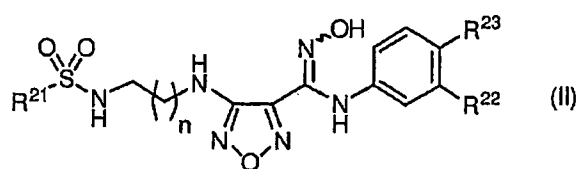
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式26}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

(153)根據(151)或(152)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該抗體及該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物同時或依序投予。

(154)根據(151)至(153)中任一項之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為單株抗體。

(155)根據(151)至(153)中任一項之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為選自由以下(a1)-(c1)組成之群的單株抗體：

(a1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列；

(b1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列，且由SEQ ID NO. 3表示之胺基酸序列(抗體H鏈之CDR3)中之半胱胺酸經蘇胺酸、甲硫胺酸、異白胺酸、纈胺酸、苯丙胺酸或麩醯胺酸取代；以及

(c1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈包含由SEQ ID NO. 7表示之胺基酸序列，且該抗體L鏈包含由SEQ ID NO. 8表示之胺基酸序列。

(156)根據(151)至(153)中任一項之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該特異性結合於人類IL-3R α 之抗體為人類IL-3R α 鏈之抗體，其不抑制IL-3信號傳導且結合於該人類IL-3R α 鏈之B域，但不結合於該人類IL-3R α 鏈之C域。

(157)根據(156)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含選自由以下(a2)至(e2)組成之群的重鏈CDRs及輕鏈CDRs之胺基酸序列；

(a2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:9至11之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:24至26之胺基酸序列，

(b2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:12至14之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:27至29之胺基酸序列，

(c2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:15至17之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:30至32之胺基酸序列，

(d2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:18至20之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:33至35之胺基酸序列，以及

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

(158)根據(156)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含由以下(e2)組成之重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列；

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

(159)根據(151)至(153)中任一項之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該特異性結合於人類TIM-3之抗體為結合於人類TIM-3之胞外區之單株抗體。

(160)根據(159)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該單株抗體

為選自由以下(i)至(iii)組成之群的一者：

(i)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:39至41表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:42至44表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(ii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:45至47表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:48至50表示之胺基酸序列的抗體L鏈，以及

(iii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:51至53表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:54至56表示之胺基酸序列的抗體L鏈。

(161)根據(159)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該單株抗體為選自由以下(a3)及(b3)組成之群的一者：

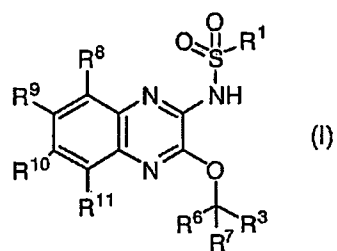
(a3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:57表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:58表示之胺基酸序列的抗體VL，以及

(b3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:59表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:60表示之胺基酸序列的抗體VL。

(162)一種腫瘤治療劑，其包含特異性結合於人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體作為活性成分，其中該治療劑與有效量之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物組合投予。

(163)根據(162)之腫瘤治療劑，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式27}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

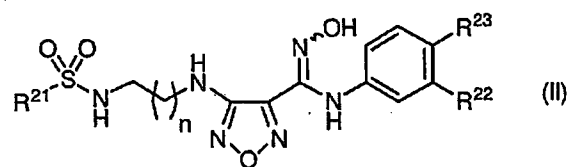
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式28}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

(164)根據(162)或(163)之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為單株抗體。

(165)根據(162)或(163)之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類

葉酸受體1之抗體為選自由以下(a1)-(c1)組成之群的單株抗體：

(a1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列；

(b1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列，且由SEQ ID NO. 3表示之胺基酸序列(抗體H鏈之CDR3)中之半胱胺酸經蘇胺酸、甲硫胺酸、異白胺酸、纈胺酸、苯丙胺酸或麩醯胺酸取代；以及

(c1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈包含由SEQ ID NO. 7表示之胺基酸序列，且該抗體L鏈包含由SEQ ID NO. 8表示之胺基酸序列。

(166)根據(162)或(163)之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類IL-3R α 之抗體為人類IL-3R α 鏈之抗體，其不抑制IL-3信號傳導且結合於該人類IL-3R α 鏈之B域，但不結合於該人類IL-3R α 鏈之C域。

(167)根據(166)之腫瘤治療劑，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含選自由以下(a2)至(e2)組成之群的重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列；

(a2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:9至11之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:24至26之胺基酸序列，

(b2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:12至14之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:27至29之胺基酸序列，

(c2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:15至17之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:30至32之胺基酸序列，

(d2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:18至20之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:33至35之胺基酸序列，以及

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，

且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

(168)根據(166)之腫瘤治療劑，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含由以下(e2)組成之重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列；

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

(169)根據(162)或(163)之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類TIM-3之抗體為結合於人類TIM-3之胞外區之單株抗體。

(170)根據(169)之腫瘤治療劑，其中該單株抗體為選自由以下(i)至(iii)組成之群的一者：

(i)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:39至41表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:42至44表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(ii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:45至47表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:48至50表示之胺基酸序列的抗體L鏈，以及

(iii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:51至53表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:54至56表示之胺基酸序列的抗體L鏈。

(171)根據(169)之腫瘤治療劑，其中該單株抗體為選自由以下(a3)及(b3)組成之群的一者：

(a3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:57表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:58表示之胺基酸序列的抗體VL，以及

(b3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:59表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:60表示之胺基酸序列的抗體VL。

(172)根據(162)至(171)中任一項之腫瘤治療劑，其中該治療劑及該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物同時或依序投予。

(173)根據(162)至(172)中任一項之腫瘤治療劑，其中該腫瘤為與人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3相關之腫瘤。

(174)根據(173)之腫瘤治療劑，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌、間皮瘤或胰臟癌。

(175)根據(173)之腫瘤治療劑，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為卵巢癌。

(176)根據(173)之腫瘤治療劑，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴細胞性白血病、非典型白血病、慢性淋巴細胞性白血病、成人T細胞白血病、NK/T細胞淋巴瘤、顆粒狀淋巴細胞增多症(LGL白血病)、真性紅血球增多症、原發性血小板增多症、嗜伊紅白血球增多症候群、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、MALT淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、淋巴母細胞性淋巴瘤或卡斯特萊曼氏疾病。

(177)根據(173)之腫瘤治療劑，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。

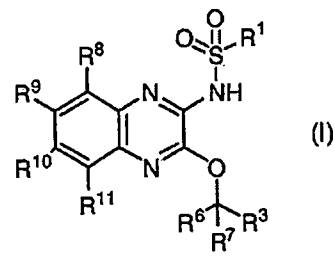
(178)根據(173)之腫瘤治療劑，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌及胰臟癌。

(179)根據(173)之腫瘤治療劑，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。

(180)一種腫瘤治療劑，其包含吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物作為活性成分，其中該治療劑與有效量之特異性結合於人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體組合投予。

(181)根據(180)之腫瘤治療劑，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式29}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

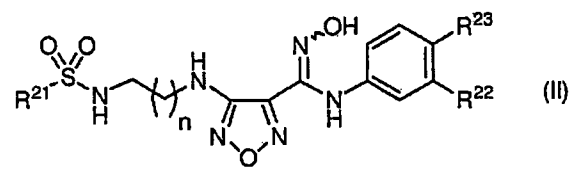
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式30}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

(182)根據(180)或(181)之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為單株抗體。

(183)根據(180)或(181)之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為選自由以下(a1)-(c1)組成之群的單株抗體：

(a1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列；

(b1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列，且由SEQ ID NO. 3表示之胺基酸序列(抗體H鏈之CDR3)中之半胱胺酸經蘇胺酸、甲硫胺酸、異白胺酸、纈胺酸、苯丙胺酸或麩醯胺酸取代；以及

(c1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈包含由SEQ ID NO. 7表示之胺基酸序列，且該抗體L鏈包含由SEQ ID NO. 8表示之胺基酸序列。

(184)根據(180)或(181)之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類IL-3R α 之抗體為人類IL-3R α 鏈之抗體，其不抑制IL-3信號傳導且結合於該人類IL-3R α 鏈之B域，但不結合於該人類IL-3R α 鏈之C域。

(185)根據(184)之腫瘤治療劑，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含選自由以下(a2)至(e2)組成之群的重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列；

(a2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:9至11之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:24至26之胺基酸序列，

(b2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:12至14之胺基酸序列，

且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:27至29之胺基酸序列，

(c2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:15至17之胺基酸序列，
且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:30至32之胺基酸序列，

(d2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:18至20之胺基酸序列，
且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:33至35之胺基酸序列，以及

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，
且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

(186)根據(184)之腫瘤治療劑，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含
由以下(e2)組成之重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列；

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，
且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

(187)根據(180)或(181)之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類
TIM-3之抗體為結合於人類TIM-3之胞外區之單株抗體。

(188)根據(187)之腫瘤治療劑，其中該單株抗體為選自由以下(i)
至(iii)組成之群的一者：

(i)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:39至
41表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ
ID NO:42至44表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(ii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:45至
47表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ
ID NO:48至50表示之胺基酸序列的抗體L鏈，以及

(iii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:51
至53表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ
ID NO:54至56表示之胺基酸序列的抗體L鏈。

(189)根據(187)之腫瘤治療劑，其中該單株抗體為選自由以下
(a3)及(b3)組成之群的一者：

(a3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:57表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:58表示之胺基酸序列的抗體VL，以及

(b3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:59表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:60表示之胺基酸序列的抗體VL。

(190)根據(180)至(189)中任一項之腫瘤治療劑，其中該治療劑及該抗體同時或依序投予。

(191)根據(180)至(190)中任一項之腫瘤治療劑，其中該腫瘤為與人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3相關之腫瘤。

(192)根據(191)之腫瘤治療劑，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌、間皮瘤或胰臟癌。

(193)根據(191)之腫瘤治療劑，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為卵巢癌。

(194)根據(191)之腫瘤治療劑，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴細胞性白血病、非典型白血病、慢性淋巴細胞性白血病、成人T細胞白血病、NK/T細胞淋巴瘤、顆粒狀淋巴細胞增多症(LGL白血病)、真性紅血球增多症、原發性血小板增多症、嗜伊紅白血球增多症候群、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、MALT淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、淋巴母細胞性淋巴瘤或卡斯特萊曼氏疾病。

(195)根據(191)之腫瘤治療劑，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。

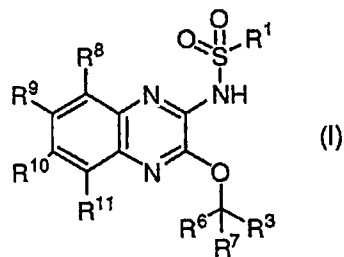
(196)根據(191)之腫瘤治療劑，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌及胰臟癌。

(197)根據(191)之腫瘤治療劑，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。

(198)一種抑制劑，其用於減少特異性結合於人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體之抗體依賴性細胞毒性活性，其包含吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物作為活性成分。

(199)根據(198)之抑制劑，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式31}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

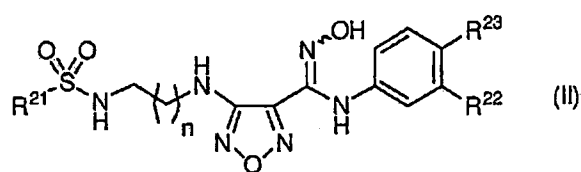
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式32}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

(200)根據(198)或(199)之抑制劑，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為單株抗體。

(201)根據(198)或(199)之抑制劑，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為選自由以下(a1)-(c1)組成之群的單株抗體：

(a1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列；

(b1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列，且由SEQ ID NO. 3表示之胺基酸序列(抗體H鏈之CDR3)中之半胱胺酸經蘇胺酸、甲硫胺酸、異白胺酸、纈胺酸、苯丙胺酸或麩醯胺酸取代；以及

(c1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈包含由SEQ ID NO. 7表示之胺基酸序列，且該抗體L鏈包含由SEQ ID NO. 8表示之胺基酸序列。

(202)根據(198)或(199)之抑制劑，其中該特異性結合於人類IL-3R α 之抗體為人類IL-3R α 鏈之抗體，其不抑制IL-3信號傳導且結合於該人類IL-3R α 鏈之B域，但不結合於該人類IL-3R α 鏈之C域。

(203)根據(202)之抑制劑，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含選自由以下(a2)至(e2)組成之群的重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列；

(a2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:9至11之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:24至26之胺基酸序列，

(b2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:12至14之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:27至29之胺基酸序列，

(c2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:15至17之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:30至32之胺基酸序列，

(d2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:18至20之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:33至35之胺基酸序列，以及

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

(204)根據(202)之抑制劑，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含由以下(e2)組成之重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列；

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

(205)根據(198)或(199)之抑制劑，其中該特異性結合於人類TIM-3之抗體為結合於人類TIM-3之胞外區之單株抗體。

(206)根據(205)之抑制劑，其中該單株抗體為選自由以下(i)至(iii)組成之群的一者：

(i)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:39至41表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:42至44表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(ii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:45至47表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:48至50表示之胺基酸序列的抗體L鏈，以及

(iii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:51至53表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:54至56表示之胺基酸序列的抗體L鏈。

(207)根據(205)之抑制劑，其中該單株抗體為選自由以下(a3)及(b3)組成之群的一者：

(a3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:57表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:58表示之胺基酸序列的抗體VL，以及

(b3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:59表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:60表示之胺基酸序列的抗體VL。

(208)根據(198)至(207)中任一項之抑制劑，其中該抑制劑及該抗體同時或依序投予。

(209)根據(48)或(49)之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物及該抗體同時或依序投予。

(210)根據(65)或(66)之抑制劑，其中該抑制劑及該抗體同時或依序投予。

{本發明之有利作用}

根據本發明，提供一種包含與抗體及其類似物組合投予之IDO抑制物的腫瘤治療劑。

【圖式簡單說明】

{圖1}

圖1展示化合物A1及化合物B1對犬尿胺酸產生及色胺酸消耗之作用。將KATO-III細胞用25 ng/mL重組人類IFN- γ 處理。將細胞用化合物A1 (100 nmol/L)或化合物B1 (100 nmol/L)處理。3天後，藉由LC/MS/MS量測上清液中犬尿胺酸(Kyn)及色胺酸(Trp)之濃度。(圖A)

縱軸展示犬尿胺酸(Kyn)之濃度。自左側起，每行展示條件培養基1 (KATO-III細胞)、條件培養基2 (KATO-III細胞 + IFN- γ)、條件培養基3 (KATO-III細胞 + IFN- γ + 化合物A1)或條件培養基4 (KATO-III細胞 + IFN- γ + 化合物B1)中Kyn之濃度。每行表示平均值+SD。(圖B)縱軸展示色胺酸(Trp)之濃度。自左側起，每行展示條件培養基1 (KATO-III細胞)、條件培養基2 (KATO-III細胞+IFN- γ)、條件培養基3 (KATO-III細胞+IFN- γ +化合物A1)或條件培養基4 (KATO-III細胞+IFN- γ +化合物B1)中Trp之濃度。每行表示平均值+SD。

{圖2}

圖2展示NK細胞之偵測。人類PBMC在(A)條件培養基1、(B)條件培養基2、(C)條件培養基3或(D)條件培養基4中培育7天。圖2之A、B、C及D中的數值表示CD3-細胞(NK細胞)中之CD16+CD56+細胞。

{圖3}

圖3展示藉由在各種條件培養基中預先培育之人類外周血單核細胞(A：供體1，B、C：供體2)，莫格利珠單抗針對TL-Om1細胞(A、B)或HH細胞(C)之抗體依賴性細胞毒性。

所有實驗均一式三份進行，且細胞毒性百分比呈現為平均值。圖A、B及C之縱軸展示莫格利珠單抗之細胞毒性百分比，且圖A、B及C之橫軸展示莫格利珠單抗之濃度(自左側起，0、0.1、1及10 $\mu\text{g/mL}$)。白色圓圈表示在KATO-III中預先培育之細胞毒性百分比。白色三角形標記表示在KATO-III及IFN- γ 中預先培育之細胞毒性百分比。黑色圓圈表示在KATO-III、IFN- γ 及化合物A1中預先培育之細胞毒性百分比。黑色三角形標記表示在KATO-III、IFN- γ 及化合物B1中預先培育之細胞毒性百分比。

{圖4}

圖4展示藉由在各種條件培養基中預先培育之人類外周血單核細胞

胞(A：供體1，B：供體2)，曲妥珠單抗針對SK-BR3細胞之抗體依賴性細胞毒性。所有實驗均一式三份進行，且細胞毒性百分比呈現為平均值。圖A及B之縱軸展示曲妥珠單抗之細胞毒性百分比，且圖A及B之橫軸展示曲妥珠單抗之濃度(自左側起，0、0.1、1及10 $\mu\text{g/mL}$)。白色圓圈表示在KATO-III中預先培育之細胞毒性百分比。白色三角形標記表示在KATO-III及IFN- γ 中預先培育之細胞毒性百分比。黑色圓圈表示在KATO-III、IFN- γ 及化合物A1中預先培育之細胞毒性百分比。黑色三角形標記表示在KATO-III、IFN- γ 及化合物B1中預先培育之細胞毒性百分比。

{圖5}

圖5展示藉由在各種條件培養基中預先培育之人類外周血單核細胞，利妥昔單抗針對Raji細胞之抗體依賴性細胞毒性。所有實驗均一式三份進行，且細胞毒性百分比呈現為平均值。圖之縱軸展示利妥昔單抗之細胞毒性百分比，且圖之橫軸展示利妥昔單抗之濃度(自左側起，0、0.1、1及10 $\mu\text{g/mL}$)。白色圓圈表示在KATO-III中預先培育之細胞毒性百分比。白色三角形標記表示在KATO-III及IFN- γ 中預先培育之細胞毒性百分比。黑色圓圈表示在KATO-III、IFN- γ 及化合物A1中預先培育之細胞毒性百分比。黑色三角形標記表示在KATO-III、IFN- γ 及化合物B1中預先培育之細胞毒性百分比。

{圖6}

圖6展示藉由在各種條件培養基中預先培育之人類外周血單核細胞，西妥昔單抗針對A431細胞之抗體依賴性細胞毒性。所有實驗均一式三份進行，且細胞毒性百分比呈現為平均值。圖之縱軸展示西妥昔單抗之細胞毒性百分比，且圖之橫軸展示西妥昔單抗之濃度(自左側起，0、0.1、1及10 $\mu\text{g/mL}$)。白色圓圈表示在KATO-III中預先培育之細胞毒性百分比。白色三角形標記表示在KATO-III及IFN- γ 中預先

培育之細胞毒性百分比。黑色圓圈表示在KATO-III、IFN- γ 及化合物A1中預先培育之細胞毒性百分比。黑色三角形標記表示在KATO-III、IFN- γ 及化合物B1中預先培育之細胞毒性百分比。

{圖7}

圖7展示藉由在各種條件培養基中預先培育之人類NK細胞，莫格利珠單抗針對TL-Om1細胞之抗體依賴性細胞毒性。所有實驗均一式三份進行，且細胞毒性百分比呈現為平均值。圖之縱軸展示莫格利珠單抗之細胞毒性百分比，且圖之橫軸展示莫格利珠單抗之濃度(自左側起，0、0.1、1及10 $\mu\text{g/mL}$)。白色圓圈表示在KATO-III中預先培育之細胞毒性百分比。白色三角形標記表示在KATO-III及IFN- γ 中預先培育之細胞毒性百分比。黑色圓圈表示在KATO-III、IFN- γ 及化合物A1中預先培育之細胞毒性百分比。黑色三角形標記表示在KATO-III、IFN- γ 及化合物B1中預先培育之細胞毒性百分比。

{圖8}

圖8展示藉由在各種條件培養基中預先培育之人類NK細胞，利妥昔單抗針對Raji細胞之抗體依賴性細胞毒性。所有實驗均一式三份進行，且細胞毒性百分比呈現為平均值。圖之縱軸展示利妥昔單抗之細胞毒性百分比，且圖之橫軸展示利妥昔單抗之濃度(自左側起，0、0.1、1及10 $\mu\text{g/mL}$)。白色圓圈表示在KATO-III中預先培育之細胞毒性百分比。白色三角形標記表示在KATO-III及IFN- γ 中預先培育之細胞毒性百分比。黑色圓圈表示在KATO-III、IFN- γ 及化合物A1中預先培育之細胞毒性百分比。黑色三角形標記表示在KATO-III、IFN- γ 及化合物B1中預先培育之細胞毒性百分比。

{圖9}

圖9展示藉由在含有化合物A1或化合物B1之培養基中預先培育之人類外周血單核細胞，莫格利珠單抗針對TL-Om1細胞之抗體依賴性

細胞毒性。所有實驗均一式三份進行，且細胞毒性百分比呈現為平均值。圖之縱軸展示莫格利珠單抗之細胞毒性百分比，且圖之橫軸展示莫格利珠單抗之濃度(自左側起，0、0.1、1及10 $\mu\text{g/mL}$)。白色圓圈表示在培養基中預先培育之細胞毒性百分比。白色三角形標記表示在培養基及化合物A1中預先培育之細胞毒性百分比。白色矩形標記表示在培養基及化合物B1中預先培育之細胞毒性百分比。

{圖10}

圖10展示穩定表現IDO1 shRNA之KATO-III細胞中之IDO表現。(圖A)圖A之縱軸展示藉由qPCR分析所偵測，相對於親本KATO-III細胞，用IFN- γ 處理之IDO1 mRNA表現量。

自左側起，每行展示IDO1 shRNA #44、#45、#46、#47、載體、NegaCTRL shRNA或無(親本)引入下，KATO-III細胞中之IDO1 mRNA含量。(圖B)圖B之上部展示藉由西方墨點分析所偵測之IDO1蛋白質表現量，且圖B之下半部展示藉由西方墨點分析所偵測之親本(β -肌動蛋白)蛋白質表現量。

{圖11}

圖11展示IDO1基因表現阻斷對犬尿胺酸產生及色胺酸消耗之作用。(圖A)圖之縱軸展示犬尿胺酸(Kyn)之濃度($\mu\text{mol/mL}$)。自左側起，每行展示條件培養基1 [KATO-III細胞(親本)]、條件培養基2 [KATO-III細胞(NegaCTRL shRNA)、條件培養基3 [KATO-III細胞(親本)+ IFN- γ]、條件培養基4 [KATO-III細胞(NegaCTRL shRNA) + IFN- γ]、條件培養基5 [KATO-III細胞(IDO1 shRNA #44) + IFN- γ]、條件培養基6 [KATO-III細胞(IDO1 shRNA #45) + IFN- γ]或條件培養基7 [KATO-III細胞(IDO1 shRNA #46) + IFN- γ]中Kyn濃度。(圖B)圖之縱軸展示色胺酸(Trp)之濃度($\mu\text{mol/mL}$)。自左側起，每行展示條件培養基1 [KATO-III細胞(親本)]、條件培養基2 [KATO-III細胞(NegaCTRL

shRNA)、條件培養基3 [KATO-III細胞(親本)+ IFN- γ)、條件培養基4 [KATO-III細胞(NegaCTRL shRNA) + IFN- γ]、條件培養基5 [KATO-III細胞(IDO1 shRNA #44) + IFN- γ]、條件培養基6 [KATO-III細胞(IDO1 shRNA #45) + IFN- γ]或條件培養基7 [KATO-III細胞(IDO1 shRNA #46) + IFN- γ]中Trp濃度。每行表示平均值+SD。

{圖12}

圖12展示NK細胞之偵測。將人類PBMC在條件培養基1 (A)、條件培養基2 (B)、條件培養基3 (C)、條件培養基4 (D)、條件培養基5 (E)、條件培養基6 (F)或條件培養基7 (G)中培育7天。A、B、C、D、E、F及G中之數值表示CD3-細胞(NK細胞)中之CD16+CD56+細胞。

{圖13}

圖13展示藉由在各種條件培養基中預先培育之人類外周血單核細胞，莫格利珠單抗針對TL-Om1細胞之抗體依賴性細胞毒性。

所有實驗均一式三份進行，且細胞毒性百分比呈現為平均值。圖之縱軸展示莫格利珠單抗之細胞毒性百分比，且圖之橫軸展示莫格利珠單抗之濃度(自左側起，0、0.1、1及10 $\mu\text{g/mL}$)。白色圓圈表示在親本KATO-III細胞中預先培育之細胞毒性百分比。白色三角形標記表示在穩定表現陰性對照shRNA之KATO-III細胞中預先培育之細胞毒性百分比。白色矩形標記表示在親本KATO-III細胞及IFN- γ 中預先培育之細胞毒性百分比。白色菱形標記表示在穩定表現陰性對照shRNA之KATO-III細胞及IFN- γ 中預先培育之細胞毒性百分比。黑色圓圈表示在穩定表現IDO1 shRNA#44之KATO-III細胞及IFN- γ 中預先培育之細胞毒性百分比。黑色三角形標記表示在穩定表現IDO1 shRNA#45之KATO-III細胞及IFN- γ 中預先培育之細胞毒性百分比。黑色矩形標記表示在穩定表現IDO1 shRNA#46之KATO-III細胞及IFN- γ 中預先培育之細胞毒性百分比。

{圖14}

圖14展示藉由西方墨點法偵測到之卵巢癌細胞(OVISE、SKOV3、OVCAR3及MCAS)中IDO1之表現。

{圖15}

圖15展示化合物A1對PBMC針對SKOV3細胞之天然殺死活性(A)及細胞毒性(B)的作用。所有實驗均一式三份進行，且細胞毒性百分比呈現為平均值+SD。(圖A)圖A之縱軸展示無抗體C1下PBMC之細胞毒性百分比(天然殺死活性)，且自左側起，每行展示條件培養基DMSO或化合物A1中之細胞毒性。(圖B)圖之縱軸展示抗體C1之細胞毒性百分比，且圖之橫軸展示抗體C1之濃度(自左側起，0.033、0.33、3.3、33及333 ng/mL)。黑色圓圈表示在IFN- γ 刺激之SKOV3細胞及化合物A1之條件培養基中預先培育的細胞毒性百分比。白色圓圈表示在IFN- γ 刺激之SKOV3細胞及DMSO之條件培養基中預先培育的細胞毒性百分比。

{圖16}

圖16展示化合物B1對PBMC針對SKOV3細胞之天然殺死活性(A)及細胞毒性(B)的作用。所有實驗均一式三份進行，且細胞毒性百分比呈現為平均值+SD。(圖A)圖A之縱軸展示無抗體C1下PBMC之細胞毒性百分比(天然殺死活性)，且自左側起，每行展示條件培養基DMSO或化合物B1中細胞毒性。(圖B)圖之縱軸展示抗體C1之細胞毒性百分比，且圖之橫軸展示抗體C1之濃度(自左側起，0.033、0.33、3.3、33及333 ng/mL)。黑色圓圈表示在IFN- γ 刺激之SKOV3細胞及化合物B1之條件培養基中預先培育的細胞毒性百分比。白色圓圈表示在IFN- γ 刺激之SKOV3細胞及DMSO之條件培養基中預先培育的細胞毒性百分比。

{圖17}

圖17展示化合物A1對PBMC針對KG-1細胞(批號A3951)之細胞毒性的作用。所有實驗均一式三份進行，且細胞毒性百分比呈現為平均值 $\pm$ SD。圖之縱軸展示化合物A1對PBMC之細胞毒性，且圖之橫軸展示抗體D1之濃度(自左側起，0.3、3、30及300 μ g/mL)。黑色圓圈表示在IFN- γ 刺激之KATO-III細胞及化合物A1之條件培養基中預先培育的細胞毒性百分比。白色圓圈表示在IFN- γ 刺激之KATO-III細胞及DMSO之條件培養基中預先培育的細胞毒性百分比。

{圖18}

圖18展示化合物A1對PBMC針對EOL-1/人類TIM-3細胞之細胞毒性的作用。所有實驗均一式三份進行，且細胞毒性百分比呈現為平均值 $\pm$ SD。圖之縱軸展示化合物A1對PBMC之細胞毒性，且圖之橫軸展示抗體E1之濃度(自左側起，0.3、3、30及300 μ g/mL)。黑色圓圈表示在IFN- γ 刺激之KATO-III細胞及化合物A1之條件培養基中預先培育的細胞毒性百分比。白色圓圈表示在IFN- γ 刺激之KATO-III細胞及DMSO之條件培養基中預先培育的細胞毒性百分比。

