



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111670200 A

(43)申请公布日 2020.09.15

(21)申请号 201880088127.X

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理

(22)申请日 2018.11.29

有限公司 11262

(30)优先权数据

代理人 王玮玮 郑霞

62/592,169 2017.11.29 US

(51)Int.Cl.

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

C07K 16/28(2006.01)

2020.07.29

A61K 38/00(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/063171 2018.11.29

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/108860 EN 2019.06.06

(71)申请人 美真达治疗公司

地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 安东尼·博伊坦诺 迈克尔·库克

拉胡尔·帕尔乔杜里

权利要求书28页 说明书98页

肖恩·麦克唐纳

序列表12页 附图10页

(54)发明名称

用于耗尽CD2+细胞的组合物和方法

(57)摘要

本发明提供了用作治疗干细胞紊乱、癌症或自身免疫性疾病以及其他血液学疾病和增殖性疾病的剂的抗CD2抗体、其抗原结合片段及其抗体-药物缀合物。本文描述的组合物和方法可以用于耗尽CD2+细胞诸如CD2+癌细胞和CD2+免疫细胞的群体，并且可以用于使患者准备好进行造血干细胞移植。

1. 一种耗尽人类患者中的CD2+细胞的群体的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的抗CD2抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合。

2. 一种耗尽需要造血干细胞移植的人类患者中的CD2+细胞的群体的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的抗CD2抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合。

3. 一种预防需要造血干细胞移植的人类患者中的造血干细胞移植排斥的方法,所述方法包括在所述人类患者接受包含造血干细胞的移植之前,向所述患者施用有效量的抗CD2抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合。

4. 一种耗尽需要造血干细胞移植的人类患者中的CD2+细胞的群体的方法,所述方法包括在所述患者接受包含造血干细胞的移植之前,向所述患者施用有效量的抗CD2抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合。

5. 一种方法,所述方法包括向人类患者施用包含造血干细胞的移植植物,其中所述患者先前已经被施用足以耗尽所述患者中的CD2+细胞的群体的量的抗CD2抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合。

6. 一种方法,所述方法包括:

i) 向人类患者施用足以耗尽所述患者中的CD2+细胞的群体的量的与CD2结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合;和

ii) 随后向所述患者施用包含造血干细胞的移植植物。

7. 如权利要求1-6中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段由杂交瘤细胞系ATCC HB 11423产生。

8. 如权利要求1-6中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含由具有ATCC登录号HB 11423的杂交瘤细胞系产生的抗体LO-CD2A的重链可变区CDR集合(CDR1、CDR2和CDR3)和轻链可变区CDR集合(CDR1、CDR2和CDR3)。

9. 如权利要求1-6中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段是:

i) 包含重链可变区并且包含轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分,所述重链可变区包含如SEQ ID NO:1中列出的CDR-H1;如SEQ ID NO:2中列出的CDR-H2;如SEQ ID NO:3中列出的CDR-H3;并且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO:4中列出的CDR-L1;如SEQ ID NO:5中列出的CDR-L2;和如SEQ ID NO:6中列出的CDR-L3;

ii) 包含重链可变区并且包含轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分,所述重链可变区包含如SEQ ID NO:14中列出的CDR-H1;如SEQ ID NO:15中列出的CDR-H2;如SEQ ID NO:16或17中列出的CDR-H3;并且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO:18中列出的CDR-L1;如SEQ ID NO:19中列出的CDR-L2;和如SEQ ID NO:20中列出的CDR-L3;

iii) 包含如SEQ ID NO:7中列出的重链可变区并且包含如SEQ ID NO:8中列出的轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分;

iv) 包含如SEQ ID NO:9中列出的重链可变区并且包含如SEQ ID NO:10中列出的轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分;或者

v) 包含如SEQ ID NO:21或22中列出的重链可变区并且包含如SEQ ID NO:23中列出的轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分。

10. 如权利要求1-6中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段竞争性抑制

CD2与权利要求9所述的抗体或其抗原结合片段的结合。

11. 如权利要求1-6中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段选自由以下组成的组:单克隆抗体或其抗原结合片段、多克隆抗体或其抗原结合片段、人源化抗体或其抗原结合片段、双特异性抗体或其抗原结合片段、完整抗体、双重可变免疫球蛋白结构域、单链Fv分子(scFv)、双抗体、三抗体、纳米抗体、抗体样蛋白支架、Fv片段、Fab片段、F(ab')₂分子和串联二-scFv。

12. 如权利要求1-10中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段是人源化抗体或其抗原结合片段。

13. 如权利要求1-12中任一项所述的方法,其中所述抗体具有选自由IgG、IgA、IgM、IgD和IgE组成的组的同种型。

14. 如权利要求13所述的方法,其中IgG同种型是IgG1或IgG4。

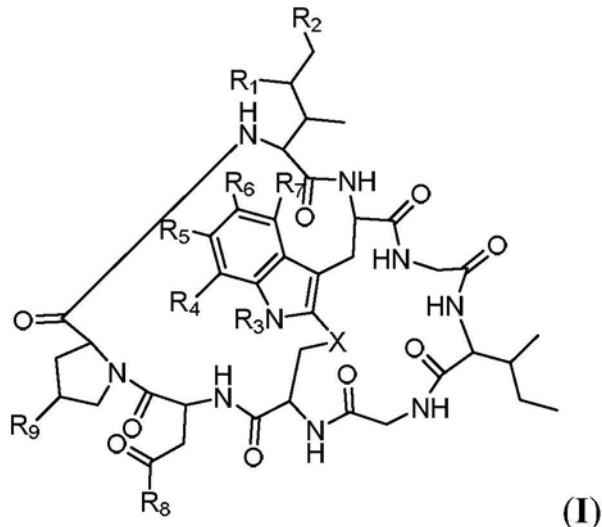
15. 如权利要求1至14中任一项所述的方法,其中所述细胞毒素选自由以下组成的组:假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、鹅膏蕈毒素、皂草素、美登素、美登木素生物碱、奥瑞他汀、蒽环霉素、加利车霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类和吲哚并苯二氮卓类二聚体,或其变体。

16. 如权利要求1至14中任一项所述的方法,其中所述细胞毒素是RNA聚合酶抑制剂。

17. 如权利要求16所述的方法,其中所述RNA聚合酶抑制剂是RNA聚合酶II抑制剂。

18. 如权利要求17所述的方法,其中所述RNA聚合酶II抑制剂是鹅膏蕈毒素。

19. 如权利要求1至14中任一项所述的方法,其中与细胞毒素缀合的所述抗体或其抗原结合片段由式Ab-Z-L-Am表示,其中Ab是所述抗体或其抗原结合片段,L是接头,Z是化学部分,并且Am是由式(I)表示的鹅膏蕈毒素



其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基基团;

R₃是H、R_C或R_D;

R₄、R₅、R₆和R₇各自独立地是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D；

R₉是H、OH、OR_C或OR_D；

X是-S-、-S(0)-或-SO₂-；

R_C是-L-Z；

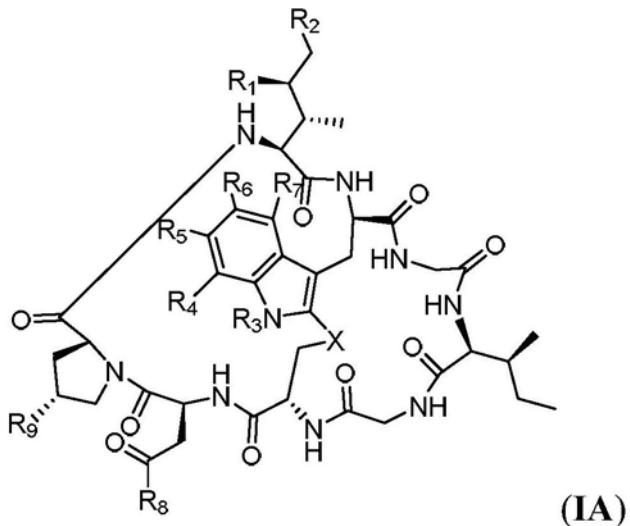
R_D是任选地被取代的C₁-C₆烷基、任选地被取代的C₁-C₆杂烷基、任选地被取代的C₂-C₆烯基、任选地被取代的C₂-C₆杂烯基、任选地被取代的C₂-C₆炔基、任选地被取代的C₂-C₆杂炔基、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基；

L是任选地被取代的C₁-C₆亚烷基、任选地被取代的C₁-C₆亚杂烷基、任选地被取代的C₂-C₆亚烯基、任选地被取代的C₂-C₆亚杂烯基、任选地被取代的C₂-C₆亚炔基、任选地被取代的C₂-C₆亚杂炔基、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的亚杂芳基、二肽、-C(=O)-、肽或其组合；并且

Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于所述抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分，

其中Am包含正好一个R_C取代基。

20. 如权利要求19所述的方法，其中Am-L-Z由式 (IA) 表示



其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C；

R₂是H、OH、OR_B或OR_C；

R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基基团；

R₃是H、R_C或R_D；

R₄、R₅、R₆和R₇各自独立地是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D；

R₉是H、OH、OR_C或OR_D；

X是-S-、-S(0)-或-SO₂-；

R_C是-L-Z；

R_D是任选地被取代的C₁-C₆烷基、任选地被取代的C₁-C₆杂烷基、任选地被取代的C₂-C₆烯基、任选地被取代的C₂-C₆杂烯基、任选地被取代的C₂-C₆炔基、任选地被取代的C₂-C₆杂炔基、

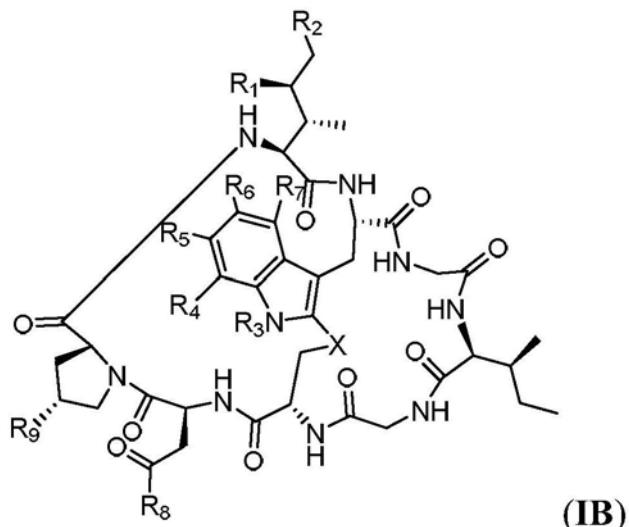
任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基；

L是任选地被取代的C₁—C₆亚烷基、任选地被取代的C₁—C₆亚杂烷基、任选地被取代的C₂—C₆亚烯基、任选地被取代的C₂—C₆亚杂烯基、任选地被取代的C₂—C₆亚炔基、任选地被取代的C₂—C₆亚杂炔基、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的亚杂芳基、二肽、-C(=O)-、肽或其组合；

Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于所述抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分；并且

其中Am包含正好一个R_C取代基。

21. 如权利要求19所述的方法，其中Am-L-Z由式 (IB) 表示



其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C；

R₂是H、OH、OR_B或OR_C；

R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基基团；

R₃是H、R_C或R_D；

R₄、R₅、R₆和R₇各自独立地是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NR_CR_D或NR_CR_D；

R₉是H、OH、OR_C或OR_D；

X是-S-、-S(0)-或-SO₂-；

R_C是-L-Z；

R_D是任选地被取代的C₁—C₆烷基、任选地被取代的C₁—C₆杂烷基、任选地被取代的C₂—C₆烯基、任选地被取代的C₂—C₆杂烯基、任选地被取代的C₂—C₆炔基、任选地被取代的C₂—C₆杂炔基、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基；

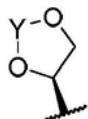
L是任选地被取代的C₁—C₆亚烷基、任选地被取代的C₁—C₆亚杂烷基、任选地被取代的C₂—C₆亚烯基、任选地被取代的C₂—C₆亚杂烯基、任选地被取代的C₂—C₆亚炔基、任选地被取代的C₂—C₆亚杂炔基、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚

芳基、任选地被取代的亚杂芳基、二肽、 $-C(=O)-$ 、肽或其组合；并且

Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于所述抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分，

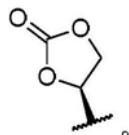
其中Am包含正好一个Rc取代基。

22. 如权利要求20或21所述的方法，其中Ra和Rb与它们所结合的氧原子一起组合形成下式的5元杂环烷基基团：



其中Y是 $-C(=O)-$ 、 $-C(=S)-$ 、 $-C(=NR_E)-$ 或 $C(R_ER_E')-$ ；并且R_E和R_{E'}各自独立地是任选地被取代的C₁–C₆亚烷基-Rc、任选地被取代的C₁–C₆亚杂烷基-Rc、任选地被取代的C₂–C₆亚烯基-Rc、任选地被取代的C₂–C₆亚杂烯基-Rc、任选地被取代的C₂–C₆亚炔基-Rc、任选地被取代的C₂–C₆亚杂炔基-Rc、任选地被取代的亚环烷基-Rc、任选地被取代的亚杂环烷基-Rc、任选地被取代的亚芳基-Rc或任选地被取代的亚杂芳基-Rc。

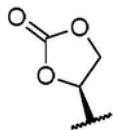
23. 如权利要求22所述的方法，其中Ra和Rb与它们所结合的氧原子一起组合形成：



24. 如权利要求20或21所述的化合物，其中R₁是H、OH或OR_A；

R₂是H、OH或OR_B；

R_A和R_B与它们所结合的氧原子一起组合形成：



R₃、R₄、R₆和R₇各自是H；

R₅是OR_C；

R₈是OH或NH₂；并且

R₉是H或OH。

25. 如权利要求20或21所述的方法，其中R₁和R₂各自独立地是H或OH；

R₃是Rc；

R₄、R₆和R₇各自是H；

R₅是H、OH或OC₁–C₆烷基；

R₈是OH或NH₂；并且

R₉是H或OH。

26. 如权利要求20或21所述的方法，其中R₁和R₂各自独立地是H或OH；

R₃、R₆和R₇各自是H；

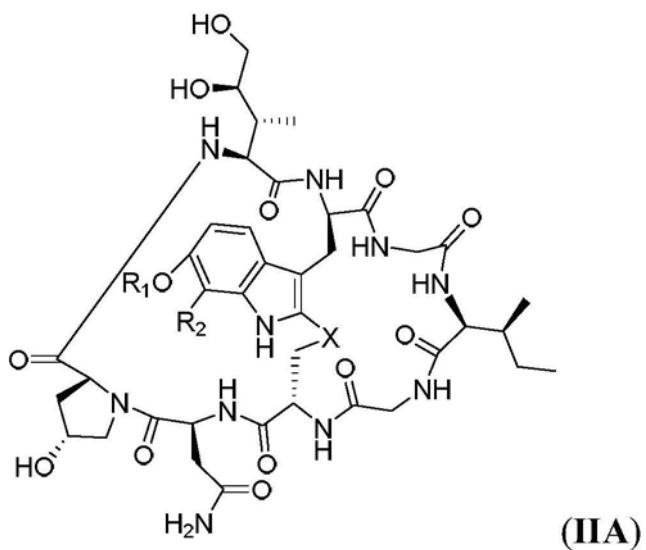
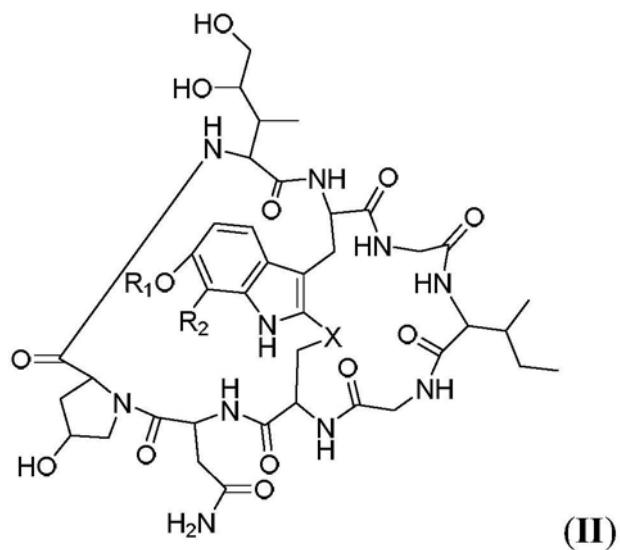
R₄和R₅各自独立地是H、OH、OR_C或Rc；

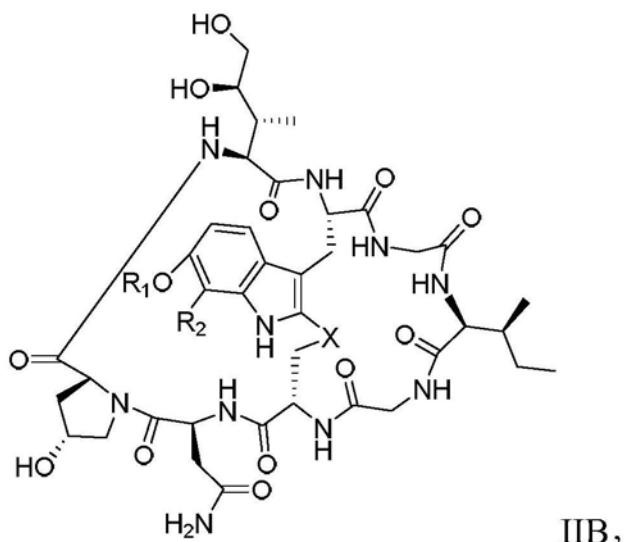
R₈是OH或NH₂；并且

R₉是H或OH。

27. 如权利要求20或21所述的方法,其中R₁和R₂各自独立地是H或OH;
 R₃、R₆和R₇各自是H;
 R₄和R₅各自独立地是H或OH;
 R₈是OR_C或NHR_C;并且
 R₉是H或OH。

28. 如权利要求1至14中任一项所述的方法,其中与细胞毒素缀合的所述抗体或其抗原结合片段由式Ab-Z-L-Am表示,其中Ab是所述抗体或其抗原结合片段,Z是化学部分,L是接头,并且Am是鹅膏蕈毒素,并且鹅膏蕈毒素-接头缀合物Am-L-Z由式(II)、式(IIA)或式(IIB)表示





其中X是S、SO或SO₂；

R₁是H或通过化学部分Z与所述抗体或其抗原结合片段共价结合的接头，所述化学部分Z由存在于所述接头上的反应性取代基和存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成；并且

R₂是H或通过化学部分Z与所述抗体或其抗原结合片段共价结合的接头，所述化学部分Z由存在于所述接头上的反应性取代基和存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成；

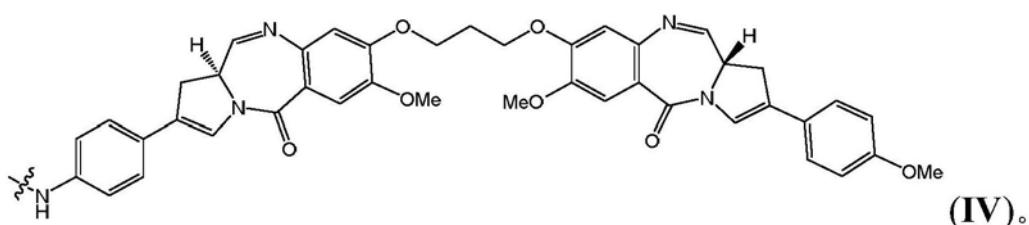
其中当R₁是H时，R₂是所述接头，并且当R₂是H时，R₁是所述接头。

29. 如权利要求1至14中任一项所述的方法，其中所述细胞毒素是选自由DM1和DM4组成的组的美登木素生物碱。

30. 如权利要求1至14中任一项所述的方法，其中所述细胞毒素是选自由单甲基奥瑞他汀E和单甲基奥瑞他汀F组成的组的奥瑞他汀。

31. 如权利要求1至14中任一项所述的方法，其中所述细胞毒素是选自由道诺霉素、多柔比星、表柔比星和伊达比星组成的组的蒽环霉素。

32. 如权利要求1至14中任一项所述的方法，其中所述细胞毒素是由式(IV)表示的吡咯并苯二氮卓类二聚体衍生物



33. 如权利要求1-32中任一项所述的方法，其中与所述细胞毒素缀合的所述抗体或其抗原结合片段在施用至所述患者之后被免疫细胞内化。

34. 如权利要求1-33中任一项所述的方法，其中与所述细胞毒素缀合的所述抗体或其抗原结合片段能够促进免疫细胞的坏死。

35. 如权利要求1-34中任一项所述的方法，其中与所述细胞毒素缀合的所述抗体或其抗原结合片段能够在施用至所述患者后将一种或更多种补体蛋白募集至免疫细胞。

36. 如权利要求33-35中任一项所述的方法,其中所述免疫细胞选自由T细胞和NK细胞组成的组。

37. 如权利要求3-35中任一项所述的方法,其中在与所述细胞毒素缀合的所述抗体或其抗原结合片段的浓度已经基本上从所述患者的血液清除后,所述包含造血干细胞的移植物被施用至所述患者。

38. 如权利要求37所述的方法,其中在与所述细胞毒素缀合的所述抗体或其抗原结合片段的浓度已经基本上从所述患者的血液清除后1小时和7天之间,所述包含造血干细胞的移植物被施用至所述患者。

39. 如权利要求37所述的方法,其中在与所述细胞毒素缀合的所述抗体或其抗原结合片段的浓度已经基本上从所述患者的血液清除后6小时和3天之间,所述包含造血干细胞的移植物被施用至所述患者。

40. 如权利要求37所述的方法,其中在与所述细胞毒素缀合的所述抗体或其抗原结合片段的浓度已经基本上从所述患者的血液清除后约12小时和约36小时之间,所述包含造血干细胞的移植物被施用至所述患者。

41. 如权利要求37所述的方法,其中在与所述细胞毒素缀合的所述抗体或其抗原结合片段已经基本上从所述患者的血液清除后约24小时,所述包含造血干细胞的移植物被施用至所述患者。

42. 如权利要求3-35中任一项所述的方法,其中所述造血干细胞或其后代在所述造血干细胞移植到所述患者中之后约两天或更多天后维持造血干细胞功能潜能。

43. 如权利要求3-42中任一项所述的方法,其中所述造血干细胞对于所述患者是自体的。

44. 如权利要求3-42中任一项所述的方法,其中所述造血干细胞对于所述患者是同种异体的。

45. 如权利要求44所述的方法,其中所述造血干细胞对于所述患者是HLA匹配的。

46. 如权利要求44所述的方法,其中所述造血干细胞对于所述患者是HLA不匹配的。

47. 如权利要求1、2和4-36中任一项所述的方法,其中所述CD2+细胞的群体包含T细胞。

48. 如权利要求3-47中任一项所述的方法,其中所述造血干细胞或其后代能够在所述造血干细胞移植到所述患者中之后定位于造血组织和/或重建造血作用。

49. 如权利要求3-48中任一项所述的方法,其中在移植到所述患者中后,所述造血干细胞引起选自由以下组成的组的细胞的群体的恢复:巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞。

50. 如权利要求1-49中任一项所述的方法,其中所述患者患有干细胞紊乱。

51. 如权利要求1-49中任一项所述的方法,其中所述患者患有血红蛋白病紊乱。

52. 如权利要求51所述的方法,其中所述血红蛋白病紊乱选自由以下组成的组:镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血和威斯科特-奥尔德里奇综合征。

53. 如权利要求51所述的方法,其中所述血红蛋白病紊乱是范可尼贫血。

54. 如权利要求51所述的方法,其中所述血红蛋白病紊乱是再生障碍性贫血。

55. 如权利要求51所述的方法,其中所述血红蛋白病紊乱是镰状细胞性贫血。
56. 如权利要求51所述的方法,其中所述血红蛋白病紊乱是地中海贫血。
57. 如权利要求1-49中任一项所述的方法,其中所述患者患有骨髓增生异常性紊乱。
58. 如权利要求1-49中任一项所述的方法,其中所述患者患有免疫缺陷性紊乱。
59. 如权利要求58所述的方法,其中所述免疫缺陷性紊乱是先天性免疫缺陷。
60. 如权利要求58所述的方法,其中所述免疫缺陷性紊乱是获得性免疫缺陷。
61. 如权利要求60所述的方法,其中所述获得性免疫缺陷是人类免疫缺陷病毒或获得性免疫缺陷综合征。
62. 如权利要求1-49中任一项所述的方法,其中所述患者患有代谢紊乱。
63. 如权利要求62所述的方法,其中所述代谢紊乱选自由以下组成的组:糖原贮积症、黏多糖贮积症、戈谢氏病、赫尔勒病、鞘脂贮积症和异染性脑白质营养不良。
64. 如权利要求1-63中任一项所述的方法,其中所述患者患有癌症。
65. 如权利要求64所述的方法,其中所述癌症选自由以下组成的组:白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤和神经母细胞瘤。
66. 如权利要求64所述的方法,其中所述癌症是血液学癌症。
67. 如权利要求64所述的方法,其中所述癌症是急性髓细胞白血病。
68. 如权利要求64所述的方法,其中所述癌症是急性淋巴细胞白血病。
69. 如权利要求64所述的方法,其中所述癌症是慢性髓细胞白血病。
70. 如权利要求64所述的方法,其中所述癌症是慢性淋巴细胞白血病。
71. 如权利要求64所述的方法,其中所述癌症是多发性骨髓瘤。
72. 如权利要求64所述的方法,其中所述癌症是弥漫性大B细胞淋巴瘤。
73. 如权利要求64所述的方法,其中所述癌症是非霍奇金淋巴瘤。
74. 如权利要求1-73中任一项所述的方法,其中所述患者患有选自由以下组成的组的紊乱:腺苷脱氨酶缺乏和重症联合免疫缺陷、高免疫球蛋白M综合征、切东病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化症、成骨不全症、贮积症、重型地中海贫血、系统性硬化、系统性红斑狼疮、多发性硬化和幼年型类风湿性关节炎。
75. 如权利要求1-74中任一项所述的方法,其中所述患者患有自身免疫性紊乱。
76. 如权利要求75所述的方法,其中所述自身免疫性紊乱选自由以下组成的组:多发性硬化、人类系统性狼疮、类风湿性关节炎、炎性肠病、治疗银屑病、1型糖尿病、急性播散性脑脊髓炎、艾迪生氏病、普秃、强直性脊柱炎、抗磷脂抗体综合征、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病、自身免疫性淋巴增生性综合征、自身免疫性卵巢炎、巴洛病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病、慢性疲劳免疫功能障碍综合征、慢性炎性脱髓鞘多发性神经病、克罗恩氏病、瘢痕性类天疱疮、乳糜泻-疱疹样皮炎、冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病、盘状狼疮、自主神经功能障碍、子宫内膜异位症、特发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、肺出血肾炎综合征、格雷夫斯病、吉兰-巴雷综合征、桥本氏甲状腺炎、化脓性汗腺炎、特发性和/或急性血小板减少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病变、间质性膀胱炎、幼年型关节炎、川崎病、扁平苔藓、莱姆病、梅尼埃病、混合性结缔组织病、重症肌无力、神经性肌强直、斜视性眼阵挛肌阵挛综合征、视神经炎、奥德氏甲状腺炎、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮肌炎、原

发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺体综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象、莱特尔综合征、风湿热、结节病、硬皮病、干燥综合征、僵人综合征、大动脉炎、颞动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛和韦格纳肉芽肿病。

77. 如权利要求75所述的方法,其中所述自身免疫性紊乱是硬皮病。
78. 如权利要求75所述的方法,其中所述自身免疫性紊乱是多发性硬化。
79. 如权利要求75所述的方法,其中所述自身免疫性紊乱是溃疡性结肠炎。
80. 如权利要求75所述的方法,其中所述自身免疫性紊乱是克罗恩氏病。
81. 如权利要求75所述的方法,其中所述自身免疫性紊乱是1型糖尿病。
82. 如权利要求50-81中任一项所述的方法,其中所述方法治疗所述紊乱或癌症。
83. 一种治疗人类患者中的干细胞紊乱的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的与CD2结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合。
84. 一种治疗人类患者中的血红蛋白病紊乱的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的与CD2结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合。
85. 如权利要求84所述的方法,其中所述血红蛋白病紊乱选自由以下组成的组:镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血和威斯科特-奥尔德里奇综合征。
86. 如权利要求84所述的方法,其中所述血红蛋白病紊乱是范可尼贫血。
87. 如权利要求84所述的方法,其中所述血红蛋白病紊乱是再生障碍性贫血。
88. 如权利要求84所述的方法,其中所述血红蛋白病紊乱是镰状细胞性贫血。
89. 如权利要求84所述的方法,其中所述血红蛋白病紊乱是地中海贫血。
90. 一种治疗人类患者中的骨髓增生异常性紊乱的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的与CD2结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合。
91. 一种治疗人类患者中的免疫缺陷性紊乱的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的与CD2结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合。
92. 如权利要求91所述的方法,其中所述免疫缺陷性紊乱是先天性免疫缺陷。
93. 如权利要求91所述的方法,其中所述免疫缺陷性紊乱是获得性免疫缺陷。
94. 如权利要求93所述的方法,其中所述获得性免疫缺陷是人类免疫缺陷病毒或获得性免疫缺陷综合征。
95. 一种治疗人类患者中的代谢紊乱的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的与CD2结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合。
96. 如权利要求95所述的方法,其中所述代谢紊乱选自由以下组成的组:糖原贮积症、黏多糖贮积症、戈谢氏病、赫尔勒病、鞘脂贮积症和异染性脑白质营养不良。
97. 一种治疗人类患者中的癌症的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的与CD2结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合。
98. 如权利要求97所述的方法,其中所述癌症选自由以下组成的组:白血病、淋巴瘤、多

发性骨髓瘤和神经母细胞瘤。

99. 如权利要求97所述的方法,其中所述癌症是血液学癌症。
100. 如权利要求97所述的方法,其中所述癌症是急性髓细胞白血病。
101. 如权利要求97所述的方法,其中所述癌症是急性淋巴细胞白血病。
102. 如权利要求97所述的方法,其中所述癌症是慢性髓细胞白血病。
103. 如权利要求97所述的方法,其中所述癌症是慢性淋巴细胞白血病。
104. 如权利要求97所述的方法,其中所述癌症是多发性骨髓瘤。
105. 如权利要求97所述的方法,其中所述癌症是弥漫性大B细胞淋巴瘤。
106. 如权利要求97所述的方法,其中所述癌症是非霍奇金淋巴瘤。
107. 一种治疗人类患者中的紊乱的方法,所述紊乱选自由以下组成的组:腺苷脱氨酶缺乏和重症联合免疫缺陷、高免疫球蛋白M综合征、切东病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化症、成骨不全症、贮积症、重型地中海贫血、系统性硬化、系统性红斑狼疮、多发性硬化和幼年型类风湿性关节炎,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的与CD2结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合。
108. 一种治疗人类患者中的自身免疫性紊乱的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的与CD2结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合。
109. 如权利要求108所述的方法,其中所述自身免疫性紊乱选自由以下组成的组:多发性硬化、人类系统性狼疮、类风湿性关节炎、炎性肠病、治疗银屑病、1型糖尿病、急性播散性脑脊髓炎、艾迪生氏病、普秃、强直性脊柱炎、抗磷脂抗体综合征、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病、自身免疫性淋巴增生性综合征、自身免疫性卵巢炎、巴洛病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病、慢性疲劳免疫功能障碍综合征、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病、克罗恩氏病、瘢痕性类天疱疮、乳糜泻-疱疹样皮炎、冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病、盘状狼疮、自主神经功能障碍、子宫内膜异位症、特发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、肺出血肾炎综合征、格雷夫斯病、吉兰-巴雷综合征、桥本氏甲状腺炎、化脓性汗腺炎、特发性和/或急性血小板减少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病变、间质性膀胱炎、幼年型关节炎、川崎病、扁平苔藓、莱姆病、梅尼埃病、混合性结缔组织病、重症肌无力、神经性肌强直、斜视性眼阵挛肌阵挛综合征、视神经炎、奥德氏甲状腺炎、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮肌炎、原发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺体综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象、莱特尔综合征、风湿热、结节病、硬皮病、干燥综合征、僵人综合征、大动脉炎、颤动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛和韦格纳肉芽肿病。
110. 如权利要求108所述的方法,其中所述自身免疫性紊乱是硬皮病。
111. 如权利要求108所述的方法,其中所述自身免疫性紊乱是多发性硬化。
112. 如权利要求108所述的方法,其中所述自身免疫性紊乱是溃疡性结肠炎。
113. 如权利要求108所述的方法,其中所述自身免疫性紊乱是克罗恩氏病。
114. 如权利要求108所述的方法,其中所述自身免疫性紊乱是1型糖尿病。
115. 如权利要求83-114中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段由杂交瘤细胞系ATCC HB 11423产生。

116. 如权利要求83-114中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段是:

i) 包含重链可变区并且包含轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分,所述重链可变区包含如SEQ ID NO:1中列出的CDR-H1;如SEQ ID NO:2中列出的CDR-H2;如SEQ ID NO:3中列出的CDR-H3;并且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO:4中列出的CDR-L1;如SEQ ID NO:5中列出的CDR-L2;和如SEQ ID NO:6中列出CDR-L3;

ii) 包含重链可变区并且包含轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分,所述重链可变区包含如SEQ ID NO:14中列出的CDR-H1;如SEQ ID NO:15中列出的CDR-H2;如SEQ ID NO:16或17中列出的CDR-H3;并且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO:18中列出的CDR-L1;如SEQ ID NO:19中列出的CDR-L2;和如SEQ ID NO:20中列出的CDR-L3;

iii) 包含如SEQ ID NO:7中列出的重链可变区并且包含如SEQ ID NO:8中列出的轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分;

iv) 包含如SEQ ID NO:9中列出的重链可变区并且包含如SEQ ID NO:10中列出的轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分;或者

v) 包含如SEQ ID NO:21或22中列出的重链可变区并且包含如SEQ ID NO:23中列出的轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分。

117. 如权利要求83-114中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段竞争性抑制CD2与权利要求116中列出的抗体或其抗原结合片段的结合。

118. 根据权利要求83-117中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段选自由以下组成的组:单克隆抗体、多克隆抗体、人源化抗体、双特异性抗体、双重可变免疫球蛋白结构域、单链Fv分子(scFv)、双抗体、三抗体、纳米抗体、抗体样蛋白支架、Fv片段、Fab片段、F(ab')₂分子和串联二-scFv。

119. 如权利要求83-117所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段是人源化抗体或其抗原结合片段。

120. 如权利要求83-119中任一项所述的方法,其中所述抗体具有选自由IgG、IgA、IgM、IgD和IgE组成的组的同种型。

121. 如权利要求120所述的方法,其中IgG同种型是IgG1或IgG4。

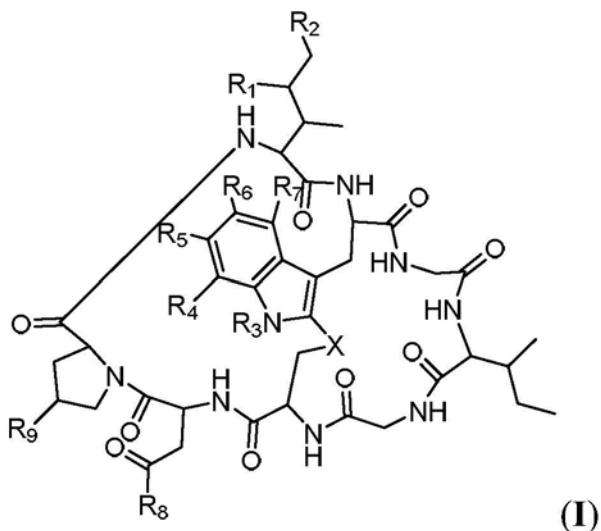
122. 如权利要求83-117中任一项所述的方法,其中所述细胞毒素选自由以下组成的组:假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、鹅膏蕈毒素、皂草素、美登素、美登木素生物碱、奥瑞他汀、蒽环霉素、加利车霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类和吲哚并苯二氮卓类二聚体,或其变体。

123. 如权利要求83-117中任一项所述的方法,其中所述细胞毒素是RNA聚合酶抑制剂。

124. 如权利要求123所述的方法,其中所述RNA聚合酶抑制剂是RNA聚合酶II抑制剂。

125. 如权利要求124所述的方法,其中所述RNA聚合酶II抑制剂是鹅膏蕈毒素。

126. 如权利要求83-117中任一项所述的方法,其中与细胞毒素缀合的所述抗体或其抗原结合片段由式Ab-Z-L-Am表示,其中Ab是所述抗体或其抗原结合片段,L是接头,Z是化学部分,并且Am是由式(I)表示的鹅膏蕈毒素



(I)

其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C；

R₂是H、OH、OR_B或OR_C；

R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基基团；

R₃是H、R_C或R_D；

R₄、R₅、R₆和R₇各自独立地是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D；

R₉是H、OH、OR_C或OR_D；

X是-S-、-S(0)-或-SO₂-；

R_C是-L-Z；

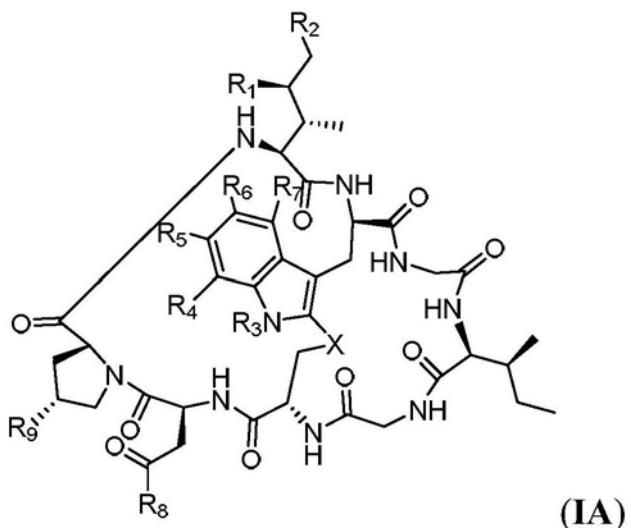
R_D是任选地被取代的C₁-C₆烷基、任选地被取代的C₁-C₆杂烷基、任选地被取代的C₂-C₆烯基、任选地被取代的C₂-C₆杂烯基、任选地被取代的C₂-C₆炔基、任选地被取代的C₂-C₆杂炔基、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基；

L是任选地被取代的C₁-C₆亚烷基、任选地被取代的C₁-C₆亚杂烷基、任选地被取代的C₂-C₆亚烯基、任选地被取代的C₂-C₆亚杂烯基、任选地被取代的C₂-C₆亚炔基、任选地被取代的C₂-C₆亚杂炔基、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚芳基、或任选地被取代的亚杂芳基、二肽、-C(=O)-、肽或其组合；并且

Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于所述抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分，

其中Am包含正好一个R_C取代基。

127. 如权利要求126所述的方法，其中Am-L-Z由式 (IA) 表示



其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C；

R₂是H、OH、OR_B或OR_C；

R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基基团；

R₃是H、R_C或R_D；

R₄、R₅、R₆和R₇各自独立地是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D；

R₉是H、OH、OR_C或OR_D；

X是-S-、-S(0)-或-SO₂-；

R_C是-L-Z；

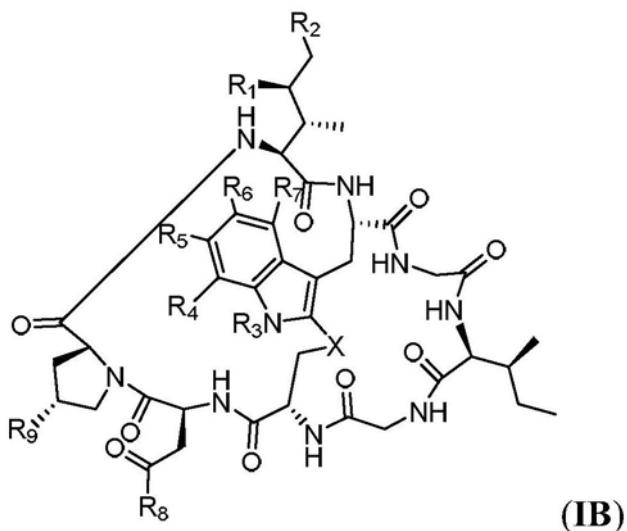
R_D是任选地被取代的C₁-C₆烷基、任选地被取代的C₁-C₆杂烷基、任选地被取代的C₂-C₆烯基、任选地被取代的C₂-C₆杂烯基、任选地被取代的C₂-C₆炔基、任选地被取代的C₂-C₆杂炔基、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基；

L是任选地被取代的C₁-C₆亚烷基、任选地被取代的C₁-C₆亚杂烷基、任选地被取代的C₂-C₆亚烯基、任选地被取代的C₂-C₆亚杂烯基、任选地被取代的C₂-C₆亚炔基、任选地被取代的C₂-C₆亚杂炔基、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的亚杂芳基、二肽、-C(=O)-、肽或其组合；

Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于所述抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分；并且

其中Am包含正好一个R_C取代基。

128. 如权利要求126所述的方法，其中Am-L-Z由式 (IB) 表示



其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C；

R₂是H、OH、OR_B或OR_C；

R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基基团；

R₃是H、R_C或R_D；

R₄、R₅、R₆和R₇各自独立地是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D；

R₉是H、OH、OR_C或OR_D；

X是-S-、-S(0)-或-SO₂-；

R_C是-L-Z；

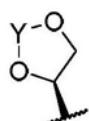
R_D是任选地被取代的C₁-C₆烷基、任选地被取代的C₁-C₆杂烷基、任选地被取代的C₂-C₆烯基、任选地被取代的C₂-C₆杂烯基、任选地被取代的C₂-C₆炔基、任选地被取代的C₂-C₆杂炔基、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基；

L是任选地被取代的C₁-C₆亚烷基、任选地被取代的C₁-C₆亚杂烷基、任选地被取代的C₂-C₆亚烯基、任选地被取代的C₂-C₆亚杂烯基、任选地被取代的C₂-C₆亚炔基、任选地被取代的C₂-C₆亚杂炔基、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的亚杂芳基、二肽、-C(=O)-、肽或其组合；并且

Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于所述抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分，

其中Am包含正好一个R_C取代基。

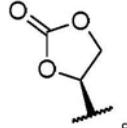
129. 如权利要求127或128所述的方法，其中R_A和R_B与它们所结合的氧原子一起组合形成下式的5元杂环烷基基团：



其中Y是-C(=O)-、-C(=S)-、-C(=NR_E)-或-C(R_ER_{E'})-；并且

R_E 和 R_E' 各自独立地是任选地被取代的C₁–C₆亚烷基-R_C、任选地被取代的C₁–C₆亚杂烷基-R_C、任选地被取代的C₂–C₆亚烯基-R_C、任选地被取代的C₂–C₆亚杂烯基-R_C、任选地被取代的C₂–C₆亚炔基-R_C、任选地被取代的C₂–C₆亚杂炔基-R_C、任选地被取代的亚环烷基-R_C、任选地被取代的亚杂环烷基-R_C、任选地被取代的亚芳基-R_C或任选地被取代的亚杂芳基-R_C。

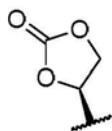
130. 如权利要求129所述的方法,其中R_A和R_B与它们所结合的氧原子一起组合形成:



131. 如权利要求127或128所述的化合物,其中R₁是H、OH或OR_A;

R₂是H、OH或OR_B;

R_A和R_B与它们所结合的氧原子一起组合形成:



R₃、R₄、R₆和R₇各自是H;

R₅是OR_C;

R₈是OH或NH₂;并且

R₉是H或OH。

132. 如权利要求127或128所述的方法,其中R₁和R₂各自独立地是H或OH;

R₃是R_C;

R₄、R₆和R₇各自是H;

R₅是H、OH或OC₁–C₆烷基;

R₈是OH或NH₂;并且

R₉是H或OH。

133. 如权利要求127或128所述的方法,其中R₁和R₂各自独立地是H或OH;

R₃、R₆和R₇各自是H;

R₄和R₅各自独立地是H、OH、OR_C或R_C;

R₈是OH或NH₂;并且

R₉是H或OH。

134. 如权利要求127或128所述的方法,其中R₁和R₂各自独立地是H或OH;

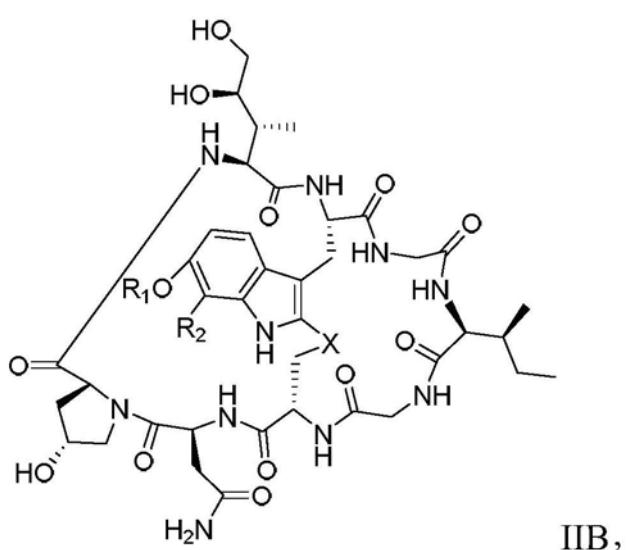
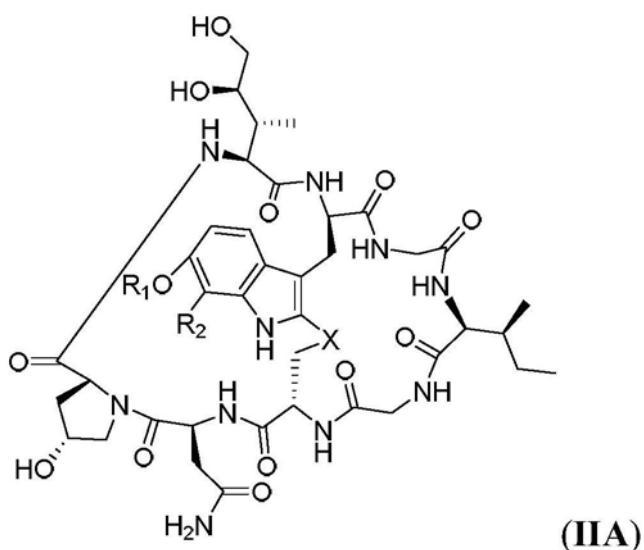
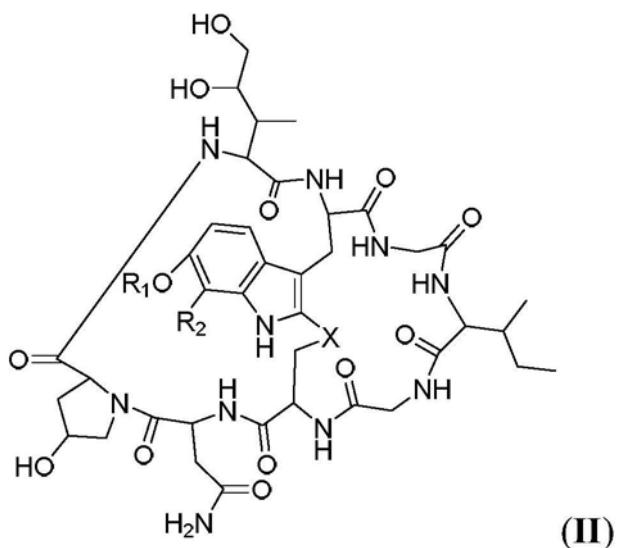
R₃、R₆和R₇各自是H;

R₄和R₅各自独立地是H或OH;

R₈是OR_C或NHR_C;并且

R₉是H或OH。

135. 如权利要求83–117中任一项所述的方法,其中与细胞毒素缀合的所述抗体或其抗原结合片段由式Ab-Z-L-Am表示,其中Ab是所述抗体或其抗原结合片段,Z是化学部分,L是接头,并且Am是鹅膏蕈毒素,并且鹅膏蕈毒素-接头缀合物Am-L-Z由式(II)、式(IIA)或式(IIB)表示



其中X是S、SO或SO₂；

R₁是H或通过化学部分Z与所述抗体或其抗原结合片段共价结合的接头，所述化学部分Z由存在于所述接头上的反应性取代基和存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基

之间的偶联反应形成;并且

R₂是H或通过化学部分Z与所述抗体或其抗原结合片段共价结合的接头,所述化学部分Z由存在于所述接头上的反应性取代基和存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成;

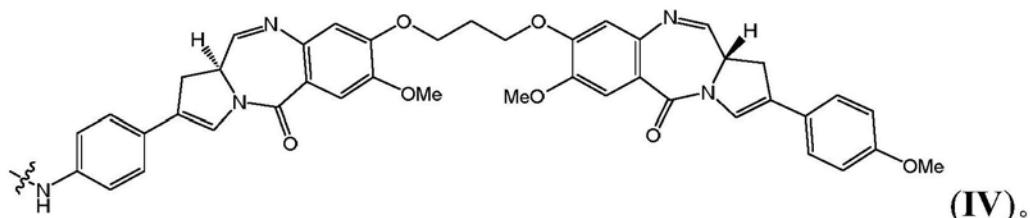
其中当R₁是H时,R₂是所述接头,并且当R₂是H时,R₁是所述接头。

136. 如权利要求83-117中任一项所述的方法,其中所述细胞毒素是选自由DM1和DM4组成的组的美登木素生物碱。

137. 如权利要求83-117中任一项所述的方法,其中所述细胞毒素是奥瑞他汀单甲基奥瑞他汀E或单甲基奥瑞他汀F。

138. 如权利要求83-117中任一项所述的方法,其中所述细胞毒素是选自由道诺霉素、多柔比星、表柔比星和伊达比星组成的组的蒽环霉素。

139. 如权利要求83-117中任一项所述的方法,其中所述细胞毒素是由式(IV)表示的吡咯并苯二氮卓类二聚体衍生物



140. 一种缀合物,所述缀合物由式Ab-Z-L-Cy表示,其中Ab是与CD2结合的抗体或其抗原结合片段,Z是化学部分,L是接头,并且Cy是细胞毒素,其中所述细胞毒素选自由以下组成的组:假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、鹅膏蕈毒素、皂草素、美登素、美登木素生物碱、奥瑞他汀、蒽环霉素、加利车霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类和吲哚并苯二氮卓类二聚体,或其变体。

141. 如权利要求140所述的缀合物,其中所述抗体或其抗原结合片段由杂交瘤细胞系ATCC HB 11423产生。

142. 如权利要求140所述的缀合物,其中所述抗体或其抗原结合片段是:

vi) 包含重链可变区并且包含轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分,所述重链可变区包含如SEQ ID NO:1中列出的CDR-H1;如SEQ ID NO:2中列出的CDR-H2;如SEQ ID NO:3中列出的CDR-H3;并且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO:4中列出的CDR-L1;如SEQ ID NO:5中列出的CDR-L2;和如SEQ ID NO:6中列出CDR-L3;

vii) 包含重链可变区并且包含轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分,所述重链可变区包含如SEQ ID NO:14中列出的CDR-H1;如SEQ ID NO:15中列出的CDR-H2;如SEQ ID NO:16或17中列出的CDR-H3;并且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO:18中列出的CDR-L1;如SEQ ID NO:19中列出的CDR-L2;和如SEQ ID NO:20中列出的CDR-L3;

viii) 包含如SEQ ID NO:7中列出的重链可变区并且包含如SEQ ID NO:8中列出的轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分;

ix) 包含如SEQ ID NO:9中列出的重链可变区并且包含如SEQ ID NO:10中列出的轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分;或者

x) 包含如SEQ ID NO:21或22中列出的重链可变区并且包含如SEQ ID NO:23中列出的

轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分。

143. 如权利要求140所述的缀合物,其中所述抗体或其抗原结合片段竞争性抑制CD2与权利要求142所述的抗体或抗原结合片段的结合。

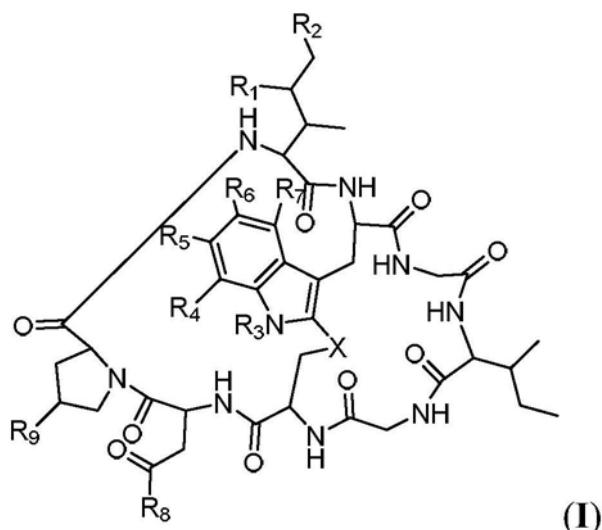
144. 根据权利要求140-143中任一项所述的缀合物,其中所述抗体或其抗原结合片段选自由以下组成的组:单克隆抗体、多克隆抗体、人源化抗体、双特异性抗体、双重可变免疫球蛋白结构域、单链Fv分子(scFv)、双抗体、三抗体、纳米抗体、抗体样蛋白支架、Fv片段、Fab片段、F(ab')2分子和串联二-scFv。

145. 如权利要求140-143中任一项所述的缀合物,其中所述抗体或其抗原结合片段是人源化抗体或其抗原结合片段。

146. 如权利要求140-145中任一项所述的缀合物,其中所述抗体具有选自由IgG、IgA、IgM、IgD和IgE组成的组的同种型。

147. 如权利要求146所述的缀合物,其中所述IgG是IgG1或IgG4。

148. 如权利要求140-146中任一项所述的缀合物,其中Cy是由式(I)表示的鹅膏蕈毒素(Am)



其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基基团;

R₃是H、R_C或R_D;

R₄、R₅、R₆和R₇各自独立地是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D;

R₉是H、OH、OR_C或OR_D;

X是-S-、-S(O)-或-SO₂-;

R_C是-L-Z;

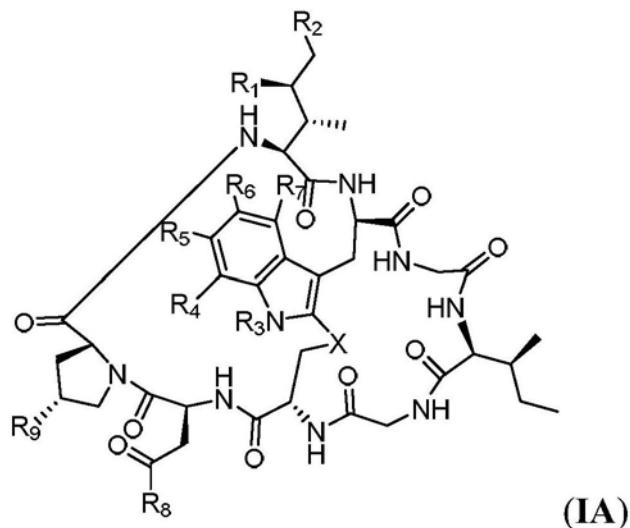
R_D是任选地被取代的C₁-C₆烷基、任选地被取代的C₁-C₆杂烷基、任选地被取代的C₂-C₆烯基、任选地被取代的C₂-C₆杂烯基、任选地被取代的C₂-C₆炔基、任选地被取代的C₂-C₆杂炔基、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基;

