



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I708787 B

(45)公告日：中華民國 109 (2020) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：108105310

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 02 月 18 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P37/06 (2006.01)

(30)優先權：2018/03/02 美國

62/637,643

(71)申請人：美商美國禮來大藥廠(美國) ELI LILLY AND COMPANY (US)

美國

(72)發明人：柴 清 CHAI, QING (CN)；丰 意青 FENG, YIQING (US)；紐本 克麗斯汀 佩吉 NEWBURN, KRISTIN PAIGE (US)；楚樂 史帝芬妮 瑪莉 TRUHLAR, STEPHANIE MARIE (US)；瓦迪若 佩卓 VERDINO, PETRA (AT)；亞奇 皮埃波林娜 YACHI, PIA PAULIINA (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

EP 2742953A1

WO 2016020856A2

Li T, Ma R, Zhu JY, Wang FS, Huang L, Leng XS. PD-1/PD-L1 costimulatory pathway-induced mouse islet transplantation immune tolerance. Transplant Proc. 2015;47(1):165-70.

審查人員：林佳慧

申請專利範圍項數：12 項 圖式數：0 共 62 頁

(54)名稱

PD-1 促效劑抗體及其用途

(57)摘要

本發明係關於抗人類 PD-1 促效劑抗體及其用於治療諸如類風濕性關節炎之自體免疫病症或用於減少移植細胞及/或組織之排斥反應的用途。

The present invention relates to anti-human PD-1 agonist antibodies, and uses thereof for treating autoimmune disorders such as rheumatoid arthritis or for decreasing rejection of transplanted cells and/or tissues.



I708787

【發明摘要】

【中文發明名稱】

PD-1促效劑抗體及其用途

【英文發明名稱】

PD-1 AGONIST ANTIBODIES AND USES THEREOF

【中文】

本發明係關於抗人類PD-1促效劑抗體及其用於治療諸如類風濕性關節炎之自體免疫病症或用於減少移植細胞及/或組織之排斥反應的用途。

【英文】

The present invention relates to anti-human PD-1 agonist antibodies, and uses thereof for treating autoimmune disorders such as rheumatoid arthritis or for decreasing rejection of transplanted cells and/or tissues.

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

PD-1促效劑抗體及其用途

【英文發明名稱】

PD-1 AGONIST ANTIBODIES AND USES THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明屬於醫學領域。更特定言之，本發明係關於針對人類計劃性死亡1 (PD-1；亦稱為CD279)之促效抗體、包含此類抗人類PD-1促效抗體之組合物及使用此類抗人類PD-1促效抗體治療自體免疫病症或移植排斥反應之方法。

【先前技術】

【0002】 免疫檢查點路徑調節自體免疫反應與抗癌免疫反應 (Isakov, N., *J. Autoimmune Disorders* 2016; 2(2):17)。在自體免疫疾病療法中，需要促進，亦即促效免疫抑制路徑之作用，使得免疫反應得到遏制。相反，在癌症療法中，需要抑制，亦即拮抗免疫抑制路徑之作用，使得免疫反應去除遏制，或受到刺激。

【0003】 PD-1為I型細胞膜蛋白質。PD-1屬於擴展之CD28/CTLA-4家族，其含有細胞外IgV域，接著為跨膜域及胞內域。PD-1路徑之活化引起免疫細胞活化之抑制，諸如細胞增殖減少、細胞存活減少及發炎性細胞介素(例如IFN γ 、TNF α 及IL-2)之抑制。PD-1在近來活化之免疫細胞，諸如T細胞、B細胞、NKT細胞、單核球及樹突狀細胞上表現；且其表現受到緊密調控。用拮抗劑PD-1抗體治療腫瘤患者成功證實PD-1介導之信號傳導在調節人類免疫反應中之重要性。用PD-1拮抗劑抗體治療之癌症患

者往往具有不同之自體免疫表現作為治療副作用(Cappelli, L.C.等人, 2017; Hoffman, L.等人, 2016)。另外，自體免疫疾病活性與PD-1路徑之間存在其他已知之相關性。舉例而言，發作中之SLE患者往往具有低PD-L1表現(Mozaffarian, N.等人, 2008)及針對PD-1之自體抗體(Shi, H.等人, 2017)。

【0004】 因此，增加PD-1介導之信號傳導構成一種管理自體免疫病症之潛在方法，其深遠地改變疾病且反應持久，以及關鍵安全性益處優於當前免疫調節療法。一般而言，此等當前療法廣泛下調身體之免疫系統(例如皮質類固醇及環磷醯胺)。然而，PD-1主要在活化免疫細胞上表現。因此，抗PD-1抗體能夠選擇性地靶向在治療時間期間活化之細胞，保持免疫細胞譜系之其餘部分完整。

【0005】 該領域已奮力產生PD-1促效抗體(Sharpe, A.及Pauken, E., *Nature Reviews Immunology* (2017))。認為困難至少部分地由在活體外或活體內生理環境下實現PD-1促效作用所需之複雜細胞相互作用引起。因此，當評估PD-1促效劑抗體活性時顯然用於鑑別治療性抗體之分析或模型的背景係重要的。

【0006】 美國專利申請公開案US20170088618揭示抗人類PD-1抗體，在一些實施例中及某些活體外分析中，其充當促效劑，其中關於PD-1細胞外域之締合及解離速率產生介於19-22 nM之間的 K_D 值(使用BIAcore®T200，如藉由表面電漿子共振(SPR)所測定)。

【0007】 因此，需要如下替代抗人類PD-1抗體，其1)以達成最佳促效活性所需之締合及解離速率結合人類PD-1；2)在免疫相關背景下促效人類PD-1，從而實現活體內功效；3)作為單一療法，顯示足以治療及/或

預防自體免疫病症或預防移植排斥反應之效力；4)作為與其他治療劑之組合療法之一部分，顯示治療及/或預防自體免疫病症或預防移植排斥反應之所需活性；及/或5)當在用另一抗人類PD-1促效劑抗體治療自體免疫病症期間因為至少一個不良事件及/或無效(尤其抗藥物抗體(ADA)介導之功效減小)而停止療法時提供藥物切換之有效替代物。

【發明內容】

【0008】 因此，本發明提供新穎人類化抗人類PD-1促效劑IgG1抗體。本發明之抗體由於包括(但不限於)以下之多種原因而尤其優於先前技術之抗PD-1抗體：1)其以所需締合及解離速率結合人類PD-1 (以及食蟹獼猴PD-1)；2)其在較低劑量或較不頻繁給藥下可為治療學上有效的；3)其在活體外抑制初級人類T細胞增殖；4)其調控人類PD-1細胞表面表現；5)其在活體外NFAT報導細胞分析中抑制T細胞受體信號傳導活性；6)其具有低治療蛋白免疫原性(亦即，抗藥物抗體(ADA))潛能；7)其在人類化GvHD模型中降低疾病活性；及/或8)在狼瘡性腎炎活體內模型中，其抑制免疫細胞活化：

- a)無顯著及/或可偵測之補體依賴性細胞毒性，
- b)不與人類PD-L1/2競爭結合於人類PD-1，
- c)在活體外分析中不誘發顯著及/或可偵測之細胞介素釋放。

【0009】 此外，本發明之示例性抗人類PD-1促效劑IgG1抗體亦展現活體內穩定性、物理及化學穩定性，包括(但不限於)熱穩定性、溶解性、低自締合及可用於研發及/或用於治療自體免疫病症及/或移植排斥反應(亦即，移植物抗宿主疾病)之藥物動力學特徵。另外，本文所揭示之編碼本發明之示例性抗人類PD-1促效劑IgG1抗體的多核苷酸序列經工程改

造以使用較佳密碼子顯著提高抗體在較佳哺乳動物細胞株表現系統，諸如CHO中之表現。

【0010】藉由提供經由使用顯著工程改造之抗人類PD-1促效劑IgG1抗體進行免疫檢查點刺激可用於預防、下調或改善自體免疫及/或免疫耐受性相關病症的組合物及方法，本發明提供優於先前技術之優點。本發明之抗人類PD-1促效劑IgG1抗體較佳經由抑制免疫反應之適應組，廢除抗原特異性免疫過程，能夠改善或恢復免疫病變，藉此直接解決潛在疾病病變。此類抗體之使用在臨床上可證明產生長期持久性或緩解所治療之疾病。

【0011】本發明提供一種抗人類PD-1抗體，其包含：1)包含具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之HCDR1、具有SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之HCDR2、具有SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之HCDR3的重鏈可變區(HCVR)；及2)包含具有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列之LCDR1、具有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之LCDR3的輕鏈可變區(LCVR)，其中該抗體為IgG同型子類1 (IgG1)。

【0012】在一些實施例中，本發明提供一種抗人類PD-1抗體，其包含：1)具有SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之HCVR；及2)具有SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之LCVR，其中該抗體為IgG1。

【0013】在一些實施例中，本發明提供一種抗人類PD-1抗體，其包含：1)具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之重鏈；及2)具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之輕鏈。

【0014】在一些實施例中，本發明提供一種抗人類PD-1抗體，其由具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之兩條重鏈及具有SEQ ID NO: 2之胺基

酸序列之兩條輕鏈組成。

【0015】 本發明亦提供一種能夠表現抗人類PD-1抗體之哺乳動物細胞，該哺乳動物細胞包含：1)包含具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之HCDR1、具有SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之HCDR2、具有SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之HCDR3的HCVR；及2)包含具有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列之LCDR1、具有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之LCDR3的LCVR，其中該抗體為IgG1。

【0016】 在一些實施例中，本發明提供一種能夠表現抗人類PD-1抗體之哺乳動物細胞，該抗人類PD-1抗體包含：1)具有SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之HCVR；及2)具有SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之LCVR，其中該抗體為IgG1。

【0017】 在一些實施例中，本發明提供一種能夠表現抗人類PD-1抗體之哺乳動物細胞，其包含：1)具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之重鏈；及2)具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之輕鏈。在一些實施例中，本發明提供抗人類PD-1抗體由具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之兩條重鏈及具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之兩條輕鏈組成。

【0018】 本發明亦提供一種用於產生抗人類PD-1抗體之方法，其包含：a)培養能夠表現該抗體之哺乳動物細胞，其中該抗體包含：1)包含具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之HCDR1、具有SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之HCDR2、具有SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之HCDR3的HCVR；及2)包含具有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列之LCDR1、具有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之LCDR3的LCVR，其中該抗體為IgG1；以及b)回收該抗體。

【0019】 在一些實施例中，本發明提供一種用於產生抗人類PD-1抗體之方法，其包含：a)培養能夠表現該抗體之哺乳動物細胞，其中該抗體包含：1)具有SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之HCVR；及2)具有SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之LCVR，其中該抗體為IgG1；以及b)回收該抗體。

