



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114450028 A

(43) 申请公布日 2022. 05. 06

(21) 申请号 202080068516.3

(22) 申请日 2020.09.22

(30) 优先权数据

62/903,887 2019.09.22 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.03.22

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/052021 2020.09.22

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/055994 EN 2021.03.25

(71) 申请人 百时美施贵宝公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 C·赫德瓦特 R·爱德华兹

G·C·李 V·A·巴克斯

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

专利代理师 黄革生 隋晓平

(51) Int.Cl.

A61K 45/00 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

G01N 33/574 (2006.01)

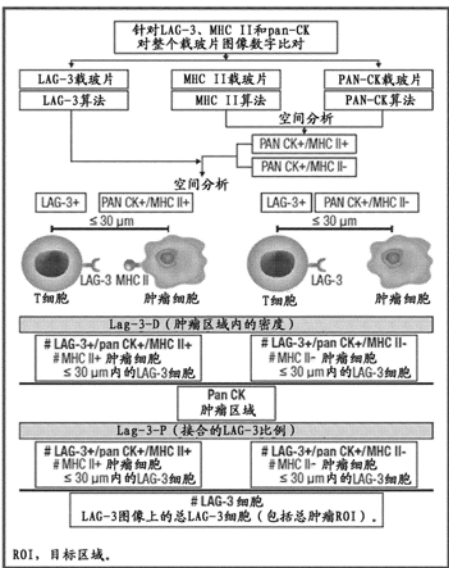
权利要求书8页 说明书35页 附图7页

(54) 发明名称

LAG-3拮抗剂治疗的定量空间剖析

(57) 摘要

本公开提供了LAG-3拮抗剂和包含其用于治疗受试者癌症的方法,所述方法基于来自受试者的肿瘤样品中的LAG-3密度评分和/或LAG-3比例评分。本公开还提供了鉴定响应LAG-3拮抗剂治疗的受试者的方法。



1. 一种治疗有需要的人类受试者的癌症的方法,其包括给受试者施用淋巴细胞活化基因-3 (LAG-3) 拮抗剂,其中受试者鉴定为在获自受试者的肿瘤样品中具有 (i) 高LAG-3密度 (LAG-3-D) 评分, (ii) 高LAG-3比例 (LAG-3-P) 评分,或 (iii) 高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者,其中LAG-3-D评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达II类主要组织相容性复合物 (MHC II) 的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的密度来确定,并且其中LAG-3-P评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的比例来确定。

2. 一种治疗有需要的人类受试者的癌症的方法,包括 (a) 鉴定在获自受试者的肿瘤样品中具有 (i) 高LAG-3-D评分, (ii) 高LAG-3-P评分,或 (iii) 高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者的受试者,以及 (b) 给受试者施用LAG-3拮抗剂,其中LAG-3-D评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的密度来确定,并且其中LAG-3-P评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的比例来确定。

3. 一种鉴定患有适合LAG-3拮抗剂疗法的癌症的人类受试者的方法,包括计算获自需要LAG-3拮抗剂疗法的受试者的肿瘤样品中的 (i) LAG-3-D评分, (ii) LAG-3-P评分,或 (iii) LAG-3-D评分和LAG-3-P评分两者,其中LAG-3-D评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的密度来确定,并且其中LAG-3-P评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的比例来确定。

4. 权利要求3的方法,其中受试者表现出高LAG-3-D评分、高LAG-3-P评分或高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者。

5. 权利要求3或4的方法,还包括给受试者施用LAG-3拮抗剂。

6. 一种LAG-3拮抗剂用于治疗有需要的人类受试者的癌症,其中受试者鉴定为在获自受试者的肿瘤样品中具有 (i) 高LAG-3-D评分, (ii) 高LAG-3-P评分,或 (iii) 高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者,其中LAG-3-D评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的密度来确定,并且其中LAG-3-P评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的比例来确定。

7. 一种LAG-3拮抗剂用于鉴定患有适合LAG-3拮抗剂疗法的癌症的受试者,其中计算获自受试者的肿瘤样品中的 (i) LAG-3-D评分, (ii) LAG-3-P评分,或 (iii) LAG-3-D评分和LAG-3-P评分两者,其中LAG-3-D评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的密度来确定,并且其中LAG-3-P评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的比例来确定。

8. 权利要求7的LAG-3拮抗剂用于鉴定,其中受试者表现出高LAG-3-D评分、高LAG-3-P评分或高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者。

9. 权利要求1至5任一项的方法或权利要求6至8任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中LAG-3-D评分计算为 (i) 与表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的数目除以 (ii) 肿瘤样品的肿瘤面积 (mm^2)。

10. 权利要求1至5和9任一项的方法或权利要求6至9任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中LAG-3-P评分计算为 (i) 与表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的数目除

以(ii)肿瘤样品中表达LAG-3的T细胞的总数。

11. 权利要求1至5和9和10任一项的方法或权利要求6至10任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中所述接近是在LAG-3与II类MHC之间和/或在LAG-3与肿瘤细胞上表达的肿瘤抗原之间。

12. 权利要求1至5和9至11任一项的方法或权利要求6至11任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中所述接近等于或小于约50 μm 、等于或小于约45 μm 、等于或小于约40 μm 、等于或小于约35 μm 、或等于或小于约30 μm 。

13. 权利要求1至5和9至12任一项的方法或权利要求6至12任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中所述接近等于或小于约30 μm 。

14. 权利要求1至5和9至13任一项的方法或权利要求6至13任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中肿瘤样品包括源自肿瘤组织活检或肿瘤组织切除的一个或多个肿瘤切片。

15. 权利要求14的方法或的LAG-3拮抗剂用于用途,其中一个或多个肿瘤切片包括福尔马林固定的、石蜡包埋的肿瘤组织或新鲜冷冻的肿瘤组织。

16. 权利要求14或15的方法或的LAG-3拮抗剂用于用途,其中一个或多个肿瘤切片包括连续切片的肿瘤切片。

17. 权利要求14至16任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中一个或多个肿瘤切片通过免疫组织化学(IHC)来染色。

18. 权利要求14至17任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中一个或多个肿瘤切片包含一个肿瘤切片、两个肿瘤切片、三个肿瘤切片、四个肿瘤切片、五个肿瘤切片、六个肿瘤切片、七个肿瘤切片、八个肿瘤切片、九个肿瘤切片、十个肿瘤切片、11个肿瘤切片、12个肿瘤切片、13个肿瘤切片、14个肿瘤切片、15个肿瘤切片、16个肿瘤切片、17个肿瘤切片、18个肿瘤切片、19个肿瘤切片、20个肿瘤切片、21个肿瘤切片、22个肿瘤切片、23个肿瘤切片、24个肿瘤切片、25个肿瘤切片、26个肿瘤切片、27个肿瘤切片、28个肿瘤切片、29个肿瘤切片或30个肿瘤切片。