L是任选地被取代的C₁—C₆亚烷基、任选地被取代的C₁—C₆亚杂烷基、任选地被取代的C₂—C₆亚烯基、任选地被取代的C₂—C₆亚杂烯基、任选地被取代的C₂—C₆亚炔基、任选地被取代的C₂—C₆亚杂炔基、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚芳基、或任选地被取代的亚杂芳基、二肽、-(C=O)-、肽或其组合；并且

Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于所述抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分，

其中Am包含正好一个R_C取代基。

149. 如权利要求148所述的缀合物，其中Am是由式(IA)表示的鹅膏蕈毒素



其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C；

R₂是H、OH、OR_B或OR_C；

R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基基团；

R₃是H、R_C或R_D；

R₄、R₅、R₆和R₇各自独立地是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D；

R₉是H、OH、OR_C或OR_D；

X是-S-、-S(O)-或-SO₂-；

R_C是-L-Z；

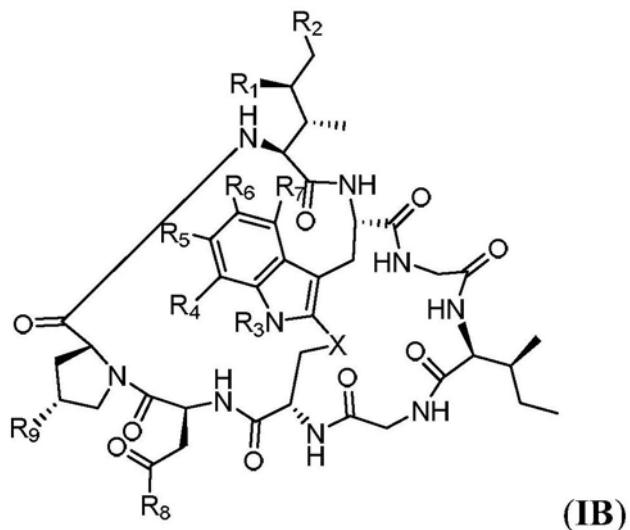
R_D是任选地被取代的C₁—C₆烷基、任选地被取代的C₁—C₆杂烷基、任选地被取代的C₂—C₆烯基、任选地被取代的C₂—C₆杂烯基、任选地被取代的C₂—C₆炔基、任选地被取代的C₂—C₆杂炔基、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基；

L是任选地被取代的C₁—C₆亚烷基、任选地被取代的C₁—C₆亚杂烷基、任选地被取代的C₂—C₆亚烯基、任选地被取代的C₂—C₆亚杂烯基、任选地被取代的C₂—C₆亚炔基、任选地被取代的C₂—C₆亚杂炔基、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的亚杂芳基、二肽、-(C=O)-、肽或其组合；

Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于所述抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分；并且

其中Am包含正好一个Rc取代基。

150. 如权利要求148所述的缀合物, 其中Am是由式 (IB) 表示的鹅膏蕈毒素



其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基基团;

R₃是H、R_C或R_D;

R₄、R₅、R₆和R₇各自独立地是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D;

R₉是H、OH、OR_C或OR_D;

X是-S-、-S(0)-或-SO₂-;

R_C是-L-Z;

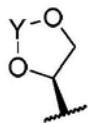
R_D是任选地被取代的C₁-C₆烷基、任选地被取代的C₁-C₆杂烷基、任选地被取代的C₂-C₆烯基、任选地被取代的C₂-C₆杂烯基、任选地被取代的C₂-C₆炔基、任选地被取代的C₂-C₆杂炔基、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基;

L是任选地被取代的C₁-C₆亚烷基、任选地被取代的C₁-C₆亚杂烷基、任选地被取代的C₂-C₆亚烯基、任选地被取代的C₂-C₆亚杂烯基、任选地被取代的C₂-C₆亚炔基、任选地被取代的C₂-C₆亚杂炔基、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的亚杂芳基、二肽、-C(=O)-、肽或其组合;并且

Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于所述抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分,

其中Am包含正好一个Rc取代基。

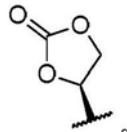
151. 如权利要求149或150所述的缀合物, 其中R_A和R_B与它们所结合的氧原子一起组合形成下式的5元杂环烷基基团:



其中Y是-C(=O)-、-C(=S)-、-C(=NR_E)-或-C(R_ER_{E'})-；并且

并且R_E和R_{E'}各自独立地是任选地被取代的C₁-C₆亚烷基-R_C、任选地被取代的C₁-C₆亚杂烷基-R_C、任选地被取代的C₂-C₆亚烯基-R_C、任选地被取代的C₂-C₆亚杂烯基-R_C、任选地被取代的C₂-C₆亚炔基-R_C、任选地被取代的C₂-C₆亚杂炔基-R_C、任选地被取代的亚环烷基-R_C、任选地被取代的亚杂环烷基-R_C、任选地被取代的亚芳基-R_C或任选地被取代的亚杂芳基-R_C。

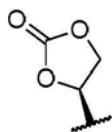
152. 如权利要求151所述的缀合物，其中R_A和R_B与它们所结合的氧原子一起组合形成：



153. 如权利要求149或150所述的缀合物，其中R₁是H、OH或OR_A；

R₂是H、OH或OR_B；

R_A和R_B与它们所结合的氧原子一起组合形成：



R₃、R₄、R₆和R₇各自是H；

R₅是OR_C；

R₈是OH或NH₂；并且

R₉是H或OH。

154. 如权利要求149或150所述的缀合物，其中R₁和R₂各自独立地是H或OH；

R₃是R_C；

R₄、R₆和R₇各自是H；

R₅是H、OH或OC₁-C₆烷基；

R₈是OH或NH₂；并且

R₉是H或OH。

155. 如权利要求149或150所述的缀合物，其中R₁和R₂各自独立地是H或OH；

R₃、R₆和R₇各自是H；

R₄和R₅各自独立地是H、OH、OR_C或R_C；

R₈是OH或NH₂；并且

R₉是H或OH。

156. 如权利要求149或150所述的缀合物，其中R₁和R₂各自独立地是H或OH；

R₃、R₆和R₇各自是H；

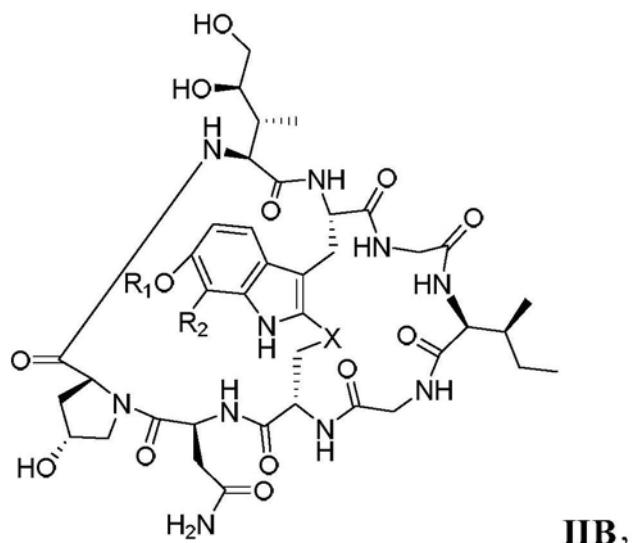
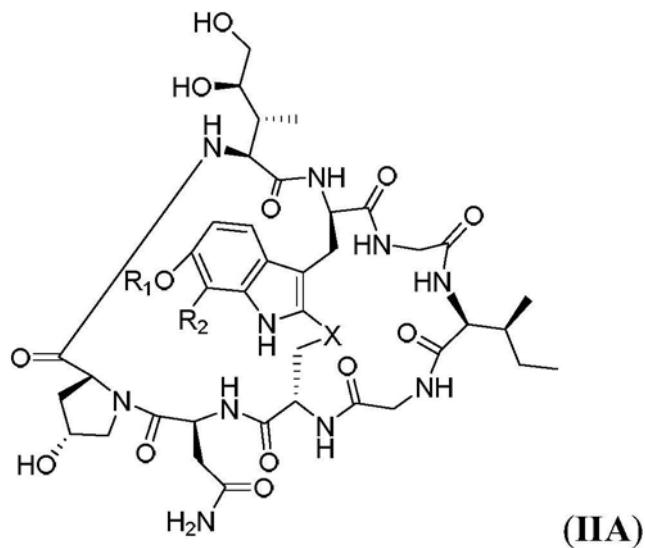
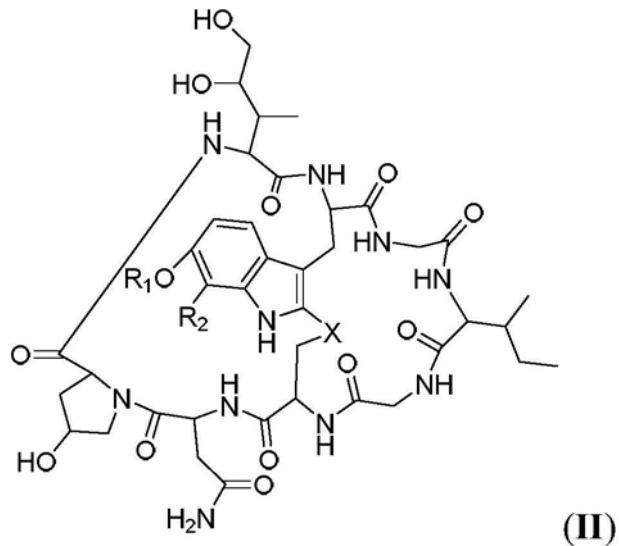
R₄和R₅各自独立地是H或OH；

R₈是OR_C或NHR_C；并且

R₉是H或OH。

157. 如权利要求140-146中任一项所述的缀合物，与细胞毒素缀合的所述抗体或其抗

原结合片段由式Ab-Z-L-Am表示,其中Ab是所述抗体或其抗原结合片段,Z是化学部分,L是接头,并且Am是鹅膏蕈毒素,并且鹅膏蕈毒素-接头缀合物Am-L-Z由式(II)、式(IIA)或式(IIB)表示



其中X是S、SO或SO₂;

R₁是H或通过化学部分Z与所述抗体或其抗原结合片段共价结合的接头,所述化学部分Z由存在于所述接头上的反应性取代基和存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成;并且

R₂是H或通过化学部分Z与所述抗体或其抗原结合片段共价结合的接头,所述化学部分Z由存在于所述接头上的反应性取代基和存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成;

其中当R₁是H时,R₂是所述接头,并且当R₂是H时,R₁是所述接头。

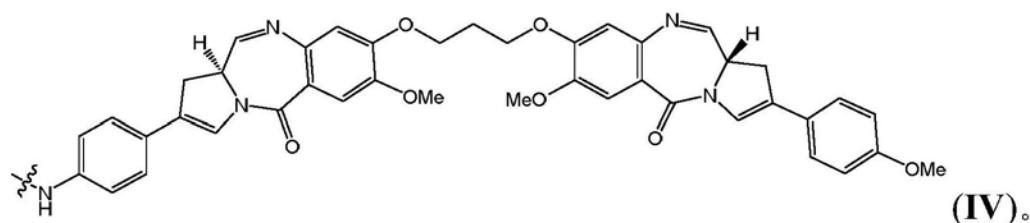
158. 如权利要求140-146中任一项所述的缀合物,其中Cy是选自由DM1和DM4组成的组的美登木素生物碱。

159. 如权利要求140-146中任一项所述的缀合物,其中Cy是奥瑞他汀。

160. 如权利要求159所述的缀合物,其中所述奥瑞他汀是单甲基奥瑞他汀E和单甲基奥瑞他汀F。

161. 如权利要求140-146中任一项所述的缀合物,其中Cy是选自由道诺霉素、多柔比星、表柔比星和伊达比星组成的组的蒽环霉素。

162. 如权利要求140-146中任一项所述的缀合物,其中Cy是由式(IV)表示的吡咯并苯二氮卓类二聚体衍生物



163. 如权利要求140-146中任一项所述的方法,其中所述Cy是RNA聚合酶抑制剂。

164. 如权利要求163所述的方法,其中所述RNA聚合酶抑制剂是RNA聚合酶II抑制剂。

165. 如权利要求164所述的方法,其中所述RNA聚合酶II抑制剂是鹅膏蕈毒素。

166. 一种药物组合物,所述药物组合物包含如权利要求140-165中任一项所述的缀合物和药学上可接受的赋形剂。

167. 如权利要求166所述的药物组合物,其中所述药物组合物被配制成用于经皮、皮下、静脉内、肌肉内、眼内、肿瘤内、胃肠外、鞘内或脑室内施用至人类患者。

168. 如权利要求166所述的药物组合物,其中所述药物组合物被配制成用于静脉内施用至人类患者。

169. 一种耗尽人类患者中的CD2+细胞的群体的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的抗CD2抗体或其抗原结合片段。

170. 一种耗尽需要造血干细胞移植的人类患者中的CD2+细胞的群体的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的抗CD2抗体或其抗原结合片段。

171. 一种预防需要造血干细胞移植的人类患者中的造血干细胞移植的排斥的方法,所述方法包括在所述人类患者接受包含造血干细胞的移植之前,向所述患者施用有效量的抗CD2抗体或其抗原结合片段。

172. 一种耗尽需要造血干细胞移植的人类患者中的CD2+细胞的群体的方法,所述方法包括在所述患者接受包含造血干细胞的移植之前,向所述患者施用有效量的抗CD2抗

体或其抗原结合片段。

173. 一种方法,所述方法包括向人类患者施用包含造血干细胞的移植物,其中所述患者先前已经被施用足以耗尽所述患者中的CD2+细胞的群体的量的抗CD2抗体或其抗原结合片段。

174. 一种方法,所述方法包括:

a. 向人类患者施用足以耗尽所述患者中的CD2+细胞的群体的量的与CD2结合的抗体或其抗原结合片段;和

b. 随后向所述患者施用包含造血干细胞的移植物。

175. 如权利要求169-174中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段由杂交瘤细胞系ATCC HB 11423产生。

176. 如权利要求169-174中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含抗体LO-CD2A的重链可变区CDR集合(CDR1、CDR2和CDR3)和轻链可变区CDR集合(CDR1、CDR2和CDR3),所述抗体LO-CD2A由具有ATCC登录号HB 11423的杂交瘤细胞系产生。

177. 如权利要求169-174中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段是:

i) 包含重链可变区并且包含轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分,所述重链可变区包含如SEQ ID NO:1中列出的CDR-H1;如SEQ ID NO:2中列出的CDR-H2;如SEQ ID NO:3中列出的CDR-H3;并且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO:4中列出的CDR-L1;如SEQ ID NO:5中列出的CDR-L2;和如SEQ ID NO:6中列出CDR-L3;

ii) 包含重链可变区并且包含轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分,所述重链可变区包含如SEQ ID NO:14中列出的CDR-H1;如SEQ ID NO:15中列出的CDR-H2;如SEQ ID NO:16或17中列出的CDR-H3;并且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO:18中列出的CDR-L1;如SEQ ID NO:19中列出的CDR-L2;和如SEQ ID NO:20中列出的CDR-L3;

iii) 包含如SEQ ID NO:7中列出的重链可变区并且包含如SEQ ID NO:8中列出的轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分;

iv) 包含如SEQ ID NO:9中列出的重链可变区并且包含如SEQ ID NO:10中列出的轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分;或者

v) 包含如SEQ ID NO:21或22中列出的重链可变区并且包含如SEQ ID NO:23中列出的轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分。

178. 如权利要求169-174中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段竞争性抑制CD2与权利要求177所述的抗体或其抗原结合片段的结合。

179. 根据权利要求169-178中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段选自由以下组成的组:单克隆抗体或其抗原结合片段、多克隆抗体或其抗原结合片段、人源化抗体或其抗原结合片段、双特异性抗体或其抗原结合片段、完整抗体、双重可变免疫球蛋白结构域、单链Fv分子(scFv)、双抗体、三抗体、纳米抗体、抗体样蛋白支架、Fv片段、Fab片段、F(ab')₂分子和串联二-scFv。

180. 如权利要求169-179中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段是人源化抗体或其抗原结合片段。

181. 如权利要求169-180中任一项所述的方法,其中所述抗体具有选自由IgG、IgA、IgM、IgD和IgE组成的组的同种型。

182. 如权利要求169-181中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段在施用至所述患者之后被免疫细胞内化。

183. 如权利要求169-182中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段能够促进免疫细胞的坏死。

184. 如权利要求169-183中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段能够在施用至所述患者后将一种或更多种补体蛋白募集至免疫细胞。

185. 如权利要求182-184中任一项所述的方法,其中所述免疫细胞选自由T细胞和NK细胞组成的组。

186. 如权利要求171-174中任一项所述的方法,其中在所述抗体或其抗原结合片段的浓度已经基本上从所述患者的血液清除后,所述包含造血干细胞的移植物被施用至所述患者。

187. 如权利要求186所述的方法,其中在所述抗体或其抗原结合片段的浓度已经基本上从所述患者的血液清除后1小时和7天之间,所述包含造血干细胞的移植物被施用至所述患者。

188. 如权利要求186所述的方法,其中在所述抗体或其抗原结合片段的浓度已经基本上从所述患者的血液清除后6小时和3天之间,所述包含造血干细胞的移植物被施用至所述患者。

189. 如权利要求186所述的方法,其中在所述抗体或其抗原结合片段的浓度已经基本上从所述患者的血液清除后12小时和36小时之间,所述包含造血干细胞的移植物被施用至所述患者。

190. 如权利要求186所述的方法,其中在所述抗体或其抗原结合片段的浓度已经基本上从所述患者的血液清除后24小时,所述包含造血干细胞的移植物被施用至所述患者。

191. 如权利要求171-174中任一项所述的方法,其中所述造血干细胞或其后代在所述造血干细胞移植到所述患者中之后两天或更多天后维持造血干细胞功能潜能。

192. 如权利要求169-174中任一项所述的方法,其中所述造血干细胞对于所述患者是自体的。

193. 如权利要求169-174中任一项所述的方法,其中所述造血干细胞对于所述患者是同种异体的。

194. 如权利要求193所述的方法,其中所述造血干细胞对于所述患者是HLA匹配的。

195. 如权利要求193所述的方法,其中所述造血干细胞对于所述患者是HLA不匹配的。

196. 如权利要求169-174中任一项所述的方法,其中所述CD2+细胞的群体包含T细胞。

197. 如权利要求169-174中任一项所述的方法,其中所述造血干细胞或其后代能够在所述造血干细胞移植到所述患者中之后定位于造血组织和/或重建造血作用。

198. 如权利要求169-174中任一项所述的方法,其中所述造血干细胞在移植到所述患者中后引起选自由以下组成的组的细胞的群体的恢复:巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞。

199. 如权利要求169-198中任一项所述的方法,其中所述患者患有干细胞紊乱。

200. 如权利要求169-199中任一项所述的方法,其中所述患者患有血红蛋白病紊乱。
201. 如权利要求200所述的方法,其中所述血红蛋白病紊乱选自由以下组成的组:镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血和威斯科特-奥尔德里奇综合征。
202. 如权利要求200所述的方法,其中所述血红蛋白病紊乱选自由以下组成的组:范可尼贫血、再生障碍性贫血、镰状细胞性贫血和地中海贫血。
203. 如权利要求169-174中任一项所述的方法,其中所述患者患有骨髓增生异常性紊乱或免疫缺陷性紊乱。
204. 如权利要求203所述的方法,其中所述免疫缺陷性紊乱是先天性免疫缺陷或获得性免疫缺陷。
205. 如权利要求204所述的方法,其中所述获得性免疫缺陷是人类免疫缺陷病毒或获得性免疫缺陷综合征。
206. 如权利要求169-205中任一项所述的方法,其中所述患者患有代谢紊乱。
207. 如权利要求206所述的方法,其中所述代谢紊乱选自由以下组成的组:糖原贮积症、黏多糖贮积症、戈谢氏病、赫尔勒病、鞘脂贮积症和异染性脑白质营养不良。
208. 如权利要求169-207中任一项所述的方法,其中所述患者患有癌症。
209. 如权利要求208所述的方法,其中所述癌症选自由以下组成的组:白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤和神经母细胞瘤。
210. 如权利要求208所述的方法,其中所述癌症是血液学癌症。
211. 如权利要求208所述的方法,其中所述癌症是急性髓细胞白血病。
212. 如权利要求208所述的方法,其中所述癌症是急性淋巴细胞白血病。
213. 如权利要求208所述的方法,其中所述癌症是慢性髓细胞白血病。
214. 如权利要求208所述的方法,其中所述癌症是慢性淋巴细胞白血病。
215. 如权利要求208所述的方法,其中所述癌症是多发性骨髓瘤。
216. 如权利要求208所述的方法,其中所述癌症是弥漫性大B细胞淋巴瘤。
217. 如权利要求208所述的方法,其中所述癌症是非霍奇金淋巴瘤。
218. 如权利要求169-174中任一项所述的方法,其中所述患者患有选自由以下组成的组的紊乱:腺苷脱氨酶缺乏和重症联合免疫缺陷、高免疫球蛋白M综合征、切东病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化症、成骨不全症、贮积症、重型地中海贫血、系统性硬化、系统性红斑狼疮、多发性硬化和幼年型类风湿性关节炎。
219. 如权利要求169-174中任一项所述的方法,其中所述患者患有自身免疫性紊乱。
220. 如权利要求219所述的方法,其中所述自身免疫性紊乱选自由以下组成的组:多发性硬化、人类系统性狼疮、类风湿性关节炎、炎性肠病、治疗银屑病、1型糖尿病、急性播散性脑脊髓炎、艾迪生氏病、普秃、强直性脊柱炎、抗磷脂抗体综合征、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病、自身免疫性淋巴增生性综合征、自身免疫性卵巢炎、巴洛病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病、慢性疲劳免疫功能障碍综合征、慢性炎性脱髓鞘多发性神经病、克罗恩氏病、瘢痕性类天疱疮、乳糜泻-疱疹样皮炎、冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病、盘状狼疮、自主神经功能障碍、子宫内膜异位症、特发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、肺出血肾炎综合征、格雷夫斯病、吉兰-巴雷综合征、桥本氏甲状腺炎、化脓性汗腺炎、特发性和/或急性血小板减

少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病变、间质性膀胱炎、幼年型关节炎、川崎病、扁平苔藓、莱姆病、梅尼埃病、混合性结缔组织病、重症肌无力、神经性肌强直、斜视性眼阵挛肌阵挛综合征、视神经炎、奥德氏甲状腺炎、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮肌炎、原发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺体综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象、莱特尔综合征、风湿热、结节病、硬皮病、干燥综合征、僵人综合征、大动脉炎、颤动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛和韦格纳肉芽肿病。

221. 如权利要求219所述的方法，其中所述自身免疫性紊乱是硬皮病。
222. 如权利要求219所述的方法，其中所述自身免疫性紊乱是多发性硬化。
223. 如权利要求219所述的方法，其中所述自身免疫性紊乱是溃疡性结肠炎。
224. 如权利要求219所述的方法，其中所述自身免疫性紊乱是克罗恩氏病。
225. 如权利要求219所述的方法，其中所述自身免疫性紊乱是1型糖尿病。
226. 如权利要求169-174中任一项所述的方法，其中所述方法治疗所述紊乱或癌症。

用于耗尽CD2+细胞的组合物和方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于2017年11月29日提交的美国临时专利申请第62/592,169号的优先权的权益,其内容通过引用并入本文。

[0003] 发明背景

[0004] 尽管在医学领域取得了进步,但仍存在对治疗造血系统的病症诸如特定血细胞的疾病、代谢紊乱、癌症和自身免疫性状况等的需要。

[0005] 虽然造血干细胞具有显著的治疗潜力,但已阻碍其在临幊上使用的一个限制因素是与确保将造血干细胞移植到宿主中相关的困难。患者自身的免疫系统经常攻击移植的细胞并且介导对移植的造血干细胞的排斥。为了避免排斥,在造血干细胞移植之前,用免疫系统破坏剂(例如,化学治疗剂或放射)处理患者。不幸的是,诱导造血干细胞移植在患者中的耐受性的努力经常导致严重的并发症。因此,存在对改善造血干细胞移植的新的组合物和方法的需要。

[0006] 发明概述

[0007] 目前存在对用于治疗造血系统紊乱(诸如自身免疫性紊乱(autoimmune disorder))的组合物和方法的需要,以及对用于促进外源性造血干细胞移植的植入使得这些细胞的多潜能和造血功能在移植之后得以保持的组合物和方法的需要。

[0008] 本文提供了用于直接治疗多种造血系统紊乱、代谢紊乱、癌症和自身免疫性疾病等的组合物和方法。本文公开的组合物和方法靶向免疫细胞,用于调节人类患者以进行造血干细胞移植,以便治疗疾病,诸如但不限于血液癌症或自身免疫性疾病。

[0009] 在一方面,本发明的特征还在于用于在患者(诸如人类患者)接受造血干细胞移植疗法之前调节该患者以便促进造血干细胞移植植物的植入的组合物和方法。患者可以是患有自身免疫性疾病或一种或更多种血液紊乱诸如癌症、血红蛋白病或其他造血病症并且因此需要造血干细胞移植的患者。

[0010] 如本文描述的,造血干细胞能够分化成造血谱系中的多种细胞类型,并且可以施用至患者以便填充(populate)或重新填充(re-populate)患者中有缺陷的细胞类型。

[0011] 在某些方面,本发明的特征在于与CD2结合的抗体和抗体-药物缀合物,以及向患者施用其的方法,以便(i)通过选择性地耗尽表达CD2的免疫细胞(诸如自身反应性T细胞或自然杀伤(NK)细胞)的群体直接治疗血液紊乱诸如自身免疫性疾病,和/或(ii)在施用造血干细胞移植植物(hematopoietic stem cell transplant)至患者之前耗尽T细胞或NK细胞的群体,从而降低造血干细胞移植排斥(hematopoietic stem cell graft rejection)的可能性。前一种活性能够直接治疗许多种自身免疫性紊乱,因为CD2可以由与自身抗原交叉反应并且产生针对自身抗原的不适当的免疫应答的T细胞或NK细胞表达。在这种情况下,施用抗CD2抗体或抗体-药物缀合物至患者可以引起CD2+自身免疫性细胞(诸如与一种或更多种自身抗原交叉反应的T细胞或NK细胞)的群体的耗尽,从而治疗自身免疫性病症。后一种活性促进产生有利于造血干细胞植入的环境,因为与由造血干细胞表达的一种或更多种非自身抗原(例如,非自身MHC抗原)交叉反应的T细胞和/或NK细胞可以产生针对移植的造血

干细胞的免疫应答并且因此促进移植物排斥。在后一种情况下,患有诸如癌症、自身免疫性疾病或其他造血系统状况的患者可以随后被施用造血干细胞移植物,以便例如重新填充患者中有缺失的或耗尽的血细胞的一种或更多种群体。本文还提供了治疗多种造血状况,诸如镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血(Fanconi anemia)、威斯科特-奥尔德里奇综合征(Wiskott-Aldrich syndrome)、腺苷脱氨酶缺乏-重症联合免疫缺陷、异染性脑白质营养不良、Diamond-Blackfan贫血和Schwachman-Diamond综合征、人类免疫缺陷病毒感染和获得性免疫缺陷综合征,以及癌症和自身免疫性疾病等的方法。

[0012] 在一方面,本发明提供了一种通过向患者施用有效量的与CD2结合的抗体或其抗原结合片段或抗体-药物缀合物来耗尽例如人类患者中的CD2+细胞的群体(诸如人类患者中的CD2+ T细胞和/或CD2+ NK细胞的群体)的方法。

[0013] 在另一方面,本发明提供了一种通过例如在患者接受包含造血干细胞的移植物之前向患者施用有效量的与CD2结合的抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物而耗尽需要造血干细胞移植物的人类患者中的CD2+细胞的群体(诸如需要造血干细胞移植物的人类患者中的CD2+ T细胞和/或CD2+ NK细胞的群体)的方法。

[0014] 在另一方面,本文提供了一种通过在患者接受包含造血干细胞的移植物之前施用有效量的与CD2结合的抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物而预防或降低需要造血干细胞移植疗法的人类患者中的造血干细胞移植物的排斥的可能性的方法。

[0015] 在另一方面,本文提供了一种通过在患者接受包含造血干细胞的移植物之前施用有效量的与CD2结合的抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物而耗尽需要造血干细胞移植疗法的人类患者中的内源性T细胞的群体的方法。

[0016] 在另一方面,本发明的特征在于一种方法,例如,治疗需要造血干细胞移植物的人类患者的方法,该方法包括向人类患者施用包含造血干细胞的移植物,其中患者先前已经被施用与CD2结合的抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物。抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物可以以足以耗尽患者中的CD2+细胞的群体(诸如人类患者中的CD2+ T细胞和/或CD2+ NK细胞的群体)的量施用至患者。

[0017] 在另一方面,本发明的特征在于一种方法,例如治疗需要造血干细胞移植物的人类患者的方法,该方法包括:向人类患者施用足以耗尽患者中的CD2+细胞的群体(诸如患者中的CD2+ T细胞和/或CD2+ NK细胞的群体)的量的与CD2结合的抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物,并且随后向患者施用包含造血干细胞的移植物。

[0018] 在前述方面的任一项的一些实施方案中,抗CD2抗体或其抗原结合片段由杂交瘤细胞系ATCC HB 11423产生。在一些实施方案中,抗CD2抗体或其抗原结合片段竞争性抑制CD2与由杂交瘤细胞系ATCC HB 11423产生的抗CD2抗体或其抗原结合片段的结合。

[0019] 在一些实施方案中,抗CD2抗体或其抗原结合片段含有以下互补决定区(CDR):

[0020] 具有氨基酸序列EYYMY (SEQ ID NO:1) 的CDR-H1;

[0021] 具有氨基酸序列RIDPEDGSIDYVEFKKK (SEQ ID NO:2) 的CDR-H2;

[0022] 具有氨基酸序列GKFNYRFAY (SEQ ID NO:3) 的CDR-H3;

[0023] 具有氨基酸序列RSSQSLHSSGNTYLN (SEQ ID NO:4) 的CDR-L1;

[0024] 具有氨基酸序列LVSKLES (SEQ ID NO:5) 的CDR-L2;和

[0025] 具有氨基酸序列MQFTHYPYT (SEQ ID NO:6) 的CDR-L3。

[0026] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段竞争性抑制CD2与包含以下CDR的抗体或其抗原结合片段的结合:

- [0027] 具有氨基酸序列EYYMY (SEQ ID NO:1) 的CDR-H1;
- [0028] 具有氨基酸序列RIDPEDGSIDYVEKFKK (SEQ ID NO:2) 的CDR-H2;
- [0029] 具有氨基酸序列GKFNYRFAY (SEQ ID NO:3) 的CDR-H3;
- [0030] 具有氨基酸序列RSSQSLHSSGNTYLN (SEQ ID NO:4) 的CDR-L1;
- [0031] 具有氨基酸序列LVSKLES (SEQ ID NO:5) 的CDR-L2; 和
- [0032] 具有氨基酸序列MQFTHYPYT (SEQ ID NO:6) 的CDR-L3。

[0033] 在一些实施方案中,抗CD2抗体或其抗原结合片段是i) 包含重链可变区并且包含轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分,所述重链可变区包含如SEQ ID NO:1中列出的CDR-H1;如SEQ ID NO:2中列出的CDR-H2;如SEQ ID NO:3中列出的CDR-H3;并且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO:4中列出的CDR-L1;如SEQ ID NO:5中列出的CDR-L2;和如SEQ ID NO:6中列出的CDR-L3;ii) 包含重链可变区并且包含轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分,所述重链可变区包含如SEQ ID NO:14中列出的CDR-H1;如SEQ ID NO:15中列出的CDR-H2;如SEQ ID NO:16或17中列出的CDR-H3;并且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO:18中列出的CDR-L1;如SEQ ID NO:19中列出的CDR-L2;和如SEQ ID NO:20中列出的CDR-L3;iii) 包含如SEQ ID NO:7中列出的重链可变区并且包含如SEQ ID NO:8中列出的轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分;iv) 包含如SEQ ID NO:9中列出的重链可变区并且包含如SEQ ID NO:10中列出的轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分;或者v) 包含如SEQ ID NO:21或22中列出的重链可变区并且包含如SEQ ID NO:23中列出的轻链可变区的抗CD2抗体或其抗原结合部分。

[0034] 在一些实施方案中,抗CD2抗体或其抗原结合片段选自由以下组成的组:单克隆抗体、多克隆抗体或其抗原结合片段、人源化抗体、双特异性抗体、双重可变免疫球蛋白结构域、单链Fv分子(scFv)、双抗体(diabody)、三抗体(triabody)、纳米抗体(nanobody)、抗体样蛋白支架、Fv片段、Fab片段、 $F(ab')_2$ 分子和串联二-scFv或其抗原结合片段。在一些实施方案中,抗体具有选自由IgG、IgA、IgM、IgD和IgE组成的组的同种型。

[0035] 在一些实施方案中,抗CD2抗体或抗原结合片段与细胞毒素缀合。在一些实施方案中,细胞毒素选自由以下组成的组:鹅膏蕈毒素(amatoxin)、假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、皂草素(saporin)、美登素(maytansine)、美登木素生物碱(maytansinoid)、奥瑞他汀(auristatin)、蒽环霉素、加利车霉素(calicheamicin)、伊立替康(irinotecan)、SN-38、倍癌霉素(duocarmycin)、吡咯并苯二氮卓类(pyrrolobenzodiazepine)、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类(indolinobenzodiazepine)和吲哚并苯二氮卓类二聚体,或其变体。

[0036] 在另一方面,本发明提供了一种通过向患者施用有效量的与CD2结合的抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物来耗尽人类患者中的CD2+细胞的群体(诸如人类患者中的CD2+ T细胞和/或CD2+ NK细胞的群体)的方法。

[0037] 在另一方面,本发明提供了一种耗尽需要造血干细胞移植的人类患者中的CD2+细胞的群体(诸如需要造血干细胞移植的人类患者中的CD2+ T细胞和/或CD2+ NK细胞的群体)的方法,所述耗尽是通过在患者接受包含造血干细胞的移植物之前施用有效量的抗

CD2抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物。

[0038] 在另一方面，本发明的特征在于一种方法，例如，治疗需要造血干细胞移植的人类患者的方法，该方法包括向人类患者施用包含造血干细胞的移植，其中患者先前已经被施用足以耗尽患者中的CD2+细胞的群体（诸如患者中的CD2+ T细胞和/或CD2+ NK细胞的群体）的量的与CD2结合的抗体、其片段或抗体-药物缀合物。

[0039] 在另一方面，本发明的特征在于一种方法，例如治疗需要造血干细胞移植的人类患者的方法，该方法包括：向人类患者施用足以耗尽患者中的CD2+细胞的群体（诸如患者中的CD2+ T细胞和/或CD2+ NK细胞的群体）的量的与CD2结合的抗体、其片段或抗体-药物缀合物，并且随后向患者施用包含造血干细胞的移植。

[0040] 在前述四个方面中的任一个的一些实施方案中，与CD2（例如，在CD2+ T细胞或CD2+ NK细胞的表面上的CD2）结合的抗体或其片段与Fc结构域共价结合，所述Fc结构域诸如从人类抗体分离的（例如，从IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型人类抗体分离的）二聚Fc结构域。在一些实施方案中，Fc结构域是包含单条多肽链的单体Fc结构域。在一些实施方案中，抗体或其片段的N末端与Fc结构域结合。在一些实施方案中，抗体或其片段的C末端与Fc结构域结合。Fc结构域可以与抗体或其片段的一个或更多个拷贝缀合。例如，可以与本文描述的方法结合使用的缀合物包括二聚Fc结构域，其中Fc结构域的每条多肽链均与抗体或其片段缀合。Fc结构域进而可以与细胞毒素缀合，该细胞毒素诸如本文描述的细胞毒素（例如，鹅膏蕈毒素，诸如 α -鹅膏蕈碱（amanitin）、假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、皂草素、美登素、美登木素生物碱、奥瑞他汀、蒽环霉素、加利车霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类和吲哚并苯二氮卓类二聚体，或其变体）。

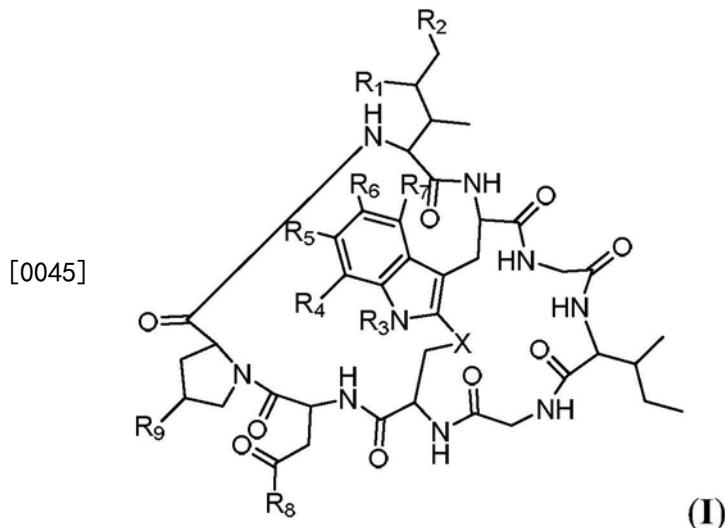
[0041] 在一些实施方案中，抗CD2抗体或其片段与细胞毒素共价结合，该细胞毒素诸如本文描述的细胞毒素（例如，鹅膏蕈毒素，诸如 α -鹅膏蕈碱、假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、皂草素、美登素、美登木素生物碱、奥瑞他汀、蒽环霉素、加利车霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类和吲哚并苯二氮卓类二聚体，或其变体）。在一些实施方案中，抗体或其片段的N末端与细胞毒素结合。在一些实施方案中，抗体或其片段的C末端与细胞毒素结合。细胞毒素进而可以与Fc结构域缀合。

[0042] 在一些实施方案中，抗CD2抗体或其片段在抗体或其片段的一个位点（例如，抗体或其片段的N-末端或C-末端）与细胞毒素共价结合，并且在抗体或其片段的另一个位点（例如，抗体或其片段的相对末端）与Fc结构域共价结合。

[0043] 在一些实施方案中，Fc结构域是人类IgG1同种型Fc结构域。在一些实施方案中，Fc结构域是人类IgG2同种型Fc结构域。在一些实施方案中，Fc结构域是人类IgG3同种型Fc结构域。在一些实施方案中，Fc结构域是人类IgG4同种型Fc结构域。

[0044] 在以上方面的任一项的一些实施方案中，细胞毒素是鹅膏蕈毒素或其衍生物，诸如 α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ϵ -鹅膏蕈碱、鹅膏素（amanin）、鹅膏素酰胺（amaninamide）、鹅膏蕈无毒环肽（amanullin）、鹅膏蕈无毒环肽酸（amanullinic acid）和鹅膏蕈无毒环肽原（proamanullin）。在一种实施方案中，细胞毒素是鹅膏蕈碱。在以上方面的任一项的一些实施方案中，细胞毒素是鹅膏蕈毒素，并且抗体或其抗原结合片段或者与

细胞毒素缀合的抗体由式Ab-Z-L-Am表示,其中Ab是抗体、其抗原结合片段,L是接头,Z是化学部分,并且Am是鹅膏蕈毒素。在一些实施方案中,鹅膏蕈毒素与接头缀合。在一些实施方案中,鹅膏蕈毒素-接头缀合物Am-L-Z由式(I)表示

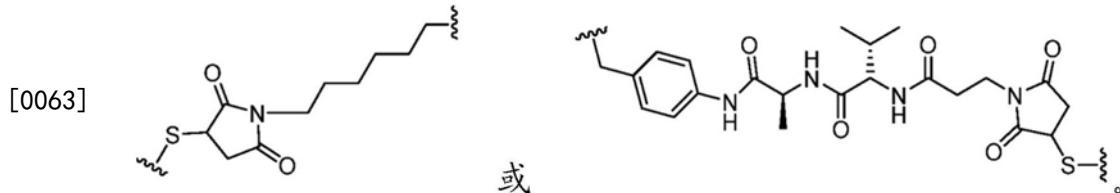


- [0046] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;
- [0047] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;
- [0048] R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基团;
- [0049] R₃是H、R_C或R_D;
- [0050] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;
- [0051] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;
- [0052] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;
- [0053] R₇是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;
- [0054] R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D;
- [0055] R₉是H、OH、OR_C或OR_D;
- [0056] X是-S-、-S(0)-或-SO₂-;
- [0057] R_C是-L-Z;
- [0058] R_D是任选地被取代的烷基(例如C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基;
- [0059] L是接头,诸如任选地被取代的亚烷基(例如C₁-C₆亚烷基)、任选地被取代的亚杂烷基(C₁-C₆亚杂烷基)、任选地被取代的亚烯基(例如C₂-C₆亚烯基)、任选地被取代的亚杂烯基(例如C₂-C₆亚杂烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如C₂-C₆亚炔基)、任选地被取代的亚杂炔基(例如C₂-C₆亚杂炔基)、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚芳基、或任选地被取代的亚杂芳基、二肽、-C(=O)-、肽或其组合;并且
- [0060] Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性取

代基之间的偶联反应形成的化学部分,所述抗体或其抗原结合片段与诸如CD2+ T细胞或CD2+ NK细胞的表面上的CD2结合。

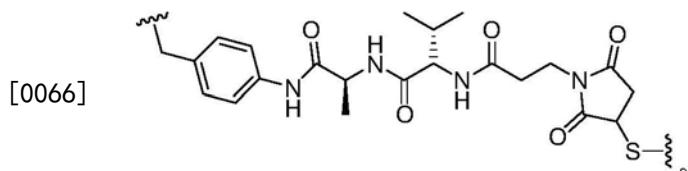
[0061] 在一些实施方案中,Am包含正好一个R_C取代基。

[0062] 在一些实施方案中,接头L和化学部分Z(合在一起称为L-Z)是

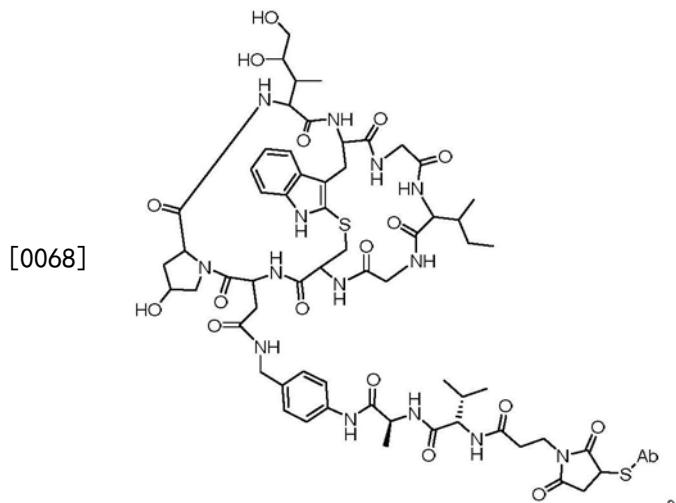


[0064] 其中S是硫原子,表示存在于与CD117结合的抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基(例如,来自于半胱氨酸残基的-SH基团)。

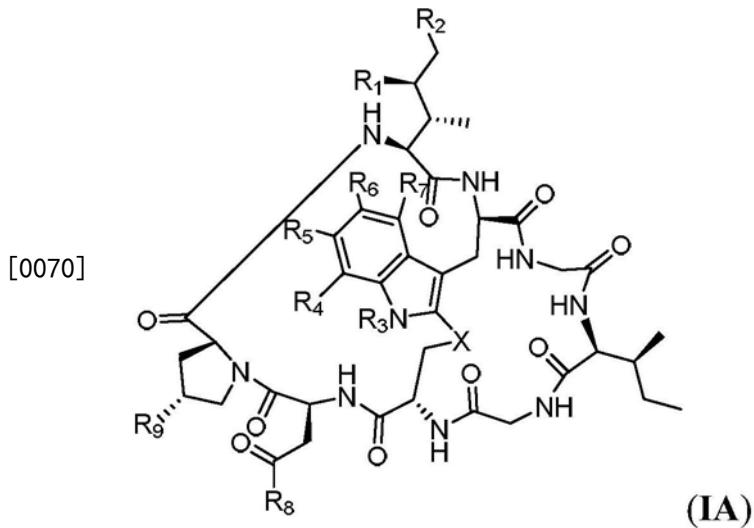
[0065] 在一些实施方案中,L-Z是



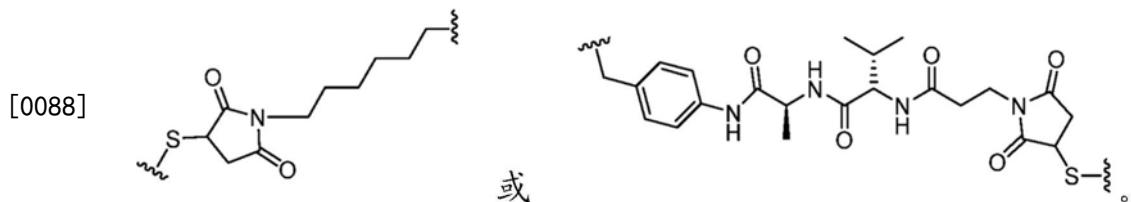
[0067] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是:



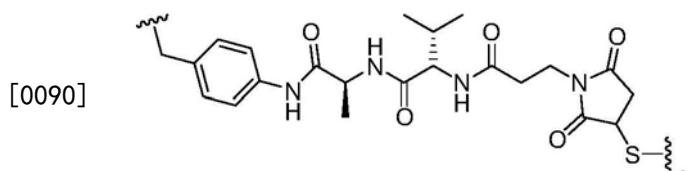
[0069] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IA) 表示



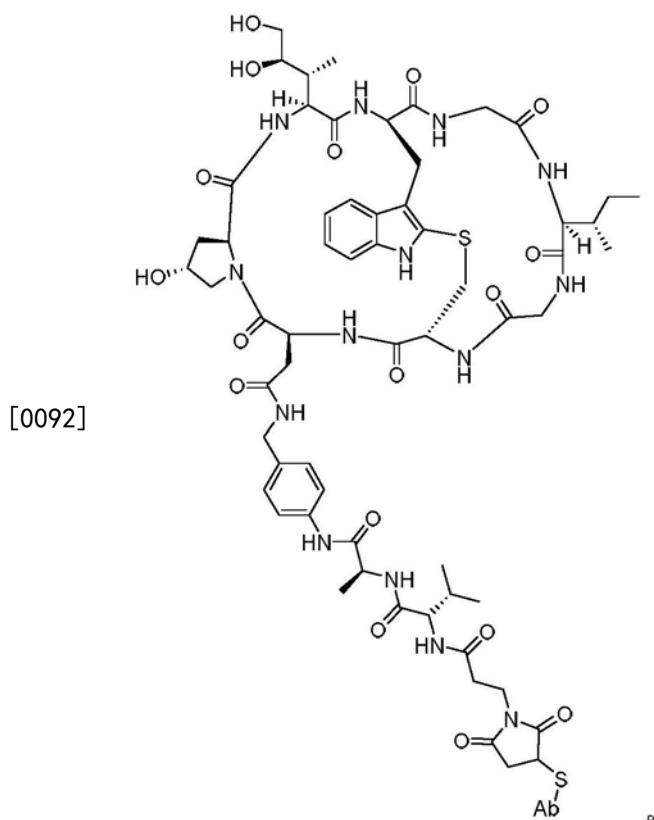
- [0071] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C；
- [0072] R₂是H、OH、OR_B或OR_C；
- [0073] R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基基团；
- [0074] R₃是H、R_C或R_D；
- [0075] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；
- [0076] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；
- [0077] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；
- [0078] R₇是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；
- [0079] R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D；
- [0080] R₉是H、OH、OR_C或OR_D；
- [0081] X是-S-、-S(0)-或-SO₂-；
- [0082] R_C是-L-Z；
- [0083] R_D是任选地被取代的烷基(例如C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基；
- [0084] L是接头,诸如任选地被取代的亚烷基(例如C₁-C₆亚烷基)、任选地被取代的亚杂烷基(C₁-C₆亚杂烷基)、任选地被取代的亚烯基(例如C₂-C₆亚烯基)、任选地被取代的亚杂烯基(例如C₂-C₆亚杂烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如C₂-C₆亚炔基)、任选地被取代的亚杂炔基(例如C₂-C₆亚杂炔基)、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的亚杂芳基、二肽、-C(=O)-、肽或其组合；
- [0085] Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分,所述抗体或其抗原结合片段与诸如CD2+ T细胞或CD2+ NK细胞的表面上的CD2结合;并且
- [0086] 其中Am包含正好一个R_C取代基。
- [0087] 在一些实施方案中,接头L和化学部分Z(合在一起称为L-Z)是



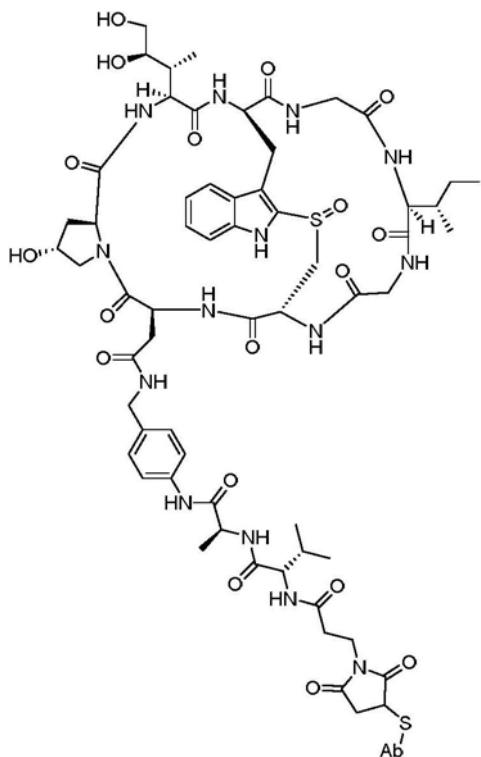
[0089] 在一些实施方案中,L-Z是



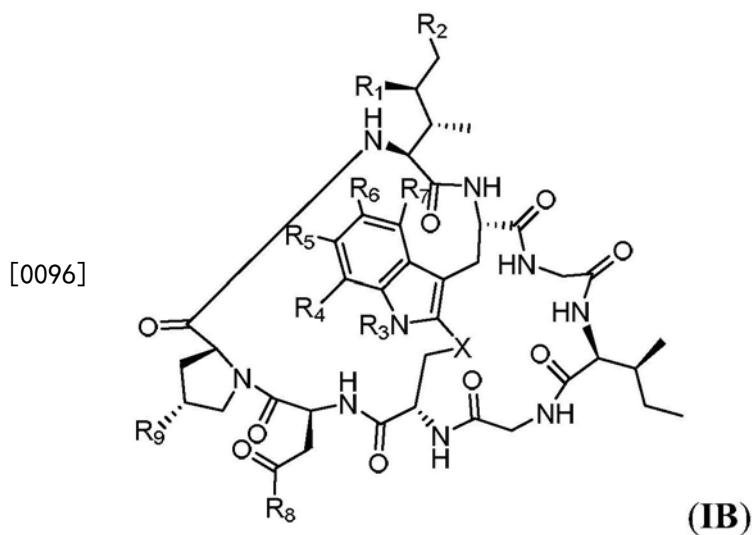
[0091] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是



[0093] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是



[0095] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IB) 表示



[0097] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

[0098] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

[0099] R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基团;

[0100] R₃是H、R_C或R_D;

[0101] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0102] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0103] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0104] R₇是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0105] R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_CR_D或NR_CR_D;

[0106] R_9 是H、OH、 OR_C 或 OR_D ;

[0107] X是-S-、-S(0)-或-SO₂-;

[0108] R_C 是-L-Z;

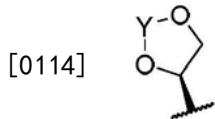
[0109] R_D 是任选地被取代的烷基(例如C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基;

[0110] L是接头,诸如任选地被取代的亚烷基(例如C₁-C₆亚烷基)、任选地被取代的亚杂烷基(C₁-C₆亚杂烷基)、任选地被取代的亚烯基(例如C₂-C₆亚烯基)、任选地被取代的亚杂烯基(例如C₂-C₆亚杂烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如C₂-C₆亚炔基)、任选地被取代的亚杂炔基(例如C₂-C₆亚杂炔基)、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的亚杂芳基、二肽、-C(=O)-、肽或其组合;

[0111] Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分,所述抗体或其抗原结合片段与CD2结合,该CD2诸如CD2+ T细胞或CD2+ NK细胞的表面上的CD2;并且

[0112] 其中Am包含正好一个 R_C 取代基。

[0113] 在一些实施方案中, R_A 和 R_B 与它们所结合的氧原子一起组合形成下式的5元杂环烷基基团:



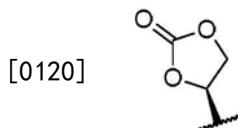
[0115] 其中Y是-C(=O)-、-C(=S)-、-C(=NR_E)-或-C(R_ER_E)-;并且

[0116] 并且R_E和R_{E'}各自独立地是任选地被取代的C₁-C₆亚烷基-R_C、任选地被取代的C₁-C₆亚杂烷基-R_C、任选地被取代的C₂-C₆亚烯基-R_C、任选地被取代的C₂-C₆亚杂烯基-R_C、任选地被取代的C₂-C₆亚炔基-R_C、任选地被取代的C₂-C₆亚杂炔基-R_C、任选地被取代的亚环烷基-R_C、任选地被取代的亚杂环烷基-R_C、任选地被取代的亚芳基-R_C或任选地被取代的亚杂芳基-R_C。

[0117] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示,其中R₁是H、OH、 OR_A 或 OR_C ;

[0118] R₂是H、OH、 OR_B 或 OR_C ;

[0119] R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成:



[0121] R₃是H或R_C;

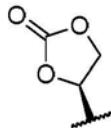
[0122] R₄是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、R_C或R_D;

[0123] R₅是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、R_C或R_D;

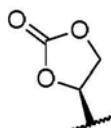
[0124] R₆是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、R_C或R_D;

[0125] R₇是H、OH、 OR_C 、 OR_D 、R_C或R_D;

- [0126] R₈是OH、NH₂、OR_C或NHR_C;
- [0127] R₉是H或OH;并且
- [0128] 其中X、R_C和R_D各自如上文所定义。
- [0129] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IA) 或式 (IB) 表示,
- [0130] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;
- [0131] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;
- [0132] R_A和R_B与它们所结合的氧原子一起组合形成:

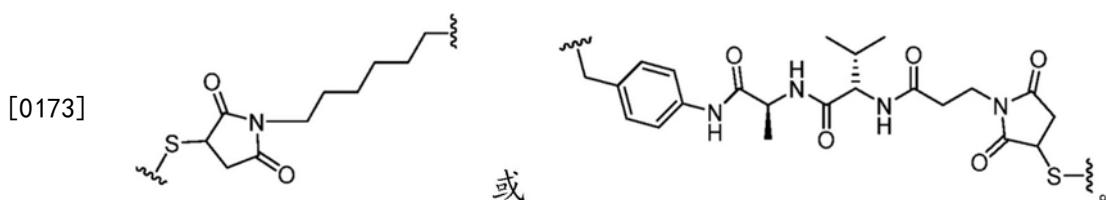


- [0133]
- [0134] R₃是H或R_C;
- [0135] R₄和R₅各自独立地是H、OH、OR_C、R_C或OR_D;
- [0136] R₆和R₇各自是H;
- [0137] R₈是OH、NH₂、OR_C或NHR_C;
- [0138] R₉是H或OH;并且
- [0139] 其中X和R_C如上文所定义。
- [0140] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IA) 或式 (IB) 表示,
- [0141] 其中R₁是H、OH或OR_A;
- [0142] R₂是H、OH或OR_B;
- [0143] R_A和R_B与它们所结合的氧原子一起组合形成:

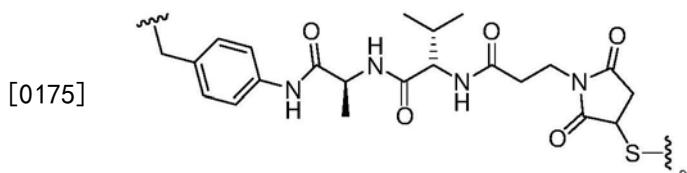


- [0144]
- [0145] R₃、R₄、R₆和R₇各自是H;
- [0146] R₅是OR_C;
- [0147] R₈是OH或NH₂;
- [0148] R₉是H或OH;并且
- [0149] 其中X和R_C如上文所定义。
- [0150] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IA) 或式 (IB) 表示,
- [0151] 其中R₁和R₂各自独立地是H或OH;
- [0152] R₃是R_C;
- [0153] R₄、R₆和R₇各自是H;
- [0154] R₅是H、OH或OC₁-C₆烷基;
- [0155] R₈是OH或NH₂;
- [0156] R₉是H或OH;并且
- [0157] 其中X和R_C如上文所定义。
- [0158] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IA) 或式 (IB) 表示,
- [0159] 其中R₁和R₂各自独立地是H或OH;
- [0160] R₃、R₆和R₇各自是H;

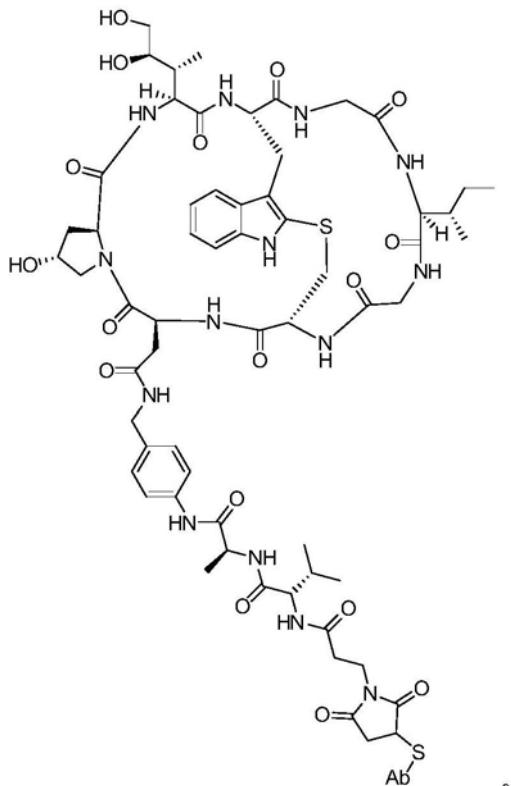
- [0161] R₄和R₅各自独立地是H、OH、OR_C或RC；
 - [0162] R₈是OH或NH₂；
 - [0163] R₉是H或OH；并且
 - [0164] 其中X和R_C如上文所定义。
 - [0165] 在一些实施方案中，Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示，
 - [0166] 其中R₁和R₂各自独立地是H或OH；
 - [0167] R₃、R₆和R₇各自是H；
 - [0168] R₄和R₅各自独立地是H或OH；
 - [0169] R₈是OH、NH₂、OR_C或NHR_C；
 - [0170] R₉是H或OH；并且
 - [0171] 其中X和R_C如上文所定义。
 - [0172] 在一些实施方案中，接头L和化学部分Z(合在一起称为L-Z)是



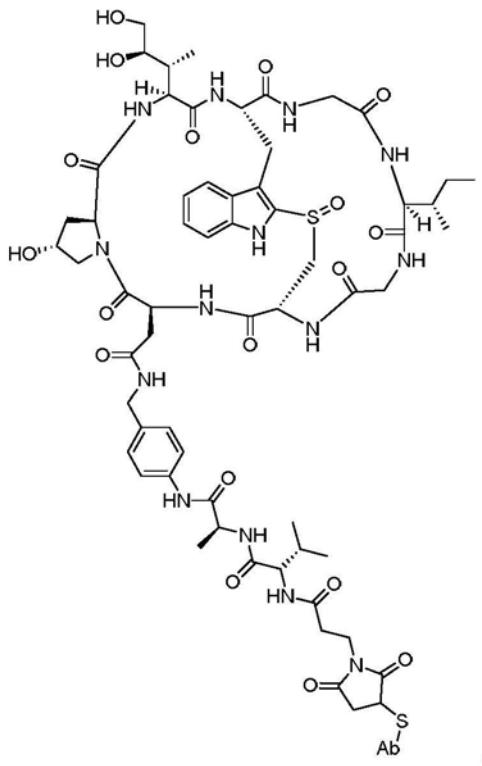
- [0174] 在一些实施方案中,L-Z是



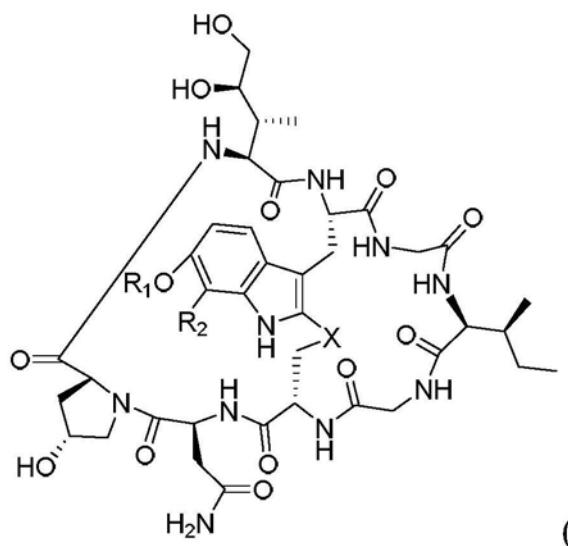
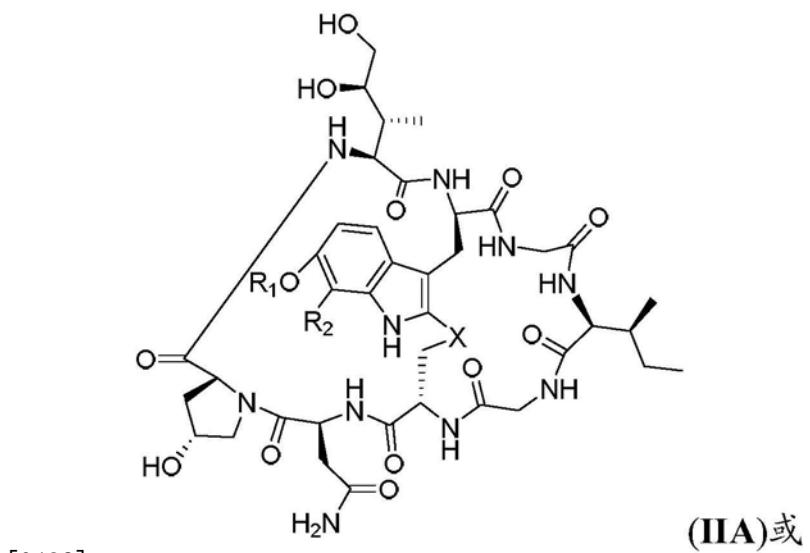
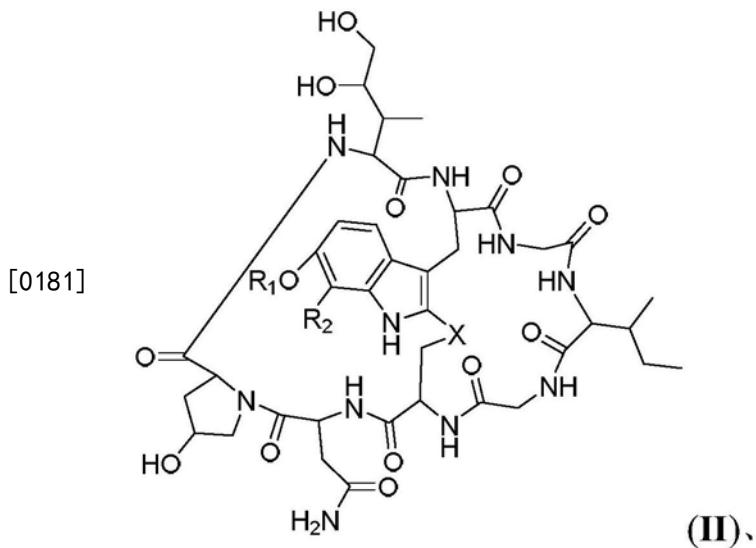
- [0176] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是



[0178] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是



[0180] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (II)、式 (IIA) 或式 (IIB) 表示,

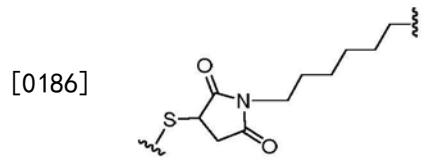


[0183] 其中X是S、SO或SO₂;R₁是H或通过化学部分Z与抗体或其抗原结合片段共价结合的接头,所述化学部分Z由存在于接头上的反应性取代基和存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成;并且R₂是H或通过化学部分Z与抗体或其抗原结合片

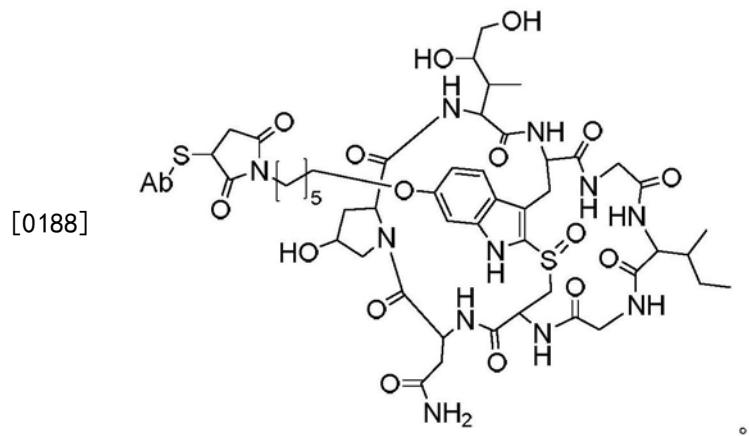
段共价结合的接头,所述化学部分Z由存在于接头上的反应性取代基和存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成;其中当R₁是H时,R₂是接头,并且当R₂是H时,R₁是接头。

[0184] 在一些实施方案中,接头包含-(CH)_{2n}-单元,其中n是从2-6的整数。

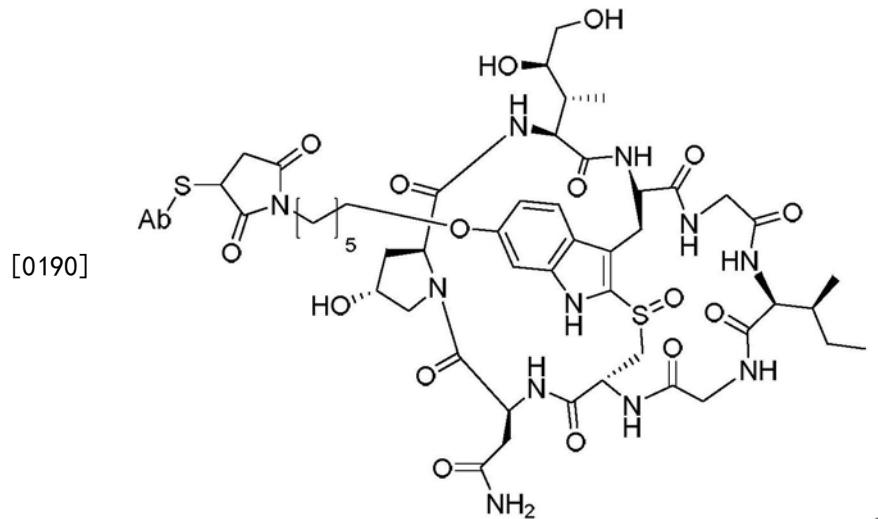
[0185] 在一些实施方案中,R₁是接头并且R₂是H,并且接头和化学部分(一起为L-Z)是



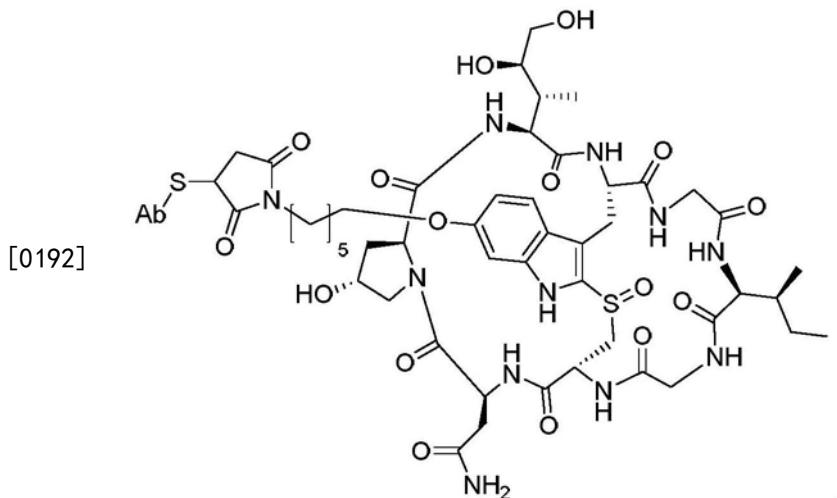
[0187] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是



[0189] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是

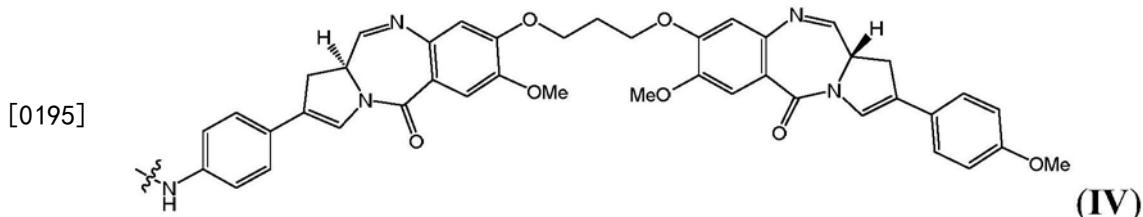


[0191] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是:



[0193] 在以上方面的任一项的一些实施方案中，细胞毒素是选自由DM1和DM4组成的组的美登木素生物碱。在一些实施方案中，细胞毒素是选自由单甲基奥瑞他汀E和单甲基奥瑞他汀F组成的组的奥瑞他汀。在一些实施方案中，细胞毒素是选自由道诺霉素(daunorubicin)、多柔比星(doxorubicin)、表柔比星(epirubicin)和伊达比星(idarubicin)组成的组的蒽环霉素。

[0194] 在一些实施方案中，细胞毒素是由式(IV)表示的吡咯并苯二氮卓类二聚体：



[0196] 在一些实施方案中，细胞毒素通过马来酰亚胺己酰基接头与抗体或其抗原结合片段缀合。

[0197] 在一些实施方案中，细胞毒素是选自由单甲基奥瑞他汀E和单甲基奥瑞他汀F组成的组的奥瑞他汀。

[0198] 在一些实施方案中，细胞毒素是选自由道诺霉素、多柔比星、表柔比星和伊达比星组成的组的蒽环霉素。

[0199] 在一些实施方案中，抗体或其抗原结合片段在施用至患者后被免疫细胞诸如T细胞或NK细胞(例如CD2+ T细胞或CD2+ NK细胞)内化。例如，抗体或其抗原结合片段可以通过受体介导的胞吞作用(例如，在与细胞表面CD2结合后)被T细胞内化。在一些实施方案中，与抗体或其抗原结合片段共价结合的细胞毒素可以通过化学裂解(例如，通过本文描述的接头的酶裂解或非特异性裂解)在细胞内释放。然后，细胞毒素可以进入其细胞内靶(诸如RNA聚合酶、有丝分裂纺锤体装置、核DNA、核糖体RNA或拓扑异构酶等)，以便在造血干细胞移植疗法之前促进内源性免疫细胞(例如，CD2+ T细胞或CD2+ NK细胞)的死亡。

[0200] 在一些实施方案中，抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物能够促进免疫细胞诸如T细胞或NK细胞(例如，CD2+ T细胞或CD2+ NK细胞)的坏死。在一些实施方案中，抗体或其抗原结合片段可以通过在施用至患者后将一种或更多种补体蛋白、NK细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞和/或嗜酸性粒细胞募集至免疫细胞而在移植疗法之前促进内源性免疫细胞

(例如CD2+ T细胞或CD2+ NK细胞)的死亡。

[0201] 在一些实施方案中,包含造血干细胞的自体移植物被施用至患者。例如,可以从患者(诸如需要造血干细胞移植疗法的患者)取出自体造血干细胞,并且随后可以将该细胞施用至(例如,输注到)患者,以便重新填充造血谱系的一种或更多种细胞类型。抽取的造血干细胞可以例如在离体维持一小时或更多小时、一天或更多天或一周或更多周之后新鲜地再输注到受试者中。例如,抽取的造血干细胞可以在从患者抽取后1小时至约1周、1小时至约72小时、约1小时至约48小时、或约1小时至约24小时再输注到患者中。在一些实施方案中,抽取的造血干细胞在再输注到患者中之前被冷冻以便长期储存。例如,抽取的造血干细胞在再输注到患者中之前可以被冷冻和冻存约1周至约1年或更长时间。

[0202] 在一些实施方案中,包含造血干细胞的同种异体移植物被施用至患者。例如,同种异体造血干细胞可以从供体,诸如对于患者是HLA匹配的供体,例如患者的血缘上相近的家庭成员取出。在一些实施方案中,同种异体造血干细胞对于患者是HLA不匹配的。在从供体抽取同种异体造血干细胞之后,随后可以将该细胞施用至(例如,输注到)患者,以便重新填充造血谱系的一种或更多种细胞类型。抽取的造血干细胞可以例如在离体维持一小时或更多小时、一天或更多天或一周或更多周之后新鲜地输注到受试者中。例如,抽取的造血干细胞可以在从供体抽取后1小时至约1周、1小时至约72小时、约1小时至约48小时、或约1小时至约24小时输注到患者中。在一些实施方案中,抽取的造血干细胞在输注到患者中之前被冷冻以便长期储存。例如,抽取的造血干细胞在输注到患者中之前可以被冷冻和冻存约1周至约1年或更长时间。

[0203] 在一些实施方案中,在抗CD2抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物的浓度已经基本上从患者的血液清除后,包含造血干细胞的移植物被施用至患者。

[0204] 在一些实施方案中,在抗CD2抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物的浓度已经基本上从患者的血液清除后约1小时至约7天(例如,约6小时至约3天、约12小时至约36小时或约24小时),包含造血干细胞的移植物被施用至患者。

[0205] 在一些实施方案中,造血干细胞或其后代在造血干细胞移植到患者中后两天或更多天后(例如,约2天至约5天、约2天至约7天、约2天至约20天、约2天至约30天,诸如约2天、约3天、约4天、约5天、约6天、约7天、约8天、约9天、约10天、约11天、约12天、约13天、约14天、约15天、约16天、约17天、约18天、约19天、约20天、约21天、约22天、约23天、约24天、约25天、约26天、约27天、约28天、约29天、约30天或更长时间)维持造血干细胞功能潜能。

[0206] 在一些实施方案中,造血干细胞或其后代能够在造血干细胞移植到患者中之后定位于造血组织(诸如骨髓)和/或重建造血作用。

[0207] 在一些实施方案中,造血干细胞在移植到患者中后引起选自由以下组成的组的细胞的群体的恢复:巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞。

[0208] 在一些实施方案中,患者患有癌症。癌症可以是血液癌症或一种类型的白血病,诸如急性髓细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性髓细胞白血病或慢性淋巴细胞白血病。

[0209] 在一些实施方案中,CD2+细胞包括癌细胞。

[0210] 在一些实施方案中,抗CD2抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物耗尽患者中

的癌细胞。例如,抗体或其抗原结合片段可以耗尽患者中约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%或基本上所有的癌细胞。

[0211] 在一些实施方案中,抗CD2抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物耗尽患者中的血液癌症的细胞(例如,白血病细胞)。在一些实施方案中,血液癌症的细胞是急性髓细胞白血病细胞、急性淋巴细胞白血病细胞、慢性髓细胞白血病细胞或慢性淋巴细胞白血病细胞。在一些实施方案中,血液癌症的细胞是巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞或B淋巴细胞。

[0212] 在一些实施方案中,CD2+细胞的群体包含免疫细胞,诸如CD2+ T细胞和/或CD2+ NK细胞。

[0213] 在以上方面的任一项的一些实施方案中,方法被用于治疗一种或更多种紊乱,所述治疗诸如通过例如在造血干细胞移植疗法之前耗尽患者中与造血干细胞移植物交叉反应(例如,通过与由造血干细胞移植物表达的非自身MHC抗原交叉反应)的免疫细胞的群体以便预防或降低本来可能由免疫细胞的群体引起的造血干细胞移植物的排斥的可能性。在移植之后,造血干细胞可以建立有效造血作用,以便补充患者中的有缺陷的细胞类型或被例如通过化学治疗方法主动杀伤或已经杀伤的细胞类型。例如,患者可以是患有干细胞紊乱的患者。在一些实施方案中,患者患有血红蛋白病紊乱,诸如镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血和威斯科特-奥尔德里奇综合征(Wiskott-Aldrich syndrome)。患者可能患有免疫缺陷性紊乱(immunodeficiency disorder),诸如先天性免疫缺陷性紊乱或获得性免疫缺陷性紊乱(例如,人类免疫缺陷病毒或获得性免疫缺陷综合征)。在一些实施方案中,患者患有代谢紊乱,诸如糖原贮积症、黏多糖贮积症、戈谢氏病(Gaucher's Disease)、赫尔勒病(Hurler's Disease)、鞘脂贮积症和异染性脑白质营养不良。在一些实施方案中,患者患有选自由以下组成的组的紊乱:腺苷脱氨酶缺乏和重症联合免疫缺陷、高免疫球蛋白M综合征、切东病(Chediak-Higashi Disease)、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化症、成骨不全症、贮积症、重型地中海贫血、系统性硬化、系统性红斑狼疮和幼年型类风湿性关节炎。在一些实施方案中,患者患有自身免疫性疾病,诸如硬皮病、多发性硬化、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病和1型糖尿病。在一些实施方案中,患者患有癌症或骨髓增生性疾病,诸如血液学癌症。在一些实施方案中,患者患有急性髓细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性髓细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,患者患有骨髓增生异常疾病,诸如骨髓增生异常综合征。

[0214] 在以上方面的任一项的一些实施方案中,方法被用于直接治疗癌症,诸如由CD2+细胞表征的癌症(例如,由CD2+细胞表征的白血病),所述治疗通过施用耗尽患者中的CD2+癌细胞的群体的抗体、其抗原结合片段或其缀合物,和/或通过在造血干细胞移植疗法之前施用抗体或其抗原结合片段以便预防或降低本来可能由与造血干细胞移植物交叉反应(例如,与由造血干细胞移植物表达的非自身MHC抗原交叉反应)的免疫细胞的群体引起的造血干细胞移植物的排斥的可能性。在后一种情况下,移植可以进而使例如在根除癌细胞的过程期间耗尽的细胞的群体重建。癌症可以是血液学癌症,诸如急性髓细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性髓细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴

瘤或非霍奇金淋巴瘤。

[0215] 在以上方面的任一项的一些实施方案中,方法被用于治疗自身免疫性疾病,所述治疗诸如通过施用抗CD2抗体、其抗原结合片段或其缀合物以便耗尽CD2+自身免疫性细胞的群体(例如,自身反应性CD2+ T细胞和/或NK细胞的群体),和/或通过在造血干细胞移植疗法之前施用抗CD2抗体、其抗原结合片段或其缀合物以便预防或降低本来可能由与造血干细胞移植物交叉反应(例如,与由造血干细胞移植物表达的非自身MHC抗原交叉反应)的免疫细胞的群体引起的造血干细胞移植物的排斥的可能性。在后一种情况下,移植可以进而使例如在根除自身免疫性细胞的过程期间耗尽的细胞的群体重建。自身免疫性疾病可以是例如硬皮病、多发性硬化(MS)、人类系统性红斑狼疮(SLE)、类风湿性关节炎(RA)、炎性肠病(IBD)、治疗银屑病、1型糖尿病(Type 1 diabetes mellitus, Type 1 diabetes)、急性播散性脑脊髓炎(ADEM)、艾迪生氏病(Addison's disease)、普秃、强直性脊柱炎、抗磷脂抗体综合征(APS)、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病(AIED)、自身免疫性淋巴增生性综合征(ALPS)、自身免疫性卵巢炎、巴洛病(Balo disease)、白塞氏病(Behcet's disease)、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病(Chagas' disease)、慢性疲劳免疫功能障碍综合征(CFIDS)、慢性炎性脱髓鞘多发性神经病、克罗恩氏病(Crohn's disease)、瘢痕性类天疱疮、乳糜泻-疱疹样皮炎、冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病(Degos disease)、盘状狼疮、自主神经功能障碍、子宫内膜异位症、特发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、肺出血肾炎综合征(Goodpasture's syndrome)、格雷夫斯病(Grave's disease)、吉兰-巴雷综合征(Guillain-Barre syndrome, GBS)、桥本氏甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、化脓性汗腺炎、特发性和/或急性血小板减少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病变、间质性膀胱炎、幼年型关节炎、川崎病(Kawasaki's disease)、扁平苔藓、莱姆病(Lyme disease)、梅尼埃病(Meniere disease)、混合性结缔组织病(MCTD)、重症肌无力、神经性肌强直、斜视性眼阵挛肌阵挛综合征(OMS)、视神经炎、奥德氏甲状腺炎(Ord's thyroiditis)、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮肌炎、原发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺体综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象(Raynaud phenomenon)、莱特尔综合征(Reiter's syndrome)、风湿热、结节病、硬皮病、干燥综合征(Sjögren's syndrome)、僵人综合征、大动脉炎(Takayasu's arteritis)、颞动脉炎(也称为“巨细胞动脉炎”)、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛(“外阴前庭炎”)和韦格纳肉芽肿病(Wegener's granulomatosis)。

[0216] 因此,在以上方面的任一项的一些实施方案中,本发明的特征在于一种治疗血红蛋白病紊乱的方法,所述血红蛋白病紊乱诸如镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血和威斯科特-奥尔德里奇综合征。在一些实施方案中,本发明的特征在于一种治疗免疫缺陷性紊乱的方法,所述免疫缺陷性紊乱诸如先天性免疫缺陷性紊乱或获得性免疫缺陷性紊乱(例如,人类免疫缺陷病毒或获得性免疫缺陷综合征)。在一些实施方案中,本发明的特征在于一种治疗代谢紊乱的方法,所述代谢紊乱诸如糖原贮积症、黏多糖贮积症、戈谢氏病、赫尔勒病、鞘脂贮积症和异染性脑白质营养不良。在一些实施方案中,本发明的特征在于一种治疗选自由以下组成的组的紊乱的方法:腺苷脱氨酶缺乏和重症联合免疫缺陷、高免疫球蛋白M综合征、切东病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化症、成骨不全症、

贮积症、重型地中海贫血、系统性硬化、系统性红斑狼疮和幼年型类风湿性关节炎。在一些实施方案中，本发明的特征在于一种治疗自身免疫性疾病的方法，所述自身免疫性疾病诸如硬皮病、多发性硬化、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病和1型糖尿病。在一些实施方案中，本发明的特征在于一种治疗癌症或骨髓增生性疾病诸如血液学癌症的方法。在一些实施方案中，本发明的特征在于一种治疗急性髓细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性髓细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤的方法。在一些实施方案中，患者患有骨髓增生异常疾病，诸如骨髓增生异常综合征。在这些实施方案中，方法可以包括向患者施用与CD2结合的抗体或其抗原结合片段或其缀合物，诸如本发明的方面或实施方案中任一项的抗体、其抗原结合片段或其缀合物。方法可以另外包括例如根据本发明的方面或实施方案中任一项的方法向患者施用造血干细胞移植。

[0217] 类似地，在以上方面的任一项的一些实施方案中，本发明提供了一种直接治疗癌症诸如由CD2+细胞表征的癌症（例如，由CD2+细胞表征的白血病）的方法。在这些实施方案中，方法可以包括向患者施用与CD2结合的抗体、其抗原结合片段或其缀合物，诸如本文描述的那些。癌症可以是血液学癌症，诸如急性髓细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性髓细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。

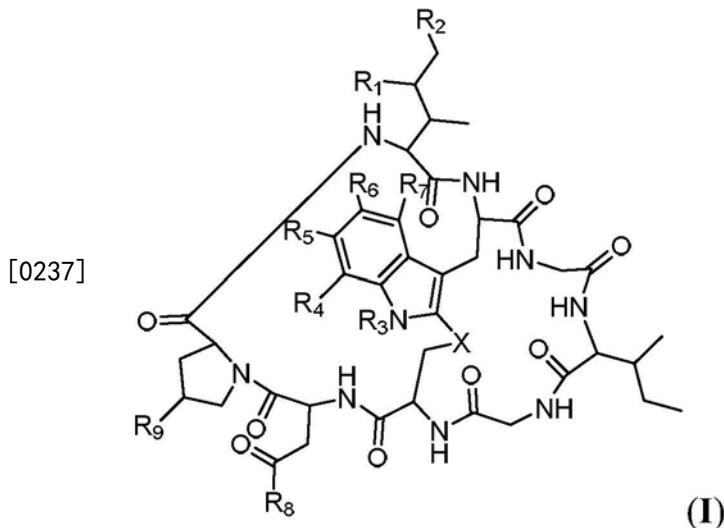
[0218] 另外地，在以上方面的任一项的一些实施方案中，本发明提供了一种治疗自身免疫性疾病的方法，所述自身免疫性疾病诸如MS、SLE、RA、IBD、银屑病、1型糖尿病、ADEM、艾迪生氏病、普秃、强直性脊柱炎、APS、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、AIED、ALPS、自身免疫性卵巢炎、巴洛病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病、CFIDS、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病、克罗恩氏病、瘢痕性类天疱疮、乳糜泻-疱疹样皮炎、冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病、盘状狼疮、自主神经功能障碍、子宫内膜异位症、特发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、肺出血肾炎综合征、格雷夫斯病、GBS、桥本氏甲状腺炎、化脓性汗腺炎、特发性和/或急性血小板减少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病变、间质性膀胱炎、幼年型关节炎、川崎病、扁平苔藓、莱姆病、梅尼埃病、MCTD、重症肌无力、神经性肌强直、OMS、视神经炎、奥德氏甲状腺炎、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮肌炎、原发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺体综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象、莱特尔综合征、风湿热、结节病、硬皮病、干燥综合征、僵人综合征、大动脉炎、颞动脉炎（也称为“巨细胞动脉炎”）、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛（“外阴前庭炎”）和韦格纳肉芽肿病。在这些实施方案中，方法可以包括向患者施用与CD2结合的抗体、其抗原结合片段或其缀合物，诸如本文描述的那些。

[0219] 在另一方面，本文公开的组合物和方法的特征在于与CD2结合的抗体或其抗原结合片段，其中抗体或其抗原结合片段与毒素缀合。在一些实施方案中，抗体或其抗原结合片段由杂交瘤细胞系ATCC HB 11423产生。在一些实施方案中，抗体或其抗原结合片段竞争性抑制CD2与由杂交瘤细胞系ATCC HB 11423产生的抗体或其抗原结合片段的结合。在一些实施方案中，抗体或其抗原结合片段包含以下CDR：

[0220] 具有氨基酸序列EYYMY (SEQ ID NO:1) 的CDR-H1；

[0221] 具有氨基酸序列RIDPEDGSIDYVEKFKK (SEQ ID NO:2) 的CDR-H2；

- [0222] 具有氨基酸序列GKFNYRFAY (SEQ ID NO:3) 的CDR-H3；
- [0223] 具有氨基酸序列RSSQSLHSSGNTYLN (SEQ ID NO:4) 的CDR-L1；
- [0224] 具有氨基酸序列LVSKLES (SEQ ID NO:5) 的CDR-L2；和
- [0225] 具有氨基酸序列MQFTHYPYT (SEQ ID NO:6) 的CDR-L3。
- [0226] 在一些实施方案中，抗体或其抗原结合片段竞争性抑制CD2与包含以下CDR的抗体或其抗原结合片段的结合：
 - [0227] 具有氨基酸序列EYYMY (SEQ ID NO:1) 的CDR-H1；
 - [0228] 具有氨基酸序列RIDPEDGSIDYVEKFKK (SEQ ID NO:2) 的CDR-H2；
 - [0229] 具有氨基酸序列GKFNYRFAY (SEQ ID NO:3) 的CDR-H3；
 - [0230] 具有氨基酸序列RSSQSLHSSGNTYLN (SEQ ID NO:4) 的CDR-L1；
 - [0231] 具有氨基酸序列LVSKLES (SEQ ID NO:5) 的CDR-L2；和
 - [0232] 具有氨基酸序列MQFTHYPYT (SEQ ID NO:6) 的CDR-L3。
- [0233] 在一些实施方案中，与毒素缀合的抗CD2抗体或其抗原结合片段选自由以下组成的组：单克隆抗体、多克隆抗体、人源化抗体或其抗原结合片段、双特异性抗体或其抗原结合片段、双重可变免疫球蛋白结构域、scFv、双抗体、三抗体、纳米抗体、抗体样蛋白支架、Fv片段、Fab片段、F(ab')₂分子和串联二-scFv。
- [0234] 在一些实施方案中，抗CD2抗体具有选自由IgG、IgA、IgM、IgD和IgE组成的组的同种型。
- [0235] 在一些实施方案中，与细胞毒素缀合的抗体或其抗原结合片段由式Ab-Cy表示，其中Ab是抗CD2抗体或其抗原结合片段，并且Cy是细胞毒素。在一些实施方案中，细胞毒素选自由以下组成的组：鹅膏蕈毒素、假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、皂草素、美登素、美登木素生物碱、奥瑞他汀、蒽环霉素、加利车霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类和吲哚并苯二氮卓类二聚体，或其变体。
- [0236] 在一些实施方案中，细胞毒素是鹅膏蕈毒素或其衍生物，诸如 α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ϵ -鹅膏蕈碱、鹅膏素、鹅膏素酰胺、鹅膏蕈无毒环肽、鹅膏蕈无毒环肽酸和鹅膏蕈无毒环肽原。在一些实施方案中，细胞毒素是鹅膏蕈毒素，并且与细胞毒素缀合的抗体或其抗原结合片段由式Ab-Z-L-Am表示，其中Ab是抗体或其抗原结合片段，Z是化学部分，L是接头，并且Am是鹅膏蕈毒素。在一些实施方案中，Am-L-Z由式(I)表示



[0238] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C；

[0239] R₂是H、OH、OR_B或OR_C；

[0240] R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基团；

[0241] R₃是H、R_C或R_D；

[0242] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

[0243] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

[0244] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

[0245] R₇是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

[0246] R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D；

[0247] R₉是H、OH、OR_C或OR_D；

[0248] X是-S-、-S(0)-或-SO₂-；

[0249] R_C是-L-Z；

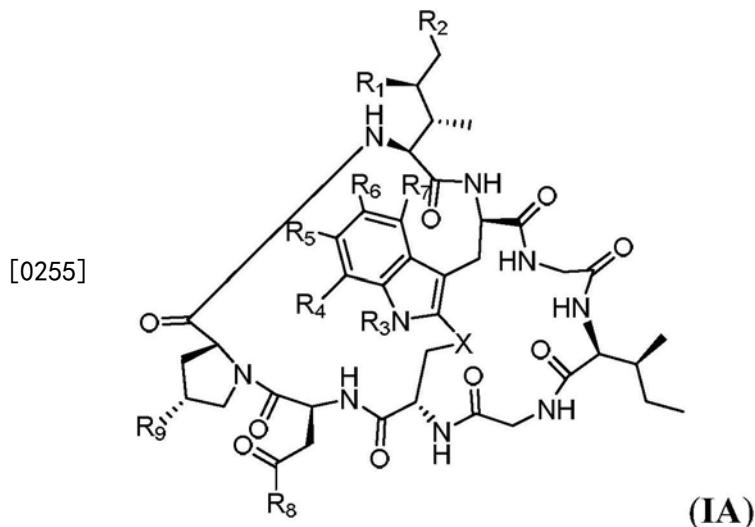
[0250] R_D是任选地被取代的烷基(例如C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基；

[0251] L是接头,诸如任选地被取代的亚烷基(例如C₁-C₆亚烷基)、任选地被取代的亚杂烷基(C₁-C₆亚杂烷基)、任选地被取代的亚烯基(例如C₂-C₆亚烯基)、任选地被取代的亚杂烯基(例如C₂-C₆亚杂烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如C₂-C₆亚炔基)、任选地被取代的亚杂炔基(例如C₂-C₆亚杂炔基)、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的亚杂芳基、二肽、-C(=O)-、肽或其组合;并且

[0252] Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分,所述抗体或其抗原结合片段与诸如CD2+ T细胞或CD2+ NK细胞表面上的CD2结合。

[0253] 在一些实施方案中,Am包含正好一个R_C取代基。

[0254] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IA) 表示



[0256] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

[0257] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

[0258] R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基基团;

[0259] R₃是H、R_C或R_D;

[0260] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0261] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0262] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0263] R₇是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0264] R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D;

[0265] R₉是H、OH、OR_C或OR_D;

[0266] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-;

[0267] R_c是-L-Z;

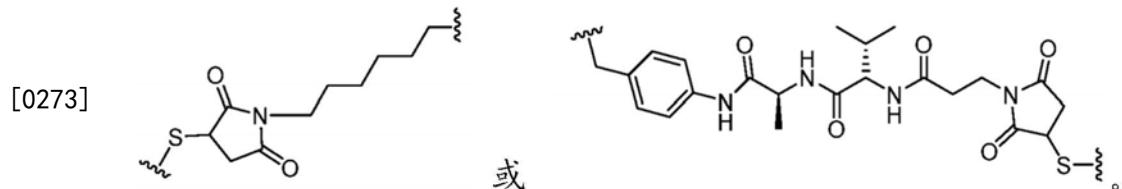
[0268] R_d是任选地被取代的烷基(例如C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基;

[0269] L是接头,诸如任选地被取代的亚烷基(例如C₁-C₆亚烷基)、任选地被取代的亚杂烷基(C₁-C₆亚杂烷基)、任选地被取代的亚烯基(例如C₂-C₆亚烯基)、任选地被取代的亚杂烯基(例如C₂-C₆亚杂烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如C₂-C₆亚炔基)、任选地被取代的亚杂炔基(例如C₂-C₆亚杂炔基)、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的亚杂芳基、二肽、-C(=O)-、肽或其组合;

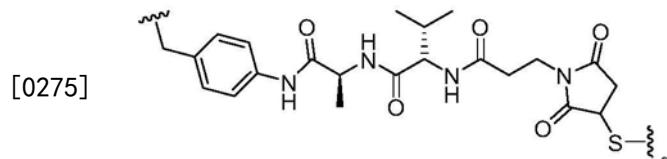
[0270] Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于抗体、其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分,所述抗体、其抗原结合片段与诸如CD2+ T细胞或CD2+ NK细胞的表面上的CD2结合;并且

[0271] 其中Am包含正好一个R_C取代基。

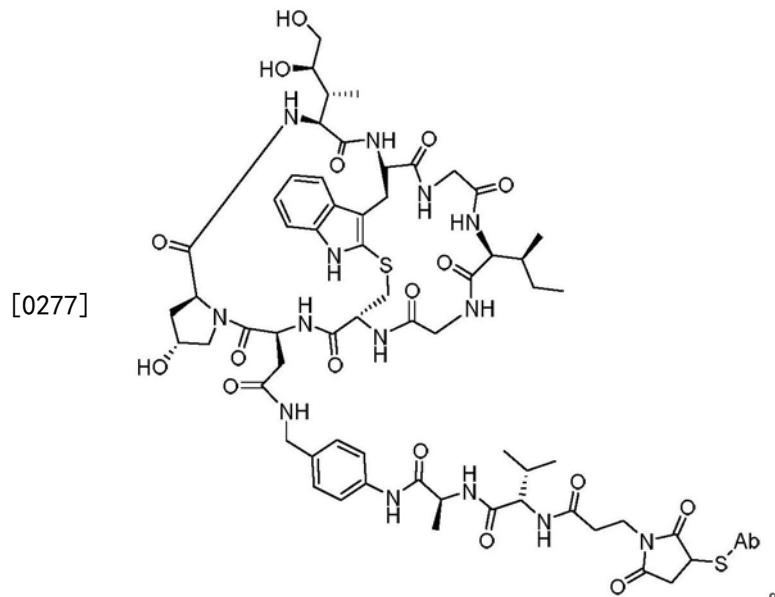
[0272] 在一些实施方案中,接头L和化学部分Z(合在一起称为L-Z)是



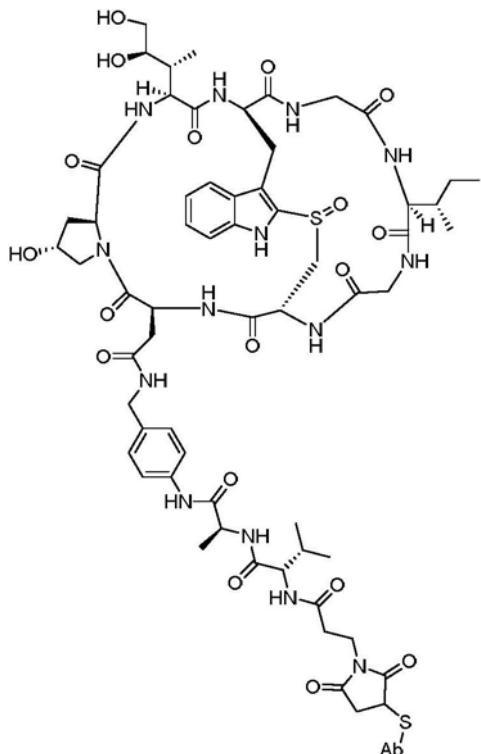
[0274] 在一些实施方案中,L-Z是



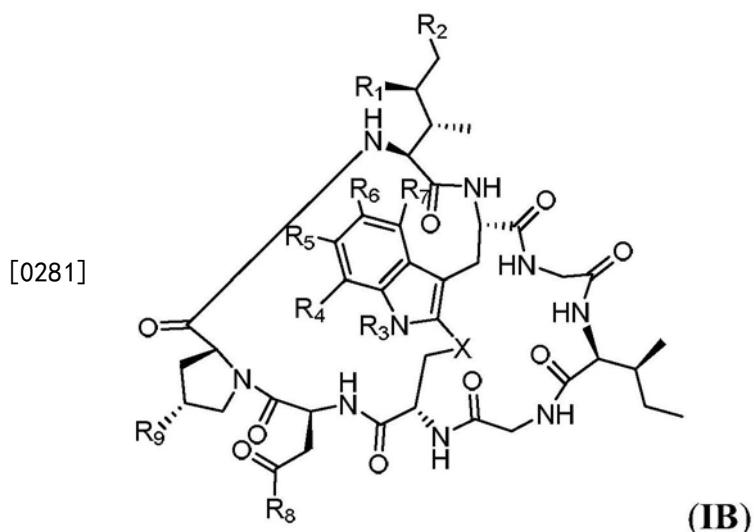
[0276] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是



[0278] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是



[0280] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IB) 表示



[0282] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

[0283] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

[0284] R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基团;

[0285] R₃是H、R_C或R_D;

[0286] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0287] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0288] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0289] R₇是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0290] R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D;

[0291] R₉是H、OH、OR_C或OR_D；

[0292] X是-S-、-S(0)-或-SO₂-；

[0293] R_C是-L-Z；

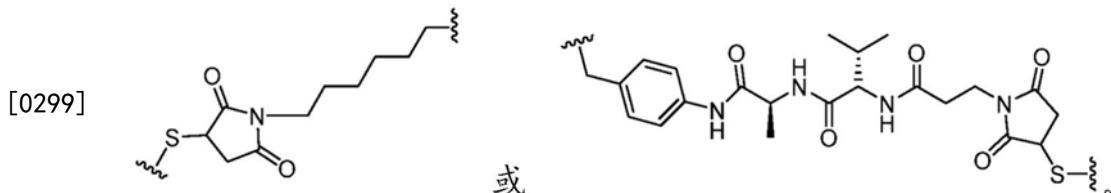
[0294] R_D是任选地被取代的烷基(例如C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基；

[0295] L是接头,诸如任选地被取代的亚烷基(例如C₁-C₆亚烷基)、任选地被取代的亚杂烷基(C₁-C₆亚杂烷基)、任选地被取代的亚烯基(例如C₂-C₆亚烯基)、任选地被取代的亚杂烯基(例如C₂-C₆亚杂烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如C₂-C₆亚炔基)、任选地被取代的亚杂炔基(例如C₂-C₆亚杂炔基)、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的亚杂芳基、二肽、-C(=O)-、肽或其组合；

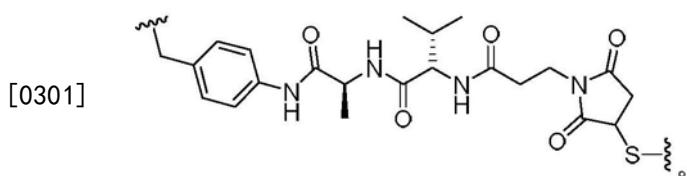
[0296] Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分,所述抗体或其抗原结合片段与诸如CD2+ T细胞或CD2+ NK细胞的表面上的CD2结合;并且

[0297] 其中Am包含正好一个R_C取代基。

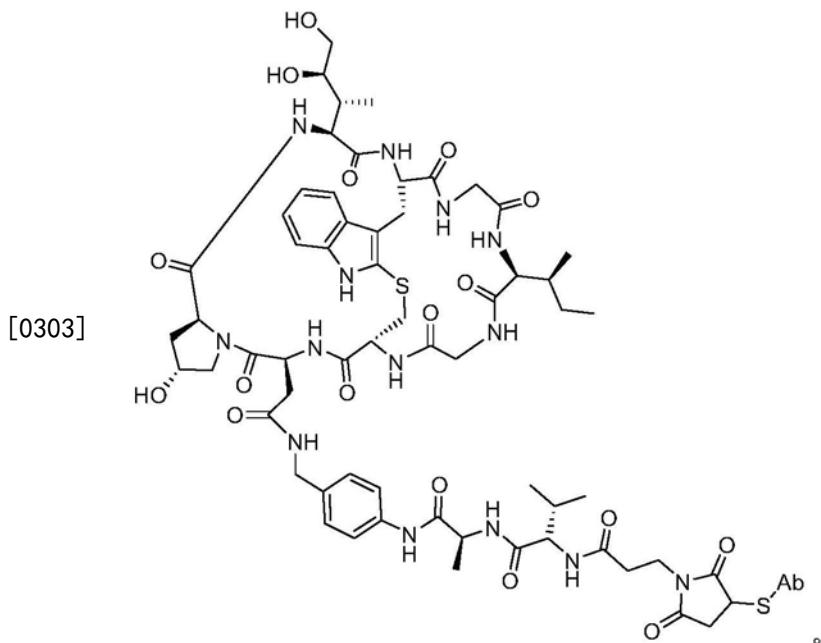
[0298] 在一些实施方案中,接头L和化学部分Z(合在一起称为L-Z)是



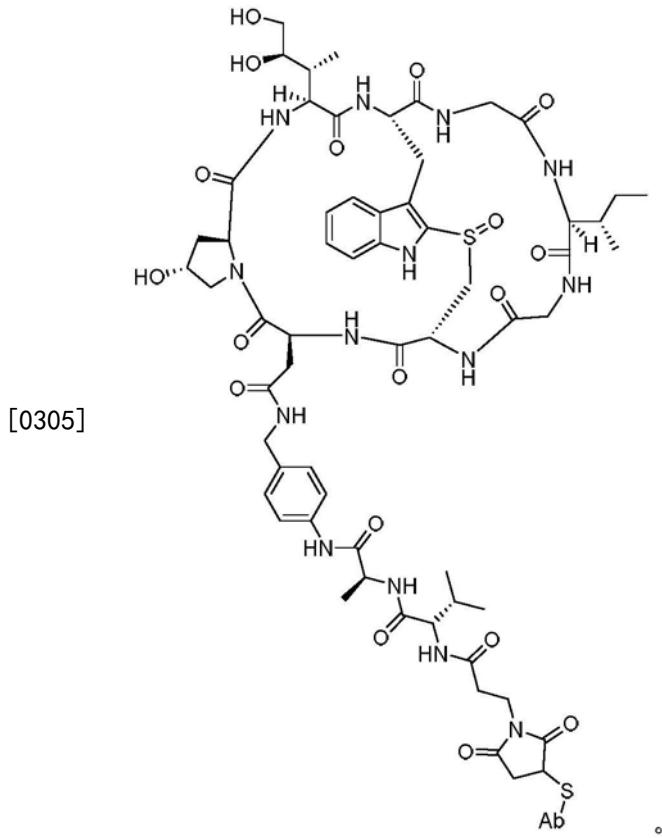
[0300] 在一些实施方案中,L-Z是



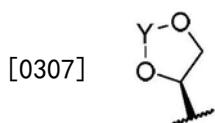
[0302] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是



[0304] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是



[0306] 在一些实施方案中, R_A 和 R_B 与它们所结合的氧原子一起组合形成下式的5元杂环烷基基团:



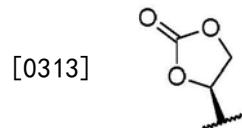
[0308] 其中Y是 $-C(=O)-$ 、 $-C(=S)-$ 、 $-C(=NR_E)-$ 或 $-C(R_ER_E^{'})-$;并且

[0309] 并且R_E和R_{E'}各自独立地是任选地被取代的C₁—C₆亚烷基-R_C、任选地被取代的C₁—C₆亚杂烷基-R_C、任选地被取代的C₂—C₆亚烯基-R_C、任选地被取代的C₂—C₆亚杂烯基-R_C、任选地被取代的C₂—C₆亚炔基-R_C、任选地被取代的C₂—C₆亚杂炔基-R_C、任选地被取代的亚环烷基-R_C、任选地被取代的亚杂环烷基-R_C、任选地被取代的亚芳基-R_C或任选地被取代的亚杂芳基-R_C。

[0310] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IA) 或式 (IB) 表示,其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

[0311] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

[0312] R_A和R_B与它们所结合的氧原子一起组合形成:



[0314] R₃是H或R_C;

[0315] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0316] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0317] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0318] R₇是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0319] R₈是OH、NH₂、OR_C或NHR_C;

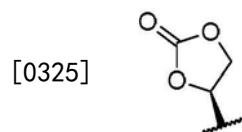
[0320] R₉是H或OH;并且

[0321] 其中X、R_C和R_D各自如上文所定义。

[0322] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IA) 或式 (IB) 表示,其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

[0323] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

[0324] R_A和R_B与它们所结合的氧原子一起组合形成:



[0326] R₃是H或R_C;

[0327] R₄和R₅各自独立地是H、OH、OR_C、R_C或OR_D;

[0328] R₆和R₇各自是H;

[0329] R₈是OH、NH₂、OR_C或NHR_C;

[0330] R₉是H或OH;并且

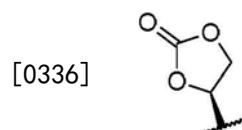
[0331] 其中X和R_C如上文所定义。

[0332] 在一些实施方案中,Am由式 (IA) 或式 (IB) 表示,

[0333] 其中R₁是H、OH或OR_A;

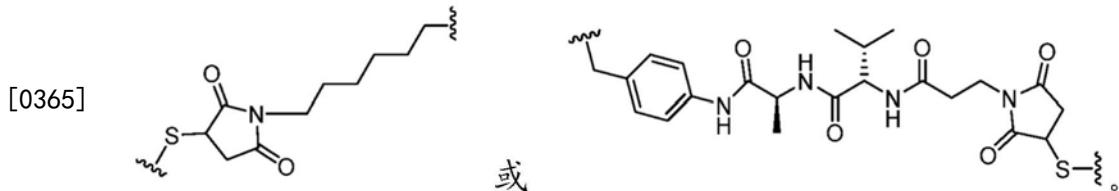
[0334] R₂是H、OH或OR_B;

[0335] R_A和R_B与它们所结合的氧原子一起组合形成:

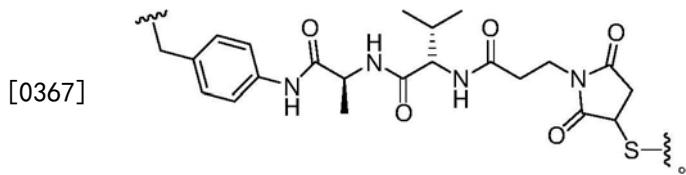


[0337] R₃、R₄、R₆和R₇各自是H;

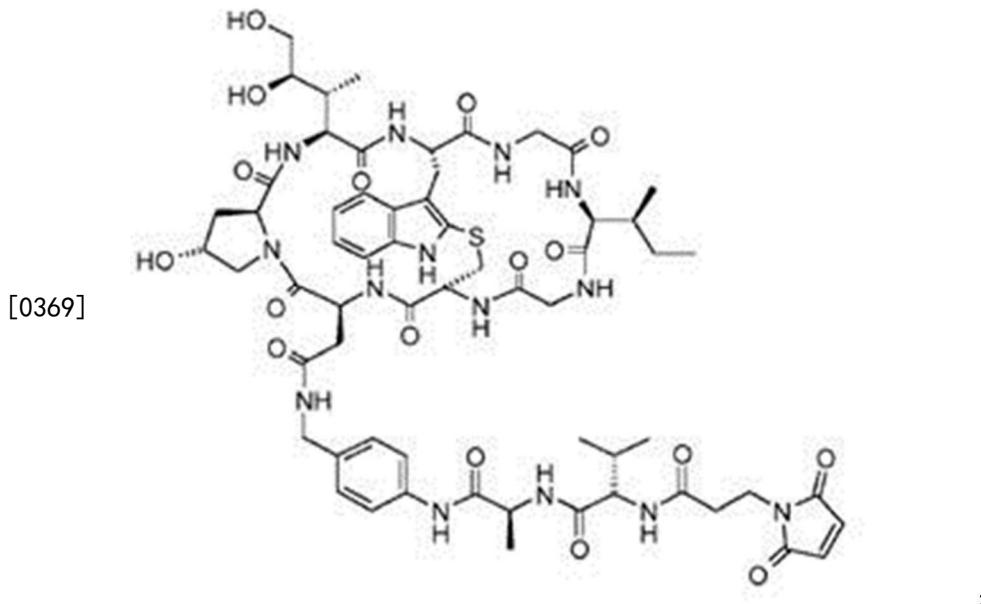
- [0338] R₅是OR_C;
- [0339] R₈是OH或NH₂;
- [0340] R₉是H或OH;并且
- [0341] 其中X和R_C如上文所定义。
- [0342] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示,
- [0343] 其中R₁和R₂各自独立地是H或OH;
- [0344] R₃是R_C;
- [0345] R₄、R₆和R₇各自是H;
- [0346] R₅是H、OH或OC₁-C₆烷基;
- [0347] R₈是OH或NH₂;
- [0348] R₉是H或OH;并且
- [0349] 其中X和R_C如上文所定义。
- [0350] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示,
- [0351] 其中R₁和R₂各自独立地是H或OH;
- [0352] R₃、R₆和R₇各自是H;
- [0353] R₄和R₅各自独立地是H、OH、OR_C或R_C;
- [0354] R₈是OH或NH₂;
- [0355] R₉是H或OH;并且
- [0356] 其中X和R_C如上文所定义。
- [0357] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示,
- [0358] 其中R₁和R₂各自独立地是H或OH;
- [0359] R₃、R₆和R₇各自是H;
- [0360] R₄和R₅各自独立地是H或OH;
- [0361] R₈是OH、NH₂、OR_C或NHR_C;
- [0362] R₉是H或OH;并且
- [0363] 其中X和R_C如上文所定义。
- [0364] 在一些实施方案中,接头L和化学部分Z(合在一起称为L-Z)是



