



(21) 申请号 202311104154.0

C07K 16/28 (2006.01)

(22) 申请日 2018.06.01

A61P 35/00 (2006.01)

(30) 优先权数据

62/513,831 2017.06.01 US

(62) 分案原申请数据

201880035434.1 2018.06.01

(71) 申请人 百时美施贵宝公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 R·爱德华兹 W·J·格泽

D·M·格里纳沃尔特

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

专利代理师 胡志君 黄革生

(51) Int. Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

权利要求书1页 说明书58页 附图38页

(54) 发明名称

用抗PD-1抗体治疗肿瘤的方法

(57) 摘要

本公开提供用于治疗患有肿瘤的受试者的方法,该方法包括对受试者施用特异性结合程序性死亡-1 (PD-1) 受体并抑制PD-1活性的抗体或其抗原结合部分。在一些实施方案中,该肿瘤源自非小细胞肺癌 (NSCLC)。在一些实施方案中,该肿瘤表达程序性死亡配体1。在一些实施方案中,该受试者携带野生型STK11基因。

1. 特异性结合程序性死亡-1 (PD-1) 受体并抑制PD-1活性的抗体或其抗原结合部分 (“抗PD-1抗体”) 用于治疗患有肿瘤的受试者, 其中所述受试者鉴定为具有野生型STK11基因。

2. 抗PD-1抗体用于权利要求1的用途, 其中所述受试者鉴定为具有突变标志基因, 所述突变标志基因选自KRAS、TP53、CDKN2A、PTPND、CUBN、HERC1和它们的任意组合。

3. 特异性结合程序性死亡-1 (PD-1) 受体并抑制PD-1活性的抗体或其抗原结合部分 (“抗PD-1抗体”) 用于治疗患有肿瘤的受试者, 其中所述受试者鉴定为具有突变标志基因, 其中所述标志基因选自TP53、CDKN2A、PTPND、CUBN、HERC1和它们的任意组合。

4. 抗PD-1抗体用于权利要求2或3的用途, 其中所述标志基因包含非同义突变、无义突变、移码突变或剪接突变。

5. 抗PD-1抗体用于权利要求1至4中任一项所述的用途, 其中所述肿瘤源自肺癌。

6. 抗PD-1抗体用于权利要求5的用途, 其中所述肿瘤源自小细胞肺癌 (SCLC) 或非小细胞肺癌 (NSCLC)。

7. 抗PD-1抗体用于权利要求1至6中任一项所述的用途, 其中在施用所述抗PD-1抗体之前检测肿瘤中的PD-L1表达。

8. 抗PD-1抗体用于权利要求7的用途, 其中所述肿瘤以弥漫模式或异质模式表达PD-L1。

9. 抗PD-1抗体用于权利要求1至8中任一项所述的用途, 其中所述肿瘤具有高TMB的肿瘤突变负荷 (TMB)。

10. 抗PD-1抗体用于权利要求9的用途, 其中通过测序肿瘤中的核酸并鉴定所测序的核酸中的基因组改变来确定肿瘤TMB状态, 其中所述基因组改变包含一种或多种选自以下的改变: 体细胞突变、非同义突变、错义突变、碱基对取代、碱基对插入、碱基对缺失、拷贝数改变 (CNA)、基因重排和它们的任意组合。

11. 抗PD-1抗体用于权利要求1至10中任一项所述的用途, 其中所述肿瘤显示高炎症。

12. 抗PD-1抗体用于权利要求1至11中任一项所述的用途, 其中所述抗PD-1抗体是纳武单抗或派姆单抗。

13. 抗PD-1抗体用于权利要求1至12中任一项所述的用途, 其中所述抗PD-1抗体约每1、2或3周一次按从至少约0.1mg/kg至至少约10.0mg/kg体重范围内的剂量施用。

14. 抗PD-1抗体用于权利要求1至13中任一项所述的用途, 其中所述抗PD-1抗体或其抗原结合部分约每1、2、3或4周一次按约240mg或约480mg的平剂量施用。

15. 用于治疗患有肿瘤的受试者的试剂盒, 该试剂盒包含:

(a) 从约4mg至约500mg抗PD-1抗体范围内的剂量; 和

(b) 对鉴定为具有野生型STK11基因的受试者施用抗PD-1抗体的说明书。

用抗PD-1抗体治疗肿瘤的方法

[0001] 本申请是中国专利申请201880035434.1的分案申请,原申请的申请日是2018年6月1日,发明名称是“用抗PD-1抗体治疗肿瘤的方法”。

技术领域

[0002] 本公开涉及用于治疗肿瘤的方法,其包括对受试者施用抗程序性死亡-1 (PD-1) 抗体,其中所述受试者携带野生型STK11。

背景技术

[0003] 人癌症包含许多遗传和外遗传改变,产生免疫系统潜在可识别的新抗原 (Sjoberg 等 (2006) Science 314:268-74)。包含T和B淋巴细胞的适应性免疫系统具有强大的抗癌潜力,具有大容量和精致的特异性来响应多种肿瘤抗原。另外,免疫系统显示相当大的可塑性和记忆组分。成功利用适应性免疫系统的所有这些属性使得免疫治疗在所有癌症治疗方式中是独特的。

[0004] PD-1是由活化的T和B细胞表达的关键免疫检查点受体,并介导免疫抑制。PD-1是受体CD28家族的成员,该家族包括CD28、CTLA-4、ICOS、PD-1和BTLA。已鉴定出PD-1的两种细胞表面糖蛋白配体,为程序性死亡配体-1 (PD-L1) 和程序性死亡配体-2 (PD-L2),它们表达在抗原呈递细胞以及许多人癌症上,已显示它们通过结合PD-1下调T细胞活化和细胞因子分泌。

[0005] 纳武单抗 (Nivolumab) (之前称为5C4、BMS-936558、MDX-1106或ONO-4538) 是全人 IgG4 (S228P) PD-1免疫检查点抑制剂抗体,其选择性阻止PD-1与PD-1配体 (PD-L1和PD-L2) 的相互作用,从而阻断抗肿瘤T细胞功能的下调 (美国专利号8,008,449; Wang等, 2014Cancer Immunol Res.2(9):846-56)。

[0006] NSCLC是美国和全世界范围内癌症死亡的主要原因 (NCCN **GUIDELINES®**, 3.2014版-非小细胞肺癌,可在www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf获得,2014年5月14日最后一次访问)。NSCLC对化疗相对不敏感,但具有良好性能状态 (PS) 的患有IV期疾病的患者可从化疗药物治疗受益,这些化疗药物包括铂类药物 (例如顺铂、卡铂)、紫杉烷类药物 (例如紫杉醇 (paclitaxel)、白蛋白结合紫杉醇、多西紫杉醇 (docetaxel))、脱水长春花碱 (vinorelbine)、长春花碱 (vinblastine)、依托泊苷 (etoposide)、培美曲塞 (pemetrexed) 和吉西他滨 (gemcitabine) 及这些药物的多种组合。

[0007] 发明概述

[0008] 本公开提供用于治疗患有肿瘤的受试者的方法,其包括: (i) 测定受试者中STK11基因的突变状态;和(ii) 如果STK11基因为野生型,则对受试者施用特异性结合程序性死亡-1 (PD-1) 受体并抑制PD-1活性的抗体或其抗原结合部分 (“抗PD-1抗体”)。在其他方面,本公开涉及用于治疗患有肿瘤的受试者的方法,其包括对受试者施用抗PD-1抗体,其中所述受试者鉴定为具有野生型STK11基因。在其他方面,本公开涉及用于鉴定患有适于抗PD-1抗体治疗的肿瘤的受试者的方法,其包括: (i) 测定受试者中STK11基因的突变状态;和(ii)

如果STK11基因为野生型,则对受试者施用抗PD-1抗体。在一些实施方案中,该方法进一步包括检测选自KRAS、TP53、CDKN2A、PTPND、CUBN、HERC1和它们的任意组合的标志基因的突变状态。

[0009] 在其他方面,本公开涉及用于治疗患有肿瘤的受试者的方法,其包括:(i)测定受试者中标志基因的突变状态;和(ii)如果标志基因突变,则对受试者施用抗PD-1抗体;其中标志基因选自TP53、CDKN2A、PTPND、CUBN、HERC1和它们的任意组合。在其他方面,本公开涉及用于治疗患有肿瘤的受试者的方法,其包括对受试者施用抗PD-1抗体,其中受试者鉴定为具有突变的标志基因,其中标志基因选自TP53、CDKN2A、PTPND、CUBN、HERC1和它们的任意组合。在其他方面,本公开涉及用于鉴定患有适于抗PD-1抗体治疗的肿瘤的受试者的方法,其包括:(i)测定受试者中标志基因的突变状态;和(ii)如果标志基因突变,则对受试者施用抗PD-1抗体;其中标志基因选自TP53、CDKN2A、PTPND、CUBN、HERC1和它们的任意组合。在一些实施方案中,TP53突变。在一些实施方案中,CDKN2A突变。在一些实施方案中,PTPND、CUBN和HERC1突变。

[0010] 在一些实施方案中,该标志基因包含非同义突变(non-synonymous mutation)。在某些实施方案中,该标志基因包含无义、移码或剪接突变。

[0011] 在一些实施方案中,该肿瘤源自肺癌。在某些实施方案中,该肿瘤源自小细胞肺癌(SCLC)或非小细胞肺癌(NSCLC)。在某些实施方案中,该肿瘤源自NSCLC。在具体实施方案中,该肿瘤源自非鳞状细胞NSCLC。在其他实施方案中,该肿瘤源自鳞状细胞NSCLC。

[0012] 在一些实施方案中,该方法进一步包括在施用前检测肿瘤中的PD-L1表达。在一些实施方案中,该肿瘤以弥漫模式表达PD-L1。在一些实施方案中,该肿瘤以异质模式(heterogeneous pattern)表达PD-L1。

[0013] 在一些实施方案中,通过测序STK11基因来测定STK11基因的突变状态。

[0014] 在一些实施方案中,该肿瘤具有高TMB的肿瘤突变负荷(TMB)状态。在一些实施方案中,通过测序肿瘤中的核酸并鉴定所测序的核酸中的基因组改变来测定肿瘤TMB状态。

[0015] 在一些实施方案中,该肿瘤显示高炎症。在一些实施方案中,根据STK11的表达测量炎症。

[0016] 在一些实施方案中,该抗PD-1抗体与纳武单抗交叉竞争结合人PD-1。在一些实施方案中,该抗PD-1抗体与纳武单抗结合相同的表位。在一些实施方案中,该抗PD-1抗体为嵌合、人源化或人单克隆抗体或其部分。在一些实施方案中,该抗PD-1抗体包含属于人IgG1或IgG4同种型的重链恒定区。在一些实施方案中,该抗PD-1抗体是纳武单抗。

[0017] 在一些实施方案中,该抗PD-1抗体按从至少约0.1mg/kg至至少约10.0mg/kg体重范围内的剂量每1、2或3周施用一次。在一些实施方案中,该抗PD-1抗体或其抗原结合部分按平剂量(flat dose)施用。在一些实施方案中,该抗PD-1抗体或其抗原结合部分按平剂量或约240mg施用。

[0018] 在一些实施方案中,该施用治疗肿瘤。在一些实施方案中,该施用减小肿瘤的大小。在一些实施方案中,该受试者在首次施用后显示至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月、至少约7个月、至少约8个月、至少约9个月、至少约10个月、至少约11个月、至少约1年、至少约18个月、至少约2年、至少约3年、至少约4年或至少约5年的无进展生存期。在一些实施方案中,该受试者在施用后显示部分应答。在一

些实施方案中,该受试者在施用后显示完全应答。

[0019] 在其他方面,本公开提供用于治疗患有肿瘤的受试者的试剂盒,该试剂盒包含:(a) 从约4mg至约500mg抗PD-1抗体范围内的剂量;和(b) 在本文公开的任何方法中使用抗PD-1抗体的说明书。在一些实施方案中,该试剂盒进一步包含抗PD-L1抗体。

[0020] 实施方案

[0021] E1. 用于治疗患有肿瘤的受试者的方法,其包括:(i) 测定受试者中STK11基因的突变状态;和(ii) 如果STK11基因为野生型,则对受试者施用特异性结合程序性死亡-1 (PD-1) 受体并抑制PD-1活性的抗体或其抗原结合部分(“抗PD-1抗体”)。

[0022] E2. 用于治疗患有肿瘤的受试者的方法,其包括对受试者施用抗PD-1抗体,其中受试者鉴定为具有野生型STK11基因。

[0023] E3. 用于鉴定患有适于抗PD-1抗体治疗的肿瘤的受试者的方法,其包括:(i) 测定受试者中STK11基因的突变状态;和(ii) 如果STK11基因为野生型,则对受试者施用抗PD-1抗体。

[0024] E4. E1至E3中任一个的方法,其进一步包括检测选自KRAS、TP53、CDKN2A、PTPND、CUBN、HERC1和它们的任意组合的标志基因的突变状态。

[0025] E5. 用于治疗患有肿瘤的受试者的方法,其包括:(i) 测定受试者中标志基因的突变状态;和(ii) 如果标志基因突变,则对受试者施用特异性结合程序性死亡-1 (PD-1) 受体并抑制PD-1活性的抗体或其抗原结合部分(“抗PD-1抗体”);其中标志基因选自TP53、CDKN2A、PTPND、CUBN、HERC1和它们的任意组合。

[0026] E6. 用于治疗患有肿瘤的受试者的方法,其包括对受试者施用抗PD-1抗体,其中受试者鉴定为具有突变的标志基因,其中标志基因选自TP53、CDKN2A、PTPND、CUBN、HERC1和它们的任意组合。

[0027] E7. 用于鉴定患有适于抗PD-1抗体治疗的肿瘤的受试者的方法,其包括:(i) 测定受试者中标志基因的突变状态;和(ii) 如果标志基因突变,则对受试者施用抗PD-1抗体;其中标志基因选自TP53、CDKN2A、PTPND、CUBN、HERC1和它们的任意组合。

[0028] E8. E4至E7中任一个的方法,其中TP53突变。

[0029] E9. E4至E8中任一个的方法,其中CDKN2A突变。

[0030] E10. E4至E9中任一个的方法,其中PTPND、CUBN和HERC1突变。

[0031] E11. E4至E10中任一个的方法,其中标志基因包含非同义突变。

[0032] E12. E4至E11中任一个的方法,其中标志基因包含无义、移码或剪接突变。

[0033] E13. E1至E12中任一个的方法,其中肿瘤源自肺癌。

[0034] E14. E13的方法,其中肿瘤源自小细胞肺癌 (SCLC) 或非小细胞肺癌 (NSCLC)。

[0035] E15. E14的方法,其中肿瘤源自NSCLC。

[0036] E16. E15的方法,其中肿瘤源自非鳞状细胞NSCLC。

[0037] E17. E15的方法,其中肿瘤源自鳞状细胞NSCLC。

[0038] E18. E1至E17中任一个的方法,其进一步包括在施用前检测肿瘤中的PD-L1表达。

[0039] E19. E18的方法,其中肿瘤以弥漫模式 (diffuse pattern) 表达PD-L1。

[0040] E20. E19的方法,其中弥漫模式的PD-L1表达表征为从约60至约500、从约80至约480、从约100至约460、从约120至约440、从约140至约420、从约160至约400、从约180至约

380、从约200至约360、从约200至约340、从约200至约320或从约200至约300的PD-L1 H评分。

[0041] E21.E19的方法,其中弥漫模式的PD-L1表达表征为至少约60、至少约70、至少约80、至少约90、至少约100、至少约110、至少约120、至少约130、至少约140、至少约150、至少约160、至少约170、至少约180、至少约190、至少约200、至少约225、至少约250、至少约275或至少约300的PD-L1 H评分。

[0042] E22.E21的方法,其中弥漫模式的PD-L1表达表征为至少约200的PD-L1 H评分。

[0043] E23.E18的方法,其中肿瘤以异质模式表达PD-L1。

[0044] E24.E23的方法,其中异质模式的PD-L1表达表征为从约1至约50、从约5至约45、从约10至约40或从约15至约35的PD-L1 H评分,其中PD-L1表达限于肿瘤的一个或多个不同部位。

[0045] E25.E23的方法,其中异质模式的PD-L1表达表征为至少约5、至少约10、至少约15、至少约20、至少约25、至少约30、至少约35或至少约40的PD-L1 H评分。

[0046] E26.E25的方法,其中异质模式的PD-L1表达表征为至少约15的PD-L1 H评分。

[0047] E27.E1、3、4和13至E26中任一个的方法,其中通过测序STK11基因来测定STK11基因的突变状态。

[0048] E28.E18至E27中任一个的方法,其中用免疫组织化学(IHC)测定法检测PD-L1表达。

[0049] E29.E28的方法,其中IHC测定法是自动IHC测定法。

[0050] E30.E28或E29的方法,其中用特异性结合PD-L1的抗PD-L1单克隆抗体进行IHC测定法,其中抗PD-L1单克隆抗体选自28-8、28-1、28-12、29-8、5H1和它们的任意组合。

[0051] E31.E18至E30中任一个的方法,其中至少约1%、至少约2%、至少约3%、至少约4%、至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或约100%的肿瘤细胞表达PD-L1。

[0052] E32.E1至E31中任一个的方法,其中肿瘤具有高TMB的肿瘤突变负荷(TMB)状态。

[0053] E33.E32的方法,其中通过测序肿瘤中的核酸并鉴定所测序的核酸中的基因组改变来测定肿瘤TMB状态。

[0054] E34.E33的方法,其中基因组改变包含一个或多个体细胞突变。

[0055] E35.E33或E34的方法,其中基因组改变包含一个或多个非同义突变。

[0056] E36.E33至E35中任一个的方法,其中基因组改变包含一个或多个错义突变。

[0057] E37.E33至E36中任一个的方法,其中体细胞突变包含选自碱基对取代、碱基对插入、碱基对缺失、拷贝数改变(CNA)、基因重排和它们的任意组合的一个或多个改变。

[0058] E38.E32至E37中任一个的方法,其中高TMB具有至少210、至少215、至少220、至少225、至少230、至少235、至少240、至少245、至少250、至少255、至少260、至少265、至少270、至少275、至少280、至少285、至少290、至少295、至少300、至少305、至少310、至少315、至少320、至少325、至少330、至少335、至少340、至少345、至少350、至少355、至少360、至少365、至少370、至少375、至少380、至少385、至少390、至少395、至少400、至少405、至少410、至少

415、至少420、至少425、至少430、至少435、至少440、至少445、至少450、至少455、至少460、至少465、至少470、至少475、至少480、至少485、至少490、至少495或至少500的评分。

[0059] E39.E32至E38中任一个的方法,其中高TMB具有至少215、至少220、至少221、至少222、至少223、至少224、至少225、至少226、至少227、至少228、至少229、至少230、至少231、至少232、至少233、至少234、至少235、至少236、至少237、至少238、至少239、至少240、至少241、至少242、至少243、至少244、至少245、至少246、至少247、至少248、至少249或至少250的评分。

[0060] E40.E32至E39中任一个的方法,其中高TMB具有至少243的评分。

[0061] E41.E32至E40中任一个的方法,其进一步包括将受试者TMB状态与参考TMB值相比较。

[0062] E42.E41的方法,其中受试者TMB状态在参考TMB值的最高分位数(highest fractile)内。

[0063] E43.E41的方法,其中受试者TMB状态在参考TMB值的上三分位数(top tertile)内。

[0064] E44.E32至E43中任一个的方法,其中通过基因组测序测定TMB状态。

[0065] E45.E32至E43中任一个的方法,其中通过外显子组测序测定TMB状态。

[0066] E46.E32至E45中任一个的方法,其中通过基因组分析测定TMB状态。

[0067] E47.E1至E46中任一个的方法,其中肿瘤显示高炎症。

[0068] E48.E47的方法,其中根据STK11的表达测量炎症。

[0069] E49.E1至E48中任一个的方法,其中抗PD-1抗体与纳武单抗交叉竞争结合人PD-1。

[0070] E50.E1至E49中任一个的方法,其中抗PD-1抗体与纳武单抗结合相同的表位。

[0071] E51.E1至E50中任一个的方法,其中抗PD-1抗体为嵌合、人源化或人单克隆抗体或其部分。

[0072] E52.E1至E51中任一个的方法,其中抗PD-1抗体包含属于人IgG1或IgG4同种型的重链恒定区。

[0073] E53.E1至E52中任一个的方法,其中抗PD-1抗体是纳武单抗。

[0074] E54.E1至E53中任一个的方法,其中抗PD-1抗体是派姆单抗(pembrolizumab)。

[0075] E55.E1至E54中任一个的方法,其中抗PD-1抗体按从至少约0.1mg/kg至至少约10.0mg/kg体重范围内的剂量每1、2或3周施用一次。

[0076] E56.E55的方法,其中抗PD-1抗体按至少约3.0mg/kg体重的剂量约每2周施用一次。

[0077] E57.E1至E56中任一个的方法,其中抗PD-1抗体或其抗原结合部分按平剂量施用。

[0078] E58.E1至E54和57中任一个的方法,其中抗PD-1抗体或其抗原结合部分按至少约200、至少约220、至少约240、至少约260、至少约280、至少约300、至少约320、至少约340、至少约360、至少约380、至少约400、至少约420、至少约440、至少约460、至少约480、至少约500或至少约550mg的平剂量施用。

[0079] E59.E1至E54、57和58中任一个的方法,其中抗PD-1抗体或其抗原结合部分按约240mg的平剂量施用。

[0080] E60.E1至E54和57至E59中任一个的方法,其中抗PD-1抗体或其抗原结合部分按平

剂量每1、2、3或E4周施用一次。

[0081] E61.E1至E60中任一个的方法,其中施用抗PD-1抗体至只要观察到临床益处或直到出现无法控制的毒性或疾病进展。

[0082] E62.E1至E61中任一个的方法,其中抗PD-1抗体制剂为用于静脉内施用。

[0083] E63.E1至E62中任一个的方法,其中抗PD-1抗体按亚治疗剂量施用。

[0084] E64.E1至E63中任一个的方法,其中所述施用治疗肿瘤。

[0085] E65.E1至E64中任一个的方法,其中所述施用减小肿瘤的大小。

[0086] E66.E65的方法,其中与所述施用前的肿瘤大小相比,肿瘤大小减小至少约10%、约20%、约30%、约40%或约50%。

[0087] E67.E1至E66中任一个的方法,其中受试者在首次施用后显示至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月、至少约7个月、至少约8个月、至少约9个月、至少约10个月、至少约11个月、至少约1年、至少约18个月、至少约2年、至少约3年、至少约4年或至少约5年的无进展生存期。

[0088] E68.E1至E67中任一个的方法,其中受试者在施用后显示稳定疾病。

[0089] E69.E1至E67中任一个的方法,其中受试者在施用后显示部分应答。

[0090] E70.E1至E67中任一个的方法,其中受试者在施用后显示完全应答。

[0091] E71.用于治疗患有肿瘤的受试者的试剂盒,该试剂盒包含:

[0092] (a) 从约4mg至约500mg抗PD-1抗体范围内的剂量;和

[0093] (b) 在E1至E70中任一个的方法中使用抗PD-1抗体的说明书。

[0094] E72.E71的试剂盒,其进一步包含抗PD-L1抗体。

[0095] 附图简述

[0096] 图1A-1D显示免疫组织化学(IHC)图像,其显示NSCLC商业肿瘤中PD-L1表达的不同模式。将PD-L1表达的模式命名为弥漫(图1A)、异质(图1B)、肿瘤-基质界面(图1C)和阴性(图1D)。

[0097] 图2A-2B显示图1A-1D中所示的每种PD-L1模式(即弥漫(D)、异质(H)、阴性(N)和肿瘤-基质界面(T))中PD-L1 H评分的分布(图2A),及两个NSCLC亚型(即腺癌和鳞状细胞癌)中PD-L1 H评分的分布(图2B)。

[0098] 图3A-3C显示对应于弥漫(图3A)、肿瘤-基质界面(图3B)和阴性(图3C)PD-L1表达模式的IHC图像,其对应于来自纳武单抗单一疗法治疗的患者的试验活检组织。

[0099] 图4显示进行纳武单抗单一治疗的患者的PD-L1 H评分。绝大多数完全应答(CR)和部分应答(PR)中的主导PD-L1模式是弥漫模式。

[0100] 图5A-5B显示按照PD-L1肿瘤占优模式的总体CI评分(图5A)和PD-L1 CI评分(图5B)。

[0101] 图6显示针对PD-L1、CD68和CD3染色的多重IHC图像。

[0102] 图7A-7B显示按照用RNA测序测量的PD-L1表达模式的NSCLC肿瘤中的PD-L1表达(图7A),及按照用外显子组测序测量的PD-L1表达模式的NSCLC肿瘤中的突变负荷(图7B)。

[0103] 图8A-8B显示NSCLC肿瘤中错义突变的数目与通过CI评分测量的总体炎症之间的关系(图8A),及NSCLC肿瘤中错义突变的数目与通过PDLP1pos CI评分测量的PD-L1+炎症之间的关系(图8B)。

[0104] 图9A-9B显示不同生物标志物(TP53、STK11、KEAP1、KRAS、EGFR和MET)中的突变频率对图9A中观察到的PD-L1表达模式。D=弥漫,H=异质,I=肿瘤-基质界面,N=阴性。图9B显示通过RNA测序(RNAseq)测量的PD-L1表达对STK11突变的存在(“y”)或缺乏(“n”)。

[0105] 图10A-10C显示STK11突变的存在(“y”)或缺乏(“n”)和PD-L1+CI评分之间的关系(图10A)。图10B中显示对应于图10A中所显示的信息的数值数据。图10C显示依赖于STK11突变的存在(“STK11-MUT”)或缺乏(“STK11-WT”)的对应于NSCLC肿瘤中的总体炎症评分的数值数据。

[0106] 图11显示24份NSCLC肿瘤样品的免疫印迹(immunoprint)分析,其中分析FOLR2、VSIG4、CD163、CLEC4D、CSF1R、CD86、MS4A1、CD79B、CD19、KIR2DS4、CD3E、CCR4、CCR8和CD8A的水平以根据炎症模式分类样品(sigClass)。将样品分类为低(“sigClass低”)、中(“sigClass中”)和高(“sigClass高”)炎症。样品还根据STK11突变的存在(“STK11 mut”)或缺乏(“STK11 wt”)分类。此外,根据PD-L1表达模式将样品分类为阴性(“PDL1_模式2阴性”)、弥漫(“PDL1_模式2弥漫”)、异质(“PDL1_模式2异质”)和肿瘤-基质界面(“PDL1_模式2TS”)。

[0107] 图12A-12B是用研究人员选择的化疗(数据标记1和2)或一线3mg/kg抗PD-1抗体治疗(纳武单抗;数据标记3和4)治疗的具有野生型STK11(数据标记2和4)或突变STK11(数据标记1和3)的晚期NSCLC受试者的存活概率示意图。图12A包括具有STK11的所有非同义突变的突变体STK11受试者,而图12B仅包括具有STK11的无义、移码或剪接突变的突变体STK11受试者。X轴下显示各组在各时间点处于风险的受试者数目。

[0108] 图13是具有KRAS突变和野生型STK11(数据标记2和4)或突变STK11(数据标记1和3)的晚期NSCLC受试者的存活概率示意图,其中用研究人员选择的化疗(数据标记1和2)或一线3mg/kg抗PD-1抗体治疗(纳武单抗;数据标记3和4)治疗受试者。X轴下显示各组在各时间点处于风险的受试者数目。

[0109] 图14A-14B是用研究人员选择的化疗(数据标记1和2)或一线3mg/kg抗PD-1抗体治疗(纳武单抗;数据标记3和4)治疗的具有野生型STK11(数据标记2和4)或STK11中的任何非同义突变(数据标记1和3)的非鳞状细胞NSCLC受试者的存活概率示意图。图14A包括符合此标准的所有受试者,而图14B仅包括还具有KRAS突变的受试者。X轴下显示各组在各时间点处于风险的受试者数目。

[0110] 图15A-15E是显示PDL1表达水平和STK11突变状态之间关系的示意图。图15A和15B是显示用研究人员选择的化疗(图15A)或一线3mg/kg抗PD-1抗体治疗(纳武单抗;图15B)治疗后经历完全应答(CR)、部分应答(PR)、稳定疾病(SD)或进行性疾病(PD)的WT或突变STK11受试者的分布的示意图。图15C是与PDL1表达水平相关的用研究人员选择的化疗或一线3mg/kg抗PD-1抗体治疗(纳武单抗)治疗后经历完全应答(CR)、部分应答(PR)、稳定疾病(SD)或进行性疾病(PD)的WT或突变STK11受试者的分布的示意图。图15D和15E显示用研究人员选择的化疗(图15D)或一线3mg/kg抗PD-1抗体治疗(纳武单抗;图15E)治疗的WT或突变STK11受试者中PDL1表达的分布。Y轴显示表达PD-L1的肿瘤细胞的百分数(图15A-15E)。图15F是提供具有STK11突变的受试者亚组的状态(包括具体突变)的表格。

[0111] 图16A是具有KRAS突变和野生型TP53(数据标记2和4)或突变TP53(数据标记1和3)的晚期NSCLC受试者的存活概率示意图,其中用研究人员选择的化疗(数据标记1和2)或一

线3mg/kg抗PD-1抗体治疗(纳武单抗;数据标记3和4)治疗受试者。图16B-16C是用研究人员选择的化疗(数据标记1和2)或一线3mg/kg抗PD-1抗体治疗(纳武单抗;数据标记3和4)治疗的具有野生型(数据标记2和4)或突变(数据标记1和3)CDKN2A(图16B)或PTPND/CUBN/HERC1(图16C)的晚期NSCLC受试者的存活概率示意图。X轴下显示各组在各时间点处于风险的受试者数目(图16A-16C)。图16D是显示HERC1、CUBNM和PTPRD突变在所分析的1144名受试者中的分布的屏幕图。

[0112] 图17A-17B是散点图,显示所分析的所有晚期NSCLC受试者(图17A)中或还具有KRAS突变的亚群(图17B)中肿瘤突变负荷和STK11突变状态之间的关系。图17C是显示与肿瘤突变负荷(TMB;图17C)相关的在用研究人员选择的化疗或一线3mg/kg抗PD-1抗体治疗(纳武单抗)治疗后经历完全应答(CR)、部分应答(PR)、稳定疾病(SD)或进行性疾病(PD)的WT或突变STK11受试者的分布的示意图。

[0113] 图18A-18D是用多西紫杉醇(数据标记1和2)或二线3mg/kg抗PD-1抗体治疗(纳武单抗;数据标记3和4)治疗的具有野生型STK11(数据标记2和4)或STK11中突变(数据标记1和3)的非鳞状细胞NSCLC受试者的存活概率示意图。图18A包括具有任何非同义STK11突变的所有受试者;图18B包括具有任何非同义STK11突变和KRAS突变的受试者;图18C包括具有STK11中的任何无义、移码或剪接突变的所有受试者;图18D包括具有STK11中的任何无义、移码或剪接突变和KRAS突变的受试者。X轴下显示各组在各时间点处于风险的受试者数目(图18A-18D)。

[0114] 图19是用多西紫杉醇(数据标记1和2)或二线3mg/kg抗PD-1抗体治疗(纳武单抗;数据标记3和4)治疗的具有野生型STK11(数据标记2和4)或STK11中突变(数据标记1和3)的鳞状细胞NSCLC受试者的存活概率示意图。X轴下显示各组在各时间点处于风险的受试者数目(图19)。

[0115] 发明详述

[0116] 本公开涉及用于治疗患有肿瘤的受试者的方法,其包括:(i)测定受试者中STK11基因的突变状态;和(ii)如果STK11基因为野生型,则对受试者施用特异性结合程序性死亡-1(PD-1)受体并抑制PD-1活性(“抗PD-1抗体”)或特异性结合程序性死亡配体1(PD-L1)并抑制PD-1活性(“抗PD-L1抗体”)的抗体或其抗原结合部分。在一些实施方案中,该肿瘤源自NSCLC。

[0117] 术语

[0118] 为了可以更容易地理解本公开,首先定义某些术语。如本申请中所使用,除非文中另有明确提供,每个以下术语将具有下文所给出的含义。其他定义在整篇申请中给出。

[0119] “施用”指用本领域技术人员已知的多种方法和递送系统中的任一种将包含治疗剂的组合物物理导入至受试者。抗PD-1抗体的施用途包括静脉内、肌肉内、皮下、腹膜内、脊髓或其他胃肠外施用途,例如通过注射或输注。本文所用的短语“胃肠外施用”指肠和局部施用之外的施用方式,通常通过注射,且非限制性地包括静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、淋巴内、病灶内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外和胸骨内注射和输注,以及体内电穿孔。在一些实施方案中,经非胃肠外途径(在一些实施方案中通过口服)施用该组合。其他非胃肠外途径包括局部、表皮或黏膜施用途,例如鼻内、阴道、直肠、舌下或局部。施用可以进行例如一次、多次和/或一个或多

个延长的时期。

[0120] 本文所用的“不良事件”(AE)是与医学治疗的使用相关的任何不利且通常非预期或不想要的病征(包括异常实验室发现)、症状或疾病。例如,不良事件可以与免疫系统响应治疗而激活或免疫系统细胞(例如T细胞)响应治疗而扩增相关。医学治疗可以具有一种或多种相关AE,且各AE可以具有相同或不同水平的严重度。提到的能够“改变不良事件”的方法指减少与不同治疗方案的使用相关的一种或多种AE的发生率和/或严重度的治疗方案。

[0121] “抗体”(Ab)将非限制性地包括特异性结合抗原且包含通过二硫键相互连接的至少两条重(H)链和两条轻(L)链的糖蛋白免疫球蛋白或其抗原结合部分。每条H链包含重链可变区(本文中缩写为 V_H)和重链恒定区。重链恒定区包含至少三个恒定结构域 C_{H1} 、 C_{H2} 和 C_{H3} 。每条轻链包含轻链可变区(本文中缩写为 V_L)和轻链恒定区。轻链恒定区包含一个恒定结构域 C_L 。 V_H 和 V_L 区可以进一步细分为称为互补决定区(CDR)的高变区,中间散布更保守的称为构架区(FR)的区域。每个 V_H 和 V_L 包含三个CDR和四个FR,从氨基端至羧基端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链和轻链的可变区包含与抗原相互作用的结合结构域。抗体恒定区可以介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合,包括免疫系统的多种细胞(例如效应细胞)和经典补系统的第一组分(C1q)。

[0122] 免疫球蛋白可以源自任何公知的同种型,包括但不限于IgA、分泌性IgA、IgG和IgM。IgG亚类也为本领域技术人员公知,且包括但不限于人IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。“同种型”指由重链恒定区基因编码的抗体种类或亚类(例如IgM或IgG1)。作为实例,术语“抗体”包括天然存在和非天然存在的Ab二者;单克隆和多克隆Ab;嵌合和人源化Ab;人或非人Ab;全合成Ab;及单链抗体。非人抗体可以通过重组方法人源化,以降低其在人中的免疫原性。在未明确说明时,除非文中另有明确说明,术语“抗体”还包括任意前述免疫球蛋白的抗原结合片段或抗原结合部分,且包括单价和二价片段或部分,及单链抗体。

[0123] “分离的抗体”指这样的抗体,其基本不含其他具有不同抗原特异性的抗体(例如分离的特异性结合PD-1的抗体基本不含特异性结合PD-1之外的抗原的抗体)。但是,分离的特异性结合PD-1的抗体与其他抗原如来自不同物种的PD-1分子具有交叉反应性。此外,分离的抗体可以基本不含其他细胞物质和/或化学品。

[0124] 术语“单克隆抗体”(“mAb”)指单一分子组成的抗体分子的非天然存在的制备物,即一级序列基本相同且对特定表位显示单一结合特异性和亲和力的抗体分子。单克隆抗体是分离的抗体的实例。MAb可以通过本领域技术人员已知的杂交瘤、重组、转基因或其他技术产生。

[0125] “人”抗体(HuMAb)指具有其中构架区和CDR区都源自人种系免疫球蛋白序列的可变区的抗体。此外,如果抗体包含恒定区,则恒定区也源自人种系免疫球蛋白序列。本公开的人抗体可以包括并非由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)。但是,本文所用的术语“人抗体”并非旨在包括其中已将源自另一哺乳动物物种(如小鼠)的CDR序列移植至人构架序列上的抗体。术语“人”抗体和“全人”抗体作为同义词使用。

[0126] “人源化抗体”指其中用源自人免疫球蛋白的相应氨基酸替换非人抗体CDR结构域之外的一些、大多数或全部氨基酸的抗体。在抗体的人源化形式的一个实施方案中,用来自人免疫球蛋白的氨基酸替换了CDR结构域之外的一些、大多数或全部氨基酸,而一个或多个

CDR区内的一些、大多数或全部氨基酸未改变。允许小的氨基酸添加、缺失、插入、取代或修饰,只要它们不废除抗体结合特定抗原的能力。“人源化”抗体保持类似于原始抗体的抗原特异性。

[0127] “嵌合抗体”指其中可变区源自一个物种、恒定区源自另一物种的抗体,如其中可变区源自小鼠抗体、恒定区源自人抗体的抗体。

[0128] “抗抗原”抗体指特异性结合抗原的抗体。例如,抗PD-1抗体特异性结合PD-1。

[0129] 抗体的“抗原结合部分”(也称为“抗原结合片段”)指抗体的一个或多个片段,其保留特异性结合全抗体所结合的抗原的能力。

[0130] “癌症”指表征为异常细胞在身体中的不受控生长的多种疾病的一个大组。失调的细胞分裂和生长导致恶性肿瘤的形成,其可侵入邻近组织,也可以通过淋巴系统或血流转移至身体的远端部分。

[0131] “丝氨酸/苏氨酸激酶11”或“STK11”(也称为“极化相关蛋白LKB1”、“肾癌抗原NY-REN-19”、“肝激酶B1”、“EC 2.7.11.1”和“HLKB1”)指作为肿瘤抑制因子调节细胞极性和功能的丝氨酸/苏氨酸激酶家族的成员。STK11控制AMP活化蛋白激酶(AMPK)家族成员的活性,从而在诸如细胞代谢、细胞极性、凋亡和DNA损伤应答的多种过程中发挥作用。STK11遍在表达,睾丸和胎儿肝脏中表达最强。STK11通常在NSCLC中尤其是在具有KRAS突变的肿瘤中失活。如本文中所述,突变的STK11(例如丧失野生型STK11表达)与源自SCLC的肿瘤中PD-L1表达的减少或异常相关。在一些实施方案中,突变的STK11(例如丧失野生型STK11表达)发生在源自SCLC的肿瘤中,其中肿瘤表达或不表达野生型KRAS(例如肿瘤具有或不具有KRAS突变)。在一些实施方案中,STK11突变体是之前在例如Koyama等,Cancer Res.76(5):999-1008(2016),Skoulidis等,Cancer Discov.5(8):860-77(2015),和/或Skoulidis等,Cancer Discov.,May17,2018,DOI:10.1158/2159-8290.CD-18-0099中描述的STK11突变体,每篇文献在此以其整体引入本文作为参考。

[0132] “KRAS”指编码GTP酶KRas蛋白的基因,GTP酶KRas蛋白是小GTP酶ras亚家族的成员。约15-25%的肺腺癌患者具有肿瘤相关KRAS突变,该突变中的绝大多数导致组成性激活的KRAS信号传导。本文所用的“TP53”指编码肿瘤抑制蛋白p53的基因。p53发挥用来控制细胞分裂,功能丧失突变导致细胞分裂和生长失调。全部癌症中的约一半包含TP53的体细胞突变。本文所用的“细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂2A”或“CDKN2A”指编码细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂2A的基因,细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂2A通过在G1和G2期期间诱导细胞周期停滞作为肿瘤抑制因子发挥作用。CDKN2A功能丧失突变在肺癌中常见。本文所用的“CUBN”指编码cubilin的基因,cubilin是内因子-维生素B12复合物的受体。本文所用的“HERC1”指编码含有HECT和RLD结构域的E3泛素蛋白连接酶家族成员1(HERC1)的基因,E3泛素蛋白连接酶家族成员1是HERC家族成员。HERC1刺激ARF1和Rab蛋白上的鸟嘌呤核苷酸交换,可参与膜转运过程。

[0133] 术语“免疫治疗”指通过包括诱导、增强、抑制或以其他方式改变免疫反应的方法治疗患有疾病、处于接触疾病或疾病复发风险的受试者。受试者的“处理”或“治疗”指以逆转、减轻、改善、抑制、减慢或阻止疾病相关症状、并发症或病症、或生化指标的起始、进展、发展、严重度或复发为目的,对受试者进行的任何类型的干预或过程,或对受试者施用活性剂。

[0134] 本文所用的“PD-L1阳性”可与“至少约1%的PD-L1表达”互换使用。在一个实施方案中,PD-L1表达可通过本领域已知的任意方法使用。在另一实施方案中,通过自动IHC测量PD-L1表达。PD-L1阳性肿瘤因此可以是通过自动IHC测量的至少约1%、至少约2%、至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或约100%的肿瘤细胞表达PD-L1。在某些实施方案中,“PD-L1阳性”指存在至少100个在细胞表面表达PD-L1的细胞。

[0135] “程序性死亡-1 (PD-1)”指隶属于CD28家族的免疫抑制受体。PD-1在体内主要是在之前活化的T细胞上表达,结合两种配体:PD-L1和PD-L2。本文所用的术语“PD-1”包括人PD-1 (hPD-1), hPD-1的变体、同种型和物种同源物,及与hPD-1具有至少一个共同表位的类似物。完整的hPD-1序列可见于GenBank登录号U64863下。

[0136] “程序性死亡配体-1” (PD-L1) 是PD-1的两种细胞表面糖蛋白配体之一(另一种是PD-L2),其通过结合PD-1下调T细胞活化和细胞因子分泌。本文所用的术语“PD-L1”包括人PD-L1 (hPD-L1), hPD-L1的变体、同种型和物种同源物,及与hPD-L1具有至少一个共同表位的类似物。完整的hPD-L1序列可见于GenBank登录号Q9NZQ7下。

[0137] “受试者”包括任何人或非人动物。术语“非人动物”包括但不限于脊椎动物,如非人灵长类、绵羊、狗和啮齿类动物,如小鼠、大鼠和豚鼠。在一些实施方案中,该受试者是人。术语“受试者”和“患者”在本文中可互换使用。

[0138] 药物或治疗剂的“治疗有效量”或“治疗有效剂量”是任何量的药物,在单独使用或与另一治疗剂组合使用时,其保护受试者免于疾病的起始,或促进由疾病症状严重度的降低证明的疾病缓解,无疾病症状期的频率和持续时间的增加,或防止由患病引起的损伤或失能。治疗剂促进疾病缓解的能力可用熟练的从业人员已知的多种方法评价,如临床试验期间在人受试者中,在预测在人类中的功效的动物模型系统中,或通过在体外测定中测定活性剂的活性。

[0139] 本文所用的“亚治疗剂量”指治疗性化合物(例如抗体)的剂量,其低于在单独施用来治疗过度增生性疾病(例如癌症)时该治疗性化合物的通常或典型剂量。

[0140] 作为实例,“抗癌剂”促进受试者中癌症消退或防止进一步肿瘤生长。在某些实施方案中,药物的治疗有效量促进肿瘤消退至消除癌症的点。“促进癌症消退”意指单独或与抗肿瘤剂组合施用有效量的药物,导致肿瘤生长或大小减小、肿瘤坏死、至少一种疾病症状的严重度降低、无疾病症状期的频率和持续时间增加、或防止由患病引起的损伤或失能。此外,关于治疗的术语“有效的”和“有效性”包括药理学有效性和生理学安全性。药理学有效性指药物在患者中促进癌症消退的能力。生理学安全性指由施用药物引起毒性水平、或细胞、器官和/或生物水平的其他不良生理学效应(不良效应)。

[0141] 作为治疗肿瘤的实例,相对于未治疗的受试者,治疗有效量的抗癌剂可以抑制细胞生长或肿瘤生长至少约20%、至少约40%、至少约60%或至少约80%。在本公开的其他实施方案中,可以观察到肿瘤消退,并持续至少约20天、至少约40天或至少约60天的时期。尽管有治疗有效性的这些最终测量,免疫治疗药物的评价还必须允许“免疫相关的”反应模式。

[0142] “免疫相关”反应模式指常在用通过诱导癌症特异性免疫反应或通过改变天然免

疫过程产生抗肿瘤效应的免疫治疗剂治疗的癌症患者中观察到的临床反应模式。这种反应模式的特征在于,在最初的肿瘤负荷增加或新病灶出现之后出现有益的治疗作用,其中所述最初的肿瘤负荷增加或新病灶出现在传统化疗剂评价中将分类为疾病进展,且可等同于药物失败。因此,免疫治疗剂的正确评价可需要长期监测这些治疗剂对靶疾病的作用。

[0143] 药物的治疗有效量包括“预防有效量”,预防有效量是任意量的药物,在单独或与抗肿瘤剂组合对处于发展癌症(例如具有恶性肿瘤前病症的受试者)或癌症复发的风险的受试者施用,其抑制癌症的发展或复发。在某些实施方案中,预防有效量完全阻止癌症的发展或复发。“抑制”癌症的发展或复发意指减小癌症发展或复发的可能性,或完全阻止癌症的发展或复发。