【實施方式】

在本發明中，ADCC活性為一種細胞毒性活性，其中結合於活體中腫瘤細胞上細胞表面抗原之抗體經由抗體Fc區及效應細胞表面上存在之Fc受體活化效應細胞，從而阻擋腫瘤細胞及其類似物[Monoclonal Antibodies: Principles and Applications, Wiley-Liss, Inc., 第2.1章 (1955)]。效應細胞之實例包括殺手細胞、自然殺手細胞、活化巨噬細胞及其類似物。

具有ADCC活性之抗體之實例包括莫格利珠單抗、曲妥珠單抗、利妥昔單抗、西妥昔單抗及其類似物。

根據「Clin. Cancer Res. 第11卷，第5984頁，2005.」、「Br. J. Hematol. 第144卷，第848頁，2009」及其類似文獻中描述之方法，可

檢驗在本發明中與吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物組合，特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體之ADCC活性以及特異性結合於人類CC趨化因子受體4 (CCR4)、HER2、人類CD20或EGFR之抗體之ADCC活性。

T細胞淋巴瘤之預後極其不良且不存在展現足夠藥物功效之治療劑。已知人類CC趨化因子受體4 (CCR4)在一些種類之T細胞淋巴瘤(包括成人T細胞白血病/淋巴瘤及皮膚T細胞淋巴瘤)上表現(Clinical Cancer Research, 第9卷, 第3625頁, 2003及J Invest Dermatol, 第119卷, 第1405頁, 2002)。因此，包含特異性結合於CCR4之抗體組合物之醫藥組合物可為有效治療表現CCR4之T細胞腫瘤之醫藥組合物(WO01/64754、WO03/18635及WO2005/057341)。

特異性結合於CCR4之抗體之實例為莫格利珠單抗及其類似物。莫格利珠單抗為一種人類化抗CCR4單株抗體且用於治療白血病及淋巴瘤，諸如ATL、外周T細胞淋巴瘤、皮膚T細胞淋巴瘤。且莫格利珠單抗亦具有高ADCC活性。

已知莫格利珠單抗誘發調節T細胞減少[Clin Cancer Res; 21(2) 1月15日, 2015]。色胺酸代謝亦誘發CD4+CD25- T細胞轉化成調節T細胞(例如Blood, 第109卷, 第7期, 第2871-2877頁 (2007))。因此，認為莫格利珠單抗與吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物之組合較佳用於減少調節T細胞。

人類表皮生長因子受體2 (HER2或p185neu)最初鑑別為自化學處理大鼠之神經母細胞瘤之轉型基因的產物。neu原癌基因之活化形式由編碼蛋白質之跨膜區中點突變(纈胺酸至麩胺酸)產生。在乳房及卵巢癌中觀測到neu之人類同源物HER2的擴增且與不良預後相關(Slamon等人, Science, 235: 177-182 (1987); Slamon等人, Science, 244: 707-712 (1989); US 4,968, 603)。HER2具有約185,000之分子

量，與表皮生長因子受體(EGFR或HER1)具有很大同源性，不過迄今為止尚未明確鑑別HER2之特定配位體。

進一步發現針對HER2受體之抗體4D5使過度表現HER2之乳房腫瘤細胞株對TNF α 之細胞毒性作用敏感(US 5,677, 171)。在已接受大規模先前抗癌療法之過度表現HER2之轉移性乳癌患者中鼠類抗ErbB2抗體4D5 (huMAb4D5-8、rhuMAb HER2或曲妥珠單抗；US 5,821, 337)之重組人類化型式為臨床上活性的(Baselga等人, J. Clin. Oncol. 14: 737-744 (1996))。曲妥珠單抗於1998得到上市許可，用於治療腫瘤過度表現HER2蛋白質之轉移性乳癌患者。在臨床試驗中展示高功效之一種代表為吉非替尼(gefitinib)，其可用於NSCLC適應症(非小細胞肺癌)。

曲妥珠單抗藉由特異性結合於HER2蛋白質發揮抗腫瘤作用，且用於治療乳癌、胃癌及其類似癌症。此外，曲妥珠單抗由於高ADCC活性而發揮抗腫瘤作用。

淋巴細胞為血細胞生成過程期間在骨髓中產生之許多類型白血球之一。存在兩大淋巴細胞群體：B淋巴細胞(B細胞)及T淋巴細胞(T細胞)。本文中尤其關注之淋巴細胞為B細胞。

B細胞在骨髓內成熟且離開骨髓，在其細胞表面上表現抗原結合抗體。當初始B細胞首次遇到其膜結合抗體所特異性針對之抗原時，細胞開始迅速分裂且其子代分化成記憶B細胞及效應細胞，稱為「漿細胞」。記憶B細胞具有更長壽命且以與原始母細胞相同之特異性繼續表現膜結合抗體。

漿細胞不產生膜結合抗體，但實際上產生呈可分泌形式之抗體。

所分泌之抗體為體液免疫之主要效應分子。

CD20抗原(亦稱為人類B淋巴細胞限制性分化抗原，Bp35)為一種

分子量大約為35 kD之疏水性跨膜蛋白，其位於前B淋巴細胞及成熟B淋巴細胞上 (Valentine等人 J. Biol. Chem. 264 (19): 11282-11287 (1989)；及Einfeld等人 EMBO J. 7 (3): 711-717 (1988))。抗原亦在超過90%非霍奇金氏淋巴瘤(NHL) B細胞上表現 (Anderson等人 Blood 63 (6): 1424-1433 (1984))，但未在造血幹細胞、原B細胞、正常漿細胞或其他正常組織上發現 (Tedder等人 J. Immunol. 135 (2): 973-979 (1985))。CD20調控細胞週期開始及分化之活化過程中的早期步驟 (Tedder等人，上述)且可能充當鈣離子通道 (Tedder等人 J. Cell. Biochem. 14D: 195 (1990))。

特異性結合於人類CD20之抗體之實例包括利妥昔單抗。

利妥昔單抗為一種包含抗人類CD20嵌合人類-鼠類抗體之單株抗體且用於治療非霍奇金氏淋巴瘤、B細胞淋巴增生病症、肉芽腫性血管炎、顯微鏡下多血管炎及其類似疾病。且利妥昔單抗亦具有高ADCC活性。

EGFR為在上皮細胞之表面上表現的170千道爾頓(kDa)膜結合蛋白質。EGFR為蛋白質酪胺酸激酶(一類細胞週期調控分子)之生長因子受體家族一員 (W. J. Gullick等人, 1986, Cancer Res., 46: 285-292)。

當其配位體(EGF或TGF- α)結合於細胞外域時，活化EGFR，引起受體之細胞內酪胺酸激酶域自體磷酸化 (S. Cohen等人, 1980, J. Biol. Chem., 255: 4834-4842；A. B. Schreiber等人, 1983, J. Biol. Chem., 258: 846-853)。

EGFR為生長促進癌基因erbB或ErbB1之蛋白質產物，erbB或ErbB1為家族，亦即原致癌基因之ERBB家族的一員，咸信其在許多人類癌症之發展及進展中起作用。詳言之，已在乳癌、膀胱癌、肺癌、頭癌、頸癌及胃癌以及神經膠母細胞瘤中觀測到EGFR表現增加。致癌基因之ERBB家族編碼四個結構上相關之跨膜受體，亦即

EGFR、HER-2/neu (erbB2)、HER-3 (erbB3)及HER-4 (erbB4)。

臨床上，已報導腫瘤中ERBB致癌基因擴增及/或受體過度表現與疾病復發及不良患者預後以及在療法中之反應相關。(L. Harris等人, 1999, *Int. J. Biol. Markers*, 14: 8-15；及J. Mendelsohn及J. Baselga, 2000, *Oncogene*, 19: 6550-6565)。

EGFR由三個主要域構成，亦即細胞外域(ECD)，其經糖基化且含有具兩個富含半胱氨酸之區域的配位體結合袋；短跨膜域；以及具有內源性酪氨酸激酶活性之胞內域。跨膜區將配位體結合域接合至胞內域。胺基酸及DNA序列分析以及EGFR非糖基化形式之研究表明EGFR之蛋白質主鏈具有132 kDa之質量，具有1186個胺基酸殘基(A. L. Ullrich等人, 1984, *Nature*, 307: 418-425；J. Downward等人, 1984, *Nature*, 307: 521-527；C. R. Carlin等人, 1986, *Mol. Cell. Biol.*, 6: 257-264；及F. L. V. Mayes及M. D. Waterfield, 1984, *The EMBO J.*, 3: 531-537)。

EGF或TGF- α 結合於EGFR活化信號轉導路徑且引起細胞增殖。EGFR分子之二聚、構形改變及內化用以傳輸細胞內信號，引起細胞生長調節(G. Carpenter及S. Cohen, 1979, *Ann. Rev. Biochem.*, 48: 193-216)。影響生長因子受體功能調控或引起受體及/或配位體過度表現之基因改變引起細胞增殖。另外，已確定EGFR在細胞分化、細胞活動性增強、蛋白質分泌、新血管生成、癌細胞之侵襲、轉移及對化學治療劑及放射線之抵抗性中起一定作用。(M. J. Oh等人, 2000, *Clin. Cancer Res.*, 6: 4760-4763)。

特異性結合於EGFR之抗體之實例包括西妥昔單抗及其類似物。西妥昔單抗為一種結合於EGFR且抑制EGFR功能之單株抗體。

西妥昔單抗用於治療結腸癌、頭頸癌及其類似癌症。亦預期西妥昔單抗由於ADCC活性而展現抗腫瘤作用。

利妥昔單抗為一種含有抗人類CD20嵌合人類-鼠類抗體之單株抗體且用於治療非霍奇金氏淋巴瘤、B細胞淋巴增生病症、肉芽腫性多血管炎、顯微鏡下多血管炎及其類似疾病。且利妥昔單抗亦具有高ADCC活性。

人類葉酸受體1 (FOLR1)為一種對葉酸具有高親和力之GPI錨定膜蛋白，且具有與細胞增殖或存活相關之重要功能[Int J Cancer, 2006. 119(2): 第243-50頁]。FOLR1展示腎、肺、腸或其類似物之正常組織中限制性表現模式[Anal Biochem, 2005. 338(2): 第284-93頁]。

表現區域侷限於內腔中。同時，癌組織中FOLR1表現不限於內腔，且在諸如卵巢癌[Anal Biochem, 2005. 338(2): 第284-93頁；J Thorac Oncol, 2012. 7(5): 第833-840頁；J Thorac Cardiovasc Surg, 2001. 121(2): 第225-33頁]、腎癌[Anal Biochem, 2005. 338(2): 第284-93頁]、肺癌[Anal Biochem, 2005. 338(2): 第284-93頁；J Thorac Oncol, 2012. 7(5): 第833-840頁]、乳癌[Anal Biochem, 2005. 338(2): 第284-93頁]、間皮瘤[J Thorac Cardiovasc Surg, 2001. 121(2): 第225-33頁]之多種癌症中觀測到其高度表現。

詳言之，據報導在卵巢癌中FOLR1表現量與惡性病級別、進展及預後有關[Int J Cancer, 1997. 74(2): 第193-8頁；Int J Cancer, 1998. 79(2): 第121-6頁]。此外，亦報導與健康供體之血清相比，可溶性FOLR1在卵巢癌患者之血清中顯著升高[PLoS One, 2009. 4(7): 第e6292頁]。因此，FOLR1為一種有希望用於癌症治療之標靶分子。

IL-3R α 為IL-3受體之 α 鏈，屬於細胞因子受體家族且作為配位體，對IL-3展示弱親和力。藉由與其 β 鏈(CD131，下文中亦稱為IL-3R β)形成雜受體，IL-3受體具有強烈結合且經由 β 鏈之胞內區傳遞信號，諸如生長、分化及其類似信號至細胞中。IL-5受體 α 鏈及GM-CSF受體 α 鏈共享 β 鏈。

IL-3R α 為單次跨膜之I型膜蛋白，且基於序列，已知IL-3結合位點及纖維結合蛋白III型位點存在於膜外區。已知不存在可在膜內區中傳遞信號之結構。雖然尚未分析IL-3R α 之三維結構，但可假設在家族中細胞因子受體之結構相似，因為形成結構上重要之S-S鍵之半胱胺酸殘基的位置在大多數情況下保持。在相同細胞因子受體中，已分析IL-13受體 α 鏈、IL-4受體 α 鏈及GM-CSF受體 α 鏈之晶體結構。基於此等細胞因子受體家族之資訊，可假設IL-3R α 之膜外區大致劃分成3個域(A-B-C域)。已知識別人類IL-3R α 之A域的抗體7G3阻斷IL-3信號傳導[Sun等人, Blood, 87:83 (1996)]。另外，已報導缺乏A域之IL-3R α 分子的表現[Chen等人, J Biol Chem, 284: 5763(2009)]，且當然，識別A域之抗體無法識別缺乏A域之IL-3R α 。另外，認為C域為IL-3R α 分子之根且極有可能在三維上抑制IL-3R β 與IL-3R α 之締合。

IL-3為稱為IL-3R α 配位體之唯一配位體。IL-3為已知促進以下群落形成之造血因子：紅血球、巨核細胞、嗜中性白血球、嗜伊紅血球、嗜鹼性血球、肥大細胞及單核細胞系統細胞。已知IL-3亦刺激具有多能性之前驅細胞，但更稱IL-3不促進具有自發複製能力之不成熟幹細胞分化，而是定型分化之前驅細胞的分化。

已知IL-3R α 藉由與 β 鏈形成雜二聚體且從而經由絲胺酸/蘇胺酸磷酸化路徑將IL-3信號傳導至細胞中而涉及骨髓細胞之生長及分化。已知IL-3R α 在粒細胞-巨噬細胞祖細胞(GMP)或共同骨髓祖細胞(CMP)以及造血前驅細胞中表現，且經由IL-3信號傳導誘發生長及分化成嗜中性白血球及巨噬細胞系統。另一方面，已報導在CMP下游呈現之巨核細胞紅血球系祖細胞(MEP)不同於亦存在於下游之GMP，不表現IL-3R α 。

關於AML幹細胞，Bonnet及Dick已報導AML幹細胞存在於CD34陽性CD38陰性部分中(Bonnet等人, Nat Med, 1997; 3: 730)。此外，藉

由與正常幹細胞之相同部分(CD34陽性CD38陰性)比較，Jordan等人已發現IL-3R α 在AML幹細胞中高度表現(Jordan等人, Leukemia, 2000; 14: 1777)。亦在此後複數篇報導中報導IL-3R α 不僅作為AML幹細胞之標記物，且亦作為白血病幹細胞之標記物的高度可能性(Haematologica, 2001; 86:1261及LeukLymphoma, 2006;47:207)。在治療包括白血病之癌症中，重要地，在不傷害正常細胞下儘可能多地僅僅移除癌細胞，且認為正常幹細胞與白血病幹細胞之間的IL-3R α 表現之此差異可用於靶向白血病幹細胞之治療。

關於與IL-3R α 形成雜二聚體之IL-3R β ，未報導IL-3R β 在白血病幹細胞中高度表現，且亦在實際上比較白血病幹細胞與正常幹細胞中mRNA表現之微陣列之情況下，IL-3R β 未鑑別為表現在白血病幹細胞中增加之分子(Majeti等人, Proc Natl Acad Sci USA. 2009; 106:3396)。

已長期已知視IL-3而定之白血病細胞的存在，且舊的研究為集中於佔據大部分白血病細胞之母細胞的研究。根據近期對白血病幹細胞之研究，據說白血病幹細胞藉由極盡一切地抑制其生長來獲得抗腫瘤劑抗性。另外，認為IL-3反應性母細胞具有高增殖能力，從而假定此類細胞在使用抗腫瘤劑之通用治療中有效。

作為靶向IL-3R受體之候選藥劑，IL-3本身長期投予造血功能不全患者，但其未因此變成一種藥物。白喉毒素添加至IL-3之融合蛋白的臨床試驗正在進展中，其瞄準白血病作為疾病目標。關於IL-3及白喉毒素-IL-3融合物，此等並不適合作為靶向其中IL-3R α 表現特別增加之細胞的製劑，因為IL-3單獨不強烈結合IL-3R α 蛋白質，但因IL-3之特性而結合IL-3R α 與IL-3R β 之雜蛋白質。另一方面，作為靶向IL-3R α 之候選藥劑，已報導IL-3R α 人類小鼠嵌合抗體7G3之第一階段結果(非專利文獻19)。因為7G3嵌合抗體使用阻斷IL-3信號傳導之目的作為AML療法機制，所以此並非針對移除IL-3R α 陽性細胞之藥劑。此

外，雖然已知一些其他IL-3R α 抗體(9F5 (Becton Dickinson)、6H6 (SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY)及AC 145 (Miltenyi-Biotech))，但此等不能移除高度表現IL-3R α 之細胞。

然而，已報導能夠移除高度表現IL-3R α 之細胞的單株抗體(WO2010/126066)。

TIM-3基因家族由八種小鼠基因及三種人類基因組成，且此等基因中之每一者分別位於染色體11及染色體5q33處[Hafler DA等人, JExp Med. 205: 2699-701 (2008)]。已知此等基因區域與自身免疫疾病及過敏性疾病有關。TIM蛋白質為一種I型跨膜蛋白，其具有結構保守性免疫球蛋白可變(IgV)域及黏蛋白域。

認為TIM蛋白質在T細胞上特異性表現且直接調控T細胞活性，但近期亦存在關於TIM3蛋白質於抗原呈遞細胞中之表現及其功能之報導[Anderson AC等人, Science 318: 1141-3 (2007)]。根據晶體結構分析，TIM蛋白質具有保守性蛋白質結構且在IgV域中具有配位體結合位點。

TIM3經鑑別為在小鼠Th1細胞而非Th2細胞上特異性表現之分子[Monney L等人, Nature 415: 536-41 (2002)]。可在公用資料庫獲得TIM3之DNA序列、胺基酸序列及三維結構，諸如GenBank寄存編號NM_032782及NM_134250。TIM-3亦稱為HAVCR2。

在人類中，與小鼠類似，TIM-3在T細胞以及諸如巨噬細胞及樹突狀細胞之吞噬細胞上表現。TIM-3與蛋白質配位體(例如半乳糖凝集素-9)之結合可經由細胞凋亡誘發機制來抑制Th1反應，且因此諸如誘發外周耐受性。

用siRNA降低人類TIM-3之表現或藉由阻斷抗體抑制人類TIM-3可增加自CD4陽性T細胞分泌干擾素 γ (IFN- γ)，證實TIM-3在人類T細胞中之抑制作用。在吞噬細胞中，TIM-3亦充當識別細胞凋亡細胞之

受體。

來自自體免疫疾病患者之臨床樣品之分析顯示TIM-3未在CD4陽性細胞中表現。詳言之，在來源於多發性硬化症患者之腦脊髓液之T細胞純系中，TIM-3之表現量低於來源於正常健康人類之純系且IFN- γ 之分泌量高於來源於正常健康人類之純系[Koguchi K等人, J Exp Med. 203: 1413-8 (2006)]。存在關於TIM-3與過敏性疾病或哮喘之關係的報導(WO96/27603及WO2003/063792)。

根據來自急性骨髓性白血病(下文稱為「AML」)患者之造血幹細胞及正常造血幹細胞之微陣列分析，TIM-3在AML幹細胞上表現且因此該分析表明TIM-3與血液惡性病有關[Majeti R等人, Proc Natl Acad Sci USA 2009年3月3日; 106 (9): 3396-401及WO2009/091547]。

迄今為止已確立之抗TIM-3單株抗體之實例包括抗人類TIM-3大鼠單株抗體(純系344823，R&D Systems製造)、抗人類TIM-3小鼠單株抗體(純系F38-2E2，R&D Systems製造)及具有ADCC活性之抗人類TIM-3小鼠單株抗體(WO2011/155607中512抗體、644抗體、4545抗體及4177抗體)。

下文中，由上式(I)或(II)表示之化合物分別稱為化合物(I)或(II)。同樣適用於具有不同式號之其他化合物。

式(I)及(II)中相應基團之定義如下。

(i)低碳烷基及低碳烷氧基之低碳烷基部分之實例包括具有1至10個碳原子之直鏈或分支鏈烷基。其更特定實例包括甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第二丁基、第三丁基、正戊基、新戊基、正己基、正庚基、正辛基、正壬基、正癸基及其類似基團。

(ii)鹵素意謂氟原子、氯原子、溴原子及碘原子之各原子。

(iii)芳族雜環基之實例包括含有至少一個選自氮原子、氧原子及硫原子之雜原子的5或6員單環芳族雜環基；3員至8員環融合且含有至

少一個選自氮原子、氧原子及硫原子之雜原子的雙環芳族雜環基；3至8員環融合且含有至少一個選自氮原子、氧原子及硫原子之雜原子的三環芳族雜環基；及其類似基團。其更特定實例包括呋喃基、噻吩基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、噁唑基、異噁唑基、噁二唑基、噻唑基、異噻唑基、噻二唑基、三唑基、四唑基、吡啶基、吡啶基-1-氧化物、噻嗪基、嘧啶基、吡嗪基、三嗪基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噁唑基、苯并噁二唑基、苯并噻唑基、異吲哚基、吲哚基、吲唑基、苯并咪唑基、苯并三唑基、噁唑并嘧啶基、噻唑并嘧啶基、吡咯并吡啶基、吡咯并嘧啶基、咪唑并吡啶基、咪唑并嘧啶基、三唑并吡啶基、三唑并嘧啶基、嘌呤基、喹啉基、異喹啉基、吡啶基、酞嗪基、喹啉基、喹啉基、喹啉基、喹啉基及其類似基團。其中，較佳雙環芳族雜環基為苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噁唑基、苯并噁二唑基、苯并噻唑基、異吲哚基、吲哚基、吲唑基、苯并咪唑基、苯并三唑基、噁唑并嘧啶基、噻唑并嘧啶基、吡咯并吡啶基、吡咯并嘧啶基、咪唑并吡啶基、咪唑并嘧啶基、三唑并吡啶基、三唑并嘧啶基、嘌呤基、喹啉基、異喹啉基、吡啶基、酞嗪基、喹啉基、喹啉基、喹啉基及其類似基團。

(iv)視情況經取代之低碳烷基的取代基可相同或不同且此等基團之取代基之數目為1至最高可能取代數目，較佳1至3，且取代基之實例包括選自由鹵素、羥基、氰基、羧基、胺甲醯基及其類似基團組成之群的取代基。

(v)視情況經取代之芳族雜環基的取代基可相同或不同且此等基團之取代基之數目為1至最高可能取代數目，較佳1至3，且取代基之實例包括選自由鹵素、羥基、氰基、羧基、胺甲醯基、視情況經取代之芳基(視情況經取代之芳基之取代基之實例包括鹵素、羥基、氰基、羧基、胺甲醯基、C1-10烷基及其類似基團)、視情況經取代之芳

族雜環基(視情況經取代之雜環基之取代基之實例包括鹵素、羥基、氰基、羧基、胺甲醯基、C1-10烷基及其類似基團)組成之群的取代基。

在上述(iv)及(v)中例示之基團中，芳基之實例包括單環芳基及其中兩個或超過兩個環融合之稠合芳基。其更特定實例包括具有6至14個環碳原子之芳基，諸如苯基、萘基、茚基及苯甲醯亞胺。C1-10烷基具有與上述低碳烷基中定義相同的含義。鹵素具有與上述鹵素中定義相同的含義。芳族雜環基具有與上述芳族雜環基中定義相同的含義。

化合物(I)及(II)之醫藥學上可接受之鹽之實例包括醫藥學上可接受之酸加成鹽、金屬鹽、銨鹽、有機胺加成鹽、胺基酸加成鹽及其類似物。酸加成鹽包括無機酸鹽，諸如鹽酸鹽、硫酸鹽及磷酸鹽；以及有機酸鹽，諸如乙酸鹽、順丁烯二酸鹽、反丁烯二酸鹽、酒石酸鹽、檸檬酸鹽、乳酸鹽、天冬胺酸鹽及麩胺酸鹽。金屬鹽包括鹼金屬鹽，諸如鈉鹽及鉀鹽；鹼土金屬鹽，諸如鎂鹽及鈣鹽；以及鋁鹽、鋅鹽及其類似物。銨鹽包括銨、四甲銨及其類似物之鹽。有機胺加成鹽包括嗎啉鹽、哌啶鹽及其類似物。胺基酸加成鹽包括離胺酸鹽、甘胺酸鹽、苯丙胺酸鹽及其類似物。

當需要獲得化合物(I)及(II)之鹽時，若化合物(I)及(II)呈鹽形式獲得，則鹽可原樣純化；且若化合物(I)及(II)呈游離形式獲得，則使其溶解或懸浮於適當溶劑中，接著向其中添加酸或鹼以形成鹽。

化合物(I)及(II)中可存在異構體，諸如位置異構體、幾何異構體或光學異構體。包括此等異構體之所有可能異構體及異構體以任何比率之混合物可用作本發明之IDO抑制物。

化合物(I)及(II)或其醫藥學上可接受之鹽可呈與水或各種溶劑之加合物之形式存在。此等加合物亦可用作本發明之IDO抑制物。

化合物(I)、(II)及具有ADCC活性之抗體單次投予可能不會產生足夠治療結果，且高劑量投予以上化合物亦可能引起副作用。

藉由組合以上化合物(I)或(II)以及具有ADCC活性之抗體，本發明提供比投予任一化合物更佳之治療結果，且接著以上化合物(I)或(II)及具有ADCC活性之抗體任一者可以低劑量使用。

因此，本發明不僅提供足夠治療作用，且亦減少副作用。

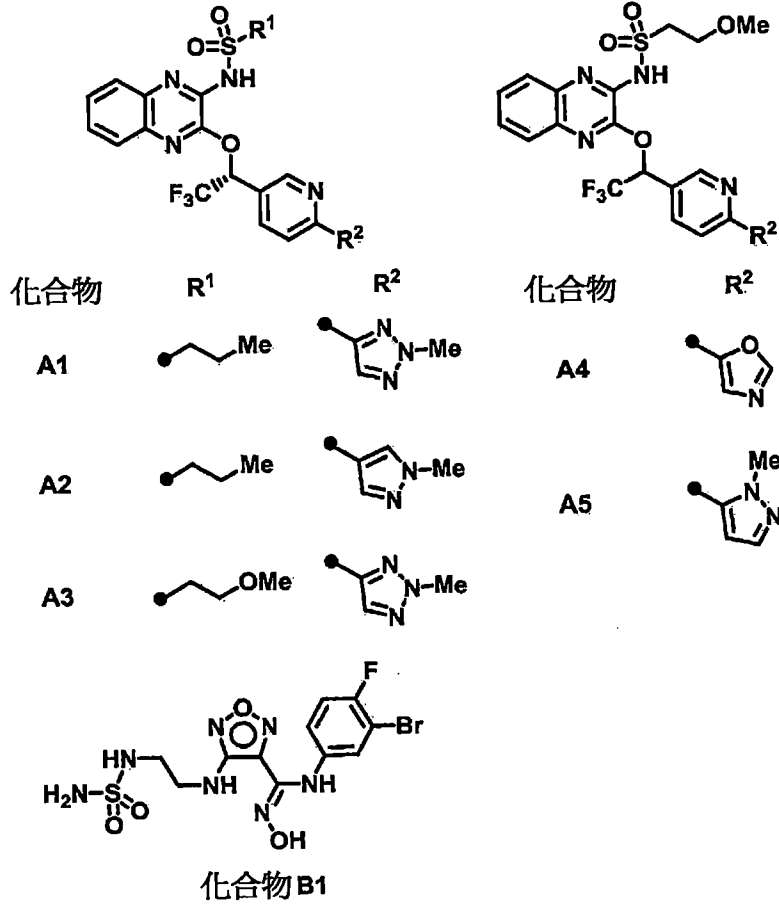
本發明中使用之化合物(I)及(II)或其醫藥學上可接受之鹽可基於例如WO2011/42316及WO2010/05958中描述之方法合成。