- [0366] 在一些实施方案中,L-Z是

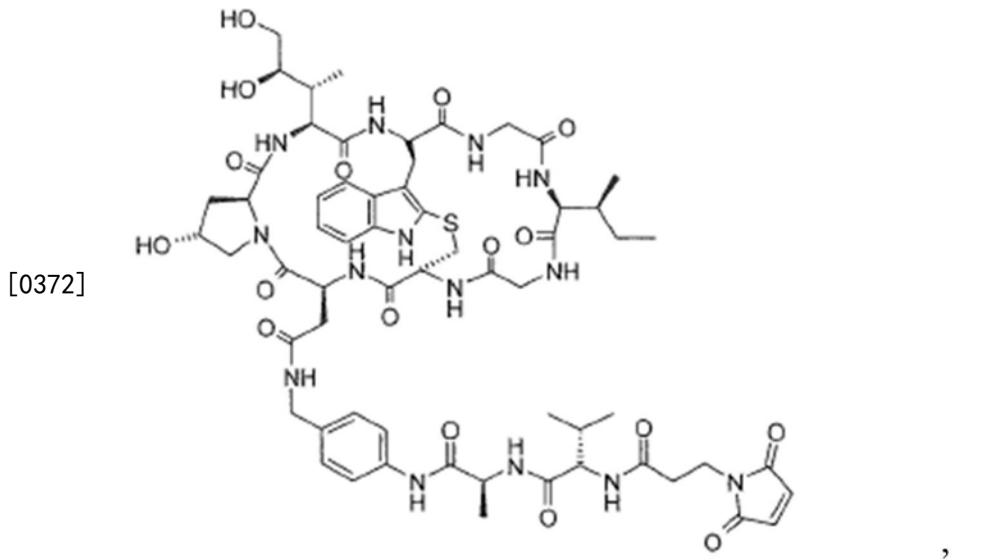


- [0368] 在一些实施方案中,Am-L-Z前体是



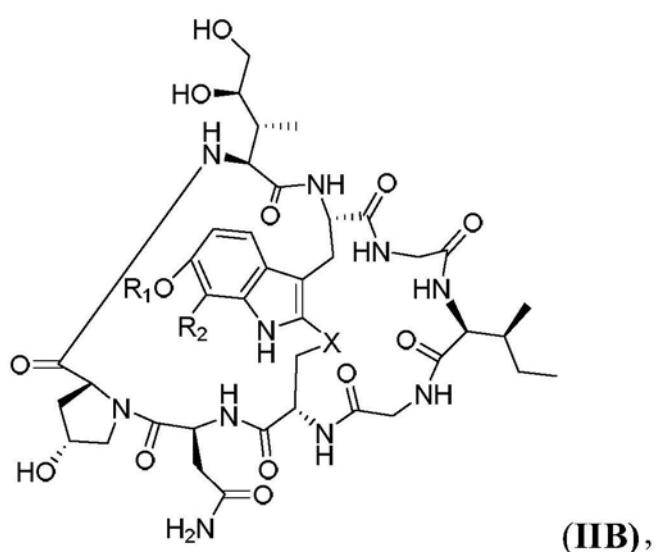
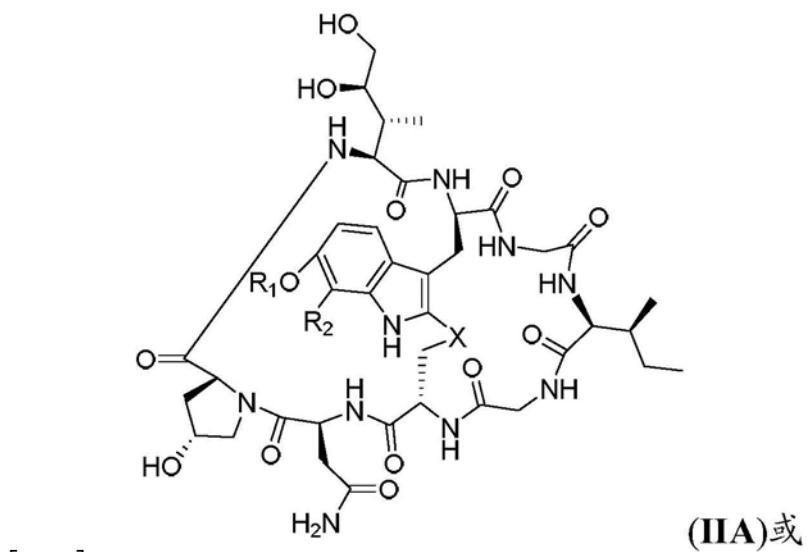
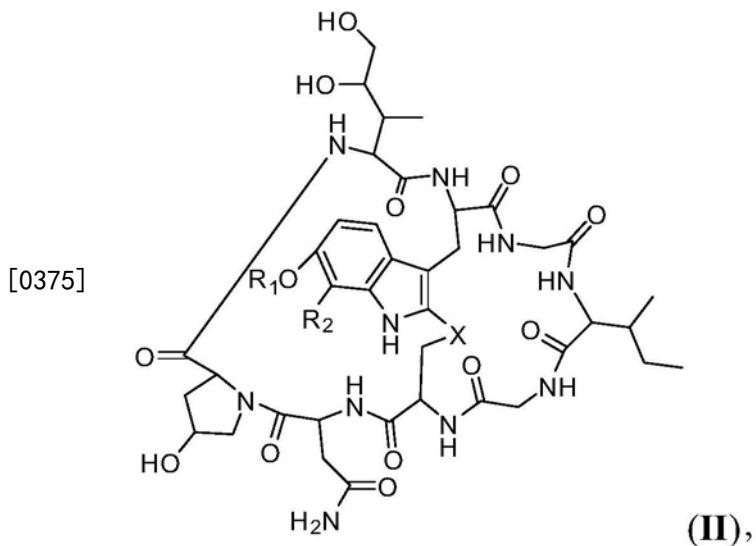
[0370] 其中马来酰亚胺与见于抗体中的半胱氨酸上的硫醇基团反应。

[0371] 在一些实施方案中,Am-L-Z前体是



[0373] 其中马来酰亚胺与见于抗体中的半胱氨酸上的硫醇基团反应。

[0374] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (II)、式 (IIA) 或式 (IIB) 表示,

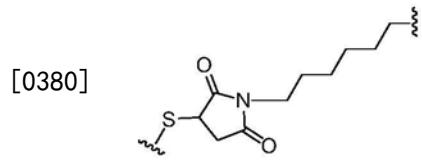


[0377] 其中X是S、SO或SO₂;R₁是H或通过化学部分Z与抗体或其抗原结合片段共价结合的接头,所述化学部分Z由存在于接头上的反应性取代基和存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成;并且R₂是H或通过化学部分Z与抗体或其抗原结合片

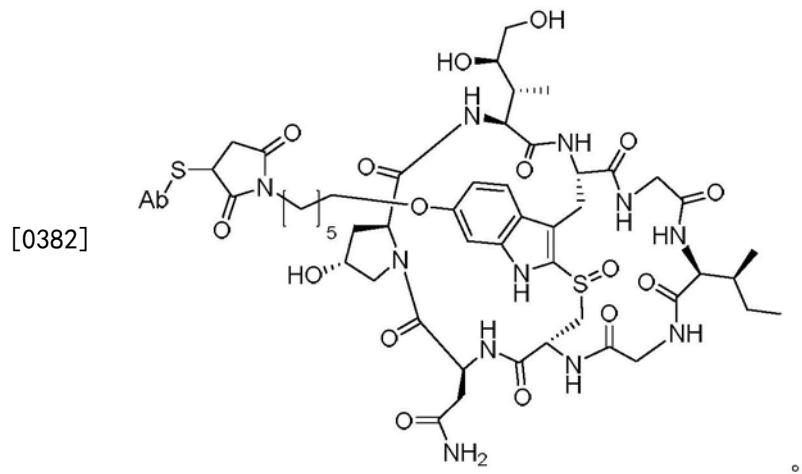
段共价结合的接头,所述化学部分Z由存在于接头上的反应性取代基和存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成;其中当R₁是H时,R₂是接头,并且当R₂是H时,R₁是接头。

[0378] 在一些实施方案中,接头包含-(CH)_{2n}-单元,其中n是从2-6的整数。

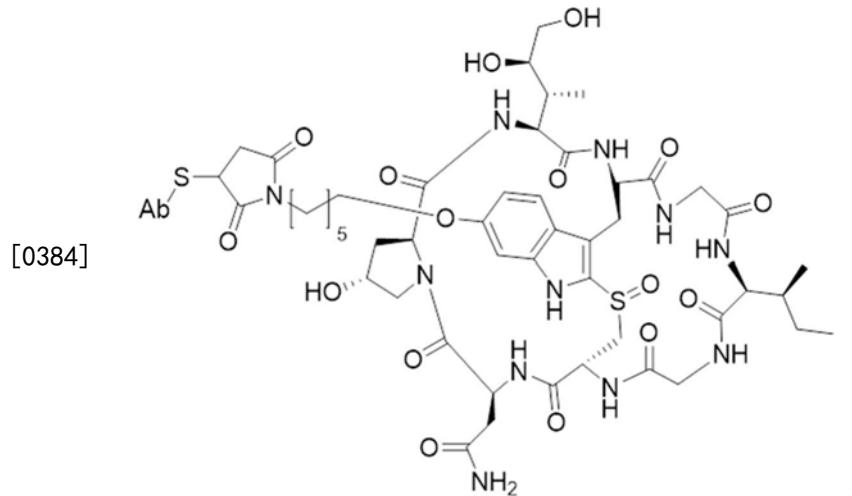
[0379] 在一些实施方案中,R₁是接头并且R₂是H,并且接头和化学部分(一起为L-Z)是



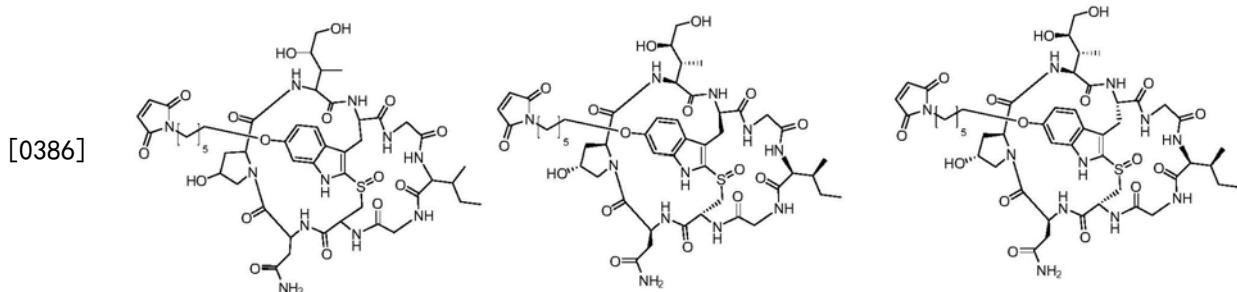
[0381] 在一些实施方案中,Ab-Z-L-Am是



[0383] 在一些实施方案中,Ab-Z-L-Am是



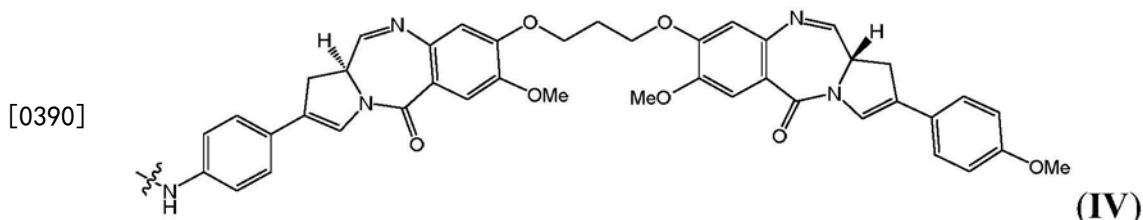
[0385] 在一些实施方案中,Am-L-Z前体是以下中的一种:



[0387] 其中马来酰亚胺与见于抗体中的半胱氨酸上的硫醇基团反应。

[0388] 在一些实施方案中,细胞毒素是选自由DM1和DM4组成的组的美登木素生物碱。在一些实施方案中,细胞毒素是选自由单甲基奥瑞他汀E和单甲基奥瑞他汀F组成的组的奥瑞他汀。在一些实施方案中,细胞毒素是选自由道诺霉素、多柔比星、表柔比星和伊达比星组成的组的蒽环霉素。

[0389] 在一些实施方案中,细胞毒素是由式 (IV) 表示的吡咯并苯二氮卓类二聚体:



[0391] 在一些实施方案中,细胞毒素通过马来酰亚胺己酰基接头的方式与抗体或其抗原结合片段缀合。

[0392] 在一些实施方案中,细胞毒素是选自由单甲基奥瑞他汀E和单甲基奥瑞他汀F组成的组的奥瑞他汀。

[0393] 在一些实施方案中,细胞毒素是选自由道诺霉素、多柔比星、表柔比星和伊达比星组成的组的蒽环霉素。

[0394] 在另一方面,本发明的特征在于一种药物组合物,该药物化合物包含本发明的以上方面或实施方案的任一项的抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的赋形剂。

[0395] 在一些实施方案中,药物组合物被配制成经皮、皮下、鼻内、静脉内、肌肉内、眼内、肿瘤内、胃肠外、局部、鞘内或脑室内施用至人类患者。

[0396] 附图简述

[0397] 图1图解描绘了体外细胞系结合测定的结果,其中将指示的抗CD2抗体中的每一种或阴性对照(即mIgG1)与MOLT-4细胞(即人类T淋巴母细胞系)孵育,随后与荧光团缀合的抗IgG抗体孵育。信号通过流式细胞术检测,并且表示为作为抗CD2抗体浓度(x轴)的函数的几何平均荧光强度(y轴)。

[0398] 图2图解描绘了体外原代细胞结合测定的结果,其中将指示的抗CD2抗体(RPA-2.10)或阴性对照(即mIgG1)与原代人类T细胞孵育,随后与荧光团缀合的抗IgG抗体孵育。信号通过流式细胞术检测,并且表示为作为抗CD2抗体浓度(x轴)的函数的几何平均荧光强度(y轴)。

[0399] 图3A和3B图解描绘了包括抗CD2-鹅膏蕈碱ADC(即RPA-2.10-AM或“CD2-AM”)的体外T细胞杀伤测定的结果,所述抗CD2-鹅膏蕈碱ADC(即RPA-2.10-AM或“CD2 AM”)具有平均

药物-抗体比为6的链间缀合的鹅膏蕈碱(图3A)或药物-抗体比为2的位点特异性缀合的鹅膏蕈碱(图3B)。在图3A中,示出了与未缀合的抗CD2抗体(即,“裸露的CD2”)相比的抗CD2-ADC T细胞杀伤分析。在图3B中,示出了抗CD2抗体与具有H435A突变的抗CD2抗体比较的结果,H435A突变降低抗体的半衰期。如使用流式细胞术评估的,结果显示了作为ADC(CD2 RPA-2.10 AM、CD2 D265C.H435A AM)或未缀合的抗体(CD2 RPA-2.10)浓度(x轴)的函数的有活力的T细胞的数目(y轴)。

[0400] 图4图解描绘了包括抗CD2-鹅膏蕈碱ADC(即,RPA-2.10-AM或“CD2-AM”)的体外自然杀伤(NK)细胞杀伤测定的结果,所述抗CD2-鹅膏蕈碱ADC(即,RPA-2.10-AM或“CD2 AM”)具有药物抗体比为6的链间缀合的鹅膏蕈碱。如使用CellTiter Glo测定评估的,结果显示了作为ADC(CD2-AM)或对照抗体(即,hIgG1、hIgG1-鹅膏蕈碱(“hIgG1-AM”))浓度(x轴)的函数的有活力的NK细胞的水平(y轴)。

[0401] 图5A和5B图解描绘了体内T细胞耗尽测定的结果,示出了在单次施用0.3mg/kg、1mg/kg或3mg/kg的具有6的链间药物-抗体比的抗CD2-鹅膏蕈碱ADC(即,RPA-2.10-AM)后7天,人源化NSG小鼠的外周血(图5A)和骨髓(图5B)中的T细胞的绝对水平(CD3+细胞;y轴)。为了比较,图5A和5B还示出了在用25mg/kg Ab1(未缀合的抗CD2抗体)或用指示的对照(即25mg/kg抗CD52抗体(YTH34.5克隆);3mg/kg hIgG1-鹅膏蕈碱ADC(“hIgG1-AM”))、25mg/kg hIgG1或PBS治疗人源化NSG小鼠后T细胞耗尽的水平。

[0402] 图6A-6C图解描绘了体内T细胞耗尽测定的结果,示出了在单次施用1mg/kg或3mg/kg的具有约2的位点特异性药物-抗体比的抗CD2-鹅膏蕈碱ADC(即,RPA-2.10-AM)后7天,人源化NSG小鼠的外周血(图6A)、骨髓(图6B)和胸腺(图6C)中的T细胞的绝对水平(CD3+细胞;y轴)。为了比较,图6A-6C还示出了在用3mg/kg的未缀合的抗CD2抗体或用指示的对照(即3mg/kg hIgG1-鹅膏蕈碱-ADC(“hIgG1-AM”))或PBS治疗人源化NSG小鼠后T细胞耗尽的水平。

[0403] 详述

[0404] 本发明部分基于以下发现,与CD2(也称为T细胞表面抗原LFA-2和LFA-3受体)结合的抗体或其抗原结合片段可以用作治疗剂,以(i)直接治疗由CD2+细胞表征的癌症和自身免疫性疾病,和(ii)通过耗尽与造血干细胞移植物交叉反应(例如,通过与由造血干细胞移植物表达的非自身MHC抗原交叉反应)并且对造血干细胞移植物产生免疫应答的免疫细胞的群体而促进需要移植疗法的患者中移植的造血干细胞的植入。这些治疗活性可以例如通过抗CD2抗体或其抗原结合片段与细胞表面上表达的CD2结合,从而诱导所结合的细胞的死亡而产生,所述细胞诸如癌细胞、自身免疫性细胞或与非自身造血干细胞抗原(例如非自身MHC抗原)交叉反应的免疫细胞。在耗尽癌细胞或自身免疫性细胞的群体的情况下,抗CD2抗体或其抗原结合片段可以用于直接治疗癌症或自身免疫性疾病,诸如本文描述的癌症或自身免疫性疾病。在耗尽与非自身造血干细胞抗原交叉反应的免疫细胞的群体的情况下,抗CD2抗体、其抗原结合片段可以用于预防或降低患有干细胞紊乱、癌症或自身免疫性疾病并且正进行造血干细胞移植疗法的患者中移植物排斥的可能性。在这样的情况下,耗尽与一种或更多种非自身造血干细胞抗原(例如,一种或更多种非自身MHC抗原)交叉反应的CD2+免疫细胞使移植的造血干细胞能够成功地植入移植受体内。随着移植的细胞的植入,它们可以归巢于造血组织,然后在造血组织中可以随之产生有效造血作用。移植的造血干细胞

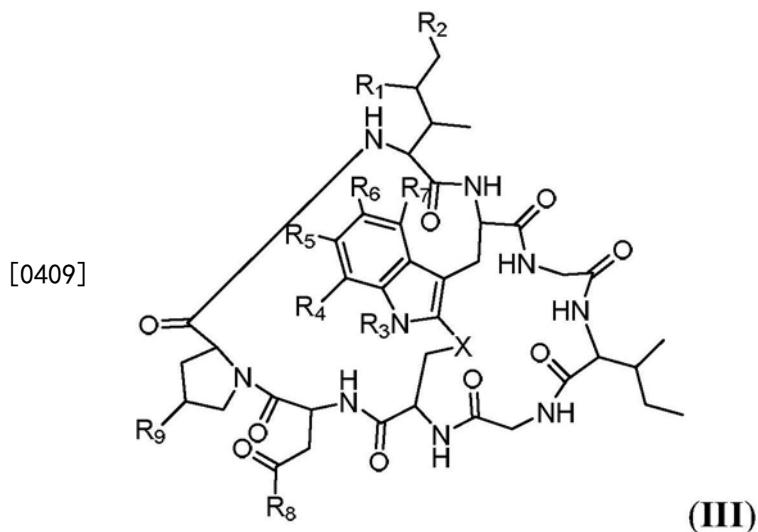
可以随后产生在移植受体中有缺陷或有缺失的细胞的群体,诸如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞。以这种方式,抗CD2抗体或其片段可以用于促进造血干细胞在患者(诸如患有本文描述的干细胞紊乱的人类患者)中的成功植入。

[0405] 定义

[0406] 如本文使用的,术语“约”是指高于或低于所描述的值的10%以内的值。例如,术语“约5nM”表示从4.5nM至5.5nM的范围。

[0407] 如本文使用的,术语“鹅膏蕈毒素”是指由鬼笔鹅膏(*Amanita phalloides*)菌产生的鹅膏蕈毒素肽家族的成员、合成鹅膏蕈毒素、鹅膏蕈毒素变体或其衍生物,诸如能够抑制RNA聚合酶II活性的变体或其衍生物。还包括了合成鹅膏蕈毒素(参见,例如,通过引用并入本文的美国专利第9676702号)。如本文描述的,鹅膏蕈毒素可以例如通过接头部分(L)的方式与抗体或其抗原结合片段缀合(因此形成缀合物(也称为抗体药物缀合物(ADC))。下文描述了鹅膏蕈毒素缀合的示例性方法和可用于这样的方法的接头。本文还描述了可用于与根据组合物和方法的抗体或抗原结合片段缀合的示例性的含接头的鹅膏蕈毒素。

[0408] 在某些实施方案中,可与本文描述的组合物和方法结合使用的鹅膏蕈毒素包括根据式(III)的化合物、 α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ε -鹅膏蕈碱、鹅膏素、鹅膏素酰胺、鹅膏蕈无毒环肽、鹅膏蕈无毒环肽酸或鹅膏蕈无毒环肽原。式(III)如下:



[0410] 其中R₁是H、OH或OR_A;

[0411] R₂是H、OH或OR_B;

[0412] R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基基团;

[0413] R₃是H或R_D;

[0414] R₄是H、OH、OR_D或R_D;

[0415] R₅是H、OH、OR_D或R_D;

[0416] R₆是H、OH、OR_D或R_D;

[0417] R₇是H、OH、OR_D或R_D;

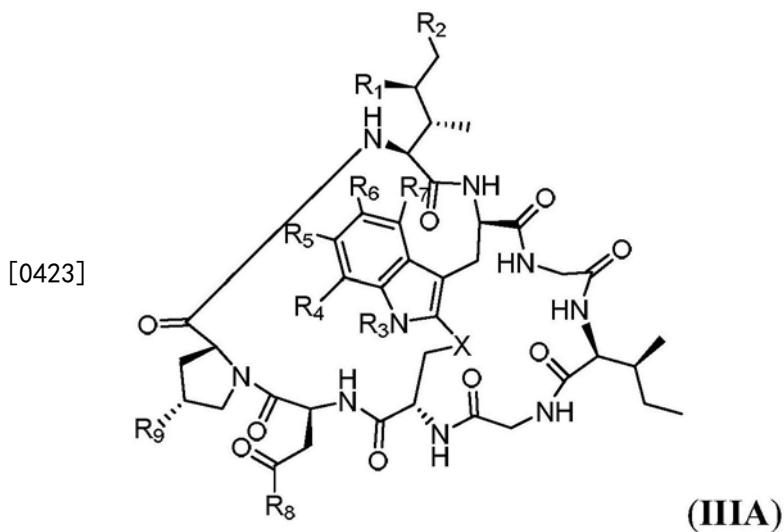
[0418] R₈是OH、NH₂或OR_D;

[0419] R₉是H、OH或OR_D;

[0420] X是-S-、-S(0)-或-SO₂-;并且

[0421] R_D是任选地被取代的烷基(例如C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基。

[0422] 例如,在一种实施方案中,可与本文描述的组合物和方法结合使用的鹅膏蕈毒素包括下文根据式(IIIA)的化合物:



[0424] 其中R₁是H、OH或OR_A;

[0425] R₂是H、OH或OR_B;

[0426] R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基基团;

[0427] R₃是H或R_D;

[0428] R₄是H、OH、OR_D或R_D;

[0429] R₅是H、OH、OR_D或R_D;

[0430] R₆是H、OH、OR_D或R_D;

[0431] R₇是H、OH、OR_D或R_D;

[0432] R₈是OH、NH₂或OR_D;

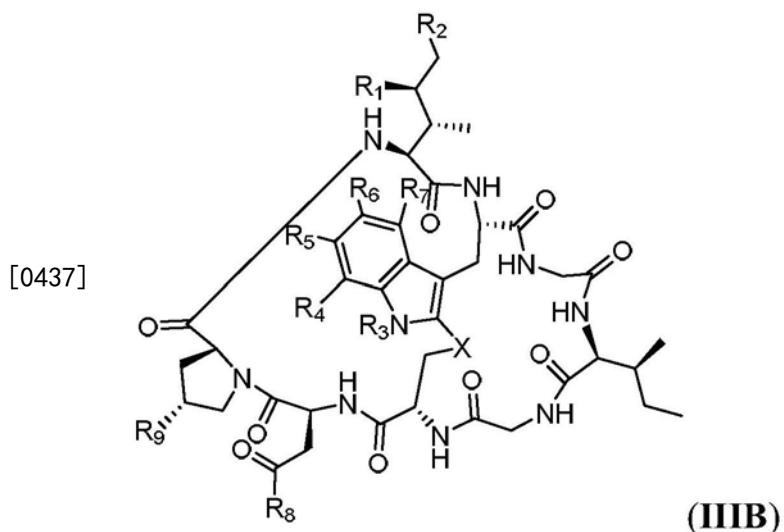
[0433] R₉是H、OH或OR_D;

[0434] X是-S-、-S(0)-或-SO₂-;并且

[0435] R_D是任选地被取代的烷基(例如C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基。

[0436] 在一种实施方案中,可与本文描述的组合物和方法结合使用的鹅膏蕈毒素还包括

下文根据式 (IIIB) 的化合物：



[0438] 其中R₁是H、OH或OR_A；

[0439] R₂是H、OH或OR_B；

[0440] R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基基团；

[0441] R₃是H或R_D；

[0442] R₄是H、OH、OR_D或R_D；

[0443] R₅是H、OH、OR_D或R_D；

[0444] R₆是H、OH、OR_D或R_D；

[0445] R₇是H、OH、OR_D或R_D；

[0446] R₈是OH、NH₂或OR_D；

[0447] R₉是H、OH或OR_D；

[0448] X是-S-、-S(O)-或-SO₂-；并且

[0449] R_D是任选地被取代的烷基(例如C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基。

[0450] 如本文描述的，鹅膏蕈毒素可以例如通过接头部分的方式与抗体或其抗原结合片段缀合。在标题为“用于化学缀合的接头”的章节中以及在下文表1中描述了鹅膏蕈毒素缀合的示例性方法和可用于这样的方法的接头。可用于与根据本文描述的组合物和方法的抗CD2抗体、抗原结合片段缀合的示例性含接头的鹅膏蕈毒素以本文列举的结构式(I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIA)和(IIIB)示出。

[0451] 如本文使用的，术语“抗体”是指与特定抗原特异性结合或发生免疫学反应的免疫球蛋白分子。抗体的实例包括多克隆抗体、单克隆抗体、遗传工程化抗体和以其他方式修饰的形式的抗体，包括但不限于嵌合抗体、人源化抗体、杂缀合抗体(例如，双特异性抗体、三特异性抗体和四特异性抗体、双抗体、三抗体和四抗体)，以及抗体的抗原结合片段，包括例

如Fab'、F(ab')₂、Fab、Fv、rIgG和scFv片段。如本文使用的,Fab和F(ab')₂片段是指缺乏完整抗体的Fc片段的抗体片段。本文描述了这些抗体片段的实例。

[0452] 通常,抗体包含含有抗原结合区的重链和轻链。每条重链由重链可变区(本文简称为HCVR或VH)和重链恒定区组成。重链恒定区由三个结构域CH1、CH2和CH3组成。每条轻链由轻链可变区(本文简称为LCVR或VL)和轻链恒定区组成。轻链恒定区由一个结构域CL组成。VH区和VL区可以进一步细分为称为互补决定区(CDR)的高变区,所述高变区间插着称为框架区(FR)的更保守的区域。每个VH和VL由从氨基末端至羧基末端按以下顺序排列的三个CDR和四个FR组成:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可以介导免疫球蛋白与宿主组织或因子包括免疫系统的多种细胞(例如效应细胞)和经典补体系统的第一组分(Clq)的结合。

[0453] 如本文使用的,术语“抗原结合片段”是指除完整抗体之外的分子,其包含完整抗体的一部分并且与完整抗体所结合的抗原结合。抗体的抗原结合功能可以由全长抗体的片段执行。抗体片段可以是例如Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv、双抗体、三抗体、单链抗体分子(例如scFv)、亲和体(affibody)、纳米抗体、适配体或结构域抗体。术语抗体的“抗原结合片段”所包括的结合片段的实例包括但不限于:(i)Fab片段,Fab片段是由V_L、V_H、C_L和C_H1结构域组成的单价片段;(ii)F(ab')₂片段,F(ab')₂片段是包含由铰链区处的二硫化物桥连接的两个Fab片段的二价片段;(iii)由V_H和C_H1结构域组成的Fd片段;(iv)由抗体的单臂的V_L和V_H结构域组成的Fv片段,(v)包括V_H和V_L结构域的dAb;(vi)由V_H结构域组成的dAb片段(参见,例如,Ward等,Nature 341:544-546,1989);(vii)由V_H或V_L结构域组成的dAb;(viii)分离的互补决定区(CDR);和(ix)可以任选地通过合成接头连接的两种或更多种(例如,两种、三种、四种、五种或六种)分离的CDR的组合。此外,尽管Fv片段的两个结构域V_L和V_H由单独的基因编码,但是它们可以使用重组方法通过接头连接,使它们能够形成单条蛋白质链,其中V_L和V_H区配对以形成单价分子(称为单链Fv(scFv));参见,例如,Bird等,Science 242:423-426,1988和Huston等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883,1988)。这些抗体片段可以使用本领域技术人员已知的常规技术获得,并且可以与完整抗体相同的方式筛选有用的部分。抗原结合片段可以通过重组DNA技术、完整免疫球蛋白的酶裂解或化学裂解,或者在某些情况下,通过本领域已知的化学肽合成程序产生。

[0454] 如本文使用的,术语“抗CD2抗体”或“与CD2结合的抗体”是指与CD2特异性结合的抗体。与感兴趣的抗原(即CD2)“结合”的抗体是能够以足够的亲和力与该抗原结合使得抗体可用于靶向表达该抗原的细胞的抗体。在优选的实施方案中,抗体与人类CD2(hCD2)特异性结合。CD2见于免疫细胞诸如T细胞的细胞表面。将与抗CD2抗体(或抗CD2缀合物)结合的人类CD2的氨基酸序列在下文描述于SEQ ID NO:13中。

[0455] 如本文使用的,术语“双特异性抗体”是指具有两个不同抗原结合位点的杂合抗体。双特异性抗体是一种多特异性抗体,并且可以通过多种方法产生,方法包括但不限于杂交瘤的融合或Fab'片段的连接。参见,例如,Songsivilai和Lachmann,1990,Clin.Exp.Immunol.79:315-321;Kostelny等,1992,J.Immunol.148:1547-1553。双特异性抗体的两个结合位点将与可能位于相同或不同的蛋白质靶上的两个不同表位结合。例如,一种结合特异性可以针对T细胞表面抗原(诸如CD2),另一种结合特异性可以针对不同的T细胞表面抗原或另一种细胞表面蛋白(诸如参与促进细胞生长的信号转导途径的受体或受

体亚基等)。

[0456] 如本文使用的,术语“互补性决定区”(CDR)是指见于抗体的轻链可变结构域和重链可变结构域二者的高变区。可变结构域的更加高度保守部分称为框架区(FR)。根据环境和本领域已知的多种定义,描绘抗体的高变区的氨基酸位置可以变化。可变结构域内的一些位置可以被视为混合高变位置,因为在一组标准下这些位置可以被视为在高变区内,而在一组不同的标准下这些位置被视为在高变区外。这些位置中的一个或更多个还可以见于扩展的高变区。本文描述的抗体可以在这些混合高变位置中包含修饰。天然重链和轻链的可变结构域各自包含四个主要采用 β -折叠构型的框架区,四个框架区由三个CDR连接,其形成连接 β -折叠结构的环,并且在一些情况下形成 β -折叠结构的一部分。每条链中的CDR通过框架区以FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4的顺序以紧密邻近度结合在一起,并且与来自其他抗体链的CDR一起,对抗体的靶结合位点的形成做出贡献(参见Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,National Institute of Health,Bethesda,MD.,1987)。如本文使用的,除非另有指示,免疫球蛋白氨基酸残基的编号根据Kabat等的免疫球蛋白氨基酸残基编号系统进行。

[0457] 如本文使用的,术语“调节(condition)”和“调节(conditioning)”是指其中患者准备接受包含造血干细胞的移植的过程。这样的程序促进造血干细胞移植的植入(例如,如通过在调节程序和随后的造血干细胞移植之后从患者分离的血液样品内有活力的造血干细胞的数量的持续增加推断出的)。根据本文描述的方法,通过向患者施用能够与由T细胞表达的抗原(诸如CD2)结合的抗体或其抗原结合片段,可以调节患者以便进行造血干细胞移植疗法。如本文描述的,抗CD2抗体可以与细胞毒素共价缀合以便形成抗体-药物缀合物。将能够与一种或更多种前述抗原结合的抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物施用至需要造血干细胞移植疗法的患者可以促进造血干细胞移植植物的植入,例如通过选择性耗尽内源性免疫细胞,诸如CD2+ T细胞(例如,CD4+和/或CD8+ T细胞)和/或CD2+ NK细胞,所述内源性免疫细胞与由造血干细胞表达的一种或更多种非自身抗原(例如,一种或更多种非自身MHC抗原)交叉反应。这种选择性耗尽免疫细胞进而预防或降低了在移植外源性(例如,自体、同种异体或同系)造血干细胞移植植物之后的移植排斥的可能性。

[0458] 如本文使用的,术语“缀合物”是指通过一个分子(诸如抗体或其抗原结合片段)的反应性官能基团与另一个分子(诸如本文描述的细胞毒素)的适当反应性官能基团的化学键合形成的化合物。缀合物可以包括彼此结合的两个分子(例如,抗CD2抗体和细胞毒素)之间的接头。可以用于形成缀合物的接头的实例包括含肽接头,诸如含有天然存在或非天然存在的氨基酸诸如D-氨基酸的那些接头。接头可以使用本文描述的和本领域已知的多种策略制备。取决于其中的反应性组分,接头可以被裂解,例如通过酶水解、光解、酸性条件下的水解、碱性条件下的水解、氧化、二硫化物还原、亲核裂解或有机金属裂解(参见,例如Leriche等,Bioorg.Med.Chem.,20:571-582,2012)。

[0459] 如本文使用的,术语“偶联反应”是指其中两个或更多个适于彼此反应的取代基进行反应以便形成化学部分的化学反应,所述化学部分将与每个取代基结合的分子片段连接在一起(例如,共价地)。偶联反应包括其中与为细胞毒素(诸如本领域已知或本文描述的细胞毒素)的片段结合的反应性取代基和与为抗体、其抗原结合片段或者抗体(诸如本领域已知或本文描述的对CD2特异性的抗体、其抗原结合片段或者抗体)的片段结合的合适反应性

取代基反应的那些偶联反应。合适地反应的取代基的实例包括亲核体/亲电体对(例如硫醇/卤代烷基对、胺/羧基对、或硫醇/ α,β -不饱和羧基对等)、二烯/亲二烯体对(例如叠氮化物/炔烃对等)等。偶联反应包括但不限于硫醇烷基化、羟基烷基化、胺烷基化、胺缩合、酰胺化、酯化、二硫化物形成、环加成(例如,[4+2]狄尔斯-阿尔德环加成(Diels-Alder cycloaddition)、[3+2]Huisgen环加成等)、亲核芳族取代、亲电芳族取代和本领域已知或本文描述的其他反应范式。

[0460] 如本文使用的,“CRU(竞争性重新填充单位(competitive repopulating unit))”是指可以在体内移植后检测到的长期植入干细胞的量度的单位。

[0461] 如本文使用的,“药物-抗体比”或“DAR”是指附接至ADC的抗体的细胞毒素例如鹅膏蕈毒素的数量。尽管根据抗体上的连接位点的数量,更高的装载也是可能的,但是ADC的DAR范围可以从1至8。因此,在某些实施方案中,本文描述的ADC具有1、2、3、4、5、6、7或8的DAR。

[0462] 如本文使用的,术语“供体”是指从中分离出一种或更多种细胞然后将所述细胞或其后代施用至受体中的人类或动物。一个或更多个细胞可以是例如造血干细胞的群体。

[0463] 如本文使用的,术语“双抗体”是指包含两条多肽链的二价抗体,其中每条多肽链包括由过短以至于不允许在同一肽链上进行V_H和V_L结构域的分子内缔合的接头(例如,由五个氨基酸组成的接头)连接的V_H和V_L结构域。这种构型迫使每个结构域与另一条多肽链上的互补结构域配对以便形成同二聚结构。因此,术语“三抗体”是指包含三条肽链的三价抗体,每条肽链包含由非常短以至于不允许在同一肽链内进行V_H和V_L结构域的分子内缔合的接头(例如,由1-2个氨基酸组成的接头)连接的一个V_H结构域和一个V_L结构域。为了折叠成其天然结构,以这种方式配置的肽通常三聚化以便将相邻肽链的V_H和V_L结构域定位为空间上彼此邻近(参见,例如,Holliger等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-48,1993)。

[0464] 如本文使用的,“双重可变结构域免疫球蛋白”(“DVD-Ig”)是指通过接头的方式将两个抗体的靶结合可变结构域组合以产生四价、双靶向单一剂的抗原结合蛋白(参见,例如,Gu等,Meth.Enzymol.,502:25-41,2012)。

[0465] 如本文使用的,术语“内源性”描述了天然地见于特定生物体(诸如人类患者,例如如本文描述的经历造血干细胞移植疗法的人类患者)的物质,诸如分子、细胞、组织或器官(例如造血干细胞或造血谱系细胞,诸如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞(例如CD4+或CD8+ T淋巴细胞)或B淋巴细胞)。

[0466] 如本文使用的,术语“植入潜能”用于指造血干细胞和祖细胞重新填充组织的能力,无论这样的细胞是天然循环的还是通过移植提供的。该术语包括与植入相关或引起植入的所有事件,诸如细胞的组织归巢和细胞在感兴趣的组织内的定殖。植入效率或植入率可以使用本领域技术人员已知的任何临幊上可接受的参数来评价或定量并且可以包括,例如,评估竞争性重新填充单位(CRU);干细胞已经归巢至、定殖于或变得植入其中的组织中标志物的掺入或表达;或者通过由疾病进展、造血干细胞和祖细胞的生存、或者受体的生存评价受试者的进展。植入还可以通过测量移植后时间段期间外周血中的白细胞计数来确定。植入还可以通过测量骨髓抽吸样品中供体细胞对髓细胞的恢复来评估。

[0467] 如本文使用的,术语“赋形剂”是指随药剂的活性成分一起配制的物质。它们可以例如出于长期稳定化的目的或为了在最终剂型中赋予活性成分治疗性增强而被包括在内。

[0468] 如本文使用的,术语“外源性”描述了未天然地见于特定生物体诸如人类患者的物质,诸如分子、细胞、组织或器官(例如T细胞、造血干细胞或造血谱系细胞,诸如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞或B淋巴细胞)。外源性物质包括从外部来源提供给生物体或提供给经培养的从生物体中提取的物质(cultured matter extracted therefrom)的那些外源性物质。

[0469] 如本文使用的,术语“框架区”或“FW区”包括与抗体或其抗原结合片段的CDR相邻的氨基酸残基。FW区残基可以存在于例如人类抗体、人源化抗体、单克隆抗体、抗体片段、Fab片段、单链抗体片段、scFv片段、抗体结构域和双特异性抗体等中。

[0470] 术语“全长抗体”、“完整抗体”和“全抗体”在本文中可互换使用,是指通常包括至少两条全长重链和两条全长轻链的抗体,但在一些情况下可以包括更少的链,诸如可以仅包含重链的天然存在于骆驼科动物(camelids)中的抗体。

[0471] 如本文使用的,术语“造血干细胞”(“HSC”)是指具有自我更新和分化为成熟血细胞的能力的未成熟血细胞,所述成熟血细胞包括多种谱系,包括但不限于粒细胞(例如,早幼粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞)、红细胞(例如,网织红细胞、红细胞)、凝血细胞(例如,巨核细胞、产生血小板的巨核细胞、血小板)、单核细胞(例如,单核细胞、巨噬细胞)、树突细胞、小胶质细胞、破骨细胞和淋巴细胞(例如NK细胞、B细胞和T细胞)。此外,HSC还指长期重新填充HSC(LT-HSC)和短期重新填充HSC(ST-HSC)。LT-HSC和ST-HSC基于功能潜能和细胞表面标志物表达区分。例如,人类HSC是CD34+、CD38-、CD45RA-、CD90+、CD49F+和lin-(成熟谱系标志物阴性,成熟谱系标志物包括CD2、CD3、CD4、CD7、CD8、CD10、CD11B、CD19、CD20、CD56和CD235A)。在小鼠中,骨髓LT-HSC是CD34-、SCA-1+、C-kit+、CD135-、Slamf1/CD150+、CD48-和lin-(成熟谱系标志物阴性,成熟谱系标志物包括Ter119、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、B220和IL7ra),而ST-HSC是CD34+、SCA-1+、C-kit+、CD135-、Slamf1/CD150+和lin-(成熟谱系标志物阴性,成熟谱系标志物包括Ter119、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、B220和IL7ra)。此外,在稳态条件下,ST-HSC比LT-HSC更少处于静止和更有增殖性。然而,LT-HSC具有更大的自我更新潜能(即,它们在整个成体期生存,并且可以在连续的受体中连续移植),而ST-HSC具有有限的自我更新能力(即,它们仅生存有限的时间段并且不具有连续移植潜能)。这些HSC中的任一种都可以用于本文描述的方法。ST-HSC特别有用,因为它们有高度增殖性并且因此可以更快地产生分化的后代。

[0472] 如本文使用的,术语“造血干细胞功能潜能”是指造血干细胞的功能性质,其包括1)多潜能(指分化成包括但不限于以下的多种不同血液谱系的能力:粒细胞(例如,早幼粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞)、红细胞(例如,网织红细胞、红细胞)、凝血细胞(例如,巨核细胞、产生血小板的巨核细胞、血小板)、单核细胞(例如,单核细胞、巨噬细胞)、树突细胞、小胶质细胞、破骨细胞和淋巴细胞(例如,NK细胞、B细胞和T细胞)),2)自我更新(指造血干细胞产生具有与母细胞等同的潜能的子细胞的能力,并且此外,这种能力可以在个体的一生中反复出现而不衰竭),以及3)造血干细胞或其后代被再引入移植受

体中的能力，在移植受体中它们归巢至造血干细胞小生境并且重建有效且持续的造血作用。

[0473] 如本文使用的，术语“主要组织相容性复合物抗原”（“MHC”，在人类的情况下也称为“人类白细胞抗原”（“HLA”））是指在细胞表面上表达的赋予细胞独特抗原身份的蛋白质。MHC/HLA抗原是被T细胞和NK细胞识别为源自于与免疫效应细胞相同的造血干细胞来源（“自身”）或识别为源自于另一种造血重建细胞来源（“非自身”）的靶分子。识别了两种主要类别的HLA抗原：HLA I类和HLA II类。HLA I类抗原（人类中的A、B、C）使每个细胞都可被识别为“自身”，而HLA II类抗原（人类中的DR、DP和DQ）参与淋巴细胞和抗原呈递细胞之间的反应。两者都已经与移植器官的排斥有牵涉。HLA基因系统的一个重要方面是其多态性。每个基因，MHC I类（A、B和C）和MHC II类（DP、DQ和DR）存在着不同的等位基因。HLA等位基因由数字和下标表示。例如，两个不相关的个体可能分别携带I类HLA-B基因B5和Bw41。等位基因产物在 α 和/或 β 结构域的一个或更多个氨基酸中有差异。大量的特异性抗体或核酸试剂被用于使用表达I类和II类分子的白细胞对个体的HLA单倍型进行分型。通常用于HLA分型的基因是六种MHC I类和II类蛋白，即HLA-A；HLA-B和HLA-DR各自有两个等位基因。HLA基因簇集在存在于染色体位置6p21上的“超级基因座”中，所述“超级基因座”编码在免疫系统以及一些其他的基本分子和细胞过程的调控中具有重要作用的6个经典的移植HLA基因和至少132个蛋白质编码基因。完整的基因座粗略度量为3.6Mb，具有至少224个基因座。这种簇集的一个效果是“单倍型”，即存在于单条染色体上的一组等位基因，是从一个亲本遗传来的，倾向于作为一组进行遗传。从每个亲本遗传来的一组等位基因形成一个单倍型，其中一些等位基因倾向于关联在一起。鉴定患者的单倍型可以帮助预测找到匹配供体的概率，并且帮助制定搜索策略，因为一些等位基因和单倍型比其他等位基因和单倍型更常见，而且它们在不同种族和民族中分布的频率不同。

[0474] 如本文使用的，术语“HLA匹配的”是指其中供体和受体之间HLA抗原没有不匹配的供体-受体对，所述供体诸如向需要造血干细胞移植疗法的受体提供造血干细胞移植物的供体。HLA匹配的（即其中所有6个等位基因都是匹配的）供体-受体对具有降低的移植物排斥的风险，原因是内源性T细胞和NK细胞不太可能将进入的移植物识别为外来的，并且因此不太可能产生针对移植物的免疫应答。

[0475] 如本文使用的，术语“HLA不匹配的”是指其中供体和受体之间至少一种HLA抗原（特别是对于HLA-A、HLA-B和HLA-DR）是不匹配的供体-受体对，所述供体诸如向需要造血干细胞移植疗法的受体提供造血干细胞移植物的供体。在一些实施方案中，一个单倍型是匹配的，而另一个是不匹配的。HLA不匹配的供体-受体对相对于HLA匹配的供体-受体对可能具有增加的移植物排斥的风险，原因是在HLA不匹配的供体-受体对的情况下，内源性T细胞和NK细胞更可能将进入的移植物识别为外来的，并且这样的T细胞和NK细胞因此更可能产生针对移植物的免疫应答。

[0476] 如本文使用的，术语“人类抗体”是指其中蛋白质基本上每一部分（例如，所有的CDR、框架区、 C_L 、 C_H 结构域（例如， C_{H1} 、 C_{H2} 、 C_{H3} ）、铰链以及 V_L 和 V_H 结构域）在人类中基本上无免疫原性、仅具有微小的序列变化或变异的抗体。人类抗体可以在体外于人类细胞中产生（例如，通过重组表达）或者由能够表达功能性重排的人类免疫球蛋白（诸如重链和/或轻链）基因的非人类动物或原核或真核细胞产生。当人类抗体是单链抗体时，它可以包括未在

天然人类抗体中发现的接头肽。例如, Fv可以包含连接重链的可变区和轻链的可变区的接头肽, 诸如2个至约8个甘氨酸或其他氨基酸残基。这样的接头肽被认为是人类来源的。人类抗体可以通过本领域已知的多种方法制备, 包括使用源自于人类免疫球蛋白序列的抗体文库的噬菌体展示方法。人类抗体还可以使用不能够表达功能性内源性免疫球蛋白但可以表达人类免疫球蛋白基因的转基因小鼠产生(参见, 例如, PCT公布第W01998/24893号; 第W01992/01047号; 第W01996/34096号; 第W01996/33735号; 美国专利第5,413,923号; 第5,625,126号; 第5,633,425号; 第5,569,825号; 第5,661,016号; 第5,545,806号; 第5,814,318号; 第5,885,793号; 第5,916,771号; 和第5,939,598号)。在一种实施方案中, 人类抗体使用重组方法制备, 使得抗体的糖基化模式与具有相同序列的抗体(如果其在自然界中存在的)有差异。

[0477] 如本文使用的, 术语“人源化”抗体是指通常包含来自非人类CDR和人类框架区的氨基酸序列的嵌合抗体。在一种实施方案中, 人源化抗体是其中来自人类的CDR的残基(受体抗体)被来自非人类物种的CDR的残基(供体抗体)替换的具有期望的特异性、亲和力和/或能力的人类抗体, 所述非人类物种诸如小鼠、大鼠、兔或非人灵长类动物。通常, 人源化抗体含有至少一个并且通常两个可变结构域的基本上全部, 其中所有或基本上所有的CDR区对应于非人类免疫球蛋白的那些CDR区。所有或基本上所有的FW区也可以是人类免疫球蛋白序列的那些FW区。人源化抗体还可以包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分, 通常是人类免疫球蛋白共有序列的一部分。抗体人源化的方法是本领域已知的, 并且已经在例如Riechmann等, *Nature* 332:323-327, 1988; 美国专利第5,530,101号; 第5,585,089号; 第5,693,761号; 第5,693,762号; 第6,180,370号中描述。

[0478] 如本文使用的, 术语“免疫细胞”是指免疫系统中参与先天性免疫应答或适应性免疫应答的产生和维持的细胞。免疫细胞包括含有与感兴趣的抗原特异性结合的受体并且产生针对感兴趣的抗原的免疫应答的淋巴细胞, 在自身免疫性细胞的情况下所述感兴趣的抗原诸如自身抗原。示例性免疫细胞包括肥大细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞。

[0479] 如本文使用的, “需要”造血干细胞移植的患者包括表现出在一种或更多种血细胞类型中有缺失的或有缺陷的患者, 以及患有干细胞紊乱的患者。造血干细胞通常表现出1)多潜能, 并且因此可以分化成包括但不限于以下的多种不同血液谱系: 粒细胞(例如, 早幼粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞)、红细胞(例如, 网织红细胞、红细胞)、凝血细胞(例如, 巨核细胞、产生血小板的巨核细胞、血小板)、单核细胞(例如, 单核细胞、巨噬细胞)、树突细胞、小胶质细胞、破骨细胞和淋巴细胞(例如, NK细胞、B细胞和T细胞), 2)自我更新, 并且因此可以产生具有与母细胞等同的潜能的子细胞, 以及3)被再引入移植受体中的能力, 在移植受体中它们归巢至造血干细胞小生境并且重建有效且持续的造血作用。因此, 可以将造血干细胞施用至一种或更多种造血谱系细胞类型有缺失的或有缺陷的患者以便使有缺失的或有缺陷的细胞的群体在体内重建。例如, 患者可能患有癌症, 并且缺陷可能由选择性或非特异性耗尽癌细胞群体的化学治疗剂或其他药物的施用引起。另外地或可选择地, 患者可能患有可能引起一种或更多种血细胞类型有缺失的或有缺陷的非恶性血红蛋白病, 诸如镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血和威斯科特-奥尔德里奇

综合征。受试者可能是患有以下的受试者：腺苷脱氨酶重度联合免疫缺陷(ADA SCID)、HIV/AIDS、异染性脑白质营养不良、Diamond-Blackfan贫血和Schwachman-Diamond综合征。受试者可能患有遗传性血液紊乱(例如镰状细胞性贫血)或自身免疫性紊乱或受它们的影响。另外地或可选地，受试者可能患有恶性肿瘤或受恶性肿瘤的影响，恶性肿瘤诸如选自由以下组成的组的恶性肿瘤：血液学癌症(例如白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤或骨髓增生异常综合征)和神经母细胞瘤。在一些实施方案中，受试者患有代谢紊乱或以其他方式受代谢紊乱影响。例如，受试者可能患有代谢紊乱或者任何其他疾病或紊乱或以其他方式受代谢紊乱或者任何其他疾病或紊乱影响，所述代谢紊乱选自由糖原贮积症、黏多糖贮积症、戈谢氏病、赫尔勒病、鞘脂贮积症、异染性脑白质营养不良组成的组，所述任何其他疾病或紊乱可以受益于本文公开的治疗和疗法并且包括但不限于以下：重症联合免疫缺陷、Wiscott-Aldrich综合征、高免疫球蛋白M(IgM)综合征、切东病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化症、成骨不全症、贮积症、重型地中海贫血、镰状细胞性贫血、系统性硬化、系统性红斑狼疮、多发性硬化、幼年型类风湿性关节炎以及在“Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease,”ASH Education Book,1:319-338(2000)中描述的那些疾病或紊乱，该文献的公开内容在其涉及可以通过施用造血干细胞移植疗法来治疗的病症时通过引用以其整体并入本文。另外地或可选地，“需要”造血干细胞移植植物的患者可以是患有或未患有前述病症之一，但是表现出造血谱系内一种或更多种内源性细胞类型的水平降低(例如，如与其他健康受试者相比)的患者，所述内源性细胞类型诸如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞。本领域技术人员可以容易地例如通过流式细胞术和荧光激活细胞分选(FACS)方法以及本领域已知的其他程序的方式确定，某人的一种或更多种前述细胞类型或其他血细胞类型的水平是否相对于其他健康受试者降低。

[0480] 术语“分离的”当用于蛋白质(例如抗体)的情况下时，是指由于其起源或衍生来源而与天然状态下伴随它的天然缔合的组分不缔合；基本上不含来自同一物种的其他蛋白质；由来自不同物种的细胞表达；或者在自然界中不存在的蛋白质。因此，化学地合成的或者在不同于其天然起源的细胞的细胞系统中合成的蛋白质将是与其天然缔合的组分“分离的”。也可以通过使用本领域熟知的蛋白质纯化技术分离使蛋白质基本上不含天然缔合的组分。

[0481] 术语“单克隆抗体”或“mAb”是指从基本上同质的抗体的群体获得的抗体，所述基本上同质的抗体的群体即构成该群体的个体抗体除了可能的变体抗体之外是相同的和/或与相同的表位结合，所述可能的变体抗体例如在单克隆抗体制剂的产生期间天然存在的突变或变体，其中这样的变体可以少量存在。与通常包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相比，每个mAb针对抗原上的单个决定簇。修饰词“单克隆”不应被理解为需要通过任何特定方法产生抗体。

[0482] 如本文使用的，术语“药学上可接受的”是指那些适于与受试者诸如哺乳动物(例如，人类)的组织接触而没有过度毒性、刺激、过敏反应和其他问题并发症、与合理的益处/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0483] 如本文使用的，术语“药物组合物”意指包含治疗化合物的混合物，其被施用至受