【0020】 在一些實施例中，本發明提供一種用於產生抗人類PD-1抗體之方法，其包含：a)培養能夠表現該抗體之哺乳動物細胞，其中該抗體包含：1)具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之重鏈；及2)具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之輕鏈；以及b)回收該抗體。

【0021】 在一些實施例中，本發明提供一種用於產生抗人類PD-1促效劑抗體之方法，其包含：a)培養能夠表現該抗體之哺乳動物細胞，其中該抗體由具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之兩條重鏈及具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之兩條輕鏈組成；以及b)回收該抗體。

【0022】 本發明亦提供藉由以上提及之方法產生的抗人類PD-1抗體。

【0023】 本發明亦提供一種醫藥組合物，其包含藉由以上提及之方法產生之抗人類PD-1抗體及可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。

【0024】 本發明亦提供一種DNA分子，其包含具有SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12或SEQ ID NO: 11及12之序列的多核苷酸。本發明亦提供一種哺乳動物細胞，其包含包括具有SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12或SEQ ID NO: 11及12之序列的多核苷酸的DNA分子。

【0025】 本發明提供一種醫藥組合物，其包含：1)抗人類PD-1抗體，該抗體包含：a)包含具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之HCDR1、具有SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之HCDR2、具有SEQ ID NO: 7之胺基酸序

列之HCDR3的HCVR；及b)包含具有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列之LCDR1、具有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之LCVR，其中該抗體為IgG1；及2)可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。

【0026】 在一些實施例中，本發明提供一種醫藥組合物，其包含：1)抗人類PD-1抗體，該抗體包含：a)具有SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之HCVR；及b)具有SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之LCVR，其中該抗體為IgG1；及2)可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。

【0027】 本發明提供一種醫藥組合物，其包含：1)抗人類PD-1抗體，該抗體包含：a)具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之重鏈；及b)具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之輕鏈；及2)可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。在一些實施例中，以上提及之醫藥組合物的抗人類PD-1抗體由具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的兩條重鏈及具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列的兩條輕鏈組成。

【實施方式】

【0028】 根據35 U.S.C. §119(e)，本申請案主張2018年3月2日申請之美國臨時申請案第62/637,643號之益處；其揭示內容以引用的方式併入本文中。

【0029】 如本文所用，「PD-1」係指計劃性細胞死亡1，亦稱為計劃性死亡1 (PD-1；CD279)，係屬於擴展之CD28/CTLA-4家族之I型細胞膜蛋白，其含有胞外域，接著為跨膜域及胞內域。

【0030】 如本文所用，「hPD-1」或「人類PD-1」係指野生型人類PD-1，較佳為具有SEQ ID NO: 13中闡述之胺基酸序列(亦即，NCBI參考

序列NP_005009.2)的野生型人類PD-1。

【0031】術語「食蟹獼猴(cyno)」、「食蟹獼猴(cynomolgus)」或「食蟹獼猴(cynomolgus monkey)」在本文中可互換地使用。當在關於PD-1多肽使用時希望該術語係指野生型食蟹獼猴PD-1，且較佳為具有SEQ ID NO: 15中闡述之胺基酸序列的野生型食蟹獼猴PD-1。

【0032】PD-1多肽「胞外域」或「ECD」係指基本上不含跨膜域及細胞質域的PD-1多肽形式。較佳地，PD-1 ECD具有小於1%之跨膜域及細胞質域，更佳地，PD-1 ECD具有小於0.5%之此類結構域。甚至更佳地，人類PD-1 ECD多肽如SEQ ID NO: 14中所示且食蟹獼猴PD-1 ECD多肽如SEQ ID NO: 16中所示。PD-1多肽ECD可使用此項技術中已知之方法製備。或者，人類PD-1多肽ECD可購自多家供應商，諸如 Sino Biological (Beijing, China；參考號 10377-H08) 及 R&D Systems (Minneapolis, MN, USA；目錄號8986-PD)。食蟹獼猴PD-1多肽ECD可購自R&D Systems (Minneapolis, MN, USA；目錄號8509-PD)。

【0033】如本文所用，「抗人類PD-1促效劑抗體」係指結合於人類PD-1且當在活體內投與時使至少一種自體免疫活性顯著減輕，諸如降低抗雙股DNA (ds-DNA)力價、減小疾病評分或減少發炎性細胞介素的抗體。

【0034】如本文所用，「抗體1」係指一種人類PD-1結合抗體，其包含以下：1)具有SEQ ID NO: 5之HCDR1胺基酸序列、SEQ ID NO: 6之HCDR2胺基酸序列、SEQ ID NO: 7之HCDR3胺基酸序列的HCVR；及2)具有SEQ ID NO: 8之LCDR1胺基酸序列、SEQ ID NO: 9之LCDR2胺基酸序列、SEQ ID NO: 10之LCDR3胺基酸序列的LCVR，SEQ ID NO: 3

之HCVR胺基酸序列、SEQ ID NO: 4之LCVR胺基酸序列、SEQ ID NO: 1之HC胺基酸序列及SEQ ID NO: 2之LC胺基酸序列。

【0035】 如本文所用，術語「抗體」係指一種具有兩條重鏈(HC)及兩條輕鏈(LC)以使得重鏈及輕鏈由二硫鍵互連的經工程改造之非天然存在之多肽複合物，其中該抗體為IgG同型抗體。如本文關於本發明之抗體所用，術語「抗體」係指如下抗體，其為IgG同型子類1 (亦即IgG1)，且具有經由鏈內二硫鍵及鏈間二硫鍵交聯之「重」鏈及「輕」鏈。輕鏈各與重鏈形成二硫鍵，且兩條重鏈彼此之間形成兩個二硫鍵。各重鏈由N端HCVR及重鏈恆定區(「HCCR」)組成。各輕鏈由N端LCVR及輕鏈恆定區(「LCCR」)構成。當在某些生物系統中表現時，具有天然人類Fc序列之抗體在Fc區中發生糖基化。通常，在抗體Fc區中，在高度保守性N-糖基化位點處發生糖基化。N-聚糖通常連接至天冬醯胺。抗體亦可在其他位置發生糖基化。

【0036】 較佳地，本發明之抗體含有Fc部分，該Fc部分為人類IgG1亞型。熟知人類IgG1結合於Fc- γ 受體家族(Fc γ R)以及C1q。與此等受體之相互作用可誘發抗體依賴性細胞毒性(ADCC)及補體依賴性細胞毒性(CDC)。

【0037】 重鏈之恆定區含有CH1、CH2及CH3結構域。CH1出現在HCVR後；CH1及HCVR形成Fab之重鏈部分。CH2出現鉸鏈區之後及CH3之前。CH3出現在CH2之後及重鏈之羧基端處。輕鏈之恆定區含有一個結構域CL。CL出現在LCVR之後；CL及LCVR形成Fab之輕鏈部分。較佳地，本發明之抗人類PD-1促效劑抗體之CL區屬於人類 κ 亞型(例如SEQ ID NO: 18)。

【0038】 本發明之DNA分子為如下DNA分子，其包含編碼具有本發明抗體(例如重鏈、輕鏈、可變重鏈及可變輕鏈)中至少一種多肽之胺基酸序列之多肽的非天然存在之多核苷酸序列。

【0039】 本發明抗體之HCVR及LCVR區可進一步再分成高變區，稱為互補決定區(「CDR」)，穿插有更保守之稱為構架區(「FR」)之區域。各HCVR及LCVR由三個CDR及四個FR組成，其自胺基端至羧基端按以下順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在此，重鏈之三個CDR稱為「HCDR1、HCDR2及HCDR3」且輕鏈之三個CDR稱為「LCDR1、LCDR2及LCDR3」。CDR含有與抗原形成特異性相互作用的大部分殘基。Kabat CDR定義(Kabat等人，「Sequences of Proteins of Immunological Interest」，美國國家衛生研究院(National Institutes of Health), Bethesda, Md. (1991))係基於抗體序列可變性。Chothia CDR定義(Chothia等人，「Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins」，Journal of Molecular Biology, 196, 901-917 (1987)；Al-Lazikani等人，「Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins」，Journal of Molecular Biology, 273, 927-948 (1997))係基於抗體之三維結構及CDR環之拓撲結構。除HCDR1及HCDR2之外，Chothia CDR定義與Kabat CDR定義一致。North CDR定義(North等人，「A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations」，Journal of Molecular Biology, 406, 228-256 (2011))係基於大量晶體結構之親和力擴展叢集。出於本發明之目的，本發明抗體之LCVR及HCVR區內胺基酸分配至CDR結構域係基於熟知之Kabat編號約定(Kabat等人，Ann. NY Acad. Sci.

190:382-93 (1971)；Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, U.S. Department of Health and Human Services, NIH出版物第91-3242號 (1991))及North編號約定(North等人, A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations, Journal of Molecular Biology, 406:228-256 (2011))。就本發明之抗體之輕鏈CDR而言，使用North CDR定義。在重鏈中HCDR1及HCDR3兩者亦使用North定義。HCDR2使用North及Kabat之混合定義。當Kabat用以界定最後位置時，North定義用以鑑別起始N端位點。

【0040】 編碼HCVR區之經分離DNA可藉由將編碼HCVR之DNA可操作地連接至編碼重鏈恆定區之另一DNA分子而轉化成全長重鏈基因。人類以及其他哺乳動物重鏈恆定區基因之序列為此項技術中已知。涵蓋此等區域之DNA片段可例如藉由標準PCR擴增獲得。

【0041】 編碼LCVR區之經分離DNA可藉由將編碼LCVR之DNA可操作地連接至編碼輕鏈恆定區之另一DNA分子而轉化成全長輕鏈基因。人類以及其他哺乳動物輕鏈恆定區基因之序列為此項技術中已知。涵蓋此等區域之DNA片段可藉由標準PCR擴增獲得。輕鏈恆定區可為 κ 或 λ 恆定區。較佳地，對於本發明之抗體，輕鏈恆定區為 κ 恆定區。

【0042】 本發明之多核苷酸可在已將序列可操作地連接至表現控制序列之後在宿主細胞中表現。表現載體在宿主生物體中通常可以游離基因體或宿主染色體DNA之整體部分形式複製。通常，表現載體將含有選擇標記物，例如四環素、新黴素及二氫葉酸還原酶，以准許偵測經所需DNA序列轉型之細胞。