19. 权利要求14至18任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中针对LAG-3和MHC II对肿瘤样品的一个肿瘤切片进行染色。

20. 权利要求19的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中进一步针对肿瘤抗原对肿瘤切片进行染色。

21. 权利要求20的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中肿瘤抗原是广谱细胞角蛋白(CK)。

22. 权利要求14至21任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中肿瘤样品包含针对LAG-3染色的第一肿瘤切片、针对MHC II染色的第二肿瘤切片和针对肿瘤抗原染色的第三肿瘤切片。

23. 权利要求22的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中从肿瘤样品连续切片第一肿瘤切片、第二肿瘤切片和第三肿瘤切片。

24. 权利要求1至5和9至23任一项的方法或权利要求6至23任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中高LAG-3-D评分是至少约5个细胞/ mm^2 、至少约10个细胞/ mm^2 、至少约15个细胞/ mm^2 、至少约20个细胞/ mm^2 、至少约25个细胞/ mm^2 、至少约30个细胞/ mm^2 、至少约35个细胞/ mm^2 、至少约40个细胞/ mm^2 、至少约45个细胞/ mm^2 、至少约50个细胞/ mm^2 、至少约55个细胞/

mm²、至少约60个细胞/mm²、至少约65个细胞/mm²、至少约70个细胞/mm²、至少约75个细胞/mm²、至少约80个细胞/mm²、至少约85个细胞/mm²、至少约90个细胞/mm²、至少约95个细胞/mm²或至少约100个细胞/mm²。

25. 权利要求1至5和9至24任一项的方法或权利要求6至24任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中高LAG-3-P评分为至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或至少约100%。

26. 权利要求1至5和9至25任一项的方法或权利要求6至25任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中与非响应者(具有低LAG-3D评分、低LAG-3-P评分或两者的受试者)相比,受试者表现出改善的总体存活期或无进展存活期。

27. 权利要求1至5和9至26任一项的方法或权利要求6至26任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,还包括测量肿瘤突变负荷(TMB)状态。

28. 权利要求1至5和9至27任一项的方法或权利要求6至27任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中受试者表现出高TMB。

29. 权利要求1至5和9至28任一项的方法或权利要求6至28任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其进一步包括测量肿瘤中的膜PD-L1表达。

30. 权利要求29的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中肿瘤是PD-L1阳性的

31. 权利要求1至5和9至30任一项的方法或权利要求6至30任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中肿瘤是LAG-3阳性的。

32. 权利要求1至5和9至31任一项的方法或权利要求6至31任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中LAG-3拮抗剂是可溶性LAG-3多肽。

33. 权利要求32的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中可溶性LAG-3多肽是融合多肽。

34. 权利要求32或33的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中可溶性LAG-3多肽包含LAG-3胞外结构域的配体结合片段。

35. 权利要求32至34任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中可溶性LAG-3多肽还包含半衰期延长部分。

36. 权利要求35的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中半衰期延长部分包括免疫球蛋白恒定区或其部分、免疫球蛋白结合多肽、免疫球蛋白G(IgG)、白蛋白结合多肽(ABP)、PAS化部分、HES化部分、XTEN、聚乙二醇化部分、Fc区,或其任意组合。

37. 权利要求32至36任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中可溶性LAG-3多肽是IMP321(eftilagimod alpha)。

38. 权利要求1至5和9至31任一项的方法或权利要求6至31任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中LAG-3拮抗剂是抗LAG-3抗体。

39. 权利要求38的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗LAG-3抗体是全长抗体。

40. 权利要求38或39的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗LAG-3抗体是单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体或多特异性抗体。

41. 权利要求40的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中多特异性抗体是双亲和力重靶向抗体(DART)、DVD-Ig或双特异性抗体。

42. 权利要求38的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗LAG-3抗体是F(ab')₂片段、Fab'

片段、Fab片段、Fv片段、scFv片段、dsFv片段、dAb片段或单链结合多肽。

43. 权利要求38至42任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗LAG-3抗体与BMS-986016 (relatlimab) 交叉竞争与人LAG-3的结合。

44. 权利要求38或43的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗LAG-3抗体与BMS-986016 (relatlimab) 结合相同的表位。

45. 权利要求38至42任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗LAG-3抗体是BMS-986016 (relatlimab)、LAG-525 (IMP-701, ieramilimab)、MK-4280 (28G-10)、REGN3767 (fianlimab)、TSR-033、TSR-075、Sym022、FS-118、IMP731 (H5L7BW)、GSK2831781、人源化BAP050、aLAG3 (0414)、aLAG3 (0416)、XmAb22841、MGD013、BI754111、P 13B02-30、AVA-017、25F7、AGEN1746,或包含其抗原结合部分。

46. 权利要求1至5和9至45任一项的方法或权利要求6至45任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中LAG-3拮抗剂以平剂量施用。

47. 权利要求1至5和9至45任一项的方法或权利要求6至45任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中LAG-3拮抗剂以基于体重的剂量施用。

48. 权利要求46或47的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中剂量为约每一周一次、约每两周一次、约每三周一次、约每四周一次、约每五周一次、约每六周一次、约每七周一次、约每八周一次、约每九周一次、约每十周一次、约每十一周一次或约每十二周一次施用。

49. 权利要求1至5和9至48任一项的方法或权利要求6至48任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,还包括给受试者施用另外的治疗剂。

50. 权利要求49的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中另外的治疗剂包含抗癌剂。

51. 权利要求50的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗癌剂包含酪氨酸激酶抑制剂、抗血管生成剂、检查点抑制剂、检查点刺激剂、化疗剂、免疫治疗剂、铂剂、烷化剂、紫杉烷类、核苷类似物、抗代谢物、拓扑异构酶抑制剂、蒽环类、长春花生物碱,或其任意组合。

52. 权利要求51的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,酪氨酸激酶抑制剂包括索拉非尼、乐伐替尼、瑞戈菲尼、卡博替尼、舒尼替尼、布立尼布、利尼伐尼、厄洛替尼、培米替尼、依维莫司、吉非替尼、伊马替尼、拉帕替尼、尼洛替尼、帕唑帕尼、替西罗莫司,或其任意组合。

53. 权利要求51或52的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗血管生成剂包括血管内皮生长因子 (VEGF)、VEGF受体 (VEGFR)、血小板源性生长因子 (PDGF)、PDGF受体 (PDGFR)、血管生成素 (Ang)、具有Ig样和EGF样结构域的酪氨酸激酶 (Tie) 受体、肝细胞生长因子 (HGF)、酪氨酸蛋白激酶Met (c-MET)、C型凝集素家族14成员A (CLEC14A)、多聚体蛋白2 (MMRN2)、休克蛋白70-1A (HSP70-1A)、表皮生长因子 (EGF)、EGF受体 (EGFR),或其任意组合。