[0144] 本文所用的术语“野生型”指具有这样的核苷酸序列的基因,该核苷酸序列编码具有本领域已知为常见序列的氨基酸序列的蛋白质。例如,在一些实施方案中,“野生型”STK11具有这样的核苷酸序列,该核苷酸序列编码具有与具有UniProt识别号Q15831-1的蛋白质的氨基酸序列相同的氨基酸序列的蛋白质。在某些方面,“野生型”基因可以相对于该基因的规范核苷酸序列具有突变,只要该突变是同义突变,例如该核苷酸突变不导致所产生的蛋白质的氨基酸序列的变化。相反,本文所用的“突变体”或“突变”基因指具有一个或多个改变所产生的氨基酸序列的核苷酸取代、插入或缺失(例如非同义突变)的基因。突变基因可以表达或不表达。在一些实施方案中,该非同义突变是“无义突变”,其中核苷酸取代或缺失导致产生成熟前终止密码子。在一些实施方案中,该非同义突变是“移码突变”,其中核苷酸取代或缺失包含不能被3整除的核苷酸数目的插入或缺失,在序列翻译中产生移码。在一些实施方案中,该非同义突变是“剪接突变”,其中核苷酸取代或缺失干扰或产生剪接位点。

[0145] 本文所用的术语“肿瘤突变负荷(TMB)”指肿瘤基因组中体细胞突变的数目和/或每个肿瘤基因组区域的体细胞突变的数目。在测定TMB时排除种系(遗传)变体,因为免疫系统有更高的可能性将这些变体识别为自身。TMB是肿瘤基因组的遗传分析,因此可以通过应用本领域技术人员公知的测序方法来测量。在一个实施方案中,使用通过用种系样品归一化匹配的肿瘤以排除任何遗传种系基因改变鉴定的肿瘤中错义突变的总数测量TMB。为了测量TMB,需要足量的样品。在一个实施方案中,用组织样品(例如最少10张切片)进行评价。

[0146] TMB状态可以是数值或相对值,例如高、中或低;在参考集的最高分位数内,或上三分位数内。

[0147] 本文所用的术语“高TMB”指肿瘤基因组中体细胞突变的数目高于正常或平均的体细胞突变数目。在一些实施方案中,TMB具有至少210、至少215、至少220、至少225、至少230、至少235、至少240、至少245、至少250、至少255、至少260、至少265、至少270、至少275、至少280、至少285、至少290、至少295、至少300、至少305、至少310、至少315、至少320、至少325、至少330、至少335、至少340、至少345、至少350、至少355、至少360、至少365、至少370、至少375、至少380、至少385、至少390、至少395、至少400、至少405、至少410、至少415、至少420、至少425、至少430、至少435、至少440、至少445、至少450、至少455、至少460、至少465、至少470、至少475、至少480、至少485、至少490、至少495、或至少500的评分;在其他实施方案中,高TMB具有至少221、至少222、至少223、至少224、至少225、至少226、至少227、至少228、至少229、至少230、至少231、至少232、至少233、至少234、至少235、至少236、至少237、至少238、

至少239、至少240、至少241、至少242、至少243、至少244、至少245、至少246、至少247、至少248、至少249、或至少250的评分；在具体实施方案中，高TMB具有至少243的评分。在其他实施方案中，“高TMB”指在参考TMB值的最高分位数内的TMB。例如，“参考TMB值”可以通过按照TMB的分位数分布分组所有具有可评价TMB数据的受试者来确定，即将受试者按照从基因改变数目最高至最低的顺序排序，并分为确定数目的组。在一个实施方案中，将所有具有可评价TMB数据的受试者排序，并分为三份，“高TMB”在参考TMB值的上三分位数内。在具体实施方案中，该上三分位数边界为0<100基因改变；100至243基因改变；和>243基因改变。应理解，一旦排序，即可将具有可评价TMB数据的受试者分为任何数目的组，例如四分位数、五分位数等。

[0148] 本文所用的术语“中TMB”指肿瘤基因组中体细胞突变的数目处于或约为正常或平均体细胞突变的数目，术语“低TMB”指肿瘤基因组中体细胞突变的数目低于正常或平均体细胞突变的数目。在具体实施方案中，“高TMB”具有至少243的评分，“中TMB”具有100至242之间的评分，“低TMB”具有小于100 (或0至100之间) 的评分。

[0149] 在一些实施方案中，TMB状态可与吸烟状态相关。具体而言，当前或之前吸烟的受试者常比从未吸烟的受试者具有更多的基因改变，例如错义突变。

[0150] 具有高TMB的肿瘤还可以具有高新抗原负荷。本文所用的术语“新抗原”指免疫系统之前不识别的新形成的抗原。新抗原可以是免疫系统识别为外来 (或非自身) 的蛋白质或肽。包含体细胞突变的肿瘤基因组中基因的转录产生突变mRNA，突变mRNA在翻译时产生突变蛋白质，然后突变蛋白质加工并转运至ER腔，结合I类MHC复合体，便于T细胞识别新抗原。新抗原识别可以促进T细胞活化、克隆扩增及分化为效应和记忆T细胞。

[0151] 肿瘤的TMB状态可以单独与其他因素组合用作确定患者是否可能从具体抗癌剂或处理或治疗的类型 (例如免疫抗癌剂，例如抗PD-1抗体或其抗原结合部分，或抗PD-L1抗体或其抗原结合部分) 获益的因素。在一个实施方案中，高TMB状态 (或高TMB) 指示从免疫抗癌剂获益的可能性增强，因此可用于鉴定更有可能从抗PD-1抗体或其抗原结合部分的治疗获益的患者。本文所用的术语“从治疗获益”指总生存期、无进展生存期、部分应答、完全应答和总体应答率中一项或多项的改善，也可以包括肿瘤生长或尺寸减小、疾病症状严重度降低、无疾病症状期的频率和持续时间的增加，或防止由患病引起的损伤或失能。

[0152] 在提到TMB状态或基因的突变状态时，术语“测量”指测定受试者生物样品中体细胞突变的可测量的量。应理解，测量可以通过测序样品中的核酸 (例如cDNA、mRNA、exoRNA、ctDNA和cfDNA) 来进行。测量是对受试者样品和/或参考样品或多个样品进行，且可以从头检测或对应之前的测定。测量可以例如用本领域技术人员已知的PCR法、qPCR法、Sanger测序法、基因组分析法 (genomic profiling method) (包括全面的基因系列)、外显子组测序法、基因组测序法和/或本文中公开的任意其他方法进行。在一些实施方案中，该测量鉴定所测序的核酸中的基因组改变。基因组 (或基因) 表达概况分析法可涉及一系列预先确定的基因集，例如150-500个基因，在一些情况下，在该系列基因中评价的基因组改变与所评价的总体细胞突变相关。

[0153] 本文所用的术语“基因组改变”指肿瘤基因组的核苷酸序列中的改变 (或突变)，该改变不存在于种系核苷酸序列中，且在一些实施方案中是非同义突变，包括但不限于碱基对取代、碱基对插入、碱基对缺失、拷贝数改变 (CNA)、基因重排和它们的任意组合。在具体

实施方案中,在生物样品中测量的基因组改变是无义突变。

[0154] 本文中所述的术语“生物样品”指从受试者分离的生物材料。生物样品可以包含适合用于例如通过测序肿瘤(或循环肿瘤细胞)中的核酸并鉴定所测序的核酸中的基因组改变来测定TMB的任何生物材料。生物样品可以是任何适宜的生物组织或体液,例如肿瘤组织、血液、血浆和血清。在一个实施方案中,该样品是肿瘤活检组织,例如福尔马林固定、石蜡包埋肿瘤组织或新鲜冷冻肿瘤组织等。在另一实施方案中,该生物样品是液体活检组织,在一些实施方案中,该液体活检组织包括血液、血清、血浆、循环肿瘤细胞、exoRNA、ctDNA和cfDNA中的一种或多种。

[0155] 备选物的使用(例如“或”)应理解为指备选物中的一个、二者或其任意组合。本文中所用的不定冠词“一”或“一个”应理解为指“一个或多个”所引述或列举的成分。

[0156] 术语“约”或“基本上包含”指由本领域普通技术人员确定的具体值或组成的可接受误差范围之内的值或组成,其部分依赖于如何测量或确定该值或组成,即测量系统的限制。例如,“约”或“基本上包含”可以指按照本领域的实践在1个或1个以上标准差之内。备选地,“约”或“基本上包含”可以指至多10%或20%的范围(即 $\pm 10\%$ 或 $\pm 20\%$)。例如,约3mg可以包括2.7mg和3.3mg之间(对于10%)或2.4mg和3.6mg之间(对于20%)的任何数值。此外,尤其是对于生物系统或过程,该术语可以指至多一个数量级或至多5倍的值。在本申请和权利要求书中提供具体值或组成时,除非另有说明,“约”或“基本上包含”的含义可以认为是在该具体值或组成的可接受误差范围之内。

[0157] 本文所用的术语“约每周一次”、“约每两周一次”或任何其他类似的给药间隔指近似数。“约每周一次”可以包括每7天 ± 1 天,即每6天至每8天。“约每两周一次”可以包括每14天 ± 3 天,即每11天至每17天。类似的近似适用于例如约每三周一次、约每四周一次、约每五周一次、约每六周一次和约每十二周一次。在一些实施方案中,约每六周一次或约每十二周一次的给药间隔指可以在第一周的任何一天施用第一个剂量,然后分别在第六周或第十二周的任何一天施用下一个剂量。在其他实施方案中,约每六周一次或约每十二周一次的给药间隔指在第一周的特定天(例如星期一)施用第一个剂量,然后分别在第六周或第十二周的同一天(即星期一)施用下一个剂量。

[0158] 本文中提到的术语“基于体重的剂量”指基于患者的体重计算对患者施用的剂量。例如,在体重60kg的患者需要3mg/kg抗PD-1抗体时,可以计算并使用适当量的抗PD-1抗体(即180mg)进行施用。

[0159] 关于本公开的方法的术语“固定剂量(fixed dose)”的使用指单个组合物中的两种或多种抗体(例如抗PD-1抗体和第二抗体)以相互间的具体(固定)比值存在于组合物中。在一些实施方案中,固定剂量基于抗体的重量(例如mg)。在某些实施方案中,固定剂量基于抗体的浓度(例如mg/ml)。在一些实施方案中,mg第一抗体(例如抗PD-1抗体)与mg第二抗体的比值为至少约1:1、约1:2、约1:3、约1:4、约1:5、约1:6、约1:7、约1:8、约1:9、约1:10、约1:15、约1:20、约1:30、约1:40、约1:50、约1:60、约1:70、约1:80、约1:90、约1:100、约1:120、约1:140、约1:160、约1:180、约1:200、约200:1、约180:1、约160:1、约140:1、约120:1、约100:1、约90:1、约80:1、约70:1、约60:1、约50:1、约40:1、约30:1、约20:1、约15:1、约10:1、约9:1、约8:1、约7:1、约6:1、约5:1、约4:1、约3:1或约2:1。例如,抗PD-1抗体和第二抗体的比值为3:1可以指小瓶可以包含约240mg抗PD-1抗体和80mg第二抗体,或约3mg/ml抗PD-1抗体和

1mg/ml第二抗体。

[0160] 关于本公开的方法和剂量的术语“平剂量 (flat dose)”的使用指不考虑患者体重或体表面积 (BSA) 对患者施用的剂量。平剂量因此不是作为mg/kg剂量而是作为活性剂 (例如抗PD-1抗体) 的绝对量提供。例如, 60kg的人和100kg的人将接受相同剂量的抗体 (例如240mg抗PD-1抗体)。

[0161] 除非另有说明, 本文中所用的任何浓度范围、百分数范围、比值范围或整数范围理解为包括所引用的范围内的任何整数值及 (根据需要) 其分数 (如整数的十分之一和百分之一)。

[0162] 以下子章节中更详细地描述本公开的多种方面。

[0163] 本公开的方法

[0164] 本公开提供治疗患有肿瘤的受试者的方法, 其包括: (i) 测定受试者中STK11基因的突变状态; 和 (ii) 对受试者施用特异性结合程序性死亡-1 (PD-1) 受体并抑制PD-1活性的抗体或其抗原结合部分 (“抗PD-1抗体”)。在某些方面, 如果STK11基因为野生型, 则对患有肿瘤 (例如NSCLC, 例如非鳞状NSCLC) 的受试者施用抗PD-1抗体。在某些方面, 本公开涉及用于治疗患有肿瘤 (例如NSCLC, 例如非鳞状NSCLC) 的受试者的方法, 其包括对受试者施用抗PD-1抗体, 其中受试者鉴定为具有野生型STK11基因。在一些方面, 本公开涉及用于鉴定患有适于抗PD-1抗体治疗的肿瘤 (例如NSCLC, 例如非鳞状NSCLC) 的受试者的方法, 其包括: (i) 测定受试者中STK11基因的突变状态; 和 (ii) 如果STK11基因为野生型, 则对受试者施用抗PD-1抗体。

[0165] 本公开还提供治疗患有肿瘤的受试者的方法, 其包括: (i) 测定受试者中STK11基因的突变状态; 和 (ii) 对受试者施用特异性结合程序性死亡配体1 (PD-L1) 并抑制PD-1活性的抗体或其抗原结合部分 (“抗PD-L1抗体”)。在某些方面, 如果STK11基因为野生型, 则对患有肿瘤 (例如NSCLC, 例如非鳞状NSCLC) 的受试者施用抗PD-L1抗体。在某些方面, 本公开涉及用于治疗患有肿瘤 (例如NSCLC, 例如非鳞状NSCLC) 的受试者的方法, 其包括对受试者施用抗PD-L1抗体, 其中受试者鉴定为具有野生型STK11基因。在一些方面, 本公开涉及用于鉴定患有适于抗PD-L1抗体治疗的肿瘤 (例如NSCLC, 例如非鳞状NSCLC) 的受试者的方法, 其包括: (i) 测定受试者中STK11基因的突变状态; 和 (ii) 如果STK11基因为野生型, 则对受试者施用抗PD-L1抗体。

[0166] 在其他方面, 本公开涉及用于治疗患有肿瘤 (例如NSCLC, 例如非鳞状NSCLC) 的受试者的方法, 其包括: (i) 测定受试者中STK11基因的突变状态; 和 (ii) 如果STK11基因包含非同义突变, 则将受试者鉴定为不符合抗PD-1抗体施用的条件, 例如不对受试者施用抗PD-1抗体或终止或加强抗PD-1抗体治疗, 例如施用不是PD-1拮抗剂的抗癌剂。本公开的其他方面涉及鉴定患有不适于抗PD-1抗体治疗的肿瘤 (例如NSCLC, 例如非鳞状NSCLC) 的受试者的方法, 其包括: (i) 测定受试者中STK11基因的突变状态; 和 (ii) 如果STK11基因包含非同义突变, 则将受试者鉴定为不符合抗PD-1抗体施用的条件, 例如不对受试者施用抗PD-1抗体或终止或加强抗PD-1抗体治疗, 例如施用不是PD-1拮抗剂的抗癌剂。

[0167] 在其他方面, 本公开涉及用于治疗患有肿瘤 (例如NSCLC, 例如非鳞状NSCLC) 的受试者的方法, 其包括: (i) 测定受试者中STK11基因的突变状态; 和 (ii) 如果STK11基因包含非同义突变, 则将受试者鉴定为不符合抗PD-L1抗体施用的条件, 例如不对受试者施用抗

PD-L1抗体或终止或加强抗PD-L1抗体治疗,例如施用不是PD-L1拮抗剂的抗癌剂。本公开的其他方面涉及鉴定患有不适于抗PD-L1抗体治疗的肿瘤(例如NSCLC,例如非鳞状NSCLC)的受试者的方法,其包括:(i)测定受试者中STK11基因的突变状态;和(ii)如果STK11基因包含非同义突变,则将受试者鉴定为不符合抗PD-L1抗体施用的条件,例如不对受试者施用抗PD-L1抗体或终止或加强抗PD-L1抗体治疗,例如施用不是PD-L1拮抗剂的抗癌剂。

[0168] 在其他方面,本公开涉及用于治疗患有肿瘤的受试者的方法,其包括:(i)测定受试者中标志基因的突变状态;和(ii)如果标志基因突变,则对受试者施用抗PD-1抗体;其中标志基因选自TP53、CDKN2A、PTPND、CUBN、HERC1和它们的任意组合。本公开的其他方面涉及用于治疗患有肿瘤的受试者的方法,其包括对受试者施用抗PD-1抗体,其中将受试者鉴定为具有突变的标志基因,其中标志基因选自TP53、CDKN2A、PTPND、CUBN、HERC1和它们的任意组合。本公开的其他方面还涉及用于鉴定患有适于抗PD-1抗体治疗的肿瘤的受试者的方法,其包括:(i)测定受试者中标志基因的突变状态;和(ii)如果标志基因突变,则对受试者施用抗PD-1抗体;其中标志基因选自TP53、CDKN2A、PTPND、CUBN、HERC1和它们的任意组合。

[0169] 在其他方面,本公开涉及用于治疗患有肿瘤的受试者的方法,其包括:(i)测定受试者中标志基因的突变状态;和(ii)如果标志基因突变,则对受试者施用抗PD-L1抗体;其中标志基因选自TP53、CDKN2A、PTPND、CUBN、HERC1和它们的任意组合。本公开的其他方面涉及用于治疗患有肿瘤的受试者的方法,其包括对受试者施用抗PD-L1抗体,其中将受试者鉴定为具有突变的标志基因,其中标志基因选自TP53、CDKN2A、PTPND、CUBN、HERC1和它们的任意组合。本公开的其他方面还涉及用于鉴定患有适于抗PD-L1抗体治疗的肿瘤的受试者的方法,其包括:(i)测定受试者中标志基因的突变状态;和(ii)如果标志基因突变,则对受试者施用抗PD-L1抗体;其中标志基因选自TP53、CDKN2A、PTPND、CUBN、HERC1和它们的任意组合。

[0170] 在某些实施方案中,受试者携带TP53的突变变体。在某些实施方案中,受试者携带CDKN2A的突变变体。在某些实施方案中,受试者携带PTPND的突变变体。在某些实施方案中,受试者携带CUBN的突变变体。在某些实施方案中,受试者携带HERC1的突变变体。在某些实施方案中,受试者携带PTPND和CUBN的突变变体。在某些实施方案中,受试者携带PTPND和HERC1的突变变体。在某些实施方案中,受试者携带CUBN和HERC1的突变变体。在某些实施方案中,受试者携带PTPND、CUBN和HERC1的突变变体。

[0171] 在某些实施方案中,野生型STK11包含一个或多个同义突变,其中基因组序列中的突变不影响所表达的蛋白质的序列。在某些实施方案中,突变STK11包含非同义突变。在一些实施方案中,突变STK11包含无义突变。在一些实施方案中,突变STK11包含移码突变。在一些实施方案中,突变STK11包含剪接突变。在一些实施方案中,突变STK11表达为mRNA,最终表达为蛋白质。在一些实施方案中,突变STK11蛋白质是功能性的。在其他实施方案中,突变STK11蛋白质具有降低的活性。在其他实施方案中,突变STK11蛋白质是非功能性的。

[0172] 在某些实施方案中,突变TP53包含非同义突变。在一些实施方案中,突变TP53包含无义突变。在一些实施方案中,突变TP53包含移码突变。在一些实施方案中,突变TP53包含剪接突变。在一些实施方案中,突变TP53表达为mRNA,最终表达为蛋白质。在一些实施方案中,突变TP53蛋白质是功能性的。在其他实施方案中,突变TP53蛋白质具有降低的活性。在其他实施方案中,突变TP53蛋白质是非功能性的。

[0173] 在某些实施方案中,突变CDKN2A包含非同义突变。在一些实施方案中,突变CDKN2A包含无义突变。在一些实施方案中,突变CDKN2A包含移码突变。在一些实施方案中,突变CDKN2A包含剪接突变。在一些实施方案中,突变CDKN2A表达为mRNA,最终表达为蛋白质。在一些实施方案中,突变CDKN2A蛋白质是功能性的。在其他实施方案中,突变CDKN2A蛋白质具有降低的活性。在其他实施方案中,突变CDKN2A蛋白质是非功能性的。

[0174] 在某些实施方案中,突变PTPND包含非同义突变。在一些实施方案中,突变PTPND包含无义突变。在一些实施方案中,突变PTPND包含移码突变。在一些实施方案中,突变PTPND包含剪接突变。在一些实施方案中,突变PTPND表达为mRNA,最终表达为蛋白质。在一些实施方案中,突变PTPND蛋白质是功能性的。在其他实施方案中,突变PTPND蛋白质具有降低的活性。在其他实施方案中,突变PTPND蛋白质是非功能性的。

[0175] 在某些实施方案中,突变CUBN包含非同义突变。在一些实施方案中,突变CUBN包含无义突变。在一些实施方案中,突变CUBN包含移码突变。在一些实施方案中,突变CUBN包含剪接突变。在一些实施方案中,突变CUBN表达为mRNA,最终表达为蛋白质。在一些实施方案中,突变CUBN蛋白质是功能性的。在其他实施方案中,突变CUBN蛋白质具有降低的活性。在其他实施方案中,突变CUBN蛋白质是非功能性的。

[0176] 在某些实施方案中,突变HERC1包含非同义突变。在一些实施方案中,突变HERC1包含无义突变。在一些实施方案中,突变HERC1包含移码突变。在一些实施方案中,突变HERC1包含剪接突变。在一些实施方案中,突变HERC1表达为mRNA,最终表达为蛋白质。在一些实施方案中,突变HERC1蛋白质是功能性的。在其他实施方案中,突变HERC1蛋白质具有降低的活性。在其他实施方案中,突变HERC1蛋白质是非功能性的。

[0177] 在某些实施方案中,该肿瘤源自肺癌。在一些实施方案中,该肿瘤源自NSCLC。在一些实施方案中,该受试者是人患者。在一些实施方案中,该受试者是未进行过化疗的患者(例如之前未接受过任何化疗的患者)。在其他实施方案中,进行本联合治疗的受试者接受过另一癌症治疗(例如化疗),但对这种另一癌症治疗耐受或难治。

[0178] 在某些实施方案中,本公开提供治疗患有鳞状NSCLC的受试者的方法,其包括:(i)测定受试者中STK11基因的突变状态;和(ii)如果STK11基因突变,则对受试者施用抗PD-1抗体(或抗PD-L1抗体)。在某些方面,本公开涉及用于治疗患有鳞状NSCLC的受试者的方法,其包括对受试者施用抗PD-1抗体,其中将受试者鉴定为具有突变的STK11基因。在一些方面,本公开涉及用于鉴定患有适于抗PD-1抗体治疗的鳞状NSCLC的受试者的方法,其包括:(i)测定受试者中STK11基因的突变状态;和(ii)如果STK11基因突变,则对受试者施用抗PD-1抗体。

[0179] 在其他方面,本公开涉及用于治疗患有鳞状NSCLC的受试者的方法,其包括:(i)测定受试者中STK11基因的突变状态;和(ii)如果STK11基因包含非同义突变,则对受试者施用抗PD-1抗体(或抗PD-L1抗体)或终止或加强抗PD-1抗体(或抗PD-L1抗体)治疗。

[0180] 在某些实施方案中,本公开的治疗(例如施用抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体)有效增加受试者的生存期。在一些实施方案中,本公开的抗PD-1抗体治疗增加受试者的无进展生存期。在某些实施方案中,与标准护理治疗相比,本公开的抗PD-1抗体治疗增加受试者的无进展生存期。施用抗PD-1抗体治疗后,具有肿瘤的受试者可以在施用后显示至少约10个月、至少约11个月、至少约12个月、至少约13个月、至少约14个月、至少约15个月、至少约16个

月、至少约17个月、至少约18个月、至少约19个月、至少约20个月、至少约21个月、至少约22个月、至少约23个月、至少约2年、至少约3年、至少约4年、或至少约5年的总生存期。

[0181] 在其他实施方案中,与另一仅用标准护理治疗(例如多西紫杉醇)或不同给药方案的治疗进行治疗的受试者相比,受试者的生存期或总生存期增加至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约6个月、或至少约1年。例如,与另一仅用标准护理治疗(例如多西紫杉醇)或不同给药方案的联合治疗进行治疗的受试者相比,用本文公开的抗PD-1抗体治疗的受试者的生存期或总生存期增加至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%或至少约75%。

[0182] 在某些实施方案中,本公开的治疗有效增加受试者的无进展生存期。在一些实施方案中,该受试者显示至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月、至少约7个月、至少约8个月、至少约9个月、至少约10个月、至少约11个月、至少约1年、至少约18个月、至少约2年、至少约3年、至少约4年或至少约5年的无进展生存期。

[0183] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体的施用治疗肿瘤。在某些实施方案中,该施用减小肿瘤的大小。在一个实施方案中,与施用前的肿瘤大小相比,肿瘤大小减小至少约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%或约100%。在其他实施方案中,该受试者在首次施用后显示至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月、至少约7个月、至少约8个月、至少约9个月、至少约10个月、至少约11个月、至少约1年、至少约18个月、至少约2年、至少约3年、至少约4年或至少约5年的无进展生存期。在一些实施方案中,该受试者在施用后显示稳定疾病。在一些实施方案中,该受试者在施用后显示部分应答。在一些实施方案中,该受试者在施用后显示完全应答。在一些实施方案中,与用标准护理治疗(standard of care treatment)进行治疗的受试者相比,该受试者在施用后显示客观应答率(ORR)改善。

[0184] PD-L1表达

[0185] 在某些实施方案中,该受试者具有PD-L1+肿瘤细胞。在某些实施方案中,该受试者具有PD-L1-癌细胞。在一些实施方案中,该受试者从未吸烟。在某些实施方案中,该受试者之前吸烟。在一个实施方案中,该受试者当前吸烟。在某些实施方案中,该受试者具有鳞状癌细胞。在某些实施方案中,该受试者具有非鳞状癌细胞。

[0186] 在一些实施方案中,该肿瘤显示弥漫模式的PD-L1表达。在一些实施方案中,弥漫模式的PD-L1表达表征为从约60至约500、从约70至约490、从约80至约480、从约90至约470、从约100至约460、从约110至约450、从约120至约440、从约130至约430、从约140至约420、从约150至约410、从约160至约400、从约170至约390、从约180至约380、从约190至约370、从约200至约360、从约20至约350、从约200至约340、从约200至约330、从约200至约320、从约200至约310、或从约200至约300的PD-L1 H评分。在某些实施方案中,弥漫模式的PD-L1表达表征为至少约60、至少约70、至少约80、至少约90、至少约100、至少约110、至少约120、至少约130、至少约140、至少约150、至少约160、至少约170、至少约180、至少约190、至少约200、至少约210、至少约220、至少约225、至少约230、至少约240、至少约250、至少约260、至少约270、至少约275、至少约280、至少约290、或至少约300的PD-L1 H评分。在某些实施方案中,弥漫模式的PD-L1表达表征为至少约200的PD-L1 H评分。在其他实施方案中,弥漫模式的

PD-L1表达表征为至少约240的PD-L1 H评分。在某些实施方案中,弥漫模式的PD-L1表达表征为至少约260的PD-L1 H评分。

[0187] 在一些实施方案中,该肿瘤显示异质模式的PD-L1表达。在一些实施方案中,异质模式的PD-L1表达表征为从约1至约50、从约5至约45、从约10至约40、或从约15至约35的PD-L1 H评分,其中PD-L1表达限于肿瘤的一个或多个不同部分。在一些实施方案中,异质模式的PD-L1表达表征为至少约5、至少约10、至少约15、至少约20、至少约25、至少约30、至少约35、或至少约40的PD-L1 H评分。在一个实施方案中,异质模式的PD-L1表达表征为至少约15的PD-L1 H评分。在另一实施方案中,异质模式的PD-L1表达表征为至少约20的PD-L1 H评分。在一些实施方案中,异质模式的PD-L1表达表征为肿瘤的一部分包含至少10个、至少20个、至少30个、至少40个、至少50个、至少60个、至少70个、至少80个、至少90个、至少100个、至少150个、或至少150个表达PD-L1的细胞。在某些实施方案中,肿瘤部分内至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%或约100%的细胞表达PD-L1。

[0188] 在一些实施方案中,该肿瘤在肿瘤-基质界面显示PD-L1表达。在一些实施方案中,该肿瘤-基质界面PD-L1表达表征为邻近(例如约1个细胞直径、约2个细胞直径、约3个细胞直径、约4个细胞直径、约5个细胞直径、约6个细胞直径、约7个细胞直径、约8个细胞直径、约9个细胞直径或约10个细胞直径内)基质的肿瘤细胞表达PD-L1。在某些实施方案中,该肿瘤-基质界面PD-L1表达表征为肿瘤表面的PD-L1表达。

[0189] 可在施用任何组合物或利用本文公开的任何方法之前测量受试者中肿瘤的PD-L1表达状态。在一个实施方案中,肿瘤的PD-L1表达水平为至少约1%、至少约2%、至少约3%、至少约4%、至少约5%、至少约6%、至少约7%、至少约8%、至少约9%、至少约10%、至少约11%、至少约12%、至少约13%、至少约14%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或约100%。在另一实施方案中,肿瘤的PD-L1状态为至少约1%。在其他实施方案中,受试者的PD-L1状态为至少约5%。在某些实施方案中,肿瘤的PD-L1状态为至少约10%。在一个实施方案中,肿瘤的PD-L1状态为至少约25%。在具体实施方案中,肿瘤的PD-L1状态为至少约50%。

[0190] 在一些实施方案中,本公开的方法包括:(i)测定患有肿瘤(例如NSCLC,例如非鳞状NSCLC)的受试者中STK11基因的突变状态;(ii)检测肿瘤中的PD-L1表达;和(iii)如果STK11基因为野生型,且如果PD-L1表达为至少约1%、至少约2%、至少约3%、至少约4%、至少约5%、至少约6%、至少约7%、至少约8%、至少约9%、至少约10%、至少约11%、至少约12%、至少约13%、至少约14%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或约100%,则对受试者施用抗PD-1抗体。在一些实施方案中,本公开的方法包括:(i)测定患有肿瘤(例如NSCLC,例如非鳞状NSCLC)的受试者中STK11基因的突变状态;(ii)检测肿瘤中的PD-L1表达;和(iii)如果STK11基因为野生型,且如果PD-L1表达为至少约15%,则对受试者施用抗PD-1抗体。在一些实施方案中,本公开的方法包括:(i)测定患有肿瘤(例如NSCLC,例如非鳞状NSCLC)的受试者中STK11基因的突变状态;(ii)检测肿瘤中的PD-L1表达;和(iii)如果STK11基因为野生型,且如果PD-L1表达为至少约25%,则对受试

者施用抗PD-1抗体。在一些实施方案中,本公开的方法包括:(i)测定患有肿瘤(例如NSCLC,例如非鳞状NSCLC)的受试者中STK11基因的突变状态;(ii)检测肿瘤中的PD-L1表达;和(iii)如果STK11基因为野生型,且如果PD-L1表达为至少约50%,则对受试者施用抗PD-1抗体。

[0191] 在一些实施方案中,本公开的方法包括:(i)测定患有肿瘤(例如NSCLC,例如非鳞状NSCLC)的受试者中STK11基因的突变状态;(ii)检测肿瘤中的PD-L1表达;和(iii)如果STK11基因包含非同义突变且肿瘤PD-L1表达小于约50%,则将受试者鉴定为不符合抗PD-1抗体施用的条件,例如不对受试者施用抗PD-1抗体或终止或加强抗PD-1抗体治疗,例如施用不是PD-1拮抗剂的抗癌剂。在一些实施方案中,本公开的方法包括:(i)测定患有肿瘤(例如NSCLC,例如非鳞状NSCLC)的受试者中STK11基因的突变状态;(ii)检测肿瘤中的PD-L1表达;和(iii)如果STK11基因包含非同义突变且肿瘤PD-L1表达小于约40%,则将受试者鉴定为不符合抗PD-1抗体施用的条件,例如不对受试者施用抗PD-1抗体或终止或加强抗PD-1抗体治疗,例如施用不是PD-1拮抗剂的抗癌剂。在一些实施方案中,本公开的方法包括:(i)测定受试者中STK11基因的突变状态;(ii)检测患有肿瘤(例如NSCLC,例如非鳞状NSCLC)的肿瘤中的PD-L1表达;和(iii)如果STK11基因包含非同义突变且肿瘤PD-L1表达小于约30%,则将受试者鉴定为不符合抗PD-1抗体施用的条件,例如不对受试者施用抗PD-1抗体或终止或加强抗PD-1抗体治疗,例如施用不是PD-1拮抗剂的抗癌剂。在一些实施方案中,本公开的方法包括:(i)测定受试者中STK11基因的突变状态;(ii)检测肿瘤中的PD-L1表达;和(iii)如果STK11基因包含非同义突变且肿瘤PD-L1表达小于约25%,则将受试者鉴定为不符合抗PD-1抗体施用的条件,例如不对受试者施用抗PD-1抗体或终止或加强抗PD-1抗体治疗,例如施用不是PD-1拮抗剂的抗癌剂。在一些实施方案中,本公开的方法包括:(i)测定受试者中STK11基因的突变状态;(ii)检测肿瘤中的PD-L1表达;和(iii)如果STK11基因包含非同义突变且肿瘤PD-L1表达小于约20%,则将受试者鉴定为不符合抗PD-1抗体施用的条件,例如不对受试者施用抗PD-1抗体或终止或加强抗PD-1抗体治疗,例如施用不是PD-1拮抗剂的抗癌剂。在一些实施方案中,本公开的方法包括:(i)测定受试者中STK11基因的突变状态;(ii)检测肿瘤中的PD-L1表达;和(iii)如果STK11基因包含非同义突变且肿瘤PD-L1表达小于约15%,则将受试者鉴定为不符合抗PD-1抗体施用的条件,例如不对受试者施用抗PD-1抗体或终止或加强抗PD-1抗体治疗,例如施用不是PD-1拮抗剂的抗癌剂。在一些实施方案中,本公开的方法包括:(i)测定受试者中STK11基因的突变状态;(ii)检测肿瘤中的PD-L1表达;和(iii)如果STK11基因包含非同义突变且肿瘤PD-L1表达小于约10%,则将受试者鉴定为不符合抗PD-1抗体施用的条件,例如不对受试者施用抗PD-1抗体或终止或加强抗PD-1抗体治疗,例如施用不是PD-1拮抗剂的抗癌剂。在一些实施方案中,本公开的方法包括:(i)测定受试者中STK11基因的突变状态;(ii)检测肿瘤中的PD-L1表达;和(iii)如果STK11基因包含非同义突变且肿瘤PD-L1表达小于约5%,则将受试者鉴定为不符合抗PD-1抗体施用的条件,例如不对受试者施用抗PD-1抗体或终止或加强抗PD-1抗体治疗,例如施用不是PD-1拮抗剂的抗癌剂。在一些实施方案中,本公开的方法包括:(i)测定受试者中STK11基因的突变状态;(ii)检测肿瘤中的PD-L1表达;和(iii)如果STK11基因包含非同义突变且肿瘤PD-L1表达小于约3%,则将受试者鉴定为不符合抗PD-1抗体施用的条件,例如不对受试者施用抗PD-1抗体或终止或加强抗PD-1抗体治疗,例如施用不是PD-1拮抗剂的抗癌剂。在一

些实施方案中,本公开的方法包括:(i)测定受试者中STK11基因的突变状态;(ii)检测肿瘤中的PD-L1表达;和(iii)如果STK11基因包含非同义突变且肿瘤PD-L1表达小于约2%,则将受试者鉴定为不符合抗PD-1抗体施用的条件,例如不对受试者施用抗PD-1抗体或终止或加强抗PD-1抗体治疗,例如施用不是PD-1拮抗剂的抗癌剂。在一些实施方案中,本公开的方法包括:(i)测定受试者中STK11基因的突变状态;(ii)检测肿瘤中的PD-L1表达;和(iii)如果STK11基因包含非同义突变且肿瘤PD-L1表达小于约1%,则将受试者鉴定为不符合抗PD-1抗体施用的条件,例如不对受试者施用抗PD-1抗体或终止或加强抗PD-1抗体治疗,例如施用不是PD-1拮抗剂的抗癌剂。

[0192] 在某些实施方案中,该肿瘤可以显示高水平的炎症。炎症增加可以指示弥漫PD-L1表达模式。因此,高肿瘤炎症可以指示针对抗PD-1抗体治疗的反应性。

[0193] 检测方法

[0194] 本公开的某些方面涉及测定受试者中一个或多个标志基因(例如STK11)的突变状态。可以用本领域已知的任何方法来测定受试者携带野生型标志基因还是标志基因的突变体。在某些实施方案中,用本领域可用的任何手段测序靶标志基因,并将标志基因的序列与本领域已知的同一标志基因的序列相比较。在某些实施方案中,该标志基因具有非同义突变。在一些实施方案中,该标志基因具有无义突变。在一些实施方案中,该标志基因具有移码突变。在一些实施方案中,该标志基因具有剪接突变。在某些实施方案中,该突变标志基因表达。在其他实施方案中,该突变标志基因不表达。

[0195] 在一些实施方案中,通过检测标志基因的表达来确定该标志基因的突变状态。在某些实施方案中,靶基因的突变体不表达,所产生的mRNA和/或蛋白质的缺乏指示突变体的存在。在某些实施方案中,通过测序所产生的mRNA和/或所产生的蛋白质来确定标志基因的突变状态。在一些实施方案中,通过针对所产生的蛋白质的免疫组织化学来确定标志基因的突变状态。

[0196] 在一些实施方案中,该受试者具有标志基因的一个野生型拷贝和标志基因的一个突变体拷贝。在一些实施方案中,该受试者具有标志基因的两个野生型拷贝,没有标志基因的突变体拷贝。在一些实施方案中,该受试者具有标志基因的两个突变体拷贝,没有野生型标志基因的拷贝。在一些实施方案中,标志基因的两个突变体拷贝相同。在一些实施方案中,受试者具有标志基因的两个不同突变体拷贝。

[0197] 本公开的一些方面涉及测定和/或测量受试者肿瘤中一个或多个标志基因的表达水平。为了评估PD-L1表达,在一个实施方案中,可从需要治疗的患者获得测试组织样品。在另一实施方案中,可在不获得测试组织样品的情况下达到PD-L1表达的评估。在一些实施方案中,选择适宜的患者包括:(i)任选地提供从患者癌组织获得的测试组织样品,该测试组织样品包含肿瘤细胞和/或肿瘤浸润炎性细胞;和(ii)基于测试组织样品中在细胞表面表达PD-L1的细胞的比例高于预先确定的阈值水平的评估,评估测试组织样品中在细胞表面表达PD-L1的细胞的比例。

[0198] 但是,在包括测量测试组织样品中的PD-L1表达的任何方法中,应理解,包括提供从患者获得的测试组织样品的步骤是任选步骤。还应理解,在某些实施方案中,鉴定或测定测试组织样品中表达PD-L1(例如在细胞表面表达PD-L1)的细胞的数目或比例的“测量”或“评估”步骤是通过测定PD-L1表达的转化方法来进行,例如通过实施反转录酶聚合酶链反

应(RT-PCR)测定法或IHC测定法。在某些其他实施方案中,不涉及转化步骤,通过例如审阅来自实验室的测试结果报告来评估PD-L1表达。在某些实施方案中,该方法的直到且包括评估PD-L1表达的步骤提供中间结果,该中间结果可提供给医生或其他医护人员,用于选择适合进行抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体治疗的候选者。在某些实施方案中,提供中间结果的步骤由医疗从业人员或在医疗从业人员指导下工作的人员进行。在其他实施方案中,这些步骤由独立的实验室或由独立的人员如实验室技术人员进行。

[0199] 在任意本发明的方法的某些实施方案中,通过进行测定法确定PD-L1RNA的存在来评估表达PD-L1的细胞的比例。在其他实施方案中,通过RT-PCR、原位杂交或RNA酶保护来确定PD-L1 RNA的存在。在其他实施方案中,通过进行确定PD-L1多肽存在的测定法来评估表达PD-L1的细胞的比例。在其他实施方案中,通过免疫组织化学(IHC)、酶联免疫吸附测定法(ELISA)、体内成像、或流式细胞术来确定PD-L1多肽的存在。在一些实施方案中,通过IHC测定PD-L1表达。在所有这些方法的其他实施方案中,用例如IHC或体内成像测定PD-L1的细胞表面表达。

[0200] 成像技术提供了癌症研究 and 治疗中的重要工具。分子成像系统(包括正电子发射断层扫描(PET)、单光子发射计算机断层扫描(SPECT)、荧光反射成像(FRI)、荧光介导断层扫描(FMT)、生物发光成像(BLI)、激光扫描共焦显微术(LSCM)和多光子显微术(MPM))最近的发展可能将预示这些技术在癌症研究中更大的用途。这些分子成像系统中的一些允许临床医生不仅可以看到肿瘤定位在身体中的什么位置,还可显示影响肿瘤行为和/或对治疗药物的反应性的特定分子、细胞和生物过程的表达和活性(Condeelis和Weissleder,"In vivo imaging in cancer,"Cold Spring Harb.Perspect.Biol.2(12):a003848(2010))。抗体特异性连同PET的灵敏度和分辨率使得immunoPET成像对监测和测定组织样品中抗原的表达尤其具吸引力(McCabe和Wu,"Positive progress in immunoPET—not just a coincidence,"Cancer Biother.Radiopharm.25(3):253-61(2010);Olafsen等,"ImmunoPET imaging of B-cell lymphoma using 124I-anti-CD20 scFv dimers (diabodies),"Protein Eng.Des.Sel.23(4):243-9(2010))。在任意本发明的方法的某些实施方案中,通过immunoPET成像测定PD-L1表达。在任意本发明的方法的某些实施方案中,通过进行测定来确定测试组织样品中细胞表面PD-L1多肽的存在来评估测试组织样品中表达PD-L1的细胞的比例。在某些实施方案中,该测试组织样品是FFPE组织样品。在其他实施方案中,通过IHC测定法来测定PD-L1多肽的存在。在其他实施方案中,用自动化方法进行IHC测定法。在一些实施方案中,用抗PD-L1单克隆抗体结合PD-L1多肽来进行IHC测定法。

[0201] 在本发明方法的一个实施方案中,用自动化IHC方法来测定FFPE组织样品中细胞表面的PD-L1表达。本公开提供用于检测测试组织样品中人PD-L1抗原的存在或定量人PD-L1抗原的水平或样品中表达该抗原的细胞的比例的方法,该方法包括使测试样品和阴性对照样品与特异性结合人PD-L1的单克隆抗体在允许抗体或其部分和人PD-L1之间形成复合物的条件下接触。在某些实施方案中,该测试样品和对照组织样品是FFPE样品。然后检测复合物的形成,其中测试样品和阴性对照样品之间复合物形成的差异指示样品中人PD-L1抗原的存在。用多种方法来定量PD-L1表达。

[0202] 在一个具体实施方案中,该自动化IHC方法包括:(a)在自动染色仪中脱蜡和再水化封固的组织切片;(b)用脱模室(decloaking chamber)和pH6缓冲液,加热至110℃修复

(retrieving) 抗原10分钟; (c) 在自动染色仪上设置试剂; 和 (d) 运行自动染色仪以包括中和组织样品中的内源性过氧化物酶的步骤; 封闭载片上的非特异性蛋白结合位点; 用第一Ab孵育载片; 用一抗后封闭剂孵育; 用NovoLink Polymer孵育; 加入生色底物并显色; 用苏木精复染。

[0203] 为了评估肿瘤组织样品中的PD-L1表达, 病理学家在显微镜下检查每个视野中膜PD-L1⁺肿瘤细胞的数目, 心里估计阳性细胞的百分数, 然后将它们平均以得出最终百分数。不同染色强度定义为0/阴性、1+/弱、2+/中、和3+/强。通常, 百分数值首先分配至0和3+桶(buckets), 然后考虑中间1+和2+强度。对于高异质性组织, 将样品分区, 每个区分开评分, 然后组合为单个组的百分数值。从每个区域确定不同染色强度的阴性和阳性细胞的百分数, 给出每个区的中位数值。给出每个染色强度类别的组织最终百分数值: 阴性、1+、2+和3+。所有染色强度的总和需为100%。在一个实施方案中, PD-L1阳性所需的阈值细胞数为至少约100个、至少约125个、至少约150个、至少约175个或至少约200个细胞。在某些实施方案中, PD-L1阳性所需的阈值细胞数为至少约100个细胞。

[0204] 还在肿瘤浸润炎性细胞如巨噬细胞和淋巴细胞中评估染色。在大多数情况下, 巨噬细胞作为内部阳性对照, 因为在大比例的巨噬细胞中观察到染色。虽然无需具有3+强度的染色, 但应考虑到巨噬细胞染色的缺乏, 以排除任何技术失败。评估巨噬细胞和淋巴细胞的质膜(plasma membrane)染色, 仅将所有样品记录为每个细胞类别阳性或阴性。还按照肿瘤免疫细胞指定外侧/内侧表征染色。“内侧”意指免疫细胞在肿瘤组织内和/或在肿瘤区域的边界上而在肿瘤细胞间无物理嵌入。“外侧”意指与肿瘤无物理结合, 免疫细胞见于与结缔组织或任何相关邻近组织结合的外周(periphery)。

[0205] 在这些评分方法的某些实施方案中, 由两名独立操作的病理学家评分样品, 然后合并评分。在某些其他实施方案中, 用适当的软件评分阳性和阴性细胞的鉴定。

[0206] 用组织评分(histoscore)或“H评分”作为IHC数据的更具定量性的测量。组织评分计算如下:

[0207] 组织评分 = [(%肿瘤x 1 (低强度)) + (%肿瘤x 2 (中强度)) + (%肿瘤x 3 (高强度))]

[0208] 为了确定组织评分, 病理学家估计样品内每个强度类别中染色细胞的百分数。因为大多数生物标志物的表达是异质性的, 组织评分是总体表达的更真实呈现。最终组织评分范围为0 (无表达) 至300 (最大表达)。

