



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113038939 A

(43) 申请公布日 2021.06.25

(21) 申请号 201980074748.7

(22) 申请日 2019.11.13

(30) 优先权数据

62/767,218 2018.11.14 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.05.13

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/061212 2019.11.13

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2020/102375 EN 2020.05.22

(71) 申请人 瑞泽恩制药公司

地址 美国纽约州

(72) 发明人 M·G·菲里 I·洛伊

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所  
11247

代理人 张朔 黄革生

(51) Int.Cl.

A61K 31/00 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

权利要求书3页 说明书22页  
序列表5页 附图3页

(54) 发明名称

损害内施用PD-1抑制剂用于治疗皮肤癌

(57) 摘要

本公开内容涉及用于治疗或抑制肿瘤生长的方法,其中所述方法包括选择患有皮肤癌的个体和向需要其的个体的肿瘤经损害内施用治疗有效量的程序性死亡1 (PD-1) 抑制剂(例如特异性结合PD-1、PD-L1和/或PD-L2的抗体或其抗原结合片段)。在一些实施方案中,皮肤癌是皮肤鳞状细胞癌。在一些实施方案中,将PD-1抑制剂施用到肿瘤损害的多个位置中。

1. 治疗或抑制肿瘤生长的方法,该方法包括:
  - (a) 选择患有皮肤癌的患者;和
  - (b) 向所述患者的肿瘤经损害内施用一个或多个剂量的包含治疗有效量的程序性死亡1 (PD-1) 抑制剂的药物组合物。
2. 根据权利要求1的方法,其中所述皮肤癌是皮肤鳞状细胞癌 (CSCC)、基底细胞癌 (BCC)、Merkel细胞癌或黑素瘤。
3. 根据权利要求1或2的方法,其中所述皮肤癌是CSCC。
4. 根据权利要求1-3任一项的方法,其中所述皮肤癌是复发性可切除CSCC。
5. 根据权利要求1-4任一项所述的方法,其中所述患者已经进行了癌症的在先治疗。
6. 根据权利要求5的方法,其中所述在先治疗包括手术、放射、化疗、用PD-1抑制剂进行的治疗和/或其它抗肿瘤疗法。
7. 根据权利要求1-6任一项的方法,其中所述患者处于复发的风险中。
8. 根据权利要求1-7任一项所述的方法,其中所述患者具有手术后复发的在先病史。
9. 根据权利要求1-8任一项的方法,其中所述患者先前已经接受了器官或组织移植。
10. 根据权利要求1-9任一项所述的方法,其中所述PD-1抑制剂的每个剂量包括将药物组合物一次或多次经损害内注射至肿瘤中。
11. 根据权利要求10的方法,其中将至少两次损害内注射施用到肿瘤的不同位置中。
12. 根据权利要求10或11的方法,其中将两次至五次损害内注射施用到肿瘤的两个至五个位置中。
13. 根据权利要求10-12任一项的方法,其中将至少一次损害内注射施用到肿瘤的上半部分中。
14. 根据权利要求10-13任一项的方法,其中将至少一次损害内注射施用至覆盖肿瘤的皮肤中。
15. 根据权利要求10-14任一项的方法,其中将至少一次损害内注射施用至邻近与正常外观皮肤的界面的肿瘤较上外周。
16. 根据权利要求1-15任一项的方法,其中肿瘤具有至少1cm的表面直径。
17. 根据权利要求1-16任一项的方法,其中肿瘤具有不超过2cm的表面直径。
18. 根据权利要求1-17任一项的方法,其中每天一次、每两天一次、每三天一次、每四天一次、每五天一次、每六天一次、每周一次或每周两次施用每个剂量。
19. 根据权利要求1-18任一项的方法,其中每个剂量包含5mg至200mg的PD-1抑制剂。
20. 根据权利要求1-19任一项的方法,其中每个剂量包含5mg、15mg或44mg的PD-1抑制剂。
21. 根据权利要求1-20任一项的方法,其中所述PD-1抑制剂的施用与所述患者中促进了肿瘤消退、降低了肿瘤细胞负荷、降低了肿瘤负担和/或阻止了肿瘤复发。
22. 根据权利要求1-21任一项的方法,其中PD-1抑制剂的损害内施用促进了比PD-1抑制剂的静脉内施用多至少约10%的肿瘤消退。
23. 根据权利要求1-22任一项的方法,其中PD-1抑制剂的损害内施用与PD-1抑制剂的静脉内施用相比引起了较低的不良事件发生率、较轻的不良事件严重性和/或较低的毒性。
24. 根据权利要求1-23任一项的方法,还包括在步骤(b)后手术去除所述肿瘤。

25. 根据权利要求1-24任一项的方法,还包括施用选自手术、放射、化疗、皮质类固醇、抗炎药物和/或其组合的第二种治疗剂或疗法。

26. 权利要求25的方法,其中PD-1抑制剂在第二种治疗剂或疗法之前施用。

27. 权利要求25的方法,其中PD-1抑制剂在第二种治疗剂或疗法之后施用。

28. 根据权利要求1-27任一项所述的方法,其中所述PD-1抑制剂选自抗PD-1抗体或其抗原结合片段、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段和抗PD-L2抗体或其抗原结合片段。

29. 根据权利要求1-28任一项的方法,其中所述PD-1抑制剂是抗PD-1抗体或其抗原结合片段,其包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)的三个互补决定区(CDRs)(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)的三个CDRs(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

30. 根据权利要求29的方法,其中:HCDR1具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列;HCDR2具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列;HCDR3具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列;LCDR1具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;LCDR2具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列;和LCDR3具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列。

31. 根据权利要求29或30所述的方法,其中所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NOs:1/2的HCVR/LCVR序列对。

32. 根据权利要求28-31任一项的方法,其中所述抗PD-1抗体包含重链和轻链,其中所述重链具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列。

33. 根据权利要求28-31任一项的方法,其中所述抗PD-1抗体包含重链和轻链,其中所述轻链具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列。

34. 根据权利要求28-31任一项的方法,其中所述抗PD-1抗体包含重链和轻链,其中所述重链具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列,并且所述轻链具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列。

35. 根据权利要求1-34任一项的方法,其中所述PD-1抑制剂是西米普利单抗或其生物等同物。

36. 根据权利要求1-28任一项的方法,其中所述PD-1抑制剂是选自如下的抗PD-1抗体:西米普利单抗、纳武单抗、帕博利珠单抗、匹地利珠单抗、MEDI0608、BI 754091、PF-0680159、斯巴达珠单抗、卡瑞利珠单抗、JNJ-63723283和MCLA-134。

37. 根据权利要求1-28任一项的方法,其中所述PD-1抑制剂是选自如下的抗PD-L1抗体:H2M8314N、阿维鲁单抗、阿特殊单抗、德瓦鲁单抗、MDX-1105、LY3300054、FAZ053、STI-1014、CX-072、KN035和CK-301。

38. 用于在患有皮肤癌的个体中治疗或抑制肿瘤生长的损害内注射溶液,其包含治疗有效量的程序性死亡1(PD-1)抑制剂和可药用载体或稀释剂。

39. 权利要求38的损害内注射溶液,其中所述PD-1抑制剂是抗PD-1抗体或其抗原结合片段,其包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)的三个互补决定区(CDRs)(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)的三个CDRs(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

40. 根据权利要求39的损害内注射溶液,其中:HCDR1具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列;HCDR2具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列;HCDR3具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列;LCDR1具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;LCDR2具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列;和LCDR3具有SEQ ID

NO:8的氨基酸序列。

41. 权利要求40的损害内注射溶液,其中所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NOs:1/2的HCVR/LCVR序列对。

42. 根据权利要求38-41任一项的损害内注射溶液,其包含5mg至200mg的PD-1抑制剂。

43. 根据权利要求38-42任一项的损害内注射溶液,其包含5mg、15mg或44mg的PD-1抑制剂。

44. 根据权利要求38-43任一项的损害内注射溶液,其中所述皮肤癌是CSCC。

45. 根据权利要求38-44任一项的损害内注射溶液,其中所述PD-1抑制剂以175mg/mL的浓度存在。

46. 根据权利要求38-44任一项的损害内注射溶液,其中所述PD-1抑制剂以60mg/mL的浓度存在。

47. 根据权利要求38-44任一项的损害内注射溶液,其中所述PD-1抑制剂以20mg/mL的浓度存在。

## 损害内施用PD-1抑制剂用于治疗皮肤癌

### 发明领域

[0001] 本公开内容涉及用于治疗或抑制肿瘤生长的方法,该方法包括选择患有皮肤癌的患者和向患者的肿瘤经损害内施用治疗有效量的程序性死亡1 (PD-1) 抑制剂。

### 背景技术

[0002] 皮肤癌是美国最常见的癌症 (Guy等人, Am. J. Prev. Med. 48:183-87, 2015)。在2012年,在美国诊断出估计540万例非黑素瘤皮肤癌,包括基底细胞癌和鳞状细胞癌 (Rogers等人, JAMA Dermatol., 151 (10) :1081-86, 2015)。皮肤鳞状细胞癌 (CSCC) 是在基底细胞癌 (BCC) 之后美国第二最常见的恶性病 (Karia等人, J. Am. Acad. Dermatol. 68:957-66, 2013)。长期日晒是非黑素瘤皮肤癌的首要危险因素。

[0003] CSCC是表皮角质形成细胞的恶性增殖并侵入真皮,它与非侵入性前体损害如光化性角化病不同 (Fernandez等人, Immunol Allergy Clin North Am 37 (2) :315-27, 2017)。全世界的发病率变化很大,在澳大利亚发病率最高,在非洲一些部分发病率最低 (Lomas等人, Br J Dermatol, 166 (5) :1069-80, 2012)。CSCC 的精确发病率是未知的,因为它不包括在大多数癌症登记中。然而,根据不包括仅具有非侵入性前体损害的患者的估计,近几十年来CSCC的发病率已经增加 (Lomas等人, Br J Dermatol, 166 (5) :1069-80, 2012) (Que等人, J Am Acad Dermatol, 78 (2) :237-47, 2018) (Rogers等人, Arch Dermatol, 146 (3) :283-87, 2010)。

[0004] CSCC的危险因素包括UV暴露、高龄和免疫抑制 (Alam等人, New Engl. J. Med. 344: 975-83, 2001; Madan, Lancet 375:673-85, 2010)。虽然绝大多数诊断为 CSCC或BCC的个体预后非常好,但是CSCC比BCC更容易发生侵袭性复发。而且,与诊断为BCC的那些个体不同,诊断患有CSCC的个体与年龄匹配的对照相比具有增加的死亡率 (Rees等人, Int. J. Cancer 137:878-84, 2015)。

[0005] 手术切除是CSCC或BCC临床管理的核心。主要目标是完全切除癌,可接受的美容结果是次要目标。与CSCC预后不良相关的因素包括肿瘤尺寸>2cm、肿瘤深度>2mm、神经周围侵袭、宿主免疫抑制和复发损害。然而,一些发展为晚期CSCC (包括局部晚期和转移性CSCC两者) 的患者不是手术的候选者。一些这类患者可以在手术后施用放射疗法或化疗,但是由于安全性和耐受性的考虑,这些可能不是有吸引力的选择。

[0006] 定义为UV暴露部位中多个癌性损害的区域性癌化是很多CSCC患者的特征。另外,复发性CSCC增加了随后复发的风险。在212名患者的单一机构回顾性研究中,复发性CSCC与原发CSCC相比在切除手术后再次复发的可能性是两倍 (Harris等人, Otolaryngol Head Neck Surg, 156 (5) :863-69, 2017)。随着时间的推移,多次手术可损伤外貌和导致手术疲劳,即,由系列手术过程导致的身体和情绪减弱。而且,在头和颈的亚部位如耳朵、颞部和唇部中的CSCC与已经伴有较差的临床结果 (Brantsch等人, Lancet Oncol 9 (8) :713-20, 2008; Harris 等人, Otolaryngol Head Neck Surg, 156 (5) :863-69, 2017; Thompson等人, JAMA Dermatol 2016; 152 (4) :419-28, 2016)。