54. 权利要求51至53任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗血管生成剂包括贝伐单抗、雷莫芦单抗、阿柏西普、tanibirumab、奥拉木单抗、奈伐苏单抗 (nesvacumab)、AMG780、MEDI3617、Vanucizumab、利妥木单抗 (rilotumumab)、非克拉珠单抗 (ficlatuzumab)、TAK-701、奥纳妥珠 (onartuzumab) 单抗、依玛妥珠单抗 (emibetuzumab),或其任意组合。

55. 权利要求51至54任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中检查点抑制剂包括程序性死亡-1 (PD-1) 途径抑制剂、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4 (CTLA-4) 抑制剂、T细胞免疫球蛋白和ITIM结构域 (TIGIT) 抑制剂、T细胞免疫球蛋白和含粘蛋白结构域-3 (TIM-3) 抑制

剂、TIM-1抑制剂、TIM-4抑制剂、B7-H3抑制剂、B7-H4抑制剂、B和T细胞淋巴细胞衰减子(BTLA)抑制剂、T细胞活化的V结构域Ig抑制因子(VISTA)抑制剂、吲哚胺2,3-双加氧酶(IDO)抑制剂、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶同种型2(NOX2)抑制剂、杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR)抑制剂、腺苷A2a受体(A2aR)抑制剂、转化生长因子 β (TGF- β)抑制剂、磷酸肌醇3-激酶(PI3K)抑制剂、CD47抑制剂、CD48抑制剂、CD73抑制剂、CD113抑制剂、唾液酸结合免疫球蛋白样凝集素-7(SIGLEC-7)抑制剂、SIGLEC-9抑制剂、SIGLEC-15抑制剂、糖皮质激素诱导的TNFR-相关蛋白(GITR)抑制剂、半乳糖凝集素-1-抑制剂、半乳糖凝集素-9抑制剂、癌胚抗原相关细胞粘附分子-1(CEACAM-1)抑制剂、G蛋白偶联受体56(GPR56)抑制剂、糖蛋白A重复优势蛋白(GARP)抑制剂、2B4抑制剂、程序性死亡-1同系物(PD1H)抑制剂、白细胞相关免疫球蛋白样受体1(LAIR1)抑制剂,或其任意组合。

56. 权利要求51至55任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中检查点抑制剂包括PD-1途径抑制剂。

57. 权利要求55或56的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中PD-1途径抑制剂是抗PD-1抗体和/或抗PD-L1抗体。

58. 权利要求56或57的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中PD-1途径抑制剂是抗PD-1抗体。

59. 权利要求57或58的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗PD-1抗体是全长抗体。

60. 权利要求57至59任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗PD-1抗体是单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体或多特异性抗体。

61. 权利要求60的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中多特异性抗体是双亲和力重靶向抗体(DART)、DVD-Ig或双特异性抗体。

62. 权利要求57或58的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗PD-1抗体是F(ab')₂片段、Fab'片段、Fab片段、Fv片段、scFv片段、dsFv片段、dAb片段或单链结合多肽。

63. 权利要求57至62任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗PD-1抗体与纳武单抗交叉竞争与人PD-1的结合。

64. 权利要求57至63任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗PD-1抗体与纳武单抗结合相同的表位。

65. 权利要求57至62任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗PD-1抗体与派姆单抗交叉竞争与人PD-1的结合。

66. 权利要求57至62或65任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中所述抗PD-1抗体与派姆单抗结合相同的表位。

67. 权利要求57至62任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗PD-1抗体是纳武单抗、派姆单抗、PDR001、MEDI-0680、TSR-042、西米普利单抗(cemiplimab)、JS001、PF-06801591、BGB-A317、BI 754091、INCSHR1210、GLS-010、AM-001、STI-1110、AGEN2034、MGA012、BCD-100、IBI308、SSI-361,或包含其抗原结合部分。

68. 权利要求55或56的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中PD-1途径抑制剂是可溶性PD-L2多肽。

69. 权利要求68的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中可溶性PD-L2多肽是融合多肽。

70. 权利要求68或69的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中可溶性PD-L2多肽包含PD-L2

胞外结构域的配体结合片段。

71. 权利要求68至70任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中可溶性PD-L2多肽还包含半衰期延长部分。

72. 权利要求71的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中半衰期延长部分包含免疫球蛋白恒定区或其部分、免疫球蛋白结合多肽、免疫球蛋白G (IgG)、白蛋白结合多肽 (ABP)、PAS化部分、HES化部分、XTEN、聚乙二醇化部分、Fc区,或其任意组合。

73. 权利要求72的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中可溶性PD-L2多肽是AMP-224。

74. 权利要求56或57的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中PD-1途径抑制剂是抗PD-L1抗体。

75. 权利要求57或74的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗PD-L1抗体是全长抗体。

76. 权利要求57、74或75任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗PD-L1抗体是单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体或多特异性抗体。

77. 权利要求76的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中多特异性抗体是双亲和力重靶向抗体 (DART)、DVD-Ig或双特异性抗体。

78. 权利要求57或74的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗PD-L1抗体是F(ab')₂片段、Fab'片段、Fab片段、Fv片段、scFv片段、dsFv片段、dAb片段或单链结合多肽。

79. 权利要求57或74至78任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗PD-L1抗体与阿特珠单抗交叉竞争与人PD-L1的结合。

80. 权利要求57或74至79任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗PD-L1抗体与阿特珠单抗结合相同的表位。

81. 权利要求57或74至78任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗PD-L1抗体与度伐利尤单抗交叉竞争与人PD-L1的结合。

82. 权利要求57、74至78或81任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗PD-L1抗体与度伐利尤单抗结合相同的表位。

83. 权利要求57或74至78任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗PD-L1抗体与阿维单抗 (avelumab) 交叉竞争与人PD-L1的结合。

84. 权利要求57、74至78或83任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗PD-L1抗体与阿维单抗 (avelumab) 结合相同的表位。

85. 权利要求57或74至78任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗PD-L1抗体是BMS-936559、阿特珠单抗、度伐利尤单抗、阿维单抗、STI-1014、CX-072、KN035、LY3300054、BGB-A333、IC0 36、CK-301,或包含其抗原结合部分。

86. 权利要求56或57的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中PD-1途径抑制剂是BMS-986189。

87. 权利要求51至86任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中检查点抑制剂包含CTLA-4抑制剂。

88. 权利要求87的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中CTLA-4抑制剂是抗CTLA-4抗体。