[0209] 定量测试组织样品IHC中PD-L1表达的备选手段是确定调整的炎症评分(AIS)分值, 其定义为炎症密度乘以肿瘤浸润炎性细胞的PD-L1表达百分数 (Taube等, “Colocalization of inflammatory response with B7-h1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape,” Sci. Transl. Med. 4(127):127ra37 (2012))。

[0210] 肿瘤突变负荷 (TMB)

[0211] 本公开的其他方面涉及测量从受试者获得的肿瘤组织中的TMB。随着肿瘤生长, 它累积不存在于种系DNA中的体细胞突变。肿瘤突变负荷 (TMB) 指肿瘤基因组中体细胞突变的数目和/或肿瘤基因组的每个区域的体细胞突变的数目 (考虑种系变体DNA之后)。体细胞突变的获得及因此更高的TMB可受不同机制影响, 如外源诱变剂暴露 (例如吸烟或UV光暴露) 和DNA错配修复突变 (例如结直肠癌和食管癌中的MSI)。在实体瘤中, 约95%的突变为单碱

基取代 (Vogelstein等, Science (2013) 339:1546-1558)。“非同义突变”在本文中指改变蛋白质的氨基酸序列的核苷酸突变。错义突变和无义突变二者都可以是非同义突变。“错义突变”在本文中指非同义点突变,其中单核苷酸改变产生编码不同氨基酸的密码子。“无义突变”在本文中指非同义点突变,其中密码子改变为成熟前终止密码子,导致所产生的蛋白质截短。

[0212] 在一个实施方案中,体细胞突变可以在RNA和/或蛋白质水平表达,产生新抗原(也称为新表位)。新抗原可以影响免疫介导的抗肿瘤反应。例如,新抗原识别可以促进T细胞活化、克隆扩增及分化为效应和记忆T细胞。

[0213] 随着肿瘤发展,早期克隆突变(或“主干突变”)可为大多数或全部肿瘤细胞所携带,而晚期突变(或“分枝突变”)可以仅存在于一部分肿瘤细胞或区域中(Yap等, Sci Transl Med (2012) 4:1-5; Jamai-Hanjani等, (2015) Clin Cancer Res 21:1258-1266)。因此,源自克隆“主干”突变的新抗原比“分枝”突变更广泛散布在肿瘤基因组中,因此可以导致高数目的T细胞对克隆新抗原的反应性 (McGranahan等, (2016) 351:1463-1469)。通常,具有高的TMB的肿瘤还可以具有高的新抗原负荷,其可导致高肿瘤免疫原性及提高的T细胞反应性和抗肿瘤反应。因此,具有高TMB的癌症可以良好应答免疫疗法治疗,例如抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体。

[0214] 测序技术的进步允许评价肿瘤基因组突变全貌。本领域技术人员已知的任何测序方法都可以用来测序来自肿瘤基因组的核酸(例如从来自患有肿瘤的受试者的生物样品获得)。在一个实施方案中,可以用PCR或qPCR法、Sanger测序法或下一代测序法(如基因组分析、外显子组测序或基因组测序)来测量TMB。在一些实施方案中,用基因组分析测量TMB状态。基因组分析涉及分析来自肿瘤样品的核酸,包括编码和非编码区,可以用具有集成的优化核酸选择、读序比对和突变识别 (mutation calling) 的方法进行。在一些实施方案中,基因表达概况分析提供基于下一代测序 (NGS) 的肿瘤分析,其可以以癌症、基因和/或位点为基础进行优化。基因组分析可以集成多种单独调校的比对方法或算法,以优化在测序方法中,尤其是在依赖于大量多样化基因中的大量多样化遗传事件的大量平行测序的方法中的表现。基因组分析提供具有临床级质量的受试者癌基因组的全面分析,遗传分析的输出可以用相关的科学和医学知识情境化以提高癌症治疗的质量和效率。

[0215] 基因组分析 (genomic profiling) 涉及一系列预先确定的包含少至5个基因或多达1000个基因、约25个基因至约750个基因、约100个基因至约800个基因、约150个基因至约500个基因、约200个基因至约400个基因、约250个基因至约350个基因的基因集。在一个实施方案中,该基因组分析谱包含至少300个基因、至少305个基因、至少310个基因、至少315个基因、至少320个基因、至少325个基因、至少330个基因、至少335个基因、至少340个基因、至少345个基因、至少350个基因、至少355个基因、至少360个基因、至少365个基因、至少370个基因、至少375个基因、至少380个基因、至少385个基因、至少390个基因、至少395个基因、或至少400个基因。在另一实施方案中,该基因组分析谱 (genomic profile) 包含至少325个基因。在具体实施方案中,该基因组分析谱包含至少315个癌症相关基因和28个基因中的内含子 (**FoundationOne®**) 或406个基因的完整DNA编码序列、31个用于重排的基因中的内含子和265个基因的RNA序列 (cDNA) (**FoundationOne® Heme**)。在另一实施方案中,该

基因组分析谱包含26个基因和1000个相关突变 (**ExoDx®** Solid Tumor)。还在另一实施方案中,该基因组分析谱包含76个基因 (Guardant360)。还在另一实施方案中,该基因组分析谱包含73个基因 (Guardant360)。在另一实施方案中,该基因组分析谱包含354个基因和28个用于重排的基因中的内含子 (**FOUNDATIONONE®** CDx™)。在某些实施方案中,该基因组分析谱是 **FOUNDATIONONE®** F1CDx。在另一实施方案中,该基因组分析谱包含468个基因 (MSK-IMPACT™)。随着将更多基因鉴定为与肿瘤学相关,可向基因组分析谱加入一个或多个基因。

[0216] 还在另一具体实施方案中,该基因组分析检测所有突变类型,即单核苷酸变体、插入/缺失 (indels)、拷贝数变异和重排,例如易位、表达和外遗传标志物。

[0217] 全面的基因系列 (Comprehensive gene panels) 通常包含基于待分析的肿瘤类型选择的预先确定的基因。因此,用来测量TMB状态的基因组分析谱可以基于受试者所具有的肿瘤类型来选择。在一个实施方案中,该基因组分析谱可以包括实体瘤所特有的基因集。在另一实施方案中,该基因组分析谱可以包括血液恶性肿瘤和肉瘤所特有的基因集。

[0218] 在一个实施方案中,该基因组分析谱包含选自以下的一个或多个基因: ABL1、BRAF、CHEK1、FANCC、GATA3、JAK2、MITF、PDCD1LG2、RBM10、STAT4、ABL2、BRCA1、CHEK2、FANCD2、GATA4、JAK3、MLH1、PDGFRA、RET、STK11、ACVR1B、BRCA2、CIC、FANCE、GATA6、JUN、MPL、PDGFRB、RICTOR、SUFU、AKT1、BRD4、CREBBP、FANCF、GID4 (C17orf39)、KAT6A (MYST3)、MRE11A、PDK1、RNF43、SYK、AKT2、BRIP1、CRKL、FANCG、GLI1、KDM5A、MSH2、PIK3C2B、ROS1、TAF1、AKT3、BTG1、CRLF2、FANCL、GNA11、KDM5C、MSH6、PIK3CA、RPTOR、TBX3、ALK、BTK、CSF1R、FAS、GNA13、KDM6A、MTOR、PIK3CB、RUNX1、TERC、AMER1 (FAM123B)、C11orf30 (EMSY)、CTCF、FAT1、GNAQ、KDR、MUTYH、PIK3CG、RUNX1T1、TERT (仅启动子)、APC、CARD11、CTNNA1、FBXW7、GNAS、KEAP1、MYC、PIK3R1、SDHA、TET2、AR、CBFB、CTNNB1、FGF10、GPR124、KEL、MYCL (MYCL1)、PIK3R2、SDHB、TGFB2、ARAF、CBL、CUL3、FGF14、GRIN2A、KIT、MYCN、PLCG2、SDHC、TNFAIP3、ARFRP1、CCND1、CYLD、FGF19、GRM3、KLHL6、MYD88、PMS2、SDHD、TNFRSF14、ARID1A、CCND2、DAXX、FGF23、GSK3B、KMT2A (MLL)、NF1、POLD1、SETD2、TOP1、ARID1B、CCND3、DDR2、FGF3、H3F3A、KMT2C (MLL3)、NF2、POLE、SF3B1、TOP2A、ARID2、CCNE1、DICER1、FGF4、HGF、KMT2D (MLL2)、NFE2L2、PPP2R1A、SLIT2、TP53、ASXL1、CD274、DNMT3A、FGF6、HNF1A、KRAS、NFKBIA、PRDM1、SMAD2、TSC1、ATM、CD79A、DOT1L、FGFR1、HRAS、LMO1、NKX2-1、PREX2、SMAD3、TSC2、ATR、CD79B、EGFR、FGFR2、HSD3B1、LRP1B、NOTCH1、PRKAR1A、SMAD4、TSHR、ATRX、CDC73、EP300、FGFR3、HSP90AA1、LYN、NOTCH2、PRKCI、SMARCA4、U2AF1、AURKA、CDH1、EPHA3、FGFR4、IDH1、LZTR1、NOTCH3、PRKDC、SMARCB1、VEGFA、AURKB、CDK12、EPHA5、FH、IDH2、MAGI2、NPM1、PRSS8、SMO、VHL、AXIN1、CDK4、EPHA7、FLCN、IGF1R、MAP2K1、NRAS、PTCH1、SNCAIP、WISP3、AXL、CDK6、EPHB1、FLT1、IGF2、MAP2K2、NSD1、PTEN、SOCS1、WT1、BAP1、CDK8、ERBB2、FLT3、IKBKE、MAP2K4、NTRK1、PTPN11、SOX10、XP01、BARD1、CDKN1A、ERBB3、FLT4、IKZF1、MAP3K1、NTRK2、QKI、SOX2、ZBTB2、BCL2、CDKN1B、ERBB4、FOXO1、IL7R、MCL1、NTRK3、RAC1、SOX9、ZNF217、BCL2L1、CDKN2A、ERG、FOXO1、INHBA、MDM2、NUP93、RAD50、SPEN、ZNF703、BCL2L2、CDKN2B、ERRFI1、FRS2、INPP4B、MDM4、PAK3、RAD51、SPOP、BCL6、CDKN2C、ESR1、FUBP1、IRF2、MED12、PALB2、RAF1、SPTA1、BCOR、CEBPA、EZH2、GABRA6、IRF4、MEF2B、PARK2、RANBP2、SRC、BCORL1、CHD2、FAM46C、GATA1、IRS2、

MEN1、PAX5、RARA、STAG2、BLM、CHD4、FANCA、GATA2、JAK1、MET、PBRM1、RB1、STAT3和它们的任意组合。在其他实施方案中,该TMB分析进一步包括鉴定ETV4、TMPRSS2、ETV5、BCR、ETV1、ETV6和MYB的一个或多个中的基因组改变。在其他实施方案中,可以评估SKT11基因的突变状态作为TMB分析或如上文所述的部分。

[0219] 在一个实施方案中,基于基因组分析的TMB状态与基于全外显子组或全基因组测序的TMB状态高度相关。

[0220] TMB可以用组织活检样品或备选地用ctDNA和/或液体活检样品测量。ctDNA可以用于用可用的方法(例如GRAIL, Inc.)按照全外显子组或全基因组测序或基因组分析测量TMB状态。

[0221] TMB状态可以单独或与其他因素组合用作预测肿瘤对治疗尤其是免疫抗癌剂如抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体治疗的反应的手段。在一些实施方案中,仅用肿瘤的TMB状态来鉴定患有更可能应答抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体治疗的肿瘤的患者。在其他实施方案中,用PD-L1状态和TMB状态来鉴定患有更可能应答抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体治疗的肿瘤的患者。

[0222] 在一些实施方案中,本公开的方法进一步包括在施用抗PD-1抗体之前测量受试者的TMB状态。在某些实施方案中,该方法包括对携带野生型STK11且具有高TMB状态的受试者施用抗PD-1抗体。在其他实施方案中,该方法包括,如果受试者携带STK11的突变变体且受试者具有高TMB状态,则不对该受试者施用抗PD-1抗体或终止或加强抗PD-1抗体治疗。在一些实施方案中,本公开的方法进一步包括在施用抗PD-1抗体之前测量受试者的TMB状态。在某些实施方案中,该方法包括对携带野生型STK11且具有中TMB状态的受试者施用抗PD-1抗体。在其他实施方案中,该方法包括,如果受试者携带STK11的突变变体且受试者具有中TMB状态,则不对该受试者施用抗PD-1抗体或终止或加强抗PD-1抗体治疗。在其他实施方案中,该方法包括,如果受试者携带STK11的突变变体且受试者具有低TMB状态,则不对该受试者施用抗PD-1抗体或终止或加强抗PD-1抗体治疗。

[0223] **FOUNDATIONONE®**测定法

[0224] **FOUNDATIONONE®**测定法是用包括但不限于肺、结肠和乳腺的实体瘤、黑色素瘤和卵巢癌的实体瘤的全面的基因组分析测定法。**FOUNDATIONONE®**测定法用杂交-捕获、下一代测序测试来鉴定基因组改变(碱基取代、插入和缺失、拷贝数改变和重排)和选择基因组特征(例如TMB和微卫星不稳定性)。该测定法覆盖322个独特基因,包括315个癌症相关基因的整个编码区及所选择的来自28个基因的内含子。表1和2中提供**FOUNDATIONONE®**测定基因的完整列表。参见可在FoundationMedicine.com上获得的FOUNDATIONONE:Technical Specifications, Foundation Medicine, Inc., 最后访问时间为2018年3月16日,在此以其整体引入本文作为参考。

[0225] 表1:其中在**FOUNDATIONONE®**测定法中测定整个编码序列的基因列表。

[0226]

| | | | | | | | | | |
|----------------------------------|---|---------------|---------------|-------------------------------|------------------------------|----------------------------|-----------------|----------------|---|
| | | | | | | | <i>PDCD1LG2</i> | | |
| <i>ABL1</i> | <i>BRAF</i> | <i>CHEK1</i> | <i>FANCC</i> | <i>GATA3</i> | <i>JAK2</i> | <i>MITF</i> | <i>(PD-L2)</i> | <i>RBM10</i> | <i>STAT4</i> |
| <i>ABL2</i> | <i>BRCA1</i> | <i>CHEK2</i> | <i>FANCD2</i> | <i>GATA4</i> | <i>JAK3</i> | <i>MLH1</i> | <i>PDGFRA</i> | <i>RET</i> | <i>STK11</i> |
| <i>ACVR1B</i> | <i>BRCA2</i> | <i>CIC</i> | <i>FANCE</i> | <i>GATA6</i> | <i>JUN</i> | <i>MPL</i> | <i>PDGFRB</i> | <i>RICTOR</i> | <i>SUFU</i> |
| | | | | <i>GID4</i> <i>(C17orf</i> | <i>KAT6A</i> <i>(MYST</i> | <i>MRE</i> | | | |
| <i>AKT1</i> | <i>BRD4</i> | <i>CREBBP</i> | <i>FANCF</i> | <i>39)</i> | <i>3)</i> | <i>11A</i> | <i>PDK1</i> | <i>RNF43</i> | <i>SYK</i> |
| <i>AKT2</i> | <i>BRIP1</i> | <i>CRKL</i> | <i>FANCG</i> | <i>GLI1</i> | <i>KDM5A</i> | <i>MSH2</i> | <i>PIK3C2B</i> | <i>ROS1</i> | <i>TAF1</i> |
| <i>AKT3</i> | <i>BTG1</i> | <i>CRLF2</i> | <i>FANCL</i> | <i>GNAI1</i> | <i>KDM5C</i> | <i>MSH6</i> | <i>PIK3CA</i> | <i>RPTOR</i> | <i>TBX3</i> |
| <i>ALK</i> | <i>BTK</i> | <i>CSF1R</i> | <i>FAS</i> | <i>GNAI3</i> | <i>KDM6A</i> | <i>MTOR</i> | <i>PIK3CB</i> | <i>RUNX1</i> | <i>TERC</i> |
| <i>AMER1</i> <i>(FAM123B)</i> | <i>C11orf</i> <i>30</i> <i>(EMSY)</i> | <i>CTCF</i> | <i>FAT1</i> | <i>GNAQ</i> | <i>KDR</i> | <i>MUTYH</i> | <i>PIK3CG</i> | <i>RUNX1T1</i> | <i>TERT</i> <i>(仅启动</i> <i>子)</i> |
| <i>APC</i> | <i>CARD11</i> | <i>CTNNA1</i> | <i>FBXW7</i> | <i>GNAS</i> | <i>KEAP1</i> | <i>MYC</i> | <i>PIK3R1</i> | <i>SDHA</i> | <i>TET2</i> |
| | | <i>CTNN</i> | | | | <i>MYCL</i> <i>(MYC</i> | | | <i>TGFBR</i> |
| <i>AR</i> | <i>CBFB</i> | <i>B1</i> | <i>FGF10</i> | <i>GPR124</i> | <i>KEL</i> | <i>L1)</i> | <i>PIK3R2</i> | <i>SDHB</i> | <i>2</i> |

[0227]

| | | | | | | | | | |
|---------------|------------------|---------------|--------------|-----------------|-----------------|---------------|----------------|----------------|---------------|
| | | | | | | | | | <i>TNFAIP</i> |
| <i>ARAF</i> | <i>CBL</i> | <i>CUL3</i> | <i>FGF14</i> | <i>GRIN2A</i> | <i>KIT</i> | <i>MYCN</i> | <i>PLCG2</i> | <i>SDHC</i> | 3 |
| | | | | | | | | | <i>TNFRS</i> |
| <i>ARFRP1</i> | <i>CCND1</i> | <i>CYLD</i> | <i>FGF19</i> | <i>GRM3</i> | <i>KLHL6</i> | <i>MYD88</i> | <i>PMS2</i> | <i>SDHD</i> | <i>F14</i> |
| | | | | | <i>KMT2A</i> | | | | |
| <i>ARID1A</i> | <i>CCND2</i> | <i>DAXX</i> | <i>FGF23</i> | <i>GSK3B</i> | (<i>MLL</i>) | <i>NF1</i> | <i>POLD1</i> | <i>SETD2</i> | <i>TOP1</i> |
| | | | | | <i>KMT2C</i> | | | | |
| <i>ARID1B</i> | <i>CCND3</i> | <i>DDR2</i> | <i>FGF3</i> | <i>H3F3A</i> | (<i>MLL3</i>) | <i>NF2</i> | <i>POLE</i> | <i>SF3B1</i> | <i>TOP2A</i> |
| | | | | | <i>KMT2D</i> | | | | |
| <i>ARID2</i> | <i>CCNE1</i> | <i>DICER1</i> | <i>FGF4</i> | <i>HGF</i> | (<i>MLL2</i>) | <i>NFE2L2</i> | <i>PPP2R1A</i> | <i>SLIT2</i> | <i>TP53</i> |
| | <i>CD274</i> | | | | | | | | |
| <i>ASXL1</i> | (<i>PD-L1</i>) | <i>DNMT3A</i> | <i>FGF6</i> | <i>HNFI1A</i> | <i>KRAS</i> | <i>NFKB1A</i> | <i>PRDM1</i> | <i>SMAD2</i> | <i>TSC1</i> |
| <i>ATM</i> | <i>CD79A</i> | <i>DOT1L</i> | <i>FGFR1</i> | <i>HRAS</i> | <i>LMO1</i> | <i>NKX2-1</i> | <i>PREX2</i> | <i>SMAD3</i> | <i>TSC2</i> |
| <i>ATR</i> | <i>CD79B</i> | <i>EGFR</i> | <i>FGFR2</i> | <i>HSD3B1</i> | <i>LRP1B</i> | <i>NOTCH1</i> | <i>PRKAR1A</i> | <i>SMAD4</i> | <i>TSHR</i> |
| <i>ATRX</i> | <i>CDC73</i> | <i>EP300</i> | <i>FGFR3</i> | <i>HSP90AA1</i> | <i>LYN</i> | <i>NOTCH2</i> | <i>PRKCI</i> | <i>SMARCA4</i> | <i>U2AF1</i> |
| <i>AURKA</i> | <i>CDH1</i> | <i>EPHA3</i> | <i>FGFR4</i> | <i>IDH1</i> | <i>LZTR1</i> | <i>NOTCH3</i> | <i>PRKDC</i> | <i>SMARCB1</i> | <i>VEGFA</i> |
| <i>AURKB</i> | <i>CDK12</i> | <i>EPHA5</i> | <i>FH</i> | <i>IDH2</i> | <i>MAGI2</i> | <i>NPM1</i> | <i>PRSS8</i> | <i>SMO</i> | <i>VHL</i> |
| | | | | | <i>MAP2K1</i> | | | | |
| <i>AXIN1</i> | <i>CDK4</i> | <i>EPHA7</i> | <i>FLCN</i> | <i>IGF1R</i> | (<i>MEK1</i>) | <i>NRAS</i> | <i>PTCH1</i> | <i>SNCAIP</i> | <i>WISP3</i> |
| | | | | | <i>MAP2K2</i> | | | | |
| <i>AXL</i> | <i>CDK6</i> | <i>EPHB1</i> | <i>FLT1</i> | <i>IGF2</i> | (<i>MEK2</i>) | <i>NSD1</i> | <i>PTEN</i> | <i>SOCS1</i> | <i>WT1</i> |
| <i>BAP1</i> | <i>CDK8</i> | <i>ERBB2</i> | <i>FLT3</i> | <i>IKBKE</i> | <i>MAP2K4</i> | <i>NTRK1</i> | <i>PTPN11</i> | <i>SOX10</i> | <i>XPO1</i> |
| <i>BARD1</i> | <i>CDKN1A</i> | <i>ERBB3</i> | <i>FLT4</i> | <i>IKZF1</i> | <i>MAP3K1</i> | <i>NTRK2</i> | <i>QKI</i> | <i>SOX2</i> | <i>ZBTB2</i> |
| <i>BCL2</i> | <i>CDKN1B</i> | <i>ERBB4</i> | <i>FOXL2</i> | <i>IL7R</i> | <i>MCL1</i> | <i>NTRK3</i> | <i>RAC1</i> | <i>SOX9</i> | <i>ZNF217</i> |
| <i>BCL2L1</i> | <i>CDKN2A</i> | <i>ERG</i> | <i>FOXP1</i> | <i>INHBA</i> | <i>MDM2</i> | <i>NUP93</i> | <i>RAD50</i> | <i>SPEN</i> | <i>ZNF703</i> |
| <i>BCL2L2</i> | <i>CDKN2B</i> | <i>ERRFI1</i> | <i>FRS2</i> | <i>INPP4B</i> | <i>MDM4</i> | <i>PAK3</i> | <i>RAD51</i> | <i>SPOP</i> | |
| <i>BCL6</i> | <i>CDKN2C</i> | <i>ESR1</i> | <i>FUBP1</i> | <i>IRF2</i> | <i>MED12</i> | <i>PALB2</i> | <i>RAF1</i> | <i>SPTA1</i> | |

[0228]

| | | | | | | | | | |
|---------------|--------------|---------------|---------------|-------------|--------------|--------------|---------------|--------------|--|
| <i>BCOR</i> | <i>CEBPA</i> | <i>EZH2</i> | <i>GABRA6</i> | <i>IRF4</i> | <i>MEF2B</i> | <i>PARK2</i> | <i>RANBP2</i> | <i>SRC</i> | |
| <i>BCORL1</i> | <i>CHD2</i> | <i>FAM46C</i> | <i>GATA1</i> | <i>IRS2</i> | <i>MEN1</i> | <i>PAX5</i> | <i>RARA</i> | <i>STAG2</i> | |
| <i>BLM</i> | <i>CHD4</i> | <i>FANCA</i> | <i>GATA2</i> | <i>JAK1</i> | <i>MET</i> | <i>PBRM1</i> | <i>RB1</i> | <i>STAT3</i> | |

[0229]

表2:其中在 **FOUNDATIONONE®**测定法中测定所选择的内含子的基因列表。

[0230]

| | | | | | | |
|------|-------|------|-------|--------|--------|---------|
| ALK | BRCA1 | ETV1 | FGFR1 | MSH2 | NTRK1 | RARA |
| BCL2 | BRCA2 | ETV4 | FGFR2 | MYB | NTRK2 | RET |
| BCR | BRD4 | ETV5 | FGFR3 | MYC | PDGFRA | ROS1 |
| BRAF | EGFR | ETV6 | KIT | NOTCH2 | RAF1 | TMPRSS2 |

[0231] **FOUNDATIONONE®**Heme测定法

[0232] **FOUNDATIONONE®**Heme测定法用于血液恶性肿瘤和肉瘤的全面的基因组分析测定法。**FOUNDATIONONE®**Heme测定法用杂交-捕获、下一代测序测试来鉴定基因组改变(碱基取代、插入和缺失、拷贝数改变和重排)。该测定法分析406个基因的编码区、31个基因的所选择内含子及在癌症中常重排的265个基因的RNA序列。表3、4和5中提供 **FOUNDATIONONE®** Heme 测定基因的完整列表。参见可在 FoundationMedicine.com 上获得的 **FOUNDATIONONE®** HEME: Technical Specifications, Foundation Medicine, Inc., 最后访问时间为2018年3月16日, 在此以其整体引入本文作为参考。

[0233] 表3: 其中在 **FOUNDATIONONE®**Heme测定法中测定整个编码序列的基因列表。

[0234]

| | | | | | | | | | |
|-------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------|---------------|
| | <i>BRIP1</i> | | | | | | | | <i>TCF3</i> |
| <i>ABL1</i> | <i>(BACH1)</i> | <i>CREBBP</i> | <i>FANCC</i> | <i>GNAS</i> | <i>JAK1</i> | <i>MET</i> | <i>PBRM1</i> | <i>ROS1</i> | <i>(E2A)</i> |
| | | | | | | | | | <i>TCL1A</i> |
| <i>ACTB</i> | <i>BRSK1</i> | <i>CRKL</i> | <i>FANCD2</i> | <i>GPR124</i> | <i>JAK2</i> | <i>MIB1</i> | <i>PC</i> | <i>RPTOR</i> | <i>(TCL1)</i> |
| <i>AKT1</i> | <i>BTG2</i> | <i>CRLF2</i> | <i>FANCE</i> | <i>GRIN2A</i> | <i>JAK3</i> | <i>MITF</i> | <i>PCBP1</i> | <i>RUNX1</i> | <i>TET2</i> |
| <i>AKT2</i> | <i>BTK</i> | <i>CSF1R</i> | <i>FANCF</i> | <i>GSK3B</i> | <i>JARID2</i> | <i>MKI67</i> | <i>PCLO</i> | <i>S1PR2</i> | <i>TGFBR2</i> |

[0235]

| | | | | | | | | | |
|------------------|-----------------|---------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|---------------|--------------------|
| | | | | | | | <i>PDCD1</i> | | |
| <i>AKT3</i> | <i>BTLA</i> | <i>CSF3R</i> | <i>FANCG</i> | <i>GTSE1</i> | <i>JUN</i> | <i>MLH1</i> | (PD-1) | <i>SDHA</i> | <i>TLL2</i> |
| | <i>C11orf30</i> | | | | <i>KAT6A</i> | | | | |
| <i>ALK</i> | (<i>EMSY</i>) | <i>CTCF</i> | <i>FANCL</i> | <i>HDAC1</i> | (<i>MYST3</i>) | <i>MPL</i> | <i>PDCD11</i> | <i>SDHB</i> | <i>TMEM30A</i> |
| <i>AMER1</i> | | | <i>FAS</i> | | | | | | |
| (<i>FAM123B</i> | | | (<i>TNFRSF</i> | | | | <i>PDCD1LG2</i> | | <i>TMSB4XP</i> |
| or <i>WTX</i>) | <i>CAD</i> | <i>CTNNA1</i> | 6) | <i>HDAC4</i> | <i>KDM2B</i> | <i>MRE11A</i> | (PD-L2) | <i>SDHC</i> | 8 (<i>TMSL3</i>) |
| <i>APC</i> | <i>CALR</i> | <i>CTNNB1</i> | <i>FBXO11</i> | <i>HDAC7</i> | <i>KDM4C</i> | <i>MSH2</i> | <i>PDGFRA</i> | <i>SDHD</i> | <i>TNFAIP3</i> |
| | | | | | | | | | <i>TNFRSF11</i> |
| <i>APH1A</i> | <i>CARD11</i> | <i>CUX1</i> | <i>FBXO31</i> | <i>HGF</i> | <i>KDM5A</i> | <i>MSH3</i> | <i>PDGFRB</i> | <i>SERP2</i> | <i>A</i> |
| | | | | | | | | | <i>TNFRSF1</i> |
| <i>AR</i> | <i>CBFB</i> | <i>CXCR4</i> | <i>FBXW7</i> | <i>HIST1H1C</i> | <i>KDM5C</i> | <i>MSH6</i> | <i>PDK1</i> | <i>SETBP1</i> | 4 |
| | | | | | | | | | <i>TNFRSF1</i> |
| <i>ARAF</i> | <i>CBL</i> | <i>DAXX</i> | <i>FGF10</i> | <i>HIST1H1D</i> | <i>KDM6A</i> | <i>MTOR</i> | <i>PHF6</i> | <i>SETD2</i> | 7 |
| <i>ARFRP1</i> | <i>CCND1</i> | <i>DDR2</i> | <i>FGF14</i> | <i>HIST1H1E</i> | <i>KDR</i> | <i>MUTYH</i> | <i>PIK3CA</i> | <i>SF3B1</i> | <i>TOP1</i> |
| <i>ARHGAP26</i> | | | | <i>HIST1H2A</i> | | | | | |
| (<i>GRAF</i>) | <i>CCND2</i> | <i>DDX3X</i> | <i>FGF19</i> | <i>C</i> | <i>KEAP1</i> | <i>MYC</i> | <i>PIK3CG</i> | <i>SGK1</i> | <i>TP53</i> |
| | | | | <i>HIST1H2A</i> | | <i>MYCL</i> | | | |
| <i>ARID1A</i> | <i>CCND3</i> | <i>DNM2</i> | <i>FGF23</i> | <i>G</i> | <i>KIT</i> | (<i>MYCL1</i>) | <i>PIK3R1</i> | <i>SMAD2</i> | <i>TP63</i> |
| | | | | <i>HIST1H2A</i> | | | | | |
| <i>ARID2</i> | <i>CCNE1</i> | <i>DNMT3A</i> | <i>FGF3</i> | <i>L</i> | <i>KLHL6</i> | <i>MYCN</i> | <i>PIK3R2</i> | <i>SMAD4</i> | <i>TRAF2</i> |
| | | | | <i>HIST1H2A</i> | <i>KMT2A</i> | | | <i>SMARC</i> | |
| <i>ASMTL</i> | <i>CCT6B</i> | <i>DOT1L</i> | <i>FGF4</i> | <i>M</i> | (<i>MLL</i>) | <i>MYD88</i> | <i>PIM1</i> | <i>A1</i> | <i>TRAF3</i> |
| | | | | <i>HIST1H2B</i> | <i>KMT2C</i> | | | <i>SMARC</i> | |
| <i>ASXL1</i> | <i>CD22</i> | <i>DTX1</i> | <i>FGF6</i> | <i>C</i> | (<i>MLL3</i>) | <i>MYO18A</i> | <i>PLCG2</i> | <i>A4</i> | <i>TRAF5</i> |
| | <i>CD274</i> | | | <i>HIST1H2B</i> | <i>KMT2D</i> | | | <i>SMARC</i> | |
| <i>ATM</i> | (PD-L1) | <i>DUSP2</i> | <i>FGFR1</i> | <i>J</i> | (<i>MLL2</i>) | <i>NCOR2</i> | <i>POT1</i> | <i>B1</i> | <i>TSC1</i> |
| <i>ATR</i> | <i>CD36</i> | <i>DUSP9</i> | <i>FGFR2</i> | <i>HIST1H2B</i> | <i>KRAS</i> | <i>NCSTN</i> | <i>PPP2R1A</i> | <i>SMC1A</i> | <i>TSC2</i> |

[0236]

| | | | | | | | | | |
|---------------|---------------|---------------|---|--------------------------------|--------------------------------|---------------|--------------------------------|---------------|--|
| | | | | <i>K</i> | | | | | |
| | | | | <i>HIST1H2B</i> | | | | | |
| <i>ATRX</i> | <i>CD58</i> | <i>EBF1</i> | <i>FGFR3</i> | <i>O</i> | <i>LEF1</i> | <i>NF1</i> | <i>PRDM1</i> | <i>SMC3</i> | <i>TSHR</i> |
| <i>AURKA</i> | <i>CD70</i> | <i>ECT2L</i> | <i>FGFR4</i> | <i>HIST1H3B</i> | <i>LRP1B</i> | <i>NF2</i> | <i>PRKAR1A</i> | <i>SMO</i> | <i>TUSC3</i> |
| <i>AURKB</i> | <i>CD79A</i> | <i>EED</i> | <i>FHIT</i> | <i>HNFI1A</i> | <i>LRRK2</i> | <i>NFE2L2</i> | <i>PRKDC</i> | <i>SOC31</i> | <i>TYK2</i> |
| <i>AXIN1</i> | <i>CD79B</i> | <i>EGFR</i> | <i>FLCN</i> | <i>HRAS</i> | <i>MAF</i> | <i>NFKB1A</i> | <i>PRSS8</i> | <i>SOC32</i> | <i>U2AF1</i> |
| <i>AXL</i> | <i>CDC73</i> | <i>ELP2</i> | <i>FLT1</i> | <i>HSP90AA1</i> | <i>MAFB</i> | <i>NKX2-1</i> | <i>PTCH1</i> | <i>SOC33</i> | <i>U2AF2</i> |
| <i>B2M</i> | <i>CDH1</i> | <i>EP300</i> | <i>FLT3</i> | <i>ICK</i> | <i>MAGED1</i> | <i>NOD1</i> | <i>PTEN</i> | <i>SOX10</i> | <i>VHL</i> |
| <i>BAP1</i> | <i>CDK12</i> | <i>EPHA3</i> | <i>FLT4</i> | <i>ID3</i> | <i>MALT1</i> | <i>NOTCH1</i> | <i>PTPN11</i> | <i>SOX2</i> | <i>WDR90</i> |
| <i>BARD1</i> | <i>CDK4</i> | <i>EPHA5</i> | <i>FLYWCH</i> <i>1</i> | <i>IDH1</i> | <i>MAP2K1</i> <i>(MEK1)</i> | <i>NOTCH2</i> | <i>PTPN2</i> | <i>SPEN</i> | <i>WHSC1</i> <i>(MMSET</i> <i>or NSD2)</i> |
| <i>BCL10</i> | <i>CDK6</i> | <i>EPHA7</i> | <i>FOX12</i> | <i>IDH2</i> | <i>MAP2K2</i> <i>(MEK2)</i> | <i>NPM1</i> | <i>PTPN6</i> <i>(SHP-1)</i> | <i>SPOP</i> | <i>WISP3</i> |
| <i>BCL11B</i> | <i>CDK8</i> | <i>EPHB1</i> | <i>FOXO1</i> | <i>IGF1R</i> | <i>MAP2K4</i> | <i>NRAS</i> | <i>PTPRO</i> | <i>SRC</i> | <i>WT1</i> |
| <i>BCL2</i> | <i>CDKN1B</i> | <i>ERBB2</i> | <i>FOXO3</i> | <i>IKBKE</i> | <i>MAP3K1</i> | <i>NT5C2</i> | <i>RAD21</i> | <i>SRSF2</i> | <i>XBPI</i> |
| <i>BCL2L2</i> | <i>CDKN2A</i> | <i>ERBB3</i> | <i>FOXP1</i> | <i>IKZF1</i> | <i>MAP3K14</i> | <i>NTRK1</i> | <i>RAD50</i> | <i>STAG2</i> | <i>XPO1</i> |
| <i>BCL6</i> | <i>CDKN2B</i> | <i>ERBB4</i> | <i>FRS2</i> | <i>IKZF2</i> | <i>MAP3K6</i> | <i>NTRK2</i> | <i>RAD51</i> | <i>STAT3</i> | <i>YY1API</i> |
| <i>BCL7A</i> | <i>CDKN2C</i> | <i>ERG</i> | <i>GADD45</i> <i>B</i> | <i>IKZF3</i> | <i>MAP3K7</i> | <i>NTRK3</i> | <i>RAF1</i> | <i>STAT4</i> | <i>ZMYM3</i> |
| <i>BCOR</i> | <i>CEBPA</i> | <i>ESR1</i> | <i>GATA1</i> | <i>IL7R</i> | <i>MAPK1</i> | <i>NUP93</i> | <i>RARA</i> | <i>STAT5A</i> | <i>ZNF217</i> |
| <i>BCORL1</i> | <i>CHD2</i> | <i>ETS1</i> | <i>GATA2</i> | <i>INHBA</i> | <i>MCL1</i> | <i>NUP98</i> | <i>RASGEF1A</i> | <i>STAT5B</i> | <i>ZNF24</i> <i>(ZSCAN3)</i> |
| <i>BIRC3</i> | <i>CHEK1</i> | <i>ETV6</i> | <i>GATA3</i> | <i>INPP4B</i> | <i>MDM2</i> | <i>P2RY8</i> | <i>RB1</i> | <i>STAT6</i> | <i>ZNF703</i> |
| <i>BLM</i> | <i>CHEK2</i> | <i>EXOSC6</i> | <i>GID4</i> <i>(C17orf39</i> <i>)</i> | <i>INPP5D</i> <i>(SHIP)</i> | <i>MDM4</i> | <i>PAG1</i> | <i>RELN</i> | <i>STK11</i> | <i>ZRSR2</i> |

[0237]

| | | | | | | | | | |
|--------------|--------------|---------------|--------------|-------------|--------------|--------------|---------------|---------------|--|
| <i>BRAF</i> | <i>CIC</i> | <i>EZH2</i> | <i>GNAI1</i> | <i>IRF1</i> | <i>MED12</i> | <i>PAK3</i> | <i>RET</i> | <i>SUFU</i> | |
| <i>BRCA1</i> | <i>CIITA</i> | <i>FAF1</i> | <i>GNAI2</i> | <i>IRF4</i> | <i>MEF2B</i> | <i>PALB2</i> | <i>RHOA</i> | <i>SUZ12</i> | |
| <i>BRCA2</i> | <i>CKS1B</i> | <i>FAM46C</i> | <i>GNAI3</i> | <i>IRF8</i> | <i>MEF2C</i> | <i>PASK</i> | <i>RICTOR</i> | <i>TAF1</i> | |
| | | | | | | | | <i>TBL1XR</i> | |
| <i>BRD4</i> | <i>CPS1</i> | <i>FANCA</i> | <i>GNAQ</i> | <i>IRS2</i> | <i>MEN1</i> | <i>PAX5</i> | <i>RNF43</i> | <i>I</i> | |

[0238] 表4: 其中在**FOUNDATIONONE®**Heme测定法中测定所选择的内含子的基因列表。

[0239]

| | | | | | | | |
|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------------------------|---------------|----------------|
| <i>ALK</i> | <i>BRAF</i> | <i>EPOR</i> | <i>ETV6</i> | <i>IGK</i> | <i>KMT2A</i> (<i>MLL</i>) | <i>PDGFRB</i> | <i>ROS1</i> |
| <i>BCL2</i> | <i>CCND1</i> | <i>ETV1</i> | <i>EWSR1</i> | <i>IGL</i> | <i>MYC</i> | <i>RAF1</i> | <i>TMPRSS2</i> |
| <i>BCL6</i> | <i>CRLF2</i> | <i>ETV4</i> | <i>FGFR2</i> | <i>JAK1</i> | <i>NTRK1</i> | <i>RARA</i> | <i>TRG</i> |
| <i>BCR</i> | <i>EGFR</i> | <i>ETV5</i> | <i>IGH</i> | <i>JAK2</i> | <i>PDGFRA</i> | <i>RET</i> | |

[0240] 表5: 其中在**FOUNDATIONONE®**Heme测定法中测定RNA序列的基因列表。

[0241]

| | | | | | | | | | |
|------------------------------------|----------------|---------------|--------------|-----------------|----------------------------------|---------------|----------------|---------------|----------------------|
| <i>ABI1</i> | <i>BTG1</i> | <i>DDIT3</i> | <i>FGFR2</i> | <i>HOXD11</i> | <i>MAFB</i> | <i>NIN</i> | <i>PHF1</i> | <i>RUNX2</i> | <i>TFPT</i> |
| <i>ABL1</i> | <i>CAMTA1</i> | <i>DDX10</i> | <i>FGFR3</i> | <i>HOXD13</i> | <i>MALT1</i> | <i>NOTCH1</i> | <i>PICALM</i> | <i>SEC31A</i> | <i>TFRC</i> |
| <i>ABL2</i> | <i>CARS</i> | <i>DDX6</i> | <i>FLI1</i> | <i>HSP90AA1</i> | <i>MDS2</i> | <i>NPM1</i> | <i>PIM1</i> | <i>SEPT5</i> | <i>TLX1</i> |
| <i>ACSL6</i> | <i>CBFA2T3</i> | <i>DEK</i> | <i>FBNP1</i> | <i>HSP90AB1</i> | <i>MECOM</i> | <i>NR4A3</i> | <i>PLAG1</i> | <i>SEPT6</i> | <i>TLX3</i> |
| <i>AFF1</i> | <i>CBFB</i> | <i>DUSP22</i> | <i>FOXO1</i> | <i>IGH</i> | <i>MKL1</i> | <i>NSD1</i> | <i>PML</i> | <i>SEPT9</i> | <i>TMPRSS</i> 2 |
| <i>AFF4</i> | <i>CBL</i> | <i>EGFR</i> | <i>FOXO3</i> | <i>IGK</i> | <i>MLF1</i> | <i>NTRK1</i> | <i>POU2AF1</i> | <i>SET</i> | <i>TNFRSF1</i> IA |
| <i>ALK</i> | <i>CCND1</i> | <i>EIF4A2</i> | <i>FOXO4</i> | <i>IGL</i> | <i>MLLT1</i> (<i>ENL</i>) | <i>NTRK2</i> | <i>PPP1CB</i> | <i>SH3GL1</i> | <i>TOP1</i> |
| <i>ARHGAP26</i> (<i>GRAF</i>) | <i>CCND2</i> | <i>ELF4</i> | <i>FOXP1</i> | <i>IKZF1</i> | <i>MLLT10</i> (<i>AF10</i>) | <i>NTRK3</i> | <i>PRDM1</i> | <i>SLC1A2</i> | <i>TP63</i> |

[0242]

| | | | | | | | | | |
|---------------------|-----------------------------------|--------------------|---------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|---|--|
| <i>ARHGEF1</i> 2 | <i>CCND3</i> | <i>ELL</i> | <i>FSTL3</i> | <i>IL21R</i> | <i>MLLT3</i> | <i>NUMA1</i> | <i>PRDM16</i> | <i>SNX29</i> (<i>RUNDC2</i> <i>A</i>) | <i>TPM3</i> |
| <i>ARID1A</i> | <i>CD274</i> (<i>PD-L1</i>) | <i>ELN</i> | <i>FUS</i> | <i>IL3</i> | <i>MLLT4</i> (<i>AF6</i>) | <i>NUP214</i> | <i>PRRX1</i> | <i>SRSF3</i> | <i>TPM4</i> |
| <i>ARNT</i> | <i>CDK6</i> | <i>EML4</i> | <i>GAS7</i> | <i>IRF4</i> | <i>MLLT6</i> | <i>NUP98</i> | <i>PSIP1</i> | <i>SS18</i> | <i>TRIM24</i> |
| <i>ASXL1</i> | <i>CDX2</i> | <i>EP300</i> | <i>GLI1</i> | <i>ITK</i> | <i>MN1</i> | <i>NUTM2A</i> | <i>PTCH1</i> | <i>SSX1</i> | <i>TRIP11</i> |
| <i>ATF1</i> | <i>CHIC2</i> | <i>EPOR</i> | <i>GMPS</i> | <i>JAK1</i> | <i>MNX1</i> | <i>OMD</i> | <i>PTK7</i> | <i>SSX2</i> | <i>TTL</i> |
| <i>ATG5</i> | <i>CHN1</i> | <i>EPS15</i> | <i>GPHN</i> | <i>JAK2</i> | <i>MSI2</i> | <i>P2RY8</i> | <i>RABEP1</i> | <i>SSX4</i> | <i>TYK2</i> |
| <i>ATIC</i> | <i>CIC</i> | <i>ERBB2</i> | <i>HERPUD</i> 1 | <i>JAK3</i> | <i>MSN</i> | <i>PAFAH1B</i> 2 | <i>RAF1</i> | <i>STAT6</i> | <i>USP6</i> |
| <i>BCL10</i> | <i>CIITA</i> | <i>ERG</i> | <i>HEY1</i> | <i>JAZF1</i> | <i>MUC1</i> | <i>PAX3</i> | <i>RALGDS</i> | <i>STL</i> | <i>WHSC1</i> (<i>MMSET</i> or <i>NSD2</i>) |
| <i>BCL11A</i> | <i>CLP1</i> | <i>ETS1</i> | <i>HIP1</i> | <i>KAT6A</i> (<i>MYST3</i>) | <i>MYB</i> | <i>PAX5</i> | <i>RAP1GDS1</i> | <i>SYK</i> | <i>WHSC1L</i> 1 |
| <i>BCL11B</i> | <i>CLTC</i> | <i>ETV1</i> | <i>HIST1H4</i> 1 | <i>KDSR</i> | <i>MYC</i> | <i>PAX7</i> | <i>RARA</i> | <i>TAF15</i> | <i>YPEL5</i> |
| <i>BCL2</i> | <i>CLTCL1</i> | <i>ETV4</i> | <i>HLF</i> | <i>KIF5B</i> | <i>MYH11</i> | <i>PBX1</i> | <i>RBM15</i> | <i>TAL1</i> | <i>ZBTB16</i> |
| <i>BCL3</i> | <i>CNTRL</i> (<i>CEP110</i>) | <i>ETV5</i> | <i>HMGA1</i> | <i>KMT2A</i> (<i>MLL</i>) | <i>MYH9</i> | <i>PCM1</i> | <i>RET</i> | <i>TAL2</i> | <i>ZMYM2</i> |
| <i>BCL6</i> | <i>COL1A1</i> | <i>ETV6</i> | <i>HMGA2</i> | <i>LASP1</i> | <i>NACA</i> | <i>PCSK7</i> | <i>RHOH</i> | <i>TBL1XR1</i> | <i>ZNF384</i> |
| <i>BCL7A</i> | <i>CREB3L1</i> | <i>EWSR1</i> | <i>HOXA11</i> | <i>LCP1</i> | <i>NBEAP1</i> (<i>BCL8</i>) | <i>PDCD1LG</i> 2 (<i>PD-L2</i>) | <i>RNF213</i> | <i>TCF3</i> (<i>E2A</i>) | <i>ZNF521</i> |
| <i>BCL9</i> | <i>CREB3L2</i> | <i>FCGR2B</i> | <i>HOXA13</i> | <i>LMO1</i> | <i>NCOA2</i> | <i>PDE4DIP</i> | <i>ROS1</i> | <i>TCL1A</i> (<i>TCL1</i>) | |
| <i>BCOR</i> | <i>CREBBP</i> | <i>FCRL4</i> | <i>HOXA3</i> | <i>LMO2</i> | <i>NDRG1</i> | <i>PDGFB</i> | <i>RPL22</i> | <i>TEC</i> | |
| <i>BCR</i> | <i>CRLF2</i> | <i>FEV</i> | <i>HOXA9</i> | <i>LPP</i> | <i>NF1</i> | <i>PDGFRA</i> | <i>RPN1</i> | <i>TET1</i> | |
| <i>BIRC3</i> | <i>CSF1</i> | <i>FGFR1</i> | <i>HOXC11</i> | <i>LYL1</i> | <i>NF2</i> | <i>PDGFRB</i> | <i>RUNX1</i> | <i>TFE3</i> | |
| <i>BRAF</i> | <i>CTNNB1</i> | <i>FGFR10</i> P | <i>HOXC13</i> | <i>MAF</i> | <i>NFKB2</i> | <i>PER1</i> | <i>RUNX1T1</i> (<i>ETO</i>) | <i>TFG</i> | |