[0007] BCC的最常见的临床亚型是结节性BCC。较不常见的临床亚型是浅表性、硬斑病样(morphoeic) (纤维化)和纤维上皮的。大多数患者通过手术治愈,但是小部分患者经历复发性损害或发展为不可切除的局部晚期或转移性疾病。识别G 蛋白受体Smoothed (SMO)在BCC中的致癌作用导致开发了维莫德吉(vismodegib)和索尼德吉(sonidegib),它们是可口服使用的SMO抑制剂,通常称为Hedgehog抑制剂(HHIs)。除了HHIs的不良副作用外,还发现对于用一种HHI(维莫德吉)进展的患者,随后用另一种HHI(sonidegib)治疗不导致肿瘤抑制(Daniel等人,Clin.Cancer Res.22:1325-29,2016)。

[0008] 因此,对于皮肤癌如CSCC和BCC、特别是尽管之前手术但是已经复发的皮肤癌,仍然需要提供安全有效的治疗。

[0009] 而且,一小部分CSCC患者被认为患有高风险CSCC,如使用多种因素、包括使用美国癌症联合委员会第8版(AJCC,2017)进行的癌症分期、免疫状态、淋巴管侵袭、结牵涉程度、囊外延伸的存在和治疗史。在高危病例中推荐手术后放射疗法(Bichakjian等人,J Natl Compr Canc Netw,16(6):742-74,2018)(Stratigos,Eur J Cancer,51(14):1989-2007,2015)。然而,高风险患者可能复发局部区域复发或远处转移(Porceddu等人,J Clin Oncol,36(13):1275-83,2018)。因此,存在未满足的降低CSCC复发风险的需要,尤其是在高风险患者中。

[0010] 另外,已知的是,相比于任何其它肿瘤类型,移植接受者有更高的CSCC 风险(Euvarad等人,New Engl.J.Med.,348(17):1681-91,2003)。CSCC在移植患者中也具有比免疫活性CSCC患者更具侵袭性的临床过程(Manyam等人,Cancer,123(11):2054-60,2017)。在移植患者中全身施用PD-1抑制剂呈现出高风险的同种异体移植排斥或损伤(Lipson等人,New Engl.J.Med.,374(9):896-98,2016;Aguirre等人,The Oncologist,24:394-401,2018年11月9日;Starke等人,Kidney Int.,78(1):38-47,2010)。因此,对有效治疗移植患者的皮肤癌如CSCC同时避免或减少与之相关的风险存在未被满足的需求。

[0011] 简述

[0012] 在一个方面,所公开的技术涉及治疗或抑制肿瘤生长的方法,该方法包括:选择患有皮肤癌的患者;以及向所述患者的肿瘤经损害内施用一个或多个剂量的包含治疗有效量的程序性死亡1(PD-1)抑制剂的药物组合物。在一个实施方案中,皮肤癌是皮肤鳞状细胞癌(CSCC)、基底细胞癌(BCC)、Merkel细胞癌或黑素瘤。在另一个实施方案中,皮肤癌是CSCC。在另一个实施方案中,皮肤癌是复发性可切除的CSCC。在另一个实施方案中,患者已经进行了在先的癌症治疗。在另一个实施方案中,在先治疗包括手术、放射、化疗、PD-1抑制剂治疗和/或其它抗肿瘤治疗。在另一个实施方案中,患者处于复发的风险中。在另一个实施方案中,患者有手术后复发的在先历史。在另一个实施方案中,皮肤癌患者先前已接受了器官或组织移植。

[0013] 在另一个实施方案中,PD-1抑制剂的每个剂量包括将药物组合物一次或多次经损害内注射至肿瘤中。在另一个实施方案中,将至少两次损害内注射施用至肿瘤的不同位置中。在另一个实施方案中,将两次至五次损害内注射施用至肿瘤的两个至五个位置中。在另一个实施方案中,将至少一次损害内注射施用至肿瘤的上半部分中。在另一个实施方案中,将至少一次损害内注射施用到覆盖肿瘤的皮肤中。在另一个实施方案中,将至少一次损害内注射施用到邻近与正常外观皮肤的界面的肿瘤较上外周。在另一个实施方案中,肿瘤具

有至少1cm 的表面直径。在另一个实施方案中,肿瘤具有约2cm的表面直径。

[0014] 在另一个实施方案中,每天一次、每两天一次、每三天一次、每四天一次、每五天一次、每六天一次、每周一次或每周两次施用每个剂量。在另一个实施方案中,每个剂量包括5mg-200mg的PD-1抑制剂。在另一个实施方案中,每个剂量包括5mg、15mg或44mg的PD-1抑制剂。

[0015] 在另一个实施方案中,PD-1抑制剂的施用对患者中促进了肿瘤消退、减少了肿瘤细胞负荷、减少了肿瘤负担和/或阻止了肿瘤复发。在一个实施方案中,PD-1抑制剂的施用减少或消除了手术的需要。在另一个实施方案中,PD-1抑制剂的损害内施用促进了比PD-1抑制剂的静脉内施用多至少约10%的肿瘤消退。在另一个实施方案中,PD-1抑制剂的损害内施用与PD-1抑制剂的静脉内施用相比引起了较低的不良事件发生率、较轻的不良事件严重性和/或较低的毒性。

[0016] 在另一个实施方案中,所述方法还包括在步骤(b)之后手术移除肿瘤。在另一个实施方案中,所述方法还包括施用选自手术、放射、化疗、皮质类固醇、抗炎药物和/或其组合的第二种治疗剂或疗法。在一个实施方案中,PD-1抑制剂在第二种治疗剂或疗法之前施用。在一个实施方案中,PD-1抑制剂在第二种治疗剂或疗法之后施用。

[0017] 在另一个实施方案中,PD-1抑制剂包括抗PD-1抗体或其抗原结合片段、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段、或者抗PD-L2抗体或其抗原结合片段。在另一个实施方案中,PD-1抑制剂是抗PD-1抗体或其抗原结合片段,其包括包含 SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)和包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)。在另一个实施方案中,HCVR包括三个重链互补决定区(CDRs)(HCDR1、HCDR2和HCDR3),LCVR包括三个轻链CDRs(LCDR1、LCDR2和LCDR3),其中:HCDR1具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列;HCDR2具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列;HCDR3具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列;LCDR1具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;LCDR2具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列;和LCDR3具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在另一个实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NOs:1/2的HCVR/LCVR序列对。在另一个实施方案中,抗PD-1抗体包括重链和轻链,其中所述重链具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列。在另一个实施方案中,抗PD-1抗体包括重链和轻链,其中所述轻链具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列。在另一个实施方案中,抗PD-1 抗体包括重链和轻链,其中所述重链具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列,所述轻链具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列。

[0018] 在另一个实施方案中,PD-1抑制剂是西米普利单抗(cemiplimab)或其生物等效物。在另一个实施方案中,PD-1抑制剂是选自以下的抗-PD-1抗体:西米普利单抗、纳武单抗(nivolumab)、帕博利珠单抗(pembrolizumab)、匹地利珠单抗(pidilizumab)、MEDI0608、BI 754091、PF-0680159、斯巴达珠单抗(spartalizumab)、卡瑞利珠单抗(camrelizumab)、JNJ-63723283和MCLA-134。在另一个实施方案中,PD-1抑制剂是选自以下的抗PD-L1抗体:H2M8314N、阿维鲁单抗(avelumab)、阿特殊单抗(atezolizumab)、德瓦鲁单抗(durvalumab)、MDX-1105、LY3300054、FAZ053、STI-1014、CX-072、KN035和CK-301。

[0019] 在另一个方面,所公开的技术涉及在皮肤癌个体中治疗或抑制肿瘤生长的损害内注射溶液,其包括治疗有效量的程序性死亡1(PD-1)抑制剂和可药用载体或稀释剂。在一个实施方案中,PD-1抑制剂是抗PD-1抗体或其抗原结合片段,其包括包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)和包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)。在另

一个实施方案中,HCVR包括三个重链互补决定区(CDRs)(HCDR1、HCDR2和HCDR3),LCVR包括三个轻链CDRs(LCDR1、LCDR2和LCDR3),其中:HCDR1具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列;HCDR2具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列;HCDR3具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列;LCDR1具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;LCDR2具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列;LCDR3具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在另一个实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NOs:1/2的HCVR/LCVR 序列对。在一个实施方案中,PD-1抑制剂以20mg/mL的浓度存在于损害内注射溶液中。在一个实施方案中,PD-1抑制剂以60mg/mL的浓度存在于损害内注射溶液中。在一个实施方案中,PD-1抑制剂以175mg/mL的浓度存在于损害内注射溶液中。

[0020] 在另一个实施方案中,损害内注射溶液包括5mg至200mg的PD-1抑制剂。在另一个实施方案中,损害内注射溶液包含5mg、15mg或44mg的PD-1抑制剂。在另一个实施方案中,皮肤癌是CSCC。

[0021] 附图简述

[0022] 图1显示了概述实施例1所述的研究的图。

[0023] 图2A显示了患有CSCC的第一个示例性患者在基线的照片;图2B显示了第一个示例性患者在损害内施用抗PD-1抗体西米普利单抗之后的照片。

[0024] 图3A显示了患有CSCC的第二个示例性患者在基线的照片;图3B显示了第二个示例性患者在损害内施用抗PD-1抗体西米普利单抗之后的照片。

[0025] 详细说明

[0026] 可以理解,本公开内容不限于所述的特定方法和实验条件,因为这类方法和条件可以变化。还可以理解,本文使用的术语仅用于描述具体实施方案的目的,而不意欲限制,并且本公开内容的范围将仅由所附的权利要求限制。

[0027] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与所公开发明所属领域的普通技术人员通常理解的那些相同的含义。如本文使用的术语“约”当用于提及具体提及的数值时指该数值可以变化不超过所述值的1%。例如,如本文使用的表述“约100”包括99和101以及它们之间的所有值(例如99.1、99.2、99.3、99.4等)。

[0028] 尽管在本公开内容中实施中可以使用与本文所述那些类似或等同的任何方法和材料,但是现在描述了优选的方法和材料。

[0029] 治疗或抑制肿瘤生长的方法

[0030] 本公开内容包括用于治疗或抑制皮肤癌生长的方法,该方法包括将治疗有效量的PD-1抑制剂(例如特异性结合PD-1、PD-L1和/或PD-L2的抗体或其抗原结合片段,或如本文所述的任何其它“PD-1抑制剂”)经损害内施用于需要其的个体的皮肤癌肿瘤损害。在本公开内容中,特别提供了抗PD-1抗体的参考以解释说明代表性的PD-1抑制剂,它们不限制本公开内容的范围。在一些实施方案中,所述方法包括将PD-1抑制剂损害内施用于需要其的个体的皮肤癌肿瘤损害,其中所述个体可以任选地是移植接受者。

[0031] 如本文公开的损害内施用在皮肤癌的治疗中提供了多个优点。例如,损害内施用提供了改善的局部治疗,其将PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)直接引入个体的肿瘤损害中,从而允许特异性地在施用部位以较高的浓度有效施用所述抑制剂。这种局部治疗通过保护所治疗个体免于全身性暴露于PD-1抑制剂以及与其相关的任何毒性或副作用而提供了进一步的优点。另外,PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)的损害内施用诱导了免疫记忆应答,后

者有利地降低了所治疗个体中肿瘤损害复发的风险。换言之,在施用抗PD-1抗体后,抗PD-1抗体的随后剂量在个体中产生更快和更有效的应答,提供了长久的、抗原特异性的、保护性的免疫(通常称为免疫记忆)的益处。PD-1抑制剂的损害内施用的另一个优点是消除了对手术的需要,手术经常是疼痛且损伤外貌的过程,特别是在另外需要重复手术(其引起进一步损伤外貌)的情况下。

[0032] 此外,PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)的损害内施用给在同时是器官或组织移植接受者的患者中治疗皮肤癌提供了额外的益处,因为将避免与全身施用(例如静脉内输注)相关的不良事件。这是特别显著的优点,因为器官和组织移植接受者由于在器官移植后持续的免疫抑制而处于较大的皮肤癌风险中。因此,通过损害内(而不是全身性)施用PD-1抑制剂、例如抗PD-1抗体显著降低了该患者群体中不良事件如同种异体移植物排斥或损伤的发生率。

[0033] 如本文使用的表述“损害内施用”指将PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)经皮直接递送至皮肤癌肿瘤损害中,并且还包括将PD-1抑制剂经皮内直接递送至覆盖皮肤癌肿瘤损害的皮肤中。在多个实施方案中,术语“损害内施用”和“损害内注射”可互换使用。