本發明中使用之化合物(I)及(II)之實例分別包括化合物A1至A5、化合物B1及其類似物。

在以下表A中，Me表示甲基。

{化學式33}

表A



本發明之抗體特異性結合於CCR4、HER2、人類CD20、EGFR、

FOLR1、人類IL-3R α 或人類TIM-3。

在本發明中ADCC活性為其中結合於細胞表面上之CCR4、HER2、人類CD20、EGFR、FOLR1、人類IL-3R α 或人類TIM-3的抗體經由Fc部分結合於主要自然殺手細胞(下文中稱為NK細胞)之表面上Fc γ RIIIa的細胞溶解反應，因此，該反應由細胞毒性分子產生，諸如穿孔蛋白及顆粒酶，自NK細胞釋放[Clark M, Chemical Immunology, 65, 88 (1997); Gorter A等人, Immunol. Today, 20, 576 (1999)]。

本發明中使用之抗體與CCR4、HER2、人類CD20、EGFR、FOLR1、人類IL-3R α 、人類TIM-3之特異性結合可藉由能夠調查特定抗原及抗體與該特定抗原之結合的方法來證實，諸如酶聯結免疫吸附分析法(ELISA)，使用固相CCR4、HER2、人類CD20、EGFR、FOLR1、人類IL-3R α 或人類TIM-3，西方墨點法或免疫組織化學(IHC)，或藉由已知之免疫偵測方法或表現CCR4、表現HER2、表現人類CD20、表現EGFR、表現FOLR1、表現人類IL-3R α 或表現人類TIM-3之細胞的螢光細胞染色方法。

特異性結合於人類葉酸受體1 (FOLR1)之抗體描述於WO2014/087863及WO2015/186823中。特異性結合於人類IL-3R α 之抗體描述於WO2010/126066中。特異性結合於人類TIM-3之抗體描述於WO2011/155607中。

本發明中使用之以下抗體可基於例如WO2014/087863中描述之方法產生：

(A1)特異性結合於FOLR1之抗體，

(A2)特異性結合於FOLR1之單株抗體，以及

(A3)選自以下(a1)-(c1)之特異性結合於FOLR1之單株抗體：

(a1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由

SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列；

(b1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列，且由SEQ ID NO. 3表示之胺基酸序列(抗體H鏈之CDR3)中之半胱胺酸經蘇胺酸、甲硫胺酸、異白胺酸、纈胺酸、苯丙胺酸或麩醯胺酸取代；以及

(c1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈包含由SEQ ID NO. 7表示之胺基酸序列，且該抗體L鏈包含由SEQ ID NO. 8表示之胺基酸序列。

本發明中使用之以下抗體可基於例如WO2010/126066中描述之方法產生：

(B1)特異性結合於人類IL-3R α 之抗體，

(B2)根據(B1)之抗體，其不抑制IL-3信號傳導且結合於該人類IL-3R α 鏈之B域，但不結合於該人類IL-3R α 鏈之C域，

(B3)根據(B2)之抗體，其包含分別選自由以下(a2)至(e2)組成之群的重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列；

(a2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:9至11之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:24至26之胺基酸序列，

(b2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:12至14之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:27至29之胺基酸序列，

(c2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:15至17之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:30至32之胺基酸序列，

(d2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:18至20之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:33至35之胺基酸序列，以及

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列，

以及

(B4)根據(B2)之抗體，其包含由以下(e2)組成之重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列；

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

本發明中使用之以下抗體可基於例如WO2011/155607中描述之方法產生：

(C1)特異性結合於人類TIM-3之抗體，

(C2)特異性結合於人類TIM-3之單株抗體，其結合於人類TIM-3之胞外區，

(C3)根據(C2)之單株抗體，其為選自由以下(i)至(iii)組成之群的單株抗體：

(i)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:39至41表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:42至44表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(ii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:45至47表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:48至50表示之胺基酸序列的抗體L鏈，以及

(iii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:51至53表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:54至56表示之胺基酸序列的抗體L鏈，以及

(C4)根據(C2)之單株抗體，其為選自由以下(a3)及(b3)組成之群的單株抗體：

(a3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:57表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:58表示之胺基酸序列的抗體VL，以及

(b3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:59表示之胺基酸

序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:60表示之胺基酸序列的抗體VL。

本發明之IDO抑制物與特異性結合於CCR4、HER2、人類CD20或EGFR之抗體的組合可用於治療表現CCR4、HER2、人類CD20或EGFR之任何腫瘤。而且本發明之IDO抑制物與特異性結合於FOLR1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體的組合亦可用於治療腫瘤。

與FOLR1相關之腫瘤之實例包括血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌、間皮瘤、胰臟癌及其類似癌症。與FOLR1相關之腫瘤的較佳實例包括卵巢癌。

與人類IL-3R α 相關之腫瘤之實例包括急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴細胞性白血病、非典型白血病、慢性淋巴細胞性白血病、成人T細胞白血病、NK/T細胞淋巴瘤、顆粒狀淋巴細胞增多症(LGL白血病)、真性紅血球增多症、原發性血小板增多症、嗜伊紅白血球增多症候群、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、MALT淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、淋巴母細胞性淋巴瘤、卡斯特萊曼氏疾病及其類似腫瘤。與人類IL-3R α 相關之腫瘤之較佳實例包括急性骨髓性白血病(AML)。

與人類TIM-3相關之腫瘤之實例包括血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌、胰臟癌及其類似癌症。與人類TIM-3相關之腫瘤之較佳實例包括急性骨髓性白血病(AML)。

腫瘤之實例包括造血腫瘤、卵巢癌、乳癌、子宮體癌、子宮頸癌、前列腺癌、膀胱癌、腎癌、胃癌、食道癌、肝癌、膽管癌、結腸癌、直腸癌、胰臟癌、肺癌、頭頸癌、骨肉瘤、黑色素瘤及腦腫瘤。

造血腫瘤之實例包括急性白血病、慢性白血病、霍奇金氏病(或

霍奇金氏淋巴瘤)、非霍奇金氏病(或非霍奇金氏淋巴瘤)及其類似腫瘤。

急性白血病之實例包括急性淋巴性白血病及其類似白血病，且急性淋巴性白血病之實例包括前B細胞急性淋巴性白血病、前T細胞急性淋巴性白血病及其類似白血病。

慢性白血病之實例包括慢性淋巴性白血病及其類似白血病。

非霍奇金氏病之實例包括T細胞及NK細胞淋巴瘤、B細胞淋巴瘤及其類似淋巴瘤，且T細胞及NK細胞淋巴瘤之實例包括前驅T淋巴母細胞白血病/淋巴瘤、成熟T細胞腫瘤及其類似淋巴瘤。

B細胞淋巴瘤之實例包括伯基特氏淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤及其類似淋巴瘤。

成熟T細胞腫瘤之實例包括T細胞前淋巴細胞性白血病、T細胞大顆粒淋巴細胞性白血病、塞紮萊症候群(Sezary syndrome)、蕁樣真菌病、原發性皮膚多形性大細胞淋巴瘤、皮下脂層炎樣T細胞淋巴瘤、腸病型T細胞淋巴瘤、肝脾 $\gamma\delta$ T細胞淋巴瘤、血管免疫母細胞T細胞淋巴瘤、外周T細胞淋巴瘤、皮膚T細胞淋巴瘤、多形性大細胞淋巴瘤、成人T細胞白血病/淋巴瘤及其類似腫瘤。

霍奇金氏淋巴瘤之實例包括結節性淋巴細胞為主之霍奇金氏淋巴瘤、經典霍奇金氏淋巴瘤及其類似霍奇金氏淋巴瘤。經典霍奇金氏淋巴瘤之實例包括結節硬化型霍奇金氏淋巴瘤、富含淋巴細胞之經典霍奇金氏淋巴瘤、混合細胞型霍奇金氏淋巴瘤、淋巴細胞性耗盡型霍奇金氏淋巴瘤及其類似霍奇金氏淋巴瘤。

特異性結合於CCR4、HER2、人類CD20、EGFR、FOLR1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體的劑量視所需治療作用、投予途徑、治療時間、年齡、體重及其類似因素而變化。且成人的特異性結合於CCR4、HER2、人類CD20、EGFR、FOLR1、人類IL-3R α 或人類TIM-

3之抗體的劑量一般為每劑0.1至100 mg/kg或0.1至400 mg/m²。較佳地，在臨床實踐中包含與特異性結合於CCR4、HER2、人類CD20、EGFR、FOLR1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體一起投予之IDO抑制物的藥物等於或少於單獨投予。

特異性結合於CCR4、HER2、人類CD20、EGFR、FOLR1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體之投予頻率為每兩週或每週一次。

IDO抑制物與本發明抗體之組合的作用可使用根據以下「2.4測試程序」之方法研究。藉由使用該方法且比較投予單獨IDO抑制物之作用與本發明之IDO抑制物與抗體之組合的作用，可評估組合之作用。

待使用之培養細胞的實例包括TL-Om1細胞。TL-Om1細胞來源於成人T細胞白血病患者，且可用作人類成人T細胞白血病之模型。

待使用之培養細胞之實例包括HH細胞。HH細胞來源於皮膚T細胞淋巴瘤患者，且可用作皮膚T細胞淋巴瘤之模型。

待使用之培養細胞的實例包括SK BR-3細胞。SK BR-3細胞來源於乳癌患者，且可用作乳癌模型。

待使用之培養細胞之實例包括Raji細胞。Raji細胞來源於伯基特氏淋巴瘤患者，且可用作伯基特氏淋巴瘤之模型。

待使用之培養細胞的實例包括A431細胞。A431細胞來源於表皮樣癌患者，且可用作EGFR陽性腫瘤之模型。

待使用之培養細胞之實例包括SKOV3細胞。SKOV3細胞來源於卵巢癌患者，且可用作卵巢癌之模型。

待使用之培養細胞的實例包括KG-1細胞。KG-1細胞來源於急性骨髓性白血病患者且可用作急性骨髓性白血病之模型。

待使用之培養細胞之實例包括EoL-1細胞，其為EoL-1/人類TIM-3之親本株系。EoL-1細胞來源於急性骨髓性白血病患者，且EoL-1/人

類TIM-3可用作急性骨髓性白血病之模型。只要本發明之組合為諸如化合物(I)、(II)或其醫藥學上可接受之鹽之IDO抑制物與特異性結合於CCR4、HER2、人類CD20、EGFR、FOLR1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體的組合，該組合即可呈單一藥劑(混合物)或呈多個製劑之組合使用、投予或產生。

單一藥劑(混合物)或製劑理想地具有適合於經口投予或非經腸投予，諸如注射之單位劑型。當使用或投予複數個製劑之組合時，製劑可一同或以一定時間間隔分開使用。

製劑可藉由普通方法，除活性成分之外，使用醫藥學上可接受之稀釋劑、賦形劑、崩解劑、潤滑劑、黏合劑、界面活性劑、水、生理食鹽水、植物油增溶劑、等滲劑、防腐劑、抗氧化劑及其類似物產生。

當製備錠劑時，例如，諸如乳糖之賦形劑、諸如澱粉之崩解劑、諸如硬脂酸鎂之潤滑劑、諸如羥基丙基纖維素之黏合劑、諸如脂肪酸酯之界面活性劑、諸如丙三醇之塑化劑及其類似物可以通常方式使用。

當製備注射液時，例如水、生理食鹽水、植物油、溶劑、增溶劑、等滲劑、防腐劑、抗氧化劑及其類似物可以通常方式使用。

當化合物(I)、(II)或其醫藥學上可接受之鹽用於達成上述目的時，其可呈注射液或其類似物經口或非經腸投予。有效劑量及其劑量次數可視投予形式、患者之年齡、體重、症狀及其類似因素而變。化合物(I)、(II)或其醫藥學上可接受之鹽之日劑量通常為0.01至100 mg/kg、較佳0.08至100 mg/kg。

測試實例1

1 概述

在此研究中，使用人類外周血單核細胞(PBMC)或經純化之NK細胞

胞檢驗IDO1活性對抗體依賴性細胞毒性(ADCC)之作用。在ADCC分析前，人類PBMC在KATO-III細胞培養物之條件培養基中培育。為檢查IDO1活性之作用，將IFN- γ 及/或IDO1抑制物(化合物A1及化合物B1)添加至KATO-III細胞培養物中。

當人類PBMC或經純化之NK細胞在經IFN- γ 刺激之KATO-III細胞之條件培養基中預先培育時，與缺乏IFN- γ 刺激下相比，莫格利珠單抗之ADCC減弱。化合物A1或化合物B1消除此減弱，表明ADCC之減弱由IDO1活性誘導。當曲妥珠單抗、利妥昔單抗及西妥昔單抗用作ADCC誘導抗體時觀測到類似結果。

2 材料與方法

2.1 測試及對照物品

2.1.1 化合物A1

化合物A1作為WO2011/142316中實例62之化合物64A獲得，且使化合物A1溶解於二甲亞砜(DMSO)中，濃度為100 mmol/L，作為儲備溶液，且保持在冷凍狀態下直至使用。化合物A1之儲備溶液用分析培養基(部分2.4.2)稀釋。

2.1.2 化合物B1

化合物B1作為WO2010/005958中實例1之「4-({2-[(胺基磺醯基)胺基]乙基}胺基)-N-(3-溴基-4-氟苯基)-N'-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒」獲得。使化合物B1溶解於DMSO中，濃度為100 mmol/L，作為儲備溶液，且保持在冷凍狀態下直至使用。化合物B1之儲備溶液用分析培養基(部分2.4.2)稀釋。

2.1.3 莫格利珠單抗

莫格利珠單抗藉由WO2011030841中描述之KM8760之類似產生方法產生。該溶液(9.7 mg/mL)用分析培養基(部分2.4.2)稀釋。

2.1.4 曲妥珠單抗

曲妥珠單抗(Herceptin(R)，440 mg，批號N3566B01 B2060)購自 F. Hoffmann-La Roche。該溶液(9.7 mg/mL)用分析培養基(部分2.4.2)稀釋。

2.1.5 利妥昔單抗

利妥昔單抗(Mabthera(R)，10 mg/mL，批號B6061B01)購自 F. Hoffmann-La Roche。該溶液(10 mg/mL)用分析培養基(部分2.4.2)稀釋。

2.1.6 西妥昔單抗

西妥昔單抗(ERBITUX(R)，5 mg/mL，批號MG1201)購自 Merck Serono。該溶液(5 mg/mL)用分析培養基(部分2.4.2)稀釋。

2.2 用於定量犬尿胺酸及色胺酸之標準物品、內標及試劑

2.2.1 標準物品

L-色胺酸(Trp，批號PDQ6460)購自 Wako Pure Chemical Industries。L-犬尿胺酸(Kyn，批號BCBJ6934V)購自 Sigma-Aldrich。

使Trp及Kyn溶解於水中以製備濃度為10 mmol/L之儲備溶液。將儲備溶液儲存在4°C下直至使用。

2.2.2 內標

L-犬尿胺酸(環-D4) (d4-Kyn，批號L-KYNU-D4-005)購自 Buchem B.V.。L-色胺酸(吲哚-D5，98%) (d5-Trp，批號I-15891)購自 Cambridge Isotope Laboratories。使d4-Kyn及d5-Trp溶解於水中以製備濃度為10 mmol/L之儲備溶液。將儲備溶液儲存在4°C下。將d4-Kyn及d5-Trp之儲備溶液用水稀釋且混合以製備IS溶液(含有0.6 μmol/L d4-Kyn及2 μmol/L d5-Trp)。將IS溶液儲存在4°C下直至使用。在臨使用之前將IS溶液與三氟乙酸(TFA)混合以製備IS/TFA溶液(5/1，v/v)。

2.2.3 試劑

HPLC級別之甲醇、TFA及甲酸購自 Wako Pure Chemical

Industries, Ltd.。除非另外說明，否則所有使用之其他試劑均為分析級別。

2.3 測試系統

人類胃癌細胞株KATO-III (86093004)自DS Pharma Biomedical Co., Ltd獲得。成人T細胞白血病/淋巴瘤細胞株TL Om1 (TKG0289)自生物醫學研究細胞資源中心(Cell Resource Center for Biomedical Research)獲得。人類皮膚T細胞淋巴瘤細胞株HH (CRL-2105)、人類乳癌細胞株SK BR 3 (HTB30)及人類淋巴瘤細胞株Raji (CCL-86)自ATCC獲得。人類表皮樣癌細胞株A431 (JCRB0004)自JCRB獲得。

人類胃癌細胞株KATO-III (86093004)用含有10 vol%熱不活化胎牛血清(Invitrogen, 目錄號10099-141, 批號1108863)及1 vol%青黴素-鏈黴素(nacalai tesque, 目錄號26253-84)之RPMI1640 (Invitrogen, 目錄號11875-093)繼代培養。成人T細胞白血病/淋巴瘤細胞株TL-Om1 (TKG 0289)用含有20 vol%熱不活化胎牛血清及1 vol%青黴素-鏈黴素之RPMI1640繼代培養。將人類皮膚T細胞淋巴瘤細胞株HH (CRL-2105)用含有10 vol%熱不活化胎牛血清、10 mmol/L HEPES (nacalai tesque, 目錄號17557-94)、1 mmol/L 丙酮酸鈉(Invitrogen, 目錄號11360-070)及1 vol%青黴素-鏈黴素之RPMI1640繼代培養。將人類乳癌細胞株SK-BR-3 (HTB30)用含有10 vol%熱不活化胎牛血清及1 vol%青黴素-鏈黴素之McCoy's 5A (Invitrogen, 目錄號16600-082)繼代培養。將人類淋巴瘤細胞株Raji (CCL-86)用含有10 vol%熱不活化胎牛血清、4.5 g/L D-(+)-葡萄糖(Sigma-Aldrich, 目錄號G8769)、10 mmol/L HEPES及1 vol%青黴素-鏈黴素之RPMI1640繼代培養。將人類表皮樣癌細胞株A431 (JCRB0004)用含有10 vol%熱不活化胎牛血清及1 vol%青黴素-鏈黴素之DMEM (Invitrogen, 目錄號11995-065)繼代培養。

在製備條件培養基時，將所有細胞在含有10 vol%熱不活化透析胎牛血清之RPMI1640 (Invitrogen，目錄號30067334)中培養。

來自3名個體之冷凍人類外周血單核細胞(PBMC)購自Allcells [批號A3457 (供體1)及批號A3951 (供體2)]及Precision Bioservices [批號13096 (供體3)]，且分開使用。

2.4 測試程序

2.4.1 製備條件培養基

將KATO-III細胞(1.25×10^6 個細胞)用25 ng/mL重組人類IFN- γ 處理。化合物A1或化合物B1以100 nmol/L之最終濃度添加。細胞在CO₂培育箱中培育。三天後，藉由離心分離細胞與上清液。上清液用作條件培養基。條件培養基用於培育人類PBMC或NK細胞(部分2.4.2)及量測Kyn及Trp (部分2.4.4)。Kyn及Trp之濃度展示於圖1中。

條件培養基1：KATO-III細胞

條件培養基2：KATO-III細胞 + IFN- γ

條件培養基3：KATO-III細胞 + IFN- γ + 化合物A1

條件培養基4：KATO-III細胞 + IFN- γ + 化合物B1

2.4.2 ADCC

使用NK分離套組(Miltenyi Biotec，目錄號130-092-657)及autoMACS儀器將NK細胞自人類PBMC分離。將人類PBMC或NK細胞在CO₂培育箱中條件培養基(部分2.4.1)中培養。7天後，收穫細胞且計數，且用作效應細胞。使用作效應細胞之PBMC及NK細胞懸浮於分析培養基(含有10 vol%熱不活化胎牛血清及1 vol%青黴素-鏈黴素之RPMI1640)至 5×10^6 個細胞/毫升(PBMC)或 4×10^5 個細胞/毫升(NK細胞)。在CO₂培育箱中在37°C下將TL-Om1細胞、HH細胞、SK-BR-3細胞、Raji細胞或A431細胞(1×10^6 個細胞/每個細胞株)用1.85 MBq Na²⁵¹CrO₄ (PerkinElmer)標記超過1小時。將細胞用分析培養基洗滌3

次。使用作標靶細胞之放射性標記細胞懸浮於5 mL分析培養基中至 2×10^5 個細胞/毫升。將莫格利珠單抗、曲妥珠單抗、利妥昔單抗或西妥昔單抗連續用分析培養基自30 $\mu\text{g/mL}$ 稀釋10倍至0.3 $\mu\text{g/mL}$ (最終濃度：10 $\mu\text{g/mL}$ 至0.1 $\mu\text{g/mL}$)。將五十微升標靶細胞(1×10^4 個細胞)塗鋪至96孔圓底培養盤中且與50 μL 如上所述製備之抗體稀釋液及50 μL 效應細胞(2.5×10^5 個細胞)混合。將培養盤在4°C下簡單離心且在CO₂培育箱中在37°C下培育約4小時。在4°C下離心5分鐘後，將上清液轉移至LumaPlate (PerkinElmer)且充分乾燥。將放射能用微量培養盤閃爍計數器(TopCount NXT, PerkinElmer)計數。

2.4.3 NK細胞之流動式細胞量測分析

將人類PBMC在CO₂培育箱中在條件培養基中培養。7天後，收穫細胞且用Fixable Viability Dye eFluor(R) 506 (eBioscience, 目錄號65-0866-14)染色。用MACS緩衝液[含有1 w/v% BSA之autoMACS沖洗溶液(Miltenyi Biotec, 目錄號130-091-222)]洗滌兩次後，將細胞用PerCP抗人類CD3抗體(Biolegend, 目錄號300428)、FITC抗人類CD16抗體(BD Pharmingen™, 目錄號556618)及PE/Cy7抗人類CD56抗體(BD Pharmingen™, 目錄號557747)染色。用MACS緩衝液洗滌兩次後，使細胞懸浮於200 μL MACS緩衝液且藉由FACSVerse™ (BD Biosciences)藉助於FACSuite軟體分析。CD3-細胞(NK細胞)中CD16+CD56+細胞之比例藉由FlowJo軟體(7.6.5版, FlowJo)測定。根據製造商之說明書進行所有染色過程。CD3-細胞中CD16+CD56+細胞之比例展示於圖2之A、B、C及D。

2.4.4 樣品中Kyn及Trp之定量

2.4.4.1 樣品之預處理

將五十微升條件培養基(部分2.4.1)與60 μL 冰冷IS/TFA溶液(5/1, v/v)混合，且將混合物離心($5000 \times g$, 室溫, 10分鐘)。將六十微升上

清液與50 µL 0.05 vol%甲酸/甲醇 = 75/25 (v/v)混合，且將所得混合物注射至液相層析串聯質譜分析(LC/MS/MS)系統中。

2.4.4.2校正標準樣品之製備

藉由用水稀釋Trp及Kyn儲備溶液製備校正標準溶液。校正標準溶液之濃度範圍為0.1至500 (Trp)及0.05至200 (Kyn) µmol/L，且將此等儲存在4°C下。對於空白樣品，使用水代替校正標準溶液。藉由與部分2.4.4.1中所述相同之程序，預處理50 µL校正標準溶液及空白樣品。

2.4.4.3 LC/MS/MS分析

<分析系統>

LC：Agilent 1200 (Agilent Technologies)
自動進樣器：HTC PAL (CTC Analytics)
MS/MS：API5000 (AB SCIEX)
分析軟體：Analyst 1.6.1 (AB SCIEX)
管柱：Atlantis T3 (3 µm，4.6 mm × 75 mm，Waters)
預過濾器：A-103x (0.5 µm Upchurch Scientific)
管柱溫度：室溫

<LC條件>

移動相A：0.05 vol%甲酸
移動相B：甲醇

<LC條件>

移動相A：0.05 vol%甲酸
移動相B：甲醇

時間 (min)	流速 (mL/min)	A (vol%)	B (vol%)
0	0.6	95	5
0.2	0.6	95	5
3.5	0.6	30	70
3.51	0.6	10	90
5	0.6	10	90
5.01	0.6	95	5
7	0.6	95	5

{表1}

注射體積：10 μ L

<MS/MS條件>

電離模式：電噴霧電離，正

源溫：500°C

偵測：多反應監測

監測離子：

{表2}

	Q1質量(m/z)	Q3質量(m/z)	去簇電位(V)	碰撞能量 (eV)
Trp	205.1	146.4	140	40
Kyn	209.0	94.2	20	20
IS (d ₅ -Trp)	209.8	150.2	140	30
IS (d ₄ -Kyn)	212.8	98.3	20	20

2.5 用於分析原始數據之方法

Analyst軟體(1.6.1版，AB SCIEX)用於計算Trp及Kyn之濃度。藉由最小平方線性回歸[Y = aX + b；Y，峰面積比率；X，濃度；加權因子，1/Y²]，自獲自校正標準樣品之峰面積比(分析物/IS)構築校準曲線。空白樣品不包括於回歸分析中。

個別計算樣品中之Kyn及Trp濃度。低於定量下限之值視為0 μ mol/L。

根據下式計算細胞毒性之百分比：

{數學式1}

$$\text{細胞毒性}\% = (E-S)/(M-S) \times 100$$

E為實驗釋放放射能(cpm)，S為藉由添加分析培養基代替效應細胞及抗體，自發釋放之放射能之平均值(cpm)，且M為藉由添加10 vol% TritonTM X-100 (Sigma-Aldrich，目錄號T9284-100ML)，最大釋放放射能之平均值(cpm)。在每個抗體濃度下之細胞毒性呈現為一式三份之平均值。

3 結果

3.1 化合物A1及化合物B1對Kyn產生及Trp消耗之作用

為證實KATO-III細胞中之IDO1活性，量測KATO-III細胞培養基

之條件培養基中Kyn及Trp之濃度。如圖1A及圖1B中所示，與條件培養基1 (KATO-III細胞)相比，在條件培養基2 (KATO-III細胞 + IFN- γ)中觀測到Kyn濃度增加及Trp濃度減少。當KATO-III細胞用作為IDO1抑制物之化合物A1 (條件培養基3)或化合物B1 (條件培養基4)處理時，在IFN- γ 存在下，Kyn產生及Trp消耗得到抑制(圖1A及圖1B)。

3.2 NK細胞之偵測

在人類PBMC與各條件培養基一起培育後，證實NK細胞(CD3-/CD16+ /CD56+細胞)之存在。如圖2中所示，在與所有條件培養基一起培育之PBMC中偵測到NK細胞。

3.3 IDO1活性對ADCC之作用

為檢查IDO1活性對ADCC之作用，量測在各條件培養基中預先培育之人類PBMC之ADCC。當來自供體1及供體2之人類PBMC在條件培養基2中預先培育時，與條件培養基1相比，莫格利珠單抗針對TL-Om1細胞之ADCC減弱(圖3A及3B)。化合物A1或化合物B1消除該減弱；來自供體1及供體2之在條件培養基3或4中預先培育之人類PBMC的ADCC幾乎與條件培養基1中相同。當使用其他標靶細胞及抗體時觀測到類似結果；所有測試之莫格利珠單抗、曲妥珠單抗、利妥昔單抗及西妥昔單抗分別針對HH細胞、SK-BR-3細胞、Raji細胞及A431細胞之ADCC藉由人類PBMC與條件培養基2一起預先培育而減弱，且化合物A1或化合物B1消除該減弱(圖3B、圖4、圖5及圖6)。

為證實條件培養基2對ADCC之減弱並非因為PBMC中NK細胞之比例減少，量測在各條件培養基中預先培育之經純化NK細胞的ADCC。類似於圖3，在條件培養基2中預先培育之NK細胞的莫格利珠單抗之ADCC減弱，且化合物A1或化合物B1消除此減弱(圖7)。當使用利妥昔單抗、Raji細胞及經純化之人類NK細胞時觀測到類似結果(圖8)。

此外，為調查化合物A1或化合物B1本身對ADCC之作用，將人類PBMC在含有100 nmol/L化合物A1或化合物B1之培養基中預先培育7天。如圖9中所示，化合物A1或化合物B1不影響莫格利珠單抗之ADCC。

4 討論

本研究之結果展示IDO1活性減弱ADCC且IDO1抑制物消除此減弱。在先前研究中，其提出Trp代謝物，諸如Kyn，減少NK細胞數目[J Exp Med. 2002;196(4):447-57]。在本研究中，在各條件培養基中預先培育之PBMC中NK細胞在ADCC分析前為活的(圖2)。