[0243]

[0244] **EXODX®**实体瘤测定法

[0245] 在一个实施方案中,用**EXODX®**实体瘤测定法测量TMB。**ExoDx®**实体瘤测定是基于exoRNA和cfDNA的测定法,其检测癌症途径中的可执行突变。**EXODX®**实体瘤测定法是不需要组织样品的基于血浆的测定法。**EXODX®**实体瘤测定法覆盖26个基因和1000个突变。**EXODX®**实体瘤测定法所覆盖的具体基因见表6。参见可在exosomedx.com上获得的Plasma-Based Solid Tumor Mutation Panel Liquid Biopsy, Exosome Diagnostics, Inc.,最后访问时间为2018年3月16日。

[0246] 表6:**EXODX®**实体瘤测定法所覆盖的基因。

| | | | | | | | | |
|---------------|-------------|-----------------|-----------------------------------|-------------|-------------|-----------------|--------------|---------------|
| <i>BRAF</i> | <i>MEK1</i> | <i>KIT</i> | <i>ROS1</i> | <i>ALK</i> | <i>PTEN</i> | <i>TP53</i> | <i>FGFR3</i> | <i>TSC2</i> |
| <i>NRAS</i> | <i>KRAS</i> | <i>PDGFRA</i> | <i>RET</i> | <i>AKT1</i> | <i>DH2</i> | <i>NOTCH1</i> | <i>NTRK1</i> | <i>CDKN2A</i> |
| <i>PIK3CA</i> | <i>EGFR</i> | <i>EML4-ALK</i> | <i>HER-2/NEU;</i> <i>ERBB2</i> | <i>ARv7</i> | <i>mTOR</i> | <i>Hedgehog</i> | <i>TSC1</i> | |

[0248] Guardant360测定法

[0249] 在一些实施方案中,用Guardant360测定法来确定TMB状态。Guardant360测定法测量至少73个基因(表7)中的突变、23个插入/缺失(表8)、18个CNV(表9)和6个融合基因(表10)。参见GuardantHealth.com,最后访问时间为2018年3月16日。

[0250] 表7:Guardant360测定基因。

| | | | | | | |
|---------------|---------------|--------------|-------------|---------------|---------------|--------------------|
| <i>AKT1</i> | <i>CCND2</i> | <i>EZH2</i> | <i>IDH1</i> | <i>MLH1</i> | <i>PDGFRA</i> | <i>SMAD4</i> |
| <i>ALK</i> | <i>CCNE1</i> | <i>FBXW7</i> | <i>IDH2</i> | <i>MPL</i> | <i>PIK3CA</i> | <i>SMO</i> |
| <i>APC</i> | <i>CDH1</i> | <i>FGFR1</i> | <i>JAK2</i> | <i>MTOR</i> | <i>PTEN</i> | <i>STK11</i> |
| <i>AR</i> | <i>CDK4</i> | <i>FGFR2</i> | <i>JAK3</i> | <i>MYC</i> | <i>PTPN11</i> | <i>TERT(包括启动子)</i> |
| <i>ARAF</i> | <i>CDK6</i> | <i>FGFR3</i> | <i>KIT</i> | <i>NF1</i> | <i>RAF1</i> | <i>TP53</i> |
| <i>ARID1A</i> | <i>CDKN2A</i> | <i>GATA3</i> | <i>KRAS</i> | <i>NFE2L2</i> | <i>RB1</i> | <i>TSC1</i> |

| | | | | | | |
|--------------|---------------|--------------|---------------|---------------|-------------|------------|
| <i>ATM</i> | <i>CTNNB1</i> | <i>GNAI1</i> | <i>MAP2K1</i> | <i>NOTCH1</i> | <i>RET</i> | <i>VHL</i> |
| <i>BRAF</i> | <i>DDR2</i> | <i>GNAQ</i> | <i>MAP2K2</i> | <i>NPM1</i> | <i>RHEB</i> | |
| <i>BRCA1</i> | <i>EGFR</i> | <i>GNAS</i> | <i>MAPK1</i> | <i>NRAS</i> | <i>RHOA</i> | |
| <i>BRCA2</i> | <i>ERBB2</i> | <i>HNFLA</i> | <i>MAPK3</i> | <i>NTRK1</i> | <i>RIT1</i> | |
| <i>CCND1</i> | <i>ESR1</i> | <i>HRAS</i> | <i>MET</i> | <i>NTRK3</i> | <i>ROS1</i> | |

[0253] 表8:Guardant360测定插入/缺失。

| | | | | | | | |
|--------|-------|--------|-------|------|--------|-------|------|
| APC | BRCA1 | CDKN2A | GATA3 | MLH1 | PDGFRA | SMAD4 | TSC1 |
| ARID1A | BRCA2 | EGFR | KIT | MTOR | PTEN | STK11 | VHL |
| ATM | CDH1 | ERBB2 | MET | NF1 | RB1 | TP53 | |

[0255] 表9:Guardant360测定扩增(CNV)。

| | | | | | | |
|--------|-------|-------|-------|-------|------|--------|
| [0256] | AR | CCND2 | CDK6 | FGFR1 | KRAS | PDGFRA |
| | BRAF | CCNE1 | EGFR | FGFR2 | MET | PIK3CA |
| | CCND1 | CDK4 | ERBB2 | KIT | MYC | RAF1 |

[0257] 表10:Guardant360测定融合。

| | | | |
|--------|-------|-------|------|
| [0258] | ALK | FGFR3 | RET |
| | FGFR2 | NTRK1 | ROS1 |

[0259] **ILLUMINA®**TruSight测定法

[0260] 在一些实施方案中,用TruSight Tumor 170测定法(**ILLUMINA®**)确定TMB。

TruSight Tumor 170测定法是覆盖与常见实体瘤相关的170个基因的下一代测序测定法,其同时分析DNA和RNA。TruSight Tumor 170测定法评估融合、剪接变体、插入/缺失、单核苷酸变体 (SNV) 和扩增。表11-13中显示TruSight Tumor 170测定法基因列表。

[0261] 表11:TruSight Tumor 170测定基因 (扩增)。

| | | | | | | |
|--------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|----------------|
| [0262] | <i>AKT2</i> | <i>CDK4</i> | <i>FGF1</i> | <i>FGF7</i> | <i>LAMP1</i> | <i>PDGFRB</i> |
| | <i>ALK</i> | <i>CDK6</i> | <i>FGF10</i> | <i>FGF8</i> | <i>MDM2</i> | <i>PIK3CA</i> |
| | <i>AR</i> | <i>CHEK1</i> | <i>FGF14</i> | <i>FGF9</i> | <i>MDM4</i> | <i>PIK3CB</i> |
| | <i>ATM</i> | <i>CHEK2</i> | <i>FGF19</i> | <i>FGFR1</i> | <i>MET</i> | <i>PTEN</i> |
| | <i>BRAF</i> | <i>EGFR</i> | <i>FGF2</i> | <i>FGFR2</i> | <i>MYC</i> | <i>RAF1</i> |
| | <i>BRCA1</i> | <i>ERBB2</i> | <i>FGF23</i> | <i>FGFR3</i> | <i>MYCL1</i> | <i>RET</i> |
| | <i>BRCA2</i> | <i>ERBB3</i> | <i>FGF3</i> | <i>FGFR4</i> | <i>MYCN</i> | <i>RICTOR</i> |
| | <i>CCND1</i> | <i>ERCC1</i> | <i>FGF4</i> | <i>JAK2</i> | <i>NRAS</i> | <i>RPS6KB1</i> |
| | <i>CCND3</i> | <i>ERCC2</i> | <i>FGF5</i> | <i>KIT</i> | <i>NRG1</i> | <i>TFRC</i> |
| | <i>CCNE1</i> | <i>ESR1</i> | <i>FGF6</i> | <i>KRAS</i> | <i>PDGFRA</i> | |

[0264] 表12:TruSight Tumor 170测定基因 (融合)。

| | | | | | | | | |
|--------|-------------|--------------|--------------|----------------|--------------|---------------|---------------|----------------|
| [0265] | <i>ABL1</i> | <i>BRCA1</i> | <i>ERG</i> | <i>FGFR1</i> | <i>JAK2</i> | <i>MSH2</i> | <i>NTRK2</i> | <i>PPARG</i> |
| | <i>AKT3</i> | <i>BRCA2</i> | <i>ESR1</i> | <i>FGFR2</i> | <i>KDR</i> | <i>MYC</i> | <i>NTRK3</i> | <i>RAF1</i> |
| | <i>ALK</i> | <i>CDK4</i> | <i>ETS1</i> | <i>FGFR3</i> | <i>KIF5B</i> | <i>NOTCH1</i> | <i>PAX3</i> | <i>RET</i> |
| | <i>AR</i> | <i>CSF1R</i> | <i>ETV1</i> | <i>FGFR4</i> | <i>KIT</i> | <i>NOTCH2</i> | <i>PAX7</i> | <i>ROS1</i> |
| | <i>AXL</i> | <i>EGFR</i> | <i>ETV4</i> | <i>FLI1</i> | <i>KMT2A</i> | <i>NOTCH3</i> | <i>PDGFRA</i> | <i>RPS6KB1</i> |
| | | | | (<i>MLL</i>) | | | | |
| | <i>BCL2</i> | <i>EML4</i> | <i>ETV5</i> | <i>FLT1</i> | <i>MET</i> | <i>NRG1</i> | <i>PDGFRB</i> | <i>TMPRSS2</i> |
| | <i>BRAF</i> | <i>ERBB2</i> | <i>EWSR1</i> | <i>FLT3</i> | <i>MLLT3</i> | <i>NTRK1</i> | <i>PIK3CA</i> | |

[0266] 表13:TruSight Tumor 170测定基因 (小变体)。

[0267]

| | | | | | | | | | |
|-------------|---------------|---------------|----------------|--------------|---------------|---------------|---------------|----------------|----------------|
| <i>AKT1</i> | <i>BRCA2</i> | <i>CHEK1</i> | <i>ESR1</i> | <i>FGF7</i> | <i>HRAS</i> | <i>MET</i> | <i>NF1</i> | <i>PMS2</i> | <i>SLX4</i> |
| <i>AKT2</i> | <i>BRIP1</i> | <i>CHEK2</i> | <i>EZH2</i> | <i>FGF8</i> | <i>IDH1</i> | <i>MLH1</i> | <i>NOTCH1</i> | <i>PPP2R2A</i> | <i>SMAD4</i> |
| <i>AKT3</i> | <i>BTK</i> | <i>CREBBP</i> | <i>FAM175A</i> | <i>FGF9</i> | <i>IDH2</i> | <i>MLLT3</i> | <i>NOTCH2</i> | <i>PTCH1</i> | <i>SMARCB1</i> |
| <i>ALK</i> | <i>CARD11</i> | <i>CSF1R</i> | <i>FANCI</i> | <i>FGFR1</i> | <i>INPP4B</i> | <i>MPL</i> | <i>NOTCH3</i> | <i>PTEN</i> | <i>SMO</i> |
| <i>APC</i> | <i>CCND1</i> | <i>CTNNB1</i> | <i>FANCL</i> | <i>FGFR2</i> | <i>JAK2</i> | <i>MRE11A</i> | <i>NPM1</i> | <i>PTPN11</i> | <i>SRC</i> |
| <i>AR</i> | <i>CCND2</i> | <i>DDR2</i> | <i>FBXW7</i> | <i>FGFR3</i> | <i>JAK3</i> | <i>MSH2</i> | <i>NRAS</i> | <i>RAD51</i> | <i>STK11</i> |

[0268]

| | | | | | | | | | |
|---------------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------------------------|--------------|---------------|----------------|--------------|
| <i>ARID1A</i> | <i>CCNE1</i> | <i>DNMT3A</i> | <i>FGF1</i> | <i>FGFR4</i> | <i>KDR</i> | <i>MSH3</i> | <i>NRG1</i> | <i>RAD51B</i> | <i>TERT</i> |
| <i>ATM</i> | <i>CD79A</i> | <i>EGFR</i> | <i>FGF10</i> | <i>FLT1</i> | <i>KIT</i> | <i>MSH6</i> | <i>PALB2</i> | <i>RAD51C</i> | <i>TET2</i> |
| <i>ATR</i> | <i>CD79B</i> | <i>EP300</i> | <i>FGF14</i> | <i>FLT3</i> | <i>KMT2A</i> (<i>MLL</i>) | <i>MTOR</i> | <i>PDGFRA</i> | <i>RAD51D</i> | <i>TP53</i> |
| <i>BAP1</i> | <i>CDH1</i> | <i>ERBB2</i> | <i>FGF2</i> | <i>FOXL2</i> | <i>KRAS</i> | <i>MUTYH</i> | <i>PDGFRB</i> | <i>RAD54L</i> | <i>TSC1</i> |
| <i>BARD1</i> | <i>CDK12</i> | <i>ERBB3</i> | <i>FGF23</i> | <i>GEN1</i> | <i>MAP2K1</i> | <i>MYC</i> | <i>PIK3CA</i> | <i>RB1</i> | <i>TSC2</i> |
| <i>BCL2</i> | <i>CDK4</i> | <i>ERBB4</i> | <i>FGF3</i> | <i>GNAI1</i> | <i>MAP2K2</i> | <i>MYCL1</i> | <i>PIK3CB</i> | <i>RET</i> | <i>VHL</i> |
| <i>BCL6</i> | <i>CDK6</i> | <i>ERCC1</i> | <i>FGF4</i> | <i>GNAQ</i> | <i>MCL1</i> | <i>MYCN</i> | <i>PIK3CD</i> | <i>RICTOR</i> | <i>XRCC2</i> |
| <i>BRAF</i> | <i>CDKN2A</i> | <i>ERCC2</i> | <i>FGF5</i> | <i>GNAS</i> | <i>MDM2</i> | <i>MYD88</i> | <i>PIK3CG</i> | <i>ROS1</i> | |
| <i>BRCA1</i> | <i>CEBPA</i> | <i>ERG</i> | <i>FGF6</i> | <i>HNFLA</i> | <i>MDM4</i> | <i>NBN</i> | <i>PIK3R1</i> | <i>RPS6KB1</i> | |

[0269] **FOUNDATIONONE®** F1CDx测定法

[0270] **FOUNDATIONONE®** CDXTM (“F1CDx”) 是基于下一代测序的体外诊断装置，用于用从福尔马林固定石蜡包埋 (FFPE) 的肿瘤组织样品分离的DNA检测324个基因中的取代、插入和缺失改变 (插入/缺失) 及拷贝数改变 (CNA)，和选择基因重排，以及基因组特征，包括微卫星不稳定性 (MSI) 和肿瘤突变负荷 (TMB)。F1CDx由美国食品和药品管理局 (FDA) 批准用于若干肿瘤适应症，包括NSCLC、黑色素瘤、乳腺癌、结直肠癌和卵巢癌。

[0271] F1CDx测定法利用从常规FFPE活检或手术切除样品的单DNA提取法，其中50-1000ng将进行来自309个癌症相关基因的所有编码外显子、一个启动子区、一个非编码 (ncRNA) 和所选择的来自34个常规重排的基因的内含子区 (其中21个还包括编码外显子) 的全基因组鸟枪文库构建和基于杂交的捕获。表14和15提供F1CDx中所包含的基因的完整列表。总计，该测定法检测总计324个基因中的改变。使用**ILLUMINA®** HiSeq 4000平台，测序杂交捕获选择的文库至高均匀深度 (靶向>500X中位覆盖率，覆盖率>100X时>99%的外显子)。然后用设计用于检测所有种类的基因组改变 (包括碱基取代、插入/缺失、拷贝数改变 (扩增和纯合基因缺失) 和所选择的基因组重排 (例如基因融合)) 的定制分析管线处理序列数据。此外，报告基因组特征，包括微卫星不稳定性 (MSI) 和肿瘤突变负荷 (TMB)。

[0272] 表14：包括在**FOUNDATIONONE®** CDXTM中的用于检测取代、插入和缺失 (插入/缺失) 及拷贝数改变 (CNA) 的具有完整编码外显子区的基因。

[0273]

| | | | | | | | | | |
|----------------|-----------------|----------------|---------------|---------------------------------|-----------------|---------------|----------------|---------------|----------------|
| <i>ABL1</i> | <i>BRCA2</i> | <i>CDKN2C</i> | <i>ERCC4</i> | <i>GATA3</i> | <i>KDM5C</i> | <i>MRE11A</i> | <i>PARP2</i> | <i>RAD51</i> | <i>SOX9</i> |
| <i>ACVR1B</i> | <i>BRD4</i> | <i>CEBPA</i> | <i>ERG</i> | <i>GATA4</i> | <i>KDM6A</i> | <i>MSH2</i> | <i>PARP3</i> | <i>RAD51B</i> | <i>SPEN</i> |
| <i>AKT1</i> | <i>BRIP1</i> | <i>CHEK1</i> | <i>ERRFI1</i> | <i>GATA6</i> | <i>KDR</i> | <i>MSH3</i> | <i>PAX5</i> | <i>RAD51C</i> | <i>SPOP</i> |
| | | | | <i>GID4</i> (<i>C17orf3</i> | | | | | |
| <i>AKT2</i> | <i>BTG1</i> | <i>CHEK2</i> | <i>ESR1</i> | 9) | <i>KEAP1</i> | <i>MSH6</i> | <i>PBRM1</i> | <i>RAD51D</i> | <i>SRC</i> |
| <i>AKT3</i> | <i>BTG2</i> | <i>CIC</i> | <i>EZH2</i> | <i>GNAI1</i> | <i>KEL</i> | <i>MST1R</i> | <i>PDCD1</i> | <i>RAD52</i> | <i>STAG2</i> |
| | | | | | | | <i>PDCD1LG</i> | | |
| <i>ALK</i> | <i>BTK</i> | <i>CREBBP</i> | <i>FAM46C</i> | <i>GNA13</i> | <i>KIT</i> | <i>MTAP</i> | 2 | <i>RAD54L</i> | <i>STAT3</i> |
| <i>ALOX12B</i> | <i>C11orf30</i> | <i>CRKL</i> | <i>FANCA</i> | <i>GNAQ</i> | <i>KLHL6</i> | <i>MTOR</i> | <i>PDGFRA</i> | <i>RAF1</i> | <i>STK11</i> |
| | | | | | <i>KMT2A</i> | | | | |
| <i>AMER1</i> | <i>CALR</i> | <i>CSF1R</i> | <i>FANCC</i> | <i>GNAS</i> | (<i>MLL</i>) | <i>MUTYH</i> | <i>PDGFRB</i> | <i>RARA</i> | <i>SUFU</i> |
| | | | | | <i>KMT2D</i> | | | | |
| <i>APC</i> | <i>CARD11</i> | <i>CSF3R</i> | <i>FANCG</i> | <i>GRM3</i> | (<i>MLL2</i>) | <i>MYC</i> | <i>PDK1</i> | <i>RB1</i> | <i>SYK</i> |
| <i>AR</i> | <i>CASP8</i> | <i>CTCF</i> | <i>FANCL</i> | <i>GSK3B</i> | <i>KRAS</i> | <i>MYCL</i> | <i>PIK3C2B</i> | <i>RBM10</i> | <i>TBX3</i> |
| <i>ARAF</i> | <i>CBFB</i> | <i>CTNNA1</i> | <i>FAS</i> | <i>H3F3A</i> | <i>LTK</i> | <i>MYCN</i> | <i>PIK3C2G</i> | <i>REL</i> | <i>TEK</i> |
| <i>ARFRP1</i> | <i>CBL</i> | <i>CTNNB1</i> | <i>FBXW7</i> | <i>HDAC1</i> | <i>LYN</i> | <i>MYD88</i> | <i>PIK3CA</i> | <i>RET</i> | <i>TET2</i> |
| <i>ARID1A</i> | <i>CCND1</i> | <i>CUL3</i> | <i>FGF10</i> | <i>HGF</i> | <i>MAF</i> | <i>NBN</i> | <i>PIK3CB</i> | <i>RICTOR</i> | <i>TGFBR2</i> |
| <i>ASXL1</i> | <i>CCND2</i> | <i>CUL4A</i> | <i>FGF12</i> | <i>HNFI1A</i> | <i>MAP2K1</i> | <i>NF1</i> | <i>PIK3R1</i> | <i>RNF43</i> | <i>TIPARP</i> |
| <i>ATM</i> | <i>CCND3</i> | <i>CXCR4</i> | <i>FGF14</i> | <i>HRAS</i> | <i>MAP2K2</i> | <i>NF2</i> | <i>PIM1</i> | <i>ROS1</i> | <i>TNFAIP3</i> |
| | | | | | | | | | <i>TNFRSF1</i> |
| <i>ATR</i> | <i>CCNE1</i> | <i>CYP17A1</i> | <i>FGF19</i> | <i>HSD3B1</i> | <i>MAP2K4</i> | <i>NFE2L2</i> | <i>PMS2</i> | <i>RPTOR</i> | 4 |
| <i>ATRX</i> | <i>CD22</i> | <i>DAXX</i> | <i>FGF23</i> | <i>ID3</i> | <i>MAP3K1</i> | <i>NFKB1A</i> | <i>POLD1</i> | <i>SDHA</i> | <i>TP53</i> |
| <i>AURKA</i> | <i>CD274</i> | <i>DDR1</i> | <i>FGF3</i> | <i>IDH1</i> | <i>MAP3K13</i> | <i>NKX2-1</i> | <i>POLE</i> | <i>SDHB</i> | <i>TSC1</i> |

[0274]

| | | | | | | | | | |
|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|----------------|----------------|----------------|
| <i>AURKB</i> | <i>CD70</i> | <i>DDR2</i> | <i>FGF4</i> | <i>IDH2</i> | <i>MAPK1</i> | <i>NOTCH1</i> | <i>PPARG</i> | <i>SDHC</i> | <i>TSC2</i> |
| <i>AXIN1</i> | <i>CD79A</i> | <i>DIS3</i> | <i>FGF6</i> | <i>IGF1R</i> | <i>MCL1</i> | <i>NOTCH2</i> | <i>PPP2R1A</i> | <i>SDHD</i> | <i>TYRO3</i> |
| <i>AXL</i> | <i>CD79B</i> | <i>DNMT3A</i> | <i>FGFR1</i> | <i>IKBKE</i> | <i>MDM2</i> | <i>NOTCH3</i> | <i>PPP2R2A</i> | <i>SETD2</i> | <i>U2AF1</i> |
| <i>BAP1</i> | <i>CDC73</i> | <i>DOT1L</i> | <i>FGFR2</i> | <i>IKZF1</i> | <i>MDM4</i> | <i>NPM1</i> | <i>PRDM1</i> | <i>SF3B1</i> | <i>VEGFA</i> |
| <i>BARD1</i> | <i>CDH1</i> | <i>EED</i> | <i>FGFR3</i> | <i>INPP4B</i> | <i>MED12</i> | <i>NRAS</i> | <i>PRKARIA</i> | <i>SGK1</i> | <i>VHL</i> |
| <i>BCL2</i> | <i>CDK12</i> | <i>EGFR</i> | <i>FGFR4</i> | <i>IRF2</i> | <i>MEF2B</i> | <i>NT5C2</i> | <i>PRKCI</i> | <i>SMAD2</i> | <i>WHSC1</i> |
| <i>BCL2L1</i> | <i>CDK4</i> | <i>EP300</i> | <i>FH</i> | <i>IRF4</i> | <i>MEN1</i> | <i>NTRK1</i> | <i>PTCH1</i> | <i>SMAD4</i> | <i>WHSC1L1</i> |
| <i>BCL2L2</i> | <i>CDK6</i> | <i>EPHA3</i> | <i>FLCN</i> | <i>IRS2</i> | <i>MERTK</i> | <i>NTRK2</i> | <i>PTEN</i> | <i>SMARCA4</i> | <i>WT1</i> |
| <i>BCL6</i> | <i>CDK8</i> | <i>EPHB1</i> | <i>FLT1</i> | <i>JAK1</i> | <i>MET</i> | <i>NTRK3</i> | <i>PTPN11</i> | <i>SMARCB1</i> | <i>XPO1</i> |
| <i>BCOR</i> | <i>CDKN1A</i> | <i>EPHB4</i> | <i>FLT3</i> | <i>JAK2</i> | <i>MITF</i> | <i>P2RY8</i> | <i>PTPRO</i> | <i>SMO</i> | <i>XRCC2</i> |
| <i>BCORL1</i> | <i>CDKN1B</i> | <i>ERBB2</i> | <i>FOXL2</i> | <i>JAK3</i> | <i>MKNK1</i> | <i>PALB2</i> | <i>QKI</i> | <i>SNCAIP</i> | <i>ZNF217</i> |
| <i>BRAF</i> | <i>CDKN2A</i> | <i>ERBB3</i> | <i>FUBP1</i> | <i>JUN</i> | <i>MLH1</i> | <i>PARK2</i> | <i>RAC1</i> | <i>SOCS1</i> | <i>ZNF703</i> |
| <i>BRCA1</i> | <i>CDKN2B</i> | <i>ERBB4</i> | <i>GABRA6</i> | <i>KDM5A</i> | <i>MPL</i> | <i>PARP1</i> | <i>RAD21</i> | <i>SOX2</i> | |

[0275] 表15:具有所选择的用于检测基因重排的内含子区的基因、一个具有3' UTR的基因、一个具有启动子区的基因和一个ncRNA基因。

[0276]

| | | | | | | | | |
|--------------------------------|---|----------------------------|---------------------------------|---|-----------------------------|----------------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| <i>ALK</i> 内含子 18, 19 | <i>BRCA1</i> 内含子 2, 7, 8, 12, 16, 19, 20 | <i>ETV4</i> 内含子 5, 6 | <i>EZR</i> 内含子 9- 11 | <i>KIT</i> 内含子 16 | <i>MYC</i> 内含子 1 | <i>NUTM1</i> 内含子 1 | <i>RET</i> 内含子 7-11 | <i>SLC34A2</i> 内含子 4 |
| <i>BCL2</i> 3'UTR | <i>BRCA2</i> 内含子 2 | <i>ETV5</i> 内含子 6, 7 | <i>FGFR1</i> 内含子 1, 5, 17 | <i>KMT2A</i> (<i>MLL</i>) 内含子 6-11 | <i>NOTCH2</i> 内含子 26 | <i>PDGFRA</i> 内含子 7, 9, 11 | <i>ROS1</i> 内含子 31-35 | <i>TERC</i> ncRNA |
| <i>BCR</i> 内含子 8, 13, 14 | <i>CD74</i> 内含子 6- 8 | <i>ETV6</i> 内含子 5, 6 | <i>FGFR2</i> 内含子 1, 17 | <i>MSH2</i> 内含子 5 | <i>NTRK1</i> 内含子 8-10 | <i>RAF1</i> 内含子 4-8 | <i>RSPO2</i> 内含子 1 | <i>TERT</i> 启动子 |
| <i>BRAF</i> 内含子 | <i>EGFR</i> 内含子 | <i>EWSR1</i> 内含子 | <i>FGFR3</i> 内含子 17 | <i>MYB</i> 内含子 14 | <i>NTRK2</i> 内含子 12 | <i>RARA</i> 内含子 2 | <i>SDC4</i> 内含子 2 | <i>TMPRSS2</i> 内含子 |

[0277]

| | | | | | | | | |
|-------|--------------|------|--|--|--|--|--|------|
| 7- 10 | 7, 15, 24-27 | 7-13 | | | | | | 1- 3 |
|-------|--------------|------|--|--|--|--|--|------|

[0278] F1CDx测定法鉴定基因和/或内含子序列中的多种改变,包括取代、插入/缺失和CNA。之前将F1CDx测定法鉴定为与外部验证的NGS测定和**FOUNDATIONONE®**

(F1LDT) 测定具有一致性。参见可在FoundationMedicine.com上获得的**FoundationOne®CDX™**:Technical Information,Foundation Medicine,Inc.,最后访问时间为2018年3月16日,在此以其整体引入本文作为参考。

[0279] MSK-IMPACT™

[0280] 在一些实施方案中,用MSK-IMPACT™测定法评估TMB状态。MSK-IMPACT™测定法用下一代测序来分析468个基因的突变状态。捕获靶基因,并在**ILLUMINA®**HISEQ™仪器上测序。MSK-IMPACT™测定法由US FDA批准用于检测恶性实体瘤中的体细胞突变和微卫星不稳定性。表16中显示MSK-IMPACT™测定所分析的468个基因的完整列表。参见可在accessdata.fda.gov上获得的Evaluation of Automatic Class III Designation for MSK-IMPACT(Integrated Mutation Profiling of Actionable Cancer Targets): Decision Summary,United States Food and Drug Administration,November 15,2017。

[0281] 表16:MSK-IMPACT™测定法所分析的基因。

[0282]

| | | | | | | | | | |
|--------------|---------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|--------------|
| | | | | <i>HIST3H</i> | | | | | |
| <i>ABL1</i> | <i>CALR</i> | <i>DDR2</i> | <i>FGF19</i> | <i>3</i> | <i>LYN</i> | <i>NKX2-1</i> | <i>PPARG</i> | <i>RPTOR</i> | <i>STK19</i> |
| <i>ACVR1</i> | <i>CARD11</i> | <i>DICER1</i> | <i>FGF3</i> | <i>HLA-A</i> | <i>MALT1</i> | <i>NKX3-1</i> | <i>PPM1D</i> | <i>RRAGC</i> | <i>STK40</i> |
| | | | | | | | <i>PPP2</i> | | |
| <i>AGO2</i> | <i>CARM1</i> | <i>DIS3</i> | <i>FGF4</i> | <i>HLA-B</i> | <i>MAP2K1</i> | <i>NOTCH1</i> | <i>R1A</i> | <i>RRAS</i> | <i>SUFU</i> |
| <i>AKT1</i> | <i>CASP8</i> | <i>DNAJB1</i> | <i>FGFR1</i> | <i>HNFLA</i> | <i>MAP2K2</i> | <i>NOTCH2</i> | <i>PPP4R2</i> | <i>RRAS2</i> | <i>SUZ12</i> |
| <i>AKT2</i> | <i>CBFB</i> | <i>DNMT1</i> | <i>FGFR2</i> | <i>HOXB13</i> | <i>MAP2K4</i> | <i>NOTCH3</i> | <i>PPP6C</i> | <i>RTEL1</i> | <i>SYK</i> |
| <i>AKT3</i> | <i>CBL</i> | <i>DNMT3A</i> | <i>FGFR3</i> | <i>HRAS</i> | <i>MAP3K1</i> | <i>NOTCH4</i> | <i>PRDM1</i> | <i>RUNX1</i> | <i>TAP1</i> |
| | | | | | <i>MAP3K1</i> | | | | |
| <i>ALK</i> | <i>CCND1</i> | <i>DNMT3B</i> | <i>FGFR4</i> | <i>ICOSLG</i> | <i>3</i> | <i>NPM1</i> | <i>PRDM14</i> | <i>RXRA</i> | <i>TAP2</i> |

[0283]

| | | | | | | | | | |
|----------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| <i>ALOX</i> | | | | | <i>MAP3</i> | | | | |
| <i>I2B</i> | <i>CCND2</i> | <i>DOT1L</i> | <i>FH</i> | <i>ID3</i> | <i>K14</i> | <i>NRAS</i> | <i>PREX2</i> | <i>RYBP</i> | <i>TBX3</i> |
| <i>AMER1</i> | <i>CCND3</i> | <i>DROSHA</i> | <i>FLCN</i> | <i>IDH1</i> | <i>MAPK1</i> | <i>NSD1</i> | <i>PRKARIA</i> | <i>SDHA</i> | <i>TCEB1</i> |
| <i>ANKRD11</i> | <i>CCNE1</i> | <i>DUSP4</i> | <i>FLT1</i> | <i>IDH2</i> | <i>MAPK3</i> | <i>NTHL1</i> | <i>PRKCI</i> | <i>SDHAF2</i> | <i>TCF3</i> |
| | | | | | <i>MAPKA</i> | | | | |
| <i>APC</i> | <i>CD274</i> | <i>E2F3</i> | <i>FLT3</i> | <i>IFNGR1</i> | <i>P1</i> | <i>NTRK1</i> | <i>PRKD1</i> | <i>SDHB</i> | <i>TCF7L2</i> |
| <i>AR</i> | <i>CD276</i> | <i>EED</i> | <i>FLT4</i> | <i>IGF1</i> | <i>MAX</i> | <i>NTRK2</i> | <i>PTCH1</i> | <i>SDHC</i> | <i>TEK</i> |
| <i>ARAF</i> | <i>CD79A</i> | <i>EGFL7</i> | <i>FOXA1</i> | <i>IGF1R</i> | <i>MCL1</i> | <i>NTRK3</i> | <i>PTEN</i> | <i>SDHD</i> | <i>TERT</i> |
| <i>ARID1A</i> | <i>CD79B</i> | <i>EGFR</i> | <i>FOXL2</i> | <i>IGF2</i> | <i>MDC1</i> | <i>NUF2</i> | <i>PTP4A1</i> | <i>SESN1</i> | <i>TET1</i> |
| <i>ARID1B</i> | <i>CDC42</i> | <i>EIF1AX</i> | <i>FOXO1</i> | <i>IKBKE</i> | <i>MDM2</i> | <i>NUP93</i> | <i>PTPN11</i> | <i>SESN2</i> | <i>TET2</i> |
| <i>ARID2</i> | <i>CDC73</i> | <i>EIF4A2</i> | <i>FOXP1</i> | <i>IKZF1</i> | <i>MDM4</i> | <i>PAK1</i> | <i>PTPRD</i> | <i>SESN3</i> | <i>TGFBR1</i> |
| <i>ARID5B</i> | <i>CDH1</i> | <i>EIF4E</i> | <i>FUBP1</i> | <i>IL10</i> | <i>MED12</i> | <i>PAK7</i> | <i>PTPRS</i> | <i>SETD2</i> | <i>TGFBR2</i> |
| <i>ASXL1</i> | <i>CDK12</i> | <i>ELF3</i> | <i>FYN</i> | <i>IL7R</i> | <i>MEF2B</i> | <i>PALB2</i> | <i>PTPRT</i> | <i>SETD8</i> | <i>TMEM127</i> |
| <i>ASXL2</i> | <i>CDK4</i> | <i>EP300</i> | <i>GATA1</i> | <i>INHA</i> | <i>MEN1</i> | <i>PARK2</i> | <i>RAB35</i> | <i>SF3B1</i> | <i>TMPRSS2</i> |
| <i>ATM</i> | <i>CDK6</i> | <i>EPAS1</i> | <i>GATA2</i> | <i>INHBA</i> | <i>MET</i> | <i>PARP1</i> | <i>RAC1</i> | <i>SH2B3</i> | <i>TNFAIP3</i> |
| | | | | | | | | | <i>TNFRSF1</i> |
| <i>ATR</i> | <i>CDK8</i> | <i>EPCAM</i> | <i>GATA3</i> | <i>INPP4A</i> | <i>MGA</i> | <i>PAX5</i> | <i>RAC2</i> | <i>SH2D1A</i> | <i>4</i> |
| <i>ATRX</i> | <i>CDKN1A</i> | <i>EPHA3</i> | <i>GLI1</i> | <i>INPP4B</i> | <i>MITF</i> | <i>PBRM1</i> | <i>RAD21</i> | <i>SHOC2</i> | <i>TOP1</i> |
| <i>AURKA</i> | <i>CDKN1B</i> | <i>EPHA5</i> | <i>GNAI1</i> | <i>INPPL1</i> | <i>MLH1</i> | <i>PDCD1</i> | <i>RAD50</i> | <i>SHQ1</i> | <i>TP53</i> |
| | <i>CDKN2Ap</i> | | | | | <i>PDCD1LG</i> | | | |
| <i>AURKB</i> | <i>14ARF</i> | <i>EPHA7</i> | <i>GNAQ</i> | <i>INSR</i> | <i>MPL</i> | <i>2</i> | <i>RAD51</i> | <i>SLX4</i> | <i>TP53BP1</i> |
| | <i>CDKN2Ap</i> | | | | | | | | |
| <i>AXIN1</i> | <i>16INK4A</i> | <i>EPHB1</i> | <i>GNAS</i> | <i>IRF4</i> | <i>MRE11A</i> | <i>PDGFRA</i> | <i>RAD51B</i> | <i>SMAD2</i> | <i>TP63</i> |
| <i>AXIN2</i> | <i>CDKN2B</i> | <i>ERBB2</i> | <i>GPS2</i> | <i>IRS1</i> | <i>MSH2</i> | <i>PDGFRB</i> | <i>RAD51C</i> | <i>SMAD3</i> | <i>TRAF2</i> |
| <i>AXL</i> | <i>CDKN2C</i> | <i>ERBB3</i> | <i>GREM1</i> | <i>IRS2</i> | <i>MSH3</i> | <i>PDPK1</i> | <i>RAD51D</i> | <i>SMAD4</i> | <i>TRAF7</i> |
| <i>B2M</i> | <i>CEBPA</i> | <i>ERBB4</i> | <i>GRIN2A</i> | <i>JAK1</i> | <i>MSH6</i> | <i>PGR</i> | <i>RAD52</i> | <i>SMARCA4</i> | <i>TSC1</i> |
| <i>BABAM1</i> | <i>CENPA</i> | <i>ERCC2</i> | <i>GSK3B</i> | <i>JAK2</i> | <i>MSI1</i> | <i>PHOX2B</i> | <i>RAD54L</i> | <i>SMARCB1</i> | <i>TSC2</i> |

[0284]

| | | | | | | | | | |
|----------------|----------------|----------------|-----------------|---------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| <i>BAP1</i> | <i>CHEK1</i> | <i>ERCC3</i> | <i>H3F3A</i> | <i>JAK3</i> | <i>MSI2</i> | <i>PIK3C2G</i> | <i>RAF1</i> | <i>SMARCD1</i> | <i>TSHR</i> |
| <i>BARD1</i> | <i>CHEK2</i> | <i>ERCC4</i> | <i>H3F3B</i> | <i>JUN</i> | <i>MST1</i> | <i>PIK3C3</i> | <i>RARA</i> | <i>SMO</i> | <i>U2AF1</i> |
| <i>BBC3</i> | <i>CIC</i> | <i>ERCC5</i> | <i>H3F3C</i> | <i>KDM5A</i> | <i>MST1R</i> | <i>PIK3CA</i> | <i>RASA1</i> | <i>SMYD3</i> | <i>UPF1</i> |
| <i>BCL10</i> | <i>CREBBP</i> | <i>ERF</i> | <i>HGF</i> | <i>KDM5C</i> | <i>MTOR</i> | <i>PIK3CB</i> | <i>RB1</i> | <i>SOC31</i> | <i>VEGFA</i> |
| <i>BCL2</i> | <i>CRKL</i> | <i>ERG</i> | <i>HIST1H1C</i> | <i>KDM6A</i> | <i>MUTYH</i> | <i>PIK3CD</i> | <i>RBM10</i> | <i>SOS1</i> | <i>VHL</i> |
| | | | <i>HIST1H2B</i> | | | | | | |
| <i>BCL2L1</i> | <i>CRLF2</i> | <i>ERRF1</i> | <i>D</i> | <i>KDR</i> | <i>MYC</i> | <i>PIK3CG</i> | <i>RECQL</i> | <i>SOX17</i> | <i>VTCN1</i> |
| <i>BCL2L11</i> | <i>CSDE1</i> | <i>ESR1</i> | <i>HIST1H3A</i> | <i>KEAP1</i> | <i>MYCL1</i> | <i>PIK3R1</i> | <i>RECQL4</i> | <i>SOX2</i> | <i>WHSC1</i> |
| <i>BCL6</i> | <i>CSF1R</i> | <i>ETV1</i> | <i>HIST1H3B</i> | <i>KIT</i> | <i>MYCN</i> | <i>PIK3R2</i> | <i>REL</i> | <i>SOX9</i> | <i>WHSC1L1</i> |
| <i>BCOR</i> | <i>CSF3R</i> | <i>ETV6</i> | <i>HIST1H3C</i> | <i>KLF4</i> | <i>MYD88</i> | <i>PIK3R3</i> | <i>RET</i> | <i>SPEN</i> | <i>WT1</i> |
| <i>BIRC3</i> | <i>CTCF</i> | <i>EZH1</i> | <i>HIST1H3D</i> | <i>KMT2A</i> | <i>MYOD1</i> | <i>PIM1</i> | <i>RFWD2</i> | <i>SPOP</i> | <i>WWTR1</i> |
| <i>BLM</i> | <i>CTLA-4</i> | <i>EZH2</i> | <i>HIST1H3E</i> | <i>KMT2B</i> | <i>NBN</i> | <i>PLCG2</i> | <i>RHEB</i> | <i>SPRED1</i> | <i>XIAP</i> |
| <i>BMPRI1A</i> | <i>CTNNB1</i> | <i>FAM175A</i> | <i>HIST1H3F</i> | <i>KMT2C</i> | <i>NCOA3</i> | <i>PLK2</i> | <i>RHOA</i> | <i>SRC</i> | <i>XPO1</i> |
| <i>BRAF</i> | <i>CUL3</i> | <i>FAM46C</i> | <i>HIST1H3G</i> | <i>KMT2D</i> | <i>NCOR1</i> | <i>PMAIP1</i> | <i>RICTOR</i> | <i>SRSF2</i> | <i>XRCC2</i> |
| <i>BRCA1</i> | <i>CXCR4</i> | <i>FAM58A</i> | <i>HIST1H3H</i> | <i>KNSTRN</i> | <i>NEGR1</i> | <i>PMS1</i> | <i>RIT1</i> | <i>STAG2</i> | <i>YAP1</i> |
| <i>BRCA2</i> | <i>CYLD</i> | <i>FANCA</i> | <i>HIST1H3I</i> | <i>KRAS</i> | <i>NF1</i> | <i>PMS2</i> | <i>RNF43</i> | <i>STAT3</i> | <i>YES1</i> |
| <i>BRD4</i> | <i>CYSLTR2</i> | <i>FANCC</i> | <i>HIST1H3J</i> | <i>LATS1</i> | <i>NF2</i> | <i>PNRC1</i> | <i>ROS1</i> | <i>STAT5A</i> | <i>ZFHX3</i> |
| <i>BRIP1</i> | <i>DAXX</i> | <i>FAT1</i> | <i>HIST2H3C</i> | <i>LATS2</i> | <i>NFE2L2</i> | <i>POLD1</i> | <i>RPS6KA4</i> | <i>STAT5B</i> | |
| <i>BTK</i> | <i>DCUN1D1</i> | <i>FBXW7</i> | <i>HIST2H3D</i> | <i>LMO1</i> | <i>NFKB1A</i> | <i>POLE</i> | <i>RPS6KB2</i> | <i>STK11</i> | |
| | | | | <i>HIST3H</i> | | | | | |
| <i>ABL1</i> | <i>CALR</i> | <i>DDR2</i> | <i>FGF19</i> | <i>3</i> | <i>LYN</i> | <i>NKX2-1</i> | <i>PPARG</i> | <i>RPTOR</i> | <i>STK19</i> |