【0043】 本發明之抗體容易在哺乳動物細胞中產生，哺乳動物細胞

之非限制性實例包括CHO、NS0、HEK293或COS細胞。可使用此項技術中熟知之技術培養宿主細胞。

【0044】 含有所關注之多核苷酸序列(例如編碼抗體之多肽的多核苷酸及表現控制序列)的載體可藉由熟知之方法轉移至宿主細胞中，該等方法視細胞宿主之類型而變化。

【0045】 多種蛋白質純化方法可用於純化蛋白質，包括(但不限於)抗體，且此類方法為此項技術中已知。

【0046】 在本發明之其他實施例中，抗體或編碼其之核酸將呈分離形式提供。如本文所用，術語「分離」係指蛋白質、肽或核酸不含或實質上不含在細胞環境中發現之任何其他大分子物種。如本文所用，「實質上不含」意謂所關注之蛋白質、肽或核酸包含超過80% (以莫耳濃度計)，較佳超過90%且更佳超過95%之所存在之大分子物種。

【0047】 本發明之抗體或包含其之醫藥組合物可藉由非經腸途徑投與，非經腸途徑之非限制性實例為皮下投與及靜脈內投與。本發明之抗體可利用醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑，以單次或多次劑量，單獨投與患者。本發明之醫藥組合物可藉由此項技術中熟知之方法(例如 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第22版. (2012), A. Loyd等人, Pharmaceutical Press)製備且包含如本文所揭示之抗體，及一或多種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。

【0048】 如本文所用，術語「自體免疫疾病」或「自體免疫病症」在本文中可互換地使用且係指由針對自我細胞及/或組織或移植細胞及/或組織之不適當或不希望免疫反應引起的不良病狀。術語「自體免疫疾病」或「自體免疫病症」意欲包括此類病狀，無論其由體液還是細胞免疫反應

介導。示例性自體免疫疾病或病症包括(但不限於)移植物抗宿主病(GVHD)、實體器官移植排斥反應、血管炎、全身性紅斑狼瘡(SLE)、1型糖尿病(T1DM)、多發性硬化症(MS)、巨大細胞動脈炎(GCA)、牛皮癬(PsO)、牛皮癬性關節炎(PsA)、類風濕性關節炎(RA)、發炎性腸病(IBD)、潰瘍性結腸炎(UC)、僵直性脊椎炎(AS)、休格連氏症候群(Sjogren's syndrome, SjS)、自體免疫肝炎、硬皮病、乳糜瀉、艾迪森氏病(Addison's disease)、橋本氏病(Hashimoto's disease)、格雷夫氏病(Graves'disease)、萎縮性胃炎/惡性貧血、獲得性性腺低能症/不育症、副甲狀腺低能症、庫姆斯陽性溶血性貧血(Coombs positive-hemolytic anemia)、慢性過敏性疾病(諸如哮喘、枯草熱或過敏性鼻炎)、克羅恩氏病(Crohn's disease)、男性或女性不育症、白塞氏病(Behcet's)、韋格納氏肉芽腫病(Wegener's granulomatosis)、心肌炎、肌炎、風濕性多肌痛(PMR)、自然流產、白斑病、動脈粥樣硬化、自體免疫胰臟炎、大疱性類天疱瘡、慢性病毒感染及重症肌無力。出於本發明之目的，較佳自體免疫疾病為移植物抗宿主病(GVHD)、實體器官移植排斥反應、血管炎、全身性紅斑狼瘡(SLE)、1型糖尿病(T1DM)、多發性硬化症(MS)、巨大細胞動脈炎(GCA)、牛皮癬(PsO)、牛皮癬性關節炎(PsA)、類風濕性關節炎(RA)、發炎性腸病(IBD)、潰瘍性結腸炎(UC)、僵直性脊椎炎(AS)、休格連氏症候群(SjS)、自體免疫肝炎及硬皮病。

【0049】如本文所用，術語「約」暗指加或減所述數值或數值範圍之百分之十。舉例而言，「約」12包括在10.8 (包括)至13.2 (包括)範圍內之值；約10 wt.%涵蓋包括9 (包括)至11 (包括) wt.%之構成；及類似情況。

【0050】 除非另外指明，否則如本文所用，關於抗人類PD-1促效劑IgG1抗體對人類PD-1 (SEQ ID NO: 13)或人類PD-1 ECD、較佳如SEQ ID NO: 14中所示之人類PD-1 ECD的親和力的「結合」欲意謂如藉由此項技術中已知之方法及/或藉由基本上如本文所述之方法，包括(但不限於)使用表面電漿子共振(SPR)生物感測器在25°C或37°C下所測定，約 1×10^{-7} M、約 1×10^{-8} M、約 1×10^{-9} M、約 5×10^{-9} M、約 1×10^{-10} M之 K_D 。更佳地，如藉由此項技術中已知之方法及/或藉由基本上如本文所述之方法，包括藉由使用SPR生物感測器在25°C或37°C下所測定，本發明之抗人類PD-1促效劑IgG1抗體以約 1×10^{-8} M與約 5×10^{-10} M之間的 K_D 結合人類PD-1(亦即，SEQ ID NO: 13)或人類PD-1 ECD (例如SEQ ID NO: 14)。甚至更佳地，如藉由此項技術中已知之方法及/或藉由基本上如本文所述之方法，包括藉由使用SPR生物感測器在25°C或37°C下所測定，此類抗體對人類PD-1 (亦即，SEQ ID NO: 13)或人類PD-1 ECD (例如SEQ ID NO: 14)之親和力介於約 5×10^{-8} M與約 5×10^{-10} M之間。甚至更佳地，此類抗體對人類PD-1 ECD (例如SEQ ID NO: 14)之 K_{on} 及 K_{off} 值分別為約 1.0×10^{-4} 至約 1.0×10^{-3} 及約 1.3×10^5 至約 2.0×10^5 (如藉由SPR使用BIAcore® 8K基本上如本文所述來測定)。

【0051】 在單株抗體之情況下，術語「人類」、「人類化」及「完全人類」為一般熟習此項技術者熟知(Weiner LJ, *J. Immunother.* 2006; 29: 1-9; Mallbris L等人, *J. Clin. Aesthet. Dermatol.* 2016; 9: 13-15)。

【0052】 如本文所用，術語「適應性免疫性」包括與先天性免疫反應組對比，具有抗原特異性且在用相同抗原再刺激時展示增強之繼發性抗原特異性免疫反應的免疫反應組。

【0053】術語「治療 (treating)」(或治療 (treat) 或「治療 (treatment)」)係指減緩、中斷、遏制、緩解、中止、減少或逆轉現有症狀、病症、病狀或疾病之進展或嚴重程度。

【0054】「有效量」意謂本發明之抗人類PD-1促效劑IgG1抗體或包含此類抗體之醫藥組合物將引發由研究人員、醫生或其他臨床醫師正尋求之在組織、系統、動物、哺乳動物或人類上的生物學或醫學反應或所需治療作用的量。抗體之有效量可根據諸如個體之疾病病況、年齡、性別及體重以及抗體引發個體中期望之反應之能力的因素而變化。有效量亦為使治療學上有益之作用超過抗體之任何毒性或損害作用之量。此類益處包括以下中之任一或多者：移植器官之免疫耐受性增加；自體免疫疾病或病症穩定；或改善自體免疫病症之徵象或症狀等。熟習此項技術者容易藉由使用已知技術及藉由觀測在類似情況下獲得之結果來確定有效量。在確定用於患者之有效量時，主治診斷醫師考慮多個因素，包括(但不限於)：患者體型、年齡及一般健康狀況；所涉及之特定疾病或病症；涉及程度，或疾病或病症之嚴重程度；個別患者之反應；所投與之特定化合物；投與模式；所投與之製劑之生物可用性特徵；所選擇之給藥方案；伴隨藥療之使用；及其他相關情況。

【0055】如本文所用，術語患者之「有效反應」或患者對治療之「反應性」係指在投與本發明之抗體時賦予患者之臨床或治療益處。此類益處包括以下中之任一或多者：移植器官之免疫耐受性增加；自體免疫疾病或病症穩定；或改善自體免疫病症之徵象或症狀等。

【0056】本文揭示之方法之潛在益處為在罹患自體免疫病症之患者中可產生顯著及/或延長之緩解，具有可接受之安全型態，包括可接受之

耐受性、毒性及/或不良事件，從而使得患者整體上受益於治療方法。本發明之治療功效可藉由評估多種自體免疫病症治療中常用之多個終點量測，包括(但不限於)美國風濕病學會(ACR) 20、ACR50、ACR70、牛皮癬面積及嚴重程度指數(PASI) 50、PASI75、PASI90、PASI100、全身性紅斑狼瘡疾病活動指數(SLEDAI)。可視情況採用測定本發明之任何特定療法之功效的多種其他方法，包括例如免疫細胞活化標記物、發炎量度、細胞週期依賴性生物標記物目測及/或經由評估疼痛量測反應。

【0057】 由於形成中和抗體或藥物動力學更快，針對生物製劑之抗藥物抗體的形成可降低治療效力。在一些罕見情況下，ADA亦可能引起安全性問題。自體免疫疾病為慢性的，需要長期治療。因此，當治療性生物藥物(例如治療性抗體)停止工作時常常需要替代治療。為克服隨著時間推移激發免疫原性，所以連續使用生物製劑，甚至靶向相同標靶之生物製劑，例如TNF抑制劑，係在自體免疫空間中廣泛接受及利用之治療實踐(參見例如 Lloyd, S. 等人，(2010) The effectiveness of anti-TNF α therapies when used sequentially in rheumatoid arthritis patients: a systematic review and meta-analysis. Rheumatology, 49:2313-21)。

【0058】 本發明提供一種抗人類PD-1抗體，該抗人類PD-1抗體包含：

1) HCVR，其包含具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之HCDR1、具有SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之HCDR2、具有SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之HCDR3；及

2) LCVR，其包含具有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列之LCDR1、具有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序

列之LCDR3，其中該抗體為IgG1。較佳地，如藉由此項技術中已知之方法及/或藉由基本上如本文所述之方法，包括(但不限於)使用表面電漿子共振(SPR)生物感測器在25°C或37°C下所測定，此類抗體以約 1×10^{-7} M、約 1×10^{-8} M、約 1×10^{-9} M、約 5×10^{-9} M或約 1×10^{-10} M之 K_D 結合人類PD-1 (亦即，SEQ ID NO: 13)或人類PD-1 ECD (例如SEQ ID NO: 14)。較佳地，如藉由此項技術中已知之方法及/或藉由基本上如本文所述之方法，包括(但不限於)使用表面電漿子共振(SPR)生物感測器在25°C或37°C下所測定，此類抗體以約 1×10^{-8} M與約 5×10^{-10} M之間的 K_D 結合人類PD-1 (亦即，SEQ ID NO: 13)或人類PD-1 ECD (例如SEQ ID NO: 14)。更佳地，如藉由此項技術中已知之方法及/或藉由基本上如本文所述之方法，包括(但不限於)使用表面電漿子共振(SPR)生物感測器在25°C或37°C下所測定，此類抗體以約 5×10^{-8} M與約 5×10^{-10} M之間的 K_D 結合人類PD-1 (亦即，SEQ ID NO: 13)或人類PD-1 ECD (例如SEQ ID NO: 14)。