此外，當使用經純化之NK細胞時觀測到ADCC減弱(圖7及8)。在此情況下，已計數NK細胞數目且每組中相同數目之NK細胞用於量測ADCC。此等數據表明認為IDO1活性對ADCC之減弱歸因於NK細胞功能之抑制，而非NK細胞數目之減少。

當使用曲妥珠單抗、利妥昔單抗及西妥昔單抗時觀測到ADCC減弱，表明IDO活性對ADCC之減弱將無論抗體格式如何，亦即未岩藻糖基化IgG1及岩藻糖基化IgG1，均將發生。

觀測到在KATO-III細胞之條件培養基中在IFN- γ 存在下Kyn濃度增加及Trp濃度減少(圖1)且化合物A1或化合物B1抑制Kyn濃度增加及Trp減少。此外，化合物A1或化合物B1本身不影響ADCC (圖9)。綜合而言，條件培養基中Kyn產生或Trp消耗將減弱NK細胞功能。

測試實例2

5 概述

在此研究中，使用人類外周血單核細胞(PBMC)檢驗IDO1活性對莫格利珠單抗之抗體依賴性細胞毒性(ADCC)之作用。在ADCC分析前，將人類PBMC在親本KATO-III或穩定表現IDO1 shRNA或陰性對照shRNA之KATO-III細胞之條件培養基中在IFN- γ 缺乏或存在下培

育。

當人類PBMC在親本KATO-III或穩定表現陰性對照shRNA之KATO-III細胞之條件培養基中在IFN- γ 存在下預先培育時，與缺乏IFN- γ 相比，人類PBMC之莫格利珠單抗之ADCC減弱。在人類PBMC在穩定表現IDO1 shRNA之KATO-III細胞之條件培養基中在IFN- γ 存在下預先培育之情況下，ADCC不減弱，表明ADCC之減弱由IDO1活性引起。

6 引言

已知IDO1在腫瘤或微環境中表現，且在免疫抑制機制中起重要調節作用，免疫抑制機製造成腫瘤逃脫宿主免疫監視[Nat Rev Cancer. 2009;9(6):445-52]。已報導色胺酸(Trp)代謝物，諸如犬尿胺酸(Kyn)，誘發NK細胞死亡[J Exp Med. 2002;196(4):447-57]，且藉由抑制NK細胞受體表現來減弱NK細胞之細胞毒性[Blood. 2006;108(13):4118-25]。因此，有可能IDO1活性影響抗體依賴性細胞毒性(ADCC)。

在此研究中，使用IDO1基因表現阻斷技術，檢驗IDO1活性對莫格利珠單抗之ADCC的作用。

7 材料與方法

7.1 測試及對照物品

7.1.1 莫格利珠單抗

莫格利珠單抗藉由WO2011030841中描述之KM8760之類似產生方法產生。該溶液(9.7 mg/mL)用分析培養基(部分7.4.5)稀釋。

7.2 用於定量犬尿胺酸及色胺酸之標準物品、內標及試劑

7.2.1 標準物品

L-色胺酸(Trp，批號PDQ6460)購自Wako Pure Chemical Industries。L-犬尿胺酸(Kyn，批號BCBJ6934V)購自Sigma-Aldrich。

使Trp及Kyn溶解於水中以製備濃度為10 mmol/L之儲備溶液。將

儲備溶液儲存在4°C下直至使用。

7.2.2 內標

L-犬尿胺酸(環-D4) (d4-Kyn, 批號L-KYNU-D4-005)購自Buchem B.V.。L-色胺酸(吲哚-D5, 98%) (d5-Trp, 批號I-15891)購自Cambridge Isotope Laboratories。使d4-Kyn及d5-Trp溶解於水中以製備濃度為10 mmol/L之儲備溶液。將儲備溶液儲存在4°C下。將d4-Kyn及d5-Trp之儲備溶液用水稀釋且混合以製備IS溶液(含有0.6 μmol/L d4-Kyn及2 μmol/L d5-Trp)。將IS溶液儲存在4°C下直至使用。在臨使用之前將IS溶液與三氟乙酸(TFA)混合以製備IS/TFA溶液(5/1, v/v)。

7.2.3 試劑

HPLC 級別之甲醇、TFA及甲酸購自Wako Pure Chemical Industries, Ltd.。除非另外說明，否則所有使用之其他試劑均為分析級別。

7.3 測試系統

人類胃癌細胞株KATO-III (86093004)自DS Pharma Biomedical Co., Ltd.獲得。TL Om1 (TKG0289)自生物醫學研究細胞資源中心獲得。

人類胃癌細胞株KATO-III (86093004)用含有10 vol%熱不活化胎牛血清(Invitrogen, 目錄號10099-141, 批號1108863)及1 vol%青黴素-鏈黴素(nacalai tesque, 目錄號26253-84)之RPMI1640 (Invitrogen, 目錄號11875-093)繼代培養。成人T細胞白血病/淋巴瘤細胞株TL-Om1 (TKG0289)用含有20 vol%熱不活化胎牛血清及1 vol%青黴素-鏈黴素之RPMI1640繼代培養。

在製備條件培養基時，使細胞懸浮於含有10 vol%熱不活化透析胎牛血清之RPMI1640 (Invitrogen, 目錄號30067334)中。冷凍人類外周血單核細胞(PBMC)購自Allcells (批號A3951)。

7.4 測試程序

7.4.1 慢病毒感染

將四種靶向人類IDO1之不同shRNA慢病毒粒子IDO1 [IDO1 shRNA #44、#45、#46及#47 (Sigma-Aldrich，目錄號 SHCLNV)]、空的載體對照慢病毒粒子[載體(Sigma-Aldrich，目錄號SHC001)]或陰性對照shRNA慢病毒粒子[NegaCTRL shRNA (Sigma-Aldrich，目錄號SHC202)]接種在RetroNectin®培養皿(TAKARA BIO，目錄號T110A)中。將KATO-III細胞(1×10^5 個細胞)添加至每個培養皿中且在CO₂培育箱中培育。感染細胞在含有嘌呤黴素(0.25 $\mu\text{g/mL}$)之培養基中選擇一週。藉由即時定量PCR (qPCR，部分7.4.2)及西方墨點分析(部分7.4.3)評估IDO1之基因表現阻斷。

7.4.2 qPCR分析

將親本KATO-III或穩定表現IDO1 shRNA、載體或NegaCTRL shRNA之KATO-III細胞(9×10^3 個細胞)用25 ng/mL重組人類IFN- γ 處理。

將細胞在CO₂培育箱中培育約24小時。使用TaqMan(R) Gene Expression Cells-to-CTTM 套組 (Applied Biosystems，目錄號AM1728)，根據製造商說明書進行總RNA提取及cDNA合成。接著藉由qPCR分析，使用對人類IDO1具有特異性之引子 (Applied Biosystems，目錄號4331182)及HPRT1 (Applied Biosystems，目錄號4448489)分析cDNA樣品。

7.4.3 西方墨點分析

將親本KATO-III或穩定表現IDO1 shRNA、載體或NegaCTRL shRNA之KATO-III細胞(5.4×10^5 個細胞)用25 ng/mL重組人類IFN- γ 處理。

將細胞在CO₂培育箱中培育。3天後，收穫細胞且溶解於冰上100

μ L溶解緩衝液[NP40細胞溶解緩衝液(Invitrogen, 目錄號FNN0221), 含有1 vol%苯基甲烷磺醯氟溶液(Sigma-Aldrich, 目錄號93482)及1 vol%蛋白酶抑制物混合物(Sigma-Aldrich, 目錄號P8340)] 30分鐘或更長時間。溶解物在大約14000×rpm下在4℃下離心10分鐘。使用Pierce™ BCA蛋白質分析套組(Pierce, 目錄號23225)量測上清液之蛋白質濃度。為製備SDS-PAGE樣品, 將每個溶解產物用溶解緩衝液稀釋至相同濃度且與5×樣品緩衝液(Thermo Fisher, 目錄號39000)混合, 使得蛋白質濃度為1.5 μ g/ μ L, 且接著在95℃下加熱5分鐘。每個樣品中之蛋白質藉由SDS-PAGE分離且轉移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜。在用PVDF阻斷緩衝液[對於IDO1 (TOYOBO, 目錄號NYPBR01)]或阻斷緩衝液[對於 β -肌動蛋白(含有0.05 vol% Tween 20之50 mmol/L Tris緩衝生理食鹽水(pH 8.0) (TBST)、5 w/v%脫脂牛奶)]阻斷膜後, 膜與在Can Get Signal溶液1 (TOYOBO, 目錄號NKB-201)中以1/100稀釋之抗IDO抗體(Upstate Biotechnology, 目錄號05-840)或在阻斷緩衝液中以1/3000稀釋之抗 β -肌動蛋白抗體(Sigma-Aldrich, 目錄號061M4808)一起在4℃下培育隔夜。用TBST洗滌三次大約10分鐘後, 將膜與在阻斷緩衝液中以1/2000稀釋之辣根過氧化酶連接之抗小鼠抗體(GE Healthcare, 目錄號NA931V)一起培育約1小時。用TBST洗滌三次大約10分鐘後, 膜浸泡在SuperSignal (R) West Pico Chemiluminescent Substrate (Pierce Biotechnology, 目錄號34080)中。在發光成像分析器LAS3000上, 根據製造商之說明書, 進行化學發光偵測。

7.4.4 製備條件培養基

將親本KATO-III或穩定表現IDO1 shRNA、載體或NegaCTRL shRNA之KATO-III細胞(1.25×10^6 個細胞)用25 ng/mL重組人類IFN- γ 處理。將細胞在CO₂培育箱中培育。三天後, 藉由離心分離細胞與上清

液。上清液用作條件培養基。條件培養基用於培育人類PBMC (部分7.4.5)及量測Kyn及Trp(部分7.4.7)。

條件培養基1：KATO-III細胞(親本)

條件培養基2：KATO-III細胞(NegaCTRL shRNA)

條件培養基3：KATO-III細胞(親本) + IFN- γ

條件培養基4：KATO-III細胞(NegaCTRL shRNA) + IFN- γ

條件培養基5：KATO-III細胞(IDO1 shRNA #44) + IFN- γ

條件培養基6：KATO-III細胞(IDO1 shRNA #45) + IFN- γ

條件培養基7：KATO-III細胞(IDO1 shRNA #46) + IFN- γ

7.4.5 ADCC

將人類PBMC在CO₂培育箱中在各條件培養基(部分7.4.4)中培養。7天後，收穫細胞且計數，且用作效應細胞。使用作效應細胞之PBMC懸浮於分析培養基(含有10 vol%熱不活化胎牛血清及1 vol%青黴素-鏈黴素之RPMI1640)至5×10⁶個細胞/毫升。在CO₂培育箱中在37℃下將TL-Om1細胞(1×10⁶個細胞)用1.85 MBq Na²⁵¹CrO₄ (PerkinElmer)標記超過1小時。將細胞用分析培養基洗滌3次。使用作標靶細胞之放射性標記細胞懸浮於5 mL分析培養基中至2×10⁵個細胞/毫升。將莫格利珠單抗連續用分析培養基自30 µg/mL稀釋10倍至0.3 µg/mL (最終濃度：10 µg/mL至0.1 µg/mL)。將五十微升標靶細胞(1×10⁴個細胞)塗鋪至96孔圓底培養盤中且與50 µL如上所述製備之抗體稀釋液及50 µL效應細胞(2.5×10⁵個細胞)混合。將培養盤在4℃下簡單離心且在CO₂培育箱中在37℃下培育約4小時。在4℃下離心5分鐘後，將上清液轉移至LumaPlate (PerkinElmer)且充分乾燥。將放射能用微量培養盤閃爍計數器(TopCount NXT, PerkinElmer)計數。

7.4.6 NK細胞之流動式細胞量測分析

將人類PBMC在各條件培養基中培養且在CO₂培育箱中培育。7

天後，收穫細胞且用 Fixable Viability Dye eFluor(R) 506 (eBioscience，目錄號65-0866-14)染色。用MACS緩衝液[含有1 w/v% BSA之autoMACS沖洗溶液(Miltenyi Biotec，目錄號130-091-222)]洗滌兩次後，將細胞用 PerCP 抗人類 CD3 抗體 (Biolegend，目錄號300428)、FITC抗人類CD16抗體(BD Pharmingen™，目錄號556618)及PE/Cy7抗人類CD56抗體(BD Pharmingen™，目錄號557747)染色。用MACS緩衝液洗滌兩次後，使細胞懸浮於200 μ L MACS緩衝液且藉由FACSVerse™ (BD Biosciences)藉助於FACSuite軟體分析。CD3-細胞(NK細胞)中CD16⁺ CD56⁺細胞之比例藉由FlowJo軟體(7.6.5版，FlowJo)測定。根據製造商之說明書進行所有染色過程。

7.4.7 樣品中Kyn及Trp之定量

7.4.7.1 樣品之預處理

將五十微升條件培養基(部分7.4.4)與60 μ L冰冷IS/TFA溶液(5/1，v/v)混合，且將混合物離心(5000 $\times$ g，室溫，10分鐘)。將六十微升上清液與50 μ L 0.05 vol%甲酸/甲醇 = 75/25 (v/v)混合，且將所得混合物注射至液相層析串聯質譜分析(LC/MS/MS)系統中。

7.4.7.2 校正標準樣品之製備

藉由用水稀釋Trp及Kyn儲備溶液製備校正標準溶液。校正標準溶液之濃度範圍為1至500 (Trp)及0.05至20 (Kyn) μ mol/L，且將此等儲存在4℃下。對於空白樣品，使用水代替校正標準溶液。藉由與部分7.4.7.1中所述相同之程序，預處理50 μ L校正標準溶液及空白樣品。

7.4.7.3 LC/MS/MS分析

<分析系統>

LC：	Agilent 1200 (Agilent Technologies)
自動進樣器：	HTC PAL (CTC Analytics)
MS/MS：	API5000 (AB SCIEX)
分析軟體：	Analyst 1.6.1 (ABSCIEX)

管柱：Atlantis (3 μm , 4.6 mm × 75 mm , Waters)
預過濾器：A-103x (0.5 μm Upchurch Scientific)
管柱溫度：室溫

<LC條件>

移動相A：0.05 vol%甲酸
移動相B：甲醇

{表3}

時間 (min)	流速 (mL/min)	A (vol%)	B (vol%)
0	0.6	95	5
0.2	0.6	95	5
3.5	0.6	30	70
3.51	0.6	10	90
5	0.6	10	90
5.01	0.6	95	5
7	0.6	95	5

注射體積：10 μL

<MS/MS條件>

電離模式：電噴霧電離，正
源溫：500°C
偵測：多反應監測
監測離子：

{表4}

	Q1質量(m/z)	Q3質量(m/z)	去簇電位(V)	碰撞能量 (eV)
Trp	205.1	146.4	140	40
Kyn	209.0	94.2	20	20
IS (d ₅ -Trp)	209.8	150.2	140	30
IS (d ₄ -Kyn)	212.8	98.3	20	20

7.5 用於分析原始數據之方法

Analyst軟體(1.6.1版，AB SCIEX)用於計算Trp及Kyn之濃度。藉由最小平方線性回歸[Y = aX + b；Y，峰面積比率；X，濃度；加權因子，1/Y²]，自獲自校正標準樣品之峰面積比(分析物/IS)構築校準曲線。空白樣品不包括於回歸分析中。

個別計算樣品中之Kyn及Trp濃度。低於定量下限之值視為0 μmol/L。

使用比較Ct方法(2-ddCt)，量測親本KATO-III細胞與穩定表現

IDO1 shRNA、載體或NegaCTRL shRNA之KATO-III細胞之間的IDO1轉錄水準的相對改變[Methods. 2001;25(4):402-8]。

根據下式計算細胞毒性之百分比：

{數學式2}

$$\text{細胞毒性}\% = (E-S)/(M-S) \times 100$$

E為實驗釋放放射能(cpm)，S為藉由添加分析培養基代替效應細胞及抗體，自發釋放放射能之平均值(cpm)，且M為藉由添加10 vol% Triton™ X-100 (Sigma-Aldrich，目錄號T9284-100ML)，最大釋放放射能之平均值(cpm)。在每個抗體濃度下之細胞毒性呈現為一式三份之平均值。

8 結果

8.1 驗證KATO-III細胞中IDO1基因表現阻斷

為證實穩定表現IDO1 shRNA之KATO-III細胞中IDO1 mRNA之基因表現阻斷，藉由qPCR分析偵測到用IFN- γ 處理之KATO-III細胞中IDO1 mRNA含量。在引入IDO1 shRNA之細胞中，在所有4種不同引入shRNA之細胞中，與親本KATO-III細胞相比，IDO1之mRNA表現降低至大約80% (圖10A)。IDO1 mRNA含量不受載體或NegaCTRL shRNA之引入影響(圖10A)。隨後，藉由西方墨點分析量測shRNA沉默對IDO1蛋白質含量之作用。與親本KATO-III細胞相比，在穩定表現IDO1 shRNA#44、#45及#46之KATO-III細胞中IDO1蛋白質表現顯著降低(圖10B)。穩定表現IDO1 shRNA#47之KATO-III細胞中IDO1蛋白質表現部分降低(圖10B)。IDO1蛋白質含量不受載體或NegaCTRL shRNA之引入影響(圖10B)。

在隨後實驗中，使用穩定表現IDO1 shRNA#44、#45及#46以及NegaCTRL shRNA之KATO-III細胞，檢驗IDO1活性對ADCC之作用。

8.2 KATO-III細胞中IDO1基因表現阻斷對Kyn產生及Trp消耗之作用

為檢查KATO-III細胞中IDO1基因表現阻斷對Kyn產生及Trp消耗之作用，量測親本KATO-III細胞或穩定表現IDO1 shRNA或NegaCTRL shRNA之KATO-III細胞的條件培養基中在缺乏或存在IFN- γ 下Kyn及Trp之濃度。

如圖11中所示，在親本KATO-III細胞或穩定表現NegaCTRL shRNA之KATO-III細胞中在缺乏IFN- γ 下未觀測到Kyn濃度增加及Trp濃度減少。當親本KATO-III細胞或穩定表現NegaCTRL shRNA之KATO-III細胞用IFN- γ 處理時，觀測到Kyn濃度增加及Trp濃度減少。另一方面，在所有3種不同的引入IDO1 shRNA之細胞中，甚至在IFN- γ 存在下，亦抑制Kyn濃度增加及Trp濃度減少。

8.3 NK細胞之偵測

在人類PBMC與各條件培養基一起培育後，證實NK細胞(CD3-/CD16+/CD56+細胞)之存在。如圖12中所示，在與所有條件培養基一起培育之PBMC中偵測到NK細胞。

8.4 IDO1活性對ADCC之作用

為檢查IDO1活性對ADCC之作用，量測在各條件培養基中預先培育之人類PBMC的ADCC活性。當人類PBMC在條件培養基3 [KATO-III細胞(親本) + IFN- γ]或4 [KATO-III細胞(NegaCTRL shRNA) + IFN- γ]中預先培育時，與條件培養基1 [KATO-III細胞(親本)]或2 [KATO-III細胞(NegaCTRL shRNA)]相比，莫格利珠單抗之ADCC減弱(圖13)。在人類PBMC在條件培養基5 [KATO-III細胞(IDO1 shRNA #44) + IFN- γ]、6 [KATO-III細胞(IDO1 shRNA #45) + IFN- γ]或7 [KATO-III細胞(IDO1 shRNA #46) + IFN- γ]中之情況下，與條件培養基1或2相比，ADCC未減弱，表明ADCC幾乎相同(圖13)。

9 討論

此研究證實IDO1活性降低ADCC。在先前研究中，其提出Trp代

謝物，諸如Kyn，減少NK細胞數目[Exp Med. 2002;196(4):447-57]。然而，在此研究中，在用IFN- γ 處理之KATO-III細胞之條件培養基中培育的PBMC中NK細胞之比例無顯著減少，誘發Kyn濃度之增加(圖12)。此表明認為IDO1活性使ADCC降低歸因於NK細胞功能之抑制，而非NK細胞數目之減少。在表現IDO1 shRNA之KATO-III細胞之條件培養基中在IFN- γ 存在下Kyn濃度增加及Trp濃度減少得到抑制，表明Kyn產生或Trp消耗將為NK cell功能降低之原因。

測試實例3

概述

在此研究中，檢驗在HuRA15-7CTAcc (抗體C1)(一種針對卵巢癌細胞之抗葉酸受體 α (人類葉酸受體1，FOLR1)抗體)存在或缺乏下IDO1抑制物對人類外周血單核細胞(PBMC)之細胞毒性的作用。首先，藉由西方墨點法檢驗四種類型卵巢癌細胞中之IDO1表現。結果，在IFN γ 處理後在SKOV3、OVCAR3及MCAS細胞中觀測到IDO1表現，但未在相同條件下在OVISE細胞中觀測到(圖14)。使用SKOV3細胞，製備條件培養基。在IDO1抑制物化合物A1或化合物B1存在或缺乏下用IFN γ 刺激SKOV3細胞，且接著回收上清液作為PBMC預培育之條件培養基。當PBMC在製備之條件培養基中在存在IDO1抑制物下預先培育時，PBMC之天然殺死活性及抗體C1介導之細胞毒性上調(圖15及圖16)。

10 引言

認為FOLR1為一種有希望用於癌症療法之正處於研究中的癌症療法(Ann Oncol. 2015年6月30日)。產生HuRA15-7CTAcc (抗體C1)，其為一種新穎的抗FOLR1抗體，其與習知抗FOLR1抗體相比，抗體依賴性細胞毒性(ADCC)及補體依賴性細胞毒性(CDC)活性更強。

先前報導吡啶胺2,3-雙加氧酶1 (IDO1)在卵巢癌中之高度表現，

且稱之為卵巢癌患者之不良預後因子之一(Gynecologic Oncology 2009;115:185-192)。IDO1在免疫抑制機制中起重要調節作用，免疫抑制機製造成腫瘤逃脫宿主免疫監視(Nat Rev Cancer. 2009;9:445-52)。已報導色胺酸代謝物，諸如犬尿胺酸，誘發NK細胞死亡(J Exp Med. 2002;196:447-57)，且藉由抑制NK細胞受體表現來減弱NK細胞之細胞毒性(Blood. 2006;108:4118-25)。因此，IDO1活性可能影響ADCC活性。

實際上，在圖3至8中證實KATO-III細胞之IDO1活性使曲妥珠單抗、利妥昔單抗、西妥昔單抗及莫格利珠單抗誘發之人類外周血單核細胞(PBMC)之細胞毒性降低。

因此，在此研究中，檢驗在抗FOLR1抗體抗體C1存在或缺乏下化合物A1及化合物B1對人類PBMC針對卵巢癌細胞之細胞毒性的作用。

11 材料與方法

11.1 材料

11.1.1 抗FOLR1抗體

抗體C1 (HuRA15-7CTAcc)作為WO2014/087863之實例中描述的「HuRA15-7CTAcc抗體」獲得。抗體C1為用AccretaMab(R)技術製備之抗FOLR1人類化及CDR修飾之抗體。

11.1.2 IDO1抑制物

化合物A1及化合物B1為IDO1抑制物。化合物A1作為WO2011/142316中實例62之化合物64A獲得且化合物B1作為WO2010/005958中實例1之「4-({2-[(胺基磺醯基)胺基]乙基}胺基)-N-(3-溴-4-氟苯基)-N'-羥基-1,2,5-噁二唑-3-甲脒」獲得。

化合物A1及B1溶解於二甲亞砜(DMSO)中，作為儲備溶液，濃度為10 mmol/L。此等溶液保持在冷凍狀態下，直至使用。將儲備溶液

用培養基[含有10 vol%熱不活化胎牛血清(FCS, GIBCO)及青黴素-鏈黴素(GIBCO)之RPMI1640 (GIBCO)]稀釋。

11.1.3 人類PBMC

冷凍人類PBMC購自Precision Bioservices (批號2500113169)。解凍後，將PBMC用含有1 mg/mL DNase (Roche)之培養基洗滌且用於分析。

11.1.4 細胞與培養基

卵巢癌細胞OVISe (JCRB1043)及MCAS (JCRB0240)獲自JCRB，且卵巢癌細胞SKOV3 (HTB-77)及OVCAR3 (HTB-161)獲自ATCC。此等細胞用培養基培養。

11.2 方法

11.2.1 西方墨點法

卵巢癌細胞(OVISe、SKOV3、OVCAR3或MCAS)藉由具有IFN γ (50或100 ng/mL)或不具有IFN γ (R&D systems)之培養基培養4天。接著，此等細胞藉由SDS樣品緩衝液(Thermo)溶解且沸騰(100°C，5分鐘)。藉由西方墨點法，使用抗IDO1抗體(純系10.1，Millipore)，接著分別抗小鼠抗體-辣根過氧化酶(HRP，Zymed)或抗 β -肌動蛋白抗體(兔多株，abcam)，接著抗兔抗體-HRP (DAKO)，偵測每個樣品中IDO1或 β -肌動蛋白蛋白質表現。

11.2.2 製備條件培養基

將SKOV3細胞(1.0×10^6 細胞)在25 mL含有50 ng/mL IFN γ (PeproTech)與100 nmol/L IDO1抑制物(化合物A1或化合物B1)或DMSO之培養基中培養3天。各培養物之上清液用作PBMC預培育之條件培養基。

以下描述條件培養基清單。

- 條件培養基DMSO：SKOV3細胞與50 ng/mL IFN γ 及0.1 vol%

DMSO一起培養

- 條件培養基化合物A1：SKOV3細胞與50 ng/mL IFN γ 及100 nmol/L化合物A1一起培養

- 條件培養基化合物B1：SKOV3細胞與50 ng/mL IFN γ 及100 nmol/L化合物B1一起培養

11.2.3 細胞毒性分析

11.2.3.1 製備標靶細胞

藉由TrypLE Express (GIBCO)，將SKOV3細胞自培養物燒瓶分離。活細胞藉由ADCC分析培養基[不具有酚紅(GIBCO)，具有10 vol%透析及熱不活化FCS(GIBCO)之RPMI1640]調至 1.0×10^6 個細胞。接著，在CO₂培育箱中在37℃下將細胞用大約3.7 MBq Na²⁵¹CrO₄ (PerkinElmer)標記超過1小時。將細胞洗滌三次，且使用ADCC分析培養基調至 2.0×10^5 個細胞/毫升(1×10^4 個細胞/50微升)作為標靶細胞。

11.2.3.2 製備效應細胞

人類PBMC在25 mL條件培養基中培養7天。 2.8 或 2.4×10^7 個細胞分別在條件培養基化合物A1或條件培養基化合物B1中預先培育。用ADCC分析培養基洗滌後，細胞使用ADCC分析培養基調至 5.0×10^6 個細胞/毫升(2.5×10^5 個細胞/50微升)作為效應細胞。

11.2.3.3 製備抗體溶液

使用ADCC分析培養基製備抗體C1溶液，且在ADCC分析中以0.033、0.33、3.3、33及333 ng/mL之最終濃度使用。

11.2.3.4 細胞毒性分析

藉由量測每個分析孔之上清液中放射能定量細胞毒性。U形底96孔盤中各孔之總體積為150 μ L。

總、T spo、M或分析樣品如下定義及製備。

- 總：標靶細胞總放射能對照。藉由將50 μ L標靶細胞、15 μ L清

潔劑(10×溶解溶液，Promega)及85 μL ADCC分析培養基混合製備此樣品。

- T spo：標靶細胞自發放射能對照。藉由將50 μL標靶細胞與100 μL ADCC分析培養基混合製備此樣品。

- M：ADCC分析培養基之參考對照。此樣品製備為150 μL ADCC分析培養基。

- 分析樣品：此樣品藉由將50 μL標靶細胞、效應細胞及抗體溶液混合製備。

一式三份地製備各樣品。樣品盤在CO2培育箱中培育4小時。將盤離心後，將50 μL各上清液轉移至LumaPlate (PerkinElmer)中且充分乾燥。將放射能(cpm)用微量培養盤閃爍計數器(TopCount NXT，PerkinElmer)計數。