[0285] **NEOGENOMICS®** NEOTYPE™测定法

[0286] 在一些实施方案中,用**NEOGENOMICS®**NEOTYPE™测定法来确定TMB。在一些实施方案中,用NEOTYPE™Discovery Profile来确定TMB。在一些实施方案中,用NEOTYPE™Solid Tumor Profile来确定TMB。**NEOGENOMICS®**测定法测量所测序的DNA的每兆碱基中非同义DNA编码序列改变的数目。

[0287] ONCOMINE™肿瘤突变负荷测定法

[0288] 在一些实施方案中,用THERMOFISHER **SCIENTIFIC®** ONCOMINE™肿瘤突变测定法来确定TMB。在一些实施方案中,用THERMOFISHER **SCIENTIFIC®** ION TORRENT™ONCOMINE™肿瘤突变测定法来确定TMB。ION TORRENT™ONCOMINE™肿瘤突变测定法是靶向NGS测定法,其定量体细胞突变来确定肿瘤突变负荷。该测定法覆盖1.7Mb DNA。

[0289] NOVOGENE™NOVOPM™测定法

[0290] 在一些实施方案中,用NOVOGENE™NOVOPM™测定法来确定TMB。在一些实施方案中,用NOVOGENE™NOVOPM™Cancer Panel测定法来确定TMB。NOVOGENE™NOVOPM™Cancer Panel测定法是全面NGS癌症系列,其分析548个基因的完整编码区和21个基因的内含子(代表约1.5Mb的DNA),根据National Comprehensive Cancer Network(NCCN)指南和医学文献与实体瘤的诊断和/或治疗相关。该测定法检测SNV、插入/缺失、融合和拷贝数变异(CNV)基因组异常。

[0291] 其他TMB测定法

[0292] 在一些实施方案中,用**CARIS®**Life Sciences提供的TMB测定法来确定TMB。在一些实施方案中,用**PESONALIS®**ACE ImmunoID测定法来确定TMB。在一些实施方案中,用**PGDX®**CANCERXOME™-R测定法来确定TMB。

[0293] 还在另一具体实施方案中,该基因组分析检测所有突变类型,即单核苷酸变体、插入/缺失(indels)、拷贝数变异和重排,例如易位、表达和外遗传标志物。

[0294] 全面的基因系列通常包含基于待分析的肿瘤类型选择的预先确定的基因。因此,用来测量TMB状态的基因组分析谱可以基于受试者所具有的肿瘤类型来选择。在一个实施方案中,该基因组分析谱可以包括实体瘤所特有的基因集。在另一实施方案中,该基因组分析谱可以包括血液恶性肿瘤和肉瘤所特有的基因集。

[0295] 在一个实施方案中,该基因组分析谱包含选自以下的一个或多个基因: ABL1、BRAF、CHEK1、FANCC、GATA3、JAK2、MITF、PDCD1LG2、RBM10、STAT4、ABL2、BRCA1、CHEK2、FANCD2、GATA4、JAK3、MLH1、PDGFRA、RET、STK11、ACVR1B、BRCA2、CIC、FANCE、GATA6、JUN、MPL、PDGFRB、RICTOR、SUFU、AKT1、BRD4、CREBBP、FANCF、GID4(C17orf39)、KAT6A(MYST3)、MRE11A、PDK1、RNF43、SYK、AKT2、BRIP1、CRKL、FANCG、GLI1、KDM5A、MSH2、PIK3C2B、ROS1、TAF1、AKT3、BTG1、CRLF2、FANCL、GNA11、KDM5C、MSH6、PIK3CA、RPTOR、TBX3、ALK、BTK、CSF1R、FAS、GNA13、KDM6A、MTOR、PIK3CB、RUNX1、TERC、AMER1(FAM123B)、C11orf30(EMSY)、CTCF、FAT1、GNAQ、KDR、MUTYH、PIK3CG、RUNX1T1、TERT(仅启动子)、APC、CARD11、CTNNA1、FBXW7、GNAS、KEAP1、MYC、PIK3R1、SDHA、TET2、AR、CBFB、CTNNB1、FGF10、GPR124、KEL、MYCL(MYCL1)、PIK3R2、SDHB、TGFB2、ARAF、CBL、CUL3、FGF14、GRIN2A、KIT、MYCN、PLCG2、SDHC、TNFAIP3、ARFRP1、CCND1、CYLD、FGF19、GRM3、KLHL6、MYD88、PMS2、SDHD、TNFRSF14、ARID1A、CCND2、DAXX、FGF23、GSK3B、KMT2A(MLL)、NF1、POLD1、SETD2、TOP1、ARID1B、CCND3、DDR2、FGF3、H3F3A、KMT2C(MLL3)、NF2、POLE、SF3B1、TOP2A、ARID2、CCNE1、DICER1、FGF4、HGF、KMT2D(MLL2)、NFE2L2、PPP2R1A、SLIT2、TP53、ASXL1、CD274、DNMT3A、FGF6、HNF1A、KRAS、NFKBIA、PRDM1、SMAD2、TSC1、ATM、CD79A、DOT1L、FGFR1、HRAS、LMO1、NKX2-1、PREX2、SMAD3、TSC2、ATR、CD79B、EGFR、FGFR2、HSD3B1、LRP1B、NOTCH1、PRKAR1A、SMAD4、TSHR、ATRX、CDC73、EP300、FGFR3、HSP90AA1、LYN、NOTCH2、PRKCI、SMARCA4、U2AF1、AURKA、CDH1、EPHA3、FGFR4、IDH1、LZTR1、NOTCH3、PRKDC、SMARCB1、VEGFA、AURKB、CDK12、EPHA5、FH、IDH2、MAGI2、NPM1、PRSS8、SMO、VHL、AXIN1、CDK4、EPHA7、FLCN、IGF1R、MAP2K1、NRAS、PTCH1、SNCAIP、WISP3、AXL、CDK6、EPHB1、FLT1、IGF2、MAP2K2、NSD1、PTEN、SOCS1、WT1、BAP1、CDK8、ERBB2、FLT3、IKBKE、MAP2K4、NTRK1、PTPN11、SOX10、XP01、BARD1、CDKN1A、ERBB3、FLT4、IKZF1、MAP3K1、NTRK2、QKI、SOX2、ZBTB2、BCL2、CDKN1B、ERBB4、FOXO2、IL7R、MCL1、NTRK3、RAC1、SOX9、ZNF217、BCL2L1、CDKN2A、ERG、FOXO1、INHBA、MDM2、NUP93、RAD50、SPEN、ZNF703、BCL2L2、CDKN2B、ERF1、FRS2、INPP4B、MDM4、

PAK3、RAD51、SPOP、BCL6、CDKN2C、ESR1、FUBP1、IRF2、MED12、PALB2、RAF1、SPTA1、BCOR、CEBPA、EZH2、GABRA6、IRF4、MEF2B、PARK2、RANBP2、SRC、BCORL1、CHD2、FAM46C、GATA1、IRS2、MEN1、PAX5、RARA、STAG2、BLM、CHD4、FANCA、GATA2、JAK1、MET、PBRM1、RB1、STAT3和它们的任意组合。在其他实施方案中,该TMB分析进一步包括鉴定ETV4、TMPRSS2、ETV5、BCR、ETV1、ETV6和MYB的一个或多个中的基因组改变。

[0296] 在另一实施方案中,该基因组分析谱包含选自以下的一个或多个基因: ABL1、12B、ABL2、ACTB、ACVR1、ACVR1B、AGO2、AKT1、AKT2、AKT3、ALK、ALOX、ALOX12B、AMER1、AMER1 (FAM123B or WTX)、AMER1 (FAM123B)、ANKRD11、APC、APH1A、AR、ARAF、ARFRP1、ARHGAP26 (GRAF)、ARID1A、ARID1B、ARID2、ARID5B、Arv7、ASMTL、ASXL1、ASXL2、ATM、ATR、ATRX、AURKA、AURKB、AXIN1、AXIN2、AXL、B2M、BABAM1、BAP1、BARD1、BBC3、BCL10、BCL11B、BCL2、BCL2L1、BCL2L11、BCL2L2、BCL6、BCL7A、BCOR、BCORL1、BIRC3、BLM、BMPR1A、BRAF、BRCA1、BRCA2、BRD4、BRIP1、BRIP1 (BACH1)、BRSK1、BTG1、BTG2、BTK、BTLA、C11orf 30 (EMSY)、C11orf30、C11orf30 (EMSY)、CAD、CALR、CARD11、CARM1、CASP8、CBFB、CBL、CCND1、CCND2、CCND3、CCNE1、CCT6B、CD22、CD274、CD274 (PD-L1)、CD276、CD36、CD58、CD70、CD79A、CD79B、CDC42、CDC73、CDH1、CDK12、CDK4、CDK6、CDK8、CDKN1A、CDKN1B、CDKN2A、CDKN2Ap14ARF、CDKN2Ap16INK4A、CDKN2B、CDKN2C、CEBPA、CENPA、CHD2、CHD4、CHEK1、CHEK2、CIC、CIITA、CKS1B、CPS1、CREBBP、CRKL、CRLF2、CSDE1、CSF1R、CSF3R、CTCF、CTLA-4、CTNN B1、CTNNA1、CTNNB1、CUL3、CUL4A、CUX1、CXCR4、CYLD、CYP17A1、CYSLTR2、DAXX、DCUN1D1、DDR1、DDR2、DDX3X、DH2、DICER1、DIS3、DNAJB1、DNM2、DNMT1、DNMT3A、DNMT3B、DOT1L、DROSHA、DTX1、DUSP2、DUSP4、DUSP9、E2F3、EBF1、ECT2L、EED、EGFL7、EGFR、EIF1AX、EIF4A2、EIF4E、ELF3、ELP2、EML4、EML4-ALK、EP300、EPAS1、EPCAM、EPAH3、EPAH5、EPAH7、EPHB1、EPHB4、ERBB2、ERBB3、ERBB4、ERCC1、ERCC2、ERCC3、ERCC4、ERCC5、ERF、ERG、ERRFI1、ERRF11、ESR1、ETS1、ETV1、ETV4、ETV5、ETV6、EWSR1、EXOSC6、EZH1、EZH2、FAF1、FAM175A、FAM46C、FAM58A、FANCA、FANCC、FANCD2、FANCE、FANCF、FANCG、FANCI、FANCL、FAS、FAS (TNFRSF6)、FAT1、FBX011、FBX031、FBXW7、FGF1、FGF10、FGF12、FGF14、FGF19、FGF2、FGF23、FGF3、FGF4、FGF5、FGF6、FGF7、FGF8、FGF9、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FH、FHIT、FLCN、FLI1、FLT1、FLT3、FLT4、FLYWCH1、FOXA1、FOXL2、FOXO1、FOXO3、FOXPI、FRS2、FUBP1、FYN、GABRA6、GADD45B、GATA1、GATA2、GATA3、GATA4、GATA6、GEN1、GID4 (C17orf 39)、GID4 (C17orf39)、GLI1、GLI11、GNA11、GNA12、GNA13、GNAQ、GNAS、GPR124、GPS2、GREM1、GRIN2A、GRM3、GSK3B、GTSE1、H3F3A、H3F3B、H3F3C、HDAC1、HDAC4、HDAC7、Hedgehog、HER-2/NEU; ERBB2、HGF、HIST1H1C、HIST1H1D、HIST1H1E、HIST1H2AC、HIST1H2AG、HIST1H2AL、HIST1H2AM、HIST1H2BC、HIST1H2BD、HIST1H2BJ、HIST1H2BK、HIST1H2BO、HIST1H3A、HIST1H3B、HIST1H3C、HIST1H3D、HIST1H3E、HIST1H3F、HIST1H3G、HIST1H3H、HIST1H3I、HIST1H3J、HIST2H3C、HIST2H3D、HIST3H3、HLA-A、HLA-B、HNF1A、HOXB13、HRAS、HSD3B1、HSP90AA1、ICK、ICOSLG、ID3、IDH1、IDH2、IFNGR1、IGF1、IGF1R、IGF2、IKBKE、IKZF1、IKZF2、IKZF3、IL10、IL7R、INHA、INHBA、INPP4A、INPP4B、INPP5D (SHIP)、INPPL1、INSR、IRF1、IRF2、IRF4、IRF8、IRS1、IRS2、JAK1、JAK2、JAK3、JARID2、JUN、K14、KAT6A (MYST 3)、KAT6A (MYST3)、KDM2B、KDM4C、KDM5A、KDM5C、KDM6A、KDR、KEAP1、KEL、KIF5B、KIT、KLF4、KLHL6、KMT2A、KMT2A (MLL)、KMT2B、KMT2C、KMT2C (MLL3)、KMT2D、KMT2D (MLL2)、KNSTRN、KRAS、LAMP1、LATS1、LATS2、LEF1、LMO1、LRP1B、LRRK2、LTK、LYN、LZTR1、MAF、MAFB、MAGED1、MAGI2、MALT1、MAP2K1、

MAP2K1 (MEK1)、MAP2K2、MAP2K2 (MEK2)、MAP2K4、MAP3、MAP3K1、MAP3K13、MAP3K14、MAP3K6、MAP3K7、MAPK1、MAPK3、MAPKAP1、MAX、MCL1、MDC1、MDM2、MDM4、MED12、MEF2B、MEF2C、MEK1、MEN1、MERTK、MET、MGA、MIB1、MITF、MKI67、MKNK1、MLH1、MLLT3、MPL、MRE 11A、MRE11A、MSH2、MSH3、MSH6、MSI1、MSI2、MST1、MST1R、MTAP、MTOR、MUTYH、MYC、MYCL、MYCL (MYC L1)、MYCL (MYCL1)、MYCL1、MYCN、MYD88、MYO18A、MYOD1、NBN、NCOA3、NCOR1、NCOR2、NCSTN、NEGR1、NF1、NF2、NFE2L2、NFKBIA、NKX2-1、NKX3-1、NOD1、NOTCH1、NOTCH2、NOTCH3、NOTCH4、NPM1、NRAS、NRG1、NSD1、NT5C2、NTHL1、NTRK1、NTRK2、NTRK3、NUF2、NUP93、NUP98、P2RY8、PAG1、PAK1、PAK3、PAK7、PALB2、PARK2、PARP1、PARP2、PARP3、PASK、PAX3、PAX5、PAX7、PBRM1、PC、PCBP1、PCLO、PDCD1、PDCD1 (PD-1)、PDCD11、PDCD1LG2、PDCD1LG2 (PD-L2)、PDGFRA、PDGFRB、PDK1、PDPK1、PGR、PHF6、PHOX2B、PIK3C2B、PIK3C2G、PIK3C3、PIK3CA、PIK3CB、PIK3CD、PIK3CG、PIK3R1、PIK3R2、PIK3R3、PIM1、PLCG2、PLK2、PMAIP1、PMS1、PMS2、PNRC1、POLD1、POLE、POT1、PPARG、PPM1D、PPP2、PPP2R1A、PPP2R2A、PPP4R2、PPP6C、PRDM1、PRDM14、PREX2、PRKAR1A、PRKCI、PRKD1、PRKDC、PRSS8、PTCH1、PTEN、PTP4A1、PTPN11、PTPN2、PTPN6 (SHP-1)、PTPRD、PTPRO、PTPRS、PTPRT、QKI、R1A、RAB35、RAC1、RAC2、RAD21、RAD50、RAD51、RAD51B、RAD51C、RAD51D、RAD52、RAD54L、RAF1、RANBP2、RARA、RASA1、RASGEF1A、RB1、RBM10、RECQL、RECQL4、REL、RELN、RET、RFWD2、RHEB、RHOA、RICTOR、RIT1、RNF43、ROS1、RPS6KA4、RPS6KB1、RPS6KB2、RPTOR、RRAGC、RRAS、RRAS2、RTEL1、RUNX1、RUNX1T1、RXRA、RYBP、S1PR2、SDHA、SDHAF2、SDHB、SDHC、SDHD、SERP2、SESN1、SESN2、SESN3、SETBP1、SETD2、SETD8、SF3B1、SGK1、SH2B3、SH2D1A、SHOC2、SHQ1、SLIT2、SLX4、SMAD2、SMAD3、SMAD4、SMARCA1、SMARCA4、SMARCB1、SMARCD1、SMC1A、SMC3、SMO、SMYD3、SNCAIP、SOCS1、SOCS2、SOCS3、SOS1、SOX10、SOX17、SOX2、SOX9、SPEN、SPOP、SPRED1、SPTA1、SRC、SRSF2、STAG2、STAT3、STAT4、STAT5A、STAT5B、STAT6、STK11、STK19、STK40、SUFU、SUZ12、SYK、TAF1、TAP1、TAP2、TBL1XR1、TBX3、TCEB1、TCF3、TCF3 (E2A)、TCF7L2、TCL1A (TCL1)、TEK、TERC、TERT、TERT启动子、TET1、TET2、TFRC、TGFB1、TGFB2、TIPARP、TLL2、TMEM127、TMEM30A、TMPRSS2、TMSB4XP8 (TMSL3)、TNFAIP3、TNFRSF11A、TNFRSF14、TNFRSF17、TOP1、TOP2A、TP53、TP53BP1、TP63、TRAF2、TRAF3、TRAF5、TRAF7、TSC1、TSC2、TSHR、TUSC3、TYK2、TYRO3、U2AF1、U2AF2、UPF1、VEGFA、VHL、VTCN1、WDR90、WHSC1、WHSC1 (MMSET or NSD2)、WHSC1L1、WISP3、WT1、WWTR1、XBP1、XIAP、XP01、XRCC2、YAP1、YES1、YY1AP1、ZBTB2、ZFHX3、ZMYM3、ZNF217、ZNF24 (ZSCAN3)、ZNF703、ZRSR2和它们的任意组合。

[0297] 在另一实施方案中,该基因组分析测定包含选自以下的至少约20个、至少约30个、至少约40个、至少约50个、至少约60个、至少约70个、至少约80个、至少约90个、至少约100个、至少约110个、至少约120个、至少约130个、至少约140个、至少约150个、至少约160个、至少约170个、至少约180个、至少约190个、至少约200个、至少约210个、至少约220个、至少约230个、至少约240个、至少约250个、至少约260个、至少约270个、至少约280个、至少约290个、或至少约300个基因: ABL1、12B、ABL2、ACTB、ACVR1、ACVR1B、AGO2、AKT1、AKT2、AKT3、ALK、ALOX、ALOX12B、AMER1、AMER1 (FAM123B或WTX)、AMER1 (FAM123B)、ANKRD11、APC、APH1A、AR、ARAF、ARFRP1、ARHGAP26 (GRAF)、ARID1A、ARID1B、ARID2、ARID5B、ARv7、ASMTL、ASXL1、ASXL2、ATM、ATR、ATRX、AURKA、AURKB、AXIN1、AXIN2、AXL、B2M、BABAM1、BAP1、BARD1、BBC3、BCL10、BCL11B、BCL2、BCL2L1、BCL2L11、BCL2L2、BCL6、BCL7A、BCOR、BCORL1、BIRC3、BLM、BMPR1A、BRAF、BRCA1、BRCA2、BRD4、BRIP1、BRIP1 (BACH1)、BRSK1、BTG1、BTG2、BTK、BTLA、C11orf 30

(EMSY)、C11orf30、C11orf30 (EMSY)、CAD、CALR、CARD11、CARM1、CASP8、CBFB、CBL、CCND1、CCND2、CCND3、CCNE1、CCT6B、CD22、CD274、CD274 (PD-L1)、CD276、CD36、CD58、CD70、CD79A、CD79B、CDC42、CDC73、CDH1、CDK12、CDK4、CDK6、CDK8、CDKN1A、CDKN1B、CDKN2A、CDKN2A_{p14ARF}、CDKN2A_{p16INK4A}、CDKN2B、CDKN2C、CEBPA、CENPA、CHD2、CHD4、CHEK1、CHEK2、CIC、CIITA、CKS1B、CPS1、CREBBP、CRKL、CRLF2、CSDE1、CSF1R、CSF3R、CTCF、CTLA-4、CTNNB1、CTNNA1、CTNNB1、CUL3、CUL4A、CUX1、CXCR4、CYLD、CYP17A1、CYSLTR2、DAXX、DCUN1D1、DDR1、DDR2、DDX3X、DH2、DICER1、DIS3、DNAJB1、DNM2、DNMT1、DNMT3A、DNMT3B、DOT1L、DROSHA、DTX1、DUSP2、DUSP4、DUSP9、E2F3、EBF1、ECT2L、EED、EGFL7、EGFR、EIF1AX、EIF4A2、EIF4E、ELF3、ELP2、EML4、EML4-ALK、EP300、EPAS1、EPCAM、EPAH3、EPAH5、EPAH7、EPHB1、EPHB4、ERBB2、ERBB3、ERBB4、ERCC1、ERCC2、ERCC3、ERCC4、ERCC5、ERF、ERG、ERRFI1、ERRFI1、ESR1、ETS1、ETV1、ETV4、ETV5、ETV6、EWSR1、EXOSC6、EZH1、EZH2、FAF1、FAM175A、FAM46C、FAM58A、FANCA、FANCC、FANCD2、FANCE、FANCF、FANCG、FANCI、FANCL、FAS、FAS (TNFRSF6)、FAT1、FBXO11、FBXO31、FBXW7、FGF1、FGF10、FGF12、FGF14、FGF19、FGF2、FGF23、FGF3、FGF4、FGF5、FGF6、FGF7、FGF8、FGF9、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FH、FHIT、FLCN、FLI1、FLT1、FLT3、FLT4、FLYWCH1、FOXA1、FOXL2、FOXO1、FOXO3、FOXP1、FRS2、FUBP1、FYN、GABRA6、GADD45B、GATA1、GATA2、GATA3、GATA4、GATA6、GEN1、GID4 (C17orf 39)、GID4 (C17orf39)、GLI1、GLI1、GNA11、GNA12、GNA13、GNAQ、GNAS、GPR124、GPS2、GREM1、GRIN2A、GRM3、GSK3B、GTSE1、H3F3A、H3F3B、H3F3C、HDAC1、HDAC4、HDAC7、Hedgehog、HER-2/NEU、ERBB2、HGF、HIST1H1C、HIST1H1D、HIST1H1E、HIST1H2AC、HIST1H2AG、HIST1H2AL、HIST1H2AM、HIST1H2BC、HIST1H2BD、HIST1H2BJ、HIST1H2BK、HIST1H2B0、HIST1H3A、HIST1H3B、HIST1H3C、HIST1H3D、HIST1H3E、HIST1H3F、HIST1H3G、HIST1H3H、HIST1H3I、HIST1H3J、HIST2H3C、HIST2H3D、HIST3H3、HLA-A、HLA-B、HNF1A、HOXB13、HRAS、HSD3B1、HSP90AA1、ICK、ICOSLG、ID3、IDH1、IDH2、IFNGR1、IGF1、IGF1R、IGF2、IKBKE、IKZF1、IKZF2、IKZF3、IL10、IL7R、INHA、INHBA、INPP4A、INPP4B、INPP5D (SHIP)、INPPL1、INSR、IRF1、IRF2、IRF4、IRF8、IRS1、IRS2、JAK1、JAK2、JAK3、JARID2、JUN、K14、KAT6A (MYST 3)、KAT6A (MYST3)、KDM2B、KDM4C、KDM5A、KDM5C、KDM6A、KDR、KEAP1、KEL、KIF5B、KIT、KLF4、KLHL6、KMT2A、KMT2A (MLL)、KMT2B、KMT2C、KMT2C (MLL3)、KMT2D、KMT2D (MLL2)、KNSTRN、KRAS、LAMP1、LATS1、LATS2、LEF1、LMO1、LRP1B、LRRK2、LTK、LYN、LZTR1、MAF、MAFB、MAGED1、MAGI2、MALT1、MAP2K1、MAP2K1 (MEK1)、MAP2K2、MAP2K2 (MEK2)、MAP2K4、MAP3、MAP3K1、MAP3K13、MAP3K14、MAP3K6、MAP3K7、MAPK1、MAPK3、MAPKAP1、MAX、MCL1、MDC1、MDM2、MDM4、MED12、MEF2B、MEF2C、MEK1、MEN1、MERTK、MET、MGA、MIB1、MITF、MKI67、MKNK1、MLH1、MLLT3、MPL、MRE 11A、MRE11A、MSH2、MSH3、MSH6、MSI1、MSI2、MST1、MST1R、MTAP、MTOR、MUTYH、MYC、MYCL、MYCL (MYC L1)、MYCL (MYCL1)、MYCL1、MYCN、MYD88、MYO18A、MYOD1、NBN、NCOA3、NCOR1、NCOR2、NCSTN、NEGR1、NF1、NF2、NFE2L2、NFKBIA、NKX2-1、NKX3-1、NOD1、NOTCH1、NOTCH2、NOTCH3、NOTCH4、NPM1、NRAS、NRG1、NSD1、NT5C2、NTHL1、NTRK1、NTRK2、NTRK3、NUP2、NUP93、NUP98、P2RY8、PAG1、PAK1、PAK3、PAK7、PALB2、PARK2、PARP1、PARP2、PARP3、PASK、PAX3、PAX5、PAX7、PBRM1、PC、PCBP1、PCLO、PDCD1、PDCD1 (PD-1)、PDCD11、PDCD1LG2、PDCD1LG2 (PD-L2)、PDGFRA、PDGFRB、PDK1、PDPK1、PGR、PHF6、PHOX2B、PIK3C2B、PIK3C2G、PIK3C3、PIK3CA、PIK3CB、PIK3CD、PIK3CG、PIK3R1、PIK3R2、PIK3R3、PIM1、PLCG2、PLK2、PMAIP1、PMS1、PMS2、PNRC1、POLD1、POLE、POT1、PPARG、PPM1D、PPP2、PPP2R1A、PPP2R2A、PPP4R2、PPP6C、

PRDM1、PRDM14、PREX2、PRKAR1A、PRKCI、PRKD1、PRKDC、PRSS8、PTCH1、PTEN、PTP4A1、PTPN11、PTPN2、PTPN6 (SHP-1)、PTPRD、PTPRO、PTPRS、PTPRT、QKI、R1A、RAB35、RAC1、RAC2、RAD21、RAD50、RAD51、RAD51B、RAD51C、RAD51D、RAD52、RAD54L、RAF1、RANBP2、RARA、RASA1、RASGEF1A、RB1、RBM10、RECQL、RECQL4、REL、RELN、RET、RFWD2、RHEB、RHOA、RICTOR、RIT1、RNF43、ROS1、RPS6KA4、RPS6KB1、RPS6KB2、RPTOR、RRAGC、RRAS、RRAS2、RTEL1、RUNX1、RUNX1T1、RXRA、RYBP、S1PR2、SDHA、SDHAF2、SDHB、SDHC、SDHD、SERP2、SESN1、SESN2、SESN3、SETBP1、SETD2、SETD8、SF3B1、SGK1、SH2B3、SH2D1A、SHOC2、SHQ1、SLIT2、SLX4、SMAD2、SMAD3、SMAD4、SMARCA1、SMARCA4、SMARCB1、SMARCD1、SMC1A、SMC3、SMO、SMYD3、SNCAIP、SOCS1、SOCS2、SOCS3、SOS1、SOX10、SOX17、SOX2、SOX9、SPEN、SPOP、SPRED1、SPTA1、SRC、SRSF2、STAG2、STAT3、STAT4、STAT5A、STAT5B、STAT6、STK11、STK19、STK40、SUFU、SUZ12、SYK、TAF1、TAP1、TAP2、TBL1XR1、TBX3、TCEB1、TCF3、TCF3 (E2A)、TCF7L2、TCL1A (TCL1)、TEK、TERC、TERT、TERT启动子、TET1、TET2、TFRC、TGFB1、TGFB2、TIPARP、TLL2、TMEM127、TMEM30A、TMPRSS2、TMSB4XP8 (TMSL3)、TNFAIP3、TNFRSF11A、TNFRSF14、TNFRSF17、TOP1、TOP2A、TP53、TP53BP1、TP63、TRAF2、TRAF3、TRAF5、TRAF7、TSC1、TSC2、TSHR、TUSC3、TYK2、TYRO3、U2AF1、U2AF2、UPF1、VEGFA、VHL、VTCN1、WDR90、WHSC1、WHSC1 (MMSET or NSD2)、WHSC1L1、WISP3、WT1、WWTR1、XBP1、XIAP、XPO1、XRCC2、YAP1、YES1、YY1AP1、ZBTB2、ZFHX3、ZMYM3、ZNF217、ZNF24 (ZSCAN3)、ZNF703、ZRSR2和它们的任意组合。

[0298] 在另一实施方案中,该基因组分析谱包含选自表1-16中所列基因的一个或多个基因。

[0299] 在一个实施方案中,基于基因组分析的TMB状态与基于全外显子组或全基因组测序的TMB状态高度相关。本文提供的证据显示,基因组分析测定法如F1CDx测定法的使用与全外显子组和/或全基因组测序测定法具有一致性。这些数据支持用基因组分析测定法作为测量TMB状态的更有效手段,不丧失TMB状态的预后质量。

[0300] TMB可以用组织活检样品或备选地用循环肿瘤DNA(ctDNA)、cfDNA(无细胞DNA)和/或液体活检样品测量。ctDNA可以用于用可用的方法(例如GRAIL, Inc.)按照全外显子组或全基因组测序或基因组分析测量TMB状态。

[0301] 基于TMB状态的测量和高TMB的鉴定,将受试者鉴定为适于例如用抗PD-1抗体或其抗原结合部分或抗PD-L1抗体或其抗原结合部分进行免疫治疗。在一些实施方案中,将TMB评分计算为通过全外显子组测序或全基因组测序测量的肿瘤中非同义错义突变的总数。在一个实施方案中,高TMB具有至少210、至少215、至少220、至少225、至少230、至少235、至少240、至少245、至少250、至少255、至少260、至少265、至少270、至少275、至少280、至少285、至少290、至少295、至少300、至少305、至少310、至少315、至少320、至少325、至少330、至少335、至少340、至少345、至少350、至少355、至少360、至少365、至少370、至少375、至少380、至少385、至少390、至少395、至少400、至少405、至少410、至少415、至少420、至少425、至少430、至少435、至少440、至少445、至少450、至少455、至少460、至少465、至少470、至少475、至少480、至少485、至少490、至少495或至少500的评分。在另一实施方案中,高TMB具有至少215、至少220、至少221、至少222、至少223、至少224、至少225、至少226、至少227、至少228、至少229、至少230、至少231、至少232、至少233、至少234、至少235、至少236、至少237、至少238、至少239、至少240、至少241、至少242、至少243、至少244、至少245、至少246、至少247、

至少248、至少249或至少250的评分。在一个具体实施方案中,高TMB具有至少243的评分。在其他实施方案中,高TMB具有至少244的评分。在一些实施方案中,高TMB具有至少245的评分。在其他实施方案中,高TMB具有至少246的评分。在其他实施方案中,高TMB具有至少247的评分。在其他实施方案中,高TMB具有至少248的评分。在其他实施方案中,高TMB具有至少249的评分。在其他实施方案中,高TMB具有至少250的评分。在其他实施方案中,高TMB具有200和300之间的任意整数或更高的评分。在其他实施方案中,高TMB具有210和290之间的任意整数或更高的评分。在其他实施方案中,高TMB具有220和280之间的任意整数或更高的评分。在其他实施方案中,高TMB具有230和270之间的任意整数或更高的评分。在其他实施方案中,高TMB具有235和265之间的任意整数或更高的评分。

[0302] 备选地,高TMB可以是相对值而不是绝对值。在一些实施方案中,将受试者的TMB状态与参考TMB值相比较。在一个实施方案中,受试者的TMB状态在参考TMB值的最高分位数内。在另一实施方案中,受试者的TMB状态在参考TMB值的上三分位数内。

[0303] 在一些实施方案中,将TMB状态表示为每个样品、每个细胞、每个外显子组或每个DNA长度(例如Mb)的突变数。在一些实施方案中,如果肿瘤具有至少约50个突变/肿瘤、至少约55个突变/肿瘤、至少约60个突变/肿瘤、至少约65个突变/肿瘤、至少约70个突变/肿瘤、至少约75个突变/肿瘤、至少约80个突变/肿瘤、至少约85个突变/肿瘤、至少约90个突变/肿瘤、至少约95个突变/肿瘤、至少约100个突变/肿瘤、至少约105个突变/肿瘤、至少约110个突变/肿瘤、至少约115个突变/肿瘤、或至少约120个突变/肿瘤,则肿瘤具有高TMB状态。在一些实施方案中,如果肿瘤具有至少约125个突变/肿瘤、至少约150个突变/肿瘤、至少约175个突变/肿瘤、至少约200个突变/肿瘤、至少约225个突变/肿瘤、至少约250个突变/肿瘤、至少约275个突变/肿瘤、至少约300个突变/肿瘤、至少约350个突变/肿瘤、至少约400个突变/肿瘤、或至少约500个突变/肿瘤,则肿瘤具有高TMB状态。在一个具体实施方案中,如果肿瘤具有至少约100个突变/肿瘤,则肿瘤具有高TMB状态。

[0304] 在一些实施方案中,如果肿瘤具有至少约5个突变/兆碱基基因(例如按照TMB测定法测序的基因组,例如按照 **FOUNDATIONONE®** CDX™测定法测序的基因组)(个突变/Mb)、至少约6个突变/Mb、至少约7个突变/Mb、至少约8个突变/Mb、至少约9个突变/Mb、至少约10个突变/Mb、至少约11个突变/Mb、至少约12个突变/Mb、至少约13个突变/Mb、至少约14个突变/Mb、至少约15个突变/Mb、至少约20个突变/Mb、至少约25个突变/Mb、至少约30个突变/Mb、至少约35个突变/Mb、至少约40个突变/Mb、至少约45个突变/Mb、至少约50个突变/Mb、至少约75个突变/Mb、或至少约100个突变/Mb,则肿瘤具有高TMB状态。在某些实施方案中,如果肿瘤具有至少约5个突变/Mb,则肿瘤具有高TMB状态。在某些实施方案中,如果肿瘤具有至少约10个突变/Mb,则肿瘤具有高TMB状态。在一些实施方案中,如果肿瘤具有至少约11个突变/Mb,则肿瘤具有高TMB状态。在一些实施方案中,如果肿瘤具有至少约12个突变/Mb,则肿瘤具有高TMB状态。在一些实施方案中,如果肿瘤具有至少约13个突变/Mb,则肿瘤具有高TMB状态。在一些实施方案中,如果肿瘤具有至少约14个突变/Mb,则肿瘤具有高TMB状态。在某些实施方案中,如果肿瘤具有至少约15个突变/Mb,则肿瘤具有高TMB状态。

[0305] 因为突变数目因肿瘤类型和其他方式(参见Q4和Q5)而变,与“TMB高”和“TMB低”相关的值在肿瘤类型间可以不同。

[0306] 非小细胞肺癌

[0307] 本方法可以治疗处于任意阶段的肿瘤。在某些实施方案中,该肿瘤源自任意阶段的NSCLC。至少7个阶段用于NSCLC:隐蔽(隐藏)期、0期(原位癌)、I期、II期、IIIA期、IIIB期和IV期。在隐蔽期,癌症不能通过成像或支气管镜检查观察到。在0期,癌细胞见于气道衬里。

[0308] 在一个实施方案中,本方法治疗I期非鳞状NSCLC。I期NSCLC分为IA期和IB期。在IA期,肿瘤仅在肺中且为3厘米或更小。在IB期,癌症尚未扩散至淋巴结,以下一项或多项为真:1) 肿瘤大于3厘米但不大于5厘米;2) 癌症已扩散至主支气管且在气管连接支气管处下方为至少2厘米;3) 癌症已扩散至覆盖肺的膜的最内层;或4) 部分肺已塌陷或在气管连接支气管区域发展肺炎(肺的炎症)。

[0309] 在另一实施方案中,本公开的方法治疗II期非鳞状NSCLC。II期NSCLC分为IIA和IIB期。在IIA期,癌症已扩散至淋巴结或未扩散至淋巴结。如果癌症已扩散至淋巴结,则癌症可以仅扩散至胸部与肿瘤同侧的淋巴结,具有癌症或肺内或支气管附近的淋巴结,且以下一项或多项为真:1) 肿瘤不大于5厘米;2) 癌症已扩散至主支气管且在气管连接支气管处下方为至少2厘米;3) 癌症已扩散至覆盖肺的膜的最内层;或4) 部分肺已塌陷或在气管连接支气管区域发展肺炎(肺的炎症)。如果癌症没有扩散至淋巴结且以下一项或多项为真,则也认为肿瘤为IIA期:1) 肿瘤大于5厘米但不大于7厘米;2) 癌症已扩散至主支气管且在气管连接支气管处下方为至少2厘米;3) 癌症已扩散至覆盖肺的膜的最内层;或4) 部分肺已塌陷或在气管连接支气管区域发展肺炎(肺的炎症)。在IIB期,癌症已扩散至淋巴结或未扩散至淋巴结。如果癌症已扩散至淋巴结,则癌症可以仅扩散至胸部与肿瘤同侧的淋巴结,具有癌症的淋巴结在肺内或支气管附近,且以下一项或多项为真:1) 肿瘤大于5厘米但不大于7厘米;2) 癌症已扩散至主支气管且在气管连接支气管处下方为至少2厘米;3) 癌症已扩散至覆盖肺的膜的最内层;或4) 部分肺已塌陷或在气管连接支气管区域发展肺炎(肺的炎症)。如果癌症没有扩散至淋巴结且以下一项或多项为真,则也认为肿瘤为IIB期:1) 肿瘤大于7厘米;2) 癌症已扩散至主支气管(且在气管连接支气管处下方为至少2厘米)、胸壁、隔膜或控制隔膜的神经;3) 癌症已扩散至心脏周围或胸壁衬里的膜;4) 整个肺已塌陷或发展肺炎(肺的炎症);或5) 同一叶肺中有一个或多个分开的肿瘤。

[0310] 在其他实施方案中,本公开的任意方法治疗III期非鳞状NSCLC。IIIA期分为3部分。这3部分基于:1) 肿瘤的大小;2) 在哪发现肿瘤;和3) 哪个(如果有的话)淋巴结具有癌症。在第一类IIIA期NSCLC中,癌症已扩散至胸部与肿瘤同侧的淋巴结,具有癌症的淋巴结在胸骨附近或支气管进入肺的地方。此外:1) 肿瘤可以为任意大小;2) 部分肺(气管连接支气管处)或整个肺可以塌陷或发展肺炎(肺的炎症);3) 同一叶肺中可以有一个或多个分开的肿瘤;和4) 癌症可以扩散至任意以下:a) 主支气管,但不是气管连接支气管的区域,b) 胸壁,c) 隔膜和控制它的神经,d) 肺周围或胸壁衬里的膜;e) 心脏周围。在第二类IIIA期NSCLC中,癌症已扩散至胸部与肿瘤同侧的淋巴结,具有癌症的淋巴结在肺内或支气管附近。此外:1) 肿瘤可以为任意大小;2) 整个肺可以塌陷或发展肺炎(肺的炎症);3) 具有癌症的任意肺叶中可以有一个或多个分开的肿瘤;和4) 癌症可以扩散至任意以下:a) 主支气管,但不是气管连接支气管的区域,b) 胸壁,c) 隔膜和控制它的神经,d) 肺周围或胸壁衬里的膜;e) 心脏或它周围的膜,f) 进或出心脏的大血管,g) 气管,h) 食管,i) 控制喉(声匣)的神经,j) 胸骨(胸骨)或脊柱,或k) 脊(气管连接支气管处)。在第三类IIIA期NSCLC中,癌症未扩散至淋巴

结,肿瘤可以为任意大小,癌症已扩散至以下任一个:a)心脏,b)进或出心脏的大血管,c)气管,d)食管,e)控制喉(声匣)的神经,f)胸骨(胸骨)或脊柱,或g)脊(气管连接支气管处)。取决于1)肿瘤的大小、2)在哪里发现肿瘤和3)哪些淋巴结具有癌症,将IIIB期分为2个部分。在第一类IIIB期NSCLC中,癌症已扩散至胸部与肿瘤相反一侧的淋巴结。此外:1)肿瘤可以为任意大小;2)部分肺(气管连接支气管处)或整个肺可以塌陷或发展肺炎(肺的炎症);3)具有癌症的任意肺叶中可以有一个或多个分开的肿瘤;和4)癌症可以扩散至任意以下:a)主支气管,b)胸壁,c)隔膜和控制它的神经,d)肺周围或胸壁衬里的膜;e)心脏或它周围的膜,f)进或出心脏的大血管,g)气管,h)食管,i)控制喉(声匣)的神经,j)胸骨(胸骨)或脊柱,或k)脊(气管连接支气管处)。在第二类IIIB期NSCLC中,癌症已扩散至胸部与肿瘤同侧的淋巴结。具有癌症的淋巴结在胸骨(胸骨)附近或支气管进入肺的地方。此外:1)肿瘤可以为任意大小;2)同一肺的不同叶中可以有一个或多个分开的肿瘤;和3)癌症已扩散至任意以下:a)心脏,b)进或出心脏的大血管,c)气管,d)食管,e)控制喉(声匣)的神经,f)胸骨(胸骨)或脊柱,或g)脊(气管连接支气管处)。

[0311] 在一些实施方案中,本公开的方法治疗IV期非鳞状NSCLC。在IV期NSCLC中,肿瘤可以为任意大小,且癌症可以扩散至淋巴结。在IV期NSCLC中,以下一项或多项为真:1)两个肺中有一个或多个肿瘤;2)癌症见于肺或心脏周围的体液中;和3)癌症已扩散至身体其他部分,如脑、肝、肾上腺、肾或骨。

[0312] 在其他实施方案中,本方法可治疗的NSCLC是鳞状细胞(表皮样)癌(鳞状NSCLC)。已知所有肺癌中约25%至30%为鳞状细胞癌。这些癌症起始于早期形式的鳞状细胞,鳞状细胞是肺中气道内侧衬里的扁平细胞。它们常与吸烟史关联,倾向见于肺的中央部分,主气道(支气管)附近。

[0313] 在本方法的某些实施方案中,该抗PD-1抗体是纳武单抗。在其他实施方案中,它是派姆单抗。通常,该抗PD-1抗体制剂为用于静脉内施用。在某些实施方案中,该抗PD-1抗体通过在60分钟的时期内静脉内输注来施用。在某些实施方案中,该抗PD-1抗体作为可药用制剂施用。在某些实施方案中,该抗PD-1抗体或其抗原结合部分以亚治疗剂量施用。

[0314] 用于本公开的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体

[0315] 本领域已知的抗PD-1抗体可用于现在描述的组合物和方法。美国专利号8,008,449中公开了以高亲和力特异性结合PD-1的多种人单克隆抗体。已显示美国专利号8,008,449中公开的抗PD-1人抗体显示一种或多种以下特征:(a)如用Biacore生物传感系统通过表面等离子共振测定,以 1×10^{-7} M或更小的 K_D 结合人PD-1;(b)基本上不结合人CD28、CTLA-4或ICOS;(c)在混合淋巴细胞反应(MLR)测定中增加T细胞增殖;(d)在MLR测定中增加干扰素 γ 产生;(e)在MLR测定中增加IL-2分泌;(f)结合人PD-1和食蟹猴PD-1;(g)抑制PD-L1和/或PD-L2与PD-1的结合;(h)刺激抗原特异性记忆应答;(i)刺激抗体应答;和(j)抑制体内肿瘤细胞生长。可用于本公开的抗PD-1抗体包括特异性结合人PD-1并显示至少一个(在一些实施方案中,至少五个)前述特征的单克隆抗体。

[0316] 其他抗PD-1单克隆抗体已描述于例如美国专利号6,808,710、7,488,802、8,168,757和8,354,509,美国公开号2016/0272708,及PCT公开号WO 2012/145493、WO 2008/156712、WO 2015/112900、WO 2012/145493、WO 2015/112800、WO 2014/206107、WO 2015/35606、WO 2015/085847、WO 2014/179664、WO 2017/020291、WO 2017/020858、WO 2016/

197367、WO 2017/024515、WO 2017/025051、WO 2017/123557、WO 2016/106159、WO 2014/194302、WO 2017/040790、WO 2017/133540、WO 2017/132827、WO 2017/024465、WO 2017/025016、WO 2017/106061、WO 2017/19846、WO 2017/024465、WO 2017/025016、WO 2017/132825和WO 2017/133540中,每个专利在此以其整体引入本文作为参考。

[0317] 在一些实施方案中,该抗PD-1抗体选自纳武单抗(也称为**OPDIVO®**、5C4、BMS-936558、MDX-1106和ONO-4538)、派姆单抗(Merck;也称为**KEYTRUDA®**、lambrolizumab和MK-3475;参见WO2008/156712)、PDR001(Novartis;参见WO 2015/112900)、MEDI-0680(AstraZeneca;也称为AMP-514;参见WO 2012/145493)、cemiplimab(Regeneron;也称为REGN-2810;参见WO 2015/112800)、JS001(TAIZHOU JUNSHI PHARMA;参见Si-Yang Liu等,J.Hematol.Oncol.10:136(2017))、BGB-A317(Beigene;参见WO 2015/35606和US2015/0079109)、INCSHR1210(Jiangsu Hengrui Medicine;也称为SHR-1210;参见WO 2015/085847;Si-Yang Liu等,J.Hematol.Oncol.10:136(2017))、TSR-042(Tesaro Biopharmaceutical;也称为ANB011;参见WO2014/179664)、GLS-010(Wuxi/Harbin Gloria Pharmaceuticals;也称为WBP3055;参见Si-Yang Liu等,J.Hematol.Oncol.10:136(2017))、AM-0001(Armo)、STI-1110(Sorrento Therapeutics;参见WO 2014/194302)、AGEN2034(Agenus;参见WO 2017/040790)、MGA012(Macrogenics,参见WO 2017/19846)和IBI308(Innovent;参见WO 2017/024465、WO 2017/025016、WO 2017/132825和WO 2017/133540)。