89. 权利要求88的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗CTLA-4抗体是全长抗体。

90. 权利要求88或89的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗CTLA-4抗体是单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体或多特异性抗体。

91. 权利要求90的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中多特异性抗体是双亲和力重靶向抗体(DART)、DVD-Ig或双特异性抗体。

92. 权利要求88的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗CTLA-4抗体是F(ab')₂片段、Fab'片段、Fab片段、Fv片段、scFv片段、dsFv片段、dAb片段或单链结合多肽。

93. 权利要求88至92任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗CTLA-4抗体与伊匹单抗交叉竞争与人CTLA-4的结合。

94. 权利要求88至93任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中抗CTLA-4抗体与伊匹单抗结合相同的表位。

95. 权利要求51至94任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中检查点抑制剂配制成为用于静脉内施用。

96. 权利要求51至95任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中LAG-3拮抗剂和检查点抑制剂分开配制。

97. 权利要求96的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中检查点抑制剂包含多于一种检查点抑制剂时,单独配制每种检查点抑制剂。

98. 权利要求51至95任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中LAG-3拮抗剂和检查点抑制剂一起配制。

99. 权利要求98的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中检查点抑制剂包含多于一种检查点抑制剂时,将两种或更多种检查点抑制剂一起配制。

100. 权利要求96或97的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中检查点抑制剂在LAG-3拮抗剂之前施用。

101. 权利要求96或97的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中LAG-3拮抗剂在检查点抑制剂之前施用。

102. 权利要求96至99任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中LAG-3拮抗剂和检查点抑制剂同时施用。

103. 权利要求51至102任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中检查点抑制剂以平剂量施用。

104. 权利要求51至102任一项的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中检查点抑制剂以基于体重的剂量施用。

105. 权利要求103或104的方法或LAG-3拮抗剂用于用途,其中剂量以约每一周一次、约每两周一次、约每三周一次、约每四周一次、约每五周一次、约每六周一次、约每七周一次、约每八周一次、约每九周一次、约每十周一次、约每十一周一次或约每十二周一次施用。

106. 权利要求1至5和9至105任一项的方法或权利要求6至105任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中癌症选自乳腺癌、肝细胞癌、胃食管癌、黑色素瘤、膀胱癌、胃癌、肺癌、肾癌、头颈癌、结肠癌,及其任意组合。

107. 权利要求1至5和9至106任一项的方法或权利要求6至106任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中癌症是膀胱癌。

108. 权利要求1至5和9至106任一项的方法或权利要求6至106任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中癌症是胃癌。

109. 权利要求1至5和9至106任一项的方法或权利要求6至106任一项的LAG-3拮抗剂用

于用途,其中所述癌症是黑色素瘤。

110. 权利要求1至5和9至106任一项的方法或权利要求6至106任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中癌症是肺癌。

111. 权利要求1至5和9至106任一项的方法或权利要求6至106任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中癌症是乳腺癌。

112. 权利要求1至5和9至106任一项的方法或权利要求6至106任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中癌症是肝细胞癌。

113. 权利要求1至5和9至112任一项的方法或权利要求6至112任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中癌症是不可切除的。

114. 权利要求1至5和9至112任一项的方法或权利要求6至112任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中癌症是局部晚期的。

115. 权利要求1至5和9至112任一项的方法或权利要求6至112任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中癌症是转移性的。

116. 权利要求1至5和9至115任一项的方法或权利要求6至115任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中所述施用治疗癌症。

117. 权利要求1至5和9至116任一项的方法或权利要求6至116任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中所述施用减小与癌症相关的肿瘤的大小。

118. 权利要求1至5和9至117任一项的方法或权利要求6至117任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中与施用前的肿瘤大小相比,所述肿瘤的大小减小至少约10%、约20%、约30%、约40%或约50%。

119. 权利要求1至5和9至118任一项的方法或权利要求6至118任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中受试者在初次施用后表现出至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月、至少约7个月、至少约8个月、至少约9个月、至少约10个月、至少约11个月、至少约1年、至少约18个月、至少约2年、至少约3年、至少约4年或至少约5年的无进展存活。

120. 权利要求1至5和9至119任一项的方法或权利要求6至119任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中受试者在施用后表现出稳定疾病。

121. 权利要求1至5和9至119任一项的方法或权利要求6至119任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中受试者在施用后表现出部分响应。

122. 权利要求1至5和9至119任一项的方法或权利要求6至119任一项的LAG-3拮抗剂用于用途,其中受试者在施用后表现出完全响应。

123. 一种用于治疗患有肿瘤的受试者的药盒,所述药盒包含:

(a) 一定剂量的LAG-3拮抗剂;和

(b) 在权利要求1至5和9至122任一项的方法或使用权利要求6至122任一项的LAG-3拮抗剂用于用途中使用LAG-3拮抗剂的说明书。

124. 权利要求123的药盒,还包含一定剂量的PD-1途径抑制剂。

LAG-3拮抗剂治疗的定量空间剖析

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本PCT申请要求于2019年9月22日提交的美国临时申请No.62/903,887的优先权权益,其通过引用整体并入本文。

[0003] 公开领域

[0004] 本公开提供了用于治疗受试者癌症的LAG-3拮抗剂疗法,其基于来自受试者的肿瘤样品中LAG-3和II类主要组织相容性复合体(MHC II)的定量空间剖析(quantitative spatial profiling)。

背景技术

[0005] LAG-3 (CD223)是在活化的CD4+和CD8+T细胞以及NK和树突细胞子集的细胞表面上表达的I型跨膜蛋白(Triebel F等,J.Exp.Med.1990;171:1393-1405;Workman CJ等,J.Immunol.2009;182(4):1885-1891)。LAG-3与CD4密切相关,CD4是T辅助细胞活化的协同受体。两种分子都具有四个胞外Ig样结构域并与MHC II结合。与CD4形成对比,LAG-3仅在活化的T细胞的细胞表面上表达,并且其从细胞表面的切割终止LAG-3信号传导。LAG-3也被发现可以作为可溶性蛋白,但其功能是未知的。

[0006] 连续暴露于抗原的T细胞通过称为“耗竭(exhaustion)”的过程逐渐失活。耗竭的T细胞的特征在于表达T细胞负调节受体,主要是细胞毒性T淋巴细胞抗原-4 (CTLA-4)、程序性细胞死亡1 (PD-1) 和LAG-3,其作用是限制细胞增殖、产生细胞因子和杀死靶细胞和/或增加Treg活性的能力。然而,这些分子在肿瘤发展和复发中的表达时程和序列尚未得到完全表征。