[0034] 如本文使用的术语“治疗”等指减轻或降低至少一种症状或适应证的严重性,暂时或永久地消除症状的病因,延迟或抑制肿瘤生长,降低肿瘤细胞负荷或肿瘤负担,促进肿瘤消退,引起肿瘤缩小、坏死和/或消失,阻止肿瘤复发,预防或抑制转移,抑制转移性肿瘤生长,消除手术需要,和/或增加个体存活的持续时间。在多个实施方案中,术语“肿瘤”、“损害”、“肿瘤损害”、“癌症”和“恶性病”可互换使用,指一种或多种生长。

[0035] 在一些实施方案中,皮肤癌是皮肤鳞状细胞癌(CSCC)、基底细胞癌(BCC)、Merkel细胞癌或黑素瘤。在一些实施方案中,皮肤癌是头颈鳞状细胞癌。在一些实施方案中,皮肤癌是转移性的、可切除的、不可切除的、复发的或局部晚期的。在一些实施方案中,皮肤癌是CSCC,包括但不限于转移性CSCC、局部晚期CSCC、可切除CSCC、不可切除CSCC或复发性CSCC。在一个实施方案中,皮肤癌是可切除的和复发性的CSCC。在一个实施方案中,皮肤癌是晚期CSCC。

[0036] 如本文使用的术语“复发”指患者中皮肤癌(例如CSCC)的频繁或重复诊断,或者个体肿瘤损害的频繁或重复发生,例如原发性肿瘤损害和/或可代表先前肿瘤损害复发的新肿瘤损害。在一些实施方案中,PD-1抑制剂的损害内施用抑制 CSCC患者中的肿瘤损害的复发。

[0037] 如本文使用的术语“复发”定义为局部、区域性或远端的一个或多个新皮肤癌(例如CSCC)损害的出现。在许多情况下,皮肤中的新损害是由于长期UV介导的皮肤损伤引起的区域性癌化导致的新的原发肿瘤(Christensen, F1000Res, 7, 2018)。关于CSCC,局部或区域性(局部区域性)复发由以下疾病复发部位中的任一个定义:(a)对于HN CSCC,锁骨上方的结或软组织复发;(b)对于非HN CSCC,在所切除肿瘤的第一引流结流域(drainage nodal basin)(或与第一引流结流域相关的软组织)内复发;(c)转运中转移,定义为距原发损害>2cm但不超出区域性结流域的皮肤或皮下转移。远端复发由以下疾病复发部位中的任一个定义:(a)对于HN CSCC,锁骨下方的结复发;(d)对于非-HN CSCC,复发超过所切除肿瘤床的第一引流结流域。2个结流域中的复发将被认为是远端复发,即使是邻接的(即,2个纵隔结流域,2个骨盆结流域);(e)非结组织(包括但不限于肺、肝、骨、脑)中的复发;(f)嗜表皮转

移,定义为不累及表皮的真皮中远处损害。

[0038] 如本文使用的表述“需要其的个体”指表现出皮肤癌的一个或多个症状或适应证和/或已被诊断为皮肤癌、包括实体瘤并且需要对其进行治疗的人或非人哺乳动物。在多个实施方案中,术语“个体”和“患者”可互换使用。所述表述包括具有原发性、已确定的或复发性肿瘤损害的个体。在特定的实施方案中,所述表述包括患有实体瘤和/或需要实体瘤治疗的人类个体。所述表述还包括患有原发性或转移性肿瘤(晚期恶性病)的个体。在一些实施方案中,所述表述包括具有对在先疗法(例如手术或用抗癌剂如卡铂或多西他赛治疗)有抗性或难治或不能充分控制的实体瘤的患者。在一些实施方案中,所述表述包括患有已经用一线或多线在先疗法(例如手术切除)治疗但随后复发的肿瘤损害的患者。在一些实施方案中,所述表述包括具有皮肤癌肿瘤损害的个体,其不是治愈性手术或治愈性放射的候选者,或对其而言常规抗癌疗法是不可取的,例如由于毒性副作用而是不可取的。在其它实施方案中,所述表达包括计划手术切除的患有皮肤癌肿瘤损害的个体。在其它实施方案中,所述表达包括由于手术后复发的在先病史而复发风险高的个体。

[0039] 在一些实施方案中,本公开内容的方法用于患有实体瘤的个体。如本文使用的术语“实体瘤”指通常不包含囊肿或液体区域的异常组织块。实体瘤可以是良性的(非癌症)或恶性的(癌症)。对于本公开内容的目的,术语“实体瘤”指恶性实体瘤。该术语包括不同类型的以形成它们的细胞类型来命名的实体瘤,即,肉瘤、癌和淋巴瘤。在一些实施方案中,术语“实体瘤”包括在需要治疗的个体中彼此分开定位的多于一个的肿瘤损害,例如2个或更多个、5个或更多个、10个或更多个、15个或更多个、20个或更多个、25个或更多个损害。在一些实施方案中,所述多于一个的损害位于彼此的远端。

[0040] 在一些实施方案中,所公开的方法包括与抗肿瘤疗法组合施用治疗有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)。如本文使用的表述“组合”指PD-1抑制剂在抗肿瘤疗法之前、之后或同时施用。抗肿瘤疗法包括但不限于常规抗肿瘤疗法,例如化疗、放射、手术或如本文其它地方所述。在一个实施方案中,抗肿瘤疗法包括手术。

[0041] 在一些实施方案中,本公开内容提供了用于治疗皮肤癌的方法,包括选择患有皮肤癌肿瘤损害的个体和将一个或多个剂量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)经损害内施用到损害的一个或多个位置。在一些实施方案中,PD-1抑制剂经损害内施用到单个皮肤癌损害中的2、3、4、5、6或7个位置。在一些实施方案中,PD-1抑制剂可以经损害内施用至损害中的2至5个位置。在一些实施方案中,至少一个位置是损害的上(头侧)半部分。在一些实施方案中,至少一个位置在肿瘤损害的上半部的最致密部分内。在一些实施方案中,至少一个位置是覆盖肿瘤损害的皮肤。在一些实施方案中,至少一个位置是靠近或邻近与正常外观皮肤的界面的肿瘤较上(头侧)外周。

[0042] 在一些实施方案中,将一个或多个剂量的PD-1抑制剂损害内施用至具有至少1cm表面直径的肿瘤损害中。在一些实施方案中,所述损害具有不超过2cm的表面直径。在一个实施方案中,肿瘤损害具有1.0cm至2.0cm的表面直径。在其它实施方案中,肿瘤损害在损害的每个最长垂直表面直径为至少1cm。在其它实施方案中,肿瘤损害在损害的每个最长垂直表面直径为不超过2cm。在另一个实施方案中,肿瘤损害在损害的每个最长垂直表面直径为1.0cm至2.0cm。

[0043] 在一些实施方案中,所公开的方法诱导免疫记忆应答,后者降低个体中肿瘤损害

复发的风险。在一个实施方案中,向需要其的个体损害内施用治疗有效量的PD-1抑制剂导致肿瘤消退和消除对手术的需要。

[0044] 在一些实施方案中,本公开内容的方法包括向患有晚期实体瘤如CSCC的个体损害内施用治疗有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)。在一些实施方案中,晚期实体瘤是生长缓慢的或侵袭性的。在一些实施方案中,个体对在先疗法或手术没有反应,或者在在先疗法或手术之后复发(例如经历复发性损害)。

[0045] 根据一些实施方案,本公开内容的方法包括向个体损害内施用治疗有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)与另外的治疗剂或治疗方案或操作的组合。可以施用另外的治疗剂或治疗方案或操作用于增强抗肿瘤功效、降低一种或多种疗法的毒性作用和/或减少一种或多种疗法的剂量。在多个实施方案中,另外的治疗剂或治疗方案或操作可以包括以下的一种或多种:化疗、环磷酰胺、手术、癌症疫苗、程序性死亡配体1 (PD-L1) 抑制剂(例如抗PD-L1抗体)、淋巴细胞活化基因3 (LAG3) 抑制剂(例如抗LAG3抗体)、细胞毒性T-淋巴细胞相关蛋白4 (CTLA-4) 抑制剂(例如伊匹木单抗(ipilimumab))、糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体(GITR) 激动剂(例如抗GITR抗体)、含T-细胞免疫球蛋白和黏蛋白-3 (TIM3) 的抑制剂、B-和T-淋巴细胞衰减因子(BTLA) 抑制剂、具有Ig和ITIM结构域的T细胞免疫受体(TIGIT) 抑制剂、CD47抑制剂、吡哆胺-2,3-双加氧酶(IDO) 抑制剂、血管内皮生长因子(VEGF) 拮抗剂、血管生成素-2(Ang2) 抑制剂、转化生长因子 $\beta$  (TGF $\beta$ ) 抑制剂、表皮生长因子受体(EGFR) 抑制剂、针对肿瘤特异性抗原的抗体[例如CA9、CA125、黑素瘤相关抗原3(MAGE3)、癌胚抗原(CEA)、波形蛋白、肿瘤-M2-PK、前列腺特异性抗原(PSA)、粘蛋白-1、MART-1、CA19-9]、抗-CD3/抗-CD20双特异性抗体、疫苗(例如卡介苗)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、细胞毒素、化疗剂、IL-6R抑制剂、IL-4R抑制剂、IL-10抑制剂、细胞因子如IL-2、IL-7、IL-21和IL-15、抗炎药如皮质类固醇和非甾体抗炎药(NSAID) 和膳食补充剂如抗氧化剂。在一些实施方案中,PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体) 可以与包括化疗剂和/或手术的疗法组合施用。

[0046] 在一些实施方案中,向患有皮肤癌损害并且需要其的个体损害内施用治疗有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体) 导致所治疗个体中增加的肿瘤生长抑制,例如更大的肿瘤消退。在一些实施方案中,与未治疗的个体或通过不同于损害内的施用途径(例如全身性施用途径如静脉内输注) 用PD-1抑制剂治疗的个体相比,损害内施用PD-1抑制剂在所治疗个体中促进肿瘤消退多至少约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%或约80%。

[0047] 在一些实施方案中,向患有皮肤癌损害并且需要其的个体损害内施用治疗有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体) 导致增加的肿瘤消退、肿瘤缩小和/或消失。在一个实施方案中,损害内施用导致肿瘤消退或肿瘤缩小,从而使得对手术的需要减少或消除。

[0048] 在一些实施方案中,损害内施用PD-1抑制剂导致肿瘤生长和发展的延迟,例如,与未治疗的个体或通过不同于损害内的施用途径(例如全身性施用途径如静脉内输注) 用PD-1抑制剂治疗的个体相比,肿瘤生长在所治疗个体中可以延迟约3天、大于3天、约7天、大于7天、大于15天、大于1个月、大于3个月、大于6个月、大于1年、大于2年或大于3年。

[0049] 在一些实施方案中,与未治疗的个体或通过不同于损害内的施用途径(例如全身性施用途径如静脉内输注) 用PD-1抑制剂治疗的个体相比,向患有皮肤癌损害并且需要其

的个体损害内施用治疗有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)在所治疗个体中导致不良事件发生率降低、不良事件严重性降低和/或毒性降低。

[0050] 在一些实施方案中,与未治疗的个体或通过不同于损害内的施用途径(例如静脉内输注)用PD-1抑制剂治疗的个体相比,向患有皮肤癌损害并且需要其的个体损害内施用治疗有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)阻止了肿瘤复发和/或增加了个体的存活持续时间,例如使存活持续时间增加大于15天、大于1个月、大于3个月、大于6个月、大于12个月、大于18个月、大于24个月、大于36个月或大于48个月。

[0051] 在一些实施方案中,向患有皮肤癌损害并且需要其的个体损害内施用治疗有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)导致肿瘤细胞的所有证据完全消失(“完全应答”),导致肿瘤细胞或肿瘤尺寸减少至少30%或更多(“部分应答”),或者导致肿瘤细胞/损害、包括新的可测量损害完全或部分消失。肿瘤减少可通过本领域已知的任意方法测量,例如X-射线、正电子发射断层扫描(PET)、计算机断层扫描(CT)、磁共振成像(MRI)、细胞学、组织学或分子遗传学分析。

[0052] 在一些实施方案中,与施用“标准护理”(SOC)疗法(例如化疗、手术或放射)的个体相比,向患有皮肤癌损害并且需要其的个体损害内施用治疗有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)导致个体的总生存期(OS)或无进展生存期(PFS)增加。在一些实施方案中,与施用任意一种或多种SOC疗法的个体相比,PFS增加至少一个月、至少2个月、至少3个月、至少4个月、至少5个月、至少6个月、至少7个月、至少8个月、至少9个月、至少10个月、至少11个月、至少1年、至少2年或至少3年。在一些实施方案中,与施用任意一种或多种SOC疗法的个体相比,OS增加至少一个月、至少2个月、至少3个月、至少4个月、至少5个月、至少6个月、至少7个月、至少8个月、至少9个月、至少10个月、至少11个月、至少1年、至少2年或至少3年。