[0318] 在一个实施方案中,该抗PD-1抗体是纳武单抗。纳武单抗是全人IgG4(S228P)PD-1免疫检查点抑制剂抗体,其选择性阻止与PD-1配体(PD-L1和PD-L2)的相互作用,从而阻断抗肿瘤T细胞功能的下调(美国专利号8,008,449;Wang等,2014Cancer Immunol Res.2(9):846-56)。

[0319] 在另一实施方案中,该抗PD-1抗体是派姆单抗。派姆单抗是抗人细胞表面受体PD-1(程序性死亡-1或程序性细胞死亡-1)的人源化单克隆IgG4(S228P)抗体。派姆单抗描述于例如美国专利号8,354,509和8,900,587中。

[0320] 可用于所公开的组合物和方法中的抗PD-1抗体还包括分离的抗体,其特异性结合人PD-1,并与本文公开的任意抗PD-1抗体(例如纳武单抗(参见例如美国专利号8,008,449和8,779,105;WO 2013/173223))交叉竞争结合人PD-1。在一些实施方案中,该抗PD-1抗体与本文所述的任意抗PD-1抗体(例如纳武单抗)结合同一表位。抗体交叉竞争结合抗原的能力指示这些单克隆抗体结合抗原的同一表位区,在空间上妨碍其他交叉竞争抗体与该特定表位区的结合。由于它们结合PD-1的同一表位区,预期这些交叉竞争抗体具有非常类似于参考抗体(例如纳武单抗)的功能特性。交叉竞争抗体可以基于它们在标准PD-1结合测定法如Biacore分析、ELISA测定法或流式细胞术中与纳武单抗交叉竞争的能力容易地鉴定(参见例如WO2013/173223)。

[0321] 在某些实施方案中,与人PD-1抗体纳武单抗交叉竞争结合人PD-1或结合与人PD-1抗体纳武单抗相同的表位区的抗体是单克隆抗体。对于对人受试者施用,这些交叉竞争抗体是嵌合抗体、工程化抗体或人源化或人抗体。这类嵌合、工程化、人源化或人单克隆抗体抗体可以通过本领域公知的方法制备和分离。

[0322] 可用于本公开的组合物和方法中的抗PD-1抗体还包括以上抗体的抗原结合部分。

已充分显示,抗体的抗原结合功能可以通过全长抗体的片段执行。

[0323] 适合用于所公开的组合物和方法中的抗PD-1抗体是这样的抗体,其以高特异性和亲和力结合PD-1,阻断PD-L1和/或PD-L2的结合,并抑制PD-1信号传导途径的免疫抑制作用。在本文公开的任意组合物和方法中,抗PD-1“抗体”包括抗原结合部分或片段,其结合PD-1受体,并在抑制配体结合和上调免疫系统中显示类似于全抗体的功能特性。在某些实施方案中,该抗PD-1抗体或其抗原结合部分与纳武单抗交叉竞争结合人PD-1。

[0324] 用于本公开的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体

[0325] 在某些实施方案中,用于该方法中的抗PD-1抗体可以用另一PD-1或PD-L1拮抗剂替换。例如,由于抗PD-L1抗体阻止PD-1和PD-L1之间的相互作用,从而对PD-1信号传导途径发挥相似的作用,抗PD-L1抗体可以在本文公开的方法中替换抗PD-1抗体的使用。本领域已知的抗PD-L1抗体可以用于本公开的组合物和方法。用于本公开的组合物和方法中的抗PD-L1抗体的实例包括美国专利号9,580,507中公开的抗体。美国专利号9,580,507中公开的抗PD-L1人单克隆抗体已证明显示一种或多种以下特征:(a) 如用Biacore生物传感系统通过表面等离子共振测定,以 1×10^{-7} M或更小的 K_D 结合人PD-L1;(b) 在混合淋巴细胞反应 (MLR) 测定中增加T细胞增殖;(c) 在MLR测定中增加干扰素- γ 产生;(d) 在MLR测定中增加IL-2分泌;(e) 刺激抗体应答;和(f) 逆转T调节细胞对T细胞效应细胞和/或树突细胞的作用。可用于本公开的抗PD-L1抗体包括特异性结合人PD-L1并显示至少一个(在一些实施方案中,至少五个)前述特征的单克隆抗体。

[0326] 在某些实施方案中,该抗PD-L1抗体选自BMS-936559(也称为12A4,MDX-1105;参见例如美国专利号7,943,743和WO 2013/173223)、atezolizumab (Roche;也称为**TECENTRIQ®**、MPDL3280A、RG7446;参见US 8,217,149;还参见Herbst等(2013) J Clin Oncol 31(suppl):3000)、durvalumab (AstraZeneca;也称为IMFINZI™、MEDI-4736;参见WO 2011/066389)、avelumab (Pfizer;也称为**BAVENCIO®**、MSB-0010718C;参见WO 2013/079174)、STI-1014 (Sorrento;参见WO2013/181634)、CX-072 (Cytomx;参见WO2016/149201)、KN035 (3D Med/Alphamab;参见Zhang等,Cell Discov.7:3(2017年3月)、LY3300054 (Eli Lilly Co.;参见例如WO 2017/034916) 和CK-301 (Checkpoint Therapeutics;参见Gorelik等,AACR:Abstract 4606(2016年4月))。

[0327] 在某些实施方案中,该PD-L1抗体是atezolizumab (**TECENTRIQ®**)。Atezolizumab是全人源化IgG1单克隆抗PD-L1抗体。

[0328] 在某些实施方案中,该PD-L1抗体是durvalumab (IMFINZI™)。Durvalumab是人IgG1 κ 单克隆抗PD-L1抗体。

[0329] 在某些实施方案中,该PD-L1抗体是avelumab (**BAVENCIO®**)。Avelumab是人IgG1 λ 单克隆抗PD-L1抗体。

[0330] 在其他实施方案中,该抗PD-L1单克隆抗体选自28-8、28-1、28-12、29-8、5H1和它们的任意组合。

[0331] 可用于所公开的组合物和方法中的抗PD-L1抗体还包括分离的抗体,其特异性结合人PD-L1,并与本文公开的任意抗PD-L1抗体(例如atezolizumab、durvalumab和/或avelumab)交叉竞争结合人PD-L1。在一些实施方案中,该抗PD-L1抗体与本文所述的任意抗

PD-L1抗体(例如atezolizumab、durvalumab和/或avelumab)结合同一表位。抗体交叉竞争结合抗原的能力指示这些抗体结合抗原的同一表位区,在空间上妨碍其他交叉竞争抗体与该具体表位区的结合。由于它们结合PD-L1的同一表位区,预期这些交叉竞争抗体具有非常类似于参考抗体(例如atezolizumab和/或avelumab)的功能特性。交叉竞争抗体可以基于它们在标准PD-L1结合测定法如Biacore分析、ELISA测定法或流式细胞术中与atezolizumab和/或avelumab交叉竞争的能力容易地鉴定(参见例如WO 2013/173223)。

[0332] 在某些实施方案中,与人PD-L1抗体如atezolizumab、durvalumab和/或avelumab交叉竞争结合人PD-L1或结合与其相同的表位区的抗体是单克隆抗体。对于对人受试者施用,这些交叉竞争抗体是嵌合抗体、工程化抗体或人源化或人抗体。这类嵌合、工程化、人源化或人单克隆抗体可以通过本领域公知的方法制备和分离。

[0333] 可用于本公开的组合物和方法中的抗PD-L1抗体还包括以上抗体的抗原结合部分。已充分显示,抗体的抗原结合功能可以通过全长抗体的片段执行。

[0334] 适用于所公开的组合物和方法中的抗PD-L1抗体是这样的抗体,其以高特异性和亲和力结合PD-L1,阻断PD-1的结合,并抑制PD-1信号传导途径的免疫抑制作用。在本文公开的任意组合物或方法中,抗PD-L1“抗体”包括抗原结合部分或片段,其结合PD-L1,并在抑制受体结合和上调免疫系统中显示类似于全抗体的功能特性。在某些实施方案中,该抗PD-L1抗体或其抗原结合部分与atezolizumab、durvalumab和/或avelumab交叉竞争结合人PD-L1。

[0335] 肺癌的标准护理治疗

[0336] 不同类型癌症的标准护理治疗为本领域技术人员公知。例如,美国21个主要癌症中心的联盟National Comprehensive Cancer Network (NCCN) 公开了NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN **GUIDELINES®**),其提供关于多种癌症的标准护理治疗的详细更新信息(参见NCCN **GUIDELINES®** (2014),可在www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp上获得,最后访问时间2014年5月14日)。

[0337] NSCLC是美国和世界范围内癌症死亡的主要原因,超过乳腺癌、结肠癌和前列腺癌的总和。在美国,估计在美国将有228,190例肺和支气管的新病例诊断,由于该疾病,将发生159,480例死亡(Siegel等(2014)CA Cancer J Clin 64(1):9-29)。大多数患者(约78%)诊断为晚期/复发性或转移性疾病。常发生的是从肺癌转移至肾上腺,约33%的患者有这类转移。NSCLC治疗具有逐渐改善的OS,但获益已达到平台(晚期患者中位OS仅为1年)。几乎所有这些受试者在1L治疗后发生进展,在难治情境下5年生存率仅为3.6%。从2005年至2009年,美国肺癌总体5年相对生存率为15.9% (NCCN **GUIDELINES®**,3.2014版-Non-Small Cell Lung Cancer,可在www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf上获得,最后访问时间2014年5月14日)。

[0338] 手术、放疗(RT)和化疗是常用于治疗NSCLC患者的三种方式。作为一类,与小细胞癌相比,NSCLC对化疗和RT相对不敏感。通常,对于I或II期疾病患者,手术切除提供最佳的治愈机会,在手术前和手术后逐渐增加化疗的使用。RT也可以用作具有可切除的NSCLC的患者的辅助治疗,主要局部治疗,或作为患有不可治愈的NSCLC的患者的姑息治疗。

[0339] 具有良好性能状态(PS)的患有IV期疾病的患者从化疗受益。许多药物可用于IV期NSCLC,包括铂类药物(例如顺铂、卡铂)、紫杉烷类药物(例如紫杉醇、白蛋白结合紫杉醇、多西紫杉醇)、脱水长春花碱、长春花碱、依托泊苷、培美曲塞和吉西他滨。使用许多这些药物的组合产生30%至40%的1年生存率,优于单种药物。已研发了特异性靶向治疗用于治疗晚期肺癌。例如,贝伐单抗(bevacizumab) (**AVASTIN®**)是阻断血管内皮生长因子A(VEGF-A)的单克隆抗体。厄洛替尼(Erlotinib) (**TARCEVA®**)是表皮生长因子受体(EGFR)的小分子TKI。克唑替尼(Crizotinib) (**XALKORI®**)是靶向ALK和MET的小分子TKI,用于在携带突变ALK融合基因的患者中治疗NSCLC。西妥昔单抗(Cetuximab) (**ERBITUX®**)是靶向EGFR的单克隆抗体。

[0340] 患有鳞状细胞NSCLC的患者(代表所有NSCLC的至多25%)中存在特定的未得到满足的需要,因为在一线(1L)治疗后治疗选择很少。单药物化疗是基于铂的双重化疗(Pt-doublet)进展后的标准护理治疗,产生约7个月的中位OS。多西紫杉醇仍是此线治疗中的基准治疗,虽然也可以以较低频率使用厄洛替尼。在晚期NSCLC患者的二线(2L)治疗中,与多西紫杉醇相比,培美曲塞也已显示产生临床等效结果,但副作用显著更少(Hanna等(2004) J Clin Oncol 22:1589-97)。目前没有治疗获批用于超过三线(3L)情境的肺癌。培美曲塞和贝伐单抗未获批用于鳞状NSCLC,分子靶向治疗应用受限。最近的失败加重了晚期肺癌中未得到满足的需要:Oncothyreon和Merck KgaA的**STIMUVAX®**在3期试验中未能改善OS, ArQule和Daiichi Sankyo的c-Met激酶抑制剂tivantinib未能达到生存终点,Eli Lilly的**ALIMTA®**联合Roche的**AVASTIN®**在晚期研究中未能改善OS, Amgen和Takeda Pharmaceutical的小分子VEGF-R拮抗剂motesanib在晚期试验中未能达到临床终点。

[0341] 肺癌的免疫治疗

[0342] 存在对在多线靶向治疗中进展的患者有效的活性剂以及使生存期超过当前标准护理治疗延长更长时期的治疗的明确需要。最近已显示涉及免疫治疗尤其是阻断包括CTLA-4、PD-1和PD-L1抑制性途径的更新的途径很有前景(Creelan等(2014) Cancer Control 21(1):80-89)。但是,仍需鉴定出可对免疫治疗反应性更好的患者,尤其是鉴定出更可能响应抗PD-1或抗PD-L1抗体治疗的患者。

[0343] 药物组合物和剂量

[0344] 本公开的治疗剂可以包含在组合物中,例如包含一种或多种抗体和可药用载体的药物组合物。本文所用的“可药用载体”包括生理上相容的任何和全部溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗和吸收延迟剂等。在一个实施方案中,用于包含抗体的组合物的载体适合用于静脉内、肌内、皮下、胃肠外、脊柱或表皮施用(例如通过注射或输注)。本公开的药物组合物可以包含一种或多种可药用盐、抗氧化剂、水性和非水性载体和/或佐剂,如防腐剂、湿润剂、乳化剂和分散剂。

[0345] 本公开提供可以提供所希望得到的应答例如最大治疗应答和/或最小副作用的剂量方案。对于施用抗PD-1抗体,剂量可以在从约0.01至约10mg/kg、约1至约9mg/kg、约2至约8mg/kg、约3至约7mg/kg、约3至约6mg/kg、0.01至约5mg/kg、或约1至约3mg/kg患者体重的范围内。例如,剂量可以是约0.1、约0.3、约1、约2、约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9或约10mg/

kg体重。通常基于抗体的典型药代动力学特性设计给药方案来达到产生持续受体占据 (R0) 的暴露。示例性治疗方案涉及约每周一次、约每2周一次、约每3周一次、约每4周一次、约每月一次、约每3-6个月或更长时间一次施用。在某些实施方案中,约每2周一次对受试者施用抗PD-1抗体如纳武单抗。抗PD-1抗体可以按两个剂量之间每两周的给药间隔以至少两个剂量施用,每个剂量处于约0.01mg/kg至约5mg/kg (例如3mg/kg) 的量。在一些实施方案中,抗PD-1抗体可以按两个相邻提供的剂量之间每两周的给药间隔以至少三个、四个、五个、六个或七个剂量(即多个剂量)施用,每个剂量处于约0.01mg/kg至约10mg/kg (例如1mg/kg、3mg/kg或6mg/kg) 的量。治疗过程中可以改变剂量和时序安排。在一个实施方案中,本公开的抗PD-1抗体的剂量方案包含约0.1至约5mg/kg体重、约1至约5mg/kg体重、或约1至约3mg/kg体重,静脉内施用,在至多约6周或约12周的周期中每约14-21天施用抗体,直至完全应答或确认的进行性疾病。在一些实施方案中,本文公开的抗体治疗或任何联合治疗持续至少约1个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约9个月、至少约1年、至少约18个月、至少约24个月、至少约3年、至少约5年或至少约10年。

[0346] 对于施用抗PD-L1抗体,剂量可以在从约1至约20mg/kg、约1至约19mg/kg、约2至约18mg/kg、约3至约17mg/kg、约3至约16mg/kg、约4至约15mg/kg、约5至约14mg/kg、约6至约13mg/kg、约7至约12mg/kg、或约8至约12mg/kg受试者体重的范围内。例如,剂量可以是约1、约2、约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9、约10、约11、约12、约13、约14、约15、约16、约17或约18mg/kg体重。通常基于抗体的典型药代动力学特性设计给药方案来达到产生持续受体占据 (R0) 的暴露。示例性治疗方案涉及约每周一次、约每2周一次、约每3周一次、约每4周一次、约每月一次、约每3-6个月或更长时间一次施用。在某些实施方案中,约每2周一次对受试者施用抗PD-L1抗体。抗PD-L1抗体可以按两个剂量之间每两周的给药间隔以至少两个剂量施用,每个剂量处于约6mg/kg至约18mg/kg (例如10mg/kg) 的量。在一些实施方案中,抗PD-1抗体可以按两个相邻提供的剂量之间每两周的给药间隔以至少三个、四个、五个、六个或七个剂量(即多个剂量)施用,每个剂量处于约6mg/kg至约18mg/kg (例如10mg/kg或15mg/kg) 的量。治疗过程中可以改变剂量和时序安排。在一个实施方案中,本公开的抗PD-L1抗体的剂量方案包含约1至约18mg/kg体重、约6至约15mg/kg体重、或约10至约15mg/kg体重,静脉内施用,在至多约6周或约12周的周期中每约14-21天施用抗体,直至完全应答或确认的进行性疾病。在一些实施方案中,本文公开的抗体治疗或任何联合治疗持续至少约1个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约9个月、至少约1年、至少约18个月、至少约24个月、至少约3年、至少约5年或至少约10年。

[0347] 在与其他治疗(例如其他免疫治疗)联合时,与单一疗法剂量相比,可以降低抗PD-1抗体的剂量。低于典型的3mg/kg但不小于0.001mg/kg的纳武单抗剂量是亚治疗剂量。用于本文方法的抗PD-1抗体的亚治疗剂量高于0.001mg/kg且低于3mg/kg。在一些实施方案中,亚治疗剂量为约0.001mg/kg-约1mg/kg、约0.01mg/kg-约1mg/kg、约0.1mg/kg-约1mg/kg、或约0.001mg/kg-约0.1mg/kg体重。在一些实施方案中,亚治疗剂量为至少约0.001mg/kg、至少约0.005mg/kg、至少约0.01mg/kg、至少约0.05mg/kg、至少约0.1mg/kg、至少约0.5mg/kg或至少约1.0mg/kg体重。来自15名接受0.3mg/kg至10mg/kg纳武单抗给药的受试者的受体占据数据表明,PD-1占据在此剂量范围内似乎具有剂量依赖性。在所有剂量中,平均占据率为85% (范围为70%至97%),平均平台占据为72% (范围为59%至81%) (Brahmer等(2010))

J Clin Oncol 28:3167-75)。因此,0.3mg/kg给药可允许足以导致最大生物学活性的暴露。

[0348] 在本公开的一些实施方案中,抗PD-1抗体按3mg/kg的剂量施用。在本公开的其他实施方案中,抗PD-1抗体按1mg/kg的剂量施用。

[0349] 在某些实施方案中,抗PD-1抗体(或抗PD-L1抗体)的剂量是药物组合物中的平剂量。在其他实施方案中,本公开的方法可以以平剂量(不考虑患者体重提供给患者的剂量)使用。在一些实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合部分的平剂量为至少约100mg、120mg、140mg、160mg、180mg、200mg、220mg、240mg、260mg、280mg、300mg、400mg、420mg、440mg、460mg、480mg、500mg、520mg、540mg、560mg、600mg、640mg、680mg、720mg、760mg、800mg、840mg、880mg、920mg、960mg、1000mg、1040mg、1080mg、1120mg、1160mg或1200mg。例如,纳武单抗的平剂量可以是约240mg。例如,派姆单抗的平剂量可以是约200mg。在一些实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合部分按约240mg的剂量施用。在一些实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合部分按约360mg的剂量施用。在一些实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合部分按约480mg的剂量施用。在一些实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合部分的平剂量约每周、每两周、每三周、每四周、每五周或每六周施用一次。在一个实施方案中,每2周施用一次240mg抗PD-1抗体或抗原结合片段。在另一个实施方案中,每3周施用一次360mg抗PD-1抗体或抗原结合片段。在另一实施方案中,每4周施用一次480mg抗PD-1抗体或抗原结合片段。

[0350] 在一些实施方案中,抗PD-L1抗体或其抗原结合部分的平剂量为至少约600mg、620mg、640mg、660mg、680mg、700mg、720mg、740mg、760mg、780mg、800mg、820mg、840mg、860mg、880mg、900mg、920mg、940mg、960mg、1000mg、1040mg、1080mg、1120mg、1160mg、1200mg、1240mg、1280mg、1320mg、1360mg、1400mg、1440mg、1480mg、1520mg、1560mg、1600mg、1640mg、1680mg、1720mg、1760mg或1800mg。例如,atezolizumab(**TECENTRIQ®**)的平剂量可以是约1200mg。例如,durvalumab(**IMFINZI®**)的平剂量可以是约800mg。例如,avelumab(**BAVENCIO®**)的平剂量可以是约800mg。在一些实施方案中,抗PD-L1抗体或其抗原结合部分按约800mg的剂量施用。在一些实施方案中,抗PD-L1抗体或其抗原结合部分按约1200mg的剂量施用。在一些实施方案中,抗PD-L1抗体或其抗原结合部分按约1600mg的剂量施用。在一些实施方案中,抗PD-L1抗体或其抗原结合部分的平剂量约每周、每两周、每三周、每四周、每五周或每六周施用一次。在一个实施方案中,每2周施用一次约800mg抗PD-L1抗体或抗原结合片段。在另一实施方案中,每4周施用一次约1200mg抗PD-1抗体或抗原结合片段。

[0351] 剂量和频率取决于抗体在受试者中的半寿期而变。通常,人抗体显示最长的半寿期,然后是人源化抗体、嵌合抗体和非人抗体。施用的剂量和频率可取决于治疗是预防性的还是治疗性的而变动。在预防性应用中,通常在长时期内以相对不频繁的间隔施用相对低的剂量。一些患者在其余生中持续接受治疗。在治疗性应用中,有时需要相对短的间隔下相对高的剂量,直至疾病的进展减慢或终止,或直至患者显示疾病症状的部分或完全改善。然后,患者可以施用预防性方案。

[0352] 本公开的药物组合物中活性成分的实际剂量水平可以变动,以获得对就具体患者、组合物和施用方式达到希望得到的治疗反应有效而对患者没有过度毒性的活性成分量。所选择的剂量水平将取决于多种药代动力学因素,包括本公开所利用的具体组合物的

活性;给药途径;施用时间;所利用的具体化合物的排泄速率;治疗持续时间;与所利用的具体组合物组合使用的其他药物、化合物和/或物质;所治疗的患者的年龄、性别、体重、状态、一般健康和过往病史;及医学领域公知的类似因素。本公开的组合物可以用本领域公知的多种方法中的一种或多种经一种或多种施用途施用。如技术人员将理解,施用的途径和/或方式将取决于所希望得到的结果。

[0353] 试剂盒

[0354] 包含抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体的试剂盒也在本公开的范围之内。试剂盒通常包含指示试剂盒内容物的预期用途的标签和使用说明书。术语标签包括在试剂盒上或随试剂盒提供或以其他方式伴随试剂盒的任何书面或记录材料。因此,本公开提供用于治疗患有肿瘤的受试者的试剂盒,该试剂盒包含:(a)从约4mg至约500mg抗PD-1抗体范围内的剂量;和(b)在本文所述的任意方法中使用抗PD-1抗体的说明书。在某些用于治疗人患者的实施方案中,该试剂盒包含本文公开的抗人PD-1抗体,例如纳武单抗或派姆单抗。在一些实施方案中,该试剂盒进一步包含抗PD-L1抗体。在一些实施方案中,该试剂盒进一步包含检测肿瘤样品中的STK11的突变状态的说明。在其他实施方案中,该试剂盒进一步包含检测肿瘤样品中PD-L1的表达的说明书。

[0355] 通过以下实施例进一步说明本公开,以下实施例不应理解为进一步限制。本申请通篇引用的所有参考文献的内容在此明确引入作为参考。

[0356] 实施例1

[0357] STK11突变作为纳武单抗应答的生物标志物

[0358] PD-L1按照不同表达模式(图1)在NSCLC肿瘤例如商业NSCLC肿瘤中表达。这些模式命名为弥漫、异质、肿瘤-基质界面和阴性。PD-L1表达模式可以与机制假说关联。例如,在弥漫模式的肿瘤中,PD-L1的表达由致癌信号传导途径中的9p24扩增驱动而不是由突变驱动。在肿瘤-基质界面模式的肿瘤中,存在适应性抗性而不是上皮-间充质转换(EMT)。

[0359] NSCLC商业肿瘤中的PD-L1表达模式与PD-L1 H评分相关,如图2中所示。根据每种模式,PD-L1表达水平存在实质性差异。例如,在弥漫模式样品中观察到非常高的H评分,这提示这些肿瘤对PD-L1抑制的潜在依赖性。

[0360] 在活检组织中也观察到了在NSCLC商业肿瘤中观察到的PD-L1表达模式。图3显示对应于用纳武单抗单一疗法治患者的试验活检组织中的PD-L1表达模式,其对应于在NSCLC商业肿瘤中观察到的相同模式。

[0361] 假阴性PD-L1的可能性受模式种类、预分析变量和活检组织的大小影响。例如,肿瘤-基质界面模式为异质性,尤其易于产生假阴性结果。因此,存在对可便于分类NSCLC肿瘤的生物标志物的需要,其转而可用于预测肿瘤对某种治疗剂的应答。

[0362] 观察了PD-L1表达模式和纳武单抗功效之间的相关性(图4)。3级肿瘤中的大多数完全应答者具有弥漫模式的PD-L1表达和高PD-L1 H评分。因此,对弥漫PD-L1表达模式特异的生物标志物的鉴定可用于基于该生物标志物的存在/缺乏鉴定适于纳武单抗治疗的患者。

[0363] 免疫浸润可以潜在地用作对具有弥漫表达模式的NSCLC肿瘤特异的生物标志物(图5),因为在用于产生图5中所示数据的商业NSCLC肿瘤中,具有弥漫或异质PD-L1模式的那些与更丰富的免疫浸润相关(更高的PD-L1 H评分)。

[0364] 多重IHC实验显示肿瘤细胞和免疫细胞亚型之间确定的特殊关系。PD-L1标记显示肿瘤中的弥漫PD-L1表达。CD68检测指示肿瘤-基质界面处的巨噬细胞层有助于“屏障”活化T细胞的形成,而CD3检测指示T细胞为中等丰度但主要局限于基质(图6)。

[0365] PD-L1表达模式与基因组数据相关(图7)。图7的A图显示PD-L1的表达水平与RNA测序数据相关,但RNA测序数据单独不提供通过IHC观察到的PD-L1表达模式的地理背景。图7的B图提供外显子组测序数据,显示PD-L1弥漫表达模式与更高的突变负荷相关。

[0366] 更高的突变负荷还与发炎的肿瘤关联(图8)。A图显示用“CI评分”测量的总体炎症,CI评分是慢性炎性浸润的强度评分。B图显示用“PD-L1+CI评分”测量的PD-L1+炎症,PD-L1+CI评分是PD-L1+免疫浸润的相对比例的强度评分。NSCLC肿瘤中错义突变的数目和总体炎症之间有关系。

[0367] 评价了不同生物标志物(TP53、STK11、KEAP1、KRAS、EGFR和MET)中的突变频率对所观察到的PD-L1表达模式(图9),结果表明阴性PD-L1肿瘤细胞表达和更低的PD-L1 mRNA表达与STK11突变的存在相关。突变体STK11的存在与“N”(PD-L1阴性)表达模式的存在相关。突变体STK11的存在与“D”(弥漫)模式不相关,D模式是在大多数纳武单抗治疗应答者中观察到的模式。因此,突变体形式的STK11的存在可用作用纳武单抗治疗NSCLC肿瘤的阴性生物标志物(即它的存在可预测对纳武单抗缺乏应答或应答弱)。相反地,野生型形式的STK11的存在(或突变体形式的缺乏)可用作用纳武单抗治疗的正向选择生物标志物。

[0368] 预测突变引起的STK11丧失增加mTOR信号传导。具有KRAS和STK11突变的肺腺癌(小鼠模型和人肿瘤二者)显示PD-L1表达减少和T细胞浸润减少。所提出的由STK11中的突变介导的免疫抑制机制可包括转换至糖酵解机制伴随乳酸产生增加,及KEP1的频繁共突变导致抗炎转录程序。

[0369] 用24个NSCLC肿瘤样品的免疫印迹分析(其中分析了FOLR2、VSIG4、CD163、CLEC4D、CSF1R、CD86、MS4A1、CD79B、CD19、KIR2DS4、CD3E、CCR4、CCR8和CD8A的水平)来根据炎症模式分类样品(sigClass)。将样品分类为低(“sigClass低”)、中(“sigClass中”)和高(“sigClass高”)炎症。样品还根据STK11突变的存在(“STK11 mut”)或缺乏(“STK11 wt”)分类(图10)。此外,根据PD-L1表达模式将样品分类为阴性(“PDL1_模式2阴性”)、弥漫(“PDL1_模式2弥漫”)、异质(“PDL1_模式2异质”)和肿瘤-基质界面(“PDL1_模式2TS”)。具有弥漫PD-L1表达模式的肿瘤显示高度炎症,并显示野生型形式的STK11。PD-L1阴性肿瘤簇聚在两个组中:中炎症和低炎症。PD-L1阴性肿瘤的炎症水平按STK11突变状态分没有明显区别。所有具有突变体STK11的肿瘤也是PD-L1阴性。

[0370] 此数据显示,PD-L1表达模式与独特的表型和遗传背景相关。弥漫PD-L1表达与发炎TME和更高的突变负荷相关。此外,STK11突变的存在鉴定出PD-L1阴性肿瘤亚型。这些发现确定了STK11作为鉴定PD-L1阴性肿瘤亚型的生物标志物的适合性,且整合组织病理学和基因组数据来鉴定确定对免疫治疗具有不同的应答可能性的NSCLC亚型的特征的可能性。

[0371] 实施例2

[0372] 进行了开放标签、随机化3期临床试验,研究一线抗PD-1单克隆抗体(纳武单抗)治疗在患有PD-L1阳性NSCLC的患者中的作用。具有未治疗的IV期或复发性NSCLC和1%或更多的PD-L1肿瘤表达水平的患者接受纳武单抗(每2周一次按3mg/kg体重的剂量静脉内施用)或基于铂的化疗(每3周施用一次)至多6个周期。

[0373] 在事后分析中,针对PD-L1和野生型或突变STK11、KRAS、CDKN2A、PTPND、CUBN和/或HERC1的表达分析患者肿瘤细胞。然后跟踪患者生存期25个月。

[0374] 治疗后,发现携带STK11的突变变体的患者具有比具有野生型STK11的患者低的无进展生存期(PFS)。这在具有任何非同义STK11突变的患者(图12A)中及具有无义、移码或剪接STK11突变的患者(图12B)中观察到。还具有KRAS突变的携带STK11突变的患者也显示对抗PD-1抗体治疗的反应性低(图13)。在根据NSCLC的类型分层患者时,无论KRAS状态如何,具有非鳞状细胞NSCLC和STK11中的任何突变的患者具有比具有野生型STK11的患者低的PFS(图14A-14B)。

[0375] 将STK11突变状态和反应性与肿瘤PD-L1表达水平相比较(图15A-15F)。发现在抗PD-1抗体治疗后显示部分应答的两名患者具有STK11突变和高PD-L1水平(图15B)。但是,在抗PD-1抗体臂中,PD-L1表达水平在野生型和STK11突变体亚组中相似(图15E)。

[0376] 除STK11外,针对TP53、CDKN2A、PTPND、CUBN和HERC1状态监测患者肿瘤(图16A-16D)。一线抗PD-1单克隆抗体疗法治疗后,在TP53和KRAS二者中具有突变的患者显示比具有野生型TP53的患者更大的PFS(图16A)。在CDKN2A中具有突变的患者也显示比具有野生型CDKN2A的患者高的PFS(图16B),具有PTPND、CUBN和HERC1的突变变体的患者的情况相同(图16C-16D)。

[0377] 总体上,对于所有患者或当仅集中在还具有KRAS突变的那些患者上时,基于STK11的TMB无明显差异(图17A-17B)。但是,在野生型STK11患者中,与具有更低TMB的患者相比,具有更高TMB的患者总体应答略有提高(图17C)。

[0378] 实施例3

[0379] 进行了开放标签、随机化3期临床试验,研究二线抗PD-1单克隆抗体(纳武单抗)治疗在基于铂的双重化疗期间或之后进展的患有非鳞状细胞NSCLC的患者中的作用。患者施用纳武单抗(每2周一次按3mg/kg体重的剂量静脉内施用)或多西紫杉醇(每3周一次按75mg/m²的剂量施用)。

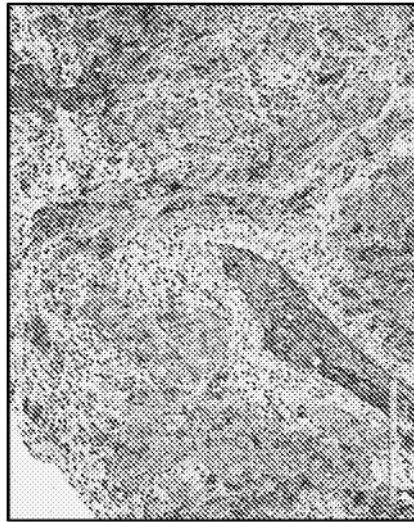
[0380] 在事后分析中,针对STK11和KRAS突变状态分析了患者肿瘤细胞。如上文实施例2中所观察到,具有突变体形式的STK11的患者一般具有比具有野生型STK11的患者低的总体PFS(图18A-18D)。无论受试者具有任何非同义STK11突变(图18A-18B)还是无义、移码或剪接STK11突变(图18C-18D),无论受试者是KRAS野生型(图18A和18C)还是具有突变KRAS变体(图18B或18D),情况均如此。

[0381] 实施例4

[0382] 进行了开放标签、随机化3期临床试验,研究二线抗PD-1单克隆抗体(纳武单抗)治疗在基于铂的双重化疗期间或之后进展的鳞状细胞NSCLC患者中的作用。患者施用纳武单抗(每2周一次按3mg/kg体重的剂量静脉内施用)或多西紫杉醇(每3周一次按75mg/m²的剂量施用)。

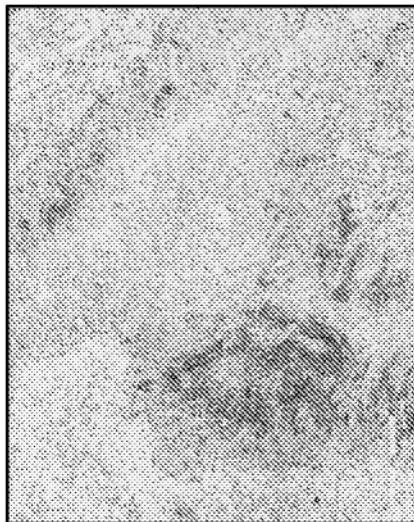
[0383] 在事后分析中,分析了患者肿瘤细胞的STK11突变状态。STK11突变的发生率在患者群体中低(n=5),用抗PD-1抗体治疗后,具有突变体形式STK11的患者具有比具有野生型STK11的患者高的总体PFS(图19)。分析额外的患者确认这些初步观察结果的值。