试者,诸如哺乳动物,例如人类,以预防、治疗或控制影响哺乳动物的特定疾病或状况,诸如自身免疫性紊乱、癌症或血液紊乱等,例如如本文描述的。

[0484] 如本文使用的,术语“受体”是指接受移植物(诸如包含造血干细胞的群体的移植物)的患者。施用至受体的移植的细胞可以是例如自体细胞、同系细胞或同种异体细胞。

[0485] 如本文使用的,在移植物(诸如造血干细胞移植物)的情况下,术语“排斥”是指受体产生针对进入的移植物的免疫应答,从而降低移植的物质(例如造血干细胞)在受体中持续存在的能力的过程。对移植的移植物诸如造血干细胞移植物的排斥可以例如通过测量在移植之后不同时间点从患者分离的多个样品中移植的细胞的数量或浓度来定量。发现从患者分离的样品中移植的细胞的数量或浓度随时间减少,例如减少约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约56%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或更多,表明患者患有移植物排斥。相比之下,发现从患者分离的样品中移植的细胞的数量或浓度随时间保持稳定,例如减少少于约20%、约15%、约10%、约5%或更少,表明患者没有患有移植物排斥。可选地,移植物排斥可以通过测量在移植之后不同时间点从患者分离的多个样品中与由移植的细胞表达的MHC抗原交叉反应的免疫细胞(诸如T细胞和/或NK细胞)的数量或浓度来定量。发现从患者分离的样品中与由移植的细胞表达的MHC抗原交叉反应的免疫细胞(诸如T细胞和/或NK细胞)的数量或浓度随时间增加,例如增加约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约56%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约100%、约200%、或约300%或更多,表明患者患有移植物排斥。相比之下,发现从患者分离的样品中与由移植的细胞表达的MHC抗原交叉反应的免疫细胞(诸如T细胞和/或NK细胞)的数量或浓度随时间减少,例如减少约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约56%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或更多,表明患者没有患有移植物排斥。

[0486] 如本文使用的,术语“样品”是指从受试者获取的样本(例如,血液、血液组分(例如,血清或血浆)、尿液、唾液、羊水、脑脊液、组织(例如,胎盘或真皮)、胰液、绒毛膜绒毛样品和细胞)。

[0487] 如本文使用的,术语“scFv”是指其中来自抗体的重链和轻链的可变结构域已经连接形成一条链的单链Fv抗体。scFv片段包含单条多肽链,该多肽链包括由接头分开的抗体轻链的可变区(V_L)(例如,CDR-L1、CDR-L2和/或CDR-L3)和抗体重链的可变区(V_H)(例如,CDR-H1、CDR-H2和/或CDR-H3)。连接scFv片段的 V_L 和 V_H 区的接头可以是由蛋白氨基酸(proteinogenic amino acid)组成的肽接头。可以使用替代的接头以便增加scFv片段对蛋白水解降解的耐受性(例如,含有D-氨基酸的接头),以增强scFv片段的溶解性(例如,亲水性接头,诸如含有聚乙二醇的接头或含有重复甘氨酸和丝氨酸残基的多肽),以改善分子的生物物理稳定性(例如,含有形成分子内或分子间二硫键的半胱氨酸残基的接头),或以减弱scFv片段的免疫原性(例如,含有糖基化位点的接头)。本领域普通技术人员还将理解,本文描述的scFv分子的可变区可以被修饰,使得它们在氨基酸序列方面与它们所源自的抗体分子不同。例如,可以进行引起氨基酸残基处的保守取代或改变的核苷酸取代或氨基酸取代(例如,在CDR和/或框架残基中),以便保持或增强scFv与由相应抗体识别的抗原结合的能力。

[0488] 提及抗体或抗体片段与第二种化学物类的相互作用,术语“特异性结合”或“特异地结合”意指相互作用取决于化学物类上特定结构(例如抗原决定簇或表位)的存在;例如,抗体识别并与特定蛋白质结构结合,而不是广泛识别并与蛋白质结合。如果抗体对表位“A”有特异性,在含有标记的“A”和抗体的反应中,含有表位A的分子(或游离的、未标记的A)的存在将降低与抗体结合的标记的A的量。在一种实施方案中,如果抗体具有至少约 10^{-4} M、约 10^{-5} M、约 10^{-6} M、约 10^{-7} M、约 10^{-8} M、约 10^{-9} M、约 10^{-10} M、约 10^{-11} M、约 10^{-12} M或更小(更小意指小于 10^{-12} 的数字,例如 10^{-13})的针对靶的 K_D ,抗体与靶(例如CD2)特异性结合。在一种实施方案中,如本文使用的,术语“与CD2特异性结合”或“与CD2特异地结合”,是指抗体或与CD2结合并且具有如由表面等离子体共振确定的 1.0×10^{-7} M或更小的解离常数(K_D)。在一种实施方案中, K_D 根据标准生物层干涉法(BLI)确定。然而,应理解,抗体可能能够与两种或更多种序列相关的抗原特异性结合。例如,在一种实施方案中,抗体可以与CD2的人类和非人类(例如,小鼠或非人灵长类动物)种间同源物二者特异性结合。

[0489] 如本文使用的,术语“受试者”和“患者”是指接受用于如本文描述的特定疾病或状况的治疗的哺乳动物,诸如人类。例如,患者,诸如人类患者,可以是患有本文描述的自身免疫性疾病的患者,并且所述患者可以被施用本文描述的抗CD2抗体或抗体-药物缀合物,以便(i)耗尽自身免疫性细胞的群体(例如,自身免疫性CD2+ T细胞和/或NK细胞的群体)和/或(ii)耗尽CD2+免疫细胞的群体(例如,与由造血干细胞表达的非自身抗原(例如,非自身MHC抗原)交叉反应的CD2+ T细胞和/或NK细胞),从而在造血干细胞移植疗法之前预防或降低移植物排斥的可能性。

[0490] 如本文使用的,短语“基本上从血液清除”是指施用治疗剂(诸如抗CD2抗体或其抗原结合片段)至患者之后的时间点,在该时间点从患者分离的血液样品中的治疗剂的浓度使得治疗剂通过常规手段不可检测到(例如,使得治疗剂在用于检测治疗剂的设备或测定的噪声阈值以上不可检测到)。本领域已知的多种技术可以用于检测抗体或抗体片段,诸如本领域已知或本文描述的基于ELISA的检测测定。可以用于检测抗体和抗体片段的另外的测定包括本领域已知的免疫沉淀技术和免疫印迹测定等。

[0491] 如本文使用的,短语“干细胞紊乱”广义地指可以通过调节受试者的靶组织(例如,通过消融靶组织中的内源性T细胞群体)和/或通过在受试者的靶组织中植入或移植干细胞来治疗或治愈的任何疾病、紊乱或状况。例如,已经表明1型糖尿病患者通过造血干细胞移植治愈,并且可以受益于根据本文描述的组合物和方法的调节。可以使用本文描述的组合物和方法治疗的另外的紊乱包括但不限于镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、威斯科特-奥尔德里奇综合征、ADA SCID、HIV/AIDS、异染性脑白质营养不良、Diamond-Blackfan贫血和Schwachman-Diamond综合征。受试者可能患有遗传性血液紊乱(例如镰状细胞性贫血)或自身免疫性紊乱或受它们影响。另外地或可选地,受试者可能患有恶性肿瘤或受恶性肿瘤影响,恶性肿瘤诸如选自由以下组成的组的恶性肿瘤:血液学癌症(例如白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤或骨髓增生异常综合征)和神经母细胞瘤。在一些实施方案中,受试者患有代谢紊乱或以其他方式受代谢紊乱影响。例如,受试者可能患有代谢紊乱或者任何其他疾病或紊乱或以其他方式受它们影响,所述代谢紊乱选自由糖原贮积症、黏多糖贮积症、戈谢氏病、赫尔勒病、鞘脂贮积症和异染性脑白质营养不良组成的组,所述任何其他疾病或紊乱可以受益于本文公开的治疗和疗法并且包括但不限于以下:重症联合免疫缺

陷、Wiscott-Aldrich综合征、高免疫球蛋白M(IgM) 综合征、切东病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化症、成骨不全症、贮积症、重型地中海贫血、镰状细胞性贫血、系统性硬化、系统性红斑狼疮、多发性硬化、幼年型类风湿性关节炎以及在"Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease,"ASH Education Book,1:319-338 (2000) 中描述的那些疾病或紊乱,该文献的公开内容在其涉及可以通过施用造血干细胞移植疗法来治疗的病症时通过引用以其整体并入本文。

[0492] 如本文使用的,术语“转染”是指通常用于将外源性DNA引入原核或真核宿主细胞的许多种技术中的任一种,诸如电穿孔、脂转染、磷酸钙沉淀、DEAE-右旋糖酐转染等。

[0493] 如本文使用的,术语“治疗(treat)”或“治疗(treatment)”是指治疗性处理,其中目的是预防或减缓(减轻)不期望的生理变化或紊乱,或者促进所治疗的患者中的有益表型。有益的或期望的临床结果包括,但不限于,从患者分离的样品中存在的自身免疫性细胞的数量的降低,所述自身免疫性细胞诸如在直接治疗自身免疫性紊乱的情况下与自身抗原,或者在通过施用抗CD2抗体、其抗原结合片段和造血干细胞移植治疗自身免疫性疾病的情况下在造血干细胞移植之前与由造血干细胞表达的非自身抗原(例如,非自身MHC抗原)交叉反应的CD2+ T细胞和/或NK细胞的群体。另外的有益结果包括在调节疗法和随后向患者施用外源性造血干细胞移植之后,需要造血干细胞移植的患者中造血干细胞的细胞计数或相对浓度的增加。本文描述的疗法的有益结果还可以包括在调节疗法和随后的造血干细胞移植疗法之后,造血谱系的一种或更多种细胞的细胞计数或相对浓度的增加,造血谱系的一种或更多种细胞诸如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞或B淋巴细胞。

[0494] 如本文使用的,术语“变体”和“衍生物”可互换使用并且是指本文描述的化合物、肽、蛋白质或其他物质的天然存在的、合成的和半合成的类似物。本文描述的化合物、肽、蛋白质或其他物质的变体或衍生物可以保持或改善原始物质的生物活性。

[0495] 如本文使用的,术语“载体”包括核酸载体,诸如质粒、DNA载体、质粒、RNA载体、病毒或其他合适的复制子。本文描述的表达载体可以包含多核苷酸序列以及例如用于表达蛋白质和/或将这些多核苷酸序列整合到哺乳动物细胞的基因组中的另外的序列元件。可以用于表达本发明的抗体和抗体片段的某些载体包括含有指导基因转录的调控序列(诸如启动子和增强子区域)的质粒。用于表达抗体和抗体片段的其他有用载体包含增强这些基因的翻译速率或改善由基因转录产生的mRNA的稳定性或核输出的多核苷酸序列。这些序列元件可以包括,例如,5' 和3' 非翻译区和多腺苷酸化信号位点,以便指导表达载体上携带的基因的有效转录。本文描述的表达载体还可以含有编码用于选择含有这样的载体的细胞的标志物的多核苷酸。合适的标志物的实例包括编码对抗生素诸如氨苄青霉素、氯霉素、卡那霉素和诺尔丝菌素(nourseothricin)的耐受性的基因。

[0496] 如本文使用的,术语“烷基(alkyl)”是指在链中具有例如从1个至20个碳原子的直链或支链烷基基团。烷基基团的实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、异戊基、叔戊基、己基、异己基等。

[0497] 如本文使用的,术语“亚烷基”是指直链或支链二价烷基基团。二价位置可以在烷基链内的相同或不同原子上。亚烷基的实例包括亚甲基、亚乙基、亚丙基、亚异丙基等。

[0498] 如本文使用的,术语“杂烷基”是指在链中具有例如从1个至20个碳原子并且在链中还含有一个或更多个杂原子(例如氧、氮或硫等)的直链或支链烷基基团。

[0499] 如本文使用的,术语“亚杂烷基(heteroalkylene)”是指直链或支链二价杂烷基基团。二价位置可以在杂烷基链内的相同或不同原子上。二价位置可以是一个或更多个杂原子。

[0500] 如本文使用的,术语“烯基”是指在链中具有例如从2个至20个碳原子的直链或支链烯基基团。烯基基团的实例包括乙烯基、丙烯基、异丙烯基、丁烯基、叔丁烯基、己烯基等。

[0501] 如本文使用的,术语“亚烯基”是指直链或支链二价烯基基团。二价位置可以在亚烯基链内的相同或不同原子上。亚烯基的实例包括亚乙烯基、亚丙烯基、亚异丙烯基、亚丁烯基等。

[0502] 如本文使用的,术语“杂烯基”是指在链中具有例如从2个至20个碳原子并且在链中还含有一个或更多个杂原子(例如氧、氮或硫等)的直链或支链烯基基团。

[0503] 如本文使用的,术语“亚杂烯基(heteroalkenylene)”是指直链或支链二价杂烯基基团。二价位置可以在杂烯基链内的相同或不同原子上。二价位置可以是一个或更多个杂原子。

[0504] 如本文使用的,术语“炔基”是指在链中具有例如从2个至20个碳原子的直链或支链炔基基团。炔基基团的实例包括炔丙基、丁炔基、戊炔基、己炔基等。

[0505] 如本文使用的,术语“亚炔基”是指直链或支链二价炔基基团。二价位置可以在炔基链内的相同或不同原子上。

[0506] 如本文使用的,术语“杂炔基”是指在链中具有例如从2个至20个碳原子并且在链中还含有一个或更多个杂原子(例如氧、氮或硫等)的直链或支链炔基基团。

[0507] 如本文使用的,术语“亚杂炔基(heteroalkynylene)”是指直链或支链二价杂炔基基团。二价位置可以在杂炔基链内的相同或不同原子上。二价位置可以是一个或更多个杂原子。

[0508] 如本文使用的,术语“环烷基”是指饱和的并且具有例如从3个至12个碳环原子的单环、或稠合、桥连、或螺多环环结构。环烷基基团的实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、双环[3.1.0]己烷等。

[0509] 如本文使用的,术语“亚环烷基(cycloalkylene)”是指二价环烷基基团。二价位置可以在环结构内的相同或不同原子上。亚环烷基的实例包括环亚丙基、环亚丁基、环亚戊基、环亚己基等。

[0510] 如本文使用的,术语“杂环烷基”是指饱和的并且每个环结构具有例如从3个至12个选自碳原子和杂原子的环原子的单环、或稠合、桥连或螺多环环结构,杂原子选自例如氮、氧和硫等。环结构可以例如在碳、氮或硫环成员上含有一个或更多个氧化基团。以举例的方式,杂环烷基的实例包括但不限于二氢吡啶基、四氢吡啶基(哌啶基(piperidyl))、四氢噻吩基、哌啶基(piperidinyl)、4-哌啶酮基、吡咯烷基、2-吡咯烷酮基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、双四氢吡喃基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基、十氢喹啉基、八氢异喹啉基、哌嗪基、奎宁环基和吗啉基。

[0511] 如本文使用的,术语“亚杂环烷基(heterocycloalkylene)”是指二价杂环烷基基团。二价位置可以在环结构内的相同或不同原子上。如本文使用的,术语“芳基”是指含有例

如从6个至19个碳原子的单环或多环芳香族环体系。芳基基团包括但不限于苯基、芴基、萘基等。二价位置可以是一个或更多个杂原子。

[0512] 如本文使用的,术语“亚芳基”是指二价芳基基团。二价位置可以在相同或不同的原子上。

[0513] 如本文使用的,术语“杂芳基”是指单环杂芳香族或双环或三环稠环杂芳香族基团,其中一个或更多个环原子是杂原子,例如氮、氧或硫。杂芳基基团包括吡啶基、吡咯基、呋喃基、噻吩基、咪唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、吡唑基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、1,3,4-三嗪基、1,2,3-三嗪基、苯并呋喃基、[2,3-二氢]苯并呋喃基、异苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并三唑基、异苯并噻吩基、吲哚基、异吲哚基、3H-吲哚基、苯并咪唑基、咪唑并[1,2-a]吡啶基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、喹嗪基、喹唑啉基、酞嗪基、喹喔啉基、噌啉基、萘啶基、吡啶并[3,4-b]吡啶基、吡啶并[3,2-b]吡啶基、吡啶并[4,3-b]吡啶基、喹啉基、异喹啉基、四唑基、5,6,7,8-四氢喹啉基、5,6,7,8-四氢异喹啉基、嘌呤基、喋啶基、咔唑基、咕吨基、苯并喹啉基等。

[0514] 如本文使用的,术语“亚杂芳基(heteroarylene)”是指二价杂芳基基团。二价位置可以在相同或不同的原子上。二价位置可以是一个或更多个杂原子。

[0515] 除非另外受个体取代基的定义限制,否则前述化学部分,诸如“烷基”、“亚烷基”、“杂烷基”、“亚杂烷基”、“烯基”、“亚烯基”、“杂烯基”、“亚杂烯基”、“炔基”、“亚炔基”、“杂炔基”、“亚杂炔基”、“环烷基”、“亚环烷基”、“杂环烷基”、“亚杂环烷基”、“芳基”、“亚芳基”、“杂芳基”和“亚杂芳基”基团可以任选地被例如从1个至5个选自由以下组成的组的取代基取代:烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、烷基芳基、烷基杂芳基、烷基环烷基、烷基杂环烷基、氨基、铵基、酰基、酰氨基、氨基羰基、烷氨基、脲基、氨基甲酸酯、芳基、杂芳基、亚磺酰基、磺酰基、烷氨基、硫烷基、卤素、羧基、三卤甲基、氰基、羟基、巯基、硝基等。典型的取代基包括但不限于,-X、-R、-OH、-OR、-SH、-SR、NH₂、-NHR、-N(R)₂、-N⁺(R)₃、-CX₃、-CN、-OCN、-SCN、-NCO、-NCS、-NO、-NO₂、-N₃、-NC(=O)H、-NC(=O)R、-C(=O)H、-C(=O)R、-C(=O)NH₂、-C(=O)N(R)₂、-SO₃-、-SO₃H、-S(=O)R、-OS(=O)R、-S(=O)NH₂、-S(=O)N(R)₂、-S(=O)R、-OP(=O)(OH)₂、-OP(=O)(OR)₂、-P(=O)(OR)₂、-PO₃、-PO₃H₂、-C(=O)X、-C(=S)R、-CO₂H、-CO₂R、-CO₂-、-C(=S)OR、-C(=S)SR、-C(=S)NH₂、-C(=S)N(R)₂、-C(=S)NH₂、-C(=NH)NH₂和-C(=NR)N(R)₂;其中每个X在每次出现时独立地选自F、Cl、Br和I;并且每个R在每次出现时独立地选自烷基、芳基、杂环烷基或杂芳基、保护基团和前药部分。在基团被描述为“任选地被取代的”的任何情况下,该基团可以在每次出现时独立地被上文取代基中的一种或更多种取代。取代可以包括其中邻近取代基已经经历闭环的情况,所述闭环诸如邻位官能取代基的闭环,以形成例如通过闭环形成的内酰胺、内酯、环酐、缩醛、半缩醛、硫代缩醛、缩醛胺和半缩醛胺,例如,以提供保护基团。

[0516] 应理解的是,根据上下文,某些基(radical)命名惯例可以包括一价基(mono-radical)或二价基(di-radical)。例如,在取代基需要两个附接点附接至分子的剩余部分时,应理解该取代基是二价基。例如,需要两个附接点的被确定为烷基的取代基包括二价基,诸如-CH₂-、-CH₂CH₂-、-CH₂CH(CH₃)CH₂-等。其他二价基命名惯例清楚地指示,基是二价基,诸如“亚烷基”、“亚烯基”、“亚芳基”、“亚杂环烷基”等。

[0517] 在取代基被描绘为二价基(即,具有两个附接点附接至分子的剩余部分)的情况下,应理解,除非另有指示,否则取代基可以以任何方向构型附接。

[0518] 抗CD2抗体

[0519] 本发明部分基于以下发现:抗CD2抗体或其抗原结合片段可以例如由于这样的剂杀伤CD2+癌细胞(例如,CD2+白血病细胞)和CD2+自身免疫性细胞(例如,CD2+自身免疫性T细胞和/或NK细胞)的能力而用于直接治疗癌症和自身免疫性疾病。特别地,本文描述的抗CD2抗体经由接头与细胞毒素缀合。因此,在描述抗CD2抗体时,除非另有指示,否则还预期了其缀合物。

[0520] 本发明还部分基于以下发现:能够与CD2结合的抗体或其抗原结合片段可以用作治疗剂,以通过预防或降低免疫细胞介导的移植物排斥的可能性促进移植的造血干细胞在需要移植疗法的患者中的植入。例如,抗CD2抗体和抗原结合片段可以与由免疫细胞(诸如T细胞或NK细胞)表达的细胞表面CD2结合,所述免疫细胞与一种或更多种非自身造血干细胞抗原诸如由造血干细胞表达的一种或更多种非自身MHC抗原交叉反应并且产生针对其的免疫应答。这样的抗体和抗原结合片段与造血干细胞特异性CD2+免疫细胞的结合可以例如通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒性或通过与抗体或其抗原结合片段缀合的细胞毒性剂的作用诱导所结合的免疫细胞的死亡。因此,与非自身造血干细胞交叉反应的CD2+免疫细胞的群体的耗尽可以通过减弱受体的免疫系统产生针对进入的移植物的免疫应答的能力,促进造血干细胞移植物在有相应需要的患者中的植入。以这种方式,可以治疗患有干细胞紊乱、癌症、自身免疫性疾病或本文描述的其他血液紊乱的患者,因为可以向受试者提供造血干细胞移植物以便重新填充受试者中的有缺失的和/或有缺陷的细胞的谱系。受试者可能由于例如已经施用至受试者的化学疗法而在细胞的群体方面是有缺陷的,所述化学疗法旨在根除癌细胞但在此过程中也已经耗尽健康造血细胞。

[0521] 例如,本发明因此提供了通过施用能够与由T细胞表达的抗原结合的抗体或其抗原结合片段来促进移植的造血干细胞的植入的组合物和方法。这种施用可以引起内源性T细胞(诸如CD4+和CD8+ T细胞)的群体的选择性耗尽。T细胞的这种选择性耗尽进而预防了在移植外源性(例如,自体、同种异体或同系)造血干细胞移植物之后的移植物排斥。例如,使用如本文描述的抗CD2抗体、抗原结合片段、抗体-药物缀合物或抗体-药物缀合物选择性耗尽CD4+和/或CD8+ T细胞可以减弱可能出现的针对移植的造血干细胞移植物的T细胞介导的免疫应答。本发明部分基于以下发现:能够与CD2结合的抗体及其抗原结合片段可以施用至需要造血干细胞移植疗法的患者,以便促进移植的造血干细胞的生存和植入潜能。

[0522] 由于施用抗CD2抗体或其抗原结合片段引起的造血干细胞移植物的植入可以以多种经验测量值表示。例如,移植的造血干细胞的植入可以通过在施用能够与CD2结合的抗体或其抗原结合片段并且随后施用造血干细胞移植物之后评估存在于患者的骨髓内的竞争性重新填充单位(CRU)的数量来评价。另外地,人们可以通过将报告基因(诸如催化产生荧光、发色或发光产物的化学反应的酶)掺入到被用于转染供体造血干细胞的载体中,并且随后监测造血干细胞已经归巢的组织(诸如骨髓)中的相应信号来观察造血干细胞移植物的植入。人们还可以通过评价如通过本领域已知的荧光激活细胞分选(FACS)分析方法确定的造血干细胞和祖细胞的数量和生存来观察造血干细胞植入。人们还可以通过测量移植后时间段期间外周血中的白细胞计数,和/或通过测量骨髓抽取样品中供体细胞对骨髓细胞

的恢复来确定植入。

[0523] 以下章节提供了对抗体或其抗原结合片段以及在造血干细胞移植之前将这样的治疗剂施用至患者的方法的描述,所述抗体或其抗原结合片段可以施用至需要造血干细胞移植疗法的患者以便促进造血干细胞移植物的植入。

[0524] 示例性抗体

[0525] 本文描述的组合物和方法包括与人类CD2特异性结合的抗体或其片段。人类CD2也称为T细胞表面抗原T11/Leu-5、T11、CD2抗原(p50)和绵羊红细胞受体(SRBC)。CD2表达于T细胞上。已经鉴定了人类CD2的两种同种型。包含351个氨基酸的同种型1在以下中描述:Seed,B.等(1987)84:3365-69(还参见Sewell等(1986)83:8718-22)和下文(NCBI参考序列NP_001758.2):

msfpckfvas fllifnvssk gavskeitna letwgalgqd inldipsfqm sddiddikwe
ktsdkkkiaq frkeketcfe kdtyklfkng tlkikhktd dqdiykvsiy dtkgknvlek
ifdlkiqerv skpkiswtci nttltcevmn gtdpeinlyq dgkhklsqr vithkwttsl
[0526] sakfkctagn kvskeessvep vscpekgldi yliigicggg sllmvfvall vfyitkrkkq
rsrrndeеле trahrvatee rgrkphqipa stpqnpatsq hpppppghrs qapshrpppp
ghrvqhqpqk rppapsgtqv hqqkgpplpr prvqpkpphg aaenslspss n (SEQ ID NO: 13)

[0527] CD2的第二种同种型是377个氨基酸并且在本文中被鉴定为NCBI参考序列:NP_001315538.1。

[0528] 已经表明T细胞和NK细胞表达CD2,CD2是细胞黏附分子和这样的淋巴细胞的特异性标志物。例如,CD2与其他黏附分子诸如淋巴细胞功能相关抗原-3(LFA-3/CD58)相互作用以增强T细胞活化。能够与CD2结合的抗体及其抗原结合片段可以例如通过抑制CD2和LFA-3之间的相互作用抑制T细胞活化和T细胞介导的针对造血干细胞移植物的免疫应答。与该细胞表面抗原结合的抗体及其抗原结合片段可以使用本领域已知的和本文描述的技术进行鉴定,所述技术包括免疫、计算建模技术和体外选择方法,诸如下文描述的噬菌体展示和基于细胞的展示平台。

[0529] 本发明包括与CD2多肽(例如人类CD2多肽)特异性结合的抗体及其抗原结合片段及其用途。在示例性实施方案中,与CD2多肽特异性结合的抗体或其抗原结合片段包括重链可变区和轻链可变区。

[0530] 在一种实施方案中,重链可变区包含一个或更多个互补性决定区(CDR)。在一种实施方案中,重链可变区包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的VH CDR1。在一种实施方案中,重链可变区包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的VH CDR2。在一种实施方案中,重链可变区包含含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的VH CDR3。在一种实施方案中,重链可变区包含选自由SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3组成的组的一个或更多个VH CDR。在一种实施方案中,重链可变区包含选自由SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3组成的组的两个或更多个VH CDR。在一种实施方案中,重链可变区包含含有SEQ ID NO:1的VH CDR1、含有SEQ ID NO:2的VH CDR2和含有SEQ ID NO:3的VH CDR3。

[0531] 在一种实施方案中,轻链可变区包含一个或更多个互补性决定区(CDR)。在一种实施方案中,轻链可变区包含含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的VL CDR1。在一种实施方案中,轻链可变区包含含有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的VL CDR2。在一种实施方案中,轻链可变

区包含含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的VL CDR3。在一种实施方案中,轻链可变区包含选自由SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6组成的组的一个或更多个VL CDR。在一种实施方案中,轻链可变区包含选自由SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6组成的组的两个或更多个VL CDR。在一种实施方案中,轻链可变区包含含有SEQ ID NO:4的VL CDR1、含有SEQ ID NO:5的VL CDR2和含有SEQ ID NO:6的VL CDR3。

[0532] 在示例性实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:1的VH CDR1、含有SEQ ID NO:2的VH CDR2和含有SEQ ID NO:3的VH CDR3,并且所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:4的VL CDR1、含有SEQ ID NO:5的VL CDR2和含有SEQ ID NO:6的VL CDR3。

[0533] 在某些实施方案中,一个或更多个CDR(即,具有SEQ ID NO:1-3的一个或更多个重链CDR,和/或具有SEQ ID NO:4-6的一个或更多个轻链CDR)可以包含一个保守氨基酸取代(或2个、3个、4个或5个氨基酸取代),同时保持抗体的CD2特异性(即,与包含SEQ ID NO:1至3的重链CDR以及SEQ ID NO:4至6的轻链CDR的抗体或其抗原结合片段相似的特异性)。

[0534] 在一种实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:7中列出的氨基酸序列的重链可变区。在另一种实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含重链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID NO:7具有至少95%同一性,例如,与SEQ ID NO:7具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗体包含修饰的重链(HC)可变区,该修饰的重链(HC)可变区包含含有SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:7的变体的HC可变结构域,该变体(i)与SEQ ID NO:7存在以下的差异:1个、2个、3个、4个或5个氨基酸取代、添加或缺失;(ii)与SEQ ID NO:7存在以下的差异:至多5个、4个、3个、2个或1个氨基酸取代、添加或缺失;(iii)与SEQ ID NO:7存在以下的差异:1-5个、1-3个、1-2个、2-5个或3-5个氨基酸取代、添加或缺失和/or(iv)包含与SEQ ID NO:7至少约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列,其中在(i)-(iv)中的任一项中,氨基酸取代可以是保守氨基酸取代或非保守氨基酸取代;并且其中修饰的重链可变区可以具有相对于SEQ ID NO:7的重链可变区增强的生物活性,同时保持抗体的CD2结合特异性,即具有类似于包含SEQ ID NO:7的抗体或其抗原结合片段的结合特异性。在一种实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含重链可变区,该重链可变区与SEQ ID NO:7中列出的氨基酸序列在一个、二个、三个或四个氨基酸处有差异。例如,抗体或其抗原结合片段可以包含重链可变区,该重链可变区与SEQ ID NO:7中列出的氨基酸序列在位置12、13、28和/或48中的一处、两处、三处或四处有差异。在一种实施方案中,重链可变区与SEQ ID NO:7中列出的氨基酸序列在位置12、13、28和48处有差异。在一种实施方案中,重链可变区相对于SEQ ID NO:7中列出的序列包含以下取代中的一种、两种、三种或四种:K12Q;K13R;T28I;和M48V。在一种实施方案中,重链可变区相对于SEQ ID NO:7包含取代K12Q;K13R;T28I;和M48V。

[0535] 在一种实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:8中列出的氨基酸序列的轻链可变区。在另一种实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区,该轻链可变区包含与SEQ ID NO:8具有至少95%同一性,例如,与SEQ ID NO:8具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗体包含修饰的轻链(LC)可变区,所述修饰的轻链(LC)可变区包含含有SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:8的变体

的LC可变结构域,该变体(i)与SEQ ID N0:8存在以下差异:1个、2个、3个、4个或5个氨基酸取代、添加或缺失;(ii)与SEQ ID N0:8存在以下差异:至多5个、4个、3个、2个或1个氨基酸取代、添加或缺失;(iii)与SEQ ID N0:8存在以下差异:1-5个、1-3个、1-2个、2-5个或3-5个氨基酸取代、添加或缺失和/或(iv)包含与SEQ ID N0:8至少约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列,其中在(i)-(iv)中的任一项中,氨基酸取代可以是保守氨基酸取代或非保守氨基酸取代;并且其中修饰的轻链可变区可以具有相对于SEQ ID N0:8的轻链可变区增强的生物活性,同时保持抗体的CD2结合特异性,即具有类似于包含SEQ ID N0:8的抗体或其抗原结合片段的结合特异性。

[0536] 在示例性实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID N0:7具有至少95%同一性,例如,与SEQ ID N0:7具有至少约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或100%同一性的氨基酸序列,并且轻链可变区包含与SEQ ID N0:8具有至少约95%同一性,例如,与SEQ ID N0:8至少约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或100%同一性的氨基酸序列。在一种实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID N0:7的重链可变区,和含有SEQ ID N0:8的轻链可变区。在一种实施方案中,抗体是包含含有SEQ ID N0:7的重链可变区和含有SEQ ID N0:8的轻链可变区的Ab1抗体。

[0537] 在一种实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID N0:9中列出的氨基酸序列的重链可变区。在另一种实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含重链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID N0:9具有至少95%同一性,例如,与SEQ ID N0:9具有至少约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或100%同一性的氨基酸序列。在示例性实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID N0:9具有至少95%同一性,例如,与SEQ ID N0:9具有至少约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或100%同一性的氨基酸序列,并且该轻链可变区包含与SEQ ID N0:10具有至少约95%同一性,例如,与SEQ ID N0:10具有至少约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或100%同一性的氨基酸序列。在一种实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID N0:9的重链可变区和含有SEQ ID N0:10的轻链可变区。在一种实施方案中,抗体是包含含有SEQ ID N0:9的重链可变区和含有SEQ ID N0:10的轻链可变区的Ab1抗体。

[0538] 在一种实施方案中,重链可变区包含一个或更多个互补性决定区(CDR)。在一种实施方案中,重链可变区包含含有SEQ ID N0:14的氨基酸序列的VH CDR1。在一种实施方案中,重链可变区包含含有SEQ ID N0:15的氨基酸序列的VH CDR2。在一种实施方案中,重链可变区包含含有SEQ ID N0:16的氨基酸序列的VH CDR3。在一种实施方案中,重链可变区包含选自由SEQ ID N0:14、SEQ ID N0:15和SEQ ID N0:16组成的组的一个或更多个VH CDR。在一种实施方案中,重链可变区包含选自由SEQ ID N0:14、SEQ ID N0:15和SEQ ID N0:16组成的组的两个或更多个VH CDR。在一种实施方案中,重链可变区包含含有SEQ ID N0:14的VH CDR1、含有SEQ ID N0:15的VH CDR2和含有SEQ ID N0:16的VH CDR3。

[0539] 在一种实施方案中,重链可变区包含一个或更多个互补性决定区(CDR)。在一种实施方案中,重链可变区包含含有SEQ ID N0:14的氨基酸序列的VH CDR1。在一种实施方案中,重链可变区包含含有SEQ ID N0:15的氨基酸序列的VH CDR2。在一种实施方案中,重链可变区包含含有SEQ ID N0:17的氨基酸序列的VH CDR3。在一种实施方案中,重链可变区包

含选自由SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:17组成的组的一个或更多个VH CDR。在一种实施方案中,重链可变区包含选自由SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:17组成的组的两个或更多个VH CDR。在一种实施方案中,重链可变区包含含有SEQ ID NO:14的VH CDR1、含有SEQ ID NO:15的VH CDR2和含有SEQ ID NO:17的VH CDR3。

[0540] 在一种实施方案中,轻链可变区包含一个或更多个互补性决定区(CDR)。在一种实施方案中,轻链可变区包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的VL CDR1。在一种实施方案中,轻链可变区包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的VL CDR2。在一种实施方案中,轻链可变区包含含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的VL CDR3。在一种实施方案中,轻链可变区包含选自由SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20组成的组的一个或更多个VL CDR。在一种实施方案中,轻链可变区包含选自由SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20组成的组的两个或更多个VL CDR。在一种实施方案中,轻链可变区包含含有SEQ ID NO:18的VL CDR1、含有SEQ ID NO:19的VL CDR2和含有SEQ ID NO:20的VL CDR3。

[0541] 在示例性实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含含有SEQ ID NO:14的VH CDR1、含有SEQ ID NO:15的VH CDR2和含有SEQ ID NO:16的VH CDR3,并且该轻链可变区包含含有SEQ ID NO:18的VL CDR1、含有SEQ ID NO:19的VL CDR2和含有SEQ ID NO:20的VL CDR3。

[0542] 在示例性实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含含有SEQ ID NO:14的VH CDR1、含有SEQ ID NO:15的VH CDR2和含有SEQ ID NO:17的VH CDR3,并且该轻链可变区包含含有SEQ ID NO:18的VL CDR1、含有SEQ ID NO:19的VL CDR2和含有SEQ ID NO:20的VL CDR3。

[0543] 在某些实施方案中,一个或更多个CDR(即,具有SEQ ID NO:14-17的一个或更多个重链CDR,和/或具有SEQ ID NO:18-19的一个或更多个轻链CDR)可以包含一个保守氨基酸取代(或2个、3个、4个或5个氨基酸取代),同时保持抗体的CD2特异性(即,与包含以下的抗体或其抗原结合片段相似的特异性:SEQ ID NO:14至16的重链CDR和SEQ ID NO:18至20的轻链CDR;或SEQ ID NO:14、15、17的重链CDR和SEQ ID NO:18至20的轻链CDR)。

[0544] 在一种实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:21中列出的氨基酸序列的重链可变区。在另一种实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含重链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID NO:21具有至少约95%同一性,例如,与SEQ ID NO:21具有至少约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或100%同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗体包含修饰的重链(HC)可变区,该修饰的重链(HC)可变区包含含有SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:21的变体的HC可变结构域,该变体(i)与SEQ ID NO:21存在以下差异:1个、2个、3个、4个或5个氨基酸取代、添加或缺失;(ii)与SEQ ID NO:21存在以下差异:至多5个、4个、3个、2个或1个氨基酸取代、添加或缺失;(iii)与SEQ ID NO:21存在以下差异:1-5个、1-3个、1-2个、2-5个或3-5个氨基酸取代、添加或缺失和/or(iv)包含与SEQ ID NO:21至少约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列,其中在(i)-(iv)中的任一项中,氨基酸取代可以是保守氨基酸取代或非保守氨基酸取代;并且其中修饰的重链可变区可以具有相对于SEQ ID NO:21的重链可变区增强的生物活性,同时保持抗体的CD2结合特异性,即具有类似于包含SEQ ID NO:21的抗体或其抗原结合片段的结合特异性。

[0545] 在一种实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:22中列出的氨基酸序列的重链可变区。在另一种实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含重链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID NO:22具有至少约95%同一性,例如,与SEQ ID NO:22具有至少约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或100%同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗体包含修饰的重链(HC)可变区,该修饰的重链(HC)可变区包含含有SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:22的变体的HC可变结构域,该变体(i)与SEQ ID NO:22存在以下差异:1个、2个、3个、4个或5个氨基酸取代、添加或缺失;(ii)与SEQ ID NO:22存在以下差异:至多5个、4个、3个、2个或1个氨基酸取代、添加或缺失;(iii)与SEQ ID NO:22存在以下差异:1-5个、1-3个、1-2个、2-5个或3-5个氨基酸取代、添加或缺失和/or(iv)包含与SEQ ID NO:22至少约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列,其中在(i)-(iv)中的任一项中,氨基酸取代可以是保守氨基酸取代或非保守氨基酸取代;并且其中修饰的重链可变区可以具有相对于SEQ ID NO:22的重链可变区增强的生物活性,同时保持抗体的CD2结合特异性,即具有类似于包含SEQ ID NO:22的抗体或其抗原结合片段的结合特异性。

[0546] 在一种实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:23中列出的氨基酸序列的轻链可变区。在另一种实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区,该轻链可变区包含与SEQ ID NO:23具有至少约95%同一性,例如,与SEQ ID NO:23具有至少约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或100%同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗体包含修饰的轻链(LC)可变区,该修饰的轻链(LC)可变区包含含有SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:23的变体的LC可变结构域,该变体(i)与SEQ ID NO:23存在以下差异:1个、2个、3个、4个或5个氨基酸取代、添加或缺失;(ii)与SEQ ID NO:23存在以下差异:至多5个、4个、3个、2个或1个氨基酸取代、添加或缺失;(iii)与SEQ ID NO:23存在以下差异:1-5个、1-3个、1-2个、2-5个或3-5个氨基酸取代、添加或缺失和/or(iv)包含与SEQ ID NO:23至少约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%相同的氨基酸序列,其中在(i)-(iv)中的任一项中,氨基酸取代可以是保守氨基酸取代或非保守氨基酸取代;并且其中修饰的轻链可变区可以具有相对于SEQ ID NO:23的轻链可变区增强的生物活性,同时保持抗体的CD2结合特异性,即具有类似于包含SEQ ID NO:23的抗体或其抗原结合片段的结合特异性。

[0547] 在示例性实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID NO:21具有至少95%同一性,例如,与SEQ ID NO:21具有至少约95%、约96%、约97%、约98%或约99%或100%同一性的氨基酸序列,并且该轻链可变区包含与SEQ ID NO:23具有至少约95%同一性,例如,与SEQ ID NO:23具有至少约95%、约96%、约97%、约98%或约99%或100%同一性的氨基酸序列。在一种实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:21的重链可变区,和含有SEQ ID NO:23的轻链可变区。

[0548] 在示例性实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含与SEQ ID NO:22具有至少约95%同一性,例如,与SEQ ID NO:22具有至少约95%、约96%、约97%、约98%或约99%或100%同一性的氨基酸序列,并且轻链可变区包含与SEQ ID NO:23具有至少约95%同一性,例如,与SEQ ID NO:23具有至少约95%、约96%、约97%、约98%或约99%或100%同一性的氨基酸序列。在一种实施方案中,抗体或其

抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:22的重链可变区,和含有SEQ ID NO:23的轻链可变区。

[0549] 可以与本文描述的组合物和方法结合使用的抗CD2抗体包括具有一个或更多个或所有以下CDR的抗体:

[0550] a. 具有氨基酸序列EYYMY (SEQ ID NO:1) 的CDR-H1;

[0551] b. 具有氨基酸序列RIDPEDGSIDYVEKFKK (SEQ ID NO:2) 的CDR-H2;

[0552] c. 具有氨基酸序列GKFNYRFAY (SEQ ID NO:3) 的CDR-H3;

[0553] d. 具有氨基酸序列RSSQSLLHSSGNTYLN (SEQ ID NO:4) 的CDR-L1;

[0554] e. 具有氨基酸序列LVSKLES (SEQ ID NO:5) 的CDR-L2; 和

[0555] f. 具有氨基酸序列MQFTHYPYT (SEQ ID NO:6) 的CDR-L3。

[0556] 包含前述CDR序列的抗体及其抗原结合片段在例如美国专利第6,849,258号中描述,其公开内容在其涉及抗CD2抗体及其抗原结合片段时通过引用并入本文。

[0557] 美国专利第5,730,979号;第5,817,311号;第5,951,983号;和第7,592,006号中公开的抗体及其片段;诸如由以ATCC保藏号HB 11423保藏的杂交瘤细胞系产生的LO-CD2a、BTI-322和抗体(例如,含有从以ATCC保藏号HB 11423保藏的杂交瘤细胞系分离的抗体LO-CD2a的一个或更多个或所有CDR序列的抗体或其抗原结合片段)可以与本文公开的组合物和方法结合使用。可以与本文描述的组合物和方法结合使用的示例性抗体包括人源化抗体,所述人源化抗体含有从以ATCC保藏号HB 11423保藏的杂交瘤细胞系分离的抗体(诸如MEDI-507)的一个或更多个或所有CDR序列。MEDI-507是人源化抗CD2单克隆抗体,其含有上文(a)至(f)的CDR-H和CDR-L序列,并且在Branco等,Transplantation 68:1588-1596 (1999) 中描述。另外地,MEDI-507在W099/03502A1和W01994/020619A1;美国专利第US7,592,006号、第US6,849,258号、第US5,951,983号、第US5,817,311号和第US5,730,979号;以及美国专利公布第US2011/0280868号、第US2004/0265315号和第2011/0091453号中描述,其中每一个的公开内容在其涉及抗CD2抗体及其抗原结合片段(诸如抗CD2抗体MEDI-507)时通过引用并入本文。在一种实施方案中,抗CD2抗体是西利珠单抗(Siplizumab)或其抗原结合片段。

[0558] 前述科学杂志文章和美国专利的公开内容在其涉及抗CD2抗体及其抗原结合片段时通过引用并入本文。

[0559] 可以与本文描述的组合物和方法结合使用的其他抗CD2抗体包括,例如,美国专利第6,541,611号和第7,250,167号中描述的抗CD2抗体,其中每一个的公开内容在其涉及抗CD2抗体及其抗原结合片段(诸如抗CD2抗体LO-CD2b和由以ATCC保藏号PTA-802保藏的杂交瘤细胞系产生的抗体)时通过引用并入本文。可以与本文描述的组合物和方法结合使用的示例性抗体包括人源化抗体,所述人源化抗体含有从以ATCC保藏号PTA-802保藏的杂交瘤细胞系分离的抗体的一个或更多个或所有CDR序列。

[0560] 可以与本文描述的组合物和方法结合使用的其他抗CD2抗体包括,例如,美国专利第5,795,572号和第5,807,734号中描述的抗CD2抗体,其中每一个的公开内容在其涉及抗CD2抗体及其抗原结合片段(诸如由以ATCC保藏号HB 69277保藏的杂交瘤细胞系产生的抗CD2抗体)时通过引用并入本文。例如,可以与本文描述的组合物和方法结合使用的抗CD2抗体及其抗原结合片段包括含有具有EPKSSDKTHTSPPSP (SEQ ID NO:17) 的氨基酸序列的铰链区的那些,诸如含有具有EPKSSDKTHTSPPSP (SEQ ID NO:17) 的氨基酸序列的铰链区的scFv

片段。掺入具有SEQ ID NO:17的氨基酸的铰链区可以是有益的,因为该铰链基序已经相对于野生型铰链区序列进行诱变,以便消除可能促进不期望的单链抗体片段(诸如scFv片段)的氧化二聚化的潜在反应性半胱氨酸残基。

[0561] 可以与本文描述的组合物和方法结合使用的其他抗CD2抗体包括,例如,美国专利第6,764,688号中描述的抗CD2抗体,诸如抗CD2抗体TS2/18和由以ATCC保藏号HB-195保藏的杂交瘤细胞系产生的抗体。美国专利第6,764,688号的公开内容在其涉及抗CD2抗体及其抗原结合片段时通过引用并入本文。

[0562] 可以与本文描述的组合物和方法结合使用的其他抗CD2抗体包括,例如,美国专利第6,162,432号、第6,558,662号、第7,408,039号、第7,332,157号、第7,638,121号、第7,939,062号和第7,115,259号、美国专利申请公布第2006/0084107号、第2014/0369974号、第2002/0051784号和第2013/0183322号,以及PCT公布第W01992/016563号中描述的抗CD2抗体,其中每一个的公开内容在其涉及抗CD2抗体及其抗原结合片段时通过引用并入本文。

[0563] 用于与本文描述的方法结合使用的抗体及其片段包括上文描述的那些抗体的变体,诸如含有或缺乏Fc结构域的抗体片段,以及含有本文描述的抗体或抗体片段的一个或更多个或所有CDR或其等同区域的本文描述的非人类抗体的人源化变体和抗体样蛋白支架(例如¹⁰Fn3结构域)。前述抗体的示例性抗原结合片段包括双重可变免疫球蛋白结构域、单链Fv分子(scFv)、双抗体、三抗体、纳米抗体、抗体样蛋白支架、Fv片段、Fab片段、F(ab')₂分子和串联二-scFv等。

[0564] 在一种实施方案中,抗CD2抗体或其结合片段包含修饰的Fc区,其中所述修饰的Fc区包含相对于野生型Fc区的至少一个氨基酸修饰,使得所述分子具有改变的对FcγR(Fc γ R)的亲和力或结合。通过结晶学研究已知Fc区内的某些氨基酸位置与Fc γ R进行直接接触。特别是氨基酸234-239(铰链区)、氨基酸265-269(B/C环)、氨基酸297-299(C' /E环)和氨基酸327-332(F/G环)。(参见Sondermann等,2000Nature,406:267-273)。本文描述的抗体可以包含变体Fc区,该变体Fc区包含基于结构和晶体学分析与Fc γ R进行直接接触的至少一个残基的修饰。在一种实施方案中,抗CD2抗体(或其片段)的Fc区在根据如Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed. Public Health Service, NH1, MD (1991)中的EU索引的氨基酸265处包含氨基酸取代,该文献通过引用明确并入本文。“如Kabat中的EU索引”是指人类IgG1 EU抗体的编号。在一种实施方案中,Fc区包含D265A突变。在一种实施方案中,Fc区包含D265C突变。在一些实施方案中,抗体(或其片段)的Fc区在根据如Kabat中的EU索引的氨基酸234处包含氨基酸取代。在一种实施方案中,Fc区包含L234A突变。在一些实施方案中,抗CD2抗体(或其片段)的Fc区在根据如Kabat中的EU索引氨基酸的235处包含氨基酸取代。在一种实施方案中,Fc区包含L235A突变。在又另一种实施方案中,Fc区包含L234A和L235A突变。在另一种实施方案中,Fc区包含D265C,L234A和L235A突变。在又另一种实施方案中,Fc区包含D265C,L234A,L235A和H435A突变。在另一种实施方案中,Fc区包含D265C和H435A突变。

[0565] 本发明的抗体还可以通过引入另外的Fc突变进一步工程化,以进一步调节抗体半衰期,所述另外的Fc突变诸如在例如(Dall'Acqua等(2006)J Biol Chem 281:23514-24)、(Zalevsky等(2010)Nat Biotechnol 28:157-9)、(Hinton等(2004)J Biol Chem 279:6213-6)、(Hinton等(2006)J Immunol 176:346-56)、(Shields等(2001)J Biol Chem 276:

6591–604)、(Petkova等(2006)Int Immunol 18:1759–69)、(Datta-Mannan等(2007)Drug Metab Dispos 35:86–94)、(Vaccaro等(2005)Nat Biotechnol 23:1283–8)、(Yeung等(2010)Cancer Res 70:3269–77)和(Kim等(1999)Eur J Immunol 29:2819–25)中描述的并且包括位置250、252、253、254、256、257、307、376、380、428、434和435的那些。可以单独或组合进行的示例性突变是T250Q、M252Y、1253A、S254T、T256E、P257I、T307A、D376V、E380A、M428L、H433K、N434S、N434A、N434H、N434F、H435A和H435R突变。

[0566] 在一些实施方案中,抗CD2抗体或其抗原结合片段通过抗体或其抗原结合片段的Fc结构域中的半胱氨酸残基与细胞毒素(例如,鹅膏蕈毒素)缀合。在一些实施方案中,半胱氨酸残基通过抗体或其抗原结合片段的Fc结构域中的突变的方式引入。例如,半胱氨酸残基可以选自由Cys118、Cys239和Cys265组成的组。在一种实施方案中,抗CD2抗体(或其片段)的Fc区在根据如Kabat中的EU索引的氨基酸265处包含氨基酸取代。在一种实施方案中,Fc区包含D265C突变。在一种实施方案中,Fc区包含D265C和H435A突变。

[0567] 因此,在一种实施方案中,Fc区包含引起半衰期缩短的突变。具有短半衰期的抗体在其中预期该抗体作为短寿命治疗剂起作用的某些情况下可能是有益的,所述某些情况例如本文描述的在施用该抗体之后施用HSC的调节步骤。理想地,在递送HSC之前,抗体将基本上被清除,HSC通常也可以表达CD2,但与内源性干细胞不同,HSC不是抗CD2抗体的靶。在一种实施方案中,Fc区在位置435处(根据Kabat的EU索引)包含突变。在一种实施方案中,突变是H435A突变。

[0568] 前述抗CD2抗体或其抗原结合片段可以用于本文阐述的本发明的多个方面,包括例如用于耗尽人类受试者中的CD2+细胞的方法中。前述抗CD2抗体或其抗原结合片段还可以与如本文描述的剂,例如细胞毒素,例如鹅膏蕈毒素缀合。

[0569] 鉴定抗CD2抗体的方法

[0570] 用于高通量筛选与CD2结合的抗体或抗体片段的文库的方法可以用于鉴定并亲和力成熟的剂,所述亲和力成熟的剂可用于调节需要造血干细胞疗法的患者(例如,人类患者)和/或用于直接治疗如本文描述的癌症或自身免疫性疾病。这样的方法包括本领域已知的体外展示技术,诸如噬菌体展示、细菌展示、酵母展示、哺乳动物细胞展示、核糖体展示、mRNA展示和cDNA展示等。使用噬菌体展示来分离与生物相关分子结合的抗体或抗原结合片段已经在例如Felici等,Biotechnol.Annual Rev.1:149–183,1995;Katz,Annual Rev.Biophys.Biomol.Struct.26:27–45,1997;和Hoogenboom等,Immunotechnology 4:1–20,1998中进行了综述,其中每一个的公开内容在其涉及体外展示技术时通过引用并入本文。已经构建了随机化组合肽文库以选择与细胞表面抗原结合的多肽,如Kay,Perspect.Drug Discovery Des.2:251–268,1995和Kay等,Mol.Divers.1:139–140,1996中描述的,其中每一个的公开内容在其涉及抗原结合分子的发现时通过引用并入本文。蛋白质,诸如多聚蛋白质,已经成功地经噬菌体展示为功能分子(参见,例如,EP 0349578;EP 4527839;和EP 0589877,以及Chiswell和McCafferty,Trends Biotechnol.10:80–84 1992,其中每一个的公开内容在其涉及体外展示技术用于发现抗原结合分子的用途时通过引用并入本文)。此外,功能抗体片段,诸如Fab和scFv片段,已经以体外展示形式表达(参见,例如,McCafferty等,Nature 348:552–554,1990;Barbas等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:7978–7982,1991;和Clackson等,Nature 352:624–628,1991,其中每一个的公开内容在

其涉及用于发现抗原结合分子的体外展示平台时通过引用并入本文)。这些技术以及其他技术可以用于鉴定和改善与CD2结合的抗体或抗体片段的亲和力,其进而可以用于耗尽需要造血干细胞移植疗法和/或患有本文描述的癌症或自身免疫性疾病的患者(例如,人类患者)中的CD2+ T细胞和/或NK细胞。

[0571] 可以使用另外的技术来鉴定抗体及其抗原结合片段,所述抗体及其抗原结合片段与细胞(例如,T细胞或NK细胞)表面上的CD2结合并且例如通过受体介导的胞吞作用被细胞内化。例如,上文描述的体外展示技术可以适于筛选与T细胞或NK细胞表面上的CD2结合并随后内化的抗体及其抗原结合片段。噬菌体展示代表这样的可以与这种筛选范式结合使用的一种技术。为了鉴定与CD2结合并随后被T细胞和/或NK细胞内化的抗CD2抗体及其片段,本领域技术人员可以使用Williams等,Leukemia 19:1432-1438,2005中描述的噬菌体展示技术,该文献的公开内容通过引用以其整体并入本文。例如,使用本领域已知的诱变方法,可以产生重组噬菌体文库,该文库编码抗体、抗体片段诸如scFv片段、Fab片段、双抗体、三抗体和¹⁰Fn3结构域等,或者(例如,在一个或更多个或所有CDR或其等同区域中,或者抗体或抗体片段中)含有随机化氨基酸盒的抗体。抗体或抗体片段的框架区、铰链区、Fc结构域和其他区域可以被设计成例如藉由具有人类种系抗体序列或相对于人类种系抗体仅表现出微小变化的序列使得它们在人类中无免疫原性。