[0053] 在一些实施方案中,向已经接受移植如实体器官或组织移植的患有皮肤癌的个体损害内施用治疗有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)有利地避免了与向移植接受者全身施用PD-1抑制剂相关的不良事件。在这类实施方案中,与经由其它途径、例如全身性施用途径如静脉内输注接受PD-1抑制剂的移植接受者个体相比,向移植接受者个体损害内施用导致不良事件发生率降低至少约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%或约90%。可以因此在该患者群体中避免的不良事件的非限制性实例包括同种异体移植排斥和损伤。

[0054] PD-1抑制剂

[0055] 本文公开的方法包括施用治疗有效量的PD-1抑制剂。如本文使用的“PD-1抑制剂”指能够抑制、阻断、消除或干扰PD-1的活性或表达的任何分子。在一些实施方案中,PD-1抑制剂可以是抗体、小分子化合物、核酸、多肽或其功能片段或变体。适宜的PD-1抑制剂抗体的非限制性实例包括抗PD-1抗体及其抗原结合片段、抗PD-L1抗体及其抗原结合片段、抗PD-L2抗体及其抗原结合片段。适宜的PD-1抑制剂的其它非限制性实例包括RNAi分子如抗PD-1RNAi分子、抗PD-L1RNAi和抗PD-L2RNAi,反义分子如抗PD-1反义RNA、抗PD-L1反义RNA和抗PD-L2反义RNA,和显性负效(dominant negative)蛋白质如显性负效PD-1蛋白质、显性负效PD-L1蛋白质和显性负效PD-L2蛋白质。前述PD-1抑制剂的一些实例描述在例如US9308236、US10011656和US20170290808中,将其鉴别PD-1抑制剂的部分通过引用并入本文。

[0056] 如本文使用的术语“抗体”指包含四条多肽链(通过二硫键相互连接的两条重链(H)和两条轻链(L))的免疫球蛋白分子及其多聚物(例如IgM)。在典型的抗体中,每条重链包含重链可变区(本文缩写为HCVR或 $V_H$ )和重链恒定区。重链恒定区包含三个结构域, $C_H1$ 、 $C_H2$ 和 $C_H3$ 。每条轻链包含轻链可变区(本文缩写为LCVR或 $V_L$ )和轻链恒定区。轻链恒定区包含一个结构域( $C_L1$ )。 $V_H$ 和 $V_L$ 区域可进一步细分为高变区,称为互补决定区(CDRs),其间散布着更保守的区域,称为框架区(FR)。每个 $V_H$ 和 $V_L$ 由三个CDRs和四个FRs组成,按照以下顺序从氨基末端到羧基末端排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本发明的不同实施方案中,抗IL-4R抗体(或其抗原结合部分)的FRs可以与人种系序列相同,或者可以是天然的或人工修饰的。可以基于两个或更多个CDRs的一一(side-by-side)分析来定义氨基酸共有序列。如本文使用的术语“抗体”还包括完整抗体分子的抗原结合片段。

[0057] 如本文使用的术语抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”等包括特异性结合抗原以形成复合物的任何天然存在的、可酶促获得的、合成的或基因工程化的多肽或糖蛋白。抗体的抗原结合片段可以例如使用任何适宜的标准技术从完整抗体分子衍生,所述技术例如有蛋白水解消化或涉及操纵和表达编码抗体可变结构域和任选恒定结构域的DNA的重组基因工程技术。这类DNA是已知的和/或容易获自例如商业来源、DNA文库(包括例如噬菌体-抗体文库),或者可以合成。可以经化学或者通过使用分子生物学技术对DNA进行测序和操控,例如以将一个或多个可变和/或恒定结构域排列成适宜的构型或引入密码子、产生半胱氨酸残基、修饰、添加或删除氨基酸等。

[0058] 抗原结合片段的非限制性实例包括:(i) Fab片段;(ii) F(ab')<sub>2</sub>片段;(iii) Fd片段;(iv) Fv片段;(v) 单链Fv(scFv)分子;(vi) dAb片段;和(vii) 由模拟抗体高变区的氨基酸残基组成的最小识别单位(例如分离的互补决定区(CDR),如CDR3肽),或限制性FR3-CDR3-FR4肽。其它工程化分子,例如结构域特异性抗体、单结构域抗体、结构域缺失抗体、嵌合抗体、CDR移植抗体、双抗体、三抗体、四抗体、微抗体、纳米抗体(例如单价纳米抗体、二价纳米抗体等)、小模块免疫药物(SMIPs)和鲨鱼可变IgNAR结构域,也包括在如本文使用的表述“抗原结合片段”内。

[0059] 抗体的抗原结合片段通常将包含至少一个可变结构域。可变结构域可以具有任意尺寸或氨基酸组成,并且通常将包含至少一个与一个或多个框架序列相邻或与它们符合读框的CDR。在具有与 $V_L$ 结构域相联系的 $V_H$ 结构域的抗原结合片段中, $V_H$ 和 $V_L$ 结构域可以以任何适宜的排列相对于彼此定位。例如,可变区可以是二聚的,含有 $V_H$ - $V_H$ 、 $V_H$ - $V_L$ 或 $V_L$ - $V_L$ 二聚物。或者,抗体的抗原结合片段可含有单体 $V_H$ 或 $V_L$ 结构域。

[0060] 在一些实施方案中,抗体的抗原结合片段可以含有至少一个与至少一个恒定结构域共价连接的可变结构域。可以在本公开内容的抗体的抗原结合片段中发现的可变区和恒定区的非限制性示例性构型包括:(i)  $V_H$ - $C_H1$ ;(ii)  $V_H$ - $C_H2$ ;(iii)  $V_H$ - $C_H3$ ;(iv)  $V_H$ - $C_H1$ - $C_H2$ ;(v)  $V_H$ - $C_H1$ - $C_H2$ - $C_H3$ ;(vi)  $V_H$ - $C_H2$ - $C_H3$ ;(vii)  $V_H$ - $C_L$ ;(viii)  $V_L$ - $C_H1$ ;(ix)  $V_L$ - $C_H2$ ;(x)  $V_L$ - $C_H3$ ;(xi)  $V_L$ - $C_H1$ - $C_H2$ ;(xii)  $V_L$ - $C_H1$ - $C_H2$ - $C_H3$ ;(xiii)  $V_L$ - $C_H2$ - $C_H3$ ;和(xiv)  $V_L$ - $C_L$ 。在可变和恒定结构域的任意构型、包括上文列出的任意示例性构型中,可变和恒定结构域可以彼此直接连接或者可以通过完整或部分铰链或接头区连接。铰链区可以由至少2个(例如5、10、15、20、40、60或更多个)氨基酸组成,其导致在单个多肽分子中相邻的可变结构域和/或恒定结构域之间的柔性或半柔性连接。而且,本公开内容的抗体的抗原结合片段可以包含上文列出

的任意可变和恒定结构域构型的同二聚物或异二聚物(或其它多聚物),彼此非共价缔合和/或与一个或多个单体 $V_H$ 或 $V_L$ 结构域非共价缔合(例如通过二硫键)。

[0061] 本文公开的方法中使用的抗体可以是人抗体。如本文使用的术语“人抗体”指具有源自人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体。但是,本公开内容的人抗体仍然可以包括不是由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变),例如在 CDRs中,特别是在CDR3中。然而,如本文使用的术语“人抗体”不意欲包括其中来源于其它哺乳动物种属如小鼠的种系的CDR序列已被移植到人框架序列上的抗体。

[0062] 本文公开的方法中使用的抗体可以是重组人抗体。如本文使用的术语“重组人抗体”包括通过重组方式制备、表达、产生或分离的所有人抗体,例如使用转染到宿主细胞中的重组表达载体表达的抗体(下文进一步描述),从重组组合人抗体文库分离的抗体(下文进一步描述),从用人免疫球蛋白基因转基因的动物(例如小鼠)分离的抗体[参见例如Taylor等人,(1992)Nucl.Acids Res.20: 6287-6295],或通过涉及将人免疫球蛋白基因序列剪接到其它DNA序列的任意其它手段制备、表达、产生或分离的抗体。这类重组人抗体具有衍生自人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区。然而,在一些实施方案中,这类重组人抗体进行体外诱变(或者,当使用人Ig序列转基因的动物时,进行体内体细胞诱变),因此重组抗体的 $V_H$ 和 $V_L$ 区的氨基酸序列是不可能存在于人抗体种系库中的序列,虽然其衍生自人种系 $V_H$ 和 $V_L$ 序列并与之相关。

[0063] 抗PD-1抗体及其抗原结合片段

[0064] 在一些实施方案中,本文公开的方法中使用的PD-1抑制剂是特异性结合 PD-1的抗体或其抗原结合片段。术语“特异性结合”等指抗体或其抗原结合片段与抗原形成在生理条件下相对稳定的复合物。用于确定抗体是否特异性结合抗原的方法是本领域公知的,包括例如平衡透析、表面等离子共振等。例如,如在本公开内容的上下文中使用的“特异性结合”PD-1的抗体包括以小于约 500nM、小于约300nM、小于约200nM、小于约100nM、小于约90nM、小于约80nM、小于约70nM、小于约60nM、小于约50nM、小于约40nM、小于约 30nM、小于约20nM、小于约10nM、小于约5nM、小于约4nM、小于约3nM、小于约2nM、小于约1nM或小于约0.5nM的 $K_D$ 结合PD-1或其部分的抗体,如在表面等离子共振测定中测量。然而,特异性结合人PD-1的分离抗体可与其它抗原、例如来自其它(非人)种属的PD-1分子具有交叉反应性。

[0065] 根据一些示例性的实施方案,抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(HCVR)、轻链可变区(LCVR)和/或互补决定区(CDRs),它们包含在美国专利号9,987,500中给出的任意抗PD-1抗体的氨基酸序列,该文献通过引用整体并入本文。在一些示例性的实施方案中,可用于本公开内容的上下文中的抗PD-1 抗体或其抗原结合片段包含:含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)的重链互补决定区(HCDRs)和含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)的轻链互补决定区(LCDRs)。根据一些实施方案,抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含三个HCDRs(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个LCDRs(LCDR1、LCDR2和LCDR3),其中所述HCDR1包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;所述HCDR2包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;所述HCDR3包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;所述LCDR1包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;所述 LCDR2包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列;和所述LCDR3包含SEQ ID NO:

8 的氨基酸序列。在其它实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:1的HCVR和含有SEQ ID NO:2的LCVR。在一些实施方案中,本公开内容的方法包括抗PD-1抗体的用途,其中所述抗体包含含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链。在一些实施方案中,所述抗PD-1抗体包含含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链。包含含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链的示例性抗体是完全人抗PD-1抗体,称为西米普利单抗(也称为REGN2810)。

[0066] 根据一些示例性实施方案,本公开内容的方法包括REGN2810或其生物等效物的用途。如本文使用的术语“生物等效”指这样的抗PD-1抗体或PD-1结合蛋白质或其片段:它们是药物等同物或药物替代物,当以相同摩尔剂量在相似实验条件下以单剂量或多剂量施用它们时它们的吸收速率和/或程度没有显示出与参考抗体(例如REGN2810)的显著性差异。在本公开内容的上下文中,术语“生物等效”包括与PD-1结合和就安全性、纯度和/或效力而言与REGN2810没有临床上具有意义的差异的抗原结合蛋白质。

[0067] 根据本公开内容的一些实施方案,抗人PD-1或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:1具有90%、95%、98%或99%序列一致性的HCVR。

[0068] 根据本公开内容的一些实施方案,抗人PD-1或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:2具有90%、95%、98%或99%序列一致性的LCVR。

[0069] 根据本公开内容的一些实施方案,抗人PD-1或其抗原结合片段包含如下的HCVR:所述HCVR包含具有不超过5个氨基酸取代的SEQ ID NO:1的氨基酸序列。根据本公开内容的一些实施方案,抗人PD-1或其抗原结合片段包含如下的LCVR:所述LCVR包含具有不超过2个氨基酸取代的SEQ ID NO:2的氨基酸序列。