[0384] 本申请要求2017年6月1日提供美国临时申请号62/513,831的权益,在此以其整体引入本文作为参考。



弥漫

图1A



异质

图1B

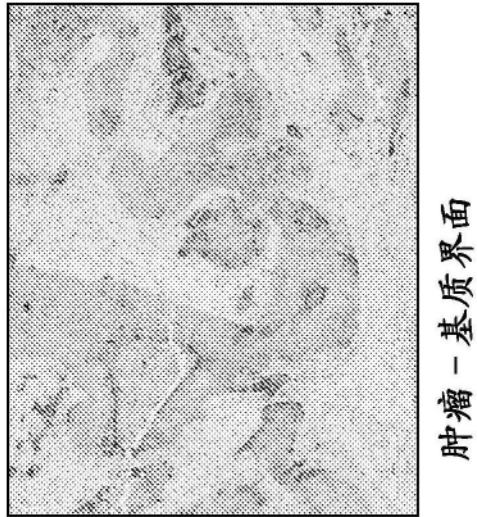


图1C

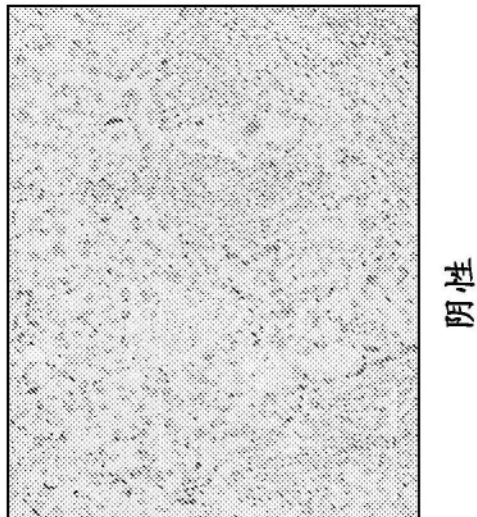


图1D

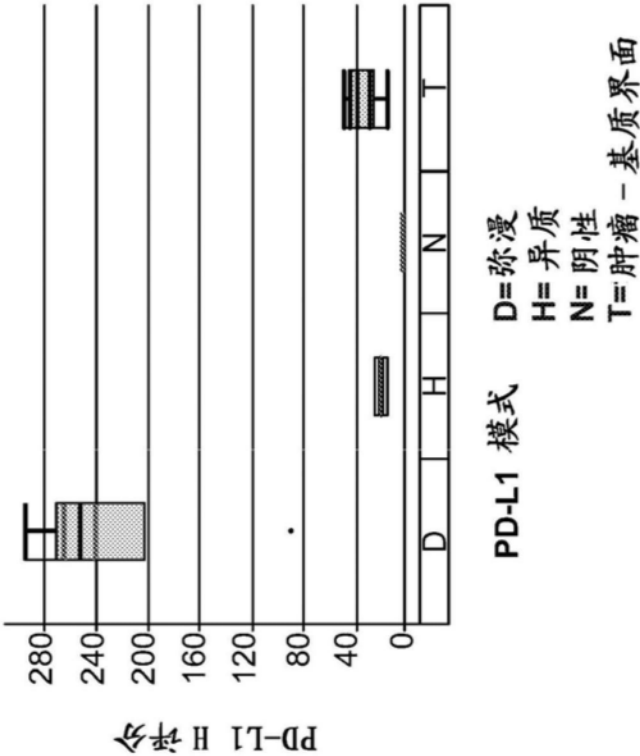


图2A

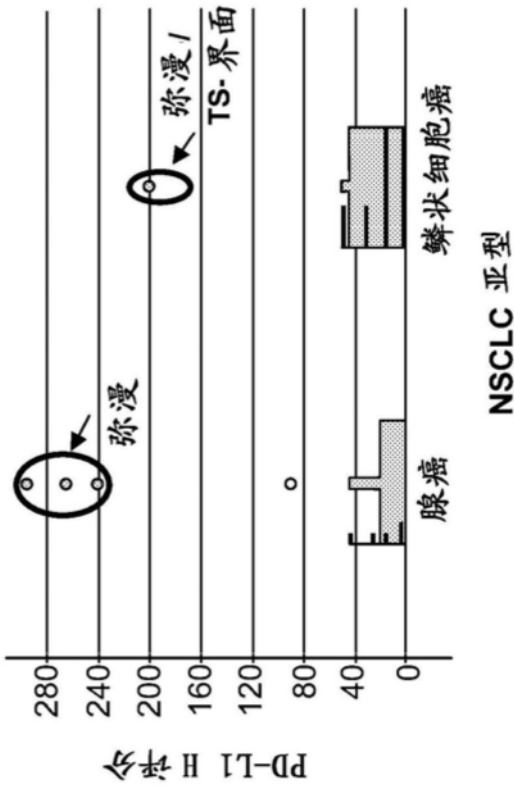


图2B



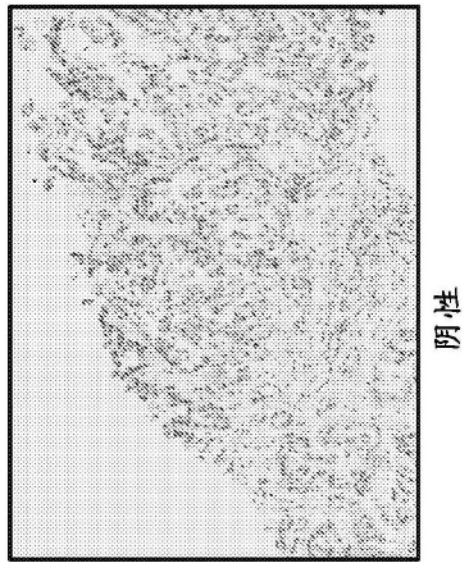
弥漫

图3A



肿瘤-基质界面

图3B



阴性

图3C

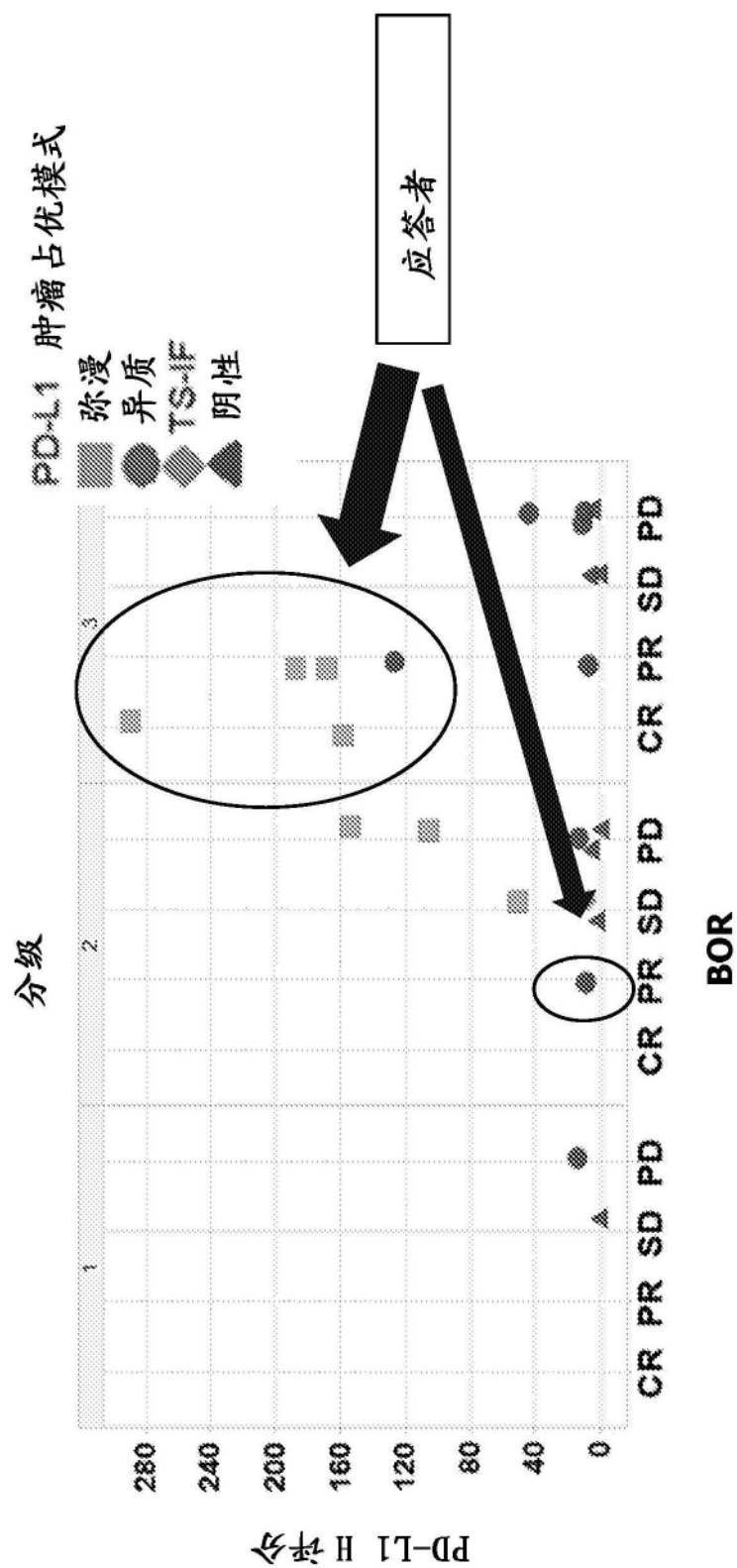


图4

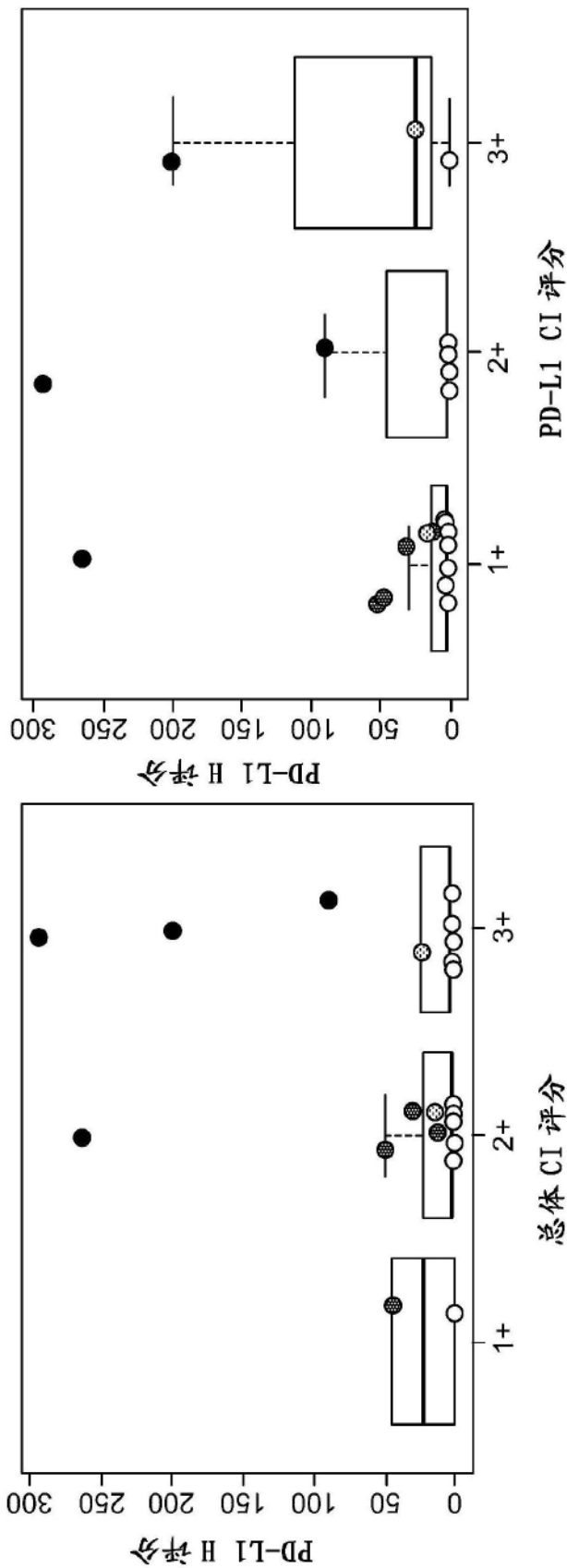


图 5A

图 5B

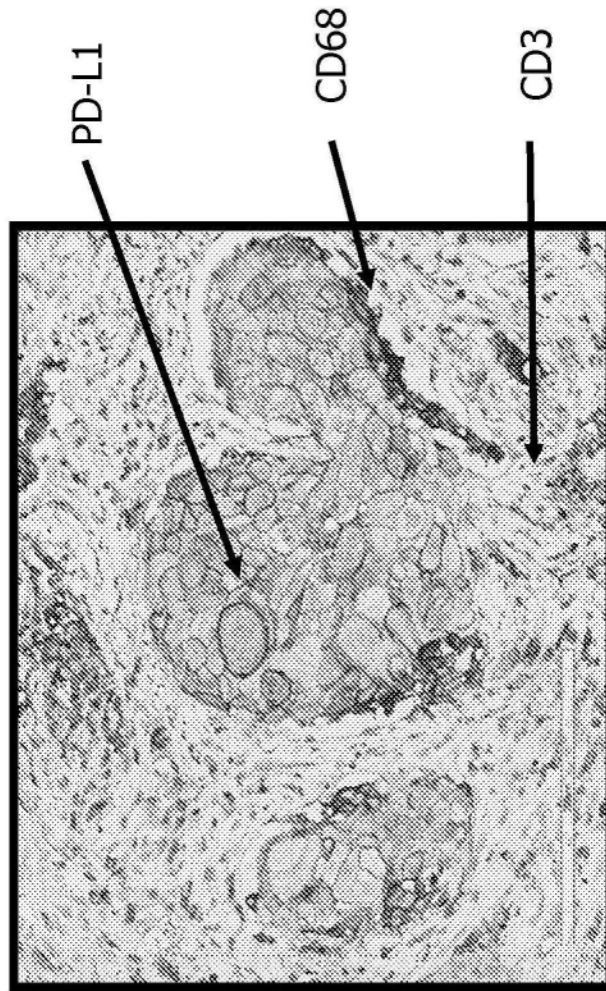


图6

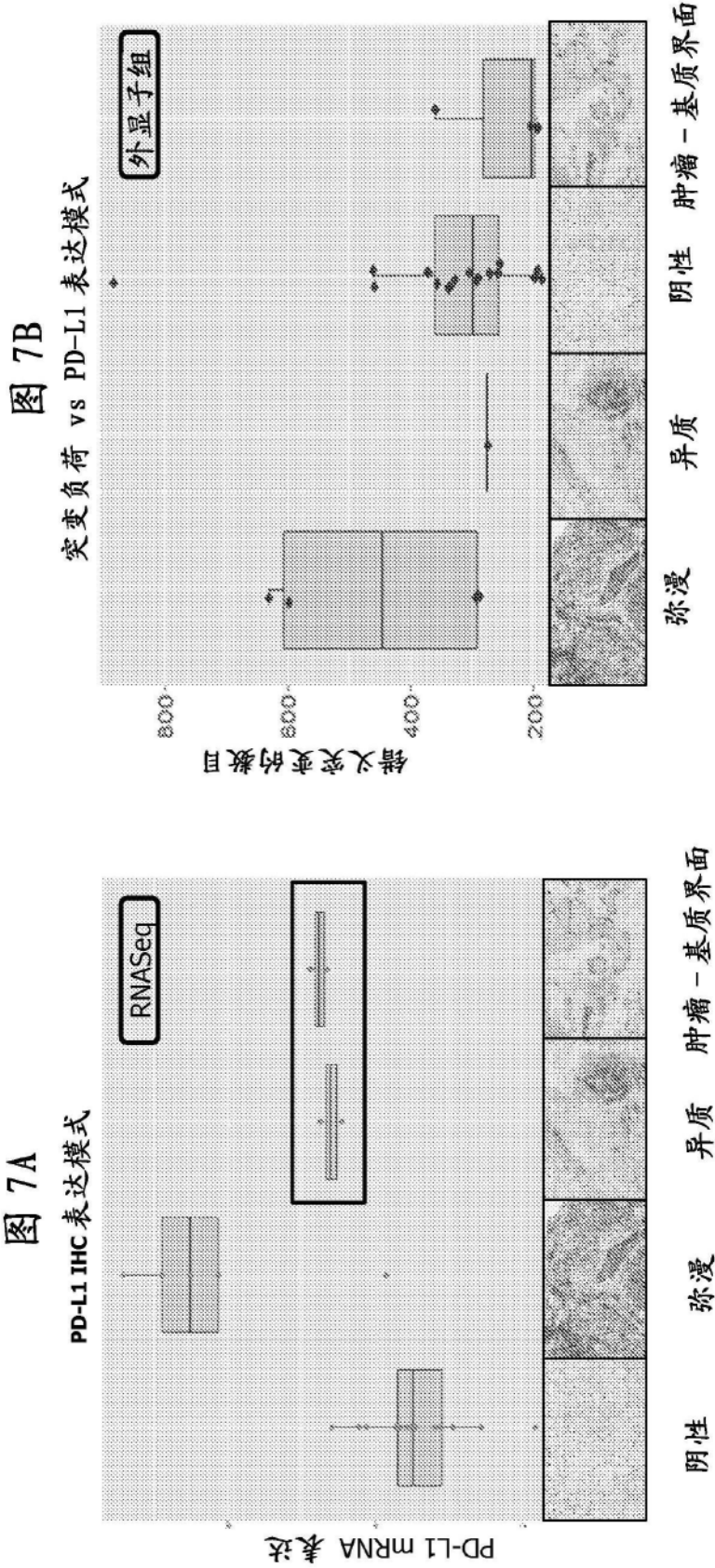


图7

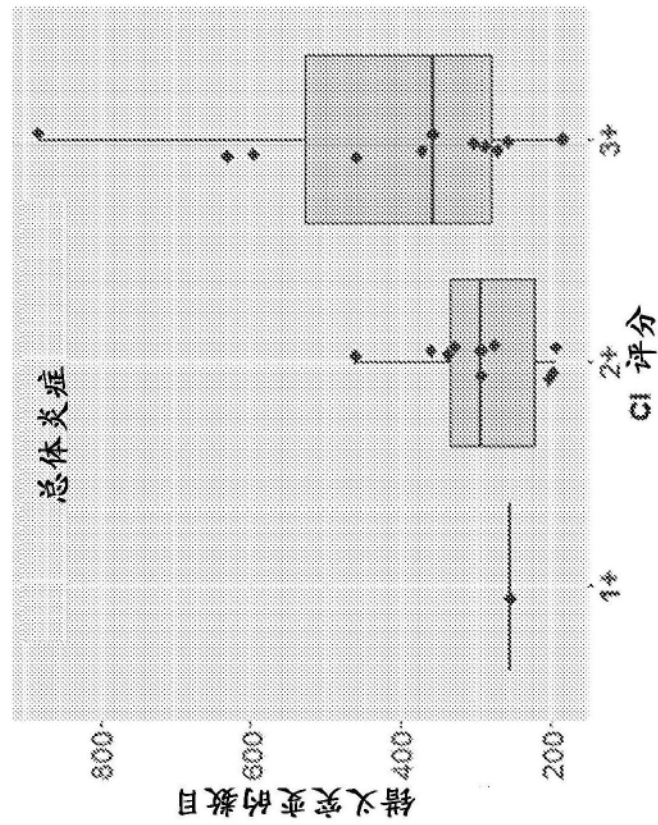


图8A

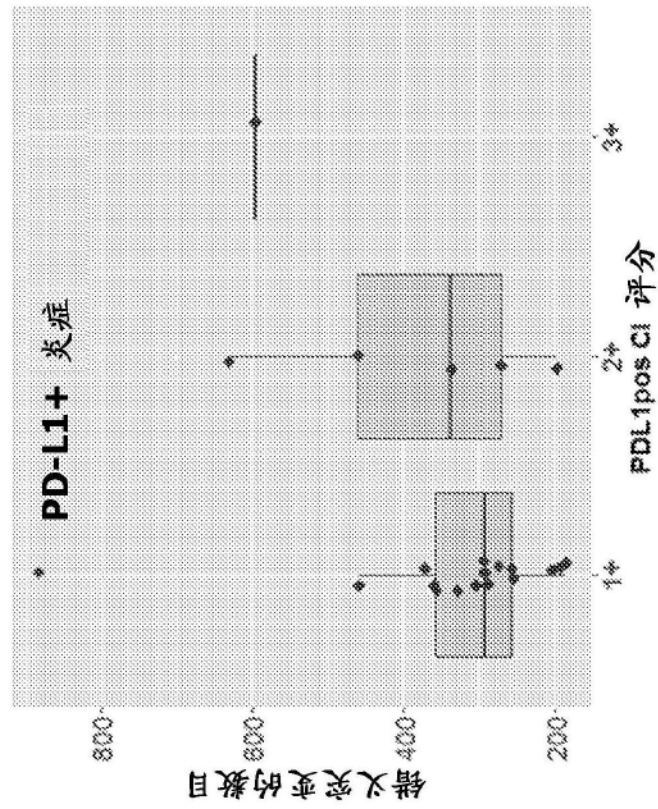


图8B

| 基因 | WT | MUT | 突变频率 | 突变 VS. 模式 |
|-------|----|-----|-------|-----------|
| TP53 | 13 | 11 | 46% | D,H,I,N |
| STK11 | 15 | 9 | 37.5% | N |
| KEAP1 | 16 | 8 | 33% | D,N |
| KRAS | 17 | 7 | 29% | D,I,N |
| EGFR | 19 | 5 | 21% | D,I,N |
| MET | 22 | 2 | 8% | D,H |

STK11 vs. PDL1 IHC 模式
Fisher 精确检验 p=0.077

图9A

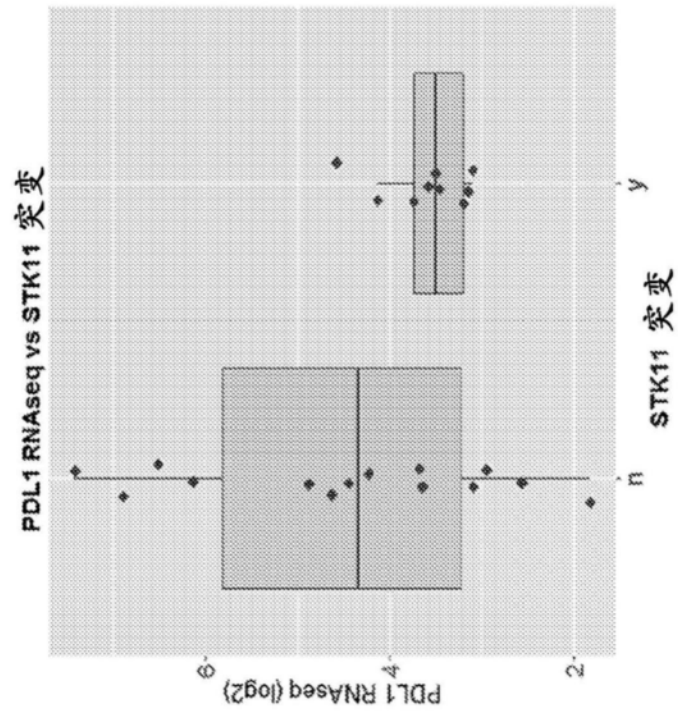


图9B

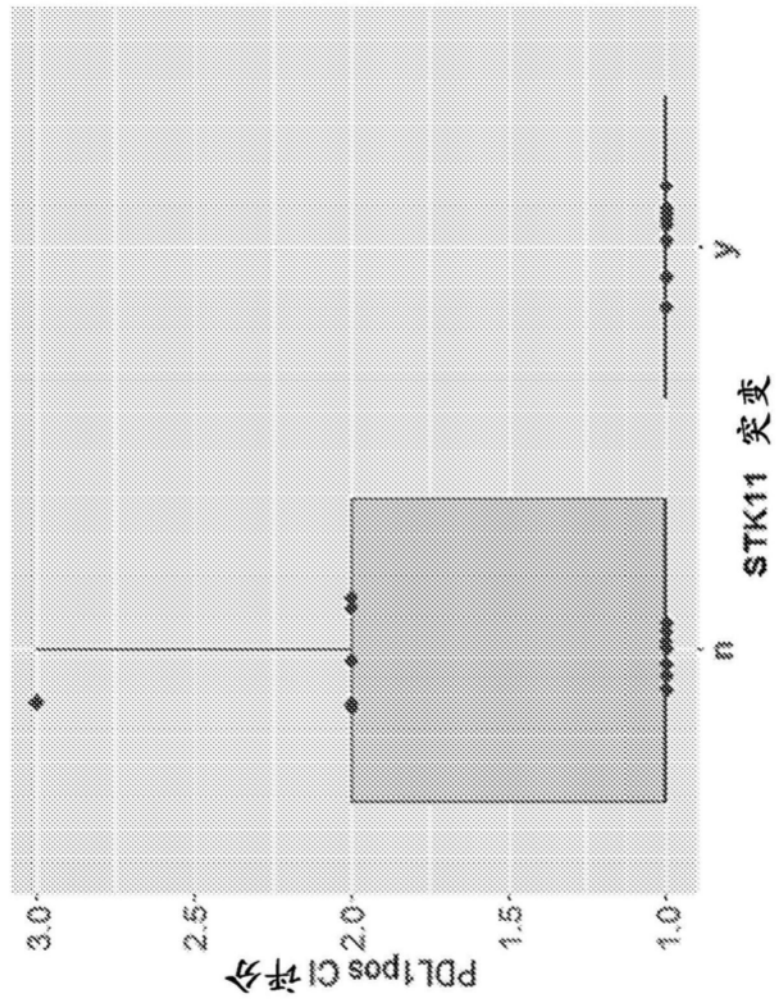


图10A

| PDL1+ 炎症评分 | | | | |
|------------|----|----|----|--|
| | 1+ | 2+ | 3+ | |
| STK11-MUT | 9 | 0 | 0 | |
| STK11-WT | 7 | 5 | 1 | |

Fisher 精确检验 p=0.046

图10B

| 总体炎症评分 | | | |
|-----------|----|----|----|
| | 1+ | 2+ | 3+ |
| STK11-MUT | 1 | 2 | 6 |
| STK11-WT | 0 | 8 | 5 |

图10C

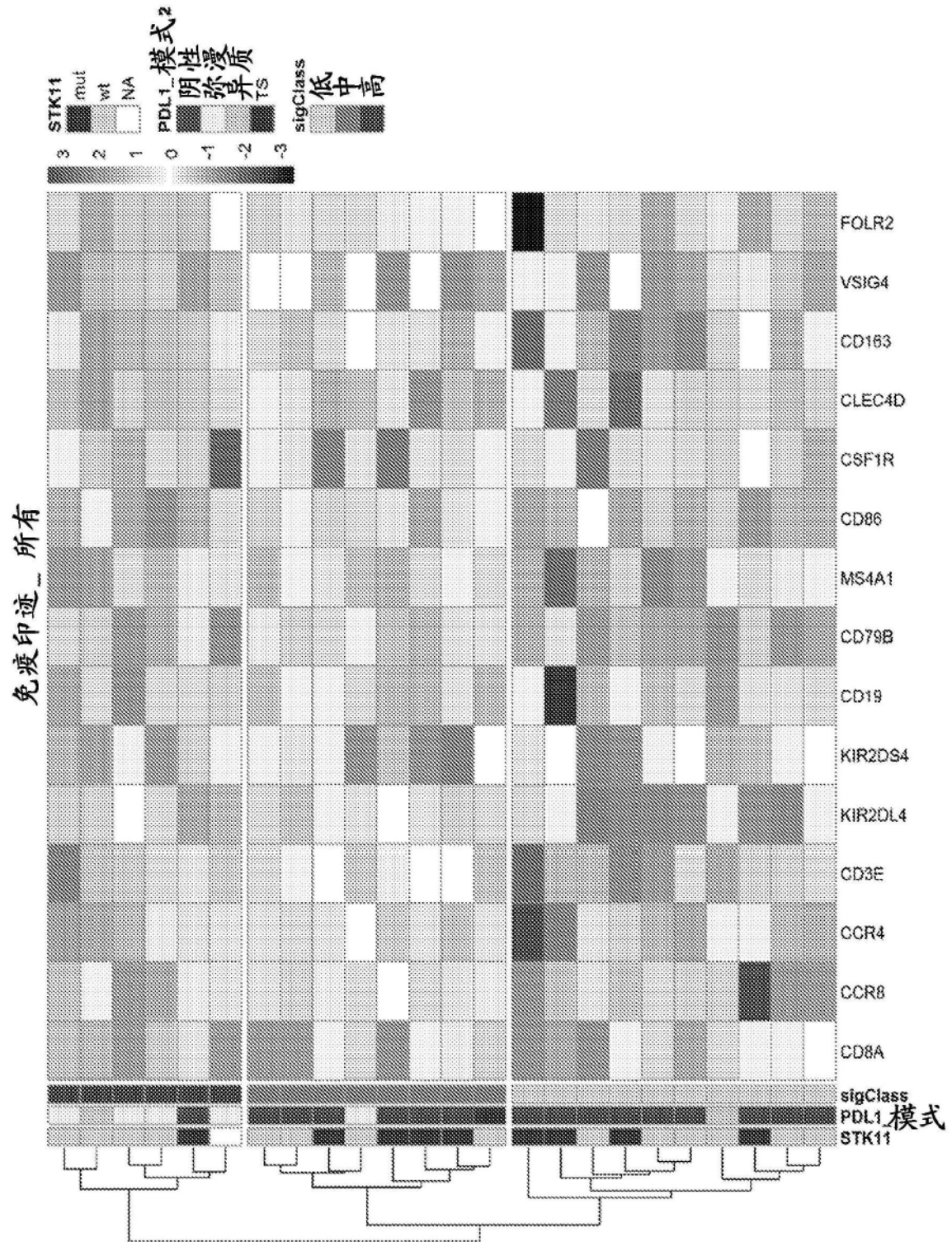


图11

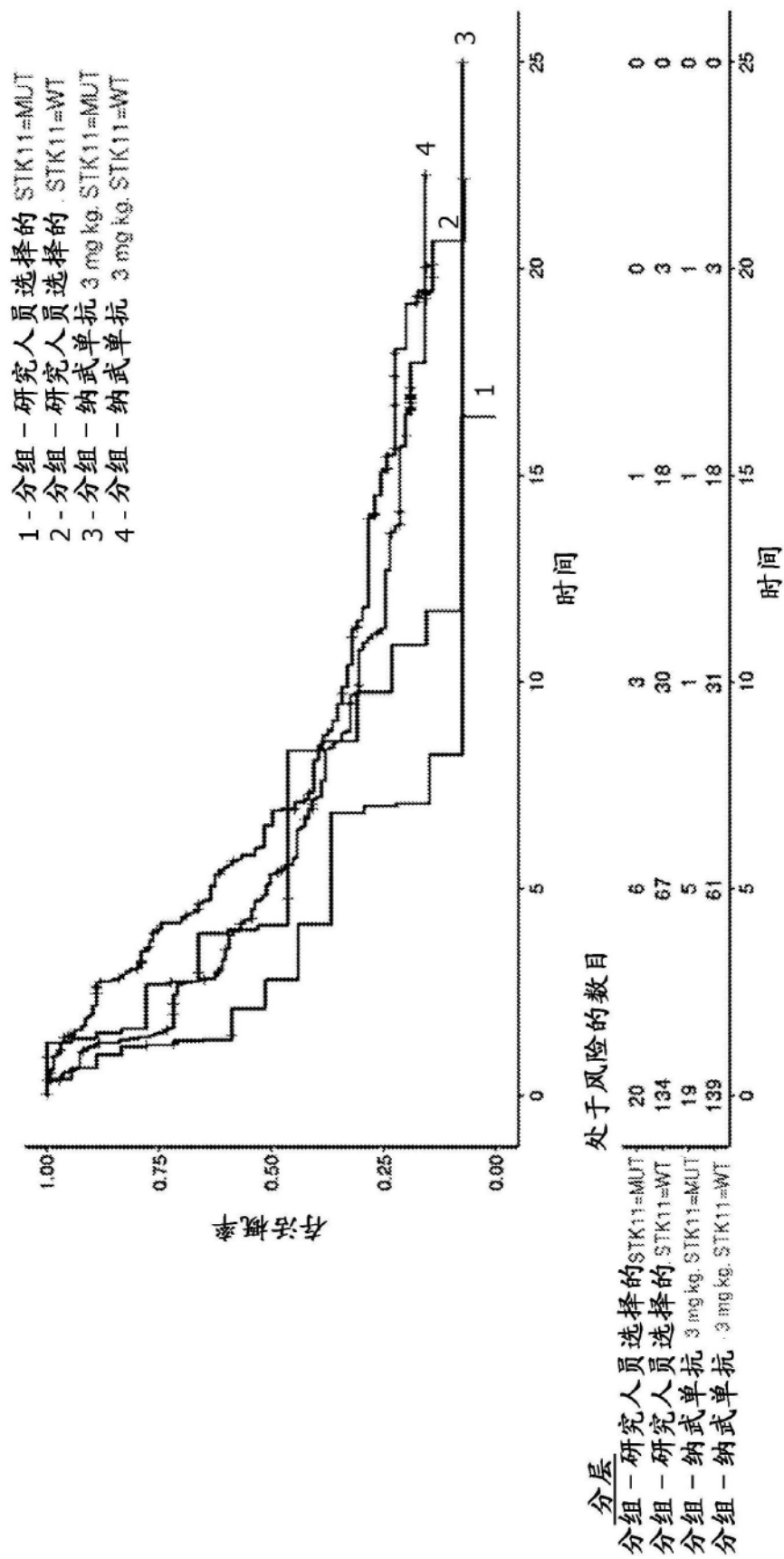


图12A

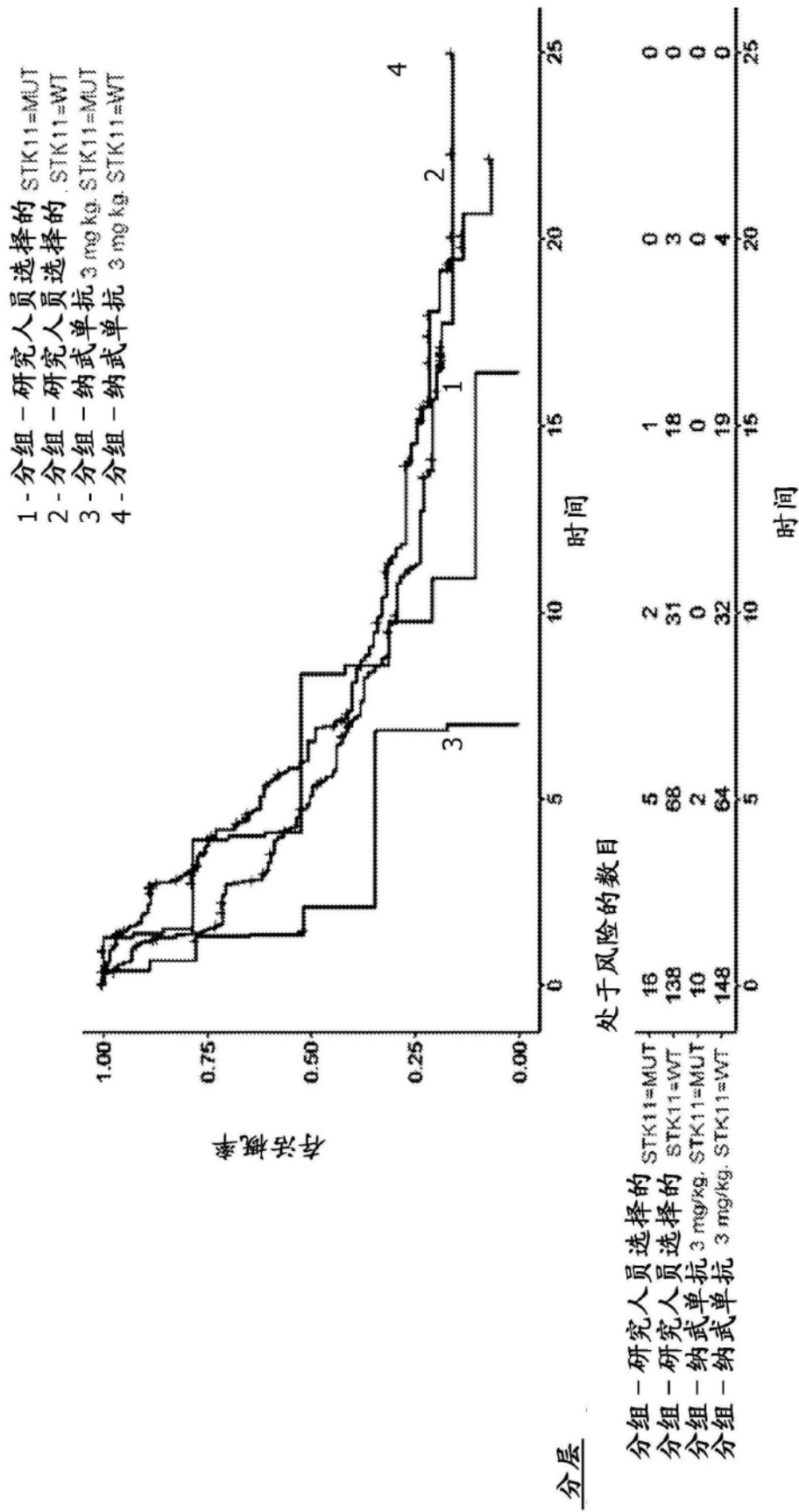


图12B

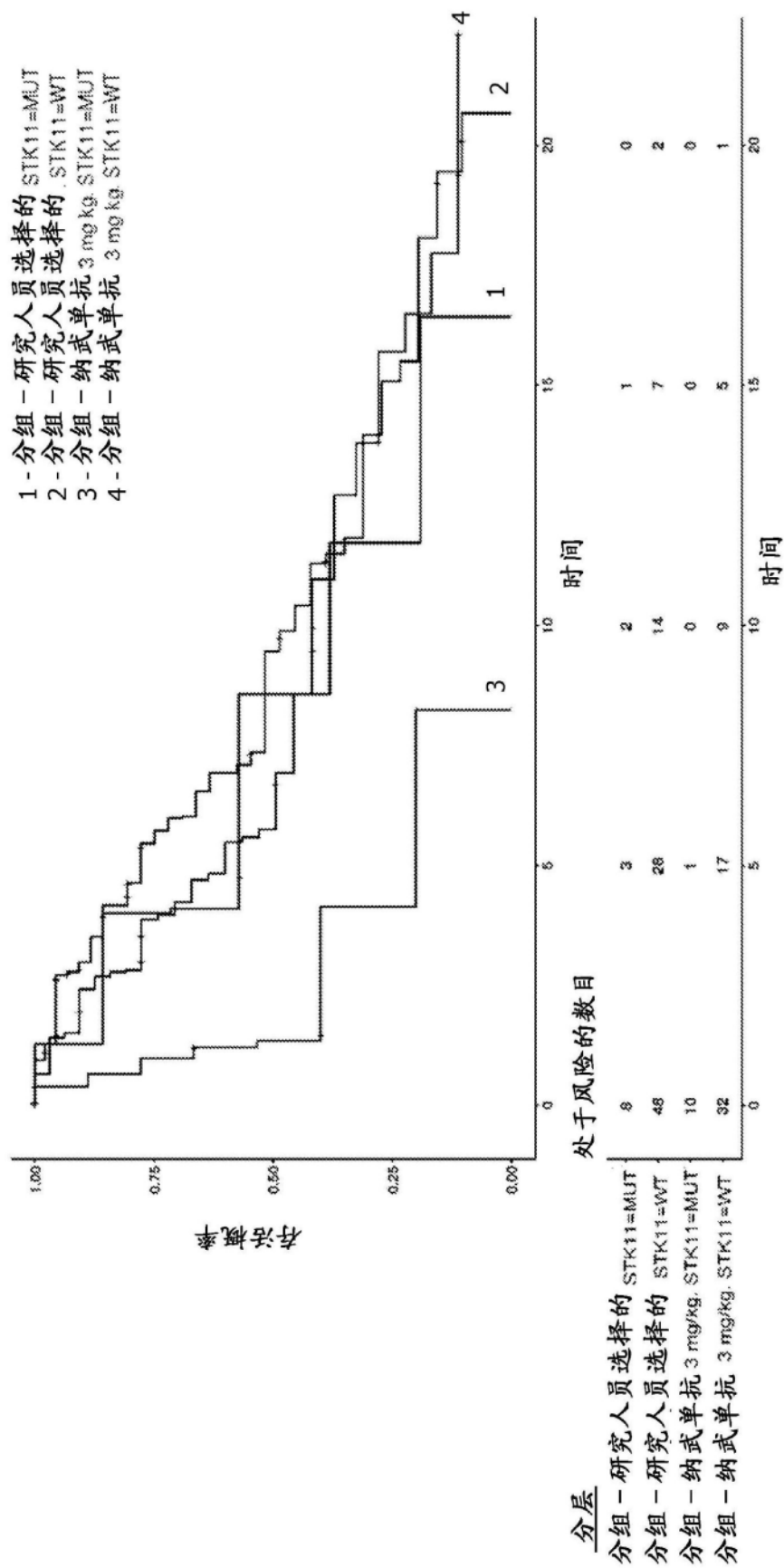


图13

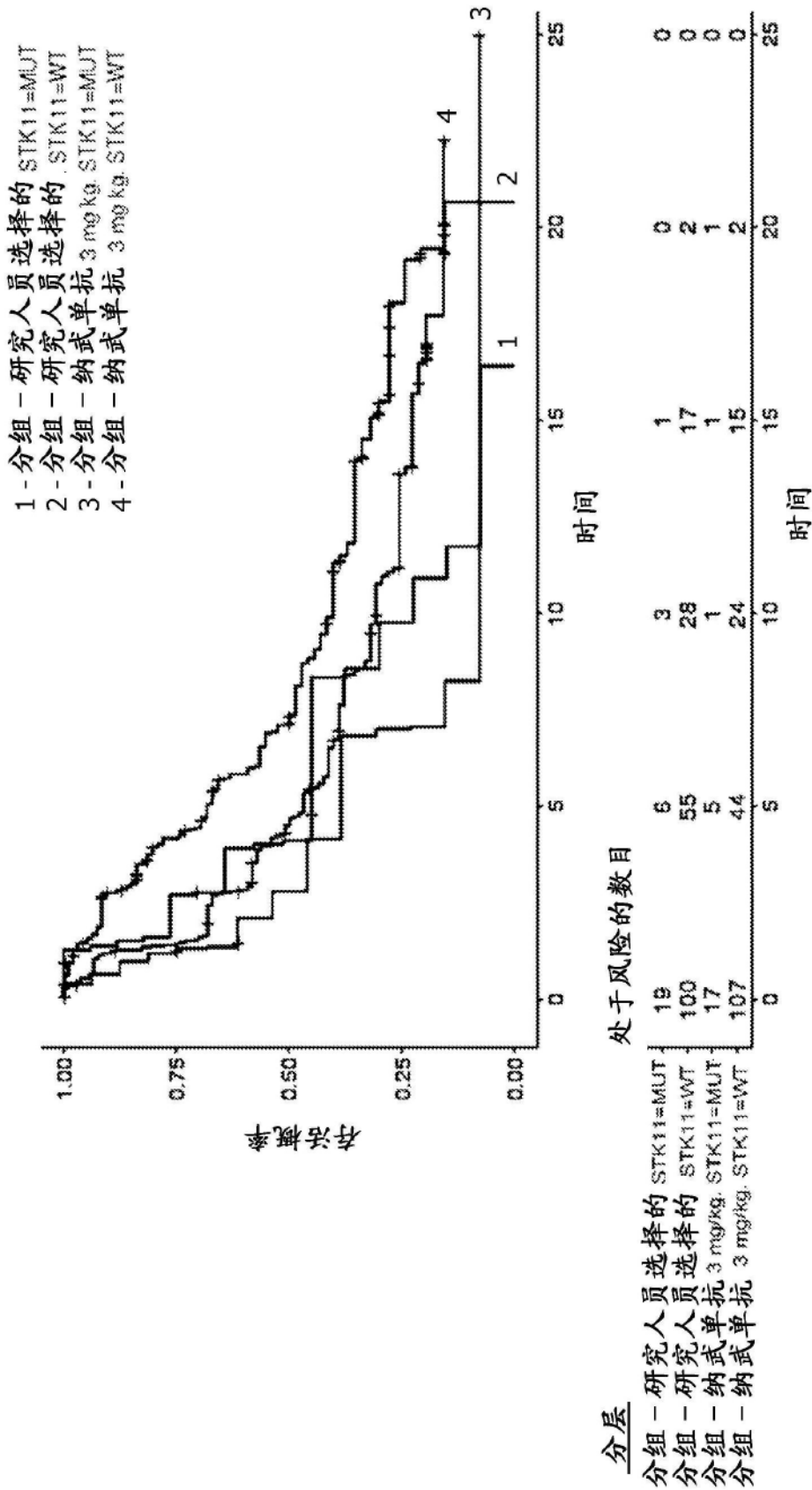


图14A

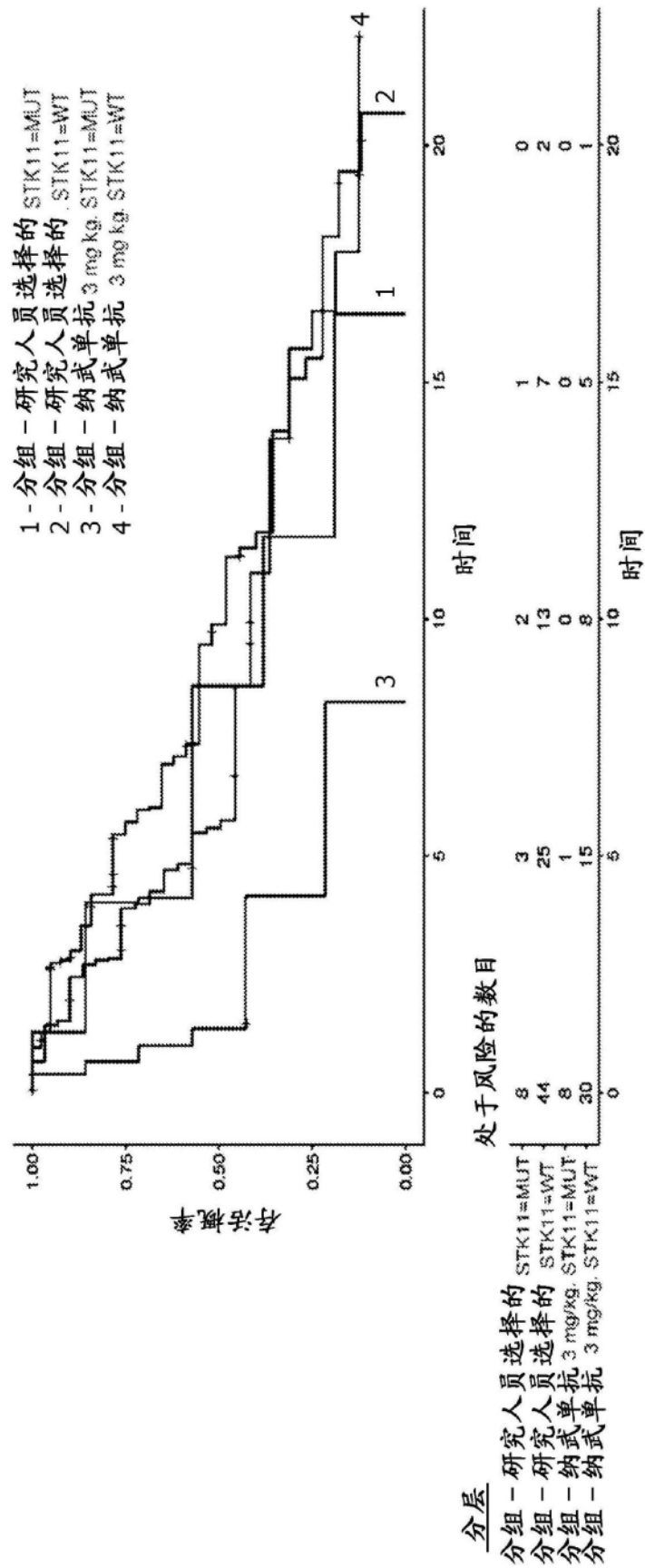


图14B

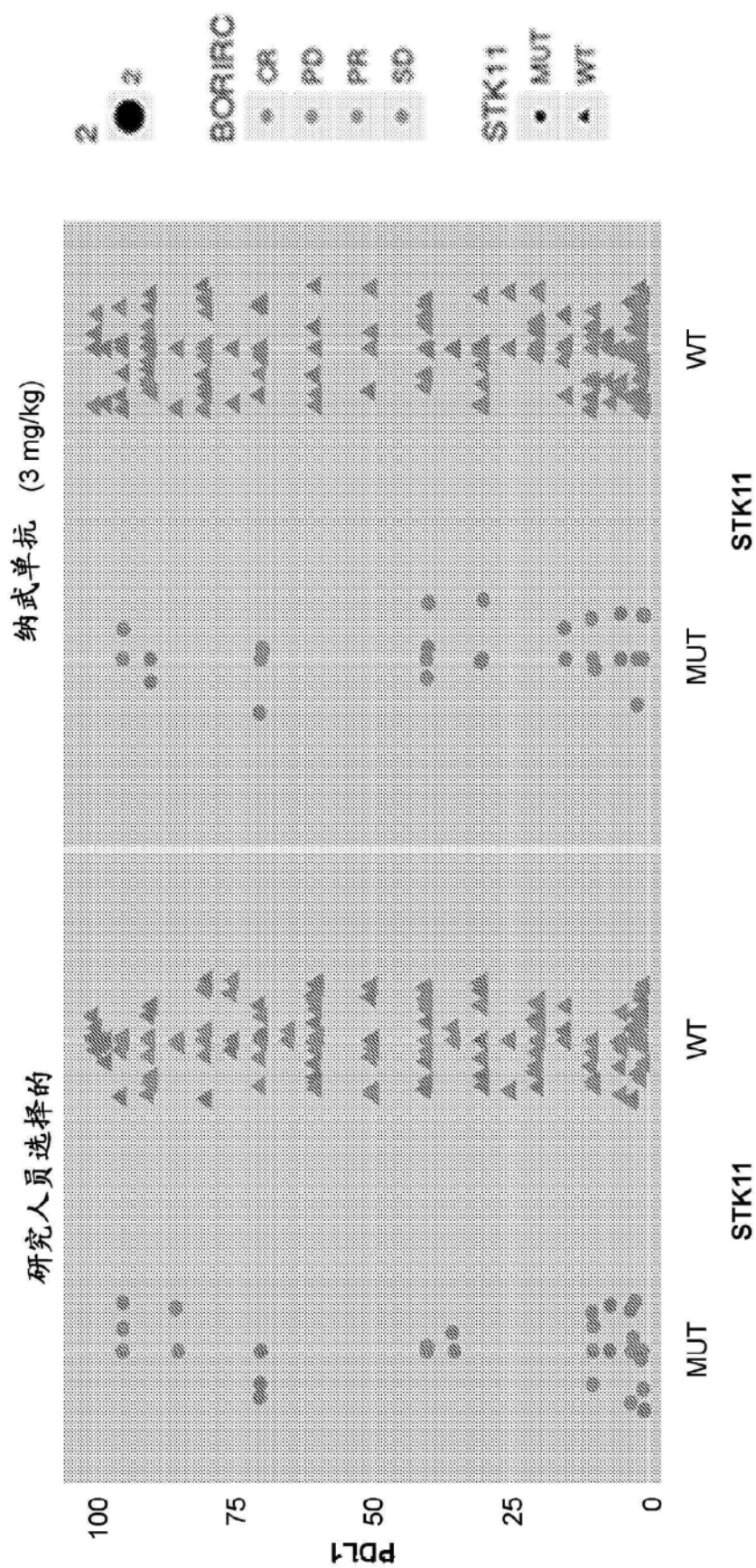


图 15B

图 15A

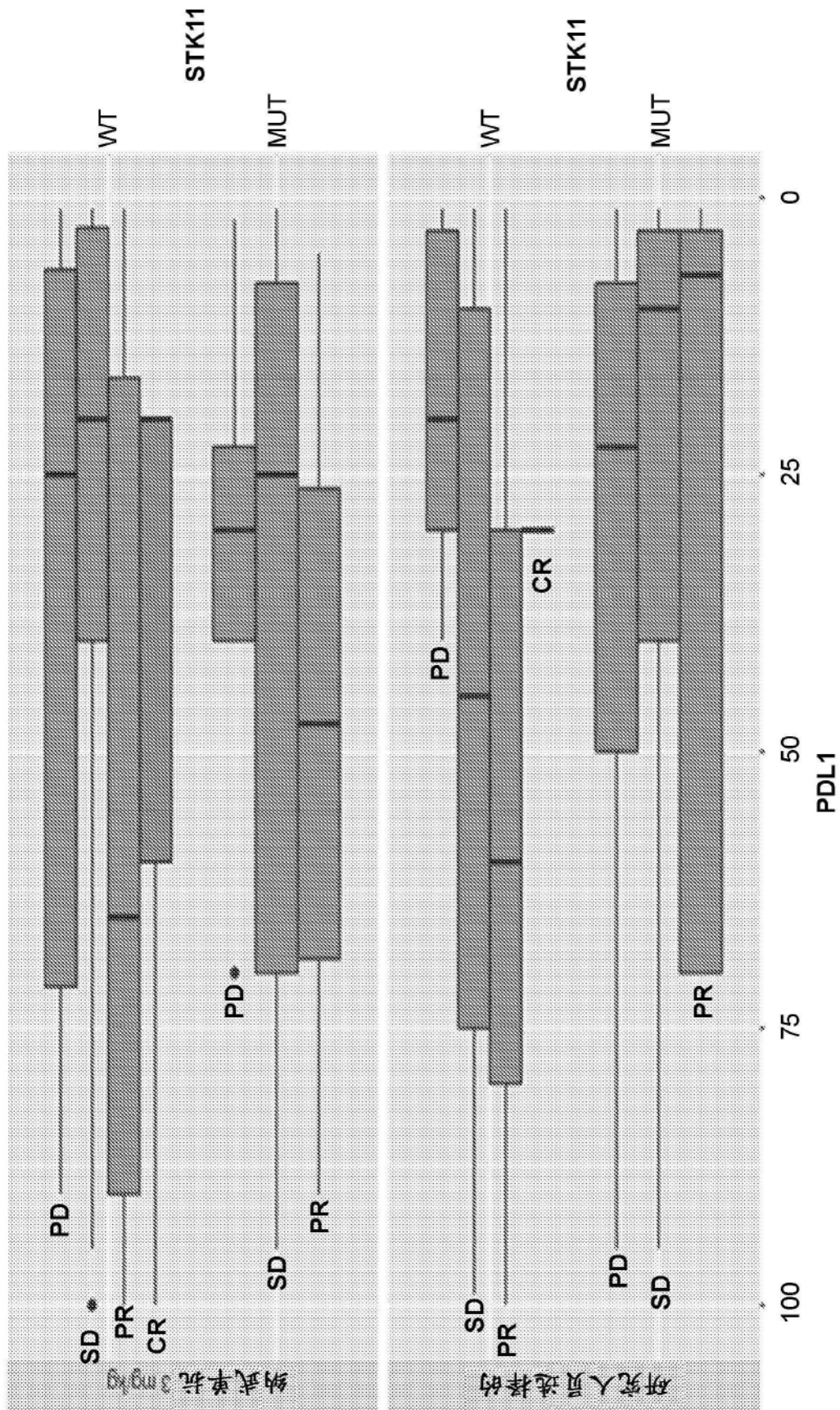


图15C

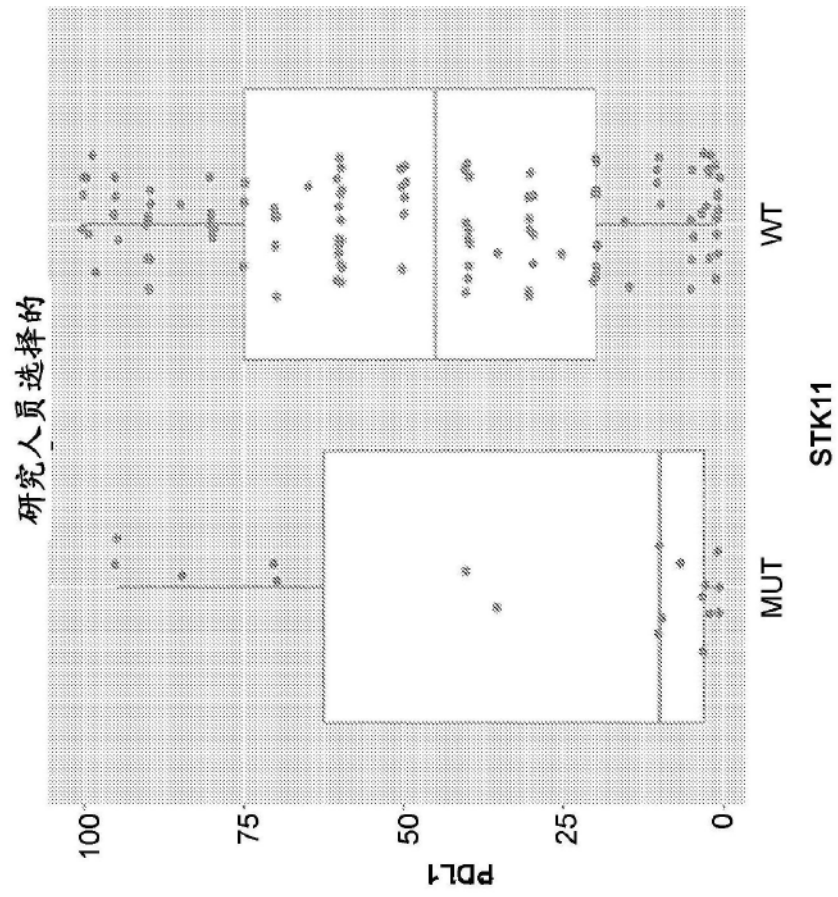


图15D

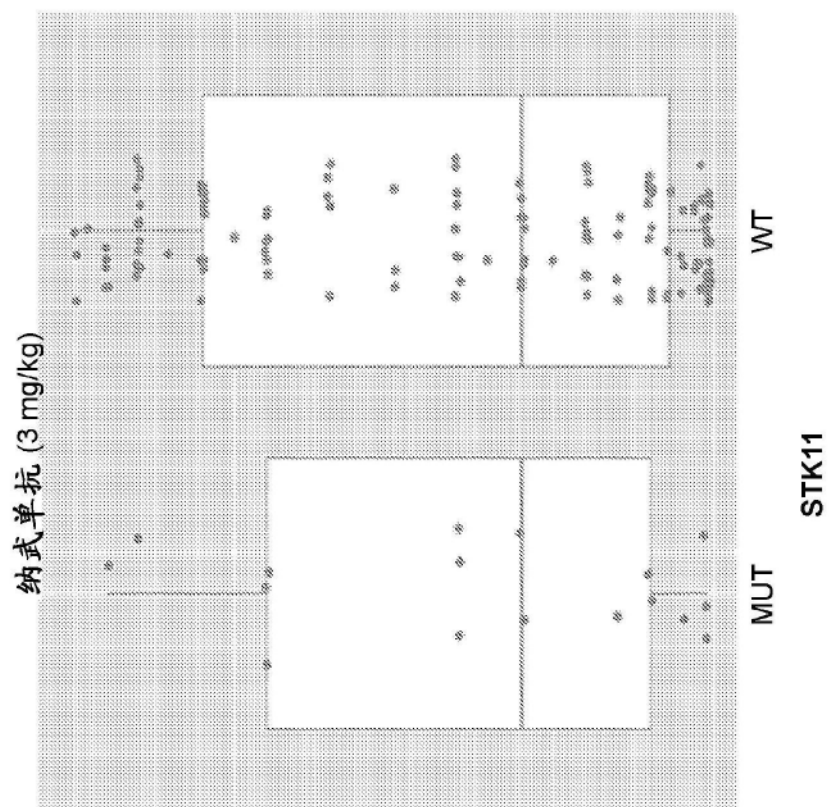


图15E

| HGVsp_短 | ACTARM | STRAT17C | BORINV | PFSIRC1 | PFSIRC1.CNSR | PDL1 | TUMLOC |
|---------------|--------------|----------|--------|----------|--------------|------|--------|
| p.Q37* | 纳武单抗 3 mg/kg | 非鳞状 | NE | 0.032854 | 1 | 40 | 转移 |
| p.Q214* | 纳武单抗 3 mg/kg | 非鳞状 | NE | 1.347023 | 0 | 1 | 原发 |
| p.E57Kfs*7 | 纳武单抗 3 mg/kg | 非鳞状 | PD | 2.102669 | 0 | 95 | 原发 |
| p.G171Afs*116 | 纳武单抗 3 mg/kg | 鳞状 | PD | 1.182752 | 1 | 70 | 转移 |
| p.R40Qfs*119 | 纳武单抗 3 mg/kg | 非鳞状 | PD | 0.657084 | 0 | 70 | 原发 |
| p.E70* | 纳武单抗 3 mg/kg | 非鳞状 | PD | 1.445585 | 1 | 40 | 原发 |
| p.K84* | 纳武单抗 3 mg/kg | 非鳞状 | PD | 0.394251 | 0 | 40 | 转移 |
| p.R310P | 纳武单抗 3 mg/kg | 鳞状 | PD | 1.215606 | 0 | 30 | 转移 |
| p.D194Y | 纳武单抗 3 mg/kg | 非鳞状 | PD | 0.985626 | 0 | 15 | 原发 |
| p.A153D | 纳武单抗 3 mg/kg | 非鳞状 | PD | 2.792608 | 0 | 10 | 转移 |
| p.G196V | 纳武单抗 3 mg/kg | 非鳞状 | PD | 1.215606 | 1 | 10 | 原发 |
| p.P179L | 纳武单抗 3 mg/kg | 非鳞状 | PD | 7.063655 | 0 | 2 | 原发 |
| p.D194Y | 纳武单抗 3 mg/kg | 非鳞状 | PR | 8.246407 | 0 | 90 | 转移 |
| p.Q382E | 纳武单抗 3 mg/kg | 非鳞状 | PR | 4.13963 | 0 | 70 | |
| p.G276V | 纳武单抗 3 mg/kg | 非鳞状 | PR | 24.9692 | 1 | 5 | 原发 |
| p.P281Rfs*6 | 纳武单抗 3 mg/kg | 非鳞状 | PR | 6.997947 | 0 | 1 | 原发 |
| p.G196V | 纳武单抗 3 mg/kg | 非鳞状 | SD | 1.182752 | 0 | 40 | 原发 |
| p.X288_剪接 | 纳武单抗 3 mg/kg | 非鳞状 | SD | 1.314168 | 0 | 30 | 转移 |
| p.X199_剪接 | 纳武单抗 3 mg/kg | 非鳞状 | SD | 6.833676 | 0 | 1 | 转移 |