【0059】 在一些實施例中，本發明提供一種抗人類PD-1抗體，其包含：

1)具有SEQ ID NO: 3之胺基酸序列的HCVR；以及

2)具有SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之LCVR，其中該抗體為IgG1。

較佳地，如藉由此項技術中已知之方法及/或藉由基本上如本文所述之方法，包括(但不限於)使用表面電漿子共振(SPR)生物感測器在25°C或37°C下所測定，此類抗體以約 1×10^{-7} M、約 1×10^{-8} M、約 1×10^{-9} M、約 5×10^{-9} M或約 1×10^{-10} M之 K_D 結合人類PD-1 (亦即，SEQ ID NO: 13)或人類PD-1 ECD (例如SEQ ID NO: 14)。更佳地，如藉由此項技術中已知之方法及/或藉由基本上如本文所述之方法，包括(但不限於)使用表面電漿子共振

(SPR)生物感測器在25℃或37℃下所測定，此類抗體以約 1×10^{-8} M與約 5×10^{-10} M之間的 K_D 結合人類PD-1 (亦即，SEQ ID NO: 13)或人類PD-1 ECD (例如SEQ ID NO: 14)。甚至更佳地，如藉由此項技術中已知之方法及/或藉由基本上如本文所述之方法，包括(但不限於)使用表面電漿子共振(SPR)生物感測器在25℃或37℃下所測定，此類抗體以約 5×10^{-8} M與約 5×10^{-10} M之間的 K_D 結合人類PD-1 (亦即，SEQ ID NO: 13)或人類PD-1 ECD (例如SEQ ID NO: 14)。

【0060】 在一些實施例中，本發明提供一種抗人類PD-1抗體，其包含：

1)具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之重鏈；及

2)具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之輕鏈。在一些實施例中，本發明提供一種抗人類PD-1抗體，其由具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之兩條重鏈及具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之兩條輕鏈組成。較佳地，如藉由此項技術中已知之方法及/或藉由基本上如本文所述之方法，包括(但不限於)使用表面電漿子共振(SPR)生物感測器在25℃或37℃下所測定，此類抗體以約 1×10^{-7} M、約 1×10^{-8} M、約 1×10^{-9} M、約 5×10^{-9} M、約 1×10^{-10} M之 K_D 結合人類PD-1 (亦即，SEQ ID NO: 13)或人類PD-1 ECD (例如SEQ ID NO: 14)。更佳地，如藉由此項技術中已知之方法及/或藉由基本上如本文所述之方法，包括(但不限於)使用表面電漿子共振(SPR)生物感測器在25℃或37℃下所測定，此類抗體以約 1×10^{-8} M與約 5×10^{-10} M之間的 K_D 結合人類PD-1 (亦即，SEQ ID NO: 13)或人類PD-1 ECD (例如SEQ ID NO: 14)。甚至更佳地，如藉由此項技術中已知之方法及/或藉由基本上如本文所述之方法，包括(但不限於)使用表面電漿子共振(SPR)生物感

測器在25°C或37°C下所測定，此類抗體以約 5×10^{-8} M與約 5×10^{-10} M之間的 K_D 結合人類PD-1 (亦即，SEQ ID NO: 13)或人類PD-1 ECD (例如SEQ ID NO: 14)。

【0061】 本發明提供一種哺乳動物細胞，其能夠表現包含以下之抗人類PD-1抗體：具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之HCDR1、具有SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之HCDR2、具有SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之HCDR3、具有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列之LCDR1、具有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之LCDR3，其中該抗體為IgG1。

【0062】 在一些實施例中，本發明提供一種哺乳動物細胞，其能夠表現包含具有SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之HCVR及具有SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之LCVR的抗人類PD-1抗體，其中該抗體為IgG1。

【0063】 在一些實施例中，本發明提供一種哺乳動物細胞，其能夠表現包含包括具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之重鏈及具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之輕鏈的抗人類PD-1抗體的抗人類PD-1抗體。在一些實施例中，本發明提供一種哺乳動物細胞，其能夠表現包含由具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之兩條重鏈及具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之兩條輕鏈組成的抗人類PD-1抗體的抗人類PD-1抗體。

【0064】 本發明提供一種用於產生抗人類PD-1抗體之方法，其包含：1)培養能夠表現包含具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之HCDR1、具有SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之HCDR2、具有SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之HCDR3、具有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列之LCDR1、具有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之

LCDR3的抗人類PD-1抗體的哺乳動物細胞，其中該抗體為IgG1；以及2)回收該抗體。

【0065】 在一些實施例中，本發明提供一種用於產生抗人類PD-1抗體之方法，其包含：1)培養能夠表現包含具有SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之HCVR及具有SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之LCVR的抗人類PD-1抗體的哺乳動物細胞，其中該抗體為IgG1；以及2)回收該抗體。

【0066】 在一些實施例中，本發明提供一種用於產生抗人類PD-1抗體之方法，其包含：1)培養能夠表現包含具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之重鏈及具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之輕鏈的抗人類PD-1抗體的哺乳動物細胞；以及2)回收該抗體。在一些實施例中，本發明提供一種用於產生抗人類PD-1抗體之方法，其包含：1)培養能夠表現由具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之兩條重鏈及具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之兩條輕鏈的抗人類PD-1抗體的哺乳動物細胞；以及2)回收該抗體。本發明亦提供藉由該方法產生之抗人類PD-1抗體及可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。

【0067】 本發明提供一種DNA分子，其包含具有SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12或SEQ ID NO: 11及12之序列的多核苷酸。本發明亦提供一種哺乳動物細胞，其包含包括具有SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12或SEQ ID NO: 11及12之序列的多核苷酸的DNA分子。

【0068】 本發明提供一種醫藥組合物，該醫藥組合物包含：1)抗人類PD-1抗體，其包含具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之HCDR1、具有SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之HCDR2、具有SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之HCDR3、具有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列之LCDR1、具有SEQ ID

NO: 9之胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之LCDR3，其中該抗體為IgG1；及2)可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。在一些實施例中，抗人類PD-1抗體包含具有SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之HCVR及具有SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之LCVR，其中該抗體為IgG1。在一些實施例中，抗人類PD-1抗體包含具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之重鏈及具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之輕鏈。在一些實施例中，抗人類PD-1抗體由具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之兩條重鏈及具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之兩條輕鏈組成。

【0069】 已廣泛地研究PD-1路徑作為免疫性檢查點之作用。已知當刺激PD-1路徑時，免疫系統活性一般減小，可用於治療自體免疫病症，誘導免疫耐受性，及/或減少移植物抗宿主病。

【0070】 本發明提供一種治療自體免疫病症之方法，其包含向有需要之患者投與有效量之抗人類PD-1抗體，該抗體包含：1)包含具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之HCDR1、具有SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之HCDR2、具有SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之HCDR3的HCVR；及2)包含具有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列之LCDR1、具有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之LCDR3的LCVR，其中該抗體為IgG1。在一些實施例中，本發明提供一種治療自體免疫病症之方法，其包含向有需要之患者投與有效量之抗人類PD-1抗體，該抗體包含：1)具有SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之HCVR；及2)具有SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之LCVR，其中該抗體為IgG1。在一些實施例中，本發明提供一種治療自體免疫病症之方法，其包含向有需要之患者投與有效量之抗人類PD-1抗體，該抗體包含：1)具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列

之重鏈；及2)具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之輕鏈。在一些實施例中，本發明亦提供該抗體由具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之兩條重鏈及具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之兩條輕鏈組成。在此類實施例中，本發明亦提供該自體免疫病症為GVHD、實體器官移植排斥反應、血管炎、SLE、T1DM、MS、GCA、PsO、PsA、RA、IBD、UC、AS、SjS、自體免疫肝炎、硬皮病、乳糜瀉、艾迪森氏病、橋本氏病、格雷夫氏病、萎縮性胃炎/惡性貧血、獲得性性腺低能症/不育症、副甲狀腺低能症、庫姆斯陽性溶血性貧血、慢性過敏性疾病(諸如哮喘、枯草熱或過敏性鼻炎)、克羅恩氏病、男性或女性不育症、白塞氏病、韋格納氏肉芽腫病、心肌炎、肌炎、PMR、自然流產、白斑病、動脈粥樣硬化、自體免疫胰臟炎、大皰性類天疱瘡、慢性病毒感染或重症肌無力。

【0071】 在一些實施例中，本發明亦提供該抗體與用於治療自體免疫病症之其他治療劑組合投與。

【0072】 本發明提供本發明之抗人類PD-1抗體，其用於療法中。在一些實施例中，本發明提供一種抗人類PD-1抗體，其包含：1)具有SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之HCVR；及2)具有SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之LCVR，其中該抗體為IgG1，其用於療法中。在一些實施例中，本發明提供一種抗人類PD-1抗體，其包含：1)具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之重鏈；及2)具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之輕鏈，其用於療法中。在一些實施例中，本發明亦提供該抗體由具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之兩條重鏈及具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之兩條輕鏈組成。在一些實施例中，本發明提供該療法用於治療自體免疫病症。在一些實施例中，本發明提供該自體免疫病症為GVHD、實體器官移植排斥反應、血管

炎、SLE、T1DM、MS、GCA、PsO、PsA、RA、IBD、UC、AS、SjS、自體免疫肝炎、硬皮病、乳糜瀉、艾迪森氏病、橋本氏病、格雷夫氏病、萎縮性胃炎/惡性貧血、獲得性性腺低能症/不育症、副甲狀腺低能症、庫姆斯陽性溶血性貧血、慢性過敏性疾病(諸如哮喘、枯草熱或過敏性鼻炎)、克羅恩氏病、男性或女性不育症、白塞氏病、韋格納氏肉芽腫病、心肌炎、肌炎、PMR、自然流產、白斑病、動脈粥樣硬化、自體免疫胰臟炎、大皰性類天疱瘡、慢性病毒感染或重症肌無力。在一些實施例中，本發明提供該抗體與用於治療自體免疫病症之另一治療劑組合投與。在一些實施例中，本發明亦提供該抗體與(將與)用於治療自體免疫病症之另一治療劑呈同時、分開或連續之組合投與。

【0073】 本發明提供本發明之抗人類PD-1抗體，其用於製造供治療自體免疫病症用之藥物。在一些實施例中，本發明提供一種抗人類PD-1抗體，其包含：1)具有SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之HCVR；及2)具有SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之LCVR，其中該抗體為IgG1，其用於製造供治療自體免疫病症用之藥物。在一些實施例中，本發明提供一種抗人類PD-1抗體，其包含：1)具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之重鏈；及具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之輕鏈，其用於製造供治療自體免疫病症用之藥物。在一些實施例中，本發明亦提供該抗體由具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之兩條重鏈及具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之兩條輕鏈組成。在一個實施例中，本發明提供該藥物用於治療自體免疫病症。在一些實施例中，本發明提供該藥物用於治療GVHD、實體器官移植排斥反應、血管炎、SLE、T1DM、MS、GCA、PsO、PsA、RA、IBD、UC、AS、SjS、自體免疫肝炎、硬皮病、乳糜瀉、艾迪森氏病、橋本氏病、格雷夫