[0070] 序列一致性可通过本领域已知的方法(例如GAP、BESTFIT和BLAST)测量。

[0071] 本公开内容还包括抗PD-1抗体在治疗皮肤癌的方法中的用途,其中所述抗PD-1抗体包含具有一个或多个保守氨基酸取代的本文公开的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列中任一者的变体。例如,本公开内容包括具有HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的抗PD-1抗体的用途,所述氨基酸序列相对于本文公开的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列中任一者而言具有例如10个或更少、8个或更少、6个或更少、4个或更少等的保守氨基酸取代。

[0072] 可以在本公开内容的方法的上下文中使用的其它抗PD-1抗体包括例如称为和在本领域已知为纳武单抗、帕博利珠单抗、MEDI0608、匹地利珠单抗、BI754091、斯巴达珠单抗(也称为PDR001)、卡瑞利珠单抗(也称为SHR-1210)、JNJ-63723283、MCLA-134的抗体,或美国专利号6808710、7488802、8008449、8168757、8354509、8609089、8686119、8779105、8900587和9987500以及专利公开W02006/121168、W02009/114335中给出的抗PD-1抗体中的任一者。上述所有文献中鉴别抗PD-1抗体的部分通过引用并入本文。

[0073] 在本公开内容的方法的上下文中使用的抗PD-1抗体可具有pH依赖性结合特性。例如,用于本公开内容的方法的抗PD-1抗体在酸性pH下与中性pH相比可显示出与PD-1的结合降低。或者,本发明的抗PD-1抗体在酸性pH下与中性pH相比可显示出与其抗原的结合增强。表述“酸性pH”包括小于约6.2的pH值,例如约6.0、5.95、5.9、5.85、5.8、5.75、5.7、5.65、5.6、5.55、5.5、5.45、5.4、5.35、5.3、5.25、5.2、5.15、5.1、5.05、5.0或更小。如本文使用的表述“中性pH”指约7.0至约7.4的pH。表述“中性pH”包括约7.0、7.05、7.1、7.15、7.2、7.25、7.3、7.35和7.4的pH值。

[0074] 在一些情况中，“在酸性pH下与中性pH相比与PD-1的结合降低”是以在酸性pH下结合PD-1的抗体的 $K_D$ 值比在中性pH下与PD-1结合的抗体的 $K_D$ 值的比值表示的(或反之亦然)。例如,如果抗体或其抗原结合片段显示出约为3.0 或更高的酸性/中性 $K_D$ 比值,则对于本公开内容的目的而言可以认为该抗体或其抗原结合片段显示出“在酸性pH下与中性pH相比与PD-1的结合降低”。在一些示例性实施方式中,本公开内容的抗体或抗原结合片段的酸性/中性 $K_D$ 比值可以是约3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0、10.5、11.0、11.5、12.0、12.5、13.0、13.5、14.0、14.5、15.0、20.0、25.0、30.0、40.0、50.0、60.0、70.0、100.0或更大。

[0075] 可以获得具有pH依赖性结合特性的抗体,例如通过筛选在酸性pH下与中性pH相比与特定抗原的结合降低(或增强)的抗体群体。另外,抗原结合结构域在氨基酸水平的修饰可以产生具有pH依赖性特性的抗体。例如,通过用组氨酸残基取代抗原结合结构域(例如CDR内)的一个或多个氨基酸,可以获得在酸性 pH下相对于中性pH具有降低的抗原结合的抗体。如本文使用的表述“酸性pH”指6.0或更低的pH。

[0076] 抗PD-L1抗体及其抗原结合片段

[0077] 在一些实施方案中,本文公开的方法中使用的PD-1抑制剂是特异性结合 PD-L1的抗体或其抗原结合片段。例如,如本公开内容的上下文中使用的“特异性结合”PD-L1的抗体包括以约 $1 \times 10^{-8}$ M或更小的 $K_D$ 结合PD-L1或其部分的抗体(例如,较小的 $K_D$ 表示更紧密的结合)。“高亲和性”抗PD-L1抗体指具有对 PD-L1的结合亲和力的那些mAbs,表示为至少 $10^{-8}$ M、优选 $10^{-9}$ M、更优选 $10^{-10}$ M、甚至更优选 $10^{-11}$ M、甚至更优选 $10^{-12}$ M的 $K_D$ ,如通过表面等离子共振、例如 BIACORE™或溶液亲和性ELISA测定。然而,特异性结合人PD-L1的分离抗体可能与其它抗原、例如来自其它(非人)种属的PD-L1分子具有交叉反应性。

[0078] 根据一些示例性实施方案,抗PD-L1抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(HCVR)、轻链可变区(LCVR)和/或互补决定区(CDRs),它们包含在美国专利号9,938,345中给出的任意抗PD-L1抗体的氨基酸序列,该文献通过引用整体并入本文。在一些示例性的实施方案中,可用于于本公开内容的上下文中的抗 PD-L1抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(HCVR)的重链互补决定区(HCDRs)和轻链可变区(LCVR)的轻链互补决定区(LCDRs),其中所述HCVR和 LCVR包含如在美国专利号9,938,345中命名为H2M8314N的抗PD-L1抗体的氨基酸序列。根据一些实施方案,抗PD-L1抗体或其抗原结合片段包含三个 HCDRs(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个LCDRs(LCDR1、LCDR2和 LCDR3),其中所述HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3 包含在美国专利号9,938,345中命名为H2M8314N的抗PD-L1抗体的氨基酸序列。在仍然其它实施方案中,抗PD-L1抗体或其抗原结合片段包含含有在美国专利号9,938,345中命名为H2M8314N的抗PD-L1抗体的氨基酸序列的HCVR 和LCVR。

[0079] 在一些实施方案中,本公开内容的方法包括抗PD-L1抗体的用途,其中所述抗体包含含有在美国专利号9,938,345中命名为H2M8314N的抗PD-L1抗体的重链氨基酸序列的重链。在一些实施方案中,抗-PD-1抗体包含含有在美国专利号9,938,345中命名为H2M8314N的抗PD-L1抗体的轻链氨基酸序列的轻链。

[0080] 根据本公开内容的一些实施方案,抗人PD-L1或其抗原结合片段包含与在美国专利号9,938,345中命名为H2M8314N的抗PD-L1抗体的LCVR氨基酸序列具有90%、95%、98%或99%序列一致性的LCVR。

[0081] 根据本公开内容的一些实施方案,抗人PD-L1或其抗原结合片段包含如下的HCVR:所述HCVR包含具有不超过5个氨基酸取代的在美国专利号9,938,345 中命名为H2M8314N的抗PD-L1抗体的氨基酸序列。根据本公开内容的一些实施方案,抗人PD-L1或其抗原结合片段包含如下的LCVR:所述LCVR包含具有不超过2个氨基酸取代的在美国专利号9,938,345中命名为H2M8314N的抗 PD-L1抗体的氨基酸序列。

[0082] 序列一致性可通过本领域已知的方法(例如GAP、BESTFIT和BLAST)测量。

[0083] 本公开内容还包括抗PD-L1抗体在治疗皮肤癌的方法中的用途,其中所述抗PD-L1抗体包含具有一个或多个保守氨基酸取代的本文公开的HCVR、LCVR 和/或CDR氨基酸序列中任一者的变体。例如,本公开内容包括具有HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的抗PD-L1抗体的用途,所述氨基酸序列相对于本文公开的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列中任一者而言具有例如10个或更少、8个或更少、6个或更少、4个或更少等的保守氨基酸取代。

[0084] 可以在本公开内容的方法的上下文中使用的其它抗PD-L1抗体包括例如称为和在本领域已知为MDX-1105、阿特殊单抗(TECENTRIQ™)、德瓦鲁单抗(IMFINZI™)、阿维鲁单抗(BAVENCIO™)、LY3300054、FAZ053、STI-1014、CX-072、KN035(Zhang等人,Cell Discovery, 3,170004(2017年3月))、CK-301(Gorelik等人,American Association for Cancer Research Annual Meeting(AACR), 2016-04-04摘要4606)的抗体,或在以下专利公开中给出的其它抗-PD-L1抗体中的任一者:US7943743、US8217149、US9402899、US9624298、US9938345、WO 2007/005874、WO 2010/077634、WO 2013/181452、WO 2013/181634、WO 2016/149201、WO 2017/034916或EP3177649。上述所有文献中鉴别抗PD-L1 抗体的部分通过引用并入本文。

[0085] 药物组合物和施用

[0086] 本文公开的PD-1抑制剂可以包括在药物组合物内,其可以与适宜的载体、赋形剂、缓冲剂和提供适宜转移、递送、耐受等的其它物质一起配制。在所有药物化学家都知道的处方集中可以找到多种适当的制剂:Remington's Pharmaceutical Sciences,Mack出版公司,伊士顿,PA。这些制剂包括例如粉剂、糊剂、软膏、凝胶、蜡、油、脂质、含脂质(阳离子或阴离子)囊泡(例如 LIPOFECTIN™)、DNA缀合物、无水吸附糊剂、水包油和油包水乳剂、乳剂碳蜡(各种分子量的聚乙二醇)、半固体凝胶和含有碳蜡的半固体混合物。还参见 Powell等人,"Compendium of excipients for parenteral formulations"PDA,J Pharm Sci Technol 52:238-311(1998)。

[0087] 各种递送系统是已知的,并且可用于施用本发明的药物组合物,例如脂质体中封装、微粒、微囊、能够表达突变体病毒的重组细胞、受体介导的胞吞作用。参见例如Wu等人,J.Biol.Chem.262:4429-32(1987)。

[0088] 包含本文公开的PD-1抑制剂的药物组合物适于损害内施用,其包括直接施用至皮肤癌损害中和施用至覆盖皮肤癌损害的皮肤中。药物组合物可以通过用标准针头和注射器皮下注射来递送。

[0089] 药物组合物的可注射制剂可以通过已知方法制备。例如,可注射制剂可以例如通过将上述抗体或其盐溶解、混悬或乳化在无菌水性介质或常规用于注射的油性介质中来制备。作为注射用水性介质,例如有生理盐水、含葡萄糖和其它辅助剂的等渗溶液等,其可以与适当的增溶剂如醇(例如乙醇)、多元醇(例如丙二醇、聚乙二醇)、非离子表面活性剂[例

如聚山梨酯80、HCO-50 (氢化蓖麻油的聚氧乙烯 (50mol) 加合物) ]等组合使用。作为油性介质,可以使用例如芝麻油、大豆油等,其可以与增溶剂如苯甲酸苄酯、苯甲醇等组合使用。如此制备的可注射制剂优选地填充在适宜的注射安瓿中。在一些实施方案中,可注射制剂可以是损害内注射溶液的形式,其包括一定浓度的PD-1抑制剂和一种或多种溶剂(例如蒸馏水、盐水等)。

[0090] 在一些实施方案中,本公开内容提供了包含治疗量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)和可药用载体的药物组合物或制剂。在一些实施方案中,本公开内容提供了配制在用于通过损害内注射施用的药物组合物中的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)。

[0091] 可用于本公开内容的上下文中的包含抗PD-1抗体的示例性药物组合物公开在例如US2019/0040137中。

[0092] 施用方案

[0093] 在一些实施方案中,本文公开的方法包括以多剂量(例如作为特定治疗剂量方案的一部分)向需要其的个体的肿瘤损害内施用治疗有效量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)。例如,上述治疗剂量方案可以包括以如下频率向个体施用一个或多个剂量的PD-1抑制剂:约每天一次、每两天一次、每三天一次、每四天一次、每五天一次、每六天一次、每周一次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、每五周一次、每六周一次、每八周一次、每十二周一次、每月一次、每两个月一次、每三个月一次、每四个月一次、每天两次、每两天两次、每三天两次、每四天两次、每五天两次、每六天两次、每周两次、每两周两次、每三周两次、每四周两次、每五周两次、每六周两次、每八周两次、每十二周两次、每月两次、每两个月两次、每三个月两次、每四个月两次、每天三次、每两天三次、每三天三次、每四天三次、每五天三次、每六天三次、每周三次、每两周三次、每三周三次、每四周三次、每五周三次、每六周三次、每八周三次、每十二周三次、每月三次、每两个月三次、每三个月三次、每四个月三次或更少频率,或者根据需要,只要获得治疗响应即可。在一个实施方案中,每周一次施用一个或多个剂量的抗PD-1抗体。