图15F

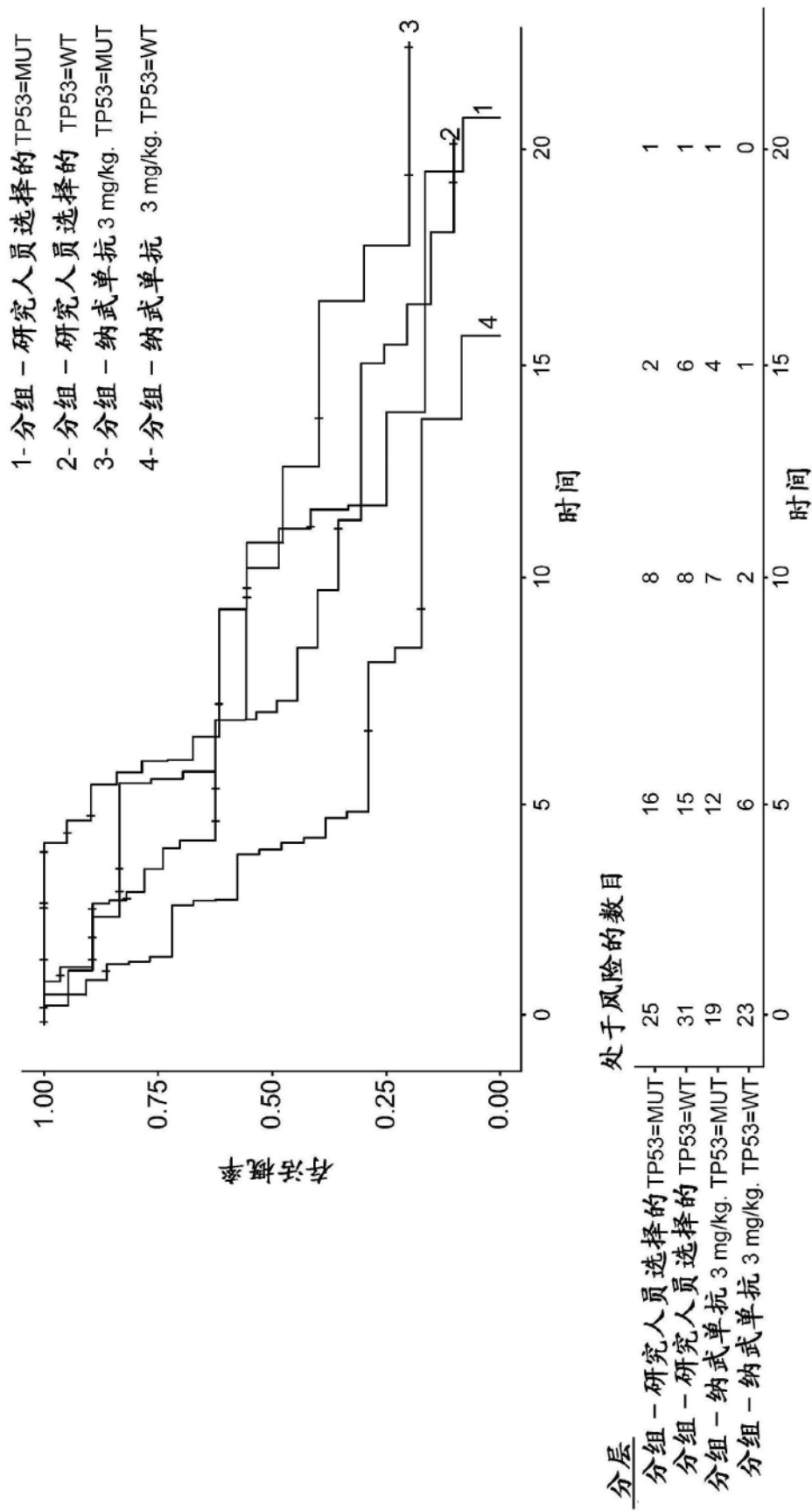


图16A

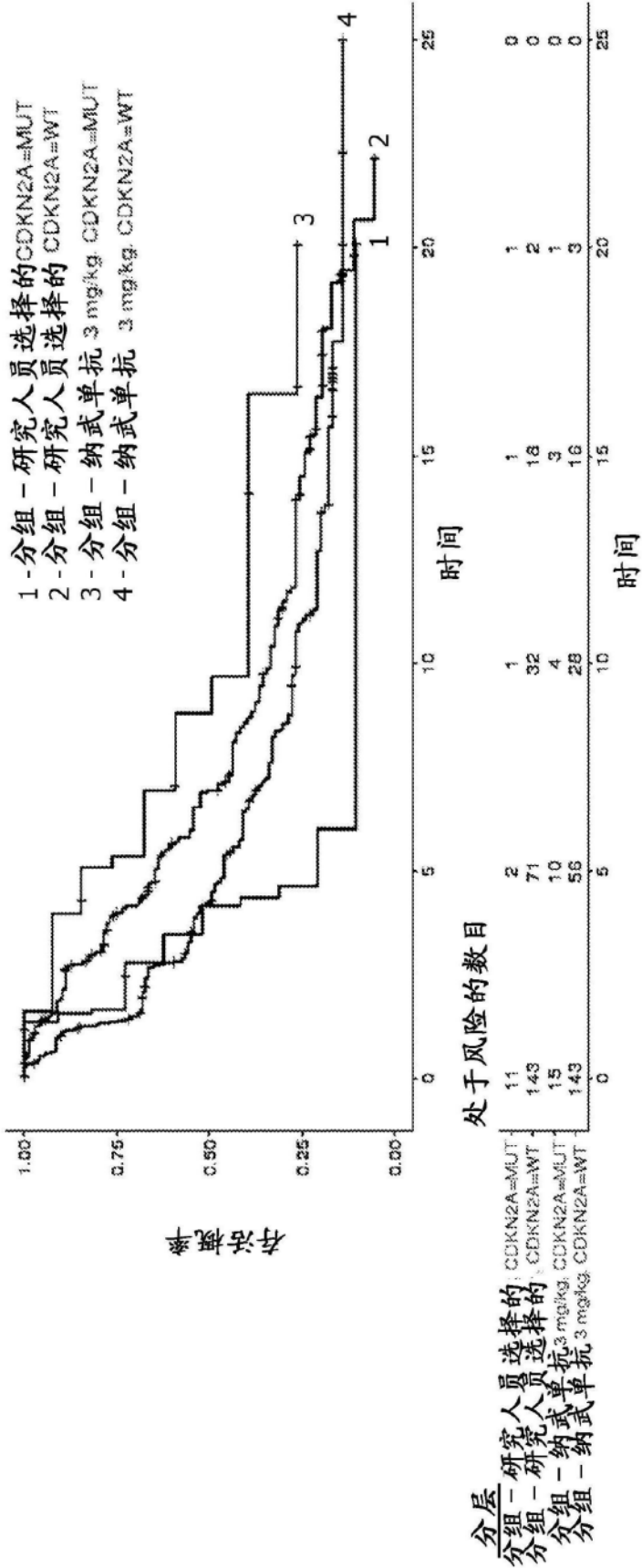


图16B

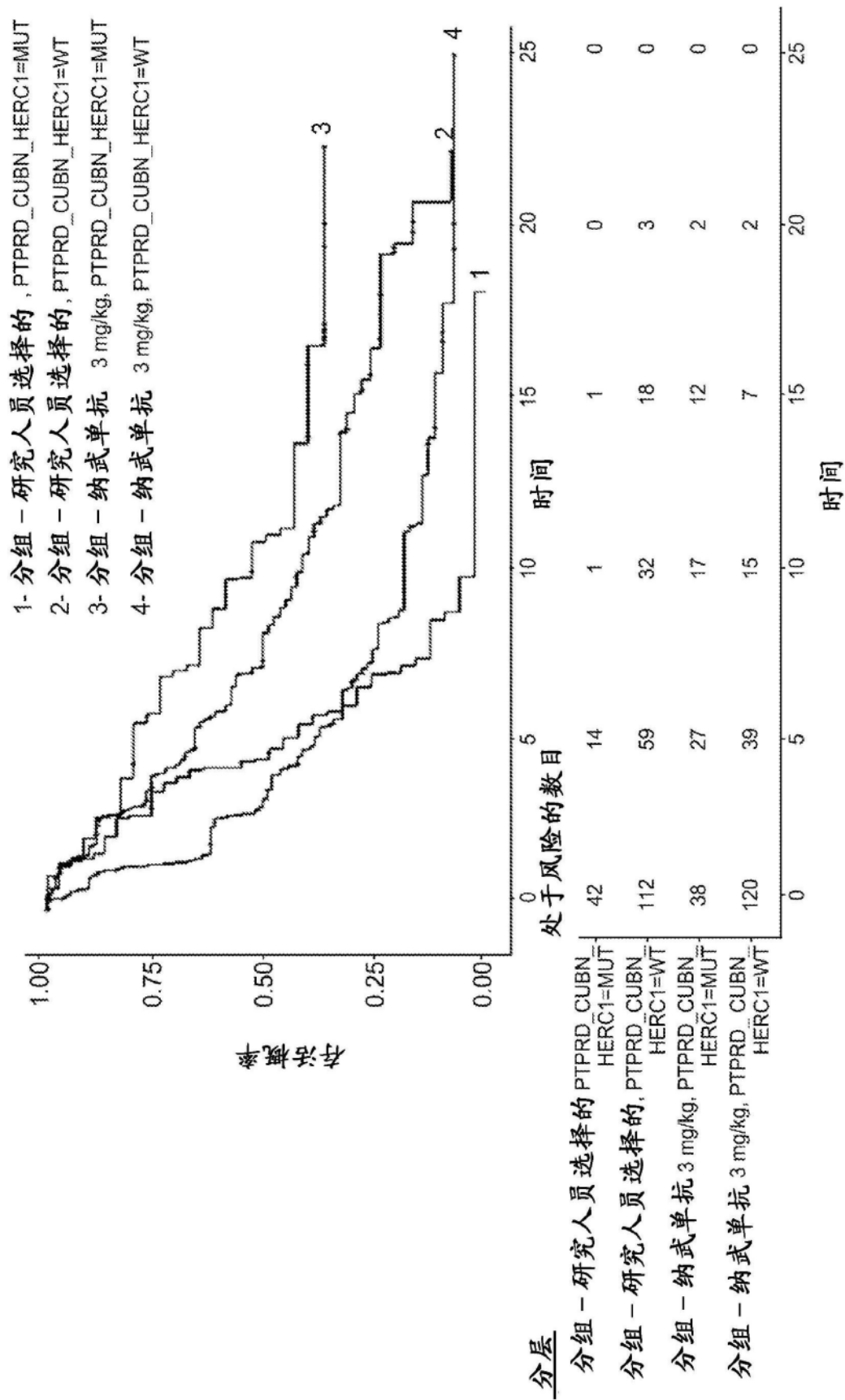


图16C

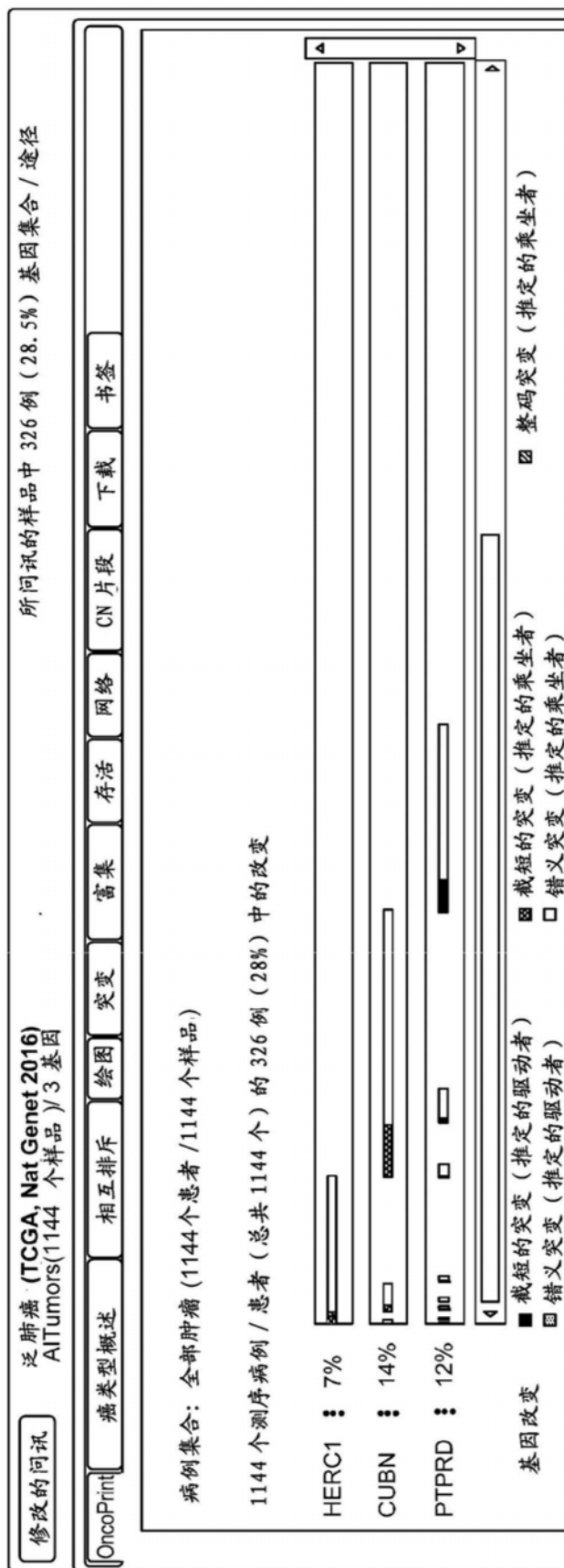


图16D

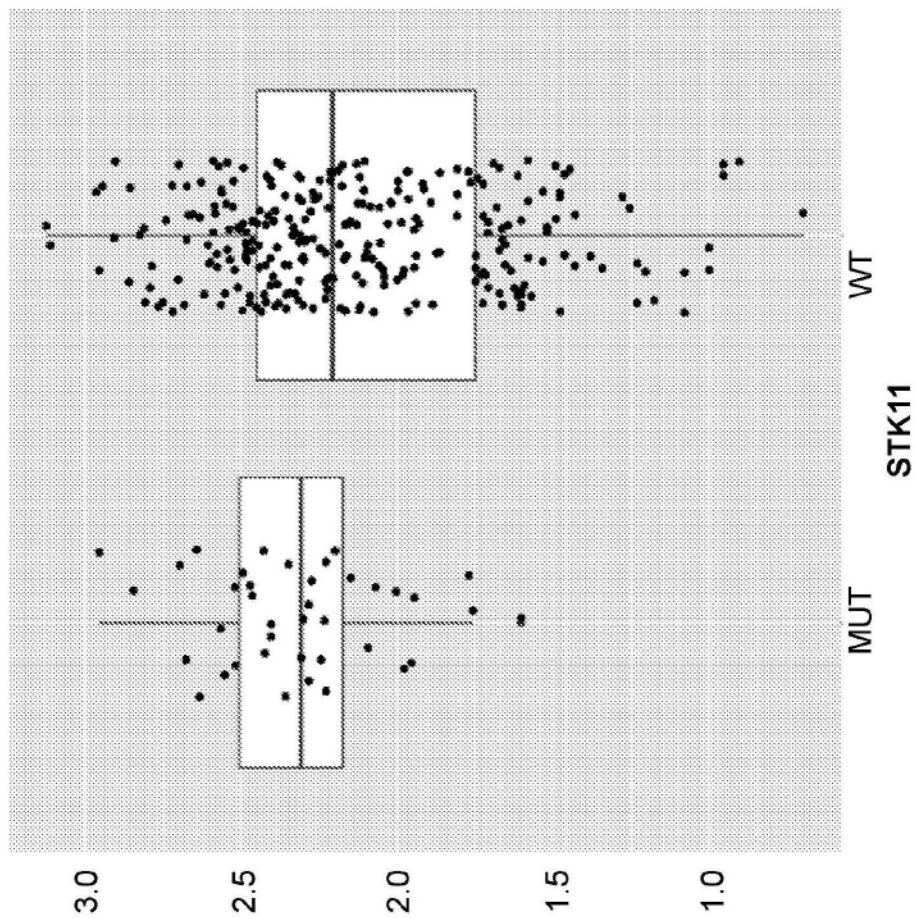


图17A

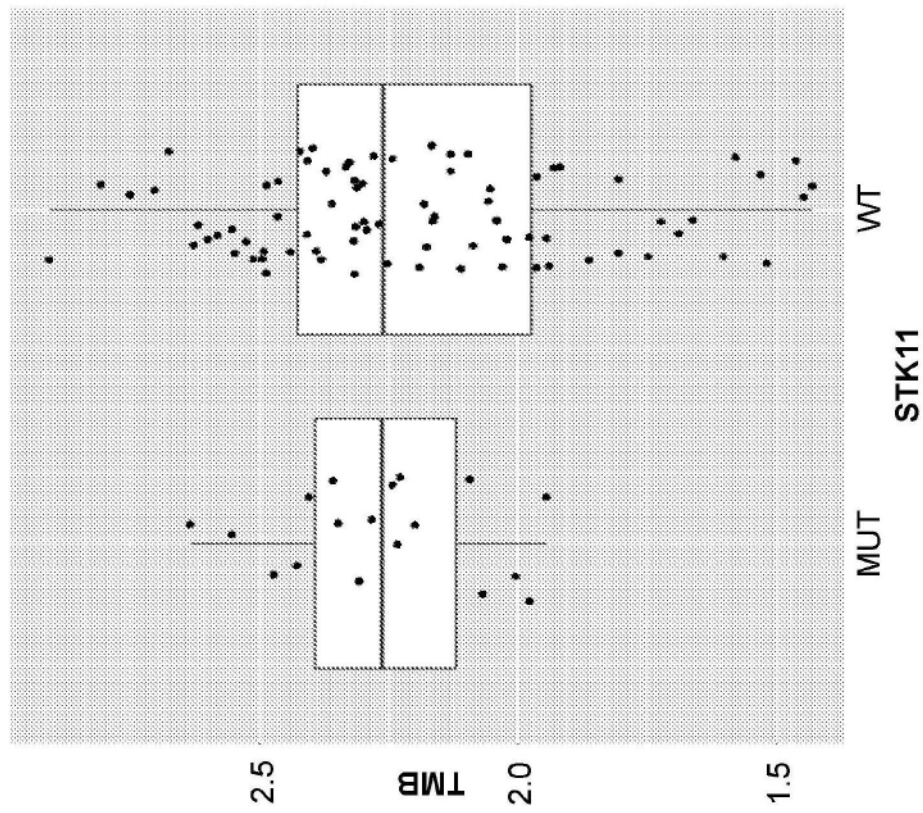


图17B

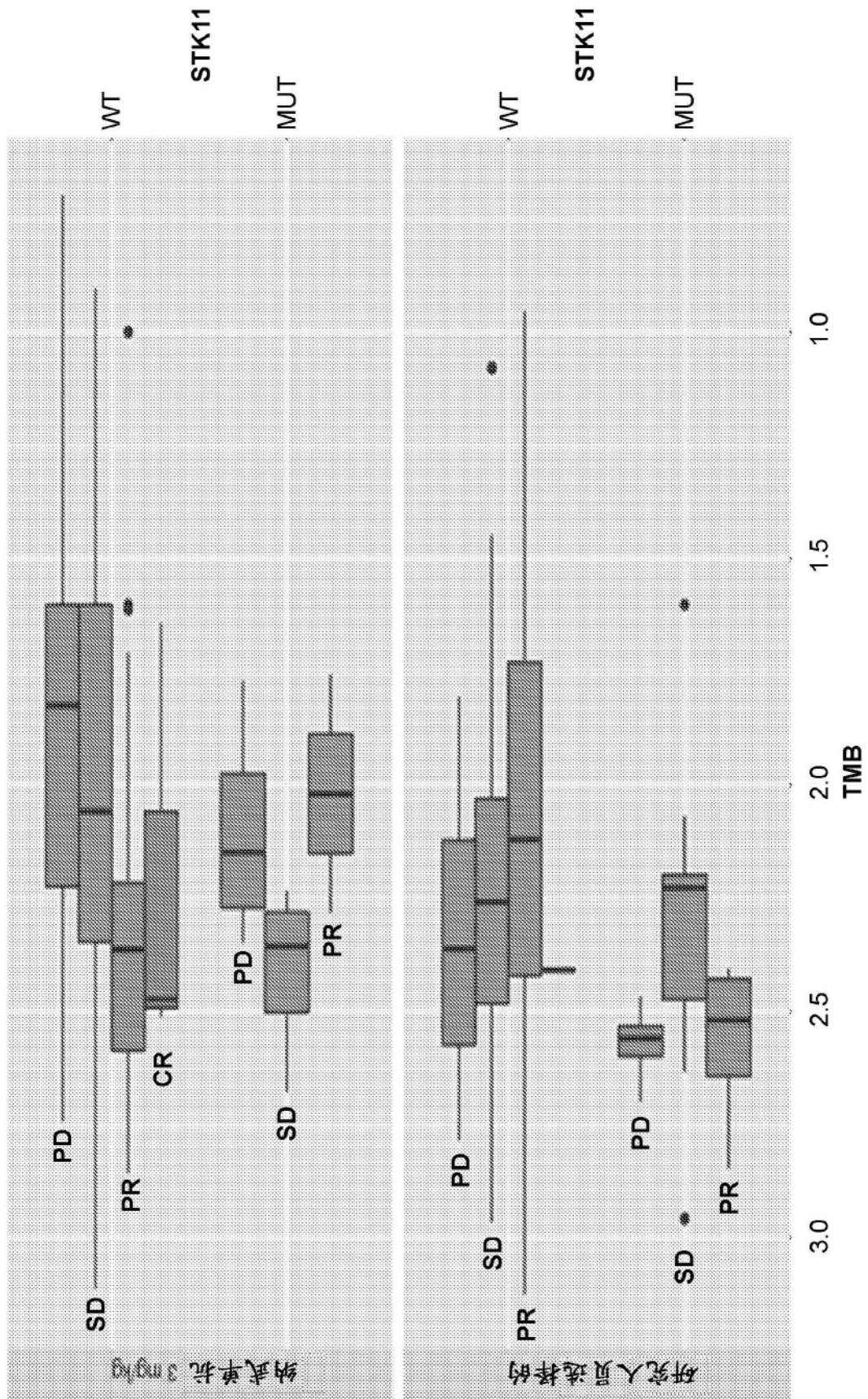


图17C

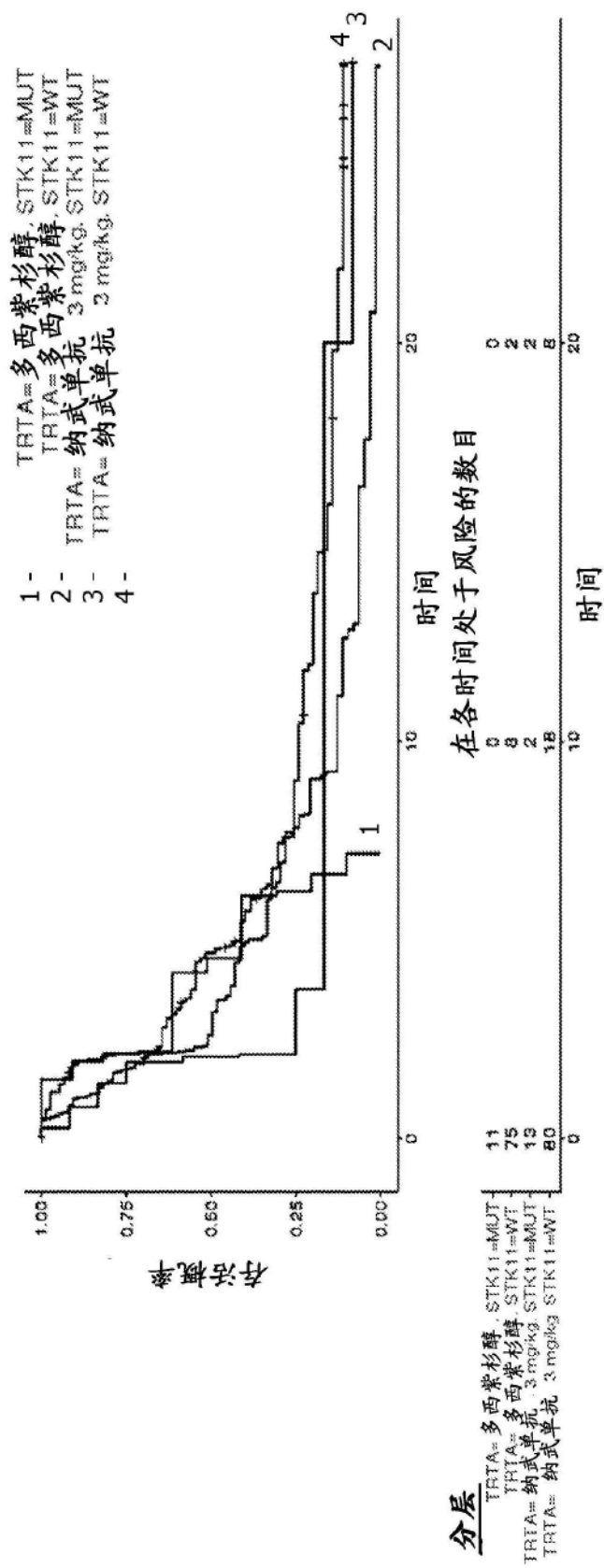


图18A

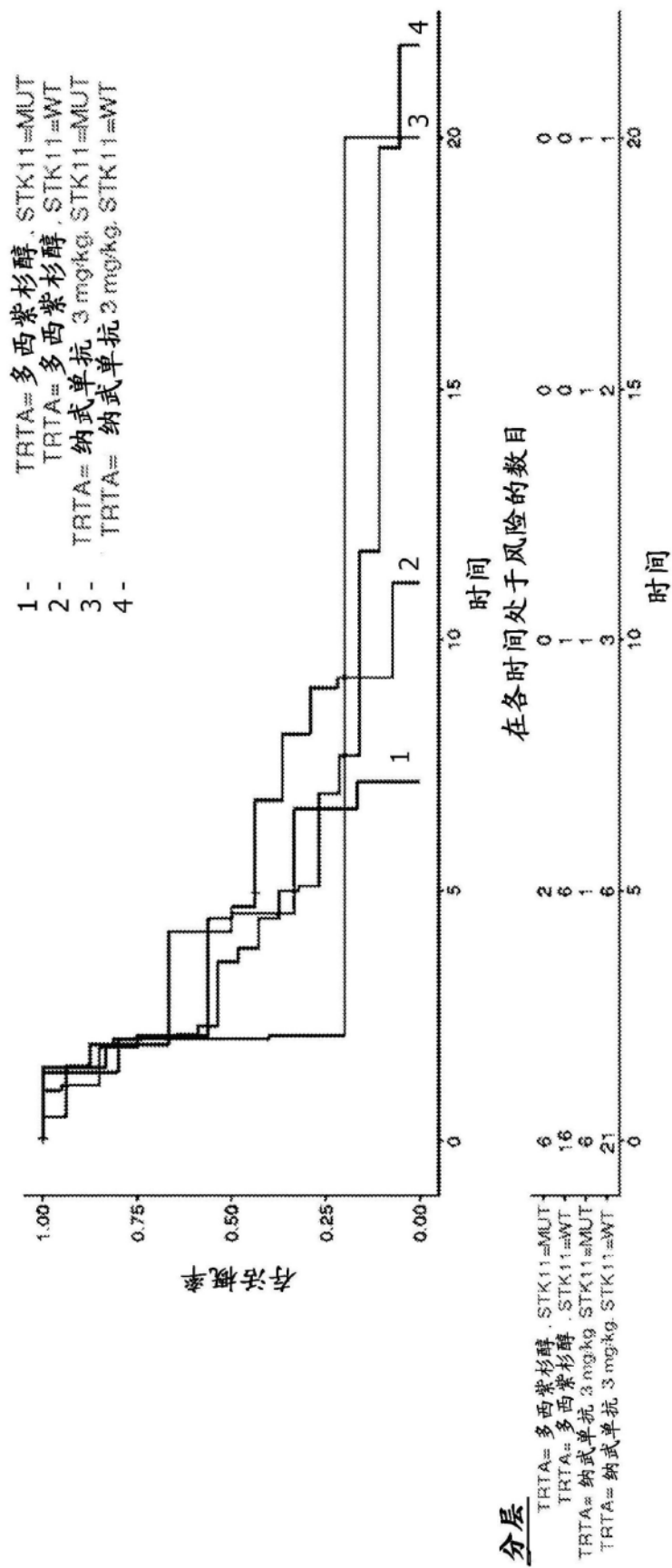


图18B

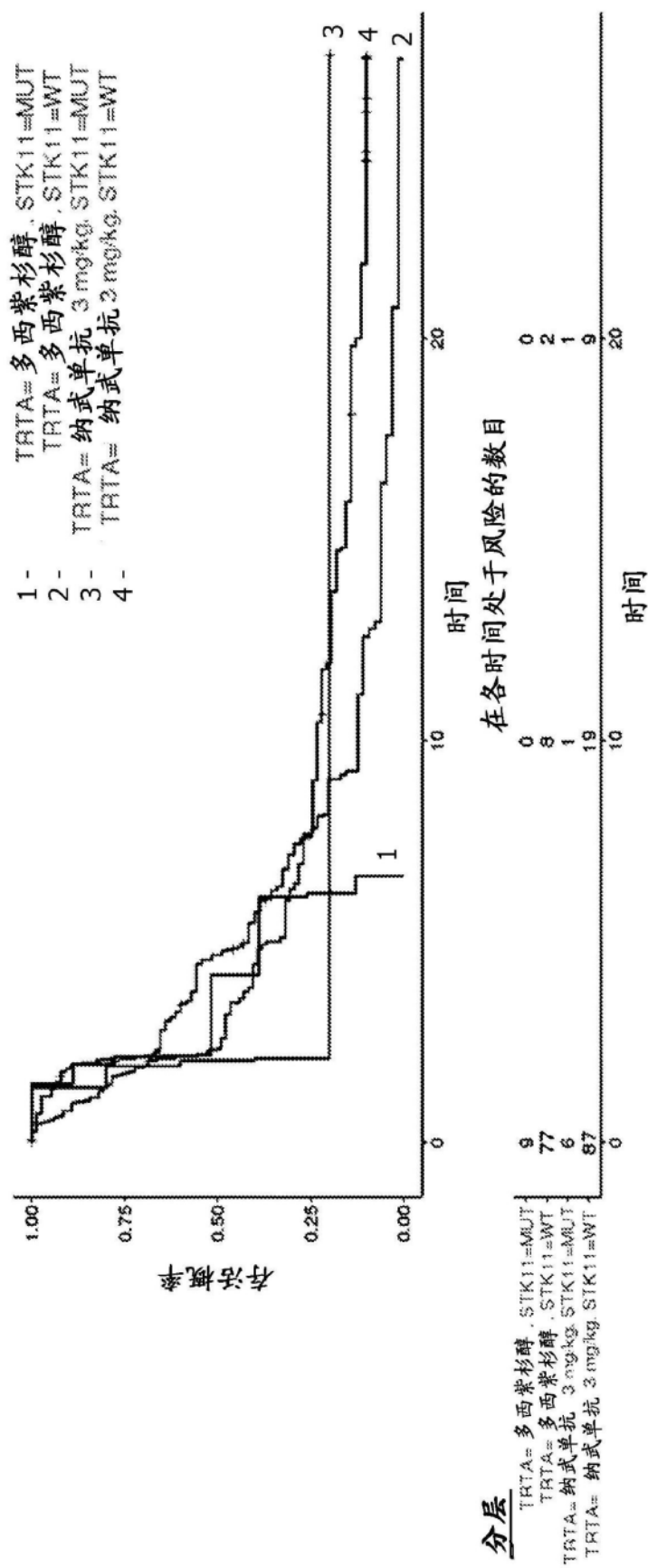


图18C

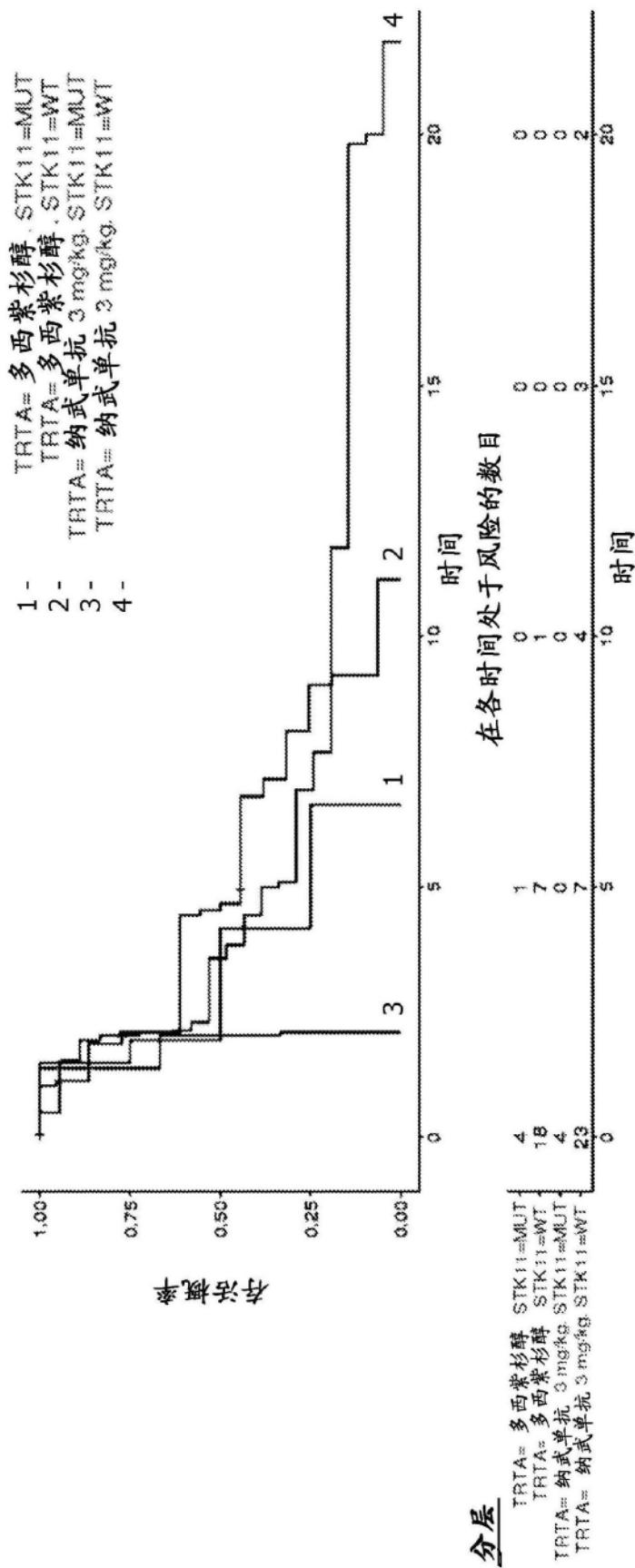


图18D

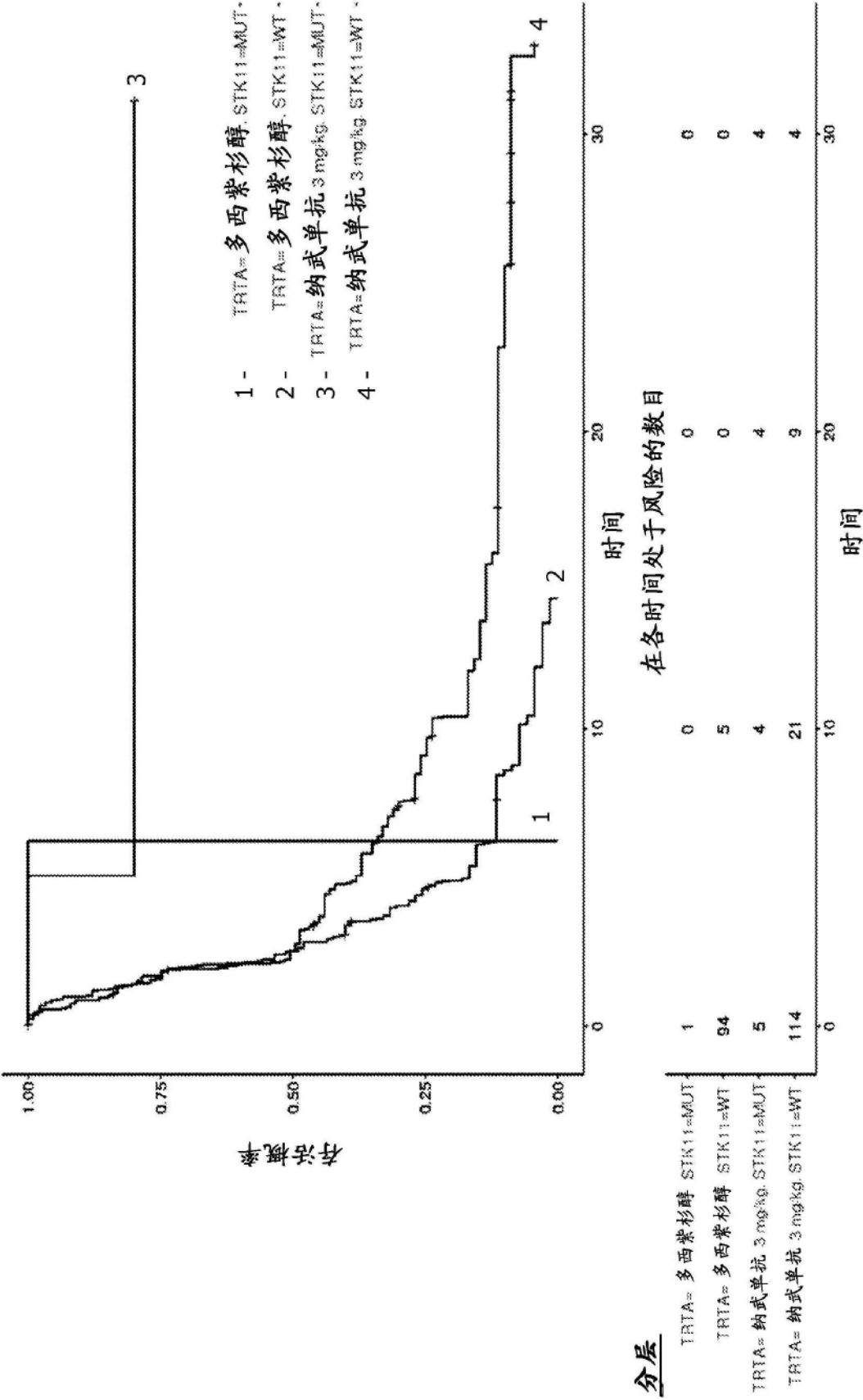


图19