氏病、萎縮性胃炎/惡性貧血、獲得性性腺低能症/不育症、副甲狀腺低能症、庫姆斯陽性溶血性貧血、慢性過敏性疾病(諸如哮喘、枯草熱或過敏性鼻炎)、克羅恩氏病、男性或女性不育症、白塞氏病、韋格納氏肉芽腫病、心肌炎、肌炎、PMR、自然流產、白斑病、動脈粥樣硬化、自體免疫胰臟炎、大皰性類天疱瘡、慢性病毒感染或重症肌無力。

【0074】可調整給藥方案以提供最佳所需反應(例如治療效果)。可滴定治療劑量以使安全性及功效最佳。針對靜脈內(i.v.)或非靜脈內投藥、皮下(s.c.)局部或全身或其組合的給藥時程將通常在單次快速給藥或連續輸液至每月多次皮下投與的範圍內，至多每天一次，更佳至多每週一次，甚至更佳至多每兩週一次，甚至更佳每月至多一次，或按治療醫師及患者症狀指示。給藥量及頻率可由治療患者之醫師來決定。

實例1：抗體表現及純化

【0075】重鏈及輕鏈之可變區之CDR的胺基酸序列、抗體1之完整重鏈及輕鏈胺基酸序列及編碼其之核苷酸序列在下文標題為「胺基酸及核苷酸序列」之章節中列出。另外，抗體1之輕鏈、重鏈、LCVR及HCVR之胺基酸序列的SEQ ID NO展示於下表1(a)中。此外，抗體1之HC可變區及LC可變區之CDR的胺基酸序列的SEQ ID NO展示於表1(a)中。

【0076】包括(但不限於)抗體1之本發明之抗體基本上可如下製得及純化。諸如(但不限於) HEK 293或CHO之適當宿主細胞可使用例如編碼重鏈及輕鏈之表現的單一載體或一個編碼重鏈且一個編碼輕鏈之兩個載體(使用最佳預定HC:LC載體比率(諸如1:3或1:2))短暫或穩定地用分泌抗體之表現系統轉染。

【0077】因為治療性抗體在哺乳動物細胞中之有效表現常常為治療

性抗體在商業上獲得成功之關鍵因素，所以藉由針對信號序列及可變區測試多種密碼子變異體，包括獲自市售密碼子優化服務商之一些密碼子變異體，優化編碼抗體1之cDNA。如SEQ ID NO: 11及12中所示之分別編碼抗體1之重鏈及輕鏈的多核苷酸用於產生一種細胞株，其與表現如SEQ ID NO: 12中所示之多核苷酸及未在穩定CHO細胞株中針對密碼子使用進行優化的編碼抗體1之重鏈之多核苷酸的類似CHO細胞株相比，其有效地使力價增加(例如較佳多達約6倍，更佳多達約7倍，甚至更佳多達約8倍，甚至更佳多達約9倍，甚至更佳多達10倍，甚至更佳多達11倍更多)。

【0078】 其中已分泌有抗體1之培養基可使用多種常用技術中之任一者進行純化。舉例而言，培養基可施加至針對Fab片段之MabSelect管柱(GE Healthcare)或KappaSelect管柱(GE Healthcare)上，該管柱已利用相容性緩衝液(諸如磷酸鹽緩衝鹽水(pH 7.4))平衡。可洗滌管柱以移除非特異性結合組分。可例如藉由pH梯度(諸如20 mM Tris緩衝液pH 7至10 mM檸檬酸鈉緩衝液pH 3.0，或磷酸鹽緩衝鹽水pH 7.4至100 mM甘胺酸緩衝液pH 3.0)溶離結合之抗體。可諸如藉由UV吸收或SDS-PAGE偵測抗體溶離份，且接著可彙集。可藉由常見技術，包括尺寸排阻、疏水性相互作用、離子交換、多模式或羥基磷灰石層析，有效移除可溶性聚集物及多聚物。抗體可使用常見技術濃縮，進行緩衝液更換及/或無菌過濾。產物可儲存在4-5℃下或立即冷凍在-80℃下或可凍乾。

表1(a)：抗人類PD-1促效劑抗體之SEQ ID NO

抗體1	
以下各者之胺基酸序列：	SEQ ID NO:
重鏈	1
輕鏈	2
HCVR	3

LCVR	4
HCDR1	5
HCDR2	6
HCDR3	7
LCDR1	8
LCDR2	9
LCDR3	10
編碼以下各者之DNA序列：	SEQ ID NO:
HC	11
LC	12

表1(b)：PD-1序列之SEQ ID NO

以下各者之胺基酸序列：	SEQ ID NO:
人類PD-1	13
人類PD-1 ECD	14
食蟹獼猴PD-1	15
食蟹獼猴PD-1 ECD	16

實例2：抗體1結合於細胞表面上之人類及食蟹獼猴PD-1

【0079】 本文所揭示之抗人類PD-1促效劑抗體結合於細胞表面人類或食蟹獼猴PD-1之能力可使用流動式細胞量測分析來量測。根據已建立之方案，表現人類及食蟹獼猴PD-1（亦即，分別如SEQ ID NO: 13及15中所示）之穩定細胞藉由使用電穿孔系統(Gene Pulser Xcell; BioRad)將人類或食蟹獼猴PD-1質體DNA轉染至中國倉鼠卵巢細胞(CHO-k1; Lonza)中來產生。在培養基中，使用500 μg/mL G418 (Thermo Scientific)自單一經分離細胞選擇穩定細胞。對於流動式細胞量測術，將該等細胞以1×10⁵個細胞/孔之密度轉移至96孔V形底盤中。細胞用1x FACS緩衝液(Becton Dickinson #554656)洗滌。添加抗體1或對照人類IgG1（在FACS緩衝液中以三倍12點滴定抗體進行稀釋，以100微克/毫升開始)(100微升)且將細胞在4℃下培育30分鐘。

【0080】 在FACS緩衝液中洗滌兩次後，以1:200稀釋添加FITC結合之F(ab')²片段山羊抗人類IgG (Fcγ片段特異性二級抗體)(Jackson ImmunoResearch Laboratories 109-096-170)且將細胞在4℃下培育30分鐘。在FACS緩衝液中洗滌兩次後，使用SytoxBlue (Invitrogen, #S34857)，根據製造商方案，進行活/死細胞染色。在Fortessa、Fortessa Fx或LSRII流動式細胞量測儀器上處理細胞。使用FlowJo軟體分析流動式細胞量測資料。基於4參數邏輯回歸，使用幾何平均螢光強度(GMFI)值計算相對EC₅₀。

【0081】 在基本上如上所述進行之實驗中，抗體1能夠結合細胞膜表現之人類或食蟹獼猴PD-1，平均EC₅₀分別為1.30 +/- 0.16 μg/mL及1.09 +/- 0.30 μg/mL。此資料證實抗體1能夠以類似親和力結合人類與食蟹獼猴膜結合之PD-1。

實例3：人類及食蟹獼猴PD-1 ECD之抗體1結合動力學/親和力

【0082】 本發明之抗人類PD-1促效劑抗體與人類及食蟹獼猴PD-1 ECD的結合動力學可藉由使用表面電漿子共振生物感測器，諸如BIAcore[®]2000、BIAcore[®]3000、BIAcore[®] 8K或BIAcore[®] T100 (GE Healthcare, Piscataway, NJ)測定。簡言之，經由表面電漿子共振(SPR)，在25℃下，BIAcore[®] 8K儀器用於量測抗體1與人類及食蟹獼猴PD1-細胞外域(ECD)-His之結合動力學。樣品溶解於1X HBS-EP+操作緩衝液(Teknova目錄號H8022)中，且利用蛋白A偶合之CM5系列S感測器晶片(GE Healthcare目錄號29139131-AA)捕捉mAb。含有C端8x組胺酸標籤之人類及食蟹獼猴PD1-ECD蛋白質在CHO細胞中表現且藉由充鎳IMAC、接著尺寸排阻純化。

【0083】 使用多個分析循環評估結合。在25℃下，針對mAb捕捉以10微升/分鐘之流速，以及針對配位體締合及解離以30微升/分鐘之流速，進行各循環。各循環由以下步驟組成：以2 µg/ml注射mAb，接觸時間60 s，目標為流槽2上大約220RU之捕捉水準；注射人類或食蟹獼猴PD1-ECD-his 150秒(400 nM至1.6 nM之濃度範圍，四倍連續稀釋)，接著600秒解離相，且使用10 mM甘胺酸鹽酸鹽pH 1.5經30秒接觸時間再生。在Biacore 8K評估中，以平行動力學分批模式，使用標準雙重參考及與「1:1 (朗格繆爾(Langmuir))結合」模型之擬合，評估各循環之締合(亦即， K_{on})及解離速率(亦即， k_{off})。根據關係式 $K_D = K_{off}/K_{on}$ ，自結合動力學計算親和力(K_D)。

【0084】 在隨後實驗中，藉由BIAcore® T200，經由表面電漿子共振(SPR)，在37℃下，Biacore用於量測抗體1與人類及食蟹獼猴PD1-細胞外域(ECD)-His之結合動力學。對於在37℃下之分析，使用多個分析循環評估結合。在37℃下，針對mAb捕捉以10微升/分鐘之流速，以及針對配位體締合及解離，以100微升/分鐘之流速，進行各循環。各循環由以下步驟組成：以2.5 µg/ml注射mAb，目標為流槽2上大約220RU之捕捉水準；注射人類或食蟹獼猴PD1-ECD-his 180秒(1000 nM至1.6 nM之濃度範圍，2倍連續稀釋)，接著600秒解離相，且使用10 mM甘胺酸鹽酸鹽pH 1.5經30秒接觸時間再生。 K_{on} 、 K_{off} 及 K_D 基本上如上所述來計算。親和力資料報導為由三個獨立實驗中三次重複量測所確定的平均值及標準偏差(平均值 $\pm$ SD, $n = 9$)。