[0007] 个性化医学新兴领域的希望是药物基因组学的进步将越来越多地用于对限定的自群体定制治疗剂,并最终针对个体患者定制治疗剂,以增强功效并使副作用最小化。然而,与那些以在选定癌症群体中发现的离散的激活突变为靶标的小分子剂的临床开发不同,癌症免疫疗法中的特定挑战是鉴定预测性生物标志物以实现患者选择并指导治疗管理。

[0008] 需要生物标志物和靶向治疗策略,其识别更可能响应特定抗癌剂的患者,并因此改善被诊断为患癌患者的临床结局。

[0009] 发明概述

[0010] 本公开涉及在有需要的人类受试者中治疗癌症的方法,其包括给受试者施用淋巴细胞活化基因-3 (LAG-3) 拮抗剂,其中受试者被鉴定为在从受试者获得的肿瘤样品中具有(i) 高LAG-3密度 (LAG-3-D) 评分, (ii) 高LAG-3比例 (LAG-3-P) 评分,或 (iii) 高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者,其中LAG-3-D评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达II类主要组织相容性复合体(MHC II) 的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的密度来确定,并且其中LAG-3-P评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的比例来确定。

[0011] 本公开涉及在有需要的人类受试者中治疗癌症的方法,其包括(a) 鉴定在从受试

者获得的肿瘤样品中具有 (i) 高LAG-3-D评分, (ii) 高LAG-3-P评分, 或 (iii) 高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者的受试者, 以及 (b) 给受试者施用LAG-3拮抗剂, 其中LAG-3-D评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的密度来确定, 并且其中LAG-3-P评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近表达LAG-3的T细胞的比例来确定。

[0012] 本公开涉及鉴定患有适合LAG-3拮抗剂疗法的癌症的人类受试者的方法, 其包括计算从需要LAG-3拮抗剂疗法的受试者获得的肿瘤样品中的 (i) LAG-3-D评分, (ii) LAG-3-P评分, 或 (iii) LAG-3-D评分和LAG-3-P评分两者, 其中LAG-3-D评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的密度来确定, 并且其中LAG-3-P评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的比例来确定。在一些方面中, 受试者表现出高LAG-3-D评分、高LAG-3-P评分或高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者。在一些方面中, 所述方法进一步包括给受试者施用LAG-3拮抗剂。

[0013] 本公开涉及LAG-3拮抗剂, 用于治疗有需要的人类受试者的癌症, 其中受试者被鉴定为在从受试者获得的肿瘤样品中具有 (i) 高LAG-3-D评分, (ii) 高LAG-3-P评分, 或 (iii) 高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者, 其中LAG-3-D评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的密度来确定, 并且其中LAG-3-P评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的比例来确定。

[0014] 本公开涉及LAG-3拮抗剂, 其用于鉴定患有适合LAG-3拮抗剂疗法的癌症的受试者, 其中计算从受试者获得的肿瘤样品中的 (i) LAG-3-D评分, (ii) LAG-3-P评分, 或 (iii) LAG-3-D评分和LAG-3-P评分两者, 其中LAG-3-D评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的密度来确定, 并且其中LAG-3-P评分通过测量肿瘤样品中与一个或多个表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的比例来确定。在一些方面中, 受试者表现出高LAG-3-D评分、高LAG-3-P评分或高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者。

[0015] 在一些方面中, LAG-3-D评分计算为 (i) 与表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的数目除以 (ii) 肿瘤样品的肿瘤面积 (mm^2)。

[0016] 在一些方面中, LAG-3-P评分计算为 (i) 与表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的数目除以 (ii) 肿瘤样品中表达LAG-3的T细胞的总数。

[0017] 在一些方面中, 接近是在LAG-3和MHC II类之间和/或在LAG-3和肿瘤细胞上表达的肿瘤抗原之间。

[0018] 在一些方面中, 接近是等于或小于约50 μm , 等于或小于约45 μm , 等于或小于约40 μm , 等于或小于约35 μm , 或等于或小于约30 μm 。

[0019] 在一些方面中, 接近是等于或小于约30 μm 。

[0020] 在一些方面中, 肿瘤样品包括一个或多个源自肿瘤组织活组织检查或肿瘤组织切除的肿瘤切片。在一些方面中, 一个或多个肿瘤切片包含福尔马林固定的、石蜡包埋的肿瘤组织或新鲜冷冻的肿瘤组织。在一些方面中, 一个或多个肿瘤切片包括连续切片的肿瘤切片。在一些方面中, 通过免疫组织化学 (IHC) 对一个或多个肿瘤切片进行染色。在一些方面

中,一个或多个肿瘤切片包括一个肿瘤切片、两个肿瘤切片、三个肿瘤切片、四个肿瘤切片、五个肿瘤切片、六个肿瘤切片、七个肿瘤切片、八个肿瘤切片、九个肿瘤切片、十个肿瘤切片、11个肿瘤切片、12个肿瘤切片、13个肿瘤切片、14个肿瘤切片、15个肿瘤切片、16个肿瘤切片、17个肿瘤切片、18个肿瘤切片、19个肿瘤切片、20个肿瘤切片、21个肿瘤切片、22个肿瘤切片、23个肿瘤切片、24个肿瘤切片、25个肿瘤切片、26个肿瘤切片、27个肿瘤切片、28个肿瘤切片、29个肿瘤切片或30个肿瘤切片。在一些方面中,针对LAG-3和MHC II对肿瘤样品的一个肿瘤切片进行染色。在一些方面中,进一步针对一个肿瘤抗原(例如广谱细胞角蛋白(Pan-CK))对肿瘤切片进行染色。在一些方面中,肿瘤样品包含针对LAG-3染色的第一肿瘤切片、针对MHC II染色的第二肿瘤切片和针对肿瘤抗原染色的第三肿瘤切片。在一些方面中,从肿瘤样品连续切得第一肿瘤切片、第二肿瘤切片和第三肿瘤切片。

[0021] 在一些方面中,高LAG-3-D评分是至少约5个细胞/mm²,至少约10个细胞/mm²,至少约15个细胞/mm²,至少约20个细胞/mm²,至少约25个细胞/mm²,至少约30个细胞/mm²,至少约35个细胞/mm²,至少约40个细胞/mm²,至少约45个细胞/mm²,至少约50个细胞/mm²,至少约55个细胞/mm²,至少约60个细胞/mm²,至少约65个细胞/mm²,至少约70个细胞/mm²,至少约75个细胞/mm²,至少约80个细胞/mm²,至少约85个细胞/mm²,至少约90个细胞/mm²,至少约95个细胞/mm²,或至少约100个细胞/mm²。

[0022] 在一些方面中,高LAG-3-P评分为至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或至少约100%。