[0094] 在一些实施方案中,在至少一个治疗周期中施用一个或多个剂量。根据该方面,该方法包括向需要其的个体施用至少一个治疗周期,其包括施用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个剂量的PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)。在一个实施方案中,治疗周期包含3个剂量的PD-1抑制剂。在一个实施方案中,治疗周期包含12个剂量的PD-1抑制剂。在一个实施方案中,治疗周期包含24个剂量的PD-1抑制剂。在一个实施方案中,治疗周期包含3个剂量的PD-1抑制剂,每个剂量在紧接的前一个剂量后两周施用。在一个实施方案中,治疗周期包含10个剂量的PD-1抑制剂,每个剂量在紧接的前一个剂量后一周施用。在一个实施方案中,治疗周期包含12个剂量的PD-1抑制剂,每个剂量在紧接的前一个剂量后一周施用。

[0095] 在一个实施方案中,在治疗周期中施用的所有剂量包含相同量的PD-1抑制剂。在另一个实施方案中,治疗周期包括施用至少两个剂量,所述两个剂量包含不同量的PD-1抑制剂。在一个实施方案中,治疗周期中的第一剂量包含比治疗周期中的后续剂量更大量的PD-1抑制剂。在一个实施方案中,治疗周期中的第一剂量包含比治疗周期中的后续剂量更少量的PD-1抑制剂。

[0096] 在一个实施方案中,重复治疗周期。在一些实施方案中,治疗周期重复1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12次或更多次。

[0097] 在一些实施方案中,在单次疗程或患者就诊中向个体施用PD-1抑制剂的剂量。在一些实施方案中,剂量的施用包括将PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)的一次或多次注射损害内施用到肿瘤损害的一个或多个位置中。肿瘤损害的一些或所有位置可以彼此相同或不同。在一个实施方案中,剂量的施用包括将PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多次注射施用到肿瘤损害的1、2、3、4、5、6或7个位置中。在一个实施方案中,将PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)的2至5次注射施用到个体的肿瘤损害的2至5个位置中。在一些实施方案中,肿瘤损害位置包括但不限于损害的上(头侧)半部、损害的上半部的最致密部分、覆盖肿瘤损害的皮肤、和/或靠近或邻近与正常外观皮肤的界面的肿瘤较上(头侧)外周。

[0098] 在一些实施方案中,包括1、2、3、4、5、6、7、8、9、10次或更多次PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)注射的损害内施用的剂量的施用在小于10分钟中完成,例如1至6分钟、2至5分钟或2至3分钟,如从所述剂量中包含的第一次施用注射开始到该剂量中包含的最后一次施用注射结束所测量的。例如,在一个非限制性的示例性实施方案中,从第一次施用开始到最后一次施用结束测量的损害内施用PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)的总时间为约2-5分钟。在一些实施方案中,历经1、2、3、4、5、6、7、8、9或10分钟的时间段将PD-1抑制剂(例如抗PD-1抗体)的一次或多次注射损害内施用给需要其的个体。

[0099] 如本文使用的术语“起始”、“第二”和“第三”等指施用的时间顺序。因此,“起始剂量”是在治疗方案开始时施用的剂量(也称为“基线剂量”);“第二剂量”是在起始剂量后施用的剂量;“第三剂量”是在第二剂量后施用的剂量。起始、第二和第三剂量可以均包含相同量的PD-1抑制剂(抗PD-1抗体)。然而,在一些实施方案中,起始、第二和/或第三剂量中所包含的量在治疗过程期间彼此不同(例如,根据需要上调或下调)。在一些实施方案中,在治疗开始时施用一个或多个(例如1、2、3、4或5个)剂量作为“负荷剂量”,接着按较低频率施用后续剂量(例如“维持剂量”)。例如,抗PD-1抗体可以以约1mg/kg至约3mg/kg的负荷剂量、然后约0.1mg/kg至约20mg/kg患者体重的一个或多个维持剂量施用于癌症患者。

[0100] 在本发明的一个示例性实施方案中,每个第二和/或第三剂量在紧接的前一个剂量后1/2至14周或更长(例如1/2、1、1<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、2、2<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、3、3<sup>1</sup>/<sub>2</sub>、4或更长)施用。如本文使用的短语“紧接的前一个剂量”指在多次施用的顺序中,在顺序中没有间隔剂量的下一个剂量施用之前向患者施用的抗PD-1抗体的剂量。

[0101] 类似地,“起始治疗周期”是在治疗方案开始时施用的治疗周期;“第二治疗周期”是在起始治疗周期之后施用的治疗周期;“第三治疗周期”是在第二治疗周期之后施用的治疗周期。在本公开内容的上下文中,治疗周期可以彼此相同或不同。

[0102] 剂量

[0103] 在一些实施方案中,PD-1抑制剂的每个剂量包含0.1、1、0.3、3、4、5、6、7、8、9或10mg/kg患者体重。在一些实施方案中,每个剂量包含5-500mg的PD-1抑制剂,例如5、10、15、20、25、40、45、50、60、70、80、90、100mg或更多的PD-1抑制剂。在一个实施方案中,PD-1抑制剂是REGN2810(西米普利单抗)。

[0104] 根据本文公开的方法向个体损害内施用的PD-1抑制剂的量通常是治疗有效量。如本文使用的术语“治疗有效量”指导致以下一种或多种的PD-1抑制剂的量:(a)皮肤癌的症状或指征(例如肿瘤损害)的严重性或持续时间减少;(b)肿瘤生长抑制,或肿瘤坏死增加、

肿瘤缩小和/或肿瘤消失；(c) 延迟肿瘤生长和发展；(d) 抑制肿瘤转移；(e) 阻止肿瘤生长复发；(f) 增加癌症个体的存活期；和/或 (g) 与未治疗的个体或通过不同于损害内的施用途径（例如静脉内输注）用PD-1抑制剂治疗的个体相比，常规抗癌疗法的使用或需要减少（例如，消除对手术的需要或者减少或消除对化疗剂或细胞毒性剂的使用）。

[0105] 在PD-1抑制剂（例如抗-PD-1抗体）的情况下，治疗有效量可以为约5mg至约500mg、约10mg至约450mg、约50mg至约400mg、约75mg至约350mg、或约100mg至约300mg抗体。例如，在多个实施方案中，PD-1抑制剂的量是约5mg、约10mg、约15mg、约20mg、约30mg、约40mg、约50mg、约60mg、约70mg、约80mg、约90mg、约100mg、约110mg、约120mg、约130mg、约140mg、约150mg、约160mg、约170mg、约180mg、约190mg、约200mg、约210mg、约220mg、约230mg、约240mg、约250mg、约260mg、约270mg、约280mg、约290mg、约300mg、约310mg、约320mg、约330mg、约340mg、约350mg、约360mg、约370mg、约380mg、约390mg、约400mg、约410mg、约420mg、约430mg、约440mg、约450mg、约460mg、约470mg、约480mg、约490mg、约500mg、约510mg、约520mg、约530mg、约540mg、约550mg、约560mg、约570mg、约580mg、约590mg或约600mg的PD-1抑制剂。

[0106] 在一个实施方案中，根据本文公开的方法损害内施用5mg的治疗有效量的PD-1抑制剂（例如抗PD-1抗体）。在另一个实施方案中，根据本文公开的方法损害内施用15mg的治疗有效量的PD-1抑制剂（例如抗PD-1抗体）。在另一个实施方案中，根据本文公开的方法损害内施用44mg的治疗有效量的PD-1抑制剂（例如抗PD-1抗体）。

[0107] 包含在个体剂量中的PD-1抑制剂的量可以用毫克抗体/千克个体体重（即mg/kg）表示。在一些实施方案中，本文公开的方法中使用的PD-1抑制剂可以以约0.0001至约100mg/kg个体体重的剂量施用于个体。在一些实施方案中，抗PD-1抗体可以以约0.1mg/kg至约20mg/kg患者体重的剂量施用。在一些实施方案中，本公开内容的方法包括以约1mg/kg、3mg/kg、5mg/kg或10mg/kg患者体重的剂量施用PD-1抑制剂（例如抗PD-1抗体）。

[0108] 在一些实施方案中，损害内施用于患者的PD-1抑制剂（例如抗PD-1抗体）的个体剂量的量可以小于治疗有效量，即亚治疗剂量。例如，如果PD-1抑制剂的治疗有效量包含3mg/kg，则亚治疗剂量包括小于3mg/kg的量，例如2mg/kg、1.5mg/kg、1mg/kg、0.5mg/kg或0.3mg/kg。如本文定义的“亚治疗剂量”指本身不导致治疗效果的PD-1抑制剂的量。然而，在一些实施方案中，施用PD-1抑制剂的多个亚治疗剂量在个体中一起实现治疗效果。

[0109] 在一些实施方案中，每个剂量包括0.1-10mg/kg（例如0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg或10mg/kg）个体体重。在一些其它实施方案中，每个剂量包含5-600mg的PD-1抑制剂（例如抗PD-1抗体），例如5mg、10mg、15mg、20mg、25mg、30mg、40mg、45mg、50mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、350mg、400mg或500mg的PD-1抑制剂。

## 实施例

[0110] 接着，利用以下实施例描述了所公开的技术。在本说明书中任何地方使用这些和其它实施例仅是说明性的，不以任何方式限制本发明或任何示例形式的范围和含义。同样，本发明不限于本文所述的任何特定优选实施方案。确实，本发明的变通和变化对于阅读本说明书的本领域技术人员来说是显而易见的，并且可以进行而不背离其宗旨和范围。因此，本发明仅由权利要求的条款以及权利要求所授权的等同物的全部范围来限制。而且，尽管

已经努力确保所用数字(例如量、温度等)的准确性,但是应考虑到一些实验误差和偏差。除非另有说明,否则份数是重量份数,分子量是平均分子量,温度是摄氏度,压力是大气压或接近大气压。

[0111] 实施例1:在复发性皮肤鳞状细胞癌(CSCC)患者中损害内施用抗PD-1抗体的临床试验

[0112] 该研究是1期、单臂、开放标记、剂量递增研究(扩增族群(cohort expansions)),以评价在患有可切除CSCC(一种高度免疫应答肿瘤类型)的患者中每周损害内注射抗PD-1抗体的安全性、耐受性、药物动力学(PK)和抗肿瘤功效。

[0113] 本研究中使用的示例性抗PD-1抗体是REGN2810(也称为西米普利单抗,或如US9987500中公开的H4H7798N),其是全人单克隆抗PD-1抗体,包含含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链;含有SEQ ID NOs:1/2的HCVR/LCVR氨基酸序列对;和含有SEQ ID NOs:3-8的重链和轻链CDR序列。

[0114] 研究目的:

[0115] 本研究的主要目的是表征在复发性CSCC患者中损害内注射的REGN2810的安全性和耐受性。

[0116] 研究的次要目的包括:(1)描述在损害内注射REGN2810之后,CSCC指示损害中的客观响应率(ORR);(2)描述损害内注射REGN2810之后,CSCC指示损害中的病理完全响应(CR)率;(3)描述损害内注射REGN2810之后,CSCC指示损害中的主要病理响应率;(4)评价损害内注射REGN2810之后,REGN2810的全身暴露;(5)评估REGN2810的免疫原性;和(6)评估REGN2810的剂量。

[0117] 研究持续时间

[0118] 对于每个患者,研究的持续时间为约7个月,包括筛选(28天)、治疗期(12周)、治疗就诊结束时的手术切除(第13周)和90天的治疗后随访期。(参见图1)。当超过12周的治疗在临床上适当时,该研究包含基于个体患者的延长治疗(长达另外12周)的选择。研究结束定义为最后患者的最后就诊。

[0119] 在本研究中,预期的是,在损害内施用后,在损害内剂量后24小时以上将出现最大的血清中REGN2810浓度,这要求在第1天以后取样以获得完整的PK曲线。在给予剂量前和在第一次剂量后的多个时间点从所有患者收集用于分析药物浓度的样品。这种取样方案将有利于确定在整个随访期中、在末次剂量后的浓度-时间曲线(以描述REGN2810的消除)。

[0120] 研究群体

[0121] 该研究评价了CSCC患者的损害内REGN2810,其中计划手术切除CSCC,但是由于手术后复发的在先历史,患者复发风险高。损害内REGN2810的益处之一是由于PD-1抑制能够诱导对抗CSCC的免疫记忆而降低了随后复发的风险。

[0122] 研究群体包括知情同意时18岁或更大的男性和女性患者,他们患有复发性CSCC并且具有至少1个 $\geq 1.0\text{cm}$ 且 $\leq 2.0\text{cm}$ 的可切除损害。注射REGN2810的损害称为“指示损害”。