[0572] 使用本文描述的或本领域已知的噬菌体展示技术,包含与噬菌体颗粒共价结合的随机化抗体或抗体片段的噬菌体文库可以与CD2抗原孵育,例如,通过首先将噬菌体文库与封闭剂(诸如,例如,乳蛋白、牛血清白蛋白和/或IgG)孵育以便去除编码表现出非特异性蛋白结合的抗体或其片段的噬菌体以及编码与Fc结构域结合的抗体或其片段的噬菌体,并且然后将噬菌体文库与为CD2+的T细胞或NK细胞的群体孵育。噬菌体文库可以与T细胞或NK细胞孵育足够的时间(例如,在4℃30分钟至6小时,诸如在4℃1小时)以允许CD2特异性抗体或其抗原结合片段与细胞表面CD2结合并随后被T细胞或NK细胞内化。含有不表现出对CD2的足够亲和力以至于不允许与T细胞或NK细胞结合并被T细胞或NK细胞内化的抗体或其片段的噬菌体,可以随后通过例如用冷(4℃)0.1M甘氨酸缓冲液在pH 2.8洗涤细胞去除。已经被T细胞和/或NK细胞内化的与抗体或其片段结合的噬菌体可以例如通过裂解细胞并从细胞培养基回收内化的噬菌体来鉴定。然后噬菌体可以例如,通过使用本领域已知的方法在2×YT培养基中孵育具有回收的噬菌体的细菌细胞,在细菌细胞中扩增。然后从该培养基回收的噬菌体可以例如,通过确定插入噬菌体基因组内的编码抗体或其片段的基因(一个或多个)的核酸序列来表征。编码的抗体及其片段可以随后通过化学合成(例如抗体片段,诸如单链抗体片段)或通过重组表达(例如,全长抗体)从头制备。

[0573] 用于与本文描述的组合物和方法一起使用的抗CD2抗体的体外进化的示例性方法是噬菌体展示。噬菌体展示文库可以通过在抗体的CDR或抗体样支架的类似区域(例如,¹⁰Fn3结构域的BC、CD和DE环)的编码序列内进行经设计的系列突变或变异来产生。其中引入这些突变的编码抗体的模板序列可以是,例如,天然人类种系序列。这些突变可以使用本领域已知的标准诱变技术进行。因此,除了一个或更多个氨基酸变异之外,每个突变体序列编码对应于模板的抗体。逆转录病毒和噬菌体展示载体可以使用本领域已知的标准载体构建技术来工程化。P3噬菌体展示载体连同相容的蛋白质表达载体可以用于产生用于抗体多样化的噬菌体展示载体。

[0574] 经诱变的DNA提供了序列多样性，并且每个转化体噬菌体展示了由该DNA编码的初始模板氨基酸序列的一个变体，导致噬菌体群体(文库)展示了大量不同但结构上相关的氨基酸序列。由于良好定义的抗体高变区结构，预期在噬菌体展示筛选中引入的氨基酸变异会改变结合肽或结构域的结合性质，而不会显著改变其总体分子结构。

[0575] 在经典的筛选中，噬菌体文库可以与CD2或其表位接触，并允许与CD2或其表位结合。为了促进结合物(binder)和非结合物的分离，将靶固定在固体支持物上是方便的。具有CD2结合部分的噬菌体可以与固体支持物上的靶形成复合物，而非结合噬菌体保留在溶液中并可以用过量的缓冲液洗涤掉。然后，结合的噬菌体可以通过将缓冲液改变至极端pH(pH 2或pH 10)、改变缓冲液的离子强度、添加变性剂或其他已知方法从靶释放。

[0576] 然后，回收的噬菌体可以通过细菌细胞的感染扩增，并且筛选过程可以用现在耗尽了非结合抗体并且富集了与CD2结合的抗体的新的池(pool)来重复。即使回收少量结合噬菌体也足以扩增噬菌体用于随后的迭代筛选。经过几轮选择后，从结合池中的选择的噬菌体克隆获得的编码抗体或其抗原结合片段的基因序列通过常规方法确定，从而揭示赋予噬菌体与靶的结合亲和力的肽序列。在淘选(panning)过程期间，群体的序列多样性随着每一轮的选择减少，直到期望的肽结合抗体保留下来。序列可以汇合(converge)于少数相关的抗体或其抗原结合片段。在每一轮的选择中回收的噬菌体的数量的增加指示了文库在筛选中已经发生汇合。

[0577] 用于鉴定抗CD2抗体的另一种方法包括使用例如根据以下程序使与CD2结合的非人类抗体人源化。与CD2结合的非人类抗体可以例如根据以下程序被人源化。共有人类抗体重链序列和轻链序列是本领域已知的(参见例如，“VBASE”人类种系序列数据库；Kabat等Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242,1991;Tomlinson等,J.Mol.Biol.227:776-798,1992;和Cox等,Eur.J.Immunol.24:827-836,1994,其中每一个的公开内容在其涉及共有人类抗体重链序列和轻链序列时通过引用并入本文)。使用已建立的程序，本领域技术人员可以鉴定共有人类抗体序列的可变结构域框架残基和CDR(例如，通过序列比对)。人们可以用与CD2结合的非人类抗体的一个或更多个相应CDR取代共有人类抗体的重链和/或轻链可变结构域的一个或更多个CDR，以便产生人源化抗体。这种CDR交换可以使用本文描述的或本领域已知的基因编辑技术进行。

[0578] 共有人类抗体的可变结构域的一个实例包含美国专利第6,054,297号中鉴定的重链可变结构域

**EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVAVISENGSDTYYADS
VKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGGAWSYFDVWGQGTLTVSS**

(SEQ ID NO: 18) 和轻链可变结构域

**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLESGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSLPYTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 19)** 该美国

专利的公开内容在其涉及人类抗体共有序列时通过引用并入本文。上文的序列中的CDR以粗体示出。

[0579] 为了产生人源化抗体，技术人员可以重组地表达编码上文的共有序列的多核苷酸，其中一个或更多个可变区CDR已经被与CD2结合的非人类抗体的一个或更多个可变区

CDR序列所替换。因为抗体对CD2的亲和力主要由CDR序列决定,预期所得人源化抗体对CD2的亲和力与人源化抗体所源自的非人类抗体的亲和力大致相同。确定抗体对靶抗原的亲和力的方法包括,例如,本文描述的和本领域已知的基于ELISA的技术,以及表面等离子体共振、荧光各向异性和等温滴定量热法等。

[0580] 制备的抗体或其片段的内化能力可以例如使用本领域已知的放射性核素内化测定评估。例如,使用本文描述的或本领域已知的体外展示技术鉴定的抗CD2抗体或其片段可以通过掺入放射性同位素来官能化,所述放射性同位素诸如¹⁸F、⁷⁵Br、⁷⁷Br、¹²²I、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹²⁹I、¹³¹I、²¹¹At、⁶⁷Ga、¹¹¹In、⁹⁹Tc、¹⁶⁹Yb、¹⁸⁶Re、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、¹⁷⁷Lu、⁷⁷As、⁷²As、⁸⁶Y、⁹⁰Y、⁸⁹Zr、²¹²Bi、²¹³Bi或²²⁵Ac。例如,放射性卤素,诸如¹⁸F、⁷⁵Br、⁷⁷Br、¹²²I、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹²⁹I、¹³¹I、²¹¹At,可以使用含有亲电卤素试剂的珠,诸如聚苯乙烯珠(例如碘化珠,Thermo Fisher Scientific, Inc., Cambridge, MA),掺入抗体或其片段中。放射性标记的抗体或其片段可以与T细胞和/或NK细胞孵育足够的时间(例如,在4°C 30分钟至6小时,诸如在4°C 1小时)以允许内化。然后可以洗涤细胞以去除未内化的抗体或其片段(例如,使用冷(4°C)0.1M甘氨酸缓冲液在pH 2.8)。内化的抗体或其片段可以通过检测所得T细胞和/或NK细胞发出的辐射(例如γ辐射)、与回收的洗涤缓冲液发出的辐射(例如γ辐射)进行比较来鉴定。

[0581] 为了重组产生抗CD2抗体,将编码例如如上文描述的抗体的核酸分离,并且插入一个或更多个载体中,用于在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。这样的核酸可以容易地使用常规程序(例如,通过使用能够与编码抗体的重链和轻链的基因特异性结合的寡核苷酸探针)分离和测序。

[0582] 用于克隆或表达编码抗体的载体的合适的宿主细胞包括本文描述的原核或真核细胞。例如,抗体可以在细菌中产生,特别是当不需要糖基化和Fc效应物功能时。关于抗体片段和多肽在细菌中的表达,参见例如美国专利第5,648,237号、第5,789,199号和第5,840,523号。(还参见Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J., 2003), pp. 245-254, 该文献描述了抗体片段在大肠杆菌(E.coli.)中的表达)在表达后,抗体可以从细菌细胞浆(paste)以可溶性级分(fraction)分离,并且可以被进一步纯化。

[0583] 脊椎动物细胞也可以用作宿主。例如,适于悬浮生长的哺乳动物细胞系可以是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其他实例是由SV40转化的猴肾CV1系(COS-7);人类胚胎肾系(293或293细胞,如例如在Graham等,J.Gen Virol.36:59(1977)中描述的);幼仓鼠肾细胞(BHK);小鼠支持细胞(mouse sertoli cell)(TM4细胞,如例如在Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980)中描述的);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人类宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK;布法罗(buffalo)大鼠肝细胞(BRL 3A);人类肺细胞(W138);人类肝细胞(Hep G2);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562);TRI细胞,如例如在Mather等,Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982)中描述的;MRC 5细胞;和FS4细胞。其他有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR-CHO细胞(Urlaub等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980));和骨髓瘤细胞系诸如Y0、NS0和Sp2/0。关于某些适用于抗体产生的哺乳动物宿主细胞系的综述,参见,例如,Yazaki和Wu,Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J.), pp. 255-268(2003)。在一种实施方案中,宿主细胞是真核细胞,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴细

胞(例如Y0、NS0、Sp20细胞)。

[0584] 抗体-药物缀合物(ADC)

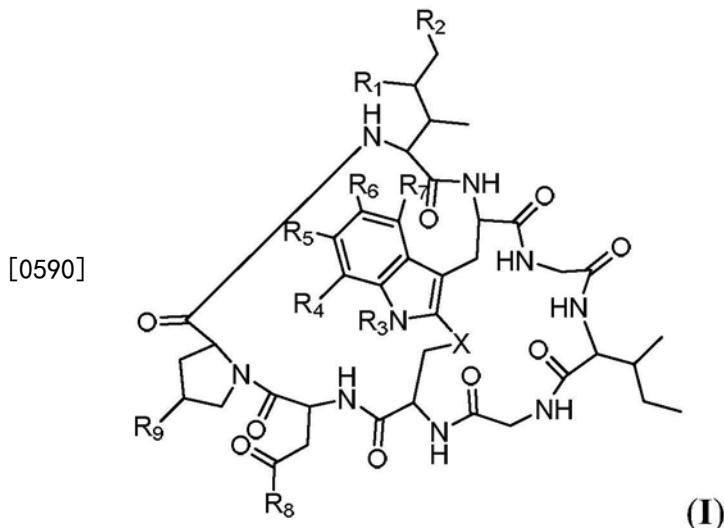
[0585] 细胞毒素

[0586] 本文描述的抗体及其抗原结合片段(例如,识别CD2并与CD2结合的抗体、抗原结合片段)可以与细胞毒素或者本文描述的或本领域已知的另一种细胞毒性化合物缀合,所述细胞毒素诸如假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、鹅膏蕈毒素(诸如 α -鹅膏蕈碱)、皂草素、美登素、美登木素生物碱、奥瑞他汀、蒽环霉素、加利车霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类和吲哚并苯二氮卓类二聚体,或其变体,以便(i)直接治疗本文描述的癌症或自身免疫性疾病,或(ii)耗尽内源性免疫细胞,以便预防或降低在移植到需要造血干细胞移植疗法的患者(例如,人类患者)中后的造血干细胞排斥的可能性。在一些实施方案中,细胞毒性分子与内化抗体或其抗原结合片段缀合,使得在细胞摄取抗体或抗原结合片段之后,细胞毒素可以接近其胞内靶并杀伤内源性T细胞和/或NK细胞。适于与本文描述的组合物和方法一起使用的合适的细胞毒素包括DNA嵌入剂(例如蒽环霉素)、能够破坏有丝分裂纺锤体装置的剂(例如长春花生物碱、美登素、美登木素生物碱及其衍生物)、RNA聚合酶抑制剂(例如鹅膏蕈毒素诸如 α -鹅膏蕈碱及其衍生物)、能够破坏蛋白质生物合成的剂(例如表现出rRNA N-糖昔酶活性的剂,诸如皂草素和蓖麻毒蛋白A链),以及本领域已知的其他细胞毒素。

[0587] 在一些实施方案中,抗体-药物缀合物的细胞毒素是RNA聚合酶抑制剂。在一些实施方案中,RNA聚合酶抑制剂是鹅膏蕈毒素或其衍生物。

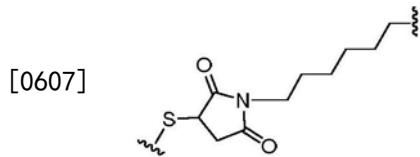
[0588] 在一些实施方案中,细胞毒素是鹅膏蕈毒素或其衍生物,诸如 α -鹅膏蕈碱、 β -鹅膏蕈碱、 γ -鹅膏蕈碱、 ϵ -鹅膏蕈碱、鹅膏素、鹅膏素酰胺、鹅膏蕈无毒环肽、鹅膏蕈无毒环肽酸和鹅膏蕈无毒环肽原。多种天然存在的鹅膏蕈毒素的结构由式III表示,并且在例如Zanotti等,Int.J.Peptide Protein Res.30,1987,450-459中公开。

[0589] 在一种实施方案中,细胞毒素是鹅膏蕈碱。例如,本文描述的抗体或抗原结合片段可以与鹅膏蕈毒素结合,以便形成由式Ab-Z-L-Am表示的缀合物,其中Ab是抗体或其抗原结合片段,L是接头,Z是化学部分,并且Am是鹅膏蕈毒素。鹅膏蕈毒素或其衍生物上的许多位置可以用作与连接部分L共价键合并因此与抗体或其抗原结合片段共价键合的位置。在一些实施方案中,Am-L-Z由式(I)表示



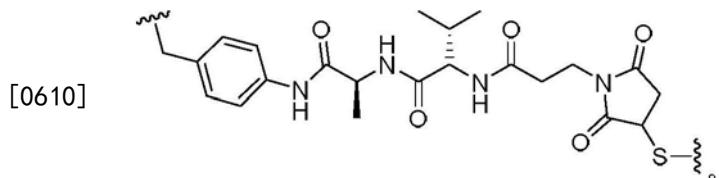
- [0591] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C；
- [0592] R₂是H、OH、OR_B或OR_C；
- [0593] R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基团；
- [0594] R₃是H、R_C或R_D；
- [0595] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；
- [0596] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；
- [0597] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；
- [0598] R₇是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；
- [0599] R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D；
- [0600] R₉是H、OH、OR_C或OR_D；
- [0601] X是-S-、-S(0)-或-SO₂-；
- [0602] R_C是-L-Z；
- [0603] R_D是任选地被取代的烷基(例如C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基；
- [0604] L是接头,诸如任选地被取代的亚烷基(例如C₁-C₆亚烷基)、任选地被取代的亚杂烷基(C₁-C₆亚杂烷基)、任选地被取代的亚烯基(例如C₂-C₆亚烯基)、任选地被取代的亚杂烯基(例如C₂-C₆亚杂烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如C₂-C₆亚炔基)、任选地被取代的亚杂炔基(例如C₂-C₆亚杂炔基)、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的亚杂芳基、二肽、-C(=O)-、肽或其组合;并且
- [0605] Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于与CD2结合的抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分。
- [0606] 在一些实施方案中,Am包含正好一个R_C取代基。在一些实施方案中,接头包含-(CH₂)_n-单元,其中n是从2-6的整数。在一些实施方案中,接头包括-((CH₂)_n-,其中n是6。在一

些实施方案中,L-Z是

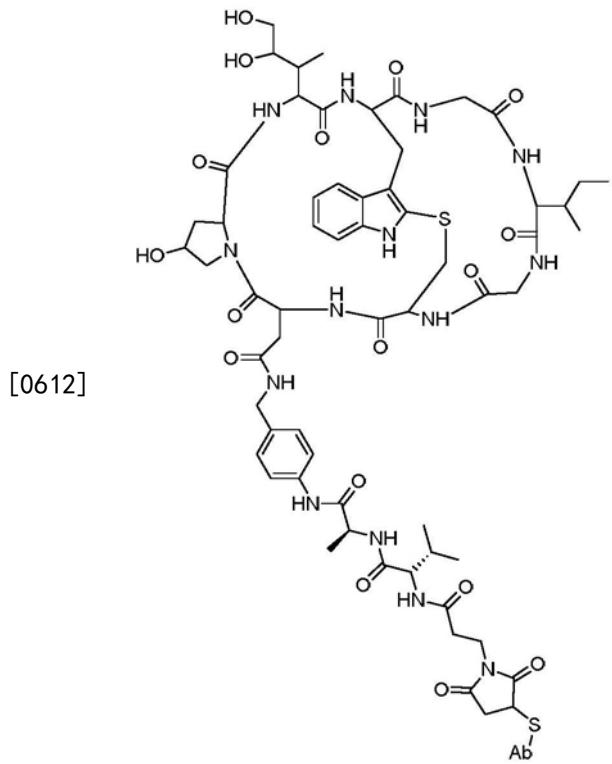


[0608] 其中S是硫原子,表示存在于与CD117结合的抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基(例如,来自半胱氨酸残基的-SH基团)。

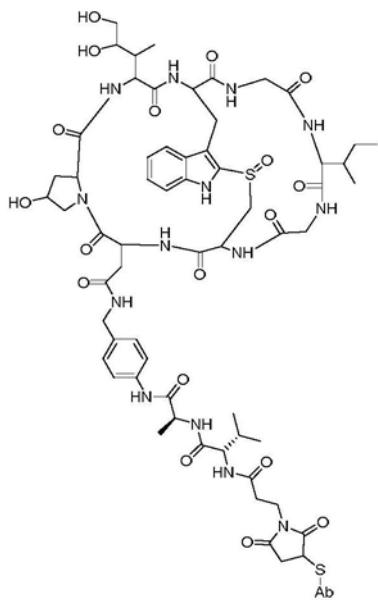
[0609] 在一些实施方案中,L-Z是



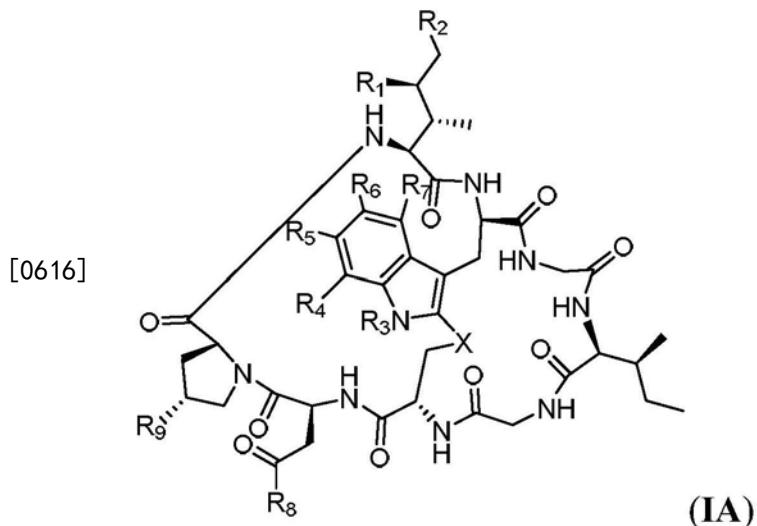
[0611] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是



[0613] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是



[0615] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IA) 表示



[0617] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

[0618] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

[0619] R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基基团;

[0620] R₃是H、R_C或R_D;

[0621] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0622] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0623] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0624] R₇是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

[0625] R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D;

[0626] R₉是H、OH、OR_C或OR_D;

[0627] X是-S-、-S(0)-或-SO₂-;

[0628] R_C是-L-Z;

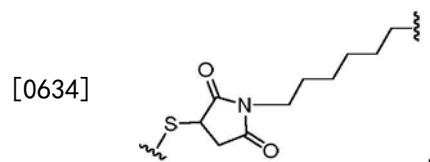
[0629] R_D是任选地被取代的烷基(例如C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基；

[0630] L是接头,诸如任选地被取代的亚烷基(例如C₁-C₆亚烷基)、任选地被取代的亚杂烷基(C₁-C₆亚杂烷基)、任选地被取代的亚烯基(例如C₂-C₆亚烯基)、任选地被取代的亚杂烯基(例如C₂-C₆亚杂烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如C₂-C₆亚炔基)、任选地被取代的亚杂炔基(例如C₂-C₆亚杂炔基)、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的亚杂芳基;二肽,-C(=O)-、肽或其组合；

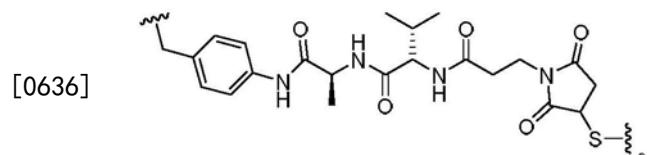
[0631] Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于与CD2结合的抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分；并且

[0632] 其中Am包含正好一个R_C取代基。

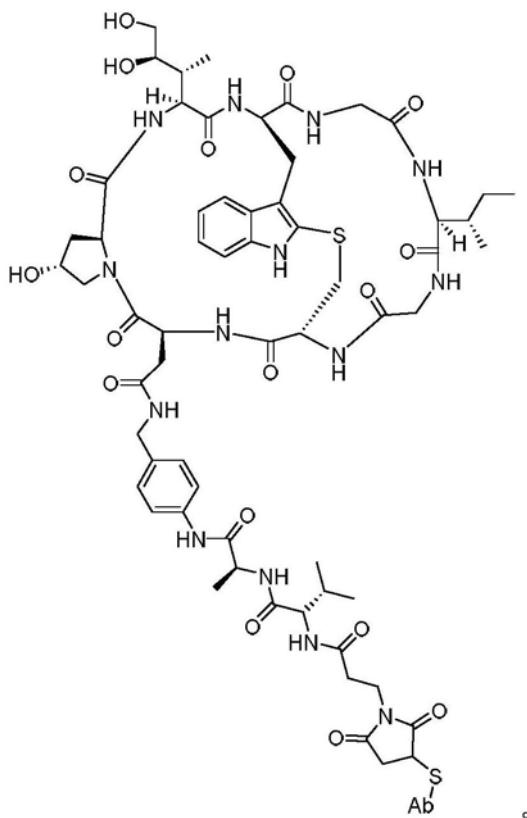
[0633] 在一些实施方案中,接头包括-((CH₂)_n,其中n是6。在一些实施方案中,L-Z是



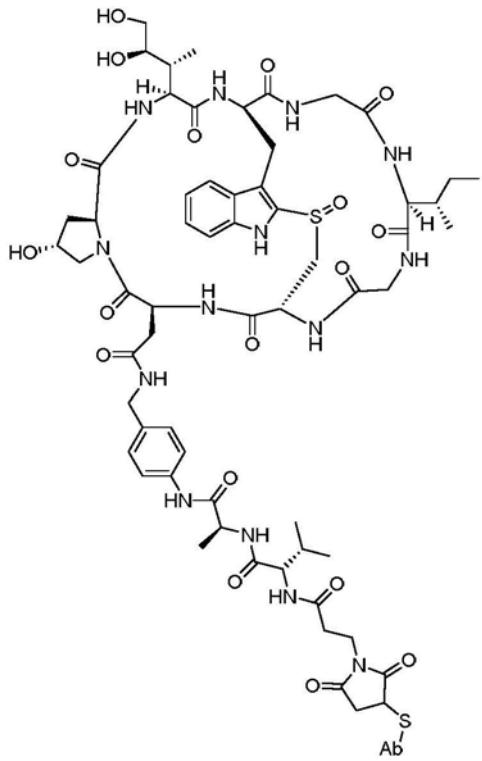
[0635] 在一些实施方案中,L-Z是



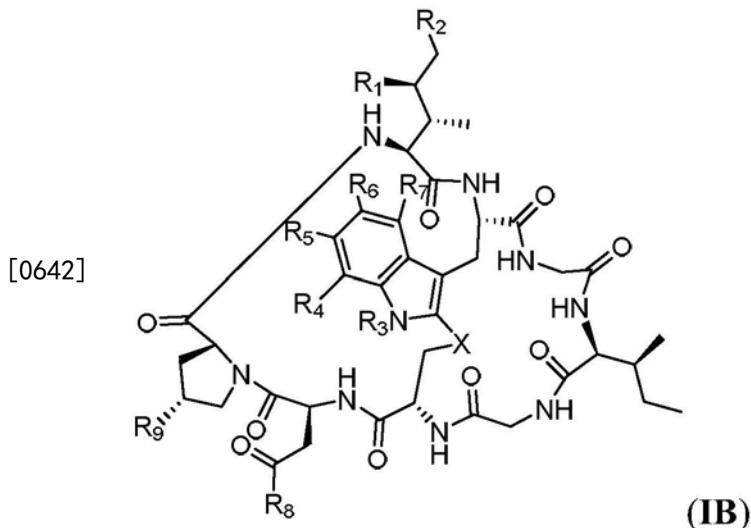
[0637] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是



[0639] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是



[0641] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IB) 表示



[0643] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C；

[0644] R₂是H、OH、OR_B或OR_C；

[0645] R_A和R_B在存在时与它们所结合的氧原子一起组合形成任选地被取代的5元杂环烷基团；

[0646] R₃是H、R_C或R_D；

[0647] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

[0648] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

[0649] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

[0650] R₇是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D；

[0651] R₈是OH、NH₂、OR_C、OR_D、NHR_C或NR_CR_D；

[0652] R₉是H、OH、OR_C或OR_D；

[0653] X是-S-、-S(0)-或-SO₂-；

[0654] R_C是-L-Z；

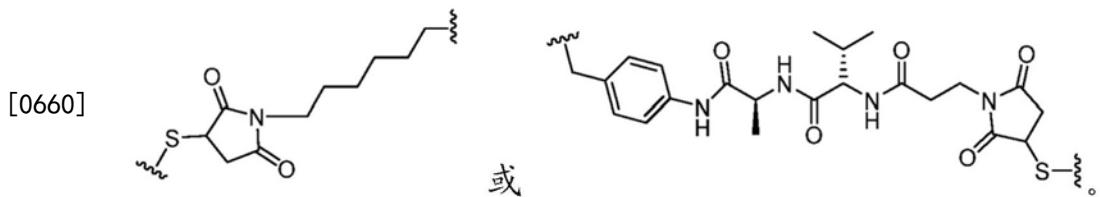
[0655] R_D是任选地被取代的烷基(例如C₁-C₆烷基)、任选地被取代的杂烷基(例如C₁-C₆杂烷基)、任选地被取代的烯基(例如C₂-C₆烯基)、任选地被取代的杂烯基(例如C₂-C₆杂烯基)、任选地被取代的炔基(例如C₂-C₆炔基)、任选地被取代的杂炔基(例如C₂-C₆杂炔基)、任选地被取代的环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基或任选地被取代的杂芳基；

[0656] L是接头,诸如任选地被取代的亚烷基(例如C₁-C₆亚烷基)、任选地被取代的亚杂烷基(C₁-C₆亚杂烷基)、任选地被取代的亚烯基(例如C₂-C₆亚烯基)、任选地被取代的亚杂烯基(例如C₂-C₆亚杂烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如C₂-C₆亚炔基)、任选地被取代的亚杂炔基(例如C₂-C₆亚杂炔基)、任选地被取代的亚环烷基、任选地被取代的亚杂环烷基、任选地被取代的亚芳基、任选地被取代的亚杂芳基、二肽、-C(=O)-、肽或其组合；

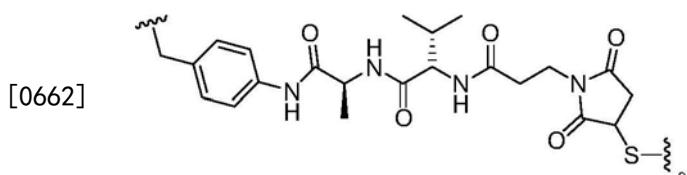
[0657] Z是由存在于L上的反应性取代基和存在于与CD2结合的抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成的化学部分；并且

[0658] 其中Am包含正好一个R_C取代基。

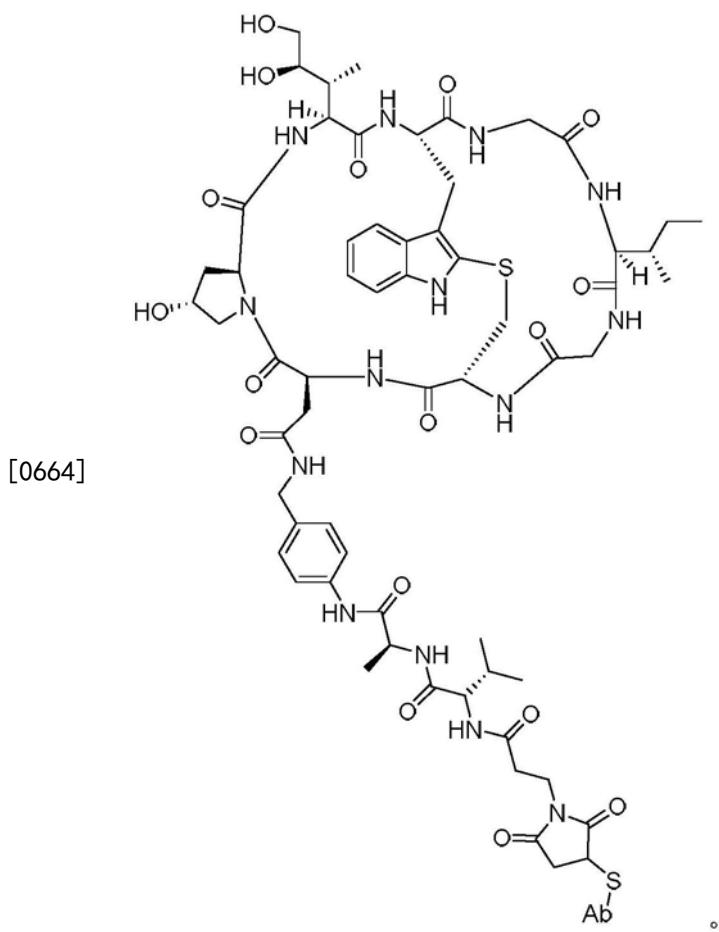
[0659] 在一些实施方案中,接头L和化学部分Z(合在一起称为L-Z)是



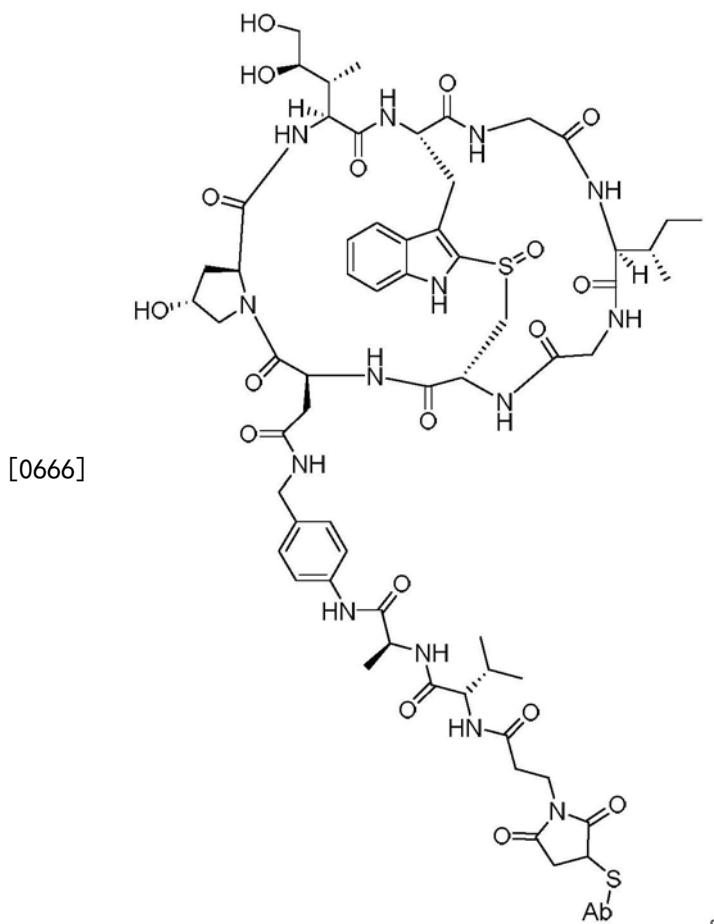
[0661] 在一些实施方案中,L-Z是



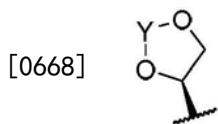
[0663] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是



[0665] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是



[0667] 在一些实施方案中, R_A 和 R_B 与它们所结合的氧原子一起组合形成下式的5元杂环烷基基团:



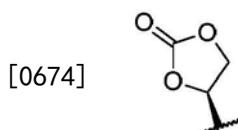
[0669] 其中Y是 $-C(=O)-$ 、 $-C(=S)-$ 、 $-C(=NR_E)-$ 或 $C(R_ER_E')-$; 并且 R_E 和 R_E' 各自独立地是任选地被取代的C₁–C₆亚烷基-R_C、任选地被取代的C₁–C₆亚杂烷基-R_C、任选地被取代的C₂–C₆亚烯基-R_C、任选地被取代的C₂–C₆亚杂烯基-R_C、任选地被取代的C₂–C₆亚炔基-R_C、任选地被取代的C₂–C₆亚杂炔基-R_C、任选地被取代的亚环烷基-R_C、任选地被取代的亚杂环烷基-R_C、任选地被取代的亚芳基-R_C或任选地被取代的亚杂芳基-R_C。

[0670] 在一些实施方案中, Am-L-Z由式 (IA) 或式 (IB) 表示,

[0671] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;

[0672] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;

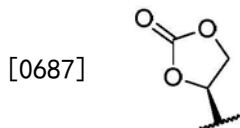
[0673] R_A和R_B与它们所结合的氧原子一起组合形成:



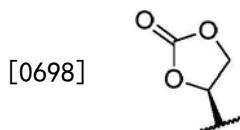
[0675] R₃是H或R_C;

[0676] R₄是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;

- [0677] R₅是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;
- [0678] R₆是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;
- [0679] R₇是H、OH、OR_C、OR_D、R_C或R_D;
- [0680] R₈是OH、NH₂、OR_C或NHR_C;
- [0681] R₉是H或OH;并且
- [0682] 其中X、R_C和R_D各自如上文所定义。
- [0683] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IA) 或式 (IB) 表示,
- [0684] 其中R₁是H、OH、OR_A或OR_C;
- [0685] R₂是H、OH、OR_B或OR_C;
- [0686] R_A和R_B与它们所结合的氧原子一起组合形成:



- [0688] R₃是H或R_C;
- [0689] R₄和R₅各自独立地是H、OH、OR_C、R_C或OR_D;
- [0690] R₆和R₇各自是H;
- [0691] R₈是OH、NH₂、OR_C或NHR_C;
- [0692] R₉是H或OH;并且
- [0693] 其中X和R_C如上文所定义。
- [0694] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IA) 或式 (IB) 表示,
- [0695] 其中R₁是H、OH或OR_A;
- [0696] R₂是H、OH或OR_B;
- [0697] R_A和R_B与它们所结合的氧原子一起组合形成:



- [0699] R₃、R₄、R₆和R₇各自是H;
- [0700] R₅是OR_C;
- [0701] R₈是OH或NH₂;
- [0702] R₉是H或OH;并且
- [0703] 其中X和R_C如上文所定义。这样的鹅膏蕈毒素缀合物例如在美国专利申请公布第2016/0002298号中描述,该美国专利申请公布的公开内容通过引用以其整体并入本文。
- [0704] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式 (IA) 或式 (IB) 表示,
- [0705] 其中R₁和R₂各自独立地是H或OH;
- [0706] R₃是R_C;
- [0707] R₄、R₆和R₇各自是H;
- [0708] R₅是H、OH或OC₁-C₆烷基;
- [0709] R₈是OH或NH₂;
- [0710] R₉是H或OH;并且

[0711] 其中X和R_c如上文所定义。这样的鹅膏蕈毒素缀合物例如在美国专利申请公布第2014/0294865号中描述,该美国专利申请公布的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0712] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示,

[0713] 其中R₁和R₂各自独立地是H或OH;

[0714] R₃、R₆和R₇各自是H;

[0715] R₄和R₅各自独立地是H、OH、OR_c或R_c;

[0716] R₈是OH或NH₂;

[0717] R₉是H或OH;并且

[0718] 其中X和R_c如上文所定义。这样的鹅膏蕈毒素缀合物例如在美国专利申请公布第2015/0218220号中描述,该美国专利申请公布的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0719] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(IA)或式(IB)表示,

[0720] 其中R₁和R₂各自独立地是H或OH;

[0721] R₃、R₆和R₇各自是H;

[0722] R₄和R₅各自独立地是H或OH;

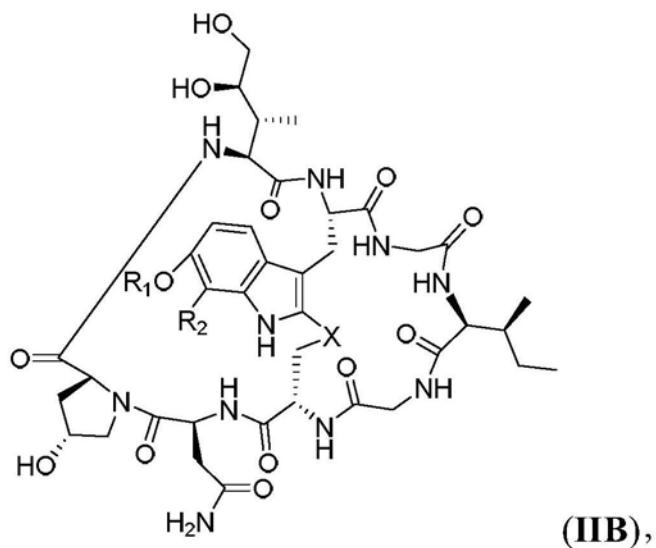
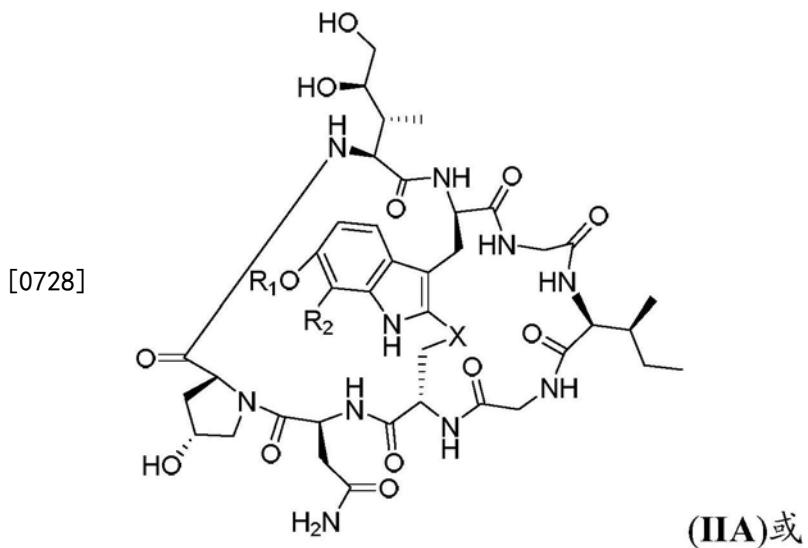
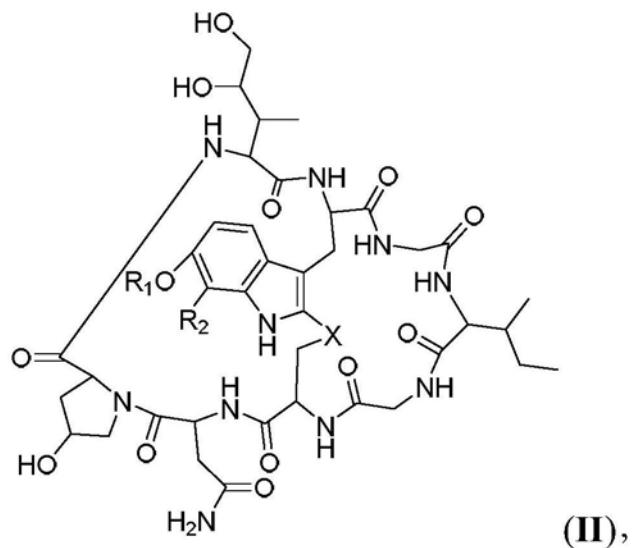
[0723] R₈是OH、NH₂、OR_c或NHR_c;

[0724] R₉是H或OH;并且

[0725] 其中R_c如上文所定义。这样的鹅膏蕈毒素缀合物例如在美国专利第9,233,173号和第9,399,681号以及US2016/0089450中描述,其中每一个的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0726] 可以用于根据本文描述的组合物和方法与抗体或其抗原结合片段缀合的另外的鹅膏蕈毒素例如在WO 2016/142049; WO 2016/071856; 和WO 2017/046658中描述,其中每一个的公开内容通过引用以其整体并入本文。

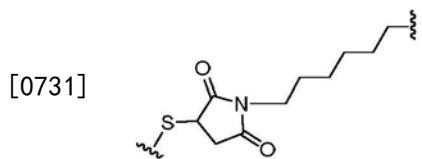
[0727] 在一些实施方案中,Am-L-Z由式(II)、式(IIA)或式(IIB)表示,



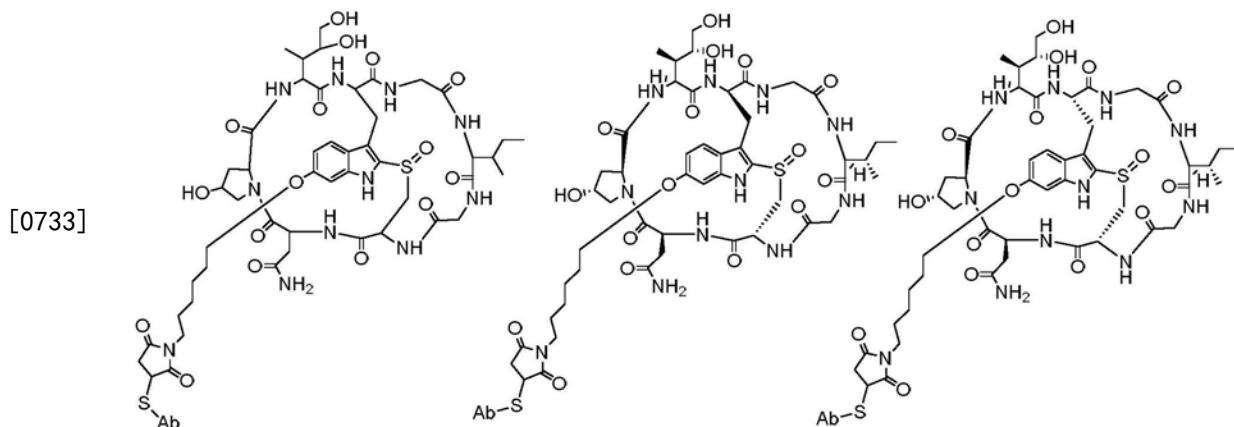
[0729] 其中X是S、SO或SO₂;R₁是H或通过化学部分Z与抗体或其抗原结合片段共价结合的接头,所述化学部分Z由存在于接头上的反应性取代基和存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成;并且R₂是H或通过化学部分Z与抗体或其抗原结合片

段共价结合的接头,所述化学部分Z由存在于接头上的反应性取代基和存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成;其中当R₁是H时,R₂是接头,并且当R₂是H时,R₁是接头。

[0730] 在一些实施方案中,接头包括-(CH₂)_n-单元,其中n是从2-6的整数。在一些实施方案中,R₁是接头并且R₂是H,并且接头和化学部分一起为L-Z,即

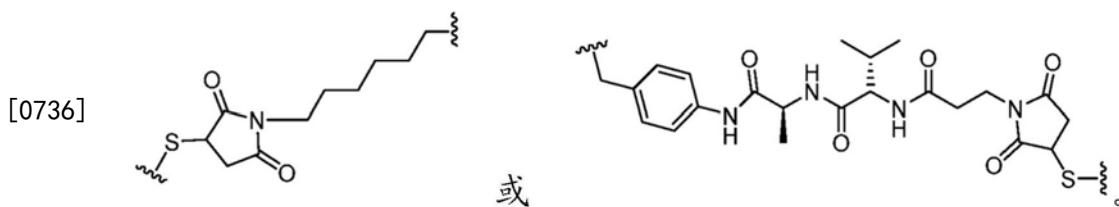


[0732] 在一些实施方案中,Am-L-Z-Ab是以下中的一种:



[0734] 在一些实施方案中,鹅膏蕈毒素是α-鹅膏蕈碱。在一些实施方案中,α-鹅膏蕈碱是式III的化合物。在一些实施方案中,式III的α-鹅膏蕈碱经由接头L附接至与CD2结合的抗体或其抗原结合片段。接头L可以在若干可能位置中的任何一个位置(例如,R¹-R⁹中的任何一个)附接至式III的α-鹅膏蕈碱,以提供式I、IA、IB、II、IIA或IIB的α-鹅膏蕈碱-接头缀合物。在一些实施方案中,接头被附接在位置R¹处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R²处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R³处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R⁴处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R⁵处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R⁶处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R⁷处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R⁸处。在一些实施方案中,接头被附接在位置R⁹处。在一些实施方案中,接头包括肽、二硫化物、硫醚或二肽。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,接头包括对氨基苯基基团(PAB)。在一些实施方案中,接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中,接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中,接头包括-((C=O)(CH₂)_n-单元,其中n是从1-6的整数。

[0735] 在一些实施方案中,接头包括-(CH₂)_n-单元,其中n是从2-6的整数。在一些实施方案中,接头是-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n-。在一些实施方案中,接头是-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH₂)_n-。在一些实施方案中,接头L和化学部分Z(合在一起称为L-Z)是



[0737] 用于与本文描述的组合物和方法一起使用的抗体和抗原结合片段可以使用本领域已知的或本文描述的缀合技术与鹅膏蕈毒素诸如 α -鹅膏蕈碱或其变体缀合。例如，识别CD2并与CD2结合的抗体及其抗原结合片段可以与鹅膏蕈毒素诸如 α -鹅膏蕈碱或其变体缀合，如US 2015/0218220中描述的，US 2015/0218220的公开内容在其涉及例如鹅膏蕈毒素诸如 α -鹅膏蕈碱及其变体以及可以用于共价缀合的共价接头时通过引用并入本文。制备鹅膏蕈毒素的合成方法在例如美国专利第9,676,702号中描述，该美国专利在关于其中公开的合成方法时通过引用并入本文。

[0738] 用于与本文描述的组合物和方法一起使用的抗体或抗原结合片段可以使用本领域已知的或本文描述的缀合技术与鹅膏蕈毒素诸如 α -鹅膏蕈碱或其变体缀合。例如，识别CD2并与CD2结合的抗体或其抗原结合片段可以与鹅膏蕈毒素诸如 α -鹅膏蕈碱或其变体缀合，如US 2015/0218220中描述的，US 2015/0218220的公开内容在其涉及例如鹅膏蕈毒素诸如 α -鹅膏蕈碱及其变体以及可以用于共价缀合的共价接头时通过引用并入本文。

[0739] 可与本文描述的方法结合使用的示例性抗体-药物缀合物可以通过抗体或其抗原结合片段与缀合至接头的鹅膏蕈毒素反应而形成，所述接头含有适于与抗体或其抗原结合片段上的反应性残基反应的取代基。与接头(含有适于与本文描述的抗体或其抗原结合片段上的反应性残基反应的取代基)缀合的鹅膏蕈毒素包括但不限于以下：7'C-(4-(6-(马来酰亚胺基)己酰基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(4-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(4-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(4-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷羰基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(4-(6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(4-(2-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(4-(2-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(4-(2-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(4-(2-(6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(4-(2-(3-羧基丙酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(4-(2-(2-溴乙酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(4-(2-(3-吡啶-2-基二硫烷基)丙酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(4-(2-(4-(马来酰亚胺基)丁酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(4-(2-(马来酰亚胺基)乙酰基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(4-(4-(马来酰亚胺基)丁酰基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(4-(2-(马来酰亚胺基)乙酰基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(4-(4-(马来酰亚胺基)丙酰基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(4-(2-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)甲基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(3-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)甲基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(3-(4-(马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)甲基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素；7'C-(3-(6-(4-(马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)甲基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素。

蕈毒素； $7'C-(4-(2-(6-(2-(氨基氧基)乙酰胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-(4-(2-(4-(2-(氨基氧基)乙酰胺基)丁酰胺基)乙基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-(4-(4-(2-(氨基氧基)乙酰胺基)丁酰基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-(4-(6-(2-(氨基氧基)乙酰胺基)己酰基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-(4-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $(R)-7'C-(3-((6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $(S)-7'C-(3-((6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((4-(2-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((4-(2-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((4-(2-(6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((4-(2-(6-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)己酰胺基)乙基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((4-(2-(6-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)己酰胺基)乙基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((4-(2-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)乙基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((4-(2-(6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)乙基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((3-((6-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)己酰胺基)己酰胺基)-S-甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((3-((6-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)己酰胺基)-R-甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((3-((4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)-S-甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((3-((4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)-R-甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((3-((6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((4-(2-(3-羧基丙酰胺基)乙基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((4-(6-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)己酰基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((4-(6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((4-(2-(2-(马来酰亚胺基)乙酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((4-(2-(4-(马来酰亚胺基)丁酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((4-(2-(6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((3-((6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)甲基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((3-(2-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)乙基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((3-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)乙基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((3-(2-(6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)乙基)氮杂环丁烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((2-(6-(马来酰亚胺基)-N-甲基己酰胺基)乙基)(甲基)氨基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((4-(6-(马来酰亚胺基)-N-甲基己酰胺基)丁基)(甲基)氨基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((2-(2-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)乙基)氮杂环丙烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素$ ； $7'C-((2-(2-(6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)乙基)氮杂环丙烷-1-$

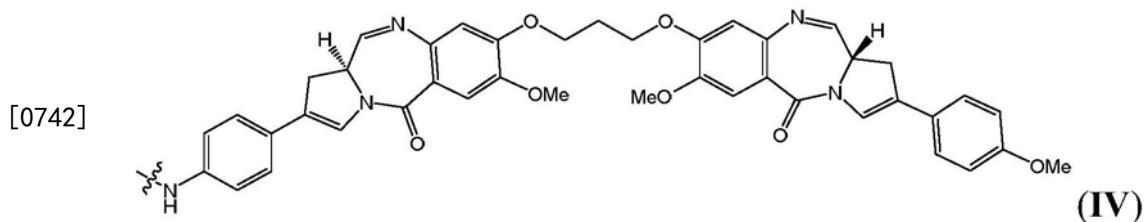
基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(6-(2-(氨基氧基)乙酰胺基)己酰胺基)己酰基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(1-(氨基氧基)-2-氧化-6,9,12,15-四氧杂-3-氮杂十七烷-17-酰基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(氨基氧基)乙酰胺基)乙酰基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(3-(2-(氨基氧基)乙酰胺基)丙酰基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(4-(2-(氨基氧基)乙酰胺基)丁酰基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(6-(2-(氨基氧基)乙酰胺基)己酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(2-(氨基氧基)乙酰胺基)乙酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(4-(2-(氨基氧基)乙酰胺基)丁酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(20-(氨基氧基)-4,19-二氧化-6,9,12,15-四氧杂-3,18-二氮杂二十烷基(diazzaicosyl)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(((2-(6-(2-(氨基氧基)乙酰胺基)-N-甲基己酰胺基)乙基)(甲基)氨基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(((4-(6-(2-(氨基氧基)乙酰胺基)-N-甲基己酰胺基)丁基)(甲基)氨基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((3-((6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)甲基)吡咯烷-1-基)-S-甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((3-((6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己酰胺基)-R-甲基)吡咯烷-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(2-溴乙酰胺基)乙基)哌嗪-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(2-溴乙酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;7'C-((4-(2-(3-(吡啶-2-基二硫烷基)丙酰胺基)乙基)哌啶-1-基)甲基)-鹅膏蕈毒素;6'0-(6-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)己基)-鹅膏蕈毒素;6'0-(5-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)戊基)-鹅膏蕈毒素;6'0-(2-((6-(马来酰亚胺基)己基)氨基)-2-氧化乙基)-鹅膏蕈毒素;6'0-((6-(马来酰亚胺基)己基)氨基甲酰基)-鹅膏蕈毒素;6'0-((6-(4-((马来酰亚胺基)甲基)环己烷甲酰胺基)己基)氨基甲酰基)-鹅膏蕈毒素;6'0-(6-(2-溴乙酰胺基)己基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(6-(叠氮基)己酰胺基)哌啶-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(2-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)己酰胺基)乙基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素;7'C-(4-(2-(6-(马来酰亚胺基)己酰胺基)己酰胺基)乙基)哌嗪-1-基)-鹅膏蕈毒素;6'0-(6-(6-(11,12-二脱氢-5,6-二氢-二苯并[b,f]氮杂环辛(azocin)-5-基)-6-氧化己酰胺基)己基)-鹅膏蕈毒素;6'0-(6-(己-5-炔酰基氨基)己基)-鹅膏蕈毒素;6'0-(6-(2-(氨基氧基)乙酰基酰胺基)己基)-鹅膏蕈毒素;6'0-((6-(氨基氧基)己基)-鹅膏蕈毒素;和6'0-(6-(2-碘乙酰胺基)己基)-鹅膏蕈毒素。前述接头以及可与本文描述的组合物和方法结合使用的其他接头在例如美国专利申请公布第2015/0218220号中描述,该美国专利申请公布的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0740] 可以被缀合至识别CD2并与CD2结合的抗体及其抗原结合片段(用于在直接治疗癌症或自身免疫性状况中使用或用于调节准备进行造血干细胞移植疗法的患者)的另外的细胞毒素包括但不限于以下:5-乙炔基尿嘧啶、阿比特龙(abiraterone)、酰基富烯(acylfulvene)、阿的培诺(adecylenol)、阿多来新(adozelesin)、阿地白介素、六甲蜜胺、氨莫司汀(ambamustine)、艾美多(amidox)、氨磷汀、氨基乙酰丙酸(aminolevulinic acid)、氨柔比星(amrubicin)、安吖啶、阿那格雷(anagrelide)、阿那曲唑(anastrozole)、穿心莲内酯、血管生成抑制剂、安雷利克斯(antarelix)、抗背部化形态发生蛋白-1、抗雄激素、前列腺癌、抗雌激素、抗新普拉通(antineoplaston)、反义寡核苷酸、甘氨酸阿非迪霉素(aphidicolin glycinate)、凋亡基因调节剂、凋亡调节剂、脱嘌呤核酸、奥沙那宁