【0085】 在基本上如上所述進行之實驗中，如藉由Biacore在25℃ ($n=1$)下及在37℃ ($n=9$)下所測定及如表2中所示，抗體1結合於人類及食

蟹獼猴PD1-ECD-his。

表2. 抗體1與PD-1 ECD之結合的動力學及親和力

	PD-1 ECD物種	K _{on} (1/Ms)	K _{off} (1/s)	KD (nM)
25°C	人類	1.7E+05	1.7E-04	1.0
	食蟹獼猴	2.4E+05	1.1E-03	4.7
37°C	人類	3.07 ± 0.16×105	7.01 ± 0.92×10-4	2.29 ± 0.36
	食蟹獼猴	5.19 ± 0.52×105	4.89 ± 0.10×10-3	9.51 ± 0.85

【0086】 如表2中所示，抗體1以奈莫耳親和力結合人類與食蟹獼猴PD-1 ECD，且展示對人類與食蟹獼猴PD-1 ECD類似之結合動力學。

實例4：抗體1不阻斷PD-1與PD-L1或PD-L2之結合

【0087】 本發明之抗體阻斷PD-1與PD-L1及PD-L2結合的能力可如下測定。簡言之，根據已建立之方案，藉由使用電穿孔系統(Gene Pulser Xcell; BioRad)，將人類PD-1質體DNA轉染至CHO-k1細胞(Lonza)中，來產生表現人類PD-1之穩定細胞。在培養基中，使用500 µg/mL G418 (Thermo Scientific)，自單一經分離細胞選擇穩定細胞。將200 µg/mL或在100 µg/mL下開始，接著在FACS緩衝液中進行12倍7點抗體滴定的測試PD-1抗體在4°C下培育30分鐘。細胞用FACS緩衝液洗滌兩次。細胞再懸浮於50 µl具有20 µg/mL生物素化人類PD-L1 (Acros, #PD-1-H82F3)或PD-L2 (Abcam, ab198764)的FACS緩衝液中且在4°C下培育30分鐘。細胞用FACS緩衝液洗滌兩次，且再懸浮於100微升具有以1:200在FACS緩衝液中稀釋之抗生蛋白鏈菌素-APC (BD Biosciences, #554067)的FACS緩衝液中，且在4°C下培育30分鐘。在FACS緩衝液中洗滌兩次後，使用SytoxBlue (Invitrogen, #S34857)，根據製造商方案，進行活/死細胞染色。在Fortessa、Fortessa Fx或LSRII流動式細胞量測儀器上處理細胞。使用FlowJo軟體分析流動式細胞量測資料。基於4參數邏輯回歸，使用幾

何平均螢光強度(MFI)值計算相對IC₅₀。

【0088】 在基本上如上所述進行之實驗中，抗體1及同型對照抗體不阻斷PD-L1結合，亦不阻斷PD-L2結合，陽性對照抗體(PD-1特異性拮抗劑抗體(與納武單抗(nivolumab)同源))對PD-L1之IC₅₀為0.22 +/- 0.02 μg/mL，且對PD-L2之IC₅₀為0.42 +/- 0.12 μg/mL。此等資料證實抗體1不阻斷PD-1與PD-L1或PD-L2之結合。

實例5：抗體1抑制T細胞受體活化誘發之NFAT信號傳導

【0089】 NFAT (活化T細胞核因子)為藉由調節編碼發炎性細胞介素，例如TNF、IL-2以及若干細胞表面受體之基因的表現，在介導針對免疫反應之T細胞受體活化中發揮重要作用的轉錄因子。本文所揭示之抗體抑制T細胞受體活化誘發之NFAT信號傳導的能力可如下量測。

【0090】 簡言之，將經NFAT螢光素酶報導子與人類PD-1 (Promega)轉染之Jurkat T細胞用人類CD3抗體及THP-1細胞(ATCC[®])活化。THP-1細胞(40,000個/孔)在100 μl中塗鋪至白色96孔盤(Corning, #3917)。將2 μg/mL抗人類CD3抗體(OKT3) (eBioscience, #16-0037)及最終濃度為20 μg/mL或在10 μg/mL下開始進行五倍7點抗體滴定的處理抗體(抗體1或同型對照抗體)添加至THP-1細胞中。將細胞及抗體混合物在37°C、5% CO₂下培育30分鐘。將表現PD-1之NFAT-螢光素酶Jurkat報導細胞(50,000個細胞/孔)添加至96孔盤上THP-1細胞、CD3抗體及處理抗體混合物上，且在37°C、5% CO₂下培育5小時。在培育結束時，使盤達至室溫，歷時10分鐘。將八十(80)微升BioGlo試劑(Promega, #G7940)添加至該等孔，且在室溫下培育10分鐘。藉由LMaxII384 (Molecular Devices)或Envision 2105 (Perkin Elmer)準備好發光。

【0091】 在基本上如上所述進行之實驗中，抗體1及同型對照抗體抑制人類PD-1 NFAT-螢光素酶報導細胞活性，其中來自四個獨立實驗之平均IC₅₀為75.2 +/- 37.6 ng/mL，而同型對照抗體不顯著抑制NFAT信號傳導。此等資料證實抗體1能夠抑制T細胞受體活化誘發之NFAT信號傳導。

實例6：抗體1抑制人類初始T細胞增殖

【0092】 本文所揭示之抗體抑制由T細胞受體活化誘發之T細胞增殖的能力可如下量測。簡言之，使用Ficoll密度梯度離心法，藉由將35 mL稀釋之血液(無鈣或鎂之PBS中十倍稀釋)覆蓋在50 mL錐形管中15 mL 37°C Ficoll (Ficoll-Paque Plus, GE Healthcare; #17144002)上，自健康人類Trima LRS (San Diego血庫; San Diego, CA)分離人類外周血單核細胞(PBMC)。將管在室溫下在900×G下離心30分鐘。將細胞界面轉移至新50 mL錐形管。用室溫PBS (無鈣或鎂)將最終體積調至50 mL。在PBS中洗滌兩次後，使細胞再懸浮於完全CTS培養基(Gibco, #A1048501; #A10484-02)中。

【0093】 將分離之人類PBMC用CFSE (Biolegend, 目錄號79898)標記。PBMC在無血清RPMI中洗滌三次。在無血清培養基中，在1 μM CFSE存在下在37°C與5% CO₂下進行CFSE標記20分鐘。CFSE用完全CTS培養基淬滅，接著洗滌步驟。

【0094】 將CFSE標記之PBMC (150,000個細胞/孔)添加至含有抗體1或同型對照抗體之各96孔圓底孔。在37°C與5% CO₂下將細胞用4 ng/mL超級抗原(葡萄球菌腸毒素(Staphylococcal Enterotoxin), SEB)(Toxin Technologies BT2021MG)刺激72小時。

【0095】 將培育後盤用FACS緩衝液(Miltenyi Biotec; #130-091-221)洗滌，與人類Fc阻斷試劑(Miltenyi Biotec, #130-059-901)一起培育10分鐘，接著在冰上用針對CD4 (Biolegend, #317426)及PD-1 (eBioscience, #17-2799-42)之標記抗體染色30分鐘。在FACS緩衝液中洗滌後，使用SytoxBlue (Invitrogen, #S34857)，根據製造商方案，進行活/死細胞染色。在Fortessa X20流動式細胞量測儀器上，在CountBright Beads (Invitrogen, #C36950)存在下處理細胞以定量細胞數目。使用FlowJo軟體分析流動式細胞量測資料。使用CFSE染色及CountBright珠粒計算絕對的分裂CD4陽性細胞數。

【0096】 在基本上如上所述進行之實驗中，抗體1能夠抑制人類初始T細胞增殖，針對八種不同供體之平均IC₅₀為175 +/- 128 ng/mL，而同型對照抗體不抑制初始T細胞增殖。此等資料證實在活體外抗體1能夠抑制T細胞增殖。

實例7：活體外細胞介素釋放研究

【0097】 此研究之目標為測試抗體1是否誘導細胞介素自未經刺激之人類PBMC釋放。

【0098】 簡言之，將剛剛自健康個體分離之PBMC與盤結合之抗體1或對照抗體一起培育24小時，在0.5 µg至1.5 µg範圍內滴定。陽性對照為市售抗人類CD3 ε 抗體OKT3及CD28特異性超促效劑治療性抗體之同源物TGN1412。已知兩種抗體引起細胞介素釋放症候群，細胞介素釋放症候群係一種可危及生命之全身性發炎反應症候群形式。陰性對照為人類IgG1野生型(WT)同型對照抗體。使用基於Mesoscale平台之市售多重分析，在細胞培養物上清液中量測包括IFN-γ、IL-2、IL-6、IL-10及TNF-α

之五種細胞介素。

【0099】在基本上如上所述進行之實驗中，對於0.5、1或1.5微克/孔之濃度的IFN- γ 、IL-2、IL-6、IL-10及TNF- α ，人類PBMC與抗體1一起培育不引起顯著水準之細胞介素釋放。相比之下，PBMC與每孔1 μ g之抗CD3 ϵ 及TGN1412陽性對照抗體一起培育引起大部分供體中IL-2、IFN- γ 、IL-10及TNF- α 穩固產生。

實例8：小鼠移植物抗宿主病(GVHD)活體內模型

【0100】注射人類PBMC的基於異種GvHD之免疫缺陷品系的人類化小鼠模型(「Hu-PBMC小鼠」)係研究活體內人類免疫功能之重要工具。在Hu-PBMC小鼠模型中評估本文所揭示之抗體保護小鼠免患GvHD之能力。

【0101】簡言之，將雌性NSG小鼠(NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl/SzJ, JAX Labs, 貨號05557)以每籠3隻圈養在72°C下12小時光：暗循環下，且隨意取用食物及水(n=78)。使用SepMate 50 Ficoll製備管，根據製造商之說明書(STEMCELL Technologies, Vancouver, BC)自獲自兩個供體(San Diego血庫)之LRS管分離人類PBMC。使剛剛分離之PBMC以 1.2×10^8 個細胞/毫升懸浮於PBS中，且在第0天靜脈內向小鼠移植100 μ L PBMC懸浮液(1.2×10^7 /小鼠)；36隻小鼠接受來自供體1之PBMC，36隻小鼠接受來自供體2之PBMC，且6隻小鼠保持未移植對照。隨後各供體遵循相同方案。在第1天，小鼠劃分成四個重量匹配組/供體，且皮下給與0.1、1.0或10.0 mg/kg之同型對照或抗體1 (200微升/小鼠)。在實驗剩餘時間中，繼續每週給藥兩次。按常規進行健康檢查及體重量測。處死損失起始重量20%或明顯痛苦之小鼠。當大部分同型對照小鼠因疾病進展需

要處死時，處死所有小鼠。對於所有處死小鼠，藉由在異氟烷麻醉下心臟穿刺將血液收集至EDTA管中進行FACS分析，且藉由離心使之澄清，進行血漿分析。體重及臨床觀測結果：在BSL2罩中將小鼠稱重，且評估痛苦之臨床徵象，每週2-3次。此模型共同之臨床徵象為頭髮髒、身體隆起、消瘦及呼吸或運動困難。體重變化計算為基線重量百分比(第(x)天重量/第0天重量* 100)。