[0123] 纳入标准:患者必须满足以下标准以符合纳入研究的条件:(1)满足以下任一条件的复发性可切除CSCC的病史:(a)至少1个在先的、在知情同意日期之前3年内手术切除的头和颈部CSCC,现在患有头和颈部复发性CSCC,后者将是研究的指数损害并且 $\geq 1.0\text{cm}$ 和 $\leq 2.0\text{cm}$ (最长直径);(b)至少2个在先的、在知情同意日期之前3年内手术切除的躯干或四肢

CSCCs,现在患有躯干或四肢复发性CSCC,后者将是研究的指数损害(任意解剖学位置)并且 $\geq 1.0\text{cm}$ 和 $\leq 2.0\text{cm}$ (最长直径);(2)指示损害中的可测量疾病(即,至少1个在两个最长垂直直径都为至少1cm的损害);(3)Eastern Cooperative Oncology Group(ECOG)性能状态 $\leq 1$ (Oken等人,Am J Clin Oncol 1982;5(6):649-55);(4) $\geq 18$ 岁;(5)肝功能:总胆红素 $\leq 1.5 \times$ 正常值上限(ULN), (b)丙氨酸氨基转移酶(ALT) $\leq 3 \times$ ULN, (c)天冬氨酸氨基转移酶(AST) $\leq 3 \times$ ULN, (c)碱性磷酸酶(ALP) $\leq 2.5 \times$ ULN;(6)肾功能:血清肌酐 $\leq 1.5 \times$ ULN或估计肌酐清除率(CrCl) $> 30\text{mL}/\text{min}$ ;(7)骨髓功能:(a)血红蛋白 $\geq 9.0\text{g}/\text{dL}$ , (b)绝对嗜中性粒细胞计数(ANC) $\geq 1.5 \times 10^9/\text{L}$ , (c)血小板计数 $\geq 75 \times 10^9/\text{L}$ ;(8)愿意并能够遵守临床就诊和研究相关操作;(9)提供由研究患者签署和注明日期的知情同意书。

[0124] 排除标准:符合以下标准中任一个的患者将从研究中排除:(1)需要用全身免疫抑制治疗进行治疗的显著的自身免疫疾病的正在发生或最近(5年内)的证据,这可能表明存在irAEs的风险(不排除:白斑病、已经解决的儿童哮喘、1型糖尿病、仅需激素替代的残余甲状腺功能减退症、或不需要全身治疗的银屑病);(2)用阻断PD-1/PD-L1途径的药物进行的在先治疗;(3)用其它全身性免疫调节剂进行的在先治疗,其为(a):在招募日期的少于4周(28天)内, (b)在招募前90天内伴有 $\geq 1$ 级的irAEs,或(c)伴有导致免疫调节剂中止的毒性;(4)来自CSCC的脑转移的已知病史;(5)在REGN2810的第一剂量之前4周内的免疫抑制性皮质类固醇剂量(每天 $> 10\text{mg}$ 泼尼松或等同物)(不排除:需要短期类固醇治疗的患者);(6)在过去5年内非感染性肺炎的病史;(7)在REGN2810的起始施用的30天之内或计划在研究期间发生的任何抗癌治疗、研究或护理标准(不排除:接受二膦酸盐或地诺单抗(denosumab)的患者;在REGN2810的计划起始治疗的30天之内进行的手术);(8)归因于抗体治疗的记录的过敏反应或急性超敏反应的病史;(9)不受控制的人免疫缺陷病毒(HIV)感染(无论是否进行抗病毒治疗,可检测的病毒载量或CD4计数低于350)、乙型肝炎感染(HBsAg+,其具有可通过DNA聚合酶链反应[PCR]检测的血清乙型肝炎病毒,无论是否进行乙型肝炎的抗病毒治疗)或丙型肝炎感染(丙型肝炎病毒抗体阳性[HCV Ab+],其具有可通过PCR检测的HCV RNA);或其它不受控制的感染;(10)除CSCC之外的并发恶性病和/或在REGN2810的第一次计划剂量的日期3年内除CSCC之外的恶性病史,除了具有可忽略的转移或死亡风险的肿瘤,例如充分治疗的皮肤BCC、子宫颈原位癌或乳房导管原位癌,或低风险早期前列腺腺癌(T1-T2aNOM0和Gleason评分 $\leq 6$ 和PSA $\leq 10\text{ng}/\text{mL}$ ),对其而言管理计划是积极监视,或者记录的PSA倍增时间 $> 12$ 个月的具有仅生化复发的前列腺腺癌,对其而言管理计划是积极监视(D'Amico等人,JAMA 2005;294(4):440-7)(Pham等人,J Urol 2016;196(2):392-8);(11)使患者无资格参与的急性或慢性精神病问题;(12)具有实体器官移植史的患者;(13)使患者由于高安全性风险和/或可能影响研究结果分析而不适合参与临床试验的医学共病、体检发现结果或代谢功能障碍或临床实验室异常;(14)M1或N1、N2(a、b或c)或N3CSCC。具有转移性CSCC(远端或结)病史的患者被排除在外,除非无病间隔为至少3年;(15)如果指示损害在干红唇(朱红)、口腔、鼻粘膜或肛门生殖器区域,则排除患者;(16)服用香豆定(华法林)的患者,由于对服用香豆定的患者而言与手术相关的潜在出血风险增加;(17)在筛选期间具有不能通过手术去除的直径大于 $2.0\text{cm}$ 的指示损害或非指示损害的患者;(18)妊娠或哺乳妇女;(19)具有生育可能的性活跃男性和女性,他们不愿意在起始剂量/首次治疗开始之前、在研究期间以及末次剂量后至少6个月实施高效避孕。

[0125] 研究变量

[0126] 该研究的主要终点包括:从首次剂量至第28天,根据国家癌症研究所-不良事件通用术语标准(National Cancer Institute-Common Terminology Criteria for Adverse Events) (NCI CTCAE) v5分级的剂量限制性毒性(DLTs) (如果有的话) 和治疗突发性不良事件(TEAEs) 的发生率、性质和严重性;在治疗期间和在末次剂量后一直到90天,根据NCI CTCAE v5分级的TEAEs的发病率和严重性;以及从首次剂量至末次剂量后90天的注射部位反应(ISR) 的发生率和严重性。

[0127] 该研究的次要终点包括:ORR,在治疗结束时(对于完成了计划12周疗程的患者而言,第85天),使用修改的WHO标准(如下所述)测定;手术时的病理完全响应率;手术时的主要病理响应率(或对于拒绝手术的患者而言,在治疗结束时活组织检查);从首次剂量到末次剂量后90天,随时间推移的血清中 REGN2810浓度;REGN2810的抗药抗体(ADA)滴度的发生;和基于临床和PK 观察选择REGN2810的推荐剂量用于进一步研究。

[0128] 该研究的其它终点包括:非指示损害中的ORR,在治疗结束时(对于完成了计划12周疗程的患者而言,第85天)使用修改的WHO标准确定。

[0129] 该研究的功效变量包括:病理性CR,通过治疗结束时手术切除治疗区域来评估,并定义为组织学确认在来自手术切除的组织中没有残余恶性病;主要病理反应,定义为组织学确认来自切除的活肿瘤细胞的不超过10% (或在穿刺活组织检查或未进行手术的患者中没有残余恶性病);和ORR,定义为根据修改的 WHO标准,基于数字医学照片上的损害的二维测量具有部分反应(PR) 或完全反应(CR) 的参与者的百分比。

[0130] 该研究的PK变量包括随时间推移的血清中REGN2810浓度。用于该研究的ADA变量包括ADA状态、滴度和时间点/就诊。

[0131] 研究设计

[0132] 在该研究中,每个患者在预定的手术之前接受每周一次(QW) 250 $\mu$ L的损害内注射指定剂量水平的REGN2810达12周。三个剂量组遵循3+3剂量递增设计。图1提供了通用研究流程图。约36名患者将参加该研究,包括每3+3设计每剂量水平6名患者。

[0133] 以如下剂量水平QW损害内施用REGN2810的三个剂量组:计划剂量水平 1(起始剂量)是每周5mg;计划剂量水平2是每周15mg;计划剂量水平3是每周约44mg (43.75mg)。在每个剂量水平上,250 $\mu$ l的注射体积是恒定的。剂量水平通过将REGN2810(在无菌、一次性使用的小瓶中以175mg/ml浓度作为液体提供) 在缓冲液中稀释来实现。

[0134] 操作和评价

[0135] 筛选操作包括:知情同意、纳入/排除、医疗史、人口统计、病毒血清学、凝血、尿分析、CSCC的局部病理学确认、ECOG、胸部X射线、治疗分配。

[0136] 治疗操作是损害内REGN2810施用。

[0137] 功效操作包括:数字医学摄影和外科切除。

[0138] 安全操作包括:生命体征评估、身体检查、心电图(ECG)、不良事件(AE) 监测、并行治疗和操作。

[0139] 实验室测试操作包括:血液学、血液化学、妊娠试验(仅女性)、甲状腺功能测试。

[0140] PK/药物浓度:收集PK样品用于评估血清中的REGN2810浓度。

[0141] ADA:收集血清样品用于评估对REGN2810的免疫原性。

[0142] 伴随药物和操作

[0143] 禁用药物和操作:在参与研究时,除非以下另有说明,否则患者从知情同意时到随访期结束不可能接受以下任何事项:(a)除REGN2810之外的治疗肿瘤的标准或研究药物,下文列出的允许的例外, (b) 阻断PD-1/PD-L1途径的药物, (c) 非研究相关的手术操作,除非紧急或除非被批准, (d) 放射疗法。

[0144] 允许的药物和操作:在以下条件下,允许以下药物和操作:(a) 治疗AE和/或irAE所需的任何药物,包括全身性皮质类固醇, (b) 用于生理替代的全身性皮质类固醇(即使>10mg/天泼尼松当量), (c) 用于预防或治疗非自身免疫病症的短期皮质类固醇, (d) 二磷酸盐和地诺单抗, (e) 全身性皮质类固醇的生理替代剂量,即使>10mg/天泼尼松当量, (f) 可以继续口服避孕药、激素替代疗法或其它维持疗法, (g) 剂量≤2g/天的对乙酰氨基酚, (h) 非指示损害的手术切除,如果临床指示, (i) 可以在个体基础上允许其它药物和操作。

[0145] 损害内施用REGN2810

[0146] 指示损害(选择用于注射的损害)将在皮肤表面上具有至少1cm的表面直径(最大直径2.0厘米)。在直接可视化下进行REGN2810的损害内施用。没有使用放射导引(即,超声)。不选择以下损害类型用于注射:易碎或坏死的损害、出血的损害、在眼睛2.0cm内的损害或肛门生殖器损害。应当用乙醇或聚维酮碘清洁指示损害。在计划的REGN2810注射之前至少5分钟(但不超过30分钟),可以将局部利多卡因软膏应用到指示损害。可以用≤1ml的注射器递送250μL REGN2810治疗,优选30号针头。

[0147] 将REGN2810在2至5个位置切向注射入指示损害的较上(头侧)半部分。没有注射指示损害的下半部分,以使由于从肿瘤的较下部分渗漏而引起的药物产品从损害中损失最小化。应当在覆盖肿瘤的皮肤(或在肿瘤上半部分的最致密部分)中皮内施用至少1次注射,并且在接近与正常外观皮肤的界面的肿瘤的较上(头侧)周围施用至少1次注射。所有注射的总注射时间应当为2至3分钟。注射应当非常缓慢地施用,以避免研究药物从注射组织中渗漏。由于研究药物的可能渗漏,肿瘤的松散或易碎区域不应当注射。

[0148] 在注射后30±10分钟,检查损害的任何ISR体征。在注射后30±10分钟记录生命体征,并用非闭合敷料覆盖指示损害。

[0149] 全身超敏反应(SHRs)的管理

[0150] SHRs定义如下:典型的症状可包括发热、寒战、僵硬、皮肤潮红、呼吸困难、背痛、腹痛和恶心;反应通常在注射期间或在直至第二天结束的任意时间发生(在没有供选解释的情况下);生命体征可以值得关注低血压和/或心动过速。