(asulacrine)、阿他美坦(atamestane)、阿莫司汀(atrimustine)、阿新司坦汀1(axinastatin 1)、阿新司坦汀2(axinastatin 2)、阿新司坦汀3(axinastatin3)、阿扎司琼(azasetron)、阿扎托新(azatoxin)、重氮酪氨酸、巴卡亭III衍生物(baccatin IIIderivative)、班兰诺(balanol)、巴马司他(batimastat)、BCR/ABL拮抗剂、苯并二氢卟酚类(benzochlorins)、苯甲酰基星形孢菌素(benzoylstaurosporine)、 β -内酰胺衍生物、 β -阿立辛(beta-alethine)、 β 可来霉素B(betaclamycin B)、桦木酸、bFGF抑制剂、比卡鲁胺(bicalutamide)、比生群(bisantrene)、双氮丙啶基精胺(bisaziridinylspermine)、双奈法德(bisnafide)、bistratene A、比折来新(bizelesin)、比锐来特(breflate)、博来霉素A2、博来霉素B2、溴匹立明(propirimine)、布多替钛(budotitane)、丁硫氨酸亚砜亚胺、卡泊三醇、钙磷酸蛋白C(calphostin C)、喜树碱衍生物(例如,10-羟基-喜树碱)、卡培他滨(capecitabine)、甲酰胺-氨基-三唑(carboxamide-amino-triazole)、羧酰胺基三唑(carboxyamidotriazole)、卡折来新(carzelesin)、酪蛋白激酶抑制剂、栗树精胺、杀菌肽B(cecropin B)、西曲瑞克(cetrorelix)、二氢卟吩、氯喹喔啉磺胺、西卡前列素(cicaprost)、顺式卟啉、克拉屈滨(cladribine)、氯米芬及其类似物、克霉唑(collismycin A、collismycin B)、考布他汀A4(combretastatin A4)、考布他汀类似物、康纳京尼(conagenin)、卡那贝西汀816(crambescidin816)、克里斯托(crisnatol)、念珠藻环肽8、念珠藻环肽A衍生物、卡拉新A(curacin A)、环戊蒽醌、环普兰姆(cycloplatam)、西匹霉素(cypemycin)、十八烷基磷酸阿糖胞昔(cytarabine ocfosfate)、溶细胞因子、磷酸己烷雌酚(cytostatin)、达昔单抗(dacliximab)、地西他滨(decitabine)、脱氢膜海鞘素B、2'脱氧柯福霉素(2' deoxyciformycin) (DCF)、地洛瑞林(deslorelin)、右异环磷酰胺(dexifosfamide)、右雷佐生(dexrazoxane)、右维拉帕米(dexverapamil)、地吖啶(diaziquone)、膜海鞘素B、地多西(dodox)、二乙基降精胺(diethylnorspermine)、二氢-5-氮杂胞昔(dihydro-5-azacytidine)、二氢紫杉醇(dihydrotaxol)、二恶霉素(dioxamycin)、二苯基螺莫司汀(diphenyl spiromustine)、圆皮海绵内酯、二十二烷醇(docosanol)、多拉司琼(dolasetron)、去氧氟尿昔、屈洛昔芬(droloxidine)、屈大麻酚、倍癌霉素SA(duocarmycin SA)、依布硒啉(ebselen)、依考莫司汀(ecomustine)、依地福新(edelfosine)、依决洛单抗(edrecolomab)、依氟鸟氨酸(eflornithine)、榄香烯、乙嘧替氟、埃博霉素、epithilones、爱普列特(epristeride)、雌莫司汀及其类似物、依托泊苷(etoposide)、依托泊苷4'-磷酸酯(也被称为etopofos)、依西美坦(exemestane)、法倔唑(dadroazole)、法扎拉滨(dazarabine)、维甲酰酚胺(fenretinide)、非格司亭(filgrastim)、非那雄胺(finasteride)、夫拉平度(flavopiridol)、氟卓斯汀(flezelastine)、夫斯特隆(fluasterone)、氟达拉滨(fludarabine)、盐酸氟道诺霉素(fluorodaunorubicin hydrochloride)、福酚美克(forfenimex)、福美司坦(formestane)、福司曲星(fostriecin)、福莫司汀(fotemustine)、钆德卟啉(gadolinium texaphyrin)、硝酸镓、加洛他滨(galocitabine)、加尼瑞克(ganirelix)、明胶酶抑制剂、吉西他滨(gemcitabine)、谷胱甘肽抑制剂、和普苏姆(hepsulfam)、高三尖杉酯碱(homoharringtonine) (HHT)、金丝桃素、伊班膦酸、艾多昔芬(idoxifene)、伊决孟酮(idramantone)、伊莫福新(ilmofosine)、伊洛马司他(ilomastat)、咪唑吖啶酮(imidazoacridones)、咪喹莫特(imiquimod)、免疫刺激肽、碘苄胍、碘多柔比星、甘薯醇、伊

立替康、伊罗普拉(iroplact)、伊索拉定(irsogladine)、异苯胍唑(isobengazole)、jasplakinolide、kahalalide F、三醋酸层状素N(lamellarin-N triacetate)、兰乐肽(lanreotide)、leinamycin、来格司亭(lenograstim)、硫酸香菇多糖(lentinan sulfate)、雷托他汀(leptolstatin)、来曲唑(letrozole)、亲脂性铂类化合物、立索克林酰胺7(lissoclinamide 7)、洛铂、洛美曲索(lometrexol)、氯尼达明(lonidamine)、洛索蒽醌(losoxantrone)、洛索立宾(loxoridine)、勒托替康(lurtotecan)、镥德卟啉(lutetium texaphyrin)、立索茶碱(lysofylline)、马索罗酚、丝抑蛋白(maspin)、基质金属蛋白酶抑制剂、美诺立尔(menogaril)、rnerbarone、美替瑞林(meterelin)、甲硫氨酸酶、甲氧氯普胺、MIF抑制剂、米非司酮(ifepristone)、米替福新(milt efosine)、米立司亭(mirimostim)、光辉霉素(mithracin)、米托胍腙(mitoguazone)、二溴卫矛醇、丝裂霉素及其类似物、米托萘胺(mitonafide)、米托蒽醌(mitoxantrone)、莫法罗汀(mofarotene)、莫拉司亭(molgramostim)、mycaperoxide B、美瑞泡仁(myriaporone)、N-乙酰基地那林(N-acetyl dinaline)、N-取代苯甲酰胺、那法瑞林(nafarelin)、纳格瑞替(nagrestip)、纳普维(napavin)、萘特非(naphterpin)、那托司亭(nartograstim)、奈达铂(nedaplatin)、奈莫柔比星(nemorubicin)、奈立膦酸、尼鲁米特(nilutamide)、丽沙霉素(nisamycin)、里挫林(nitrullyn)、奥曲肽(octreotide)、奥克恩(okicenone)、奥那司酮(onapristone)、昂丹司琼(ondansetron)、奥拉新(oracin)、奥马铂(ormaplatin)、奥沙利铂(oxaliplatin)、厄诺霉素(oxaunomycin)、紫杉醇及其类似物、帕诺明(palauamine)、十六酰基根霉素(palmitoyl rhizoxin)、帕米膦酸、人参炔三醇、帕诺米芬(panomifene)、帕拉贝新(parabactin)、帕折普汀(pazelliptine)、培门冬酶(pegaspargase)、皮地新(peledesine)、戊聚糖聚硫酸钠、喷司他丁(pentostatin)、喷唑(pentrozole)、潘氟隆(perflubron)、培磷酰胺、苯连氮霉素(phenazinomycin)、皮西板尼(picibanil)、吡柔比星(pirarubicin)、吡曲克辛(piritrexim)、鬼臼毒素(podophyllotoxin)、泊非霉素(porfirromycin)、嘌呤核苷磷酸化酶抑制剂、雷替曲塞(raltitrexed)、根霉素、罗谷亚胺(rogletimide)、罗希吐碱、鲁滨吉隆B1(rubiginone B1)、鲁泊塞(ruboxyl)、沙芬戈(safingol)、圣特平(saintopin)、沙卡弗托A(sarcophytol A)、沙格司亭(sargramostim)、索布佐生(sobuzoxane)、索纳明(sonermin)、斯帕磷酸、斯皮卡霉素D(spicamycin D)、螺莫司汀(spiromustine)、斯替皮米德(stipiamide)、sulfinosine、他莫司汀(tallimustine)、替加氟(tegafur)、替莫唑胺、替尼泊昔、噻立拉斯汀(thaliblastine)、噻考瑞林(thiocoraline)、替拉扎明(tirapazamine)、拓扑替康(topotecan)、托普升替(topsentin)、曲西立滨(triciribine)、三甲曲沙(trimetrexate)、凡拉明、长春瑞滨(vinorelbine)、维萨汀(vinxal tine)、伏罗唑(vorozole)、折尼铂(zeniplatin)和亚苄维C(zilascorb)等。

[0741] 在一些实施方案中,细胞毒素是由式(IV)表示的吡咯并苯二氮卓类二聚体:



[0743] 多种接头可以用于使本文描述的识别CD2并与CD2结合的抗体和抗原结合片段与

细胞毒性分子缀合。

[0744] 如本文使用的,术语“接头”意指包含共价键或原子链的二价化学部分,其将抗体或其片段(Ab)共价附接至药物部分(D)以形成本公开内容的抗体-药物缀合物(ADC;Ab-Z-L-D,其中D是细胞毒素)。合适的接头具有两个反应性末端,一个反应性末端用于与抗体缀合并且另一个反应性末端用于与细胞毒素缀合。接头的抗体缀合反应性末端(反应性部分,Z)通常是能够通过抗体上的半胱氨酸硫醇或赖氨酸胺基团与抗体缀合的位点,并且因此通常是硫醇反应性基团,诸如双键(如马来酰亚胺中的)或离去基团诸如氯、溴、碘或R-磺酰基基团,或胺反应性基团诸如羧基基团;而接头的抗体缀合反应性末端通常是能够通过与细胞毒素上的碱性胺或羧基基团形成酰胺键而与细胞毒素缀合的位点,并且因此通常是羧基或碱性胺基团。当术语“接头”用于描述缀合形式的接头时,由于接头和/或细胞毒素之间以及接头和/或抗体或其抗原结合片段之间的键的形成,一个或两个反应性末端将不存在(诸如反应性部分Z,已经转化为化学部分Z)或不完整(诸如仅仅是羧酸的羰基)。这样的缀合反应在下文中进一步描述。

[0745] 在一些实施方案中,接头在细胞内条件下是可裂解的,使得接头的裂解使药物单元在细胞内环境中从抗体释放。在又其他实施方案中,接头单元是不可裂解的,并且药物通过例如抗体降解而释放。可用于本发明的ADC的接头优选在细胞外稳定,防止ADC分子聚集,并保持ADC在水性介质中和在单体状态下可自由溶解。在转运或递送到细胞中之前,优选地ADC是稳定的并保持完整,即抗体保持与药物部分连接。接头在靶细胞外是稳定的,并且可以在细胞内以某种有效的速率被裂解。有效的接头将会:(i)维持抗体的特异性结合性质;(ii)允许缀合物或药物部分的细胞内递送;(iii)直到缀合物已经被递送或转运至其靶向的位点之前保持稳定和完整,即,不裂解;并且(iv)维持细胞毒性部分的细胞毒性、细胞杀伤作用或细胞抑制作用。ADC的稳定性可以通过标准分析技术诸如质谱、HPLC和分离/分析技术LC/MS进行测量。抗体和药物部分的共价附接要求接头具有两个反应性官能基团,即反应意义上的二价性。可用于附接两个或更多个功能或生物活性部分(诸如肽、核酸、药物、毒素、抗体、半抗原和报告物基团)的二价接头试剂是已知的,并且已经描述了它们产生缀合物的方法(Hermanson,G.T.(1996) *Bioconjugate Techniques*;Academic Press:New York, p.234-242)。

[0746] 接头包括可以例如通过酶水解、光解、酸性条件下的水解、碱性条件下的水解、氧化、二硫化物还原、亲核裂解或有机金属裂解来裂解的那些接头(参见,例如Leriche等,Bioorg.Med.Chem.,20:571-582,2012,该文献的公开内容在其涉及适于共价缀合的接头时通过引用并入本文)。

[0747] 酸性条件下可水解的接头包括例如腙、缩氨基脲、缩氨硫脲、顺式乌头酰胺、原酸酯、缩醛、缩酮等。(参见,例如,美国专利第5,122,368号;第5,824,805号;第5,622,929号;Dubowchik和Walker,1999,Pharm.Therapeutics 83:67-123;Neville等,1989,Biol.Chem.264:14653-14661,其中每一个的公开内容在其涉及适于共价缀合的接头时通过引用以其整体并入本文)。这样的接头在中性pH条件下诸如在血液中的那些中性pH条件下相对稳定,但在pH5.5或5.0(溶酶体的近似pH)以下时不稳定。

[0748] 还原条件下可裂解的接头包括例如二硫化物。多种二硫化物接头是本领域已知的,包括,例如,可以使用以下形成的那些二硫化物接头:SATA(N-琥珀酰亚胺基-S-乙酰硫

代乙酸酯)、SPDP (N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯)、SPDB (N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丁酸酯) 和SMPT (N-琥珀酰亚胺基-氧羰基- α -甲基- α -(2-吡啶基-二硫代)甲苯)、SPDB和SMPT (参见,例如,Thorpe等,1987,Cancer Res.47:5924-5931; Wawrzynczak等,In Immunoconjugates:Antibody Conjugates in Radioimaging and Therapy of Cancer (C.W.Vogel ed.,Oxford U.Press,1987))。还参见美国专利第4,880,935号,其中每一个的公开内容在其涉及适于共价缀合的接头时通过引用以其整体并入本文。

[0749] 可用于合成药物-抗体缀合物的接头的实例包括,含有适于与存在于抗体或抗原结合片段内的亲核取代基(诸如胺和硫醇部分)反应的亲电体的那些,所述亲电体诸如迈克尔受体(Michael acceptor)(例如,马来酰亚胺)、活化酯、缺电子羰基化合物和醛等。例如,适于合成药物-抗体缀合物的接头包括但不限于:琥珀酰亚胺基4-(N-马来酰亚胺基甲基)-环己烷-L-羧酸酯(SMCC)、N-琥珀酰亚胺基碘乙酸酯(SIA)、碘基-SMCC、间-马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯(m-maleimidobenzoyl-N-hydroxysuccinimidyl ester)(MBS)、碘基-MBS和琥珀酰亚胺基碘乙酸酯等,它们在例如Liu等,18:690-697,1979中描述,该文献的公开内容在其涉及用于化学缀合的接头时通过引用并入本文。另外的接头包括不可裂解的马来酰亚胺基己酰基接头,该接头特别可用于微管破坏剂(诸如奥瑞他汀)的缀合,由Doronina等,Bioconjugate Chem.17:14-24,2006描述,该文献的公开内容在其涉及用于化学缀合的接头时通过引用并入本文。适于合成如本文描述的药物-抗体缀合物的另外的接头包括能够通过1,6-消除过程释放细胞毒素的那些接头(“自降解(self-immolative)”基团),诸如对氨基苄醇(PABC)、6-马来酰亚胺基己酸、pH敏感性碳酸酯和在Jain等,Pharm.Res.32:3526-3540,2015中描述的其他试剂,该文献的公开内容通过引用以其整体并入本文。在一些实施方案中,接头包括自降解基团,诸如上文提及的PAB或PABC(对氨基苄氧羰基),其在例如Carl等,J.Med.Chem.(1981)24:479-480;Chakravarty等(1983)J.Med.Chem.26:638-644;US 6214345;US20030130189;US20030096743;US6759509;US20040052793;US6218519;US6835807;US6268488;US20040018194;W098/13059;US20040052793;US6677435;US5621002;US20040121940;W02004/032828中公开。其他的能够进行该过程的这样的化学部分(“自降解接头”)包括亚甲基氨基甲酸酯和杂芳基基团诸如氨基噻唑、氨基咪唑、氨基嘧啶等。含有这样的杂环自降解基团的接头在例如美国专利公布第20160303254号和第20150079114号以及美国专利第7,754,681号;Hay等(1999)Bioorg.Med.Chem.Lett.9:2237;US 2005/0256030;de Groot等(2001)J.Org.Chem.66:8815-8830;和US 7223837中公开。

[0750] 对酶水解易感的接头可以是,例如,被细胞内肽酶或蛋白酶(包括但不限于溶酶体蛋白酶或内体蛋白酶)裂解的含肽接头。使用细胞内蛋白水解释放治疗剂的一个优点是,剂在缀合时通常被削弱,并且缀合物的血清稳定性通常高。在一些实施方案中,肽基接头是至少两个氨基酸长或至少三个氨基酸长。示例性氨基酸接头包括二肽、三肽、四肽或五肽。合适的肽的实例包括含有氨基酸的那些肽,所述氨基酸诸如缬氨酸、丙氨酸、瓜氨酸(Cit)、苯丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸和甘氨酸。构成氨基酸接头组分的氨基酸残基包括天然存在的那些氨基酸残基、以及次要氨基酸和非天然存在的氨基酸类似物诸如瓜氨酸。示例性二肽包括缬氨酸-瓜氨酸(vc或val-cit)和丙氨酸-苯丙氨酸(af或ala-phe)。示例性三肽包括甘氨

酸-缬氨酸-瓜氨酸(gly-val-cit)和甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸(gly-gly-gly)。在一些实施方案中,接头包括二肽,诸如Val-Cit、Ala-Val或Phe-Lys、Val-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Phe-Arg或Trp-Cit。含二肽诸如Val-Cit或Phe-Lys的接头在例如美国专利第6,214,345号中公开,该美国专利的公开内容在其涉及适于共价缀合的接头时通过引用以其整体并入本文。在一些实施方案中,接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中,二肽与自降解接头组合使用。

[0751] 适于本文中使用的接头还可以包括选自以下的一个或更多个基团: C_1-C_6 亚烷基、 C_1-C_6 亚杂烷基、 C_2-C_6 亚烯基、 C_2-C_6 亚杂烯基、 C_2-C_6 亚炔基、 C_2-C_6 亚杂炔基、 C_3-C_6 亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基、亚杂芳基及其组合,其中的每一个可以被任选取代。这样的基团的非限制性实例包括 $(CH_2)_n$ 、 $(CH_2CH_2O)_n$ 和 $-(C=O)-(CH_2)_n-$ 单元,其中n是每次出现时独立地选择的从1-6的整数。

[0752] 在一些实施方案中,接头可以包括以下中的一种或更多种:肼、二硫化物、硫醚、二肽、对氨基苄基(PAB)基团、杂环自降解基团、任选地被取代的 C_1-C_6 烷基、任选地被取代的 C_1-C_6 杂烷基、任选地被取代的 C_2-C_6 烯基、任选地被取代的 C_2-C_6 杂烯基、任选地被取代的 C_2-C_6 炔基、任选地被取代的 C_2-C_6 杂炔基、任选地被取代的 C_3-C_6 环烷基、任选地被取代的杂环烷基、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、酰基、 $-(C=O)-$ 或 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 基团,其中n是从1-6的整数。本领域技术人员将认识到,所列出的一个或更多个基团可以以二价(二价基)物类的形式存在,例如 C_1-C_6 亚烷基等。

[0753] 在一些实施方案中,接头包括对氨基苄基基团(PAB)。在一种实施方案中,对氨基苄基基团布置于细胞毒性药物和接头中的蛋白酶裂解位点之间。在一种实施方案中,对氨基苄基基团是对氨基苄基氧羰基单元的一部分。在一种实施方案中,对氨基苄基基团是对氨基苄基酰氨基单元的一部分。

[0754] 在一些实施方案中,接头包括PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB或Ala-PAB。

[0755] 在一些实施方案中,接头包括以下中的一种或更多种的组合:肽、寡糖、 $-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、PAB、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB或Ala-PAB。

[0756] 在一些实施方案中,接头包括 $-(C=O)-(CH_2)_n-$ 单元,其中n是从1-6的整数。

[0757] 在一些实施方案中,接头包括 $-(CH_2)_n-$ 单元,其中n是从2至6的整数。

[0758] 在某些实施方案中,ADC的接头是N-β-马来酰亚胺丙基-Val-Ala-对氨基苄基(BMP-Val-Ala-PAB)。

[0759] 可以用于将抗体或其抗原结合片段与细胞毒性剂缀合的接头包括以下那些接头:其在接头的一个末端与细胞毒性剂共价结合,并且在接头的另一个末端含有化学部分,所述化学部分由存在于接头上的反应性取代基与存在于与CD2结合的抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基之间的偶联反应形成。可以存在于与CD2结合的抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基包括但不限于,丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基的羟基部分;赖氨酸残基的氨基部分;天冬氨酸和谷氨酸残基的羧基部分;和半胱氨酸残基的巯醇部分,以及非天然存在的氨基酸的炔丙基、叠氮基、卤代芳基(例如,氟芳基)、卤代杂芳基(例如,氟杂芳基)、卤

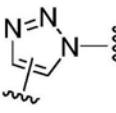
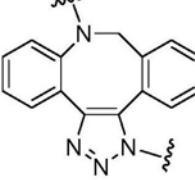
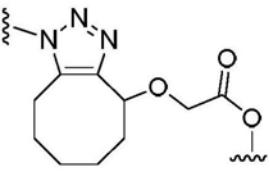
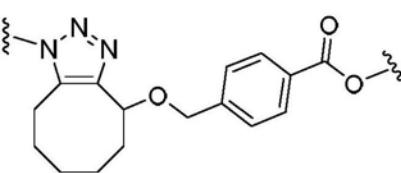
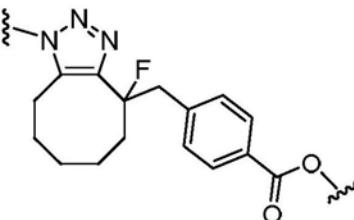
代烷基和卤代杂烷基部分。

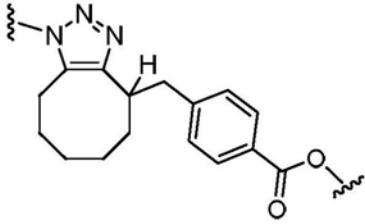
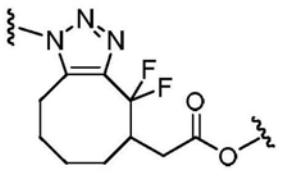
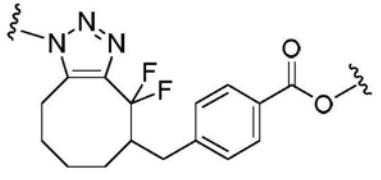
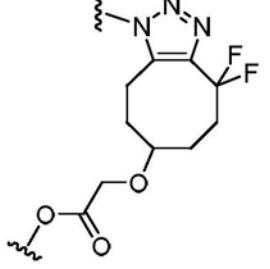
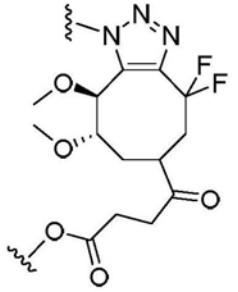
[0760] 可用于合成药物-抗体缀合物的接头的实例包括,含有适于与存在于抗体或抗原结合片段内的亲核取代基(诸如胺和硫醇部分)反应的亲电体的那些接头,所述亲电体诸如迈克尔受体(例如,马来酰亚胺)、活化酯、缺电子羰基化合物和醛等。例如,适于合成药物-抗体缀合物的接头包括但不限于:琥珀酰亚胺基4-(N-马来酰亚胺基甲基)-环己烷-L-羧酸酯(SMCC)、N-琥珀酰亚胺基碘乙酸酯(SIA)、磺基-SMCC、间-马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯(MBS)、磺基-MBS和琥珀酰亚胺基碘乙酸酯等,它们在例如Liu等,18:690-697,1979中描述,该文献的公开内容在其涉及用于化学缀合的接头时通过引用并入本文。另外的接头包括不可裂解的马来酰亚胺基己酰基接头,该接头特别可用于微管破坏剂(诸如奥瑞他汀)的缀合,由Doronina等,Bioconjugate Chem.17:14-24,2006描述,该文献的公开内容在其涉及用于化学缀合的接头时通过引用并入本文。

[0761] 本领域技术人员将认识到,本文公开的任何一种或更多种化学基团、部分和特征可以以多种方式组合,以形成可用于如本文公开的抗体和细胞毒素的缀合的接头。可与本文描述的组合物和方法结合使用的其他接头在例如美国专利申请公布第2015/0218220号中描述,该美国专利申请公布的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0762] 可与本文描述的抗体-药物缀合物结合使用的接头包括但不限于含有如下文表1中描绘的由偶联反应形成的化学部分的接头。曲线分别表示与抗体或抗原结合片段和细胞毒性分子的附接点。

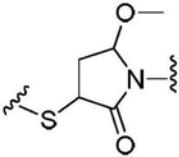
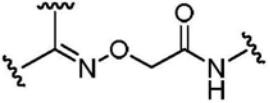
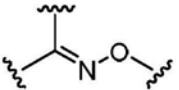
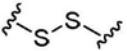
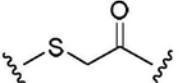
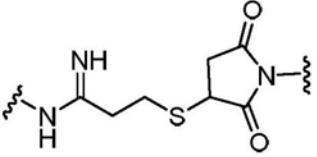
[0763] 表1.在抗体-药物缀合物的形成中由偶联反应形成的示例性化学部分

| 示例性偶联反应 | 由偶联反应形成的化学部分 Z |
|------------------------|--|
| [3+2]环加成 |  |
| [3+2]环加成 |  |
| [3+2]环加成、 [0764] 酯化 |  |
| [3+2]环加成、 酯化 |  |
| [3+2]环加成、 酯化 |  |

| | |
|---------------------------------------|---|
| <p>[3+2]环加成、 酯化</p> |  |
| <p>[3+2]环加成、 酯化</p> |  |
| <p>[3+2]环加成、 酯化</p> |  |
| <p>[0765]</p> <p>[3+2]环加成、 酯化</p> |  |
| <p>[3+2]环加成、 酯化</p> |  |

| | |
|--------------------------|--|
| [3+2]环加成、 酯化 | |
| [3+2]环加成、 酯化 | |
| [0766] | |
| [3+2]环加成、 醚化作用 | |
| [3+2]环加成 | |
| 迈克尔加成 (Michael addition) | |

[0767]

| | |
|----------|---|
| 迈克尔加成 |  |
| 亚胺缩合、酰胺化 |  |
| 亚胺缩合 |  |
| 二硫化物形成 |  |
| 硫醇烷基化 |  |
| 缩合、迈克尔加成 |  |

[0768] 本领域技术人员将认识到,附接至接头的反应性取代基Z和抗体或其抗原结合片段上的反应性取代基参与共价偶联反应以产生化学部分Z,并且将认识到反应性取代基Z。因此,可与本文描述的方法结合使用的抗体-药物缀合物可以通过抗体或其抗原结合片段与如本文描述的接头或细胞毒素-接头缀合物反应而形成,接头或细胞毒素-接头缀合物包括反应性取代基Z,反应性取代基Z适于与抗体或其抗原结合片段上的反应性取代基反应,以形成化学部分Z。

[0769] 如表3中描绘的,接头和抗体或其抗原结合片段上的合适反应性取代基的实例包括亲核体/亲电体对(例如硫醇/卤代烷基对、胺/羧基对或硫醇/ α,β -不饱和羧基对等)、二烯/亲二烯体对(例如叠氮化物/炔烃对或二烯/ α,β -不饱和羧基对等)等。反应性取代基之间形成化学部分Z的偶联反应包括但不限于硫醇烷基化、羟基烷基化、胺烷基化、胺或羟胺缩合、肼形成、酰胺化、酯化、二硫化物形成、环加成(例如,[4+2]狄尔斯-阿尔德环加成、[3+2]Huisgen环加成等)、亲核芳族取代、亲电芳族取代和本领域已知或本文描述的其他反应范式。优选地,接头包含用于与抗体或其抗原结合片段上的亲核官能基团反应的亲电官能基团。

[0770] 可以存在于如本文公开的抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基包括但不限于亲核基团,诸如(i)N-末端胺基团,(ii)侧链胺基团,例如赖氨酸,(iii)侧链硫醇基团,例如半胱氨酸,和(iv)糖羟基或氨基基团,其中抗体被糖基化。可以存在于如本文公开的抗体

或其抗原结合片段内的反应性取代基包括但不限于，丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基的羟基部分；赖氨酸残基的氨基部分；天冬氨酸和谷氨酸残基的羧基部分；和半胱氨酸残基的硫醇部分，以及非天然存在的氨基酸的炔丙基、叠氮基、卤代芳基（例如，氟芳基）、卤代杂芳基（例如，氟杂芳基）、卤代烷基和卤代杂烷基部分。在一些实施方案中，存在于如本文公开的抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基包括胺或硫醇部分。某些抗体具有可还原的链间二硫化物，即半胱氨酸桥。通过用还原剂诸如DTT（二硫苏糖醇）处理，可以使抗体对于与接头试剂发生缀合是反应性的。因此，理论上，每个半胱氨酸桥将形成两个反应性硫醇亲核体。通过赖氨酸与2-亚氨基硫杂环戊烷（Traut试剂）的反应引起胺转化为硫醇，可以将另外的亲核基团引入抗体中。通过引入一个、两个、三个、四个或更多个半胱氨酸残基（例如，制备包含一个或更多个非天然半胱氨酸残基的突变体抗体），可以将反应性硫醇基团引入抗体（或其片段）中。美国专利第7,521,541号教导了通过引入反应性半胱氨酸氨基酸来工程化抗体。

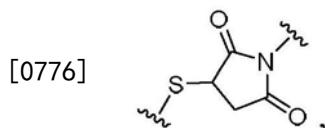
[0771] 在一些实施方案中，附接至接头的反应性部分Z是与存在于抗体上的亲电基团反应的亲核基团。抗体上有用的亲电基团包括但不限于醛和酮羰基基团。亲核基团的杂原子可以与抗体上的亲电基团反应并与抗体形成共价键。有用的亲核基团包括但不限于酰肼、肟、氨基、羟基、肼、缩氨硫脲、羧酸肼和芳基酰肼。

[0772] 在一些实施方案中，Z是存在于抗体或其抗原结合片段内的反应性亲核取代基（诸如胺和硫醇部分）与反应性亲电取代基Z之间的反应产物。例如，Z可以是迈克尔受体（例如马来酰亚胺）、活化酯、缺电子羰基化合物或醛等。

[0773] 在一些实施方案中，ADC包含抗CD2抗体，所述抗CD2抗体经由接头和化学部分Z与如本文公开的式I、IA、IB、II、IIA或IIB中任一种的鹅膏蕈毒素缀合。在一些实施方案中，接头包括二肽。在一些实施方案中，接头包括选自Val-Ala和Val-Cit的二肽。在一些实施方案中，接头包括对氨基苯基基团（PAB）。在一些实施方案中，接头包括PAB-Cit-Val部分。在一些实施方案中，接头包括PAB-Ala-Val部分。在一些实施方案中，接头包括-((C=O)(CH₂)_n-单元，其中n是从1-6的整数。在一些实施方案中，接头是-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n-。

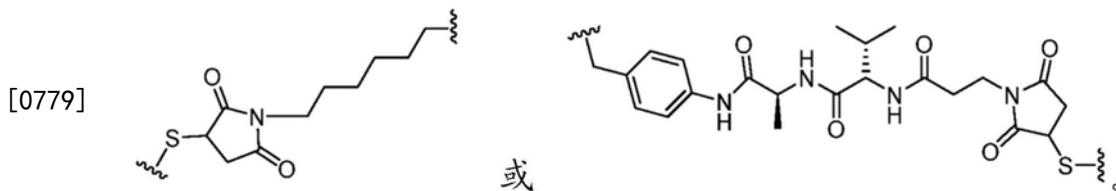
[0774] 在一些实施方案中，接头包括-(CH₂)_n-单元，其中n是从2-6的整数。在一些实施方案中，接头是-PAB-Cit-Val-((C=O)(CH₂)_n-。在一些实施方案中，接头是-PAB-Ala-Val-((C=O)(CH₂)_n-。在一些实施方案中，接头是-(CH₂)_n-。在一些实施方案中，接头是-((CH₂)_n-，其中n是6。

[0775] 在一些实施方案中，化学部分Z选自表1。在一些实施方案中，化学部分Z是



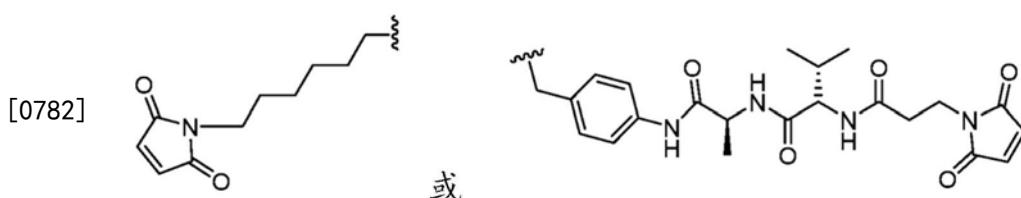
[0777] 其中S是硫原子，表示存在于与CD2结合的抗体或其抗原结合片段内的反应性取代基（例如，来自半胱氨酸残基的-SH基团）。

[0778] 在一些实施方案中，接头L和化学部分Z（合在一起称为L-Z）是



[0780] 本领域技术人员将认识到,在与抗体或其抗原结合片段缀合之前,接头-反应性取代基基团结构包括作为基团Z的马来酰亚胺。可与本文描述的组合物和方法结合使用的前述接头部分和鹅膏蕈毒素-接头缀合物等,在例如美国专利申请公布第2015/0218220号和专利申请公布第W02017/149077号中描述,其中每一个的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0781] 在一些实施方案中,在与抗体或其抗原结合片段缀合之前,接头-反应性取代基基团结构是:



[0783] 抗体-药物缀合物的制备

[0784] 在如本文公开的式I的ADC中,抗体或其抗原结合片段通过如本文公开的接头L和化学部分Z与一个或更多个细胞毒性药物部分(D)缀合,例如每个抗体与约1个至约20个药物部分缀合。本公开内容的ADC可以通过若干途径,采用本领域技术人员已知的有机化学反应、条件和试剂来制备,包括:(1)抗体或其抗原结合片段的反应性取代基与二价接头试剂反应以形成如上文描述的Ab-Z-L,随后与药物部分D反应;或(2)药物部分的反应性取代基与二价接头试剂反应以形成D-L-Z,随后与如上文描述的抗体或其抗原结合片段的反应性取代基反应,以形成式D-L-Z-Ab的ADC,诸如Am-Z-L-Ab。本文描述了另外的用于制备ADC的方法。

[0785] 在另一方面,抗体或其抗原结合片段具有可以被化学地修饰以引入一个或更多个巯基基团的一个或更多个赖氨酸残基。然后,通过由巯基基团的硫原子缀合而形成ADC,如上文描述的。可以用于修饰赖氨酸的试剂包括,但不限于,N-琥珀酰亚胺基S-乙酰硫代乙酸酯(SATA)和2-亚氨基硫杂环戊烷盐酸盐(Traut试剂)。

[0786] 在另一方面,抗体或其抗原结合片段可以具有可以被化学地修饰以具有一个或更多个巯基基团的一个或更多个碳水化合物基团。然后,通过由巯基基团的硫原子缀合而形成ADC,如上文描述的。

[0787] 在又另一方面,抗体可以具有可以被氧化以提供醛(-CHO)基团的一个或更多个碳水化合物基团(参见,例如,Laguzza等,J.Med.Chem.1989,32(3),548-55)。然后,通过由相应的醛缀合而形成ADC,如上文描述的。用于修饰蛋白质以便附接或缔合细胞毒素的其他方案在通过引用并入本文的Coligan等,Current Protocols in Protein Science,vol.2,John Wiley&Sons(2002)中描述。

[0788] 用于将接头-药物部分与细胞靶向的蛋白质(诸如抗体、免疫球蛋白或其片段)缀合的方法见于,例如,美国专利第5,208,020号;美国专利第6,441,163号;WO2005037992;

WO2005081711; 和 WO2006/034488, 其全部在此通过引用以其整体明确地并入本文。

[0789] 可选地, 可以例如通过重组技术或肽合成为制备包含抗体和细胞毒性剂的融合蛋白。DNA 的长度可以包括编码缀合物的两个部分的相应区域, 所述相应区域彼此相邻或者被编码不会破坏缀合物的期望的性质的接头肽的区域分开。

[0790] 治疗方法

[0791] 如本文描述的, 可以将造血干细胞移植疗法施用至需要治疗的受试者, 以便填充或重新填充一种或更多种血细胞类型。造血干细胞通常表现出多潜能并且因此可以分化成多种不同的血液谱系, 包括但不限于粒细胞(例如, 早幼粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞)、红细胞(例如, 网织红细胞、红细胞)、凝血细胞(例如, 巨核细胞、产生血小板的巨核细胞、血小板)、单核细胞(例如, 单核细胞、巨噬细胞)、树突细胞、小胶质细胞、破骨细胞和淋巴细胞(例如NK细胞、B细胞和T细胞)。造血干细胞还能够自我更新并且因此可以产生具有与母细胞等同的潜能的子细胞, 并且特征还在于被重新引入移植受体的能力, 在移植受体中它们归巢至造血干细胞小生境并且重建有效且持续的造血作用。

[0792] 因此, 可以将造血干细胞施用至一种或更多种造血谱系细胞类型有缺失的或有缺陷的患者以便使有缺失的或有缺陷的细胞的群体在体内重建, 从而治疗与内源性血细胞群体的缺失或耗尽相关的病症。因此, 本文描述的组合物和方法可以用于治疗非恶性血红蛋白病(例如, 选自由镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血和威斯科特-奥尔德里奇综合征组成的组的血红蛋白病)。另外地或可选地, 本文描述的组合物和方法可以用于治疗免疫缺陷, 诸如先天性免疫缺陷。另外地或可选地, 本文描述的组合物和方法可以用于治疗获得性免疫缺陷(例如, 选自由HIV和AIDS组成的组的获得性免疫缺陷)。本文描述的组合物和方法可以用于治疗代谢紊乱(例如, 选自由糖原贮积症、黏多糖贮积症、戈谢氏病、赫尔勒病、鞘脂贮积症和异染性脑白质营养不良组成的组的代谢紊乱)。

[0793] 另外地或可选地, 本文描述的组合物和方法可以用于治疗恶性肿瘤或增殖性紊乱, 诸如血液学癌症、骨髓增殖性疾病。在癌症治疗的情况下, 本文描述的组合物和方法可以在造血干细胞移植疗法之前施用至患者, 以便耗尽与非自身造血干细胞交叉反应并且产生针对非自身造血干细胞的免疫应答的免疫细胞的群体。这用于预防或降低移植的造血干细胞移植物的排斥的可能性, 允许移植的造血干细胞归巢至干细胞小生境并建立有效造血作用。这进而可以使在癌细胞根除期间(诸如在全身性化学疗法期间)耗尽的细胞的群体重建。可以使用本文描述的组合物和方法治疗的示例性血液学癌症包括但不限于急性髓细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性髓细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤, 以及其他癌症状况, 包括神经母细胞瘤。

[0794] 可以用本文描述的组合物和方法治疗的另外的疾病包括但不限于腺苷脱氨酶缺乏和重症联合免疫缺陷、高免疫球蛋白M综合征、切东病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化症、成骨不全症、贮积症、重型地中海贫血、系统性硬化、系统性红斑狼疮、多发性硬化和幼年型类风湿性关节炎。

[0795] 本文描述的抗体或其抗原结合片段和缀合物可以用于诱导实体器官移植耐受性。例如, 本文描述的组合物和方法可以用于在造血干细胞移植之前耗尽或消融免疫细胞的群体。在这样从靶组织耗尽细胞之后, 来自器官供体的干细胞或祖细胞(例如, 来自器官供体的造血干细胞)的群体可以施用至移植受体, 并且在植入这样的干细胞或祖细胞之后, 可以

实现临时或稳定的混合嵌合体,从而能够在不需要进一步的免疫抑制剂的情况下产生长期移植器官耐受性。通过施用抗CD2抗体或其抗原结合片段,可以降低移植的移植物排斥的可能性,或者可以完全预防排斥。以这种方式,本文描述的组合物和方法可以用于在实体器官移植受体(例如,肾移植、肺移植、肝移植和心脏移植等)中诱导移植耐受性。例如,因为低百分比的临时或稳定供体植入足以诱导移植的器官的长期耐受性,本文描述的组合物和方法非常适于在诱导实体器官移植耐受性中结合使用。

[0796] 此外,本文描述的组合物和方法可以用于直接治疗癌症,诸如特征为CD2+细胞的癌症。例如,本文描述的组合物和方法可以用于治疗特别是在表现出CD2+白血病细胞的患者中的白血病。通过耗尽CD2+癌细胞,诸如白血病细胞,本文描述的组合物和方法可以用于直接治疗多种癌症。可以以这种方式治疗的示例性癌症包括血液学癌症,诸如急性髓细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性髓细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤。

[0797] 此外,本文描述的组合物和方法可以用于治疗自身免疫性紊乱。例如,可以将抗体或其抗原结合片段施用至受试者,诸如患有自身免疫性紊乱的人类患者,以便杀伤CD2+免疫细胞。CD2+免疫细胞可以是自身反应性淋巴细胞,诸如表达与自身抗原特异性结合的T细胞受体并产生针对自身抗原的免疫应答的T细胞。本文描述的组合物和方法可以通过耗尽自身反应性CD2+细胞用于治疗自身免疫性疾病,诸如下文描述的那些病症。另外地或可选地,本文描述的组合物和方法可以用于通过在造血干细胞移植疗法之前耗尽内源性造血干细胞的群体来治疗自身免疫性疾病,在这种情况下移植的细胞可以归巢至由内源性细胞耗尽步骤产生的小生境并建立有效造血作用。这进而可以使在自身免疫性细胞根除期间耗尽的细胞的群体重建。

[0798] 可以使用本文描述的组合物和方法治疗的自身免疫性疾病包括但不限于银屑病、银屑病关节炎、1型糖尿病(Type 1 diabetes mellitus, Type 1 diabetes)、类风湿性关节炎(RA)、人类系统性狼疮(SLE)、多发性硬化(MS)、炎性肠病(IBD)、淋巴细胞性结肠炎、急性播散性脑脊髓炎(ADEM)、艾迪生氏病、普秃、强直性脊柱炎、抗磷脂抗体综合征(APS)、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病(AIED)、自身免疫性淋巴增生性综合征(ALPS)、自身免疫性卵巢炎、巴洛病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病、慢性疲劳免疫功能障碍综合征(CFIDS)、慢性炎性脱髓鞘多发性神经病、克罗恩氏病、瘢痕性类天疱疮、乳糜泻-疱疹样皮炎、冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病、盘状狼疮、自主神经功能障碍、子宫内膜异位症、特发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、肺出血肾炎综合征、格雷夫斯病、吉兰-巴雷综合征(GBS)、桥本氏甲状腺炎、化脓性汗腺炎、特发性和/或急性血小板减少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病变、间质性膀胱炎、幼年型关节炎、川崎病、扁平苔藓、莱姆病、梅尼埃病、混合性结缔组织病(MCTD)、重症肌无力、神经性肌强直、斜视性眼阵挛肌阵挛综合征(OMS)、视神经炎、奥德氏甲状腺炎、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮肌炎、原发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺体综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象、莱特尔综合征、风湿热、结节病、硬皮病、干燥综合征、僵人综合征、大动脉炎、颞动脉炎(也称为“巨细胞动脉炎”)、溃疡性结肠炎、胶原性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛(“外阴前庭炎”)和韦格纳肉芽肿病。

[0799] 例如,使用本文描述的组合物和方法,本领域技术人员可以向患有自身免疫性紊乱的受试者施用足以治疗自身免疫性病症的数量的抗CD2抗体或其抗原结合片段。例如,受试者可能患有硬皮病、多发性硬化、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病和/或1型糖尿病。为了改善一种或更多种这些状况,本领域技术医师可以给受试者开出并施用抗CD2抗体或其片段,诸如与细胞毒性剂结合的抗体或其片段。抗体或其片段可以使用上文详细描述的缀合技术和接头与细胞毒性剂缀合。多种细胞毒性剂可以与抗CD2抗体或其抗原结合片段缀合,以便耗尽受试者中内源性、自身反应性CD2+ T细胞或NK细胞的群体。例如,抗体或其抗原结合片段可以与本文描述的鹅膏蕈毒素或另一种细胞毒素部分缀合。

[0800] 在准备进行疗法时,医师可以评估从受试者分离的样品中的自身反应性T细胞和/或NK细胞的数量或浓度。这可以例如使用本领域已知的FACS分析技术完成。然后,本领域技术人员可以向受试者施用单独的或与细胞毒素缀合的抗体或其片段,以便耗尽自身反应性T细胞和/或NK细胞的群体。为了评价疗法的效力,医师可以确定在施用抗CD2抗体或其片段之后的时间从患者分离的样品中的自身反应性T细胞和/或NK细胞的数量或浓度。确定相对于疗法之前的T细胞或NK细胞的数量或浓度的、在疗法之后从受试者分离的样品中的自身反应性T细胞和/或NK细胞的数量或浓度提供了一种指示,即患者对抗CD2抗体或其片段有响应。

[0801] 包含抗CD2抗体或其抗原结合片段的抗体药物缀合物也可以与CAR T疗法联合使用。具体地,在CAR T治疗之前,可以向有相应需要的患者施用有效量的抗CD2抗体药物缀合物,以便耗尽天然T细胞。使用本文描述的方法和组合物耗尽表达CD2的天然T细胞,可以提供CAR T疗法中使用的工程化T细胞的更有效转移。

[0802] 施用和给药途径

[0803] 本文描述的抗体或其抗原结合片段可以以多种剂型施用至患者(例如,需要造血干细胞移植疗法的人类患者)。例如,本文描述的抗体或其抗原结合片段可以以水性溶液的形式施用至需要造血干细胞移植疗法和/或患有癌症或自身免疫性疾病的患者,所述水性溶液诸如含有一种或更多种药学上可接受的赋形剂的水性溶液。用于与本文描述的组合物和方法一起使用的示例性药学上可接受的赋形剂是黏度调节剂。水性溶液可以使用本领域已知的技术灭菌。

[0804] 本文描述的抗体和抗原结合片段可以通过多种途径,诸如口服、经皮、皮下、鼻内、静脉内、肌肉内、眼内或肠胃外施用。在任何给定情况下,最合适的施用途径将取决于所施用的特定抗体或抗原结合片段、患者、药物制剂方法、施用方法(例如,施用时间和施用途径)、患者的年龄、体重、性别、所治疗疾病的严重程度、患者的饮食和患者的排泄速率。

[0805] 本文使用的抗体或其抗原结合片段的有效剂量的范围可以在例如每单次(例如,团注(bolus))施用、多次施用或连续施用约0.001mg/kg体重至约100mg/kg体重,或者以达到抗体或其抗原结合片段的最佳血清浓度(例如,约0.0001μg/mL至约5000μg/mL的血清浓度)。剂量可以每天、每周或每月一次或更多次(例如,约2-10次)施用至正在进行调节疗法以准备接受造血干细胞移植植物的受试者(例如,人类)。抗体或其抗原结合片段可以在最佳促进外源性造血干细胞的植入的时间施用至患者,例如,在造血干细胞移植之前最佳耗尽与非自身造血干细胞抗原(例如,由造血干细胞表达的非自身MHC抗原)交叉反应的CD2+ T细胞或NK细胞的时间施用至患者。例如,抗CD2抗体及其抗原结合片段可以在施用外源性造

血干细胞移植植物之前约1小时至约1周(例如,约1小时、约2小时、约3小时、约4小时、约5小时、约6小时、约7小时、约8小时、约9小时、约10小时、约11小时、约12小时、约13小时、约14小时、约15小时、约16小时、约17小时、约18小时、约19小时、20小时、约21小时、约22小时、约23小时、约24小时、约2天、约3天、约4天、约5天、约6天或约7天;或约1天至3天;约1天至4天;约12小时至3天)或更早施用至正在进行造血干细胞移植疗法的患者。抗体的半衰期可以在约1小时至约24小时之间(例如,约1小时、约2小时、约3小时、约4小时、约5小时、约6小时、约7小时、约8小时、约9小时、约10小时、约11小时、约12小时、约13小时、约14小时、约15小时、约16小时、约17小时、约18小时、约19小时、约20小时、约21小时、约22小时、约23小时或约24小时)。

[0806] 在一种实施方案中,抗CD2抗体(或其含Fc的片段)具有降低的半衰期(与野生型Fc区相比),其中抗体的Fc区包含H435A突变(根据EU索引编号)。

[0807] 根据本文公开的方法,本领域技术医师可以在造血干细胞移植疗法之前对患者(诸如人类患者)进行调节,以便促进外源性造血干细胞移植植物的植入。为此,本领域技术医师可以向人类患者施用能够与CD2结合的抗体或其抗原结合片段,诸如本文描述的抗CD2抗体。抗体或其片段可以与毒素(诸如本文描述的或本领域已知的细胞毒性分子)或Fc结构域共价缀合。例如,抗CD2抗体或其抗原结合片段可以与细胞毒素共价缀合,所述细胞毒素诸如假单胞菌外毒素A、deBouganin、白喉毒素、鹅膏蕈毒素(诸如 α -鹅膏蕈碱)、皂草素、美登素、美登木素生物碱、奥瑞他汀、蒽环霉素、加利车霉素、伊立替康、SN-38、倍癌霉素、吡咯并苯二氮卓类、吡咯并苯二氮卓类二聚体、吲哚并苯二氮卓类和吲哚并苯二氮卓类二聚体,或其变体。这种缀合可以使用本文描述的或本领域已知的共价键形成技术进行。抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物可以随后例如通过静脉内施用施用至患者,然后将外源性造血干细胞(诸如自体、同系或同种异体造血干细胞)移植至患者。

[0808] 抗CD2抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物可以足以在造血干细胞移植疗法之前将内源性T细胞(诸如骨髓驻留T细胞(bone marrow resident T cells))的数量降低例如约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%、约10%至90%、约10%至70%、约10%至60%或更多的量施用。T细胞计数的降低可以使用本领域已知的常规技术来监测,诸如通过对在调节疗法期间以不同的时间间隔从患者抽取的血液样品中的表达特征T细胞表面抗原的细胞的FACS分析来监测。例如,本领域技术医师可以在调节疗法期间的多个时间点从患者抽取骨髓样品并且通过进行FACS分析来确定内源性T细胞减少的程度,所述FACS分析使用与T细胞标志物抗原结合的抗体来阐明样品中T细胞的相对浓度。根据一些实施方案,当T细胞的浓度已经响应于用抗CD2抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物的调节疗法达到最小值时,医师可以结束调节疗法,并且可以开始准备患者用于进行造血干细胞移植疗法。

[0809] 抗CD2抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物可以含有种或更多种药学上可接受的赋形剂(诸如黏度调节剂)的水性溶液施用至患者。水性溶液可以使用本文描述的或本领域已知的技术灭菌。在将造血干细胞移植植物施用至患者之前,可以例如约0.001mg/kg至约100mg/kg的剂量将抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物施用至患者。抗体、其抗原结合片段或抗体-药物缀合物可以在最佳促进外源性造血干细胞的植入的时间施用至患者,所述时间例如施用外源性造血干细胞移植植物之前约1小时至约1周(例如,约

1小时、约2小时、约3小时、约4小时、约5小时、约6小时、约7小时、约8小时、约9小时、约10小时、约11小时、约12小时、约13小时、约14小时、约15小时、约16小时、约17小时、约18小时、约19小时、约20小时、约21小时、约22小时、约23小时、约24小时、约2天、约3天、约4天、约5天、约6天或约7天)或更早。

[0810] 在结束调节疗法之后,然后患者可以接受诸如由进行调节疗法的同一医师或由不同医师进行的外源性造血干细胞的输注(例如,静脉内输注)。医师可以例如以约 1×10^3 个至约 1×10^9 个造血干细胞/kg的剂量向患者施用自体、同系或同种异体造血干细胞的输注。医师可以监测造血干细胞移植物的植入,例如,通过在施用移植物之后从患者抽取血液样品并确定造血干细胞或造血谱系的细胞(诸如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞)的浓度的增加来监测。该分析可以在例如造血干细胞移植疗法之后1小时至6个月或更长时间(例如,约1小时、约2小时、约3小时、约4小时、约5小时、约6小时、约7小时、约8小时、约9小时、约10小时、约11小时、约12小时、约13小时、约14小时、约15小时、约16小时、约17小时、约18小时、约19小时、约20小时、约21小时、约22小时、约23小时、约24小时、2天、3天、4天、5天、6天、7天、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周、16周、17周、18周、19周、20周、21周、22周、23周、24周或更长时间)进行。发现造血干细胞或造血谱系的细胞的浓度在移植疗法之后相对于移植疗法之前的相应细胞类型的浓度已经增加(例如,增加约1%、约2%、约3%、约4%、约5%、约6%、约7%、约8%、约9%、约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约100%、约200%、约500%或更多),这提供了一种指示,即用抗CD2抗体、其抗原结合片段、抗体-药物缀合物治疗已经成功地促进了移植的造血干细胞移植物的植入。

实施例

[0811] 示出以下实施例以便为本领域普通技术人员提供可以如何使用、制备和评价本文描述的组合物和方法的描述,并且预期是本发明的单纯示例,并且不预限制本发明人视为他们的发明的范围。

[0812] 实施例1:抗CD2抗体的体外结合分析。

[0813] 为了确定抗CD2抗体RPA-2.10 mIgG1和Ab1 hIgG1的结合特征,使用生物层干涉法用Pall ForteBio Octet Red96(BLI)在25摄氏度在补充有0.1%w/v牛血清白蛋白的1×PBS中进行抗体结合研究。将指示的纯化的人类抗体(Ab1-hIgG1)或鼠抗体(RPA-2.10 mIgG1)固定在抗人类Fc生物传感器(AHC; Pall ForteBio 18-5063)或抗鼠Fc生物传感器(AMQ; Pall ForteBio 18-5090)上,并与50nM的纯化的人类CD2胞外域(Sigma Aldrich与Catalog#5086)孵育。表2中示出了每个IgG与纯化的人类CD2胞外域的表观单价亲和力(K_D)、表观缔合速率(K_{ON})和表观解离速率(K_{DIS}),所述表观单价亲和力(K_D)、表观缔合速率(K_{ON})和表观解离速率(K_{DIS})通过局部完全拟合用1:1结合模型确定,如通过ForteBio数据分析软件版本10计算的。

[0814] 实施例2至6中提供了抗CD2抗体的进一步表征。

[0815] 表2:指示的IgG抗体与人类CD2胞外域的结合动力学

| [0816] | 抗体 | 浓度 (nM) | 响应(nm) | K _D (M) | K _{ON} (1/Ms) | K _{DIS} (1/s) | 完全 R ² |
|--------|-----------|------------|--------|--------------------|---------------------------|------------------------|-------------------|
| | mRPA-2.10 | 50 | 0.1807 | 2.00E-09 | 8.60E+04 | 1.72E-04 | 0.9952 |
| | Ab1 | 50 | 0.0615 | 2.12E-09 | 1.36E+05 | 2.89E-04 | 0.9683 |

[0817] 实施例2:抗CD2抗体的体外细胞系结合分析

[0818] MOLT-4细胞(即永生化的人类T淋巴母细胞细胞系)以20,000个细胞/孔铺板,并用指示的鼠抗CD2抗体(即RPA-2.10、TS1/8、BH1、UMCD2、1E7E8.G4或LT2)的滴定在4℃染色2小时。以恒定量添加二级抗小鼠AF488染料,在4℃放置30分钟。洗涤后,在流式细胞仪上运行板,并基于AF488通道中的几何平均荧光强度确定指示的抗体(和阴性对照,即mIgG1)的结合。图1中提供了来自这些测定的结果。

[0819] 如图1中示出的,鼠抗CD2抗体RPA-2.10、TS1/8、BH1、UMCD2、1E7E8.G4和LT2与人类T淋巴母细胞(即MOLT-4细胞)结合,EC₅₀=160pM(RPA-2.10)、125pM(TS1/8)、639pM(BH1)、151pM(UMCD2)、134pM(1E7E8)和60pM(LT2)。