【0102】 血漿分析： 將來自心臟穿刺之血液收集至經EDTA塗佈之管中，藉由離心使之澄清，且將所得血漿儲存於-80℃下供將來處理。使用Mesoscale Discovery人類Th1/Th2 10-Vplex (Rockville, Maryland)，根據製造商之說明書來量測血漿細胞介素。

【0103】 統計學： 使用Prism軟體(GraphPad, San Diego, CA)將資料繪圖且計算統計資料。組之間之重量差異藉由雙因子RM-ANOVA與杜凱氏事後檢驗(Tukey's post hoc test)來測定。藉由單因子ANOVA與杜凱氏事後檢驗來測定終末血漿細胞介素水準之差異。若 $p < 0.05$ ，則認為檢驗組之間的差異係顯著的。

【0104】 在基本上如上所述進行之實驗中，移植來自供體1或供體2之人類PBMC引發GvHD，如NSG小鼠顯著消瘦所證明。與供體1相比，移植供體2 PBMC之小鼠中疾病進展更快速，其中研究分別因第26天及第40天重量損失顯著而終止。如藉由移植任一供體之小鼠中重量損失減小所量測，用抗體1處理顯著減緩疾病進展。另外，抗體1抑制與疾病進展相關之血漿人類Th1 (IFN- γ)及Th2 (IL-13)細胞介素顯著增加。因此，抗體1顯著減慢人類化GvHD模型中之疾病進展。

實例9：hPD-1 KI至Bm12慢性GvHD狼瘡性腎炎小鼠模型

【0105】可在Bm12小鼠中，藉由注射來自表現人類PD-1之C57BL/6背景之供體小鼠的脾細胞，誘發特徵在於發展自體抗體及類似於人類狼瘡性腎炎之病變的慢性GvHD (cGVHD)。在此實例9中所述之研究中，將來自hPD-1 KI小鼠(C57BL/6-Pdcd1^{tm1606.1})之脾細胞注射至B6(C)-H2-Ab1bm12/KhEgJ (Bm12)小鼠中。隨後，宿主小鼠顯現緩慢進展之SLE樣疾病，特徵在於發展針對dsDNA之自體抗體及免疫複合物沈積在腎臟中。因此，可在此狼瘡性腎炎模型中如下評估PD-1促效劑抗體之活性。

【0106】簡言之，在到達時雄性人類PD-1基因敲入小鼠(Taconic Laboratories)為9週齡，且在到達時雄性Bm12小鼠(Jackson Laboratories)為11週齡。所有小鼠以每籠4隻圈養且在研究開始前使其適應新環境1週。小鼠隨意餵食Teklad Global啮齒動物飼料2014 (Harlan)及水。小鼠圈養於12小時光/暗循環中，周圍溫度設定為68-79°F。在該研究開始之前四天，基於體重將小鼠隨機分類且經由尾部缺口收集75 µl全血。藉由在10,000 rpm下離心5分鐘，自全血分離血清，且用於定量抗dsDNA力價。接著將小鼠分配至以下處理組：(1) 10.0 mg/kg hIgG1同型對照、(2) 1.0 mg/kg抗體1、(3) 10.0 mg/kg抗體1。在第0天開始，皮下給與小鼠人類IgG1同型對照或抗體1，每週兩次。每2週，經由尾部缺口，自小鼠收集血清樣品，直至起始處理後42天研究終止。

【0107】藉由常規ELISA量測血清抗dsDNA水準。將盤(96孔)在4℃下用10 µg/ml小牛胸腺DNA(R&D Systems)塗佈隔夜。在用PBS-Tween (0.05%)洗滌後，添加2 µl樣品(1:100稀釋)且1:3連續稀釋。在室溫下培育2小時後，洗滌盤且山羊抗小鼠IgG (Jackson ImmunoResearch)以1:2000

稀釋添加，歷時90分鐘。洗滌盤且Ultra-TMB (ThermoSci Pierce)添加15分鐘，且用1N H₂SO₄使反應終止。OD在450 nm波長下讀取且計算EC₅₀值。

【0108】在實例9中基本上如上所述進行之實驗中，在該研究過程期間，在抗體1處理下，針對雙股DNA之自體抗體(抗dsDNA)力價以劑量依賴性方式減少。在1 mg/kg及10 mg/kg劑量之抗體1下，在第28天及第42天，相比於人類IgG1同型對照組，抗dsDNA含量之減少係統計學上顯著的。抗體1亦使抗dsDNA AUC劑量依賴性地減少。相比於人類IgG1同型對照，在10 mg/kg下之抗體1能夠顯著減少抗dsDNA AUC。因此，抗體1可顯著減慢cGvHD狼瘡模型中之疾病進展。

胺基酸及核苷酸序列

抗體1之重鏈(SEQ ID NO: 1)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYSLSKYDMSWVRQAPGKGLEWMGIIYT
SGYTDYAQKFQGRVTMTEDTSTDYAYMELSSLRSEDYAVYYCATGNPYYTNGF
NSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK
VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK

抗體1之輕鏈(SEQ ID NO: 2)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSPNNLLAWYQQKPGKAPKLLIYGASDLP
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQNNYYVGPVSYAFGGGGTKVEIKR
TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV
TEQDSKDSITYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗體1之重鏈可變區 (SEQ ID NO: 3)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYSLSKYDMSWVRQAPGKGLEWMGIIYT
SGYTDYAQKFQGRVTMTEDTSTDYAYMELSSLRSEDYAVYYCATGNPYYTNGF
NSWGQGTLVTVSS

抗體1之輕鏈可變區 (SEQ ID NO: 4)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSPNNLLAWYQQKPGKAPKLLIYGASDLP
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQNNYYVGPVSYAFGGGGTKVEIK

抗體1之HCDR1 (SEQ ID NO: 5)

KVSGYSLSKYDMS

抗體1之HCDR2 (SEQ ID NO: 6)

IYTSQGYTDYAQKFQG

抗體1之HCDR3 (SEQ ID NO: 7)

ATGNPYYTNGFNS

抗體1之LCDR1 (SEQ ID NO: 8)

QASQSPNNLLA

抗體1之LCDR2 (SEQ ID NO: 9)

YGASDLPS

抗體1之LCDR3 (SEQ ID NO: 10)

QNNYYVGPVSYA

編碼抗體1之重鏈的DNA (SEQ ID NO: 11)

caagtgcagttggtgcagtcgggggcagaagtgaaaaagcccgccgcttcggtgaaagtgtcctgcaaagtgtccggctattct
ttgtccaaatacgacatgtcatgggtcagacaggtcccgaaaggggtctggagtggatggggattatctatacatccggctaca
ccgattacgccccaaaagttccaggggagagtcacatgactgaggatacgtccaccgacaccgcctacatggaactgtccagc
ctgcgggtccgaggacactgcggtgtactactgcgcgaccggaaaccatactacaccaatggattcaatagctggggacaggg
tactcttgtgacgggtgtccagcgcctccaccaagggcccacatcgggtcttcccgctagcaccctcctccaagagcacctctgggggc
acagcggccctggggtgctgtgtaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcg
gcggtgcacaccttcccggtgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgcccctccagcagcttggg
caccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaattcttgtgaca
aaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagttctcttccccccaaaacccaaggaca
ccctcatgatctcccgaccctgaggtcacatgcgtggtgggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggt
acgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgaggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcg
tctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctccagccccatc
gagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatcccgggacgagctgacc
aagaaccaggtcagcctgacctgcctgggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagc
cggagaacaactacaagaccacgcccccggtggtgactccgacggctccttcttctctatagcaagctcaccgtggacaaga
gcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctcgtgatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccc
tgtctccgggtaaa

編碼抗體1之輕鏈的DNA (SEQ ID NO: 12)

gacatccagatgaccagttctccatcctccctgtctgcatctgtgggagacagagtcacatcacttgcaggccagtcagagcc
ctaataacctcctggcctgggtatcagcagaaaccagggaagccctaagctcctgatctatggtgcatccgatctgccatctgg
ggtcccatcaagggtcagtggtgagtggtatctgggacagatttactctcaccatcagcagctgcaacctgaagatttgcaactta
ctactgtcagaacaattattatgtgggaccagtgagctatgctttcggcggagggaaccaaggtggagatcaagcggaccgtggc
tgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcc
cagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtggtcacagagcaggacag
caaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaa
gtcaccatcagggcctgagctcgcctgcacaaagagcttcaacaggggagagtg

抗體PD-1之胺基酸序列(SEQ ID NO: 13)

MQIPQAPWPVWAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPTFSPALLVVTEGDNATFT
 CSFSNTSESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPEDRSQPGQDCRFRVTQLPNGRDFH
 MSVVRARRNDSGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPPRPA
 GQFQTLVVG VVGGLLGSLLVWVLAVICSRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVP
 VFSVDYGELDFQWREKTPEPPVPCVPEQTEYATIVFPSGMGTSSPARRGSADGPR
 SAQPLRPEDGHCSWPL

人類PD-1 ECD之胺基酸序列(SEQ ID NO: 14)

LDSPDRPWNPTFSPALLVVTEGDNATFTCSFSNTSESFVLNWYRMSPSNQTDKL
 AAFPEDRSQPGQDCRFRVTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTYLCGAISLAPKAQI
 KESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPPRPA GQFQ

食蟹獼猴PD-1之胺基酸序列(SEQ ID NO: 15)

MQIPQAPWPVWAVLQLGWRPGWFLESPDRPWNAPT FSPALLLVTEGDNATFT
 CSFSNASESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPEDRSQPGQDCRFRVTRLPNGRDFH
 MSVVRARRNDSGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPPRPA
 GQFQALVVG VVGGLLGSLLVWVLAVICSRAAQGTIEARRTGQPLKEDPSAVP
 VFSVDYGELDFQWREKTPEPPAPCVPEQTEYATIVFPSGLGTSSPARRGSADGPRS
 PRPLRPEDGHCSWPL

食蟹獼猴PD-1 ECD之胺基酸序列(SEQ ID NO: 16)

LESPDRPWNAPT FSPALLLVTEGDNATFTCSFSNASESFVLNWYRMSPSNQTDKL
 AAFPEDRSQPGQDCRFRVTRLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTYLCGAISLAPKAQI
 KESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPPRPA GQFQ

人類IgG1之胺基酸序列(SEQ ID NO: 17) :

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGV
 HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP
 KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
 EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC
 LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
 QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

野生型人類κ之胺基酸序列(SEQ ID NO: 18)

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK
SFNRGEC

野生型人類 λ 之胺基酸序列(SEQ ID NO: 19)

GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVK
AGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKT
VAPTECS

【序列表】

<110> 美商美國禮來大藥廠(Eli Lilly and Company)