細胞毒性(%)藉由以下等式，使用各孔之cpm計算。首先，藉由以下等式計算各孔之cpm校正值。

{數學式3}

各孔之Cpm校正值=各孔Cpm-M之平均cpm

接著藉由以下等式計算每種分析樣品之細胞毒性。

{數學式4}

$$\text{細胞毒性(\%)} = 100 \times \frac{\left(\begin{array}{l} \text{(分析樣品之cpm校正值)} \\ - (\text{T spo之平均cpm校正值}) \end{array} \right)}{\left(\begin{array}{l} \text{(總平均cpm校正值)} \\ - (\text{T spo之平均cpm校正值}) \end{array} \right)}$$

各分析樣品之細胞毒性呈現為一式三份之平均值+標準偏差(SD)。

12 結果與討論

12.1 卵巢癌細胞中IDO1之表現

使用四種類型卵巢癌細胞(OVISE、SKOV3、OVCAR3及MCAS細

胞)評估在卵巢癌細胞中IFN γ 刺激是否誘發IDO1。如圖14中所示，在50或100 ng/mL IFN γ 刺激之SKOV3、OVCAR3及MCAS細胞中偵測到IDO1。相比之下，在IFN γ 刺激之OVISE細胞中未觀測到IDO1表現。所有測試之卵巢癌細胞在無IFN γ 刺激下不表現IDO1。

12.2 化合物A1或化合物B1對PBMC針對SKOV3細胞之細胞毒性的作用

為評估IDO1抑制物活性對PBMC細胞毒性之作用，將PBMC在如0 (「條件培養基之製備」)中所描述製備之SKOV3細胞之條件培養基中預先培育7天。接著，用各種濃度抗體C1評估此等預先培育之PBMC針對放射性標記之SKOV3細胞的細胞毒性。結果，在條件培養基化合物A1或化合物B1中預先培育之PBMC的無抗體C1 (天然殺死活性)之細胞毒性高於條件培養基DMSO (圖15A及圖16A)。此外，在抗體C1存在下，在條件培養基化合物A1或化合物B1中預先培育之PBMC的細胞毒性亦高於條件培養基DMSO (圖15B及圖16B)。

概言之，證實包括SKOV3細胞之若干卵巢癌細胞在IFN γ 刺激後表現IDO1。此外，PBMC之天然殺死活性及抗體C1介導之細胞毒性藉由IDO1抑制物、化合物A1或化合物B1上調。綜合而言，預期抗體C1與化合物A1或化合物B1之組合發揮針對卵巢癌細胞之協同細胞毒性作用。

測試實例4

概述

在此研究中，檢驗在抗人類介白素-3受體 α 鏈(IL-3R α)抗體抗體D1 (針對急性骨髓性白血病(AML)細胞)存在或缺乏下吡啶胺-2,3-雙加氧酶(IDO1)抑制物化合物A1對人類外周血單核細胞(PBMC)之細胞毒性的作用。

使用表現IDO1之細胞(KATO-III細胞)，製備條件培養基。KATO-

III細胞在化合物A1存在或缺乏下用IFN- γ 刺激，且接著回收上清液作為PBMC預培育之條件培養基。PBMC用於此研究中。在條件培養基中預培育七天後，量測PBMC針對AML細胞之細胞毒性。觀測到化合物A1明顯上調細胞毒性；在抗體D1缺乏或存在下在含化合物A1之條件培養基中培育之PBMC誘發的細胞毒性高於含DMSO之培養基。

13 引言

抗體D1為針對人類介白素-3受體 α 鏈(IL-3R α)之未岩藻糖基化完全人類單株抗體。

化合物A1為吡啶胺-2,3-雙加氧酶(IDO) 1之小分子抑制物。

在此研究中，檢驗在抗體D1存在或缺乏下化合物A1對PBMC針對急性骨髓性白血病(AML)細胞之細胞毒性的作用。

14 材料與方法

14.1 材料

14.1.1 抗體D1

抗體D1 (19.59 mg/mL)作為WO2010/126066中實例中所述之「New102抗體」獲得。

14.1.2 IDO1抑制物

化合物A1作為WO2011/142316中實例62之化合物64A獲得，且溶解於二甲亞砜(DMSO)中，作為儲備溶液，濃度為10 mmol/L。溶液保持在冷凍狀態下直至使用。將儲備溶液用培養基[含有10 vol%熱不活化胎牛血清及1 vol%青黴素-鏈黴素溶液之RPMI1640]稀釋以調整用於分析之濃度。

14.1.3 人類PBMC

冷凍PBMC購自Precision Bioservices (批號13096)及Allcells (批號A3951)。解凍後，將PBMC用培養基洗滌且用於分析。

14.1.4 細胞與培養基

人類胃癌細胞KATO-III (86093004)獲自DS Pharma Biomedical Co. Ltd.。且人類AML細胞KG-1 (CRL-8031)獲自ATCC。細胞用培養基培養。

14.2 方法

14.2.1 製備條件培養基

將KATO-III細胞(1.25×10^6 細胞)在25 mL含有50 ng/mL IFN γ (PeproTech)與100 nmol/L化合物A1或DMSO之培養基(含有10 vol% FBS之RPMI1640培養基)中培養3天。各培養物之上清液用作PBMC預培育之條件培養基。

條件培養基如下。

- 條件培養基DMSO：KATO-III細胞用50 ng/mL IFN- γ 及0.1 vol% DMSO培養

- 條件培養基化合物A1：KATO-III細胞用50 ng/mL IFN- γ 及100 nmol/L化合物A1培養

14.2.2 細胞毒性分析

14.2.2.1 製備標靶細胞

在CO₂培育箱中在37°C下將KG-1細胞(1×10^6 細胞)用大約3.7 MBq Na²⁵¹CrO₄ (PerkinElmer)標記超過1小時。將細胞洗滌三次，且使用分析培養基調至 1.0×10^5 個細胞/毫升(0.5×10^4 個細胞/50微升)作為標靶細胞。

14.2.2.2 製備效應細胞

將兩批PBMC在條件培養基中以 5×10^5 個細胞/毫升培養7天。用分析培養基洗滌後，細胞使用分析培養基調至 2.5×10^6 個細胞/毫升(12.5×10^4 個細胞/50微升)作為效應細胞。

14.2.2.3 製備抗體溶液

將抗體D1溶液用分析培養基稀釋至0、0.3、3或30 μ g/mL之濃

度。

14.2.2.4 細胞毒性分析

PBMC用於細胞毒性分析。藉由量測每個分析孔之上清液中放射能定量細胞毒性。V形底96孔盤中各孔之總體積為150 μ L。

總、T spo、M或分析樣品如下定義及製備。

- 總：標靶細胞總放射能對照。此樣品藉由將50 μ L標靶細胞與100 μ L 1 vol% NP-40 (在分析培養基中稀釋)混合製備。

- T spo：標靶細胞自發放射能對照。藉由將50 μ L標靶細胞與100 μ L分析培養基混合製備此樣品。

- 分析樣品：此樣品藉由將50 μ L標靶細胞、效應細胞及抗體溶液混合製備。

分析樣品中抗體D1之最終濃度為0、0.1、1及10 μ g/mL。

一式三份地製備各樣品。簡單離心後，樣品盤在CO₂培育箱中培育4小時。將盤離心後，將50 μ L各上清液轉移至LumaPlate (PerkinElmer)中且充分乾燥。將放射能(cpm)用微量培養盤閃爍計數器(TopCount NXT, PerkinElmer)計數。

藉由以下等式計算細胞毒性(%)。

{數學式5}

$$\text{細胞毒性(\%)} = 100 \times \frac{\text{分析樣品之cpm值} - \text{T spo之平均cpm值}}{\text{總平均cpm值} - \text{T spo之平均cpm值}}$$

各分析樣品之細胞毒性呈現為一式三份之平均值 $\pm$ 標準偏差(SD)。

15 結果與討論

為評估化合物A1對PBMC之細胞毒性的作用，將PBMC (批號A3951)在如0中所描述製備之KATO-III細胞之條件培養基中預先培育7天。培育後，在各種濃度抗體D1缺乏或存在下預先培育之PBMC針對

放射性標記KG-1細胞之細胞毒性。

觀測到化合物A1使細胞毒性明顯上調；在抗體D1缺乏或存在下在含化合物A1之條件培養基中培育之PBMC誘發的細胞毒性高於含DMSO之培養基(圖17)。

測試實例5

16 概述

在此研究中，檢驗在針對TIM-3轉染之急性骨髓性白血病(AML)細胞之抗人類T細胞免疫球蛋白及黏蛋白域3 (TIM-3)抗體抗體E1缺乏或存在下吲哚胺-2,3-雙加氧酶(IDO1)抑制物化合物A1對人類外周血單核細胞(PBMC)之細胞毒性的作用。

使用表現IDO1之細胞(KATO-III細胞)，製備條件培養基。KATO-III細胞在化合物A1存在或缺乏下用IFN- γ 刺激，且接著回收上清液作為PBMC預培育之條件培養基。在條件培養基中預培育七天後，量測PBMC針對TIM-3轉染之AML細胞的細胞毒性。觀測到化合物A1使細胞毒性明顯上調；在抗體E1缺乏或存在下在含化合物A1之條件培養基中培育之PBMC誘發的細胞毒性高於含DMSO之培養基。

17 引言

抗體E1為一種針對人類T細胞免疫球蛋白及黏蛋白域3 (TIM-3)之未岩藻糖基化完全人類單株抗體。

化合物A1為吲哚胺-2,3-雙加氧酶(IDO) 1之小分子抑制物。

在此研究中，檢驗在抗體E1存在或缺乏下化合物A1對PBMC針對TIM-3轉染之急性骨髓性白血病(AML)細胞之細胞毒性的作用。

18 材料與方法

18.1 材料

18.1.1 抗體E1

抗體E1 (82.31 mg/mL)作為WO2011/155607之實例中描述的

「4545抗體」獲得。

18.1.2 IDO1抑制物

化合物A1作為WO2011/142316中實例62之化合物64A獲得，且溶解於二甲亞砜(DMSO)中，作為儲備溶液，濃度為10 mmol/L。溶液保持在冷凍狀態下直至使用。將儲備溶液用培養基[含有10 vol%熱不活化胎牛血清及1 vol%青黴素-鏈黴素溶液之RPMI1640]稀釋以調整用於分析之濃度。

18.1.3 人類PBMC

冷凍PBMC購自 Precision Bioservices (批號13096)。解凍後，PBMC用培養基洗滌且用於分析。

18.1.4 細胞與培養基

人類胃癌細胞KATO-III (86093004)獲自DS pharma biomedical Co., Ltd.。EoL-1 (RCB0641)獲自Riken Bio Resource Center之Cell Engineering Division。將人類TIM-3基因轉染至EoL-1細胞，得到EoL-1/人類TIM-3細胞。細胞用培養基培養。

18.2 方法

18.2.1 製備條件培養基

將KATO-III細胞(1.25×10^6 細胞)在25 mL含有50 ng/mL IFN γ (PeproTech)與100 nmol/L化合物A1或DMSO之培養基(含有10 vol% FBS之RPMI1640培養基)中培養3天。各培養物之上清液用作PBMC預培育之條件培養基。

條件培養基如下。

- 條件培養基DMSO：KATO-III細胞用50 ng/mL IFN- γ 及0.1 vol% DMSO培養
- 條件培養基化合物A1：KATO-III細胞用50 ng/mL IFN- γ 及100 nmol/L化合物A1培養

18.2.2 細胞毒性分析

18.2.2.1 製備標靶細胞

在CO₂培育箱中在37°C下將EoL-1/人類TIM-3細胞(1×10^6 細胞)用大約3.7 MBq Na²⁵¹CrO₄ (PerkinElmer)標記超過1小時。將細胞洗滌三次，且使用分析培養基調至 1.0×10^5 個細胞/毫升(0.5×10^4 個細胞/50微升)作為標靶細胞。

18.2.2.2 製備效應細胞

將人類PBMC在條件培養基中以 5×10^5 個細胞/毫升培養7天。用分析培養基洗滌後，細胞使用分析培養基調至 2.5×10^6 個細胞/毫升(12.5×10^4 個細胞/50微升)作為效應細胞。

18.2.2.3 製備抗體溶液

將抗體E1溶液用分析培養基稀釋至0、0.3、3或30 µg/mL之濃度。

18.2.2.4 細胞毒性分析

藉由量測每個分析孔之上清液中放射能定量細胞毒性。V形底96孔盤中各孔之總體積為150 µL。

總、T spo、M或分析樣品如下定義及製備。

總：標靶細胞總放射能對照。此樣品藉由將50 µL標靶細胞與100 µL 1 vol% NP-40 (在分析培養基中稀釋)混合製備。

T spo：標靶細胞自發放射能對照。藉由將50 µL標靶細胞與100 µL分析培養基混合製備此樣品。

分析樣品：此樣品藉由將50 µL標靶細胞、效應細胞及抗體溶液混合製備。

分析樣品中抗體E1之最終濃度為0、0.1、1及10 µg/mL。

一式三份地製備各樣品。簡單離心後，樣品盤在CO₂培育箱中培育4小時。將盤離心後，將50 µL各上清液轉移至LumaPlate

(PerkinElmer)中且充分乾燥。將放射能(cpm)用微量培養盤閃爍計數器(TopCount NXT, PerkinElmer)計數。

藉由以下等式計算細胞毒性(%)。

{數學式6}

$$\text{細胞毒性(\%)} = 100 \times \frac{\text{分析樣品之cpm值} - \text{T spo之平均cpm值}}{\text{總平均cpm值} - \text{T spo之平均cpm值}}$$

各分析樣品之細胞毒性呈現為一式三份之平均值±標準偏差(SD)。

19 結果與討論

為評估化合物A1對PBMC細胞毒性之作用，將PBMC在如0中所描述製備之KATO-III細胞之條件培養基中預先培育7天。培育後，在各種濃度抗體E1缺乏或存在下評估預先培育之PBMC針對放射性標記EoL-1/人類TIM-3細胞之細胞毒性。

觀測到化合物A1使細胞毒性明顯上調；在抗體E1缺乏或存在下在含化合物A1之條件培養基中培育之PBMC誘發的細胞毒性高於含DMSO之培養基(圖18)。

{獨立文本之序列表}

SEQ ID NO: 1：抗體C1 HCDR1之胺基酸序列

SEQ ID NO: 2：抗體C1 HCDR2之胺基酸序列

SEQ ID NO: 3：抗體C1 HCDR3之胺基酸序列

SEQ ID NO: 4：抗體C1 LCDR1之胺基酸序列

SEQ ID NO: 5：抗體C1 LCDR2之胺基酸序列

SEQ ID NO: 6：抗體C1 LCDR3之胺基酸序列

SEQ ID NO: 7：抗體C1 H鏈之胺基酸序列

SEQ ID NO: 8：抗體C1 L鏈之胺基酸序列

SEQ ID NO: 9：抗體D1-1 HCDR1之胺基酸序列

SEQ ID NO: 10 : 抗體D1-1 HCDR2之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 11 : 抗體D1-1 HCDR3之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 12 : 抗體D1-2 HCDR1之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 13 : 抗體D1-2 HCDR2之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 14 : 抗體D1-2 HCDR3之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 15 : 抗體D1-3 HCDR1之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 16 : 抗體D1-3 HCDR2之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 17 : 抗體D1-3 HCDR3之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 18 : 抗體D1-4 HCDR1之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 19 : 抗體D1-4 HCDR2之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 20 : 抗體D1-4 HCDR3之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 21 : 抗體D1-5 HCDR1之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 22 : 抗體D1-5 HCDR2之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 23 : 抗體D1-5 HCDR3之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 24 : 抗體D1-1 LCDR1之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 25 : 抗體D1-1 LCDR2之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 26 : 抗體D1-1 LCDR3之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 27 : 抗體D1-2 LCDR1之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 28 : 抗體D1-2 LCDR2之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 29 : 抗體D1-2 LCDR3之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 30 : 抗體D1-3 LCDR1之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 31 : 抗體D1-3 LCDR2之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 32 : 抗體D1-3 LCDR3之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 33 : 抗體D1-4 LCDR1之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 34 : 抗體D1-4 LCDR2之胺基酸序列
 SEQ ID NO: 35 : 抗體D1-4 LCDR3之胺基酸序列

SEQ ID NO: 36 : 抗體D1-5 LCDR1之胺基酸序列
SEQ ID NO: 37 : 抗體D1-5 LCDR2之胺基酸序列
SEQ ID NO: 38 : 抗體D1-5 LCDR3之胺基酸序列
SEQ ID NO: 39 : 抗體E1-1 HCDR1之胺基酸序列
SEQ ID NO: 40 : 抗體E1-1 HCDR2之胺基酸序列
SEQ ID NO: 41 : 抗體E1-1 HCDR3之胺基酸序列
SEQ ID NO: 42 : 抗體E1-1 LCDR1之胺基酸序列
SEQ ID NO: 43 : 抗體E1-1 LCDR2之胺基酸序列
SEQ ID NO: 44 : 抗體E1-1 LCDR3之胺基酸序列
SEQ ID NO: 45 : 抗體E1-2 HCDR1之胺基酸序列
SEQ ID NO: 46 : 抗體E1-2 HCDR2之胺基酸序列
SEQ ID NO: 47 : 抗體E1-2 HCDR3之胺基酸序列
SEQ ID NO: 48 : 抗體E1-2 LCDR1之胺基酸序列
SEQ ID NO: 49 : 抗體E1-2 LCDR2之胺基酸序列
SEQ ID NO: 50 : 抗體E1-2 LCDR3之胺基酸序列
SEQ ID NO: 51 : 抗體E1-3 HCDR1之胺基酸序列
SEQ ID NO: 52 : 抗體E1-3 HCDR2之胺基酸序列
SEQ ID NO: 53 : 抗體E1-3 HCDR3之胺基酸序列
SEQ ID NO: 54 : 抗體E1-3 LCDR1之胺基酸序列
SEQ ID NO: 55 : 抗體E1-3 LCDR2之胺基酸序列
SEQ ID NO: 56 : 抗體E1-3 LCDR3之胺基酸序列
SEQ ID NO: 57 : 抗體E1-4 VH之胺基酸序列
SEQ ID NO: 58 : 抗體E1-4 VL之胺基酸序列
SEQ ID NO: 59 : 抗體E1-5 VH之胺基酸序列
SEQ ID NO: 60 : 抗體E1-5 VL之胺基酸序列

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 日商協和醱酵麒麟有限公司

<120> 包含與抗體組合投予之IDO抑制物之腫瘤治療劑

<130> 1001P12350WO

<150> US62/192173

<151> 2015-07-14

<160> 60

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體C1 HCDR1

<400> 1

Asp Phe Tyr Met Asn

1 5

<210> 2

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體C1 HCDR2

<400> 2

Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Phe Asn Pro Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 3

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體C1 HCDR3

<400> 3

Cys Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Tyr Val Met Asp Ala

1 5 10

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體C1 LCDR1

<400> 4

Arg Thr Ser Glu Asp Ile Phe Arg Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體C1 LCDR2

<400> 5

Asp Thr Asn Arg Leu Ala Asp

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體C1 LCDR3

<400> 6

Gln Gln Tyr Asp Asn Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 7

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體C1 H鏈

<400> 7

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe

20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Pro Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Phe Asn Pro

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Thr Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Tyr Val Met Asp

100 105 110

Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 8

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體C1L鏈

<400> 8

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1             5             10             15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asp Ile Phe Arg Asn
             20             25             30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
             35             40             45
Tyr Asp Thr Asn Arg Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
             50             55             60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65             70             75             80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Tyr Pro Leu
             85             90             95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
             100             105

```

<210> 9

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-1 HCDR1

<400> 9

Thr Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 10

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-1 HCDR2

<400> 10

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Ile Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 11

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-1 HCDR3

<400> 11

Gly Gly Gly Ser Gly Pro Asp Val Leu Asp Ile

1 5 10

<210> 12

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-2 HCDR1

<400> 12

Thr Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 13

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-2 HCDR2

<400> 13

Gly Leu Ile Pro Ile Phe Asp Ile Glu Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1	5	10	15
Gly			

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-2 HCDR3

<400> 14

Gly Gly Gly Ser Gly Pro Asp Val Leu Asp Ile

1	5	10
---	---	----

<210> 15

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-3 HCDR1

<400> 15

Asn Phe Ala Ile Ser

1	5
---	---

<210> 16

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-3 HCDR2

<400> 16

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly

<210> 17

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-3 HCDR3

<400> 17

Gly Asp Lys Tyr Gly Pro Tyr Tyr Phe His Tyr

1 5 10

<210> 18

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-4 HCDR1

<400> 18

Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 19

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-4 HCDR2

<400> 19

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-4 HCDR3

<400> 20

Gly His Lys Tyr Gly Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 21

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-5 HCDR1

<400> 21

Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 22

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-5 HCDR2

<400> 22

Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly Ile Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 23

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-5 HCDR3

<400> 23

Glu Thr Ala Val Ala Gly Ile Leu Gly Tyr

1 5 10

<210> 24

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-1 LCDR1

<400> 24

Arg Met Ser Gln Gly Ile Arg Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-1 LCDR2

<400> 25

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-1 LCDR3

<400> 26

Gln Gln Tyr Tyr Ser Phe Pro Tyr Thr

1 5

<210> 27

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-2 LCDR1

<400> 27

Arg Met Ser Gln Gly Ile Arg Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 28

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-2LCDR2

<400> 28

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 29

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-2LCDR3

<400> 29

Gln Gln Tyr Tyr Ser Phe Pro Tyr Thr

1 5

<210> 30

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-3LCDR1

<400> 30

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 31

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-3 LCDR2

<400> 31

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-3 LCDR3

<400> 32

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 33

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-4 LCDR1

<400> 33

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 34

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-4 LCDR2

<400> 34

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 35

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-4 LCDR3

<400> 35

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg Thr

1 5

<210> 36

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-5 LCDR1

<400> 36

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 37

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-5 LCDR2

<400> 37

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體D1-5 LCDR3

<400> 38

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr

1

5

<210> 39

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-1 HCDR1

<400> 39

Arg Gly Gly Tyr Tyr Trp Asn

1

5

<210> 40

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-1 HCDR2

<400> 40

Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1

5

10

15

<210> 41

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-1 HCDR3

<400> 41

Asp His Tyr Ser Ser Ser Trp Thr Phe Asp Tyr

1

5

10

<210> 42

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-1 LCDR1

<400> 42

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 43

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-1 LCDR2

<400> 43

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-1 LCDR3

<400> 44

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr

1 5

<210> 45

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-2 HCDR1

<400> 45

Ser Tyr Tyr Trp Ser

1 5

<210> 46

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-2 HCDR2

<400> 46

Tyr Ile Phe His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 47

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-2 HCDR3

<400> 47

Asp Gly Glu Tyr Phe Asp Met Leu Thr Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 48

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-2 LCDR1

<400> 48

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 49

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-2 LCDR2

<400> 49

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-2 LCDR3

<400> 50

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg Thr

1 5

<210> 51

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-3 HCDR1

<400> 51

Ser Tyr Trp Met His

1 5

<210> 52

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-3 HCDR2

<400> 52

Glu Ile Asn Pro Ser Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Thr

<210> 53

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-3 HCDR3

<400> 53

Gly Tyr Tyr Leu Tyr Phe Asp Tyr

1

5

<210> 54

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-3 LCDR1

<400> 54

His Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ile Asn Ile Gly

1

5

10

<210> 55

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-3 LCDR2

<400> 55

His Gly Thr Asn Leu Glu Asp

1

5

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗體E1-3 LCDR3

<400> 56

Val Gln Tyr Gly Gln Phe Pro Trp Thr

1

5

<210> 57

<211> 140

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體E1-4 VH

<400> 57

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Ala Ala Ala Pro Arg Trp

1

5

10

15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys

20

25

30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Phe

35

40

45

Ser Arg Gly Gly Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys

50

55

60

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr

65

70

75

80

Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Leu Asp Thr Ser Lys

85

90

95

Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala

100

105

110

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp His Tyr Ser Ser Ser Trp Thr Phe Asp

115

120

125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

130

135

140

<210> 58

<211> 127

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體E1-4 VL

<400> 58

```

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1           5           10           15
Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
          20           25           30
Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
          35           40           45
Val Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
          50           55           60
Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala
65           70           75           80
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
          85           90           95
Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser
          100          105          110
Asn Trp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
          115          120          125

```

<210> 59

<211> 140

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 抗體E1-5 VH

<400> 59