[0820] 实施例3:抗CD2抗体的体外原代细胞结合分析

[0821] 原代人类T细胞以8×10⁴个细胞/孔铺板,并用鼠抗CD23抗体RPA-2.10的滴定在37℃染色2小时。以恒定量添加与一级抗体相关的二级抗小鼠或抗人类AF488染料,在4℃放置30分钟。洗涤后,在流式细胞仪上运行板,并基于AF488通道中的几何平均荧光强度确定指示的抗体(和阴性对照,即,mIgG1或hIgG1)的结合。图2中提供了来自这些测定的结果。

[0822] 如图2中示出的,鼠抗CD2抗体RPA-2.10与原代人类T细胞结合,EC₅₀=1.84pM(RPA-2.10)。

[0823] 实施例4.使用体外T细胞杀伤测定对抗CD2-鹅膏蕈碱抗体药物缀合物(ADC)的体外分析

[0824] 抗CD2抗体RPA 2.10用可裂解接头与鹅膏蕈素缀合以形成抗CD2-ADC。一种具有6的平均链间药物抗体比(DAR)的抗CD2-ADC从鼠抗CD2抗体RPA-2.10制备。具有2的平均DAR的第二种抗CD2-ADC使用RPA-2.10的人类嵌合变体制备,所述RPA-2.10的人类嵌合变体使用位点特异性缀合与鹅膏蕈碱缀合。此外,通过引入H435A突变,产生了抗CD2-ADC的短半衰期变体。每种抗CD2-ADC均使用体外T细胞杀伤测定评估。

[0825] 将冷冻保存的阴性选择的原代人类T细胞解冻并用抗CD3抗体和IL-2刺激。在测定开始时,将2×10⁴个T细胞接种在384孔板的每个孔中,并将指示的ADC或未缀合的抗CD2抗体以0.003nM和30nM之间的多种浓度添加至孔,然后放置在37℃和5%CO₂的培养箱中。细胞在培养五天之后通过流式细胞术分析。细胞用活力标志物7-AAD染色,并在体积流式细胞仪上运行。有活力的T细胞的数目(图3A和3B)通过FSC对SSC和7-AAD染色确定。未缀合的抗CD2抗体(RPA 2.10)用作比照物(图3A)。

[0826] 如图3A中示出的,具有6的链间药物抗体比的抗CD2-ADC表现出对T细胞的有效且特异性杀伤(IC₅₀=5.0pM),而T细胞在未缀合的(“裸露的”)抗CD2抗体的存在下保持有活力。如图3B中示出的,具有2的位点特异性药物抗体比的人类嵌合抗CD2-ADC保持与DAR 6 ADC相似的有效水平的T细胞杀伤(IC₅₀=1.0pM)。此外,抗CD2-ADC的短半衰期变体(H435A)表现出与具有WT半衰期的抗CD2-ADC类似水平的T细胞杀伤(IC₅₀=6.3pM;图3B)。

[0827] 实施例5.使用体外T细胞杀伤测定对抗CD2-鹅膏蕈碱抗体药物缀合物(ADC)的体

外分析

[0828] 抗CD2抗体RPA 2.10用可裂解接头与鹅膏蕈碱缀合,以形成具有6的平均链间药物抗体比(DAR)的链间抗CD2-ADC。抗CD2-ADC使用体外自然杀伤(NK)细胞杀伤测定评估。

[0829] 原代人类CD56+CD3-NK细胞用重组IL-2和IL-15培养4天。在测定开始时,将来自健康人类供体的30,000个新鲜分离的NK细胞接种到384孔板的每个孔中,并将指示的ADC或对照(即,IgG1或IgG1-鹅膏蕈素ADC)以0.003nM和30nM之间的多种浓度添加至孔,然后放置在37°C和5%CO₂的培养箱中。在培养4天后,NK细胞活力通过CellTiter-Glo测定分析(图4)。

[0830] 如图4中示出的,抗CD2-ADC表现出对NK细胞的有效杀伤,具有5.2pM的IC50。缺乏由抗CD2-ADC产生的完全杀伤是与CD2仅在约75%的NK细胞上表达的事实一致的。

[0831] 实施例6. 使用hNSG小鼠模型对T细胞耗尽的分析

[0832] 体内T细胞耗尽测定使用人源化NSG小鼠(Jackson Laboratories)进行。抗CD2抗体RPA 2.10用可裂解接头与鹅膏蕈素缀合以形成抗CD2-ADC。一种具有6的平均链间药物抗体比(DAR)的抗CD2-ADC用鼠RPA 2.10制备,而另一种具有2的平均位点特异性DAR的抗CD2-ADC用人类嵌合RPA 2.10制备。将每种抗CD2-ADC(DAR6和DAR2)以单次静脉内注射(DAR6 ADC为0.3mg/kg、1mg/kg或3mg/kg,并且DAR2 ADC为1mg/kg或3mg/kg)施用至人源化小鼠模型。在第7天收集外周血细胞、骨髓或胸腺样品,并通过流式细胞术确定CD3+ T细胞的绝对数目(对于DAR2 ADC参见图5A和5B,并且对于DAR6 ADC参见图6A-6C)。

[0833] 如图5A-5B中示出的,用0.3mg/kg、1mg/kg或3mg/kg链间DAR6抗CD2-ADC治疗的人源化NSG小鼠表现出在外周血或骨髓中有效的T细胞耗尽,而在用3mg/kg的DAR6抗CD2-ADC治疗之后胸腺T细胞被耗尽。为了比较,图5A和5B还示出了在用25mg/kg Ab1(未缀合的抗CD2抗体)或用指示的对照(即25mg/kg抗CD52抗体(YTH34.5克隆));3mg/kg hIgG1-鹅膏蕈碱ADC(“hIgG1-AM”)、25mg/kg hIgG1或PBS治疗人源化NSG小鼠之后T细胞耗尽的水平。

[0834] 如图6A-6C中示出的,用1mg/kg或3mg/kg位点特异性DAR2抗CD2-ADC治疗的人源化NSG小鼠表现出在外周血或骨髓中有效的T细胞耗尽,而在用3mg/kg的DAR2抗CD2-ADC治疗之后胸腺T细胞展示出约59%的耗尽。为了比较,图6A-6C还示出了在用3mg/kg的未缀合的抗CD2抗体或用指示的对照(即3mg/kg hIgG1-鹅膏蕈碱-ADC(“hIgG1-AM”)或PBS)治疗人源化NSG小鼠之后T细胞耗尽的水平。

[0835] 表4:序列总结

| 序列标识符 | 描述 | 序列 |
|--------|--------------|------------|
| [0836] | SEQ ID NO: 1 | Ab1 CDR-H1 |
| | SEQ ID NO: 2 | Ab1 CDR-H2 |
| | SEQ ID NO: 3 | Ab1 CDR-H3 |
| | SEQ ID NO: 4 | Ab1 CDR-L1 |
| | SEQ ID NO: 5 | Ab1 CDR-L2 |

[0837]

| 序列标识符 | 描述 | 序列 |
|---------------|------------------------|---|
| SEQ ID NO: 6 | Ab1 CDR-L3 | MQFTHYPYT |
| SEQ ID NO: 7 | Ab1重链可变区 | QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTEYY MYWVRQAPGQQGLELMGRIDPEDGSIDYVEKFKK KVTLTADTSSTAYMELSSLTSDDTAVYYCARGK FNYRFAYWGQGTLTVSS |
| SEQ ID NO: 8 | Ab1轻链可变区 | DVVMQSPPSLLVTLGQPASICRSSQSLLHSSG NTYLNWLLQRPGQSPQPLIYLVSKLESGVPDRFS GSGSGTDFTLKISGVEAEDVGVYYCMQFTHYPYT FGQGTKE IK |
| SEQ ID NO: 9 | Ab1a重链可变区 | QVQLVQSGAEVQRPGASVKVSCKASGYIFTEYY MYWVRQAPGQQGLELVGRIDPEDGSIDYVEKFKK VTLTADTSSTAYMELSSLTSDDTAVYYCARGKF NYRFAYWGQGTLTVSS |
| SEQ ID NO: 10 | Ab1a轻链可变区 | DVVMQSPPSLLVTLGQPASICRSSQSLLHSSG NTYLNWLLQRPGQSPQPLIYLVSKLESGVPDRFS GSGSGTDFTLKISGVEAEDVGVYYCMQFTHYPYT FGQGTKEIK |
| SEQ ID NO: 11 | 人类Ab重链可变 结构域共有序列 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYA MSWVRQAPGKGLEWVAVISENGSDTYYADSVKG RFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDR GGAVSYFDVGQGTLTVSS |
| SEQ ID NO: 12 | 人类Ab轻链可变 结构域共有序列 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSSYLA WYQQKPGKAPKLLIYAASSLESQVPSRFSGSGS GTDFTLTSSLQPEDFATYYCQQYNSLPYTFGQG TKVEIKRT |
| SEQ ID NO: 13 | 人类CD2序列 | MSFPCFKVAS FLLIFNVSSK GAVSKETNA LETW GALGQD INLDIPSFQM SDDIDDIKWE KTSDKKKIAQ FRKEKETFKE KDTYKLFKNG TLKIKHLKTD DQDIYKVSIY DTKGKNVLEK IFDLKIQERV SKPKISWTCA NTTLTCEVMN GTDPELNLYQ DGKHLKLSQR VITHKWTTSL SAFKCTAGN KVSKESSVEP VSCPEKGLDI YLIIGICGGG SLLMVFVALL VFYITKRKKQ RSRRNDEELE TRAHRVATEE RGRKPHQIPA STPQNATPSQ HPPPPPGRHS QAPSHRPPPP GHRVQHQPQK RPPAPSGTQV HQQKGPPPLPR PRVQPKPPHG AAENSLSPSS N |
| SEQ ID NO: 14 | RPA-2.10 CDR-H1 | GFTFSSY |
| SEQ ID NO: 15 | RPA-2.10 CDR-H2 | SGGGF |
| SEQ ID NO: 16 | RPA-2.10 CDR-H3 变体1 | SSYGEIMDY |
| SEQ ID NO: 17 | RPA-2.10 CDR-H3 变体2 | SSYGELMDY |
| SEQ ID NO: 18 | RPA-2.10 CDR-L1 | RASQRIGTSIH |
| SEQ ID NO: 19 | RPA-2.10 CDR-L2 | YASESIS |
| SEQ ID NO: 20 | RPA-2.10 CDR-L3 | QQSHGWPFTF |

| 序列标识符 | 描述 | 序列 |
|---------------|--------------------------|--|
| SEQ ID NO: 21 | RPA-2.10 重链可变区 变体1 | EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYDM SWVRQTPEKRLEWVASISGGGFLYYLDSVKGRFT ISRDNARNILYLHMTSLRSEDTAMYCARSSYGEI MDYWGQGTSVTVSS |
| SEQ ID NO: 22 | RPA-2.10 重链可变区 变体2 | EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYDM SWVRQTPEKRLEWVASISGGGFLYYLDSVKGRFT ISRDNARNILYLHMTSLRSEDTAMYCARSSYGEI MDYWGQGTSVTVSS |
| SEQ ID NO: 23 | RPA-2.10 轻链可变区 | DILLTQSPAILSVPGERVSFSCRASQRIGTSIHWY QRRTTGSPRLLIKYASESISGIPSRSFGSGSGTDF TLSINSVESEDVADYYCQQSHGWPFTEGGGTKE IE |
| SEQ ID NO: 24 | RPA-2.10 重链恒定区 | AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFP EPVTVTWNSGSLSSGVHTTPAVLQSDLYTTLSSV TVPSSWPSETVCNVAHPASSTKVDKKIVPRDC GCKPCICTVPEVSSVFIFPPPKPKDVLTITLTPKVC VVVDIRSKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTPREE QFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAF PAPIEKTIKTKGRPQAPQVYTIPPPKEQMAKDVK SLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPI MDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVHL GLHNHHTEKSLSHSPGK |
| SEQ ID NO: 25 | RPA-2.10 轻链恒定区 | RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK DINVWKWIDGSERQNGVNLNSWTQDSKDSTYSM SSTLTLSKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFN RNEC |

[0839] 其他实施方案

[0840] 本说明书中提及的所有出版物、专利和专利申请均通过引用并入本文，其程度如同每个单独的出版物或专利申请被具体和单独地指示通过引用并入的相同程度。

[0841] 虽然已经结合本发明的具体实施方案描述了本发明，但是将理解，本发明能够具有进一步的修改，并且本申请意图覆盖本发明的任何变化形式、用途或修改，所述本发明的任何变化形式、用途或修改在总体上遵循本发明的原则，并且包括在本发明所属领域内已知或惯用实践之内的并且可以被应用于上文阐述的必要特征并且落入权利要求书的范围的本发明的这样的偏离。

[0842] 其他实施方案在权利要求书内。

序列表

<110> 美真达治疗公司

<120> 用于耗尽CD2+细胞的组合物和方法

<130> M103034 1050W0

<150> 62/592,169

<151> 2017-11-29

<160> 25

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 1

Glu Tyr Tyr Met Tyr

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 2

Arg Ile Asp Pro Glu Asp Gly Ser Ile Asp Tyr Val Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Lys

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 3

Gly Lys Phe Asn Tyr Arg Phe Ala Tyr

1 5

<210> 4

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 4

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 5

Leu Val Ser Lys Leu Glu Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 6

Met Gln Phe Thr His Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 7

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 7

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asp Gly Ser Ile Asp Tyr Val Glu Lys Phe

| | | |
|---|-----|-----|
| 50 | 55 | 60 |
| Lys Lys Lys Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr | | |
| 65 | 70 | 75 |
| Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys | | 80 |
| 85 | 90 | 95 |
| Ala Arg Gly Lys Phe Asn Tyr Arg Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Leu Val Thr Val Ser Ser | | |
| 115 | | |
| <210> 8 | | |
| <211> 112 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence) | | |
| <220> | | |
| <223> 人工序列的描述:合成多肽 | | |
| <400> 8 | | |
| Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Pro Ser Leu Leu Val Thr Leu Gly | | |
| 1 | 5 | 10 |
| Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser | | 15 |
| 20 | 25 | 30 |
| Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser | | |
| 35 | 40 | 45 |
| Pro Gln Pro Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Glu Ser Gly Val Pro | | |
| 50 | 55 | 60 |
| Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile | | |
| 65 | 70 | 75 |
| Ser Gly Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Phe | | 80 |
| 85 | 90 | 95 |
| Thr His Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys | | |
| 100 | 105 | 110 |
| <210> 9 | | |
| <211> 118 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence) | | |
| <220> | | |
| <223> 人工序列的描述:合成多肽 | | |
| <400> 9 | | |
| Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Gln Arg Pro Gly Ala | | |
| 1 | 5 | 10 |
| | | 15 |

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Glu Tyr
 20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Leu Val
 35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asp Gly Ser Ile Asp Tyr Val Glu Lys Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Lys Phe Asn Tyr Arg Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 10

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 10

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30

Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Pro Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Glu Ser Gly Val Pro
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Ser Gly Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Phe
 85 90 95

Thr His Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 11

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 11

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

<210> 12

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 12

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

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| <210> | 13 | 100 | 105 | | | | | | | | | | | | | |
| <211> | 351 | | | | | | | | | | | | | | | |
| <212> | PRT | | | | | | | | | | | | | | | |
| <213> | 智人 (Homo sapiens) | | | | | | | | | | | | | | | |
| <400> | 13 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Met | Ser | Phe | Pro | Cys | Lys | Phe | Val | Ala | Ser | Phe | Leu | Leu | Ile | Phe | Asn | |
| 1 | | | | | | | 5 | | | | | | 10 | | | 15 |
| Val | Ser | Ser | Lys | Gly | Ala | Val | Ser | Lys | Glu | Ile | Thr | Asn | Ala | Leu | Glu | |
| | | | | | | | 20 | | | | 25 | | | | 30 | |
| Thr | Trp | Gly | Ala | Leu | Gly | Gln | Asp | Ile | Asn | Leu | Asp | Ile | Pro | Ser | Phe | |
| | | | | | | | 35 | | | | 40 | | | | 45 | |
| Gln | Met | Ser | Asp | Asp | Ile | Asp | Asp | Ile | Lys | Trp | Glu | Lys | Thr | Ser | Asp | |
| | | | | | | | 50 | | | | 55 | | | | 60 | |
| Lys | Lys | Lys | Ile | Ala | Gln | Phe | Arg | Lys | Glu | Lys | Glu | Thr | Phe | Lys | Glu | |
| 65 | | | | | | | 70 | | | | 75 | | | | 80 | |
| Lys | Asp | Thr | Tyr | Lys | Leu | Phe | Lys | Asn | Gly | Thr | Leu | Lys | Ile | Lys | His | |
| | | | | | | | 85 | | | | 90 | | | | 95 | |
| Leu | Lys | Thr | Asp | Asp | Gln | Asp | Ile | Tyr | Lys | Val | Ser | Ile | Tyr | Asp | Thr | |
| | | | | | | | 100 | | | | 105 | | | | 110 | |
| Lys | Gly | Lys | Asn | Val | Leu | Glu | Lys | Ile | Phe | Asp | Leu | Lys | Ile | Gln | Glu | |
| | | | | | | | 115 | | | | 120 | | | | 125 | |
| Arg | Val | Ser | Lys | Pro | Lys | Ile | Ser | Trp | Thr | Cys | Ile | Asn | Thr | Thr | Leu | |
| | | | | | | | 130 | | | | 135 | | | | 140 | |
| Thr | Cys | Glu | Val | Met | Asn | Gly | Thr | Asp | Pro | Glu | Leu | Asn | Leu | Tyr | Gln | |
| 145 | | | | | | | 150 | | | | 155 | | | | 160 | |
| Asp | Gly | Lys | His | Leu | Lys | Leu | Ser | Gln | Arg | Val | Ile | Thr | His | Lys | Trp | |
| | | | | | | | 165 | | | | 170 | | | | 175 | |
| Thr | Thr | Ser | Leu | Ser | Ala | Lys | Phe | Lys | Cys | Thr | Ala | Gly | Asn | Lys | Val | |
| | | | | | | | 180 | | | | 185 | | | | 190 | |
| Ser | Lys | Glu | Ser | Ser | Val | Glu | Pro | Val | Ser | Cys | Pro | Glu | Lys | Gly | Leu | |
| | | | | | | | 195 | | | | 200 | | | | 205 | |
| Asp | Ile | Tyr | Leu | Ile | Ile | Gly | Ile | Cys | Gly | Gly | Ser | Leu | Leu | Met | | |
| | | | | | | | 210 | | | | 215 | | | | 220 | |
| Val | Phe | Val | Ala | Leu | Leu | Val | Phe | Tyr | Ile | Thr | Lys | Arg | Lys | Lys | Gln | |
| 225 | | | | | | | 230 | | | | 235 | | | | 240 | |
| Arg | Ser | Arg | Arg | Asn | Asp | Glu | Glu | Leu | Glu | Thr | Arg | Ala | His | Arg | Val | |
| | | | | | | | 245 | | | | 250 | | | | 255 | |
| Ala | Thr | Glu | Glu | Arg | Gly | Arg | Lys | Pro | His | Gln | Ile | Pro | Ala | Ser | Thr | |

| | | |
|---|-----|-----|
| 260 | 265 | 270 |
| Pro Gln Asn Pro Ala Thr Ser Gln His Pro Pro Pro Pro Pro Gly His | | |
| 275 | 280 | 285 |
| Arg Ser Gln Ala Pro Ser His Arg Pro Pro Pro Pro Gly His Arg Val | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Gln His Gln Pro Gln Lys Arg Pro Pro Ala Pro Ser Gly Thr Gln Val | | |
| 305 | 310 | 315 |
| His Gln Gln Lys Gly Pro Pro Leu Pro Arg Pro Arg Val Gln Pro Lys | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Pro Pro His Gly Ala Ala Glu Asn Ser Leu Ser Pro Ser Ser Asn | | |
| 340 | 345 | 350 |
| <210> 14 | | |
| <211> 7 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence) | | |
| <220> | | |
| <223> 合成肽 | | |
| <400> 14 | | |
| Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr | | |
| 1 | 5 | |
| <210> 15 | | |
| <211> 5 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence) | | |
| <220> | | |
| <223> 合成肽 | | |
| <400> 15 | | |
| Ser Gly Gly Gly Phe | | |
| 1 | 5 | |
| <210> 16 | | |
| <211> 9 | | |
| <212> PRT | | |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence) | | |
| <220> | | |
| <223> 合成肽 | | |
| <400> 16 | | |
| Ser Ser Tyr Gly Glu Ile Met Asp Tyr | | |
| 1 | 5 | |
| <210> 17 | | |

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成肽
<400> 17
Ser Ser Tyr Gly Glu Leu Met Asp Tyr
1 5
<210> 18
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成肽
<400> 18
Arg Ala Ser Gln Arg Ile Gly Thr Ser Ile His
1 5 10
<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成肽
<400> 19
Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser
1 5
<210> 20
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成肽
<400> 20
Gln Gln Ser His Gly Trp Pro Phe Thr Phe
1 5 10
<210> 21
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 21

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

<210> 22

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 22

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

| | | | |
|---|-----|-----|-----|
| | 100 | 105 | 110 |
| Val Thr Val Ser Ser | | | |
| | 115 | | |
| <210> 23 | | | |
| <211> 107 | | | |
| <212> PRT | | | |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence) | | | |
| <220> | | | |
| <223> 合成肽 | | | |
| <400> 23 | | | |
| Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly | | | |
| 1 5 10 15 | | | |
| Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Ile Gly Thr Ser | | | |
| 20 25 30 | | | |
| Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Thr Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile | | | |
| 35 40 45 | | | |
| Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly | | | |
| 50 55 60 | | | |
| Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser | | | |
| 65 70 75 80 | | | |
| Glu Asp Val Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Gly Trp Pro Phe | | | |
| 85 90 95 | | | |
| Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Glu | | | |
| 100 105 | | | |
| <210> 24 | | | |
| <211> 324 | | | |
| <212> PRT | | | |
| <213> 人工序列(Artificial Sequence) | | | |
| <220> | | | |
| <223> 合成肽 | | | |
| <400> 24 | | | |
| Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala | | | |
| 1 5 10 15 | | | |
| Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr | | | |
| 20 25 30 | | | |
| Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser | | | |
| 35 40 45 | | | |
| Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu | | | |
| 50 55 60 | | | |

Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val
 65 70 75 80
 Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
 85 90 95
 Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro
 100 105 110
 Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu
 115 120 125
 Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser
 130 135 140
 Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu
 145 150 155 160
 Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 165 170 175
 Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn
 180 185 190
 Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro
 195 200 205
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln
 210 215 220
 Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val
 225 230 235 240
 Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val
 245 250 255
 Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln
 260 265 270
 Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn
 275 280 285
 Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val
 290 295 300
 Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His
 305 310 315 320
 Ser Pro Gly Lys
 <210> 25
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成肽

<400> 25
Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15
Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe
20 25 30
Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg
35 40 45
Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60
Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu
65 70 75 80
Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser
85 90 95
Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
100 105

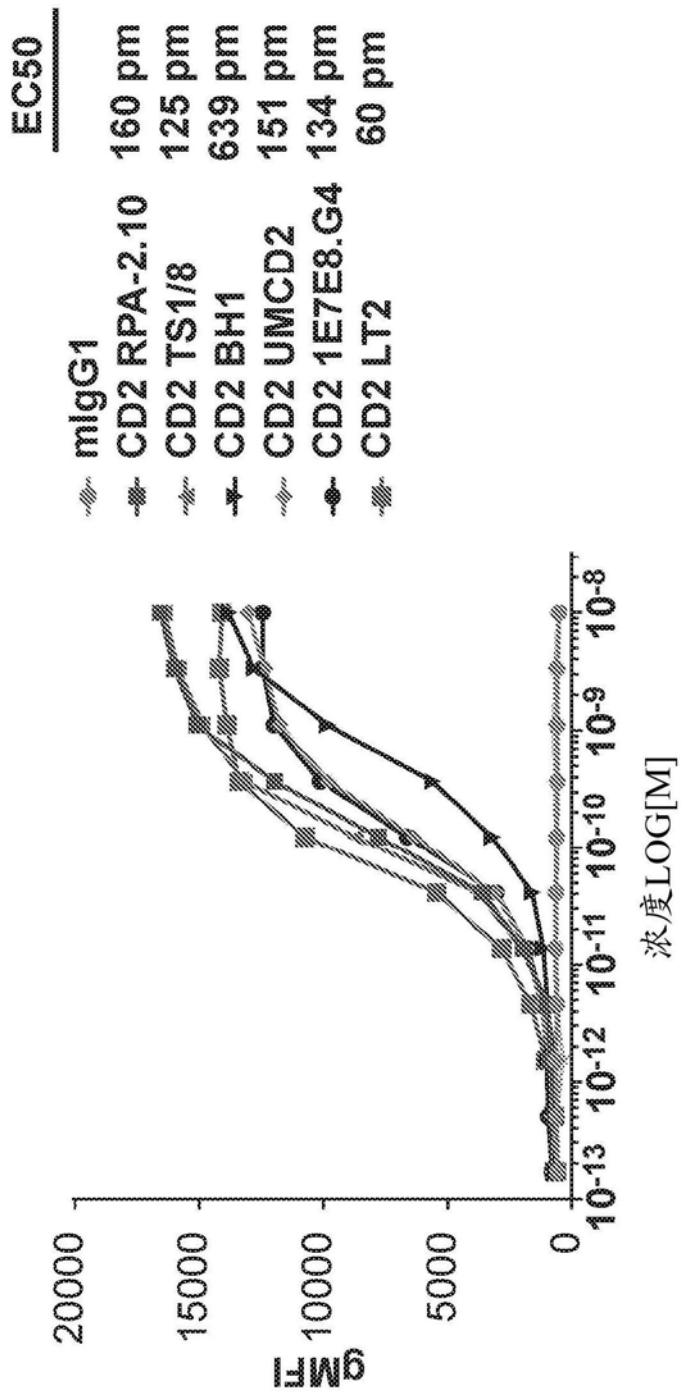


图1

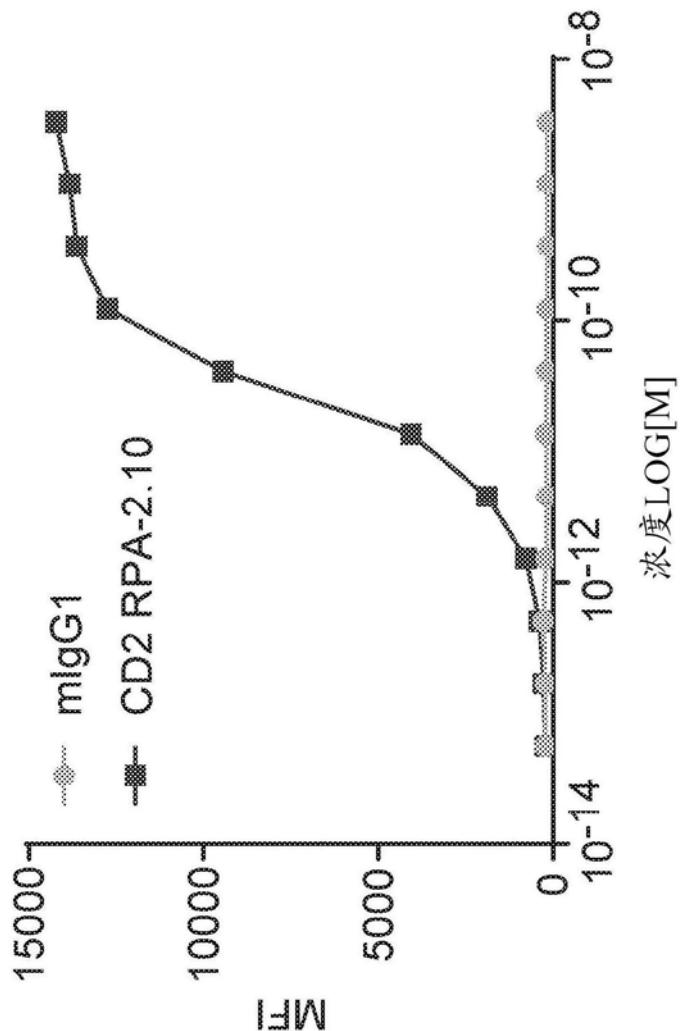


图2

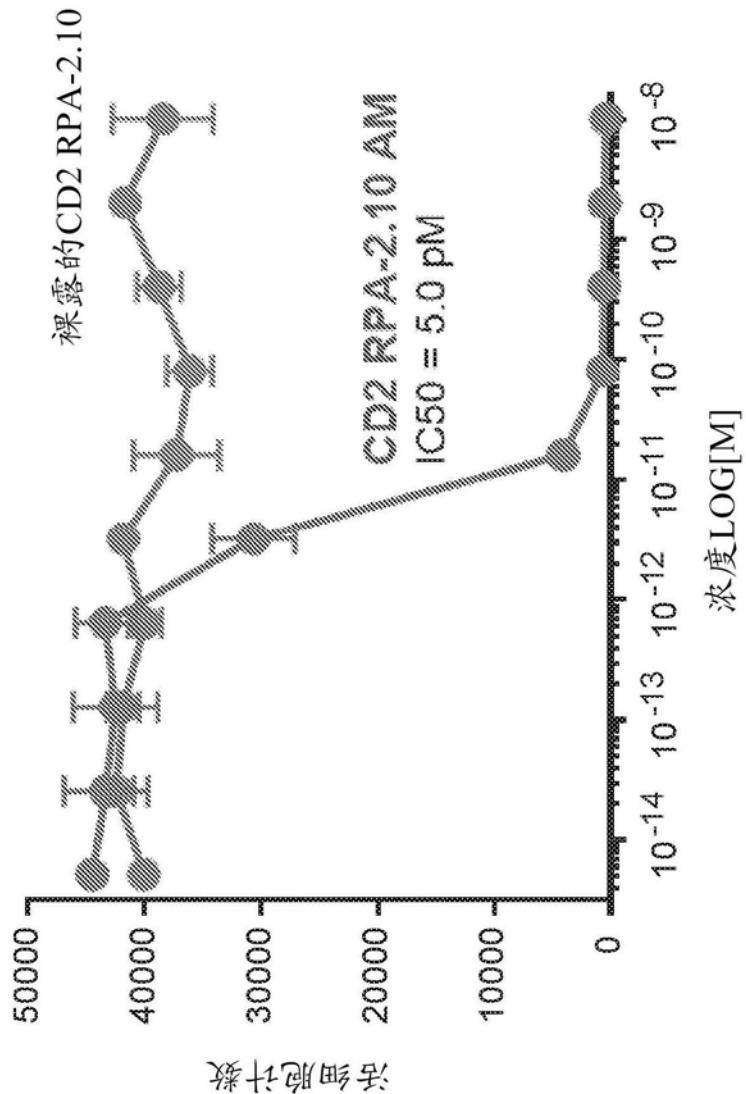


图3A

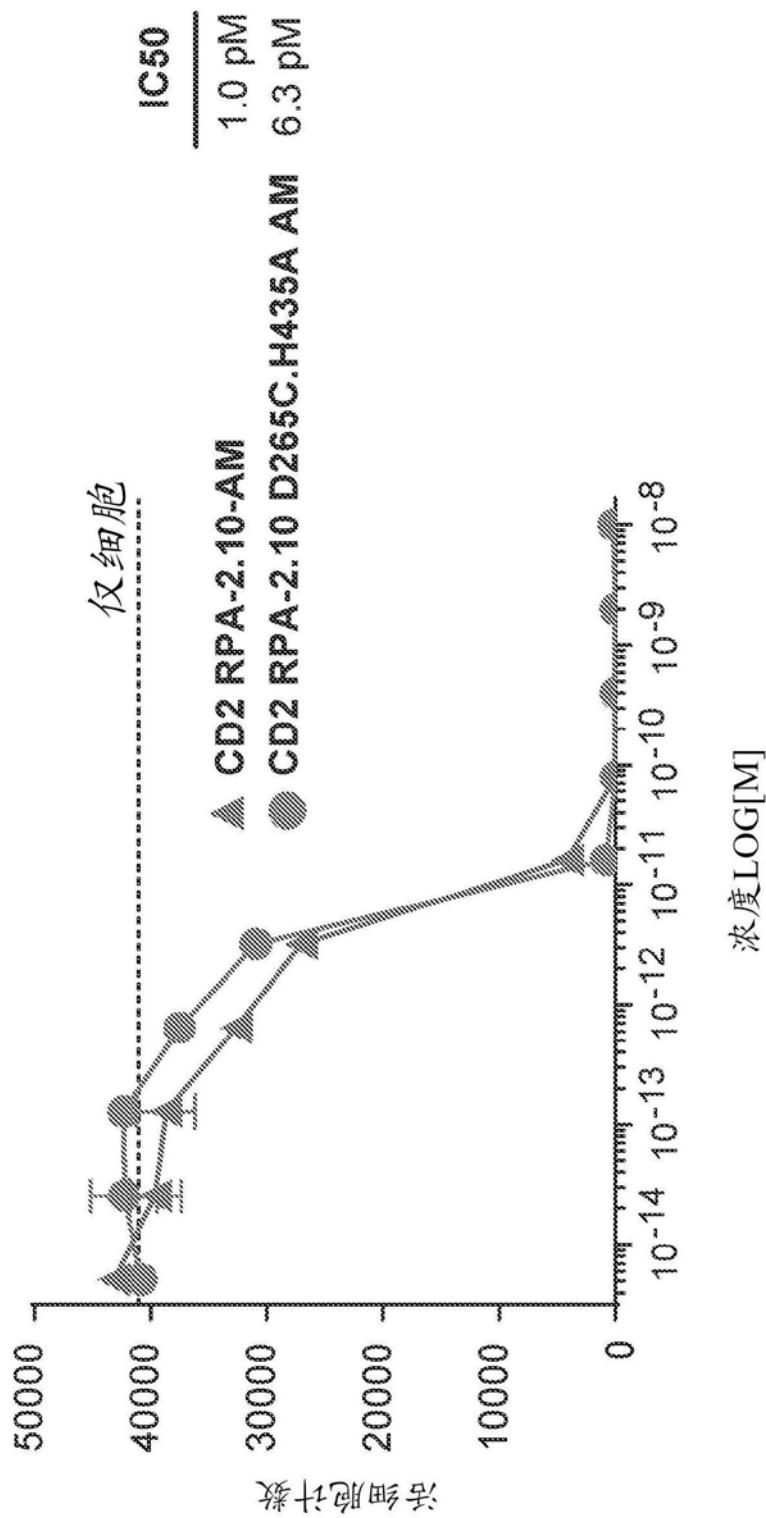


图3B

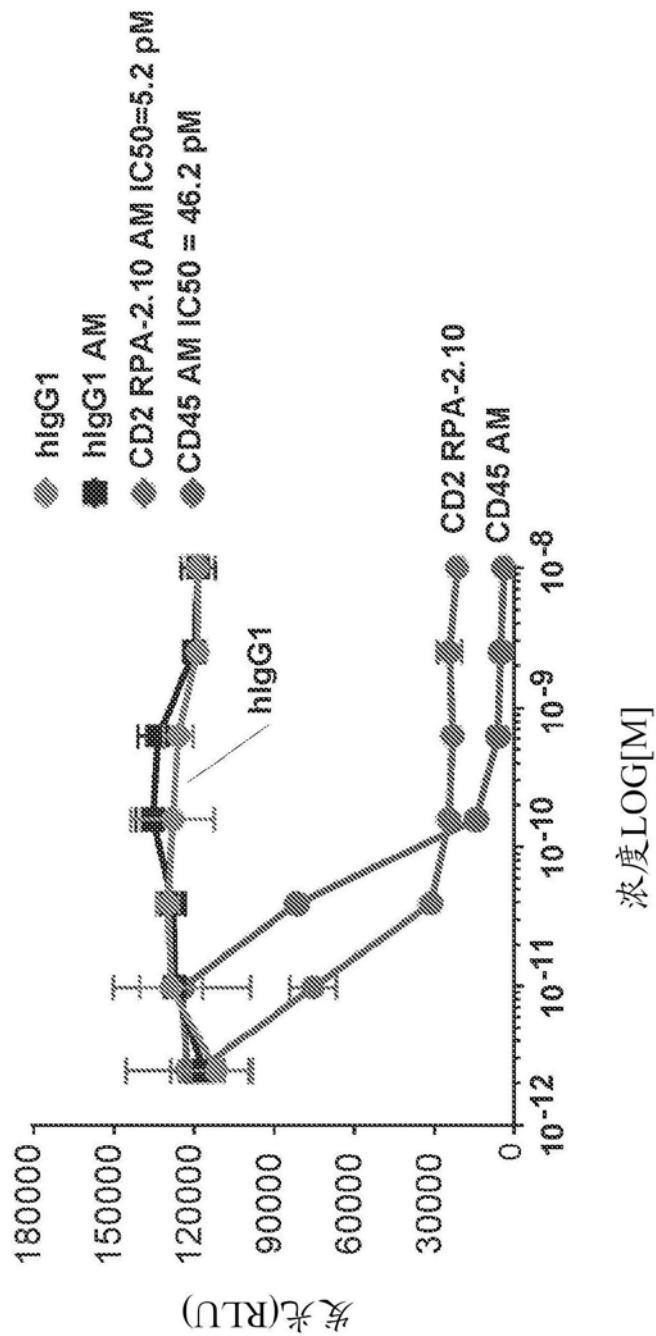


图4

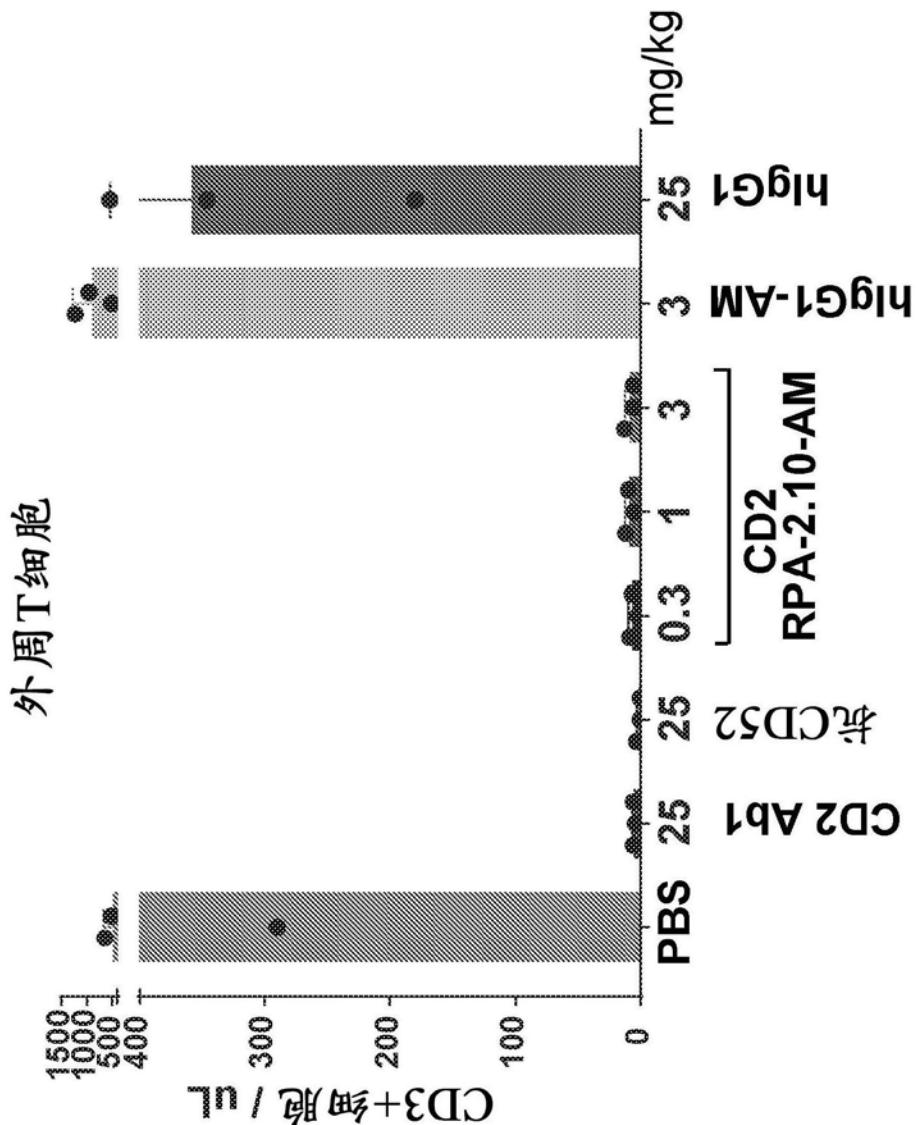


图5A

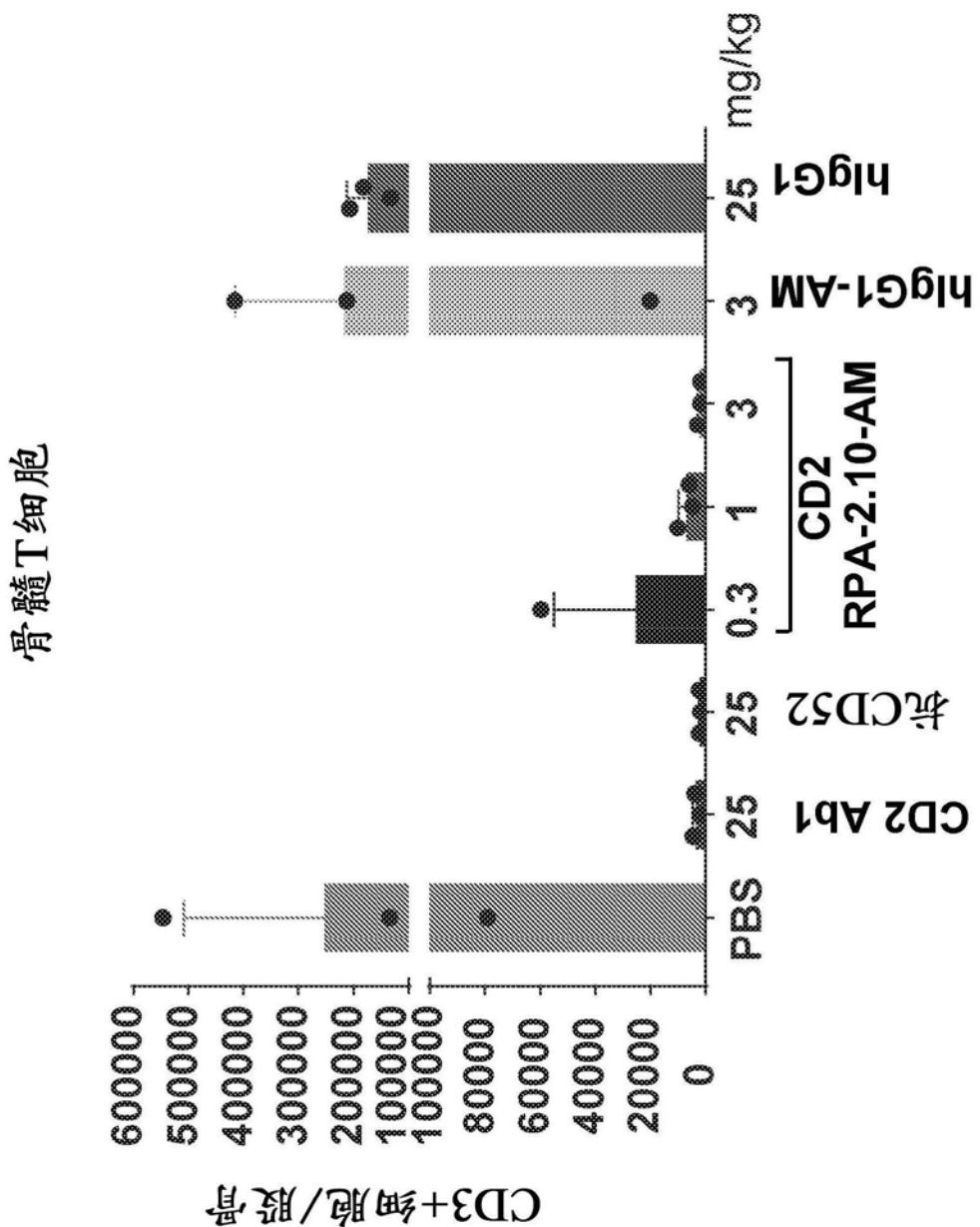


图5B

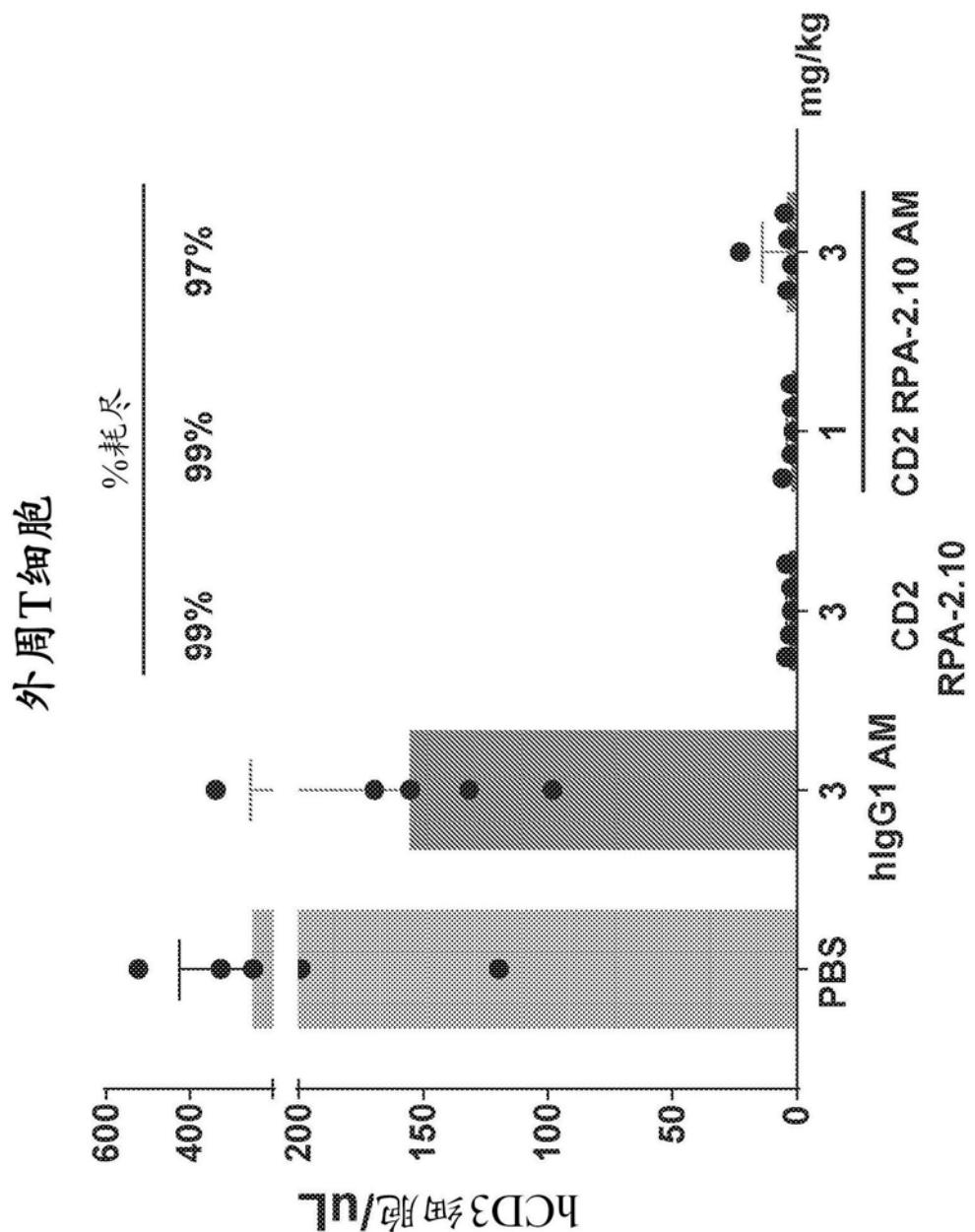


图6A

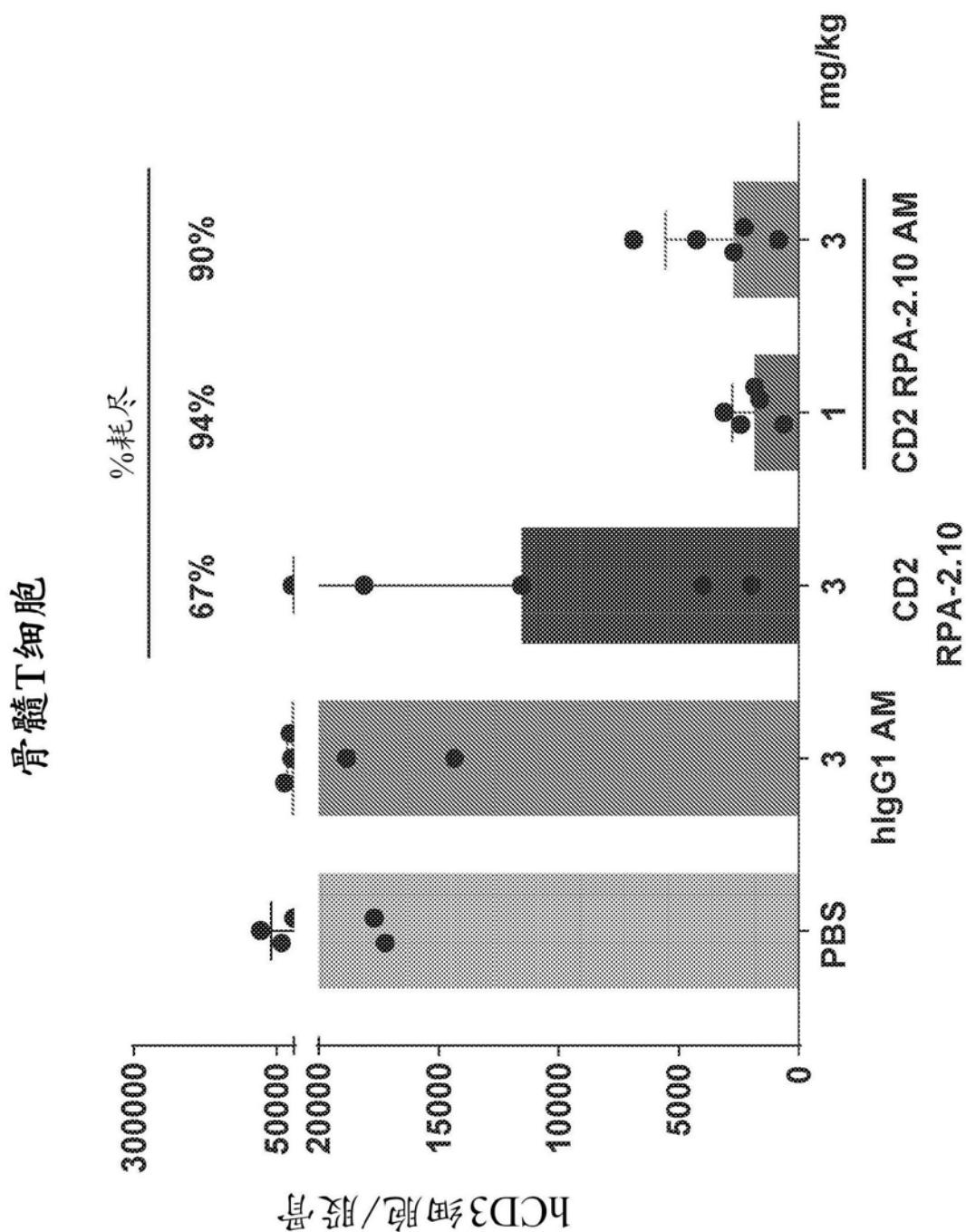


图6B

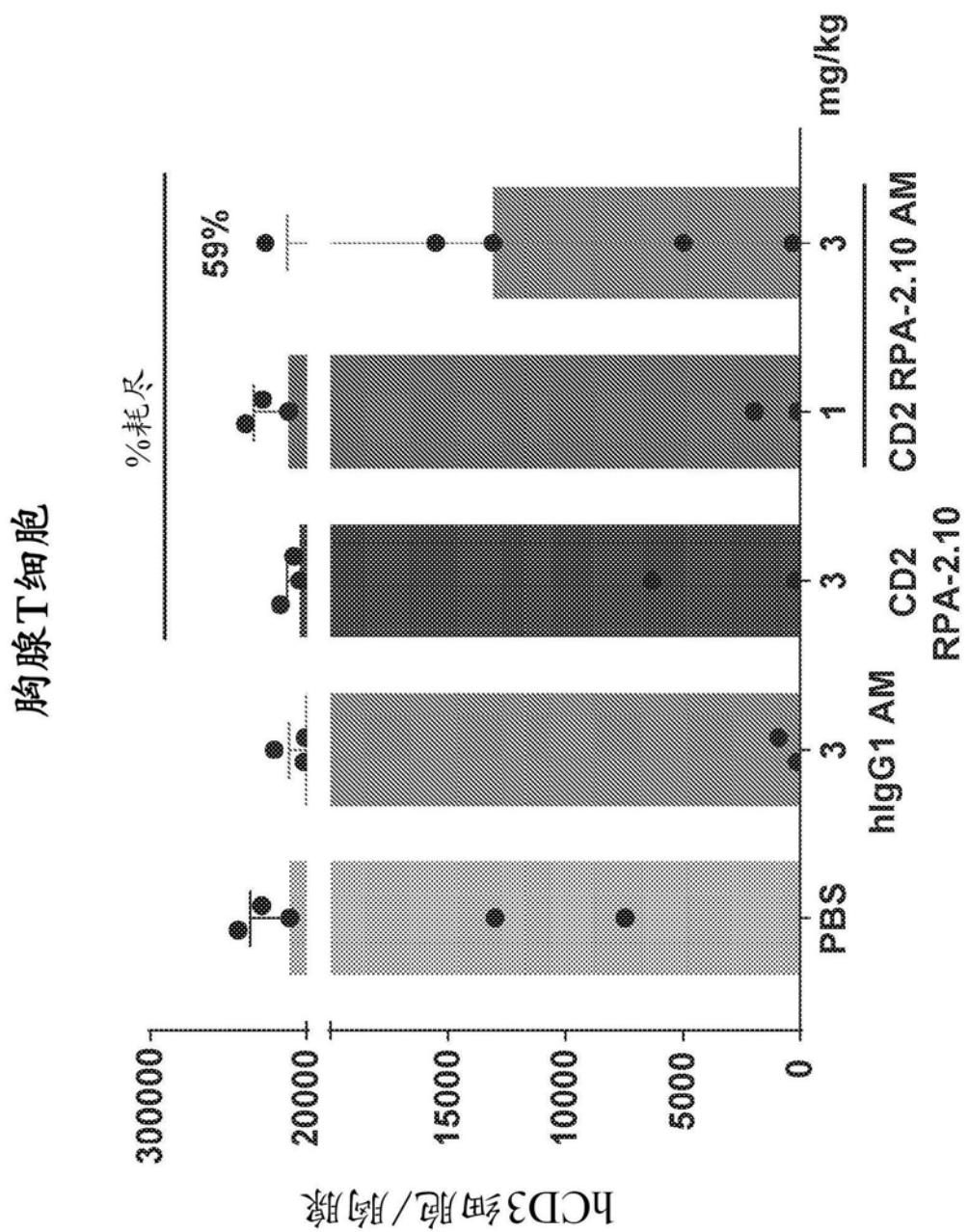


图6C