[0023] 在一些方面中,与无响应者(具有低LAG-3D评分、低LAG-3-P评分或两者的受试者)相比,受试者表现出改善的总体生存或无进展生存。

[0024] 在一些方面中,任何上述方法或LAG-3拮抗剂用于用途(LAG-3antagonist for uses)进一步包括测量肿瘤突变负荷(TMB)状态。

[0025] 在一些方面中,受试者表现出高TMB。

[0026] 在一些方面中,任何上述方法或LAG-3拮抗剂用于用途进一步包括测量肿瘤中的膜PD-L1表达。在一些方面中,肿瘤是PD-L1阳性的。

[0027] 在一些方面中,肿瘤是LAG-3阳性的。

[0028] 在一些方面中,LAG-3拮抗剂是可溶性LAG-3多肽。在一些方面中,可溶性LAG-3多肽是融合多肽。在一些方面中,可溶性LAG-3多肽包含LAG-3胞外结构域的配体结合片段。在一些方面中,可溶性LAG-3多肽还包含半衰期延长部分。在一些方面中,半衰期延长部分包含免疫球蛋白恒定区或其部分、免疫球蛋白结合多肽、免疫球蛋白G(IgG)、白蛋白结合多肽(ABP)、PAS化部分、HES化部分、XTEN、PEG化部分、Fc区或,其任何组合。在一些方面中,可溶性LAG-3多肽是IMP321(eftilagimod alpha)。

[0029] 在一些方面中,LAG-3拮抗剂是抗LAG-3抗体。

[0030] 在一些方面中,抗LAG-3抗体是全长抗体。在一些方面中,抗LAG-3抗体是单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体或多特异性抗体。在一些方面中,多特异性抗体是双亲和力重靶向抗体(DART)、DVD-Ig或双特异性抗体。

[0031] 在一些方面中,该抗LAG-3抗体是F(ab')₂片段、Fab'片段、Fab片段、Fv片段、scFv片段、dsFv片段、dAb片段或单链结合多肽。

[0032] 在一些方面中,抗LAG-3抗体与BMS-986016 (relatlimab) 交叉竞争与人LAG-3的结合。

[0033] 在一些方面中,抗LAG-3抗体与BMS986016 (relatlimab) 结合相同的表位。

[0034] 在一些方面中,抗LAG-3抗体是BMS-986016 (relatlimab)、LAG-525 (IMP-701, ieramylimab)、MK-4280 (28G-10)、REGN3767 (fianlimab)、TSR-033、TSR-075、Sym022、FS-118、IMP731 (H5L7BW)、GSK2831781、人源化BAP050、aLAG3 (0414)、aLAG3 (0416)、XmAb22841、MGD013、BI754111、P 13B02-30、AVA-017、25F7、AGEN1746,或包含其抗原结合部分。

[0035] 在一些方面中,LAG-3拮抗剂以平剂量 (flat dose) 施用。

[0036] 在一些方面中,LAG-3拮抗剂以基于体重的剂量施用。

[0037] 在一些方面中,约每一周一次、约每两周一次、约每三周一次、约每四周一次、约每五周一次、约每六周一次、约每七周一次、约每八周一次、约每九周一次、约每十周一次、约每十一周一次或约每十二周一次施用上述任何剂量。

[0038] 在一些方面中,上述任何方法或LAG-3拮抗剂用于用途进一步包括给受试者施用另外的治疗剂。

[0039] 在一些方面中,另外的治疗剂包括抗癌剂。

[0040] 在一些方面中,抗癌剂包括酪氨酸激酶抑制剂、抗血管生成剂、检查点抑制剂、检查点刺激剂、化疗剂、免疫治疗剂、铂剂、烷化剂、紫杉烷类、核苷类似物、抗代谢物、拓扑异构酶抑制剂、蒽环类、长春花生物碱或其任何组合。

[0041] 在一些方面中,酪氨酸激酶抑制剂包括索拉非尼、乐伐替尼、瑞戈菲尼、卡博替尼、舒尼替尼、布立尼布、利尼伐尼、厄洛替尼、培米替尼、依维莫司、吉非替尼、伊马替尼、拉帕替尼、尼洛替尼、帕唑帕尼、替西罗莫司或其任何组合。

[0042] 在一些方面中,抗血管生成剂包括血管内皮生长因子 (VEGF)、VEGF受体 (VEGFR)、血小板源性生长因子 (PDGF)、PDGF受体 (PDGFR)、血管生成素 (Ang)、具有Ig样和EGF样结构域的酪氨酸激酶 (Tie) 受体、肝细胞生长因子 (HGF)、酪氨酸蛋白激酶Met (c-MET)、C-型凝集素家族14成员A (CLEC14A)、多聚体蛋白2 (MMRN2)、休克蛋白70-1A (HSP70-1A)、表皮生长因子 (EGF)、EGF受体 (EGFR) 的抑制剂,或其任意组合。

[0043] 在一些方面中,抗血管生成剂包括贝伐单抗、雷莫芦单抗、阿柏西普、tanibirumab、奥拉木单抗、奈伐苏单抗 (nesvacumab)、AMG780、MEDI3617、Vanucizumab、利妥木单抗 (rilotumumab)、非克拉珠单抗 (ficlatuzumab)、TAK-701、奥纳妥珠 (onartuzumab) 单抗、依玛妥珠单抗 (emibetuzumab) 或其任意组合。

[0044] 在一些方面中,检查点抑制剂包括程序性死亡-1 (PD-1) 途径抑制剂、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4 (CTLA-4) 抑制剂、T细胞免疫球蛋白和ITIM结构域 (TIGIT) 抑制剂、T细胞免疫球蛋白和含粘蛋白结构域3 (TIM-3) 抑制剂、TIM-1抑制剂、TIM-4抑制剂、B7-H3抑制剂、B7-H4抑制剂、B和T细胞淋巴细胞衰减子 (BTLA) 抑制剂、T细胞活化的V结构域Ig抑制因子 (VISTA) 抑制剂、吡哆胺2,3-双加氧酶 (IDO) 抑制剂、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶同工型2 (NOX2) 抑制剂、杀伤细胞免疫球蛋白样受体 (KIR) 抑制剂、腺苷A2a受体 (A2aR) 抑制剂、转化生长因子 β (TGF- β) 抑制剂、磷酸肌醇3-激酶 (PI3K) 抑制剂、CD47抑制剂、CD48抑制剂、CD73抑制剂、CD113抑制剂、唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素-7 (SIGLEC-7) 抑制剂、SIGLEC-9抑制剂、SIGLEC-15抑制剂、糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白 (GITR) 抑制剂、半乳

糖凝集素-1抑制剂、半乳糖凝集素-9抑制剂、癌胚抗原相关细胞粘附分子-1 (CEACAM-1) 抑制剂、G蛋白偶联受体56 (GPR56) 抑制剂、糖蛋白A重复优势蛋白 (GARP) 抑制剂、2B4抑制剂、程序性死亡-1同系物 (PD1H) 抑制剂、白细胞相关免疫球蛋白样受体1 (LAIR1) 抑制剂,或其任意组合。