```

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1           5           10           15

```

Val	Leu	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys				
																20	25	30	
Pro	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Gly	Ser	Ile				
																35	40	45	
Ser	Ser	Tyr	Tyr	Trp	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu				
																50	55	60	
Glu	Trp	Ile	Gly	Tyr	Ile	Phe	His	Ser	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asn	Pro				
																65	70	75	80
Ser	Leu	Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln				
																85	90	95	
Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr				
																100	105	110	
Tyr	Cys	Ala	Arg	Asp	Gly	Glu	Tyr	Phe	Asp	Met	Leu	Thr	Gly	Phe	Asp				
																115	120	125	
Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
																130	135	140	
Asp	Thr	Thr	Gly	Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser				
																20	25	30	
Leu	Ser	Pro	Gly	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser				
																35	40	45	
Val	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro				
																50	55	60	
Arg	Leu	Leu	Ile	Tyr	Asp	Ala	Ser	Asn	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Ala				
																65	70	75	80
Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser				
																85	90	95	
Ser	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Arg	Ser				
																100	105	110	
Asn	Trp	Pro	Pro	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys					
																115	120	125	
<210>	60																		
<211>	129																		
<212>	PRT																		

<213> 智人

<220>

<223> 抗體E1-5 VL

<400> 60

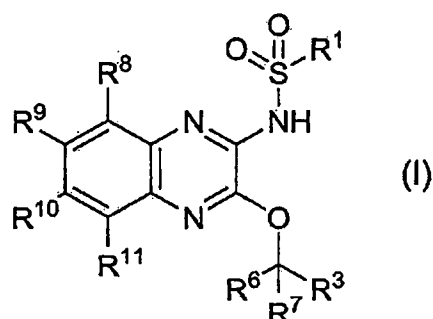
Met	Asp	Met	Arg	Val	Leu	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Cys
1				5				10					15		
Phe	Pro	Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser
		20						25					30		
Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser
		35					40					45			
Gln	Gly	Ile	Ser	Ser	Trp	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Glu	Lys
	50					55					60				
Ala	Pro	Lys	Ser	Leu	Ile	Tyr	Ala	Ala	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Val
65				70					75					80	
Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr
			85					90						95	
Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln
			100					105					110		
Tyr	Asn	Ser	Tyr	Pro	Arg	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile
		115					120					125			

Lys

申請專利範圍

1. 一種用於治療腫瘤之方法，其包含向有需要之人類投予有效量之特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體及吡啶胺2,3-雙加氧酶(dioxygenase)抑制物。
2. 如請求項1之方法，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式1}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

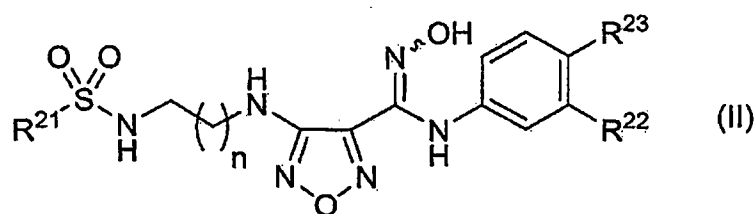
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式2}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

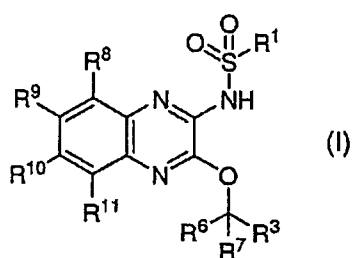
或其醫藥學上可接受之鹽。

3. 如請求項1或2之方法，其中該特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體分別為莫格利珠單抗(mogamulizumab)、曲妥珠單抗(trastuzumab)、利妥昔單抗(rituximab)或西妥昔單抗(cetuximab)。
4. 如請求項1至3中任一項之方法，其中該抗體及該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物係同時或依序投予。
5. 如請求項1至4中任一項之方法，其中該腫瘤為表現人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之腫瘤。
6. 如請求項5之方法，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為T細胞淋巴瘤。
7. 如請求項5之方法，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為外周T細胞淋巴瘤、皮膚T細胞淋巴瘤或成人T細胞白血病淋巴瘤。
8. 如請求項5之方法，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤

為乳癌、胃癌、卵巢癌、骨肉瘤或子宮內膜癌。

9. 如請求項5之方法，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌。
10. 如請求項5之方法，其中該表現人類CD20之腫瘤為慢性白血病或非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma)。
11. 如請求項10之方法，其中該慢性白血病為慢性淋巴細胞性白血病。
12. 如請求項10之方法，其中該非霍奇金氏淋巴瘤為B細胞淋巴瘤。
13. 如請求項12之方法，其中該B細胞淋巴瘤為套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤或伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)。
14. 如請求項12之方法，其中該B細胞淋巴瘤為伯基特氏淋巴瘤。
15. 如請求項5之方法，其中該表現表皮生長因子受體之腫瘤為結腸癌、頭頸癌、胃癌、肝癌。
16. 一種抑制以減少特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體之抗體依賴性細胞毒性活性的方法，其包含投予吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物。
17. 如請求項16之方法，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式3}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之

低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

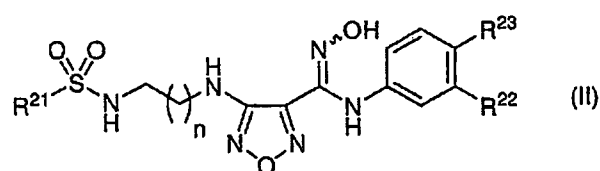
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式4}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

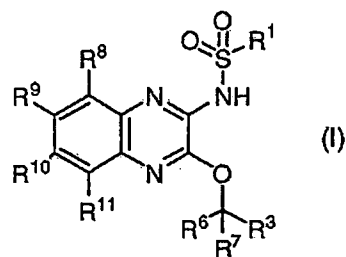
n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

18. 一種醫藥組合物，其用於投予有效量之特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體及吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物。

19. 如請求項18之醫藥組合物，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式5}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

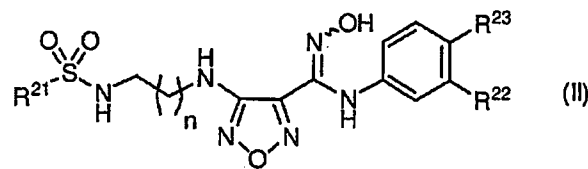
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式6}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

20. 如請求項18或19之醫藥組合物，其中該特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體分別為莫格利珠單抗、曲妥珠單抗、利妥昔單

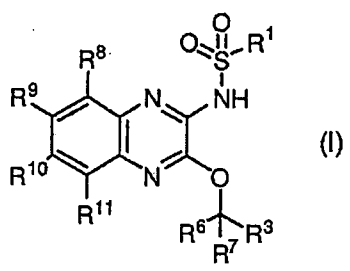
抗或西妥昔單抗。

21. 如請求項18至20中任一項之醫藥組合物，其包含該抗體及該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物係同時或依序投予。
22. 如請求項18至21中任一項之醫藥組合物，其中該腫瘤為表現人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之腫瘤。
23. 如請求項22之醫藥組合物，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為T細胞淋巴瘤。
24. 如請求項22之醫藥組合物，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為外周T細胞淋巴瘤、皮膚T細胞淋巴瘤或成人T細胞白血病淋巴瘤。
25. 如請求項22之醫藥組合物，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌、胃癌、卵巢癌、骨肉瘤或子宮內膜癌。
26. 如請求項22之醫藥組合物，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌。
27. 如請求項22之醫藥組合物，其中該表現人類CD20之腫瘤為慢性白血病或非霍奇金氏淋巴瘤。
28. 如請求項27之醫藥組合物，其中該慢性白血病為慢性淋巴細胞性白血病。
29. 如請求項27之醫藥組合物，其中該非霍奇金氏淋巴瘤為B細胞淋巴瘤。
30. 如請求項29之醫藥組合物，其中該B細胞淋巴瘤為套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤或伯基特氏淋巴瘤。
31. 如請求項29之醫藥組合物，其中該B細胞淋巴瘤為伯基特氏淋巴瘤。
32. 如請求項22之醫藥組合物，其中該表現表皮生長因子受體之腫

瘤為結腸癌、頭頸癌、胃癌、肝癌。

33. 一種吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體的組合，其用於治療腫瘤。
34. 如請求項33之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體之組合，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式7}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

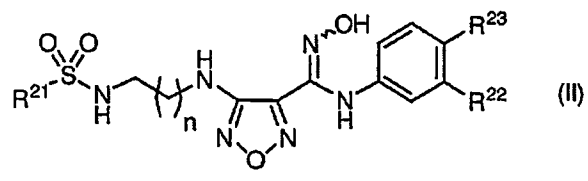
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式8}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

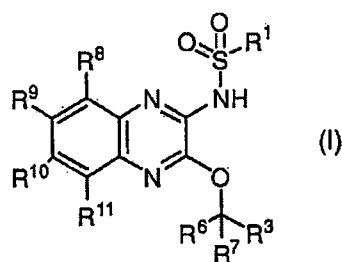
R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

35. 如請求項33或34之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體之組合，其中該特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體分別為莫格利珠單抗、曲妥珠單抗、利妥昔單抗或西妥昔單抗。
36. 如請求項33至35中任一項之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體之組合，其中該抗體及該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物係同時或依序投予。
37. 如請求項33至36中任一項之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體之組合，其中該腫瘤為表現人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之腫瘤。
38. 如請求項37之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體之組合，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為T細胞淋巴瘤。
39. 如請求項37之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體之組合，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為外周T細胞淋巴瘤、皮膚T細胞淋巴瘤或成人T細胞白血病淋巴瘤。
40. 如請求項37之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體之組合，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌、胃癌、卵巢癌、骨肉瘤或子宮內膜癌。
41. 如請求項37之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體之組合，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌。
42. 如請求項37之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體之組合，其中該表現人類CD20之腫瘤為慢性白血病或非霍奇金氏淋巴瘤。

43. 如請求項42之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體之組合，其中該慢性白血病為慢性淋巴細胞性白血病。
44. 如請求項42之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體之組合，其中該非霍奇金氏淋巴瘤為B細胞淋巴瘤。
45. 如請求項44之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體之組合，其中該B細胞淋巴瘤為套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤或伯基特氏淋巴瘤。
46. 如請求項44之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體之組合，其中該B細胞淋巴瘤為伯基特氏淋巴瘤。
47. 如請求項37之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與抗體之組合，其中該表現表皮生長因子受體之腫瘤為結腸癌、頭頸癌、胃癌或肝癌。
48. 一種吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其用於抑制以減少特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體之抗體依賴性細胞毒性活性。
49. 如請求項48之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)



{化學式9}

其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵

素、氰基或低碳烷基，

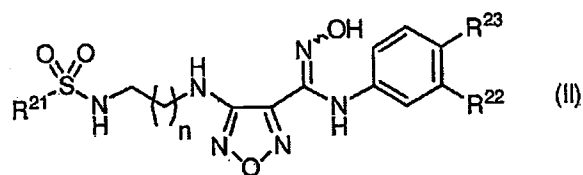
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式10}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

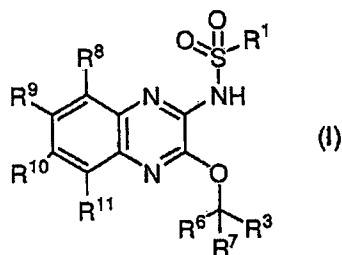
R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

50. 一種腫瘤治療劑，其包含吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物作為活性成分，其中該治療劑係與有效量之特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體組合投予。

51. 如請求項50之腫瘤治療劑，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)



{化學式11}

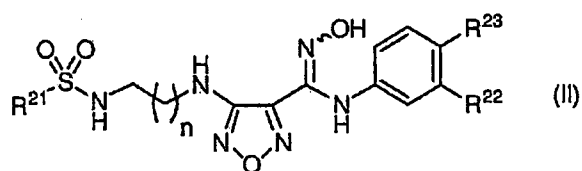
其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，
或其醫藥學上可接受之鹽，
或由式(II)表示之化合物(II)
{化學式12}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

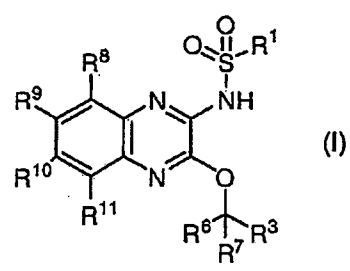
52. 如請求項50或51之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體分別為莫格利珠單抗、曲妥珠單抗、利妥昔單抗或西妥昔單抗。
53. 如請求項50至52中任一項之腫瘤治療劑，其中該治療劑及該抗體係同時或依序投予。
54. 如請求項50至53中任一項之腫瘤治療劑，其中該腫瘤為表現人

類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之腫瘤。

55. 如請求項54之腫瘤治療劑，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為T細胞淋巴瘤。
56. 如請求項54之腫瘤治療劑，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為外周T細胞淋巴瘤、皮膚T細胞淋巴瘤或成人T細胞白血病淋巴瘤。
57. 如請求項54之腫瘤治療劑，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌、胃癌、卵巢癌、骨肉瘤或子宮內膜癌。
58. 如請求項54之腫瘤治療劑，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌。
59. 如請求項54之腫瘤治療劑，其中該表現人類CD20之腫瘤為慢性白血病或非霍奇金氏淋巴瘤。
60. 如請求項59之腫瘤治療劑，其中該慢性白血病為慢性淋巴細胞性白血病。
61. 如請求項59之腫瘤治療劑，其中該非霍奇金氏淋巴瘤為B細胞淋巴瘤。
62. 如請求項61之腫瘤治療劑，其中該B細胞淋巴瘤為套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤或伯基特氏淋巴瘤。
63. 如請求項61之腫瘤治療劑，其中該B細胞淋巴瘤為伯基特氏淋巴瘤。
64. 如請求項54之腫瘤治療劑，其中該表現表皮生長因子受體之腫瘤為結腸癌、頭頸癌、胃癌或肝癌。
65. 一種抑制劑，其用於減少特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體之抗體依賴性細胞毒性活性，其包含吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物

作為活性成分。

66. 如請求項65之抑制劑，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)



{化學式13}

其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

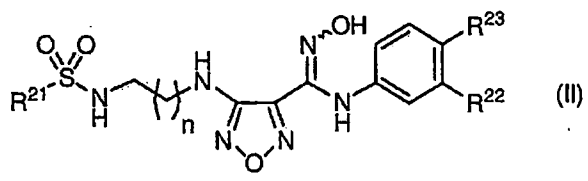
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式14}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

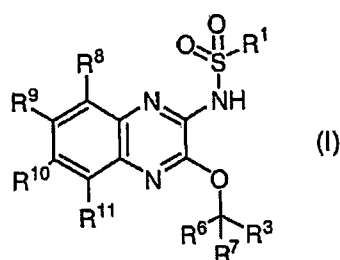
R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

67. 如請求項16或17之方法，其中該抗體及該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物係同時或依序投予。
68. 如請求項16或17之方法，其中該特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體分別為莫格利珠單抗、曲妥珠單抗、利妥昔單抗或西妥昔單抗。
69. 如請求項48或49之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體分別為莫格利珠單抗、曲妥珠單抗、利妥昔單抗或西妥昔單抗。
70. 一種腫瘤治療劑，其包含特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體作為活性成分，其中該治療劑係與有效量之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物組合投予。
71. 如請求項70之腫瘤治療劑，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式15}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵

素、氰基或低碳烷基，

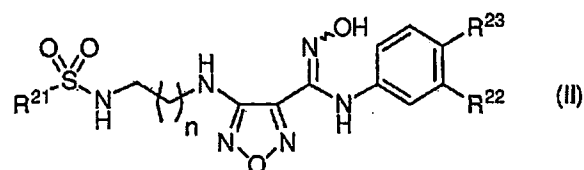
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式16}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

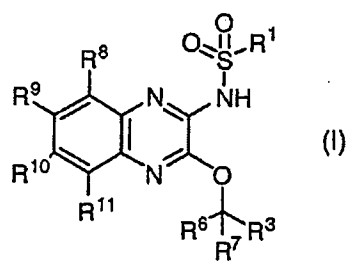
或其醫藥學上可接受之鹽。

72. 如請求項70或71之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體分別為莫格利珠單抗、曲妥珠單抗、利妥昔單抗或西妥昔單抗。
73. 如請求項70至72中任一項之腫瘤治療劑，其中該治療劑及該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物係同時或依序投予。
74. 如請求項70至73中任一項之腫瘤治療劑，其中該腫瘤為表現人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之腫瘤。
75. 如請求項74之腫瘤治療劑，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為T細胞淋巴瘤。

76. 如請求項74之腫瘤治療劑，其中該表現人類CC趨化因子受體4之腫瘤為外周T細胞淋巴瘤、皮膚T細胞淋巴瘤或成人T細胞白血病淋巴瘤。
77. 如請求項74之腫瘤治療劑，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌、胃癌、卵巢癌、骨肉瘤或子宮內膜癌。
78. 如請求項74之腫瘤治療劑，其中該表現人類表皮生長因子受體2之腫瘤為乳癌。
79. 如請求項74之腫瘤治療劑，其中該表現人類CD20之腫瘤為慢性白血病或非霍奇金氏淋巴瘤。
80. 如請求項79之腫瘤治療劑，其中該慢性白血病為慢性淋巴細胞性白血病。
81. 如請求項79之腫瘤治療劑，其中該非霍奇金氏淋巴瘤為B細胞淋巴瘤。
82. 如請求項81之腫瘤治療劑，其中該B細胞淋巴瘤為套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤或伯基特氏淋巴瘤。
83. 如請求項81之腫瘤治療劑，其中該B細胞淋巴瘤為伯基特氏淋巴瘤。
84. 如請求項74之腫瘤治療劑，其中該表現表皮生長因子受體之腫瘤為結腸癌、頭頸癌、胃癌或肝癌。
85. 如請求項65或66之抑制劑，其中該特異性結合於人類CC趨化因子受體4、人類表皮生長因子受體2、人類CD20或表皮生長因子受體之抗體分別為莫格利珠單抗、曲妥珠單抗、利妥昔單抗或西妥昔單抗。
86. 一種用於治療腫瘤之方法，其包含向有需要之人類投予有效量之特異性結合於人類葉酸受體(folate receptor)1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體及吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物。

87. 如請求項86之方法，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式17}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

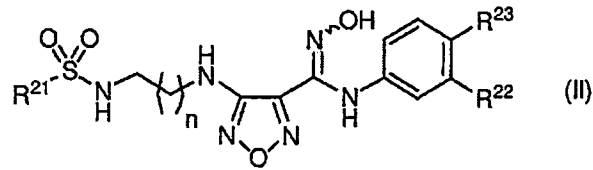
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式18}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

88. 如請求項86或87之方法，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為單株抗體。

89. 如請求項86或87之方法，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為選自以下(a1)-(c1)之單株抗體：

(a1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列；

(b1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列，且由SEQ ID NO. 3表示之胺基酸序列(抗體H鏈之CDR3)中之半胱胺酸經蘇胺酸、甲硫胺酸、異白胺酸、纈胺酸、苯丙胺酸或麩醯胺酸取代；以及

(c1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈包含由SEQ ID NO. 7表示之胺基酸序列，且該抗體L鏈包含由SEQ ID NO. 8表示之胺基酸序列。

90. 如請求項86或87之方法，其中該特異性結合於人類IL-3R α 之抗體為人類IL-3R α 鏈之抗體，其不抑制IL-3信號傳導且結合於該人類IL-3R α 鏈之B域，但不結合於該人類IL-3R α 鏈之C域。

91. 如請求項90之方法，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含選自由以下(a2)至(e2)組成之群的重鏈CDRs及輕鏈CDRs之胺基酸序列；

(a2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:9至11之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:24至26之胺基酸序列，

(b2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:12至14之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:27至29之胺基酸序列，