<120> PD-1促效劑抗體及其用途

<140> TW108105310

<141> 2019-02-18

<150> US 62/637,643

<151> 2018-03-02

<160> 19

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 1

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Ser Leu Ser Lys Tyr

20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Thr Ser Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

50 55 60

Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr Met

65 70 75 80

Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Thr	Gly	Asn	Pro	Tyr	Tyr	Thr	Asn	Gly	Phe	Asn	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly		
			100					105					110				
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe		
		115					120					125					
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu		
	130					135					140						
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp		
145				150					155						160		
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu		
			165					170						175			
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser		
		180						185					190				
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro		
	195						200					205					
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys		
	210					215					220						
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro		
225				230						235					240		
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser		
			245					250						255			
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp		
		260						265					270				
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn		
	275						280					285					
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val		

290					295					300					
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu
305					310					315					320
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys
				325					330					335	
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr
			340					345						350	
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr
		355					360					365			
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu
	370					375					380				
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu
385					390					395					400
Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys
				405					410					415	
Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu
			420					425					430		
Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
		435					440					445			

Lys

- <210> 2
- <211> 217
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成構築體

<400> 2

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Pro Asn Asn Leu
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Asp Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Tyr Tyr Val Gly Pro
85 90 95

Val Ser Tyr Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 3
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 3

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Ser Leu Ser Lys Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Thr Ser Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
50 55 60

Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr Met
65 70 75 80

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

Thr Gly Asn Pro Tyr Tyr Thr Asn Gly Phe Asn Ser Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 4
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 4

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Pro Asn Asn Leu
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Asp Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Asn Tyr Tyr Val Gly Pro
85 90 95

Val Ser Tyr Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 5
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 5

Lys Val Ser Gly Tyr Ser Leu Ser Lys Tyr Asp Met Ser

1 5 10

<210> 6
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 6

Ile Ile Tyr Thr Ser Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly
1 5 10 15

<210> 7
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 7

Ala Thr Gly Asn Pro Tyr Tyr Thr Asn Gly Phe Asn Ser
1 5 10

<210> 8
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 8

Gln Ala Ser Gln Ser Pro Asn Asn Leu Leu Ala
1 5 10

<210> 9
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 9

Tyr Gly Ala Ser Asp Leu Pro Ser
1 5

<210> 10
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 10

Gln Asn Asn Tyr Tyr Val Gly Pro Val Ser Tyr Ala
1 5 10

<210> 11
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 11
caagtgcagt tggatgcagtc gggggcagaa gtgaaaaagc ccggcgcttc ggtgaaagtg 60

tcttgcaaag tgtccggcta ttctttgtcc aaatacgaca tgtcatgggt cagacaggct 120

cccggaaagg gtctggagtg gatggggatt atctatacat ccggctacac cgattacgcc 180

caaaagtcc aggggagagt caccatgact gaggatacgt ccaccgacac cgcctacatg 240

gaactgtcca gcctgcggtc cgaggacact gcggtgtact actgcgcgac cggaaacceca 300

tactacacca atggattcaa tagctgggga cagggtactc ttgtgacggt gtccagcgcc 360

tccaccaagg gcccatcggt ctccccgcta gcacctcct ccaagagcac ctctgggggc 420

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 480

aactcaggcg ccttgaccag cggcgtgcac accttccccg ctgtcctaca gtccctcagga 540

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac	600
atctgcaacg tgaatcaca gcccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa	660
tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg	720
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacacctca tgatctcccg gacctctgag	780
gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac	840
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaa gacaagccgc gggaggagca gtacaacagc	900
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag	960
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccc tggagaaaac catctccaaa	1020
gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggacgagctg	1080
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggt tctatcccag cgacategcc	1140
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc ccccgctgctg	1200
gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag	1260
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag	1320
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa	1347

- <210> 12
- <211> 651
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成構築體

<400> 12	
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc	60
atcacttgcc aggccagtc gagccctaataacctcctgg cctgggtatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatggt gcatccgac tgccatctgg ggtcccatca	180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct	240
gaagattttg caacttacta ctgtcagaac aattattatg tgggaccagt gagctatgct	300
ttcggcggag ggaccaaggt ggagatcaag cggaccgtgg ctgcaccatc tgtcttcac	360

ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttggtg cctgctgaat420

aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt480

aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc540

accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc600

catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg c651

<210> 13

<211> 288

<212> PRT

<213> 智人

<400> 13

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln

1 5 10 15

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp

20 25 30

Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp

35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val

50 55 60

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala

65 70 75 80

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg

85 90 95

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg

100 105 110

Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu

115 120 125

Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
130 135 140

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro
145 150 155 160

Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly
165 170 175

Leu Leu Gly Ser Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys
180 185 190

Ser Arg Ala Ala Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro
195 200 205

Leu Lys Glu Asp Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly
210 215 220

Glu Leu Asp Phe Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro
225 230 235 240

Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly
245 250 255

Met Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg
260 265 270

Ser Ala Gln Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
275 280 285

<210> 14
<211> 143
<212> PRT
<213> 智人

<400> 14

Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala
1 5 10 15

Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe
20 25 30

Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro
35 40 45

Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln
50 55 60

Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg
65 70 75 80

Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr
85 90 95

Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu
100 105 110

Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro
115 120 125

Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln
130 135 140

<210> 15
<211> 288
<212> PRT
<213> 食蟹獼

<400> 15

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
1 5 10 15

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Glu Ser Pro Asp Arg Pro Trp
20 25 30

Asn Ala Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Leu Val Thr Glu Gly Asp
35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Ala Ser Glu Ser Phe Val
50 55 60

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
65 70 75 80

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
85 90 95

Val Thr Arg Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
100 105 110

Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
115 120 125

Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
130 135 140

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro
145 150 155 160

Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Ala Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly
165 170 175

Leu Leu Gly Ser Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys
180 185 190

Ser Arg Ala Ala Gln Gly Thr Ile Glu Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro
195 200 205

Leu Lys Glu Asp Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly
210 215 220

Glu Leu Asp Phe Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Ala Pro
225 230 235 240

Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly
245 250 255

Leu Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg
260 265 270

Ser Pro Arg Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
275 280 285

<210> 16
<211> 143
<212> PRT
<213> 食蟹獼

<400> 16

Leu Glu Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Ala Pro Thr Phe Ser Pro Ala
1 5 10 15

Leu Leu Leu Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe
20 25 30

Ser Asn Ala Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro
35 40 45

Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln
50 55 60

Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Arg Leu Pro Asn Gly Arg
65 70 75 80

Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr
85 90 95

Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu
100 105 110

Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro
115 120 125

Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln
130 135 140

<210> 17
<211> 330
<212> PRT
<213> 智人

<400> 17

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 18
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 18

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 19

<211> 106

<212> PRT

<213> 智人

<400> 19

Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種結合人類PD-1之抗體，其包含：1)重鏈可變區(HCVR)；及2)輕鏈可變區(LCVR)，其中該HCVR包含重鏈互補性決定區(HCDR)1、HCDR2及HCDR3，且該LCVR包含輕鏈互補性決定區(LCDR)1、LCDR2及LCDR3，其中該HCDR1之胺基酸序列為SEQ ID NO: 5，該HCDR2之胺基酸序列為SEQ ID NO: 6，且該HCDR3之胺基酸序列為SEQ ID NO: 7，該LCDR1之胺基酸序列為SEQ ID NO: 8，該LCDR2之胺基酸序列為SEQ ID NO: 9，且該LCDR3之胺基酸序列為SEQ ID NO: 10，且其中該抗體為IgG1。

【請求項2】

如請求項1之抗體，其中該HCVR之胺基酸序列為SEQ ID NO: 3且該LCVR之胺基酸序列為SEQ ID NO: 4。

【請求項3】

如請求項2之抗體，其包含：1) 重鏈(HC)；及2) 輕鏈(LC)，其中該HC之胺基酸序列為SEQ ID NO: 1，且該LC之胺基酸序列為SEQ ID NO: 2。

【請求項4】

如請求項3之抗體，其包含兩條HC及兩條LC，其中該等HC中之每一者的胺基酸序列為SEQ ID NO: 1，且該等LC中之每一者的胺基酸序列為SEQ ID NO: 2。

【請求項5】

如請求項1至4中任一項之抗體，其中如在自體免疫病症或移植排斥

反應之活體內模型中測定，該抗體為人類PD-1之促效劑。

【請求項6】

如請求項5之抗體，其中該活體內模型為移植物抗宿主病(GVHD)、實體器官移植排斥反應、血管炎、全身性紅斑狼瘡(SLE)、1型糖尿病(T1DM)、多發性硬化症(MS)、巨大細胞動脈炎(GCA)、牛皮癬(PsO)、牛皮癬性關節炎(PsA)、類風濕性關節炎(RA)、發炎性腸病(IBD)、潰瘍性結腸炎(UC)、僵直性脊椎炎(AS)、休格連氏症候群(SjS)、自體免疫肝炎或硬皮病之模型。

【請求項7】

如請求項5之抗體，其中該活體內模型為GVHD及/或狼瘡性腎炎之小鼠模型。

【請求項8】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至7中任一項之抗體及一或多種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。

【請求項9】

一種如請求項1至7中任一項之抗體之用途，其用於製造供治療自體免疫疾病用之藥物。

【請求項10】

如請求項9之用途，其中該自體免疫疾病為GVHD、實體器官移植排斥反應、血管炎、SLE、T1DM、MS、GCA、PsO、PsA、RA、IBD、UC、AS、SjS、自體免疫肝炎、硬皮病、乳糜瀉、艾迪森氏病(Addison's disease)、橋本氏病(Hashimoto's disease)、格雷夫氏病(Graves' disease)、萎縮性胃炎/惡性貧血、獲得性性腺低能症/不育症、副甲狀腺

低能症、庫姆斯陽性溶血性貧血(Coombs positive-hemolytic anemia)、慢性過敏性疾病(諸如哮喘、枯草熱或過敏性鼻炎)、克羅恩氏病(Crohn's disease)、男性或女性不育症、白塞氏病(Behcet's)、韋格納氏肉芽腫病(Wegener's granulomatosis)、心肌炎、肌炎、風濕性多肌痛(PMR)、自然流產、白斑病、動脈粥樣硬化、自體免疫胰臟炎、大皰性類天疱瘡、慢性病毒感染或重症肌無力。

【請求項11】

如請求項10之用途，其中該自體免疫疾病為GVHD、實體器官移植排斥反應、血管炎、SLE、T1DM、MS、GCA、PsO、PsA、RA、IBD、UC、AS、SjS、自體免疫肝炎或硬皮病。

【請求項12】

如請求項9至11中任一項之用途，其中該抗體與有效治療自體免疫疾病之另一治療劑以同時、分開或連續之組合投與。