[0045] 在一些方面中,检查点抑制剂包括PD-1途径抑制剂。在一些方面中,PD-1途径抑制剂是抗PD-1抗体和/或抗PD-L1抗体。

[0046] 在一些方面中,PD-1途径抑制剂是抗-PD-1抗体。在一些方面中,抗PD-1抗体是全长抗体。在一些方面中,抗PD-1抗体是单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体或多特异性抗体。在一些方面中,多特异性抗体是双亲和力重靶向抗体 (DART)、DVD-Ig或双特异性抗体。在一些方面中,抗PD-1抗体是F(ab')₂片段、Fab'片段、Fab片段、Fv片段、scFv片段、dsFv片段、dAb片段或单链结合多肽。

[0047] 在一些方面中,抗-PD-1抗体与纳武单抗交叉竞争与人PD-1的结合。在一些方面中,抗PD-1抗体与纳武单抗结合相同的表位。

[0048] 在一些方面中,抗-PD-1抗体与派姆单抗交叉竞争与人PD-1的结合。在一些方面中,抗PD-1抗体与派姆单抗结合相同的表位。

[0049] 在一些方面中,抗-PD-1抗体是纳武单抗、派姆单抗、PDR001、MEDI-0680、TSR-042、西米普利单抗 (cemiplimab)、JS001、PF-06801591、BGB-A317、BI 754091、INCSHR1210、GLS-010、AM-001、STI-1110、AGEN2034、MGA012、BCD-100、IBI308、SSI-361,或包含其抗原结合部分。

[0050] 在一些方面中,PD-1途径抑制剂是可溶性PD-L2多肽。在一些方面中,可溶性PD-L2多肽是融合多肽。在一些方面中,可溶性PD-L2多肽包含PD-L2胞外结构域的配体结合片段。在一些方面中,可溶性PD-L2多肽进一步包含半衰期延长部分。在一些方面中,半衰期延长部分包含免疫球蛋白恒定区或其部分、免疫球蛋白结合多肽、免疫球蛋白G (IgG)、白蛋白结合多肽 (ABP)、PAS化部分、HES化部分、XTEN、PEG化部分、Fc区,或其任意组合。在一些方面中,可溶性PD-L2多肽是AMP-224。

[0051] 在一些方面中,PD-1途径抑制剂是抗PD-L1抗体。在一些方面中,抗PD-L1抗体是全长抗体。在一些方面中,抗PD-L1抗体是单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体或多特异性抗体。在一些方面中,多特异性抗体是双亲和力重靶向抗体 (DART)、DVD-Ig或双特异性抗体。在一些方面中,抗PD-L1抗体是F(ab')₂片段、Fab'片段、Fab片段、Fv片段、scFv片段、dsFv片段、dAb片段,或单链结合多肽。

[0052] 在一些方面中,抗PD-L1抗体与阿特珠单抗 (atezolizumab) 交叉竞争与人PD-L1的结合。在一些方面中,抗PD-L1抗体与阿特珠单抗结合相同的表位。

[0053] 在一些方面中,抗PD-L1抗体与度伐利尤单抗 (durvalumab) 交叉竞争与人PD-L1的结合。在一些方面中,抗PD-L1抗体与度伐利尤单抗结合相同的表位。

[0054] 在一些方面中,抗PD-L1抗体与阿维单抗 (avelumab) 交叉竞争与人PD-L1的结合。在一些方面中,抗PD-L1抗体与阿维单抗结合相同的表位。

[0055] 在一些方面中,抗PD-L1抗体是BMS-936559、阿特珠单抗、度伐利尤单抗、阿维单抗、STI-1014、CX-072、KN035、LY3300054、BGB-A333、ICO 36、CK-301,或包含其抗原结合部分。

- [0056] 在一些方面中,PD-1途径抑制剂是BMS-986189。
- [0057] 在一些方面中,检查点抑制剂包括CTLA-4抑制剂。
- [0058] 在一些方面中,CTLA-4抑制剂是抗CTLA-4抗体。在一些方面中,抗CTLA-4抗体是全长抗体。在一些方面中,抗CTLA-4抗体是单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体或多特异性抗体。在一些方面中,多特异性抗体是双亲和力重靶向抗体(DART)、DVD-Ig或双特异性抗体。在一些方面中,抗CTLA-4抗体是F(ab')₂片段、Fab'片段、Fab片段、Fv片段、scFv片段、dsFv片段、dAb片段,或单链结合多肽。
- [0059] 在一些方面中,抗CTLA-4抗体与伊匹单抗(ipilimumab)交叉竞争与人CTLA-4的结合。在一些方面中,抗CTLA-4抗体与伊匹单抗结合相同的表位。
- [0060] 在一些方面中,检查点抑制剂配制成用于静脉内施用。
- [0061] 在一些方面中,LAG-3拮抗剂和检查点抑制剂分开配制。在一些方面中,检查点抑制剂包含多于一种检查点抑制剂时,单独配制每种检查点抑制剂。
- [0062] 在一些方面中,LAG-3拮抗剂和检查点抑制剂一起配制。在一些方面中,检查点抑制剂包含多于一种检查点抑制剂时,将两种或更多种检查点抑制剂一起配制。
- [0063] 在一些方面中,检查点抑制剂在LAG-3拮抗剂之前施用。
- [0064] 在一些方面中,LAG-3拮抗剂在检查点抑制剂之前施用。
- [0065] 在一些方面中,LAG-3拮抗剂和检查点抑制剂同时施用。
- [0066] 在一些方面中,检查点抑制剂以平剂量施用。
- [0067] 在一些方面中,检查点抑制剂以基于体重的剂量施用。
- [0068] 在一些方面中,以约每一周一次、约每两周一次、约每三周一次、约每四周一次、约每五周一次、约每六周一次、约每七周一次、约每八周一次、约每九周一次、约每十周一次、约每十一周一次或约每十二周一次施用上述任何剂量。
- [0069] 在一些方面中,癌症选自乳腺癌、肝细胞癌、胃食管癌、黑色素瘤、膀胱癌、胃癌、肺癌、肾癌、头颈癌、结肠癌,及其任意组合。在一些方面中,癌症是膀胱癌。在一些方面中,癌症是胃癌。在一些方面中,癌症是黑色素瘤。在一些方面中,癌症是肺癌。在一些方面中,癌症是乳腺癌。在一些方面中,癌症是肝细胞癌。
- [0070] 在一些方面中,癌症是不可切除的。在一些方面中,癌症是局部晚期的。在一些方面中,癌症是转移的。
- [0071] 在一些方面中,所述施用治疗癌症。在一些方面中,所述施用减小了与癌症相关的肿瘤的大小。在一些方面中,与施用前的肿瘤大小相比,肿瘤的大小减小至少约10%、约20%、约30%、约40%或约50%。在一些方面中,受试者在初始施用后表现出无进展生存至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月、至少约7个月、至少约8个月、至少约9个月、至少约10个月、至少约11个月、至少约1年、至少约18个月、至少约2年、至少约3年、至少约4年或至少约5年。在一些方面中,受试者在施用后表现出稳定疾病。在一些方面中,受试者在施用后表现出部分响应(partial response)。在一些方面中,受试者在施用后表现出完全响应(complete response)。
- [0072] 本公开涉及用于治疗患有肿瘤的受试者的药盒,该药盒包括:(a)一个剂量LAG-3拮抗剂;和(b)在本公开的方法或用途中使用LAG-3拮抗剂的说明书。在一些方面中,该药盒还包含一个剂量PD-1途径抑制剂。