(c2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:15至17之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:30至32之胺基酸序列，

(d2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:18至20之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:33至35之胺基酸序列，以及

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

92. 如請求項90之方法，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含由以下(e2)組成之重鏈CDRs及輕鏈CDRs之胺基酸序列；

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

93. 如請求項86或87之方法，其中該特異性結合於人類TIM-3之抗體為結合於人類TIM-3之胞外區之單株抗體。

94. 如請求項93之方法，其中該單株抗體為一種選自由以下(i)至(iii)組成之群：

(i)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:39至41表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:42至44表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(ii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:45至47表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:48至50表示之胺基酸序列的抗體L鏈，以及

(iii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:51至53表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別

包含由SEQ ID NO:54至56表示之胺基酸序列的抗體L鏈。

95. 如請求項93之方法，其中該單株抗體為一種選自由以下(a3)及(b3)組成之群：

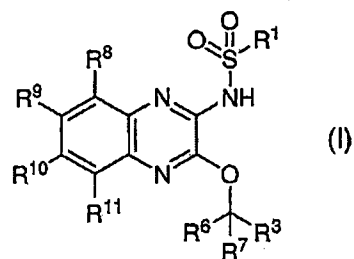
(a3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:57表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:58表示之胺基酸序列的抗體VL，以及

(b3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:59表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:60表示之胺基酸序列的抗體VL。

96. 如請求項86至95中任一項之方法，其中該抗體及該吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制物係同時或依序投予。
97. 如請求項86至96中任一項之方法，其中該腫瘤為與人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3相關之腫瘤。
98. 如請求項97之方法，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌、間皮瘤或胰臟癌。
99. 如請求項97之方法，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為卵巢癌。
100. 如請求項97之方法，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴細胞性白血病、非典型白血病、慢性淋巴細胞性白血病、成人T細胞白血病、NK/T細胞淋巴瘤、顆粒狀淋巴細胞增多症(LGL白血病)、真性紅血球增多症、原發性血小板增多症(essential thrombocythemia)、嗜伊紅白血球增多症候群、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、MALT淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、伯基特

氏淋巴瘤、淋巴母細胞性淋巴瘤或卡斯特萊曼氏疾病(Castleman disease)。

101. 如請求項97之方法，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。
102. 如請求項97之方法，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌及胰臟癌。
103. 如請求項97之方法，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。
104. 一種用於抑制以減少特異性結合於人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體之抗體依賴性細胞毒性活性的方法，其包含投予吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物。
105. 如請求項104之方法，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)



{化學式19}

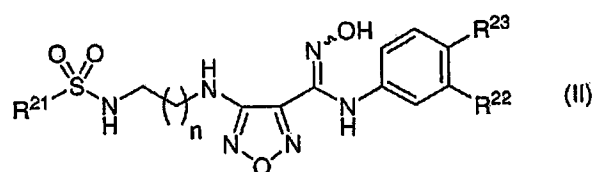
其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R₃表示視情況經取代之芳族雜環基，
或其醫藥學上可接受之鹽，
或由式(II)表示之化合物(II)
{化學式20}



其中

R₂₁表示胺基或甲基，

R₂₂表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R₂₃表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

106. 如請求項104或105之方法，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為單株抗體。

107. 如請求項104或105之方法，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為選自由以下(a1)-(c1)組成之群的單株抗體：

(a1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列；

(b1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列，且由SEQ ID NO. 3表示之胺基酸序列(抗體H鏈之CDR3)中之半胱胺酸經蘇胺酸、甲硫胺酸、異白胺酸、纈胺酸、苯丙胺酸或麩醯胺酸取代；以及

(c1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈包含由SEQ ID NO. 7表示之胺基酸序列，且該抗體L鏈包含由SEQ ID NO. 8表示之胺基酸序列。

108. 如請求項104或105之方法，其中該特異性結合於人類IL-3R α 之抗體為人類IL-3R α 鏈之抗體，其不抑制IL-3信號傳導且結合於該人類IL-3R α 鏈之B域，但不結合於該人類IL-3R α 鏈之C域。

109. 如請求項108之方法，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含選自由以下(a2)至(e2)組成之群的重鏈CDRs及輕鏈CDRs之胺基酸序列；

(a2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:9至11之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:24至26之胺基酸序列，

(b2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:12至14之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:27至29之胺基酸序列，

(c2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:15至17之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:30至32之胺基酸序列，

(d2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:18至20之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:33至35之胺基酸序列，以及

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

110. 如請求項108之方法，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含由以下(e2)組成之重鏈CDRs及輕鏈CDRs之胺基酸序列；

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

列。

111. 如請求項104或105之方法，其中該特異性結合於人類TIM-3之抗體為結合於人類TIM-3之胞外區之單株抗體。

112. 如請求項111之方法，其中該單株抗體為一種選自由以下(i)至(iii)組成之群：

(i)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:39至41表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:42至44表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(ii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:45至47表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:48至50表示之胺基酸序列的抗體L鏈，以及

(iii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:51至53表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:54至56表示之胺基酸序列的抗體L鏈。

113. 如請求項111之方法，其中該單株抗體為一種選自由以下(a3)及(b3)組成之群：

(a3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:57表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:58表示之胺基酸序列的抗體VL，以及

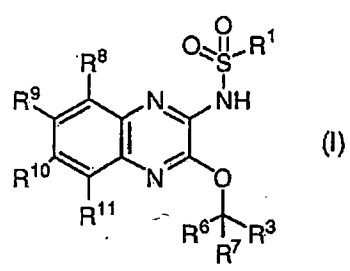
(b3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:59表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:60表示之胺基酸序列的抗體VL。

114. 如請求項104至113中任一項之方法，其中該抗體及該吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制物係同時或依序投予。

115. 一種醫藥組合物，其用於投予有效量之特異性結合於人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體及吲哚胺2,3-雙加氧酶抑

制物。

116. 如請求項115之醫藥組合物，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)



{化學式21}

其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

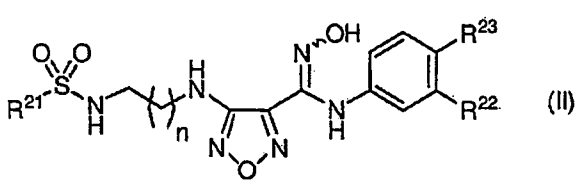
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式22}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

117. 如請求項115或116之醫藥組合物，其中特異性結合於人類葉酸受體1為單株抗體。

118. 如請求項115或116之醫藥組合物，其中特異性結合於人類葉酸受體1為選自由以下(a1)-(c1)組成之群的單株抗體：

(a1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列；

(b1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列，且由SEQ ID NO. 3表示之胺基酸序列(抗體H鏈之CDR3)中之半胱胺酸經蘇胺酸、甲硫胺酸、異白胺酸、纈胺酸、苯丙胺酸或麩醯胺酸取代；以及

(c1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈包含由SEQ ID NO. 7表示之胺基酸序列，且該抗體L鏈包含由SEQ ID NO. 8表示之胺基酸序列。

119. 如請求項115或116之醫藥組合物，其中該特異性結合於人類IL-3R α 之抗體為人類IL-3R α 鏈之抗體，其不抑制IL-3信號傳導且結合於該人類IL-3R α 鏈之B域，但不結合於該人類IL-3R α 鏈之C域。

120. 如請求項119之醫藥組合物，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含選自由以下(a2)至(e2)組成之群的重鏈CDRs及輕鏈CDRs之胺基酸序列；

(a2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:9至11之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:24至26之胺基酸序列，

(b2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:12至14之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:27至29之胺基酸序列，

(c2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:15至17之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:30至32之胺基酸序列，

(d2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:18至20之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:33至35之胺基酸序列，以及

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

121. 如請求項119之醫藥組合物，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含由以下(e2)組成之重鏈CDRs及輕鏈CDRs之胺基酸序列；

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

122. 如請求項115或116之醫藥組合物，其中該特異性結合於人類TIM-3之抗體為結合於人類TIM-3之胞外區之單株抗體。

123. 如請求項122之醫藥組合物，其中該單株抗體為一種選自由以下(i)至(iii)組成之群：

(i)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:39至41表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:42至44表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(ii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:45至47表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由

SEQ ID NO:48至50表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(iii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:51至53表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:54至56表示之胺基酸序列的抗體L鏈。

124. 如請求項122之醫藥組合物，其中該單株抗體為一種選自由以下(a3)及(b3)組成之群：

(a3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:57表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:58表示之胺基酸序列的抗體VL，以及

(b3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:59表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:60表示之胺基酸序列的抗體VL。

125. 如請求項115或116之醫藥組合物，其包含該抗體及該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物係同時或依序投予。

126. 如請求項115至125中任一項之醫藥組合物，其中該腫瘤為與人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3相關之腫瘤。

127. 如請求項126之醫藥組合物，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌、間皮瘤或胰臟癌。

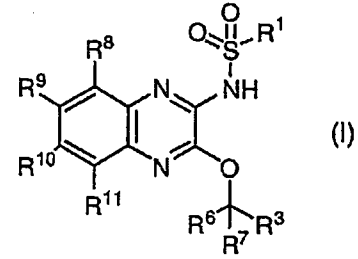
128. 如請求項126之醫藥組合物，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為卵巢癌。

129. 如請求項126之醫藥組合物，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴細胞性白血病、非典型白血病、慢性淋巴細胞性白血病、成人T細胞白血病、NK/T細胞淋巴瘤、顆粒狀淋巴細胞增多症(LGL白血病)、真性紅血球增多症、

原發性血小板增多症、嗜伊紅白血球增多症候群、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、MALT淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、淋巴母細胞性淋巴瘤或卡斯特萊曼氏疾病。

130. 如請求項126之醫藥組合物，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。
131. 如請求項126之醫藥組合物，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌及胰臟癌。
132. 如請求項126之醫藥組合物，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。
133. 一種吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物與特異性結合於人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體的組合，其用於治療腫瘤。
134. 如請求項133之組合，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式23}

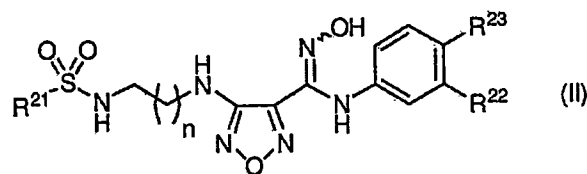


其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且
 R3表示視情況經取代之芳族雜環基，
 或其醫藥學上可接受之鹽，
 或由式(II)表示之化合物(II)
 {化學式24}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

135. 如請求項133或134之組合，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為單株抗體。

136. 如請求項133或134之組合，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為選自由以下(a1)-(c1)組成之群的單株抗體：

(a1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列；

(b1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列，且由SEQ ID NO. 3表示之胺基酸序列(抗體H鏈之CDR3)中之半胱胺酸經蘇胺酸、甲硫胺酸、異白胺酸、纈胺酸、苯丙胺酸或麩醯胺酸取

代；以及

(c1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈包含由SEQ ID NO. 7表示之胺基酸序列，且該抗體L鏈包含由SEQ ID NO. 8表示之胺基酸序列。

137. 如請求項133或134之組合，其中該特異性結合於人類IL-3R α 之抗體為人類IL-3R α 鏈之抗體，其不抑制IL-3信號傳導且結合於該人類IL-3R α 鏈之B域，但不結合於該人類IL-3R α 鏈之C域。

138. 如請求項137之組合，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含選自由以下(a2)至(e2)組成之群的重鏈CDRs及輕鏈CDRs之胺基酸序列；

(a2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:9至11之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:24至26之胺基酸序列，

(b2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:12至14之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:27至29之胺基酸序列，

(c2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:15至17之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:30至32之胺基酸序列，

(d2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:18至20之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:33至35之胺基酸序列，以及

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

139. 如請求項137之組合，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含由以下(e2)組成之重鏈CDRs及輕鏈CDRs之胺基酸序列；

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序

列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

140. 如請求項133或134之組合，其中該特異性結合於人類TIM-3之抗體為結合於人類TIM-3之胞外區之單株抗體。

141. 如請求項140之組合，其中該單株抗體為一種選自由以下(i)至(iii)組成之群：

(i)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:39至41表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:42至44表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(ii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:45至47表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:48至50表示之胺基酸序列的抗體L鏈，以及

(iii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:51至53表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:54至56表示之胺基酸序列的抗體L鏈。

142. 如請求項140之組合，其中該單株抗體為一種選自由以下(a3)及(b3)組成之群：

(a3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:57表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:58表示之胺基酸序列的抗體VL，以及

(b3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:59表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:60表示之胺基酸序列的抗體VL。

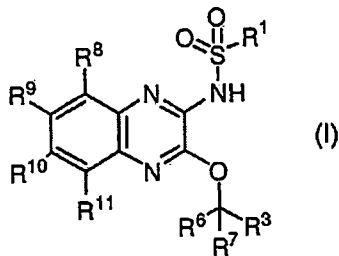
143. 如請求項133至142中任一項之組合，其中該抗體及該吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制物係同時或依序投予。

144. 如請求項133至143中任一項之組合，其中該腫瘤為與人類葉酸

受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3相關之腫瘤。

145. 如請求項144之組合，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌、間皮瘤或胰臟癌。
146. 如請求項144之組合，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為卵巢癌。
147. 如請求項144之組合，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴細胞性白血病、非典型白血病、慢性淋巴細胞性白血病、成人T細胞白血病、NK/T細胞淋巴瘤、顆粒狀淋巴細胞增多症(LGL白血病)、真性紅血球增多症、原發性血小板增多症、嗜伊紅白血球增多症候群、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、MALT淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、淋巴母細胞性淋巴瘤或卡斯特萊曼氏疾病。
148. 如請求項144之組合，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。
149. 如請求項144之組合，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌及胰臟癌。
150. 如請求項144之組合，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。
151. 一種吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其用於減少特異性結合於人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體之抗體依賴性細胞毒性活性之抑制。

152. 如請求項151之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)



{化學式25}

其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

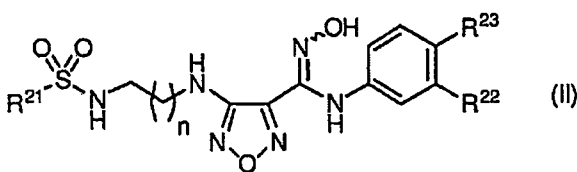
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式26}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

153. 如請求項151或152之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該抗體及該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物係同時或依序授予。
154. 如請求項151至153中任一項之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為單株抗體。
155. 如請求項151至153中任一項之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為選自由以下(a1)-(c1)組成之群的單株抗體：
 - (a1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列；
 - (b1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列，且由SEQ ID NO. 3表示之胺基酸序列(抗體H鏈之CDR3)中之半胱胺酸經蘇胺酸、甲硫胺酸、異白胺酸、纈胺酸、苯丙胺酸或麩醯胺酸取代；以及