[0151] 对于经历1或2级SHRs(参见表1)的患者,在随后的REGN2810注射之前至少30分钟推荐以下预防性药物:苯海拉明50mg(或等同物)和/或对乙酰氨基酚/扑热息痛325mg至1000mg。对于经历2级SHRs的患者,可以使用皮质类固醇(一直到25mg氢化可的松或等同物)。

[0152] 表1:NCI-CTCAE中未列出的AEs的分级系统

等级	严重性	描述
1	轻度	无症状或轻微症状：仅临床或诊断观察；未指示介入。
2	中度	指示最小的、局部的或非侵入性的介入；限制年龄的适当工具性 ADL*。
3	重度	严重或医学上显著，但不立即威胁生命；指示住院或延长住院；致残；限制性自我护理 ADL**。
4	轻度威胁	威胁生命的后果；指示紧急介入。
5	死亡	与 AE 相关的死亡

[0154] \*工具性日常生活活动 (ADL) 指准备餐食、购买杂物或衣服、使用电话、管理金钱等。

[0155] \*\*自我护理性ADL指洗浴、穿脱衣服、自我进食、如厕、吃药和不卧床。

[0156] 注射部位反应 (SHRs) 的管理

[0157] ISRs定义为注射研究药物的位置周围的组织中的炎症或损伤。

[0158] 对于经历1或2级ISRs (参见表2) 的患者,在随后的REGN2810注射之前至少30分钟推荐下列预防性药物:苯海拉明50mg (或等同物) 和/或对乙酰氨基酚/扑热息痛325mg至1000mg。

[0159] 表2: ISRs的严重性标准

等级	严重性	描述
1	轻度	轻微增加的红斑、瘙痒、糜烂、表皮脱落、掉皮屑和/或触痛
2	中度	中度增加的红斑、瘙痒、溃疡、表皮脱落、坏死和/或疼痛
3	重度	严重的疼痛、溃疡和/或坏死

[0161] 修改的WHO标准

[0162] 在每次肿瘤评估时,使用双二维WHO标准测量靶损害的外部可见部分,作为最长尺寸和垂直的第二最长尺寸的乘积(单个靶损害)的总和,使用标准数字摄影记录。在损害几何形状没有显著变化的情况中,随后的就诊测量应当在相同的轴上进行,并且先前就诊的注释照片应当被称为起点以在进行随后的评估时识别用于测量的轴。

[0163] 外部可见肿瘤的临床反应标准需要根据WHO标准的双二维测量,如下:(a) 外部可见疾病的完全反应 (vCR):所有靶损害不再可见,维持至少4周,(b) 外部可见疾病的部分反应 (vPR):靶损害的垂直最长尺寸的乘积的总和减少50% (WHO标准)或更多,维持至少4周,(c) 稳定的外部可见疾病 (vSD):不满足vCR、vPR或进行性疾病的标准,(d) 可见疾病的进展 (vPD):靶损害的垂直最长尺寸的乘积的总和增加 $\geq 25\%$  (WHO标准)。

[0164] 新损害:如果符合CSCC的新的皮肤损害的两个最大垂直直径 $\geq 10\text{mm}$ 并且之前不存在,则认为该损害是疾病的临床进展 (cPD),除非在活组织检查中证实其不符合CSCC。

[0165] 结果

[0166] 预期损害内施用REGN2810在CSCC患者中导致增强的肿瘤消退以及提高的安全性。由于使用局部治疗而不是全身性暴露于REGN2810,用REGN2810 的损害内施用治疗的CSCC患者预期显示出不良事件和/或毒性的发生率显著降低或为零。还预期REGN2810的损害内

施用诱导免疫记忆,并因此减少或消除所治疗患者中的肿瘤损害复发。另外,REGN2810的损害内施用预期在所治疗的CSCC患者中消除了手术的需要。

[0167] 迄今,已经在第一剂量水平(每周5mg REGN2810)招募了患者。所有患者都完成了DLT监测周期,而没有任何DLTs。结果显示,在损害内施用5mg西米普利单抗的CSCC患者中肿瘤消退。图2和3显示了通过损害内施用西米普利单抗显示出肿瘤缩小的两个示例性患者的照片。其它剂量水平的招募正在进行中。

## 序列表

<110> 瑞泽恩制药公司

<120> 损害内施用 PD-1 抑制剂用于治疗皮肤癌

<130> 179227.01102 / 10511-W0

<150> 62/767, 218

<151> 2018-11-14

<150> 62/811, 827

<151> 2019-02-28

<160> 10

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> R2810 HCVR

[0001]

<400> 1

```

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

```

<210> 2

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> R2810 LCVR

<400> 2

```

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

```

<210> 3

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0002] <223> R2810 HCDR1

<400> 3

```

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe Gly
 1           5

```

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> R2810 HCDR2

<400> 4

```

Ile Ser Gly Gly Gly Arg Asp Thr
 1           5

```

<210> 5

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> R2810 HCDR3

<400> 5

Val Lys Trp Gly Asn Ile Tyr Phe Asp Tyr  
1                      5                      10

<210> 6

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> R2810 LCDR1

<400> 6

Leu Ser Ile Asn Thr Phe  
1                      5

<210> 7

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

[0003]

<220>

<223> R2810 LCDR2

<400> 7

Ala Ala Ser  
1

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> R2810 LCDR3

<400> 8

Gln Gln Ser Ser Asn Thr Pro Phe Thr  
1                      5

<210> 9

<211> 444

<212> PRT

<213> 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; R2810 HC

&lt;400&gt; 9

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Val Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe  
 20 25 30  
 Gly Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Gly Ile Ser Gly Gly Gly Arg Asp Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Val Lys Trp Gly Asn Ile Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125  
 Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140  
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160  
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175  
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190  
 Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205  
 Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro  
 210 215 220  
 Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240  
 Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255  
 Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270  
 Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285  
 Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300  
 Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320  
 Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala  
 325 330 335  
 Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln  
 340 345 350  
 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly  
 355 360 365  
 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro

[0004]

370 375 380  
 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 385 390 395 400  
 Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu  
 405 410 415  
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 420 425 430  
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 435 440

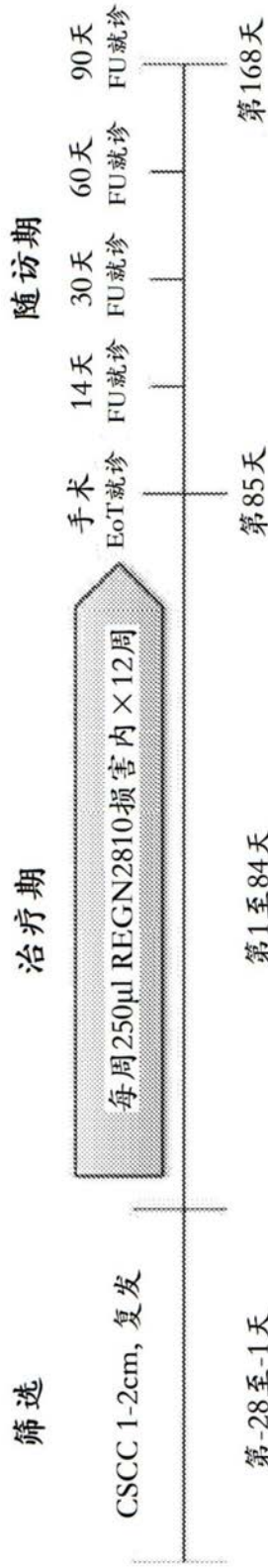
<210> 10  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> R2810 LC

<400> 10

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Ser Ile Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Leu Ser Ile Asn Thr Phe  
 20 25 30  
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu His Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Thr Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Thr Pro Phe  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Pro Gly Thr Val Val Asp Phe Arg Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110  
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125  
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140  
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160  
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175  
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190  
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205  
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

[0005]



CSCC=皮肤鳞状细胞癌; EoT=治疗结束  
 线条下的天数指研究天数。在随访期间线条上的天数指在最后的REGN2810剂量后的天数

图1

基线(2019年5月2日)

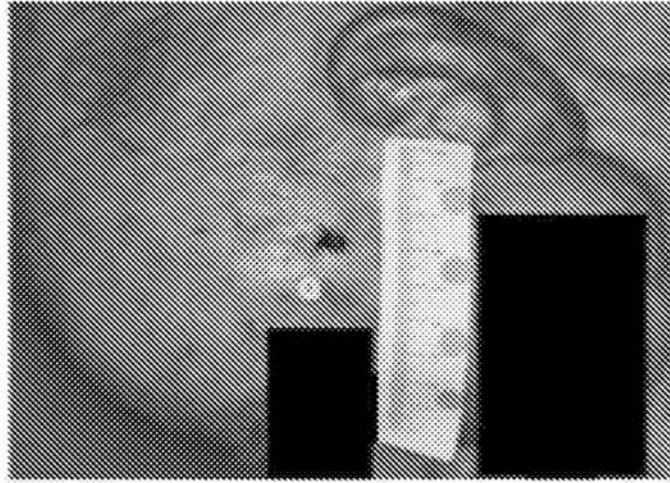


图2A

第3周(2019年5月23日)

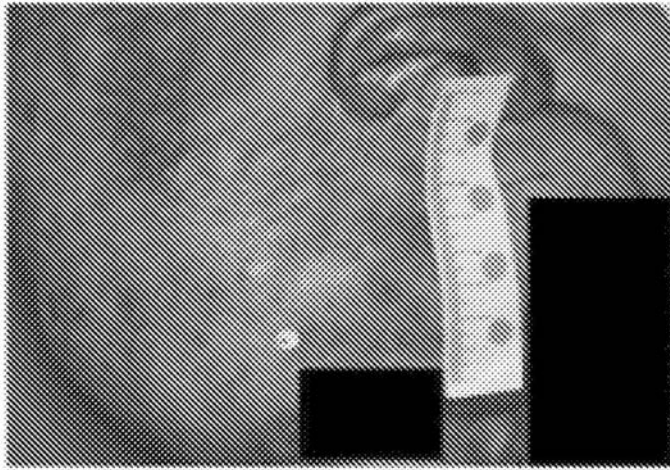


图2B

基线(2019年5月14日)

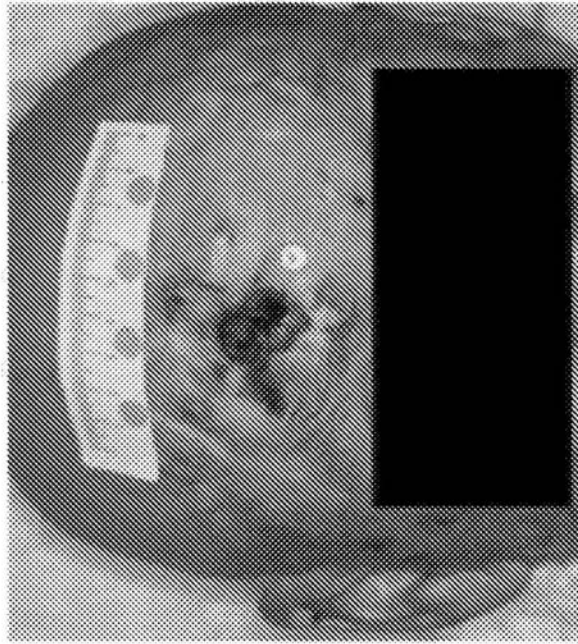


图3A

第7周(2019年6月27日)

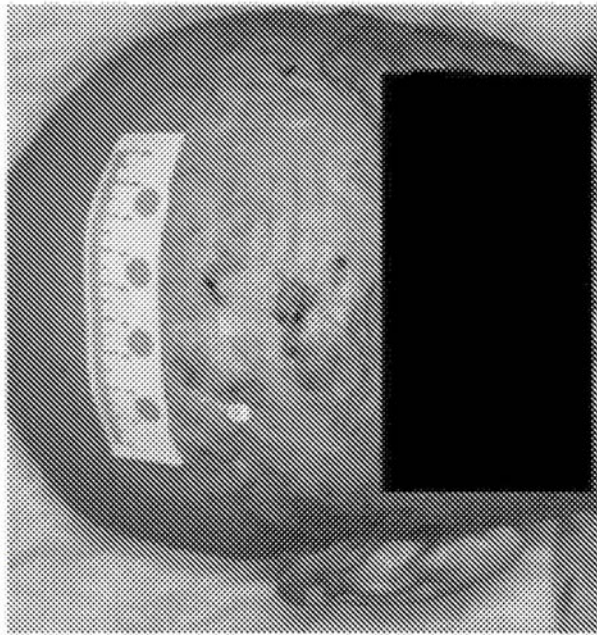


图3B