 - (c1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈包含由SEQ ID NO. 7表示之胺基酸序列，且該抗體L鏈包含由SEQ ID NO. 8表示之胺基酸序列。
156. 如請求項151至153中任一項之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該特異性結合於人類IL-3R α 之抗體為人類IL-3R α 鏈之抗體，其不抑制IL-3信號傳導且結合於該人類IL-3R α 鏈之B域，但不結合於該人類IL-3R α 鏈之C域。
157. 如請求項156之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含選自由以下(a2)至(e2)組成之群的重鏈CDRs及輕鏈CDRs之胺基酸序列；

(a2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:9至11之胺基酸序列，
且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:24至26之胺基酸序列，

(b2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:12至14之胺基酸序列，
且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:27至29之胺基酸序列，

(c2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:15至17之胺基酸序列，
且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:30至32之胺基酸序列，

(d2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:18至20之胺基酸序列，
且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:33至35之胺基酸序列，以及

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，
且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

158. 如請求項156之吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含由以下(e2)組成之重鏈CDRs及輕鏈CDRs之胺基酸序列；

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，
且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

159. 如請求項151至153中任一項之吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該特異性結合於人類TIM-3之抗體為結合於人類TIM-3之胞外區之單株抗體。

160. 如請求項159之吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該單株抗體為一種選自由以下(i)至(iii)組成之群：

(i)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:39

至41表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:42至44表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(ii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:45至47表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:48至50表示之胺基酸序列的抗體L鏈，以及

(iii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:51至53表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:54至56表示之胺基酸序列的抗體L鏈。

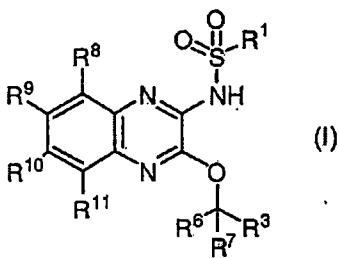
161. 如請求項159之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該單株抗體為一種選自由以下(a3)及(b3)組成之群：

(a3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:57表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:58表示之胺基酸序列的抗體VL，以及

(b3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:59表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:60表示之胺基酸序列的抗體VL。

162. 一種腫瘤治療劑，其包含特異性結合於人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體作為活性成分，其中該治療劑與有效量之吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物組合投予。

163. 如請求項162之腫瘤治療劑，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)



{化學式27}

其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

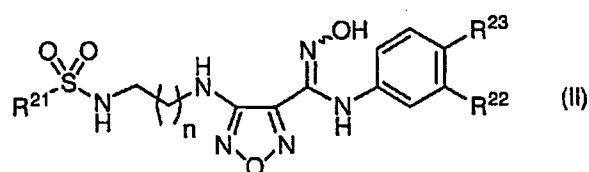
R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)



{化學式28}

其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

164. 如請求項162或163之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為單株抗體。

165. 如請求項162或163之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為選自由以下(a1)-(c1)組成之群的單株抗體：

(a1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列；

(b1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列，且由SEQ ID NO. 3表示之胺基酸序列(抗體H鏈之CDR3)中之半胱胺酸經蘇胺酸、甲硫胺酸、異白胺酸、纈胺酸、苯丙胺酸或麩醯胺酸取代；以及

(c1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈包含由SEQ ID NO. 7表示之胺基酸序列，且該抗體L鏈包含由SEQ ID NO. 8表示之胺基酸序列。

166. 如請求項162或163之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類IL-3R α 之抗體為人類IL-3R α 鏈之抗體，其不抑制IL-3信號傳導且結合於該人類IL-3R α 鏈之B域，但不結合於該人類IL-3R α 鏈之C域。

167. 如請求項166之腫瘤治療劑，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含選自由以下(a2)至(e2)組成之群的重鏈CDRs及輕鏈CDRs之胺基酸序列；

(a2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:9至11之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:24至26之胺基酸序列，

(b2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:12至14之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:27至29之胺基酸序列，

(c2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:15至17之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:30至32之胺基酸序列，

(d2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:18至20之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:33至35之胺基酸序

列，以及

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

168. 如請求項166之腫瘤治療劑，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含由以下(e2)組成之重鏈CDRs及輕鏈CDRs之胺基酸序列；

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

169. 如請求項162或163之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類TIM-3之抗體為結合於人類TIM-3之胞外區之單株抗體。

170. 如請求項169之腫瘤治療劑，其中該單株抗體為一種選自由以下(i)至(iii)組成之群：

(i)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:39至41表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:42至44表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(ii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:45至47表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:48至50表示之胺基酸序列的抗體L鏈，以及

(iii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:51至53表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:54至56表示之胺基酸序列的抗體L鏈。

171. 如請求項169之腫瘤治療劑，其中該單株抗體為一種選自由以下(a3)及(b3)組成之群：

(a3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:57表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:58表示之胺基酸序

列的抗體VL，以及

(b3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:59表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:60表示之胺基酸序列的抗體VL。

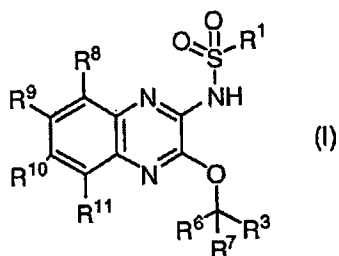
172. 如請求項162至171中任一項之腫瘤治療劑，其中該治療劑及該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物係同時或依序投予。
173. 如請求項162至172中任一項之腫瘤治療劑，其中該腫瘤為與人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3相關之腫瘤。
174. 如請求項173之腫瘤治療劑，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌、間皮瘤或胰臟癌。
175. 如請求項173之腫瘤治療劑，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為卵巢癌。
176. 如請求項173之腫瘤治療劑，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴細胞性白血病、非典型白血病、慢性淋巴細胞性白血病、成人T細胞白血病、NK/T細胞淋巴瘤、顆粒狀淋巴細胞增多症(LGL白血病)、真性紅血球增多症、原發性血小板增多症、嗜伊紅白血球增多症候群、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、MALT淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、淋巴母細胞性淋巴瘤或卡斯特萊曼氏疾病。
177. 如請求項173之腫瘤治療劑，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。
178. 如請求項173之腫瘤治療劑，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢

癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌及胰臟癌。

179. 如請求項173之腫瘤治療劑，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。

180. 一種腫瘤治療劑，其包含吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物作為活性成分，其中該治療劑與有效量之特異性結合於人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體組合投予。

181. 如請求項180之腫瘤治療劑，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)



{化學式29}

其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

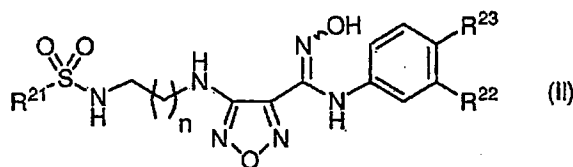
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式30}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

182. 如請求項180或181之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為單株抗體。

183. 如請求項180或181之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為選自由以下(a1)-(c1)組成之群的單株抗體：

(a1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列；

(b1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列，且由SEQ ID NO. 3表示之胺基酸序列(抗體H鏈之CDR3)中之半胱胺酸經蘇胺酸、甲硫胺酸、異白胺酸、纈胺酸、苯丙胺酸或麩醯胺酸取代；以及

(c1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈包含由SEQ ID NO. 7表示之胺基酸序列，且該抗體L鏈包含由SEQ ID NO. 8表示之胺基酸序列。

184. 如請求項180或181之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類IL-

3R α 之抗體為人類IL-3R α 鏈之抗體，其不抑制IL-3信號傳導且結合於該人類IL-3R α 鏈之B域，但不結合於該人類IL-3R α 鏈之C域。

185. 如請求項184之腫瘤治療劑，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含選自由以下(a2)至(e2)組成之群的重鏈CDRs及輕鏈CDRs之胺基酸序列；

(a2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:9至11之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:24至26之胺基酸序列，

(b2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:12至14之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:27至29之胺基酸序列，

(c2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:15至17之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:30至32之胺基酸序列，

(d2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:18至20之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:33至35之胺基酸序列，以及

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

186. 如請求項184之腫瘤治療劑，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含由以下(e2)組成之重鏈CDRs及輕鏈CDRs之胺基酸序列；

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

187. 如請求項180或181之腫瘤治療劑，其中該特異性結合於人類

TIM-3之抗體為結合於人類TIM-3之胞外區之單株抗體。

188. 如請求項187之腫瘤治療劑，其中該單株抗體為一種選自由以下(i)至(iii)組成之群：

(i)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:39至41表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:42至44表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(ii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:45至47表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:48至50表示之胺基酸序列的抗體L鏈，以及

(iii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:51至53表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:54至56表示之胺基酸序列的抗體L鏈。

189. 如請求項187之腫瘤治療劑，其中該單株抗體為一種選自由以下(a3)及(b3)組成之群：

(a3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:57表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:58表示之胺基酸序列的抗體VL，以及

(b3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:59表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:60表示之胺基酸序列的抗體VL。

190. 如請求項180至189中任一項之腫瘤治療劑，其中該治療劑及該抗體係同時或依序投予。

191. 如請求項180至190中任一項之腫瘤治療劑，其中該腫瘤為與人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3相關之腫瘤。

192. 如請求項191之腫瘤治療劑，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、

卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌、間皮瘤或胰臟癌。

193. 如請求項191之腫瘤治療劑，其中該與人類葉酸受體1相關之腫瘤為卵巢癌。

194. 如請求項191之腫瘤治療劑，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴細胞性白血病、非典型白血病、慢性淋巴細胞性白血病、成人T細胞白血病、NK/T細胞淋巴瘤、顆粒狀淋巴細胞增多症(LGL白血病)、真性紅血球增多症、原發性血小板增多症、嗜伊紅白血球增多症候群、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、MALT淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、伯基特淋氏巴瘤、淋巴母細胞性淋巴瘤或卡斯特萊曼氏疾病。

195. 如請求項191之腫瘤治療劑，其中該與人類IL-3R α 相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。

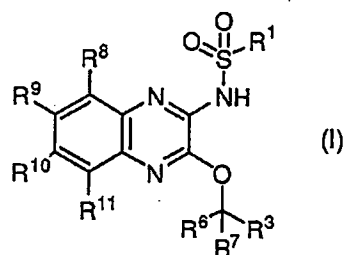
196. 如請求項191之腫瘤治療劑，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為血液癌症、乳癌、子宮癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、肺癌、腎癌、直腸癌、甲狀腺癌、子宮頸癌、小腸癌、前列腺癌及胰臟癌。

197. 如請求項191之腫瘤治療劑，其中該與人類TIM-3相關之腫瘤為急性骨髓性白血病(AML)。

198. 一種抑制劑，其用於減少特異性結合於人類葉酸受體1、人類IL-3R α 或人類TIM-3之抗體之抗體依賴性細胞毒性活性，其包含吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物作為活性成分。

199. 如請求項198之抑制劑，其中該吡啶胺2,3-雙加氧酶抑制物為由式(I)表示之化合物(I)

{化學式31}



其中

R6及R7可相同或不同，且各表示氫原子或視情況經取代之低碳烷基，

R8、R9、R10及R11可相同或不同，且各表示氫原子、鹵素、氰基或低碳烷基，

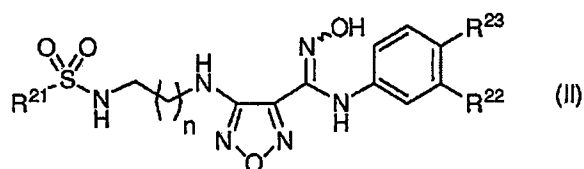
R1表示可經低碳烷氧基取代之低碳烷基，且

R3表示視情況經取代之芳族雜環基，

或其醫藥學上可接受之鹽，

或由式(II)表示之化合物(II)

{化學式32}



其中

R21表示胺基或甲基，

R22表示鹵素、氰基、三氟甲基或低碳烷基，

R23表示氫原子或鹵素，且

n表示1或2，

或其醫藥學上可接受之鹽。

200. 如請求項198或199之抑制劑，其中該特異性結合於人類葉酸受體1之抗體為單株抗體。

201. 如請求項198或199之抑制劑，其中該特異性結合於人類葉酸受

體1之抗體為選自由以下(a1)-(c1)組成之群的單株抗體：

(a1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列；

(b1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 1、2及3表示之胺基酸序列且該抗體L鏈之CDR 1-3分別包含由SEQ ID NO. 4、5及6表示之胺基酸序列，且由SEQ ID NO. 3表示之胺基酸序列(抗體H鏈之CDR3)中之半胱胺酸經蘇胺酸、甲硫胺酸、異白胺酸、纈胺酸、苯丙胺酸或麩醯胺酸取代；以及

(c1)如下單株抗體，其中該抗體H鏈包含由SEQ ID NO. 7表示之胺基酸序列，且該抗體L鏈包含由SEQ ID NO. 8表示之胺基酸序列。

202. 如請求項198或199之抑制劑，其中該特異性結合於人類IL-3R α 之抗體為人類IL-3R α 鏈之抗體，其不抑制IL-3信號傳導且結合於該人類IL-3R α 鏈之B域，但不結合於該人類IL-3R α 鏈之C域。

203. 如請求項202之抑制劑，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含選自由以下(a2)至(e2)組成之群的重鏈CDRs及輕鏈CDRs之胺基酸序列；

(a2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:9至11之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:24至26之胺基酸序列，

(b2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:12至14之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:27至29之胺基酸序列，

(c2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:15至17之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:30至32之胺基酸序

列，

(d2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:18至20之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:33至35之胺基酸序列，以及

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

204. 如請求項202之抑制劑，其中該人類IL-3R α 鏈之抗體包含由以下(e2)組成之重鏈CDRs及輕鏈CDRs之胺基酸序列；

(e2)重鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:21至23之胺基酸序列，且輕鏈之CDR 1至3分別為SEQ ID NO:36至38之胺基酸序列。

205. 如請求項198或199之抑制劑，其中該特異性結合於人類TIM-3之抗體為結合於人類TIM-3之胞外區之單株抗體。

206. 如請求項205之抑制劑，其中該單株抗體為一種選自由以下(i)至(iii)組成之群：

(i)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:39至41表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:42至44表示之胺基酸序列的抗體L鏈，

(ii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:45至47表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:48至50表示之胺基酸序列的抗體L鏈，以及

(iii)如下單株抗體，其包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:51至53表示之胺基酸序列的抗體H鏈，且包含CDR 1至3分別包含由SEQ ID NO:54至56表示之胺基酸序列的抗體L鏈。

207. 如請求項205之抑制劑，其中該單株抗體為一種選自由以下(a3)

及(b3)組成之群：

(a3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:57表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:58表示之胺基酸序列的抗體VL，以及

(b3)如下單株抗體，其包含有包含由SEQ ID NO:59表示之胺基酸序列的抗體VH且包含有包含由SEQ ID NO:60表示之胺基酸序列的抗體VL。

208. 如請求項198至207中任一項之抑制劑，其中該抑制劑及該抗體係同時或依序投予。

209. 如請求項48或49之吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制物，其中該吲哚胺2,3-雙加氧酶抑制物及該抗體係同時或依序投予。

210. 如請求項65或66之抑制劑，其中該抑制劑及該抗體係同時或依序投予。

圖式

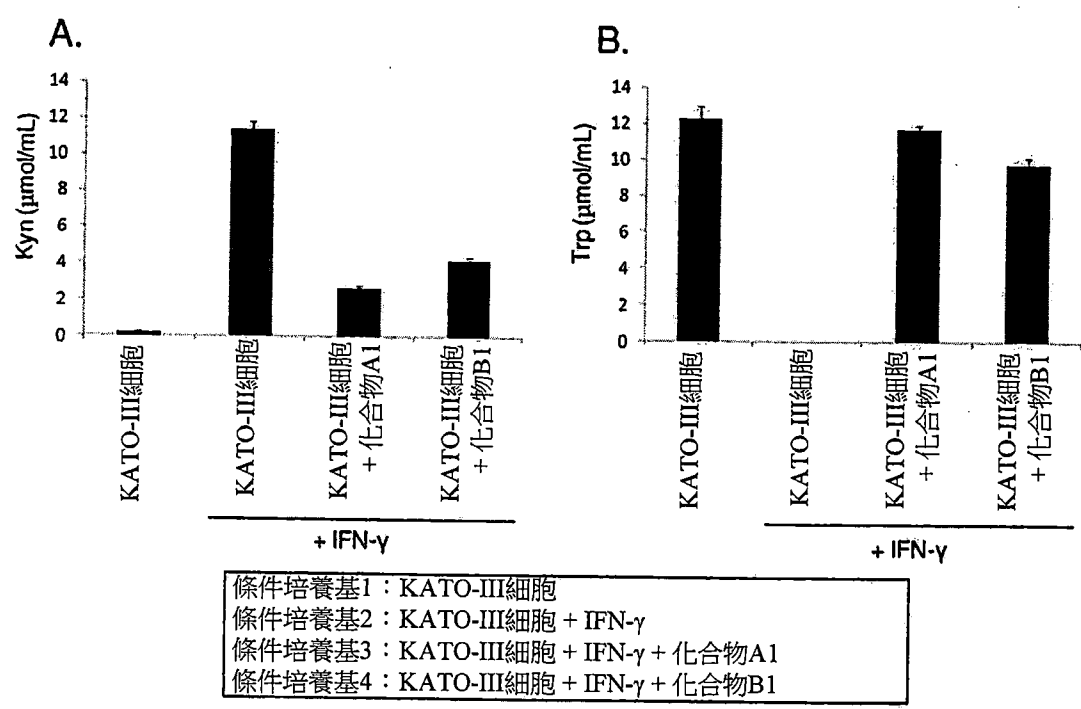


圖 1

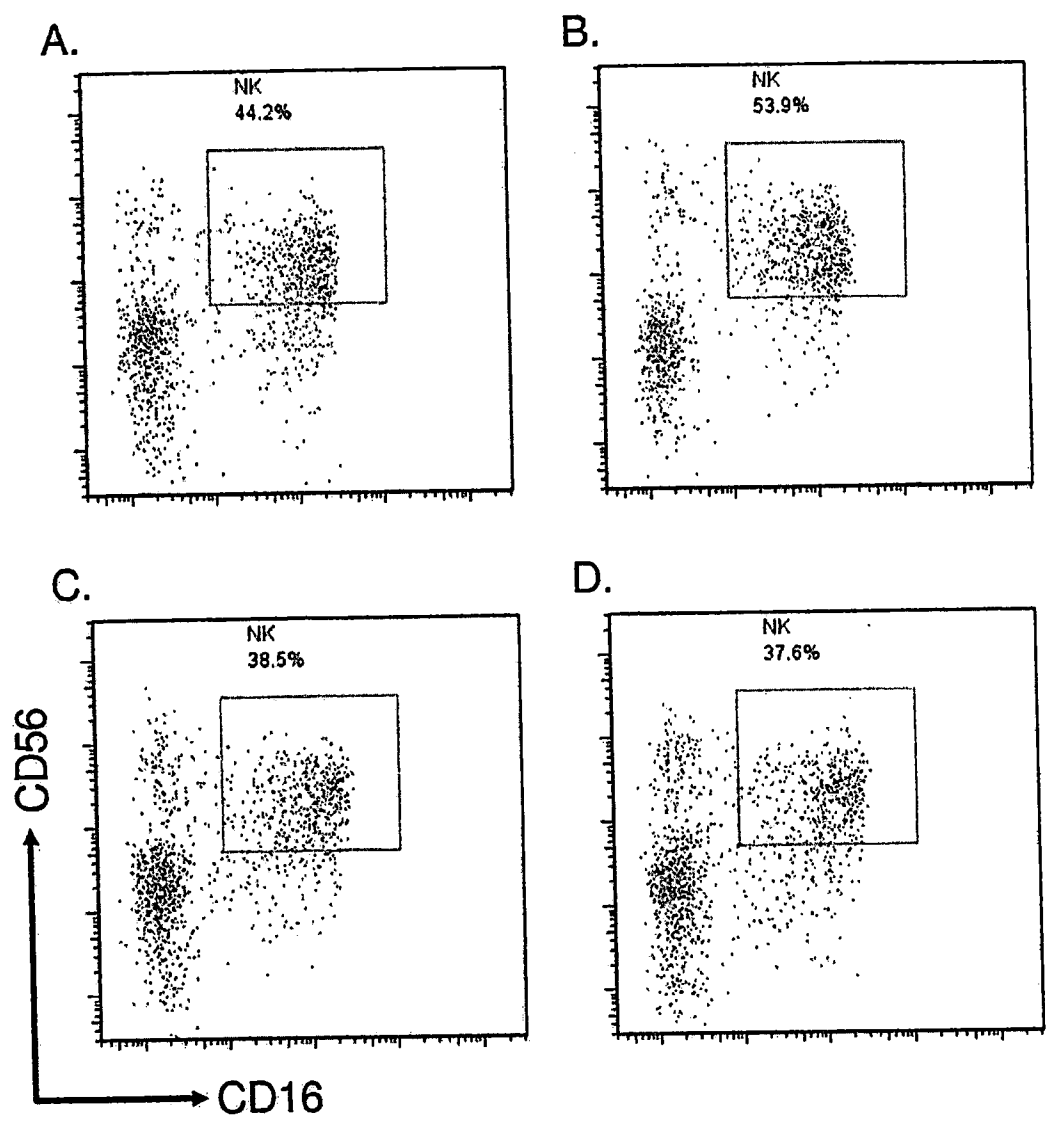


圖2

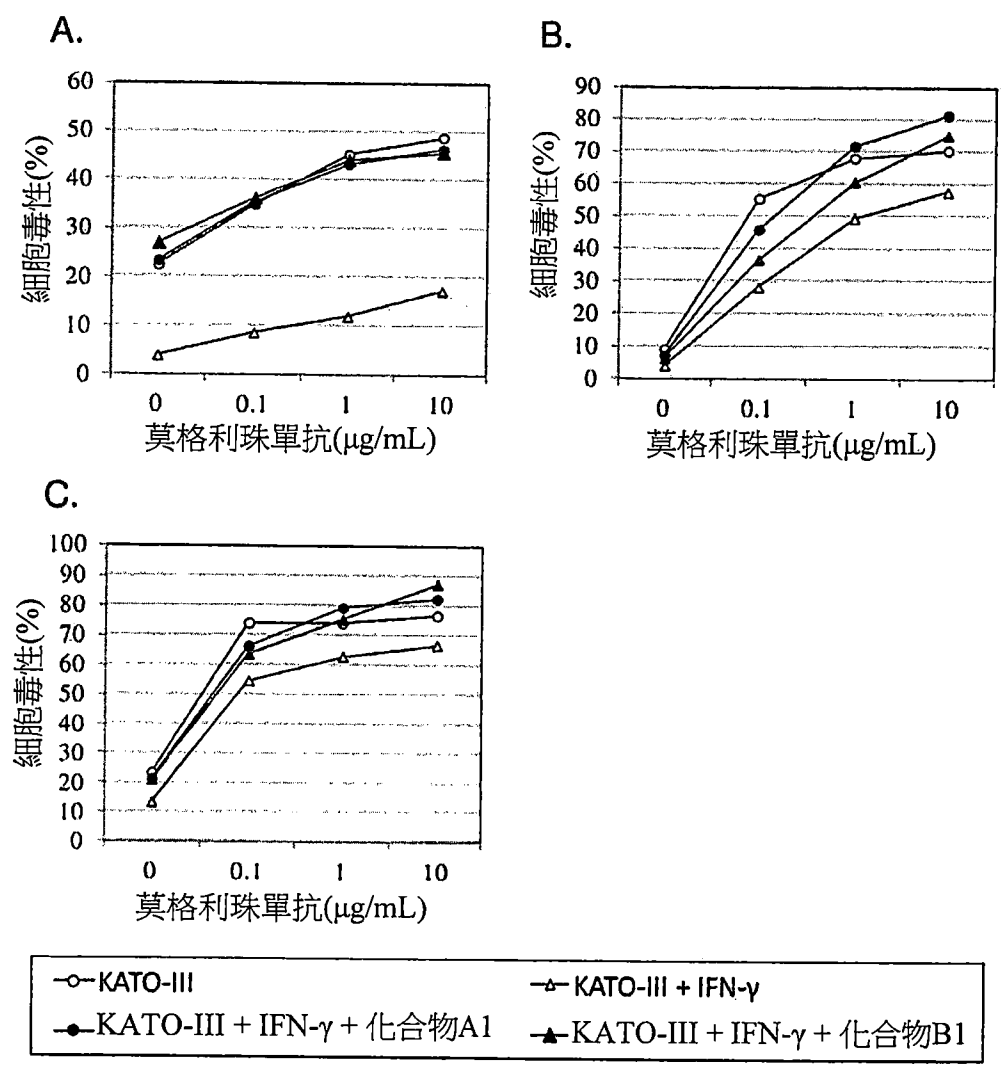


圖3

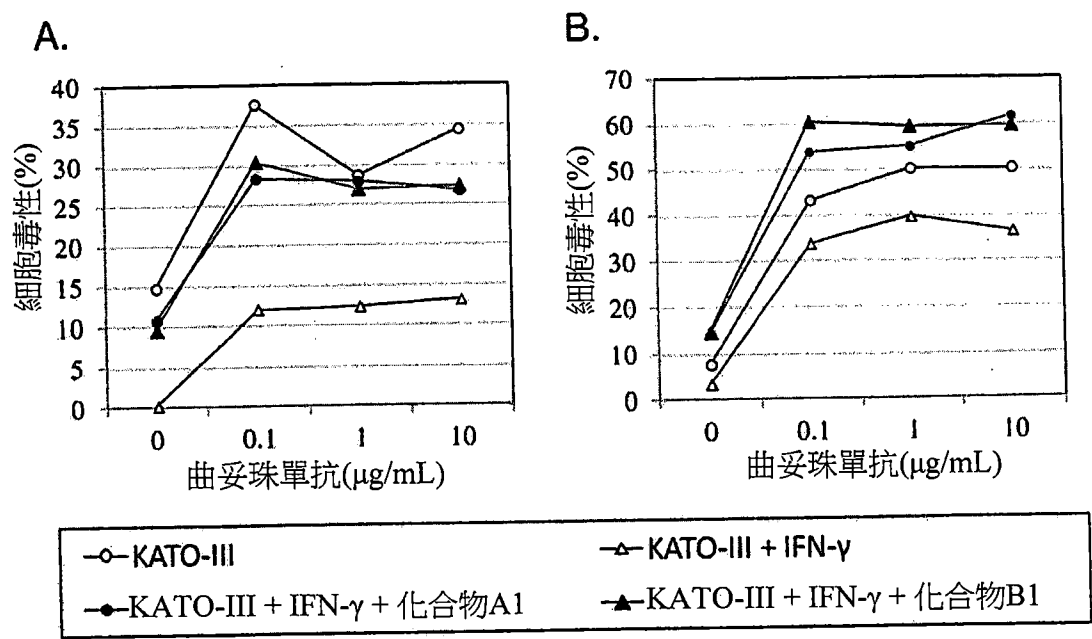


圖4

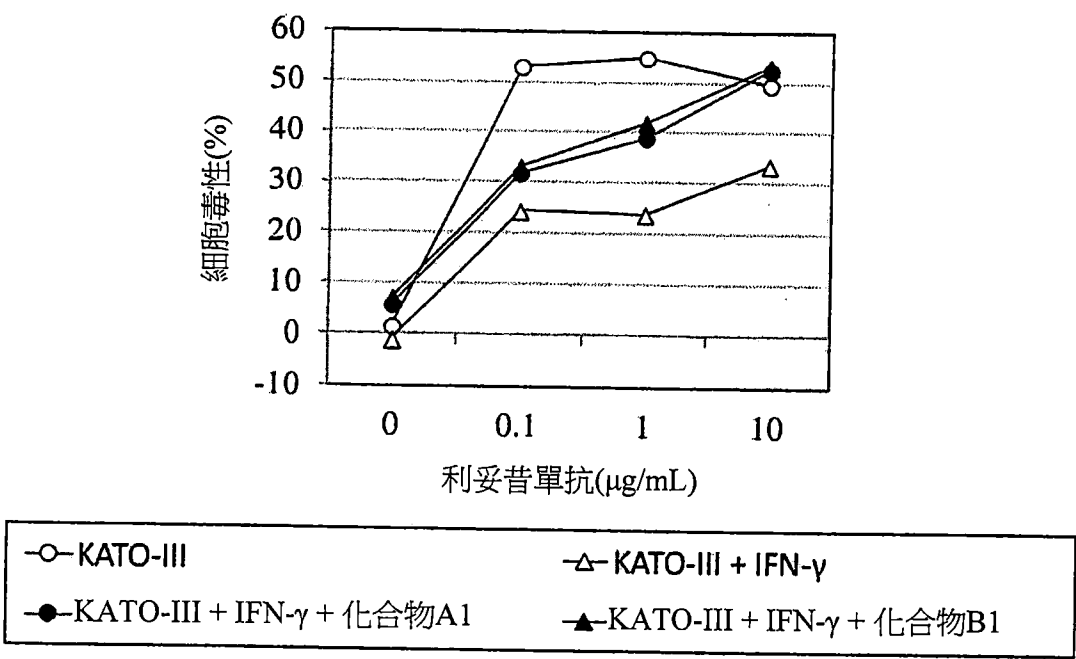


圖5

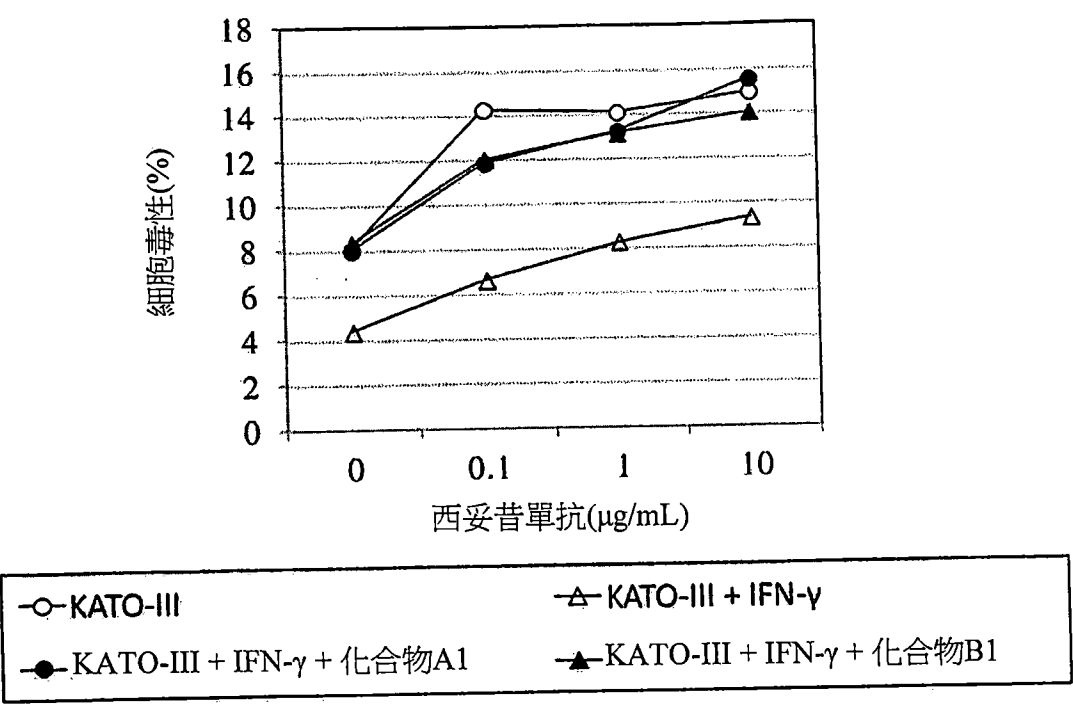


圖6

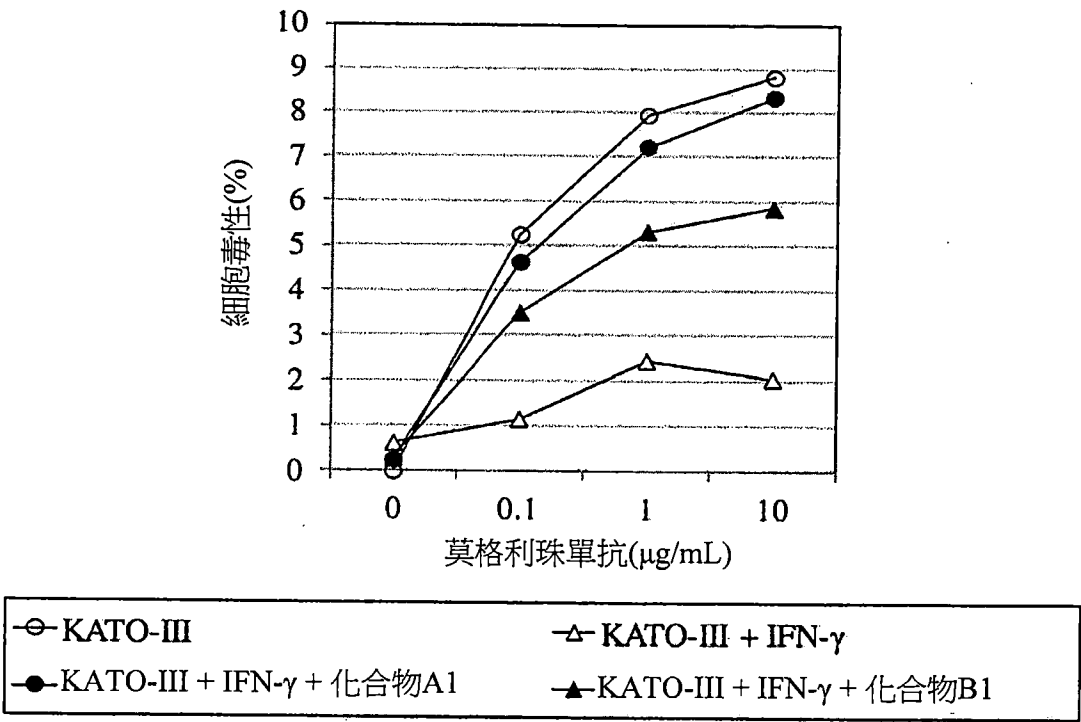


圖7

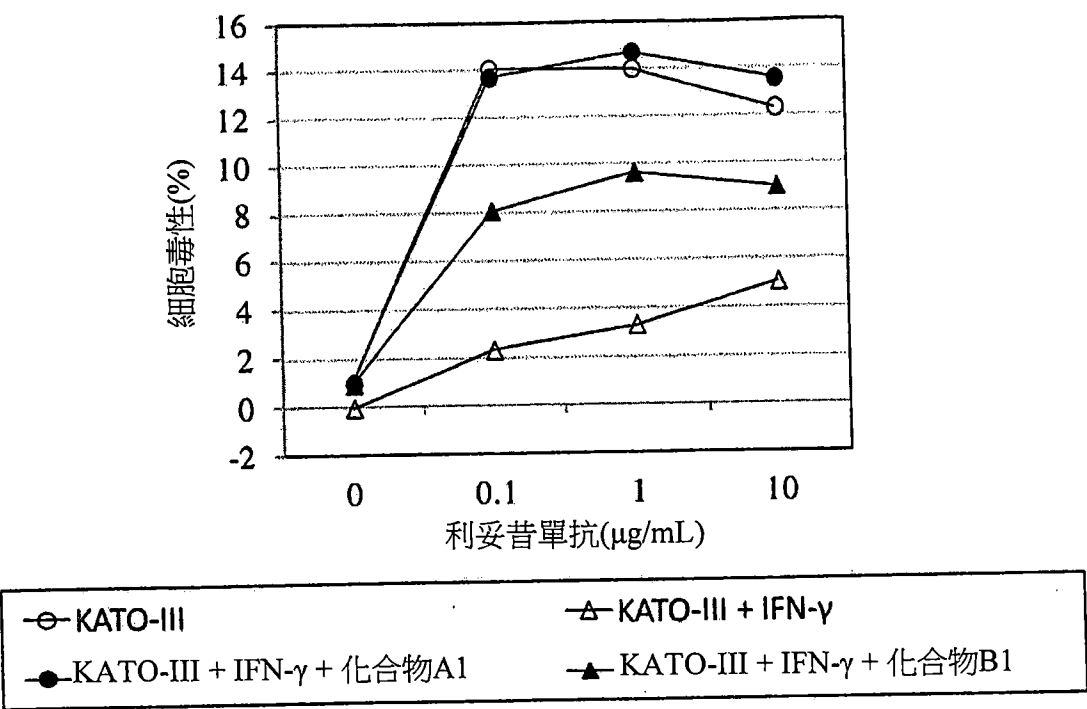


圖8

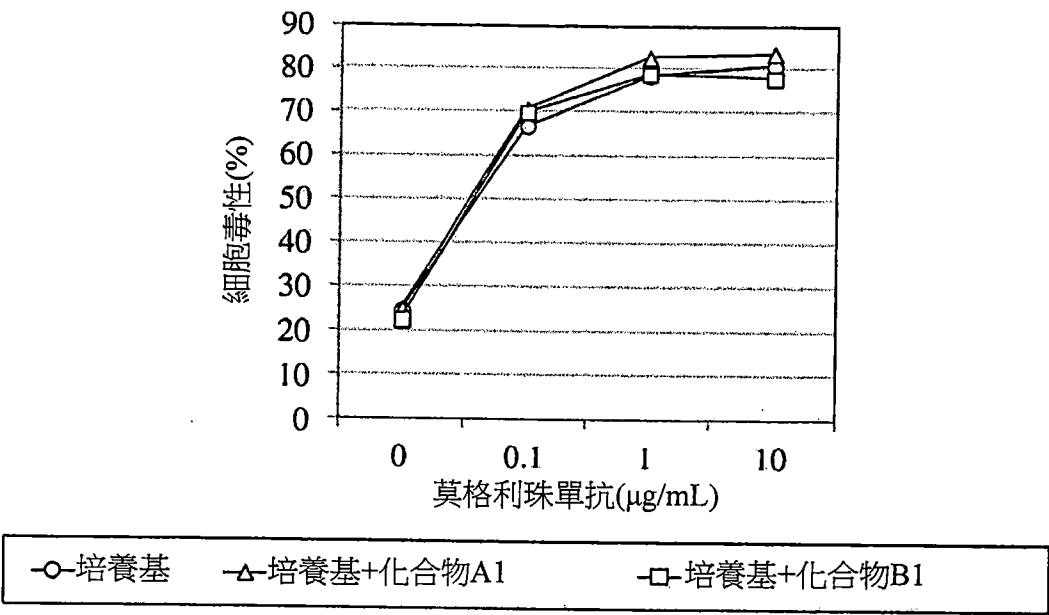


圖9

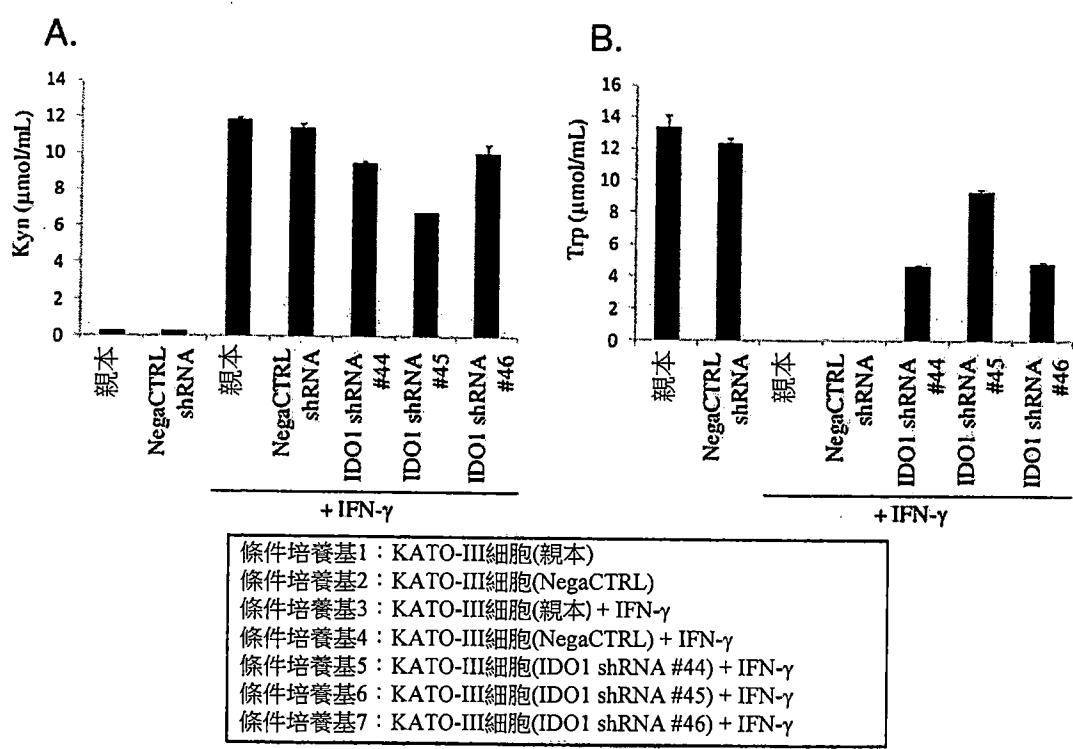


圖11

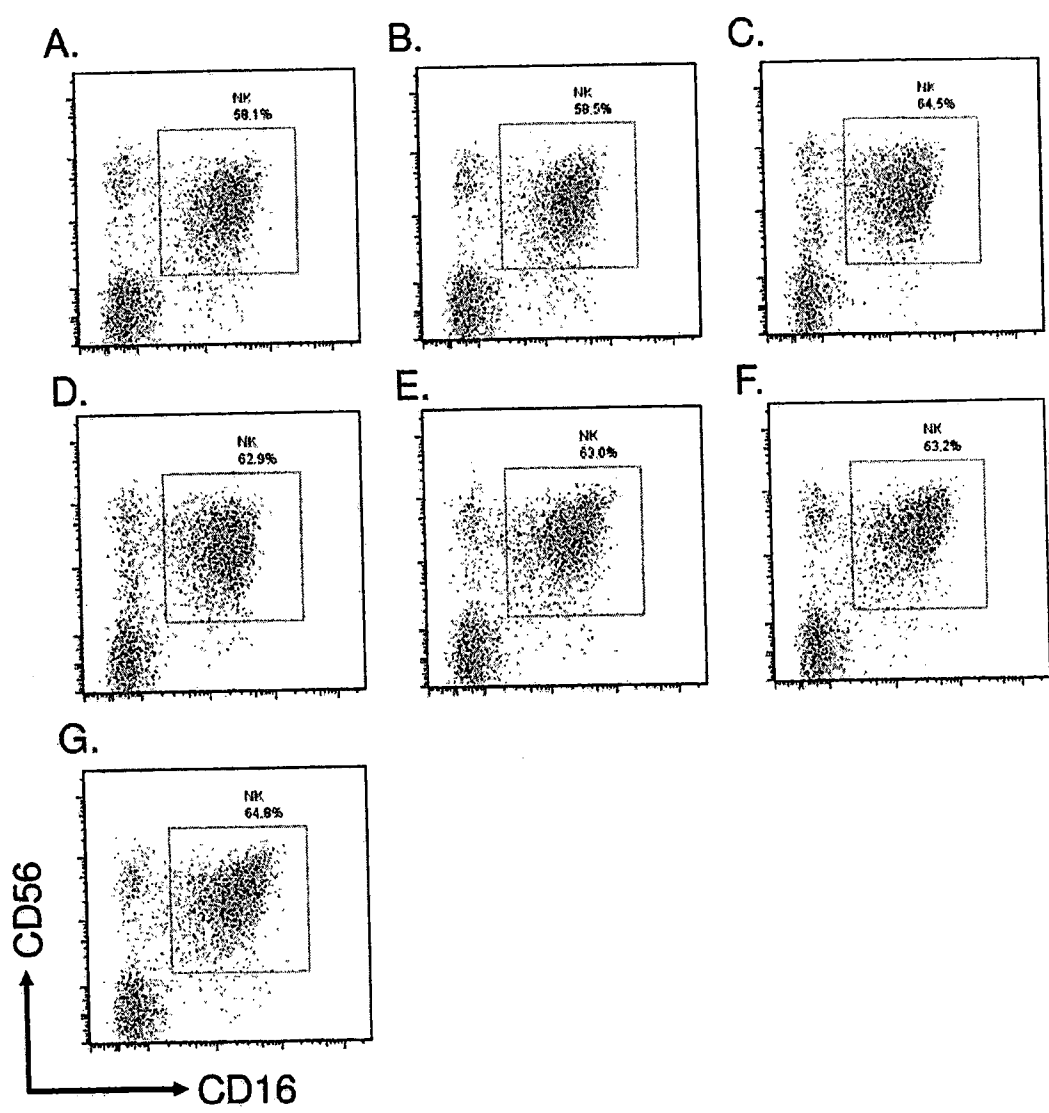


圖12

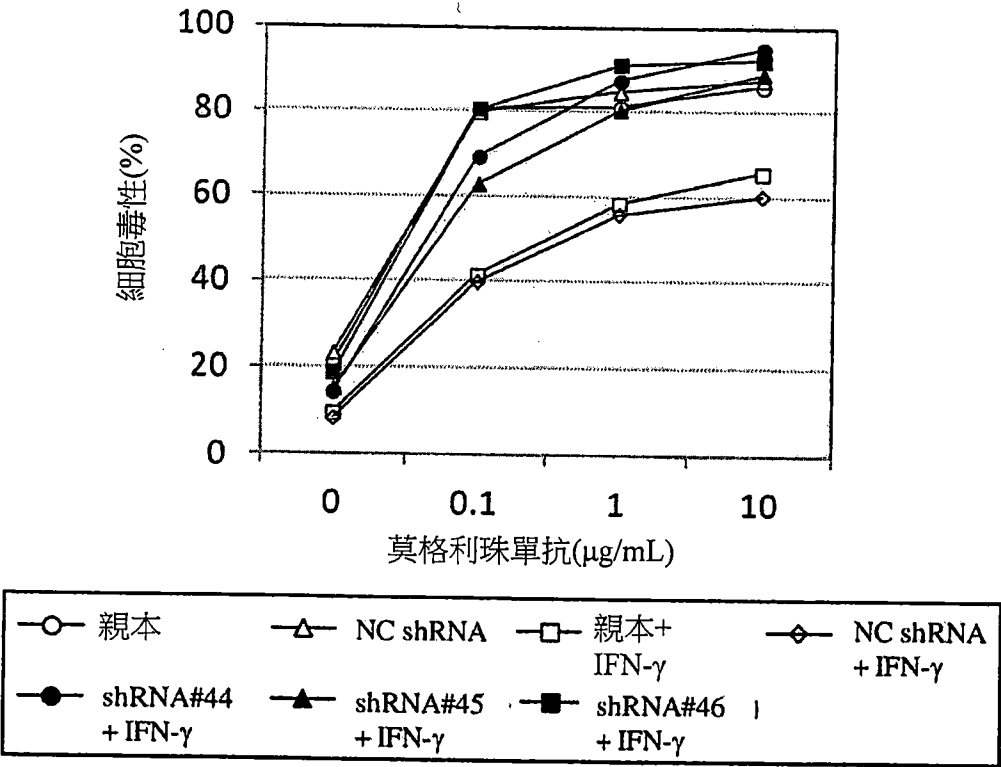


圖13

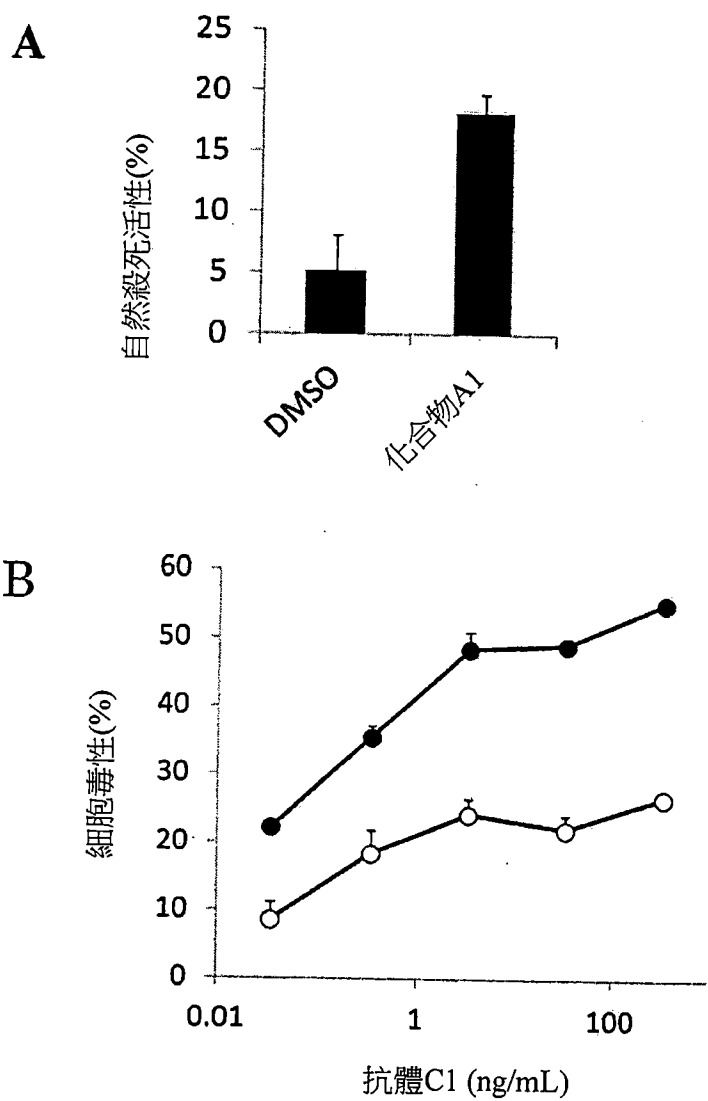
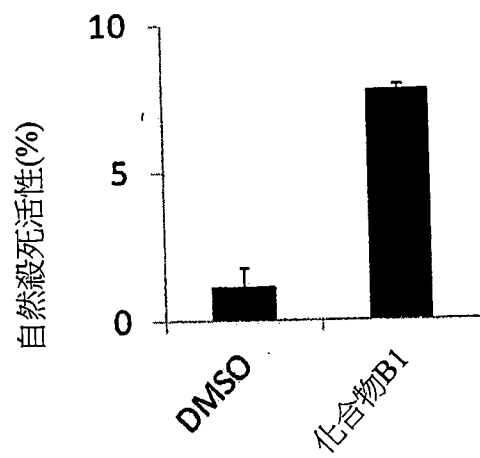


圖15

A



B

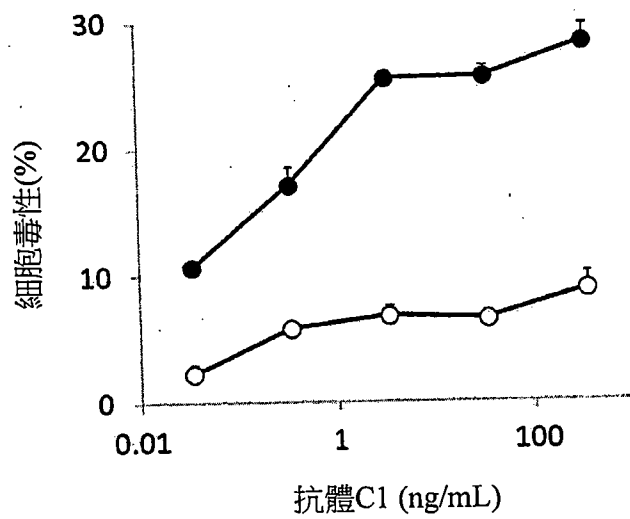


圖16

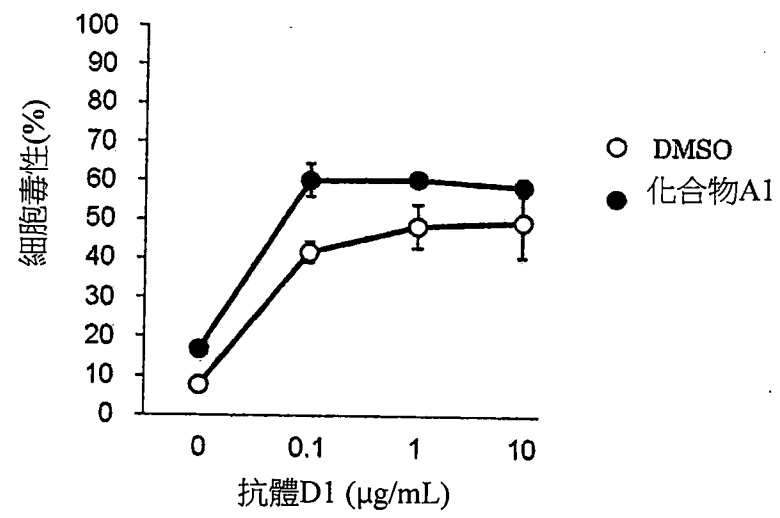


圖17

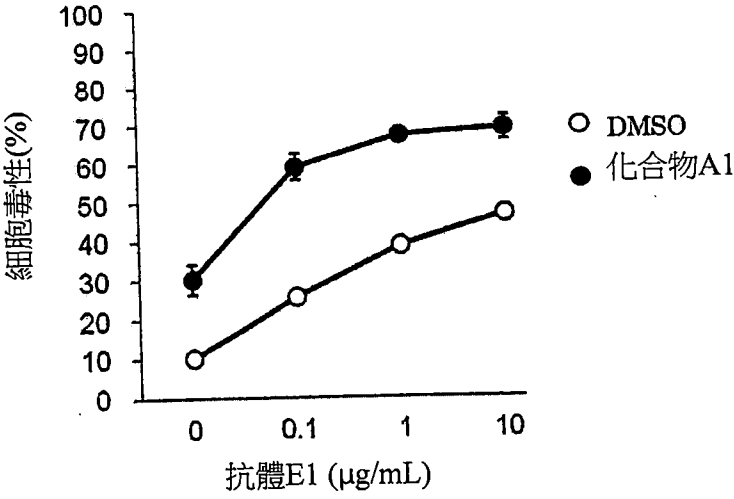


圖18