[0073] 附图简述

[0074] 图1是LAG-3和MHC II在T细胞耗竭中的作用的示意图。

[0075] 图2是示例性研究设计的示意图,其显示了针对LAG-3、广谱细胞角蛋白(CK)(肿瘤)和MHC II标志物的切片肿瘤样品的免疫组织化学(IHC)染色,随后通过(a)扫描、(B)数字比对和空间分析以及(C)记录和定量标志物间的密度、计数和接近度数据而对IHC染色的载玻片切片进行数字空间分析。

[0076] 图3是示例性研究设计的示意图,显示了图2中所描述的IHC染色的载玻片切片的**HALO**[®]空间分析工作流程。标志物的存在或不存在分别由“+”和“-”符号表示。LAG-3+T细胞(也称为肿瘤浸润淋巴细胞(“TIL”))与肿瘤细胞之间的距离以微米(μm)显示。

[0077] 图4是示例性研究设计的示意图,其显示了空间分析工作流程,用来确定对于MHC II+或MHC II-肿瘤细胞LAG-3+TIL的密度以及LAG-3+TIL的比例。LAG-3+TIL与肿瘤细胞之间的距离表示为 $>30\mu\text{m}$ 或 $<30\mu\text{m}$ 。“LAG-3-D”是在MHC II+或MHC II-肿瘤细胞 $\leq 30\mu\text{m}$ 内的LAG-3+TIL的密度(D)。“LAG-3-P”是在MHC II+vs MHC II-肿瘤细胞 $\leq 30\mu\text{m}$ 内的LAG-3+TIL的比例(P)。

[0078] 图5显示了MHC II表达:(A)在IHC染色的膀胱肿瘤样品切片中,相比于LAG-3,以及(B)以膀胱和胃肿瘤细胞上表达百分比的图示。

[0079] 图6是显示如图4所描述的膀胱和胃肿瘤样品中LAG-3-D(细胞/ mm^2)的图示。

[0080] 图7是显示如图4所描述的LAG-3-P的图示,以膀胱和胃肿瘤样品中接合的LAG-3+的百分比(%)。

[0081] 发明详述

[0082] 本公开提供了一种治疗有需要的人类受试者的癌症的方法,其包括给所述受试者施用淋巴细胞活化基因-3(LAG-3)拮抗剂,其中受试者被鉴定为在获自受试者的肿瘤样品中具有(i)高LAG-3密度(LAG-3-D)评分,(ii)高LAG-3比例(LAG-3-P)评分,或(iii)高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者。本公开还提供了一种治疗有需要的人类受试者的癌症的方法,其包括(a)鉴定获自受试者的肿瘤样品中具有(i)高LAG-3-D评分,(ii)高LAG-3-P评分,或(iii)高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者的受试者,和(b)给受试者施用LAG-3拮抗剂。本公开还提供了一种鉴定患有适合于LAG-3拮抗剂疗法的癌症的人类受试者的方法,其包括计算获自需要LAG-3拮抗剂疗法的受试者的肿瘤样品中的(i)LAG-3-D评分,(ii)LAG-3-P评分,或(iii)LAG-3-D评分和LAG-3-P评分两者。本公开还提供了一种治疗有需要的人类受试者的癌症的LAG-3拮抗剂,其中受试者鉴定为获自受试者的肿瘤样品具有(i)高LAG-3-D评分,(ii)高LAG-3-P评分,或(iii)高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者。本公开还提供了LAG-3拮抗剂用于鉴定患有适合于LAG-3拮抗剂疗法的癌症的受试者,其中计算获自受试者的肿瘤样品中的(i)LAG-3-D评分,(ii)LAG-3-P评分,或(iii)LAG-3-D评分和LAG-3-P评分两者。

[0083] I. 术语

[0084] 为了更好地理解本公开,首先定义某些术语。如本申请中所用的,除非本文另有明确规定,否则以下术语中的每一个应具有下文所述的含义。另外的定义在整个申请中列出。

[0085] 应注意,术语“一(a)”或“一个(an)”实体是指一个或多个该实体;例如,“一个核苷

酸序列”应理解为表示一个或多个核苷酸序列。因此,术语“一(a)”(或“一个(an)”)、“一个或多个”和“至少一个”在本文中可互换使用。

[0086] 在本文中使用的术语“和/或”应被视为了两个指定特征或组分中的每个具有或不具有另一个的具体公开。因此,本文中诸如“A和/或B”的短语中使用的术语“和/或”旨在包括“A和B”、“A或B”、“A”(单独)和“B”(单独)。同样,如在如“A、B和/或C”的短语中使用的术语“和/或”旨在涵盖以下方面中的每一个:A、B和C;A、B或C;A或C;A或B;B或C;A和C;A和B;B和C;A(单独);B(单独);和C(单独)。

[0087] 应当理解,在本文中用“包含”描述各方面的任何地方,都还提供了以“由……组成”和/或“基本上由……组成”描述的其他类似方面。

[0088] 术语“约”或“基本上包含”是指在本领域普通技术人员确定的特定值或组成的可接受误差范围内的值或组成,其将部分取决于如何测量或测定该值或组成,即测量系统的局限性。例如,“约”或“基本上包含”可以意指根据本领域的实践在1个或大于1个标准偏差内。或者,“约”或“基本上包含”可以意指至多10%或20%(即, $\pm 10\%$ 或 $\pm 20\%$)的范围。例如,约3mg可以包括2.7mg和3.3mg之间(对于10%)或2.4mg和3.6mg之间(对于20%)的任何数字。此外,特别是关于生物系统或过程,该术语可以意指高达一个数量级或高达5倍的值。在本申请和权利要求书中提供特定值或组成时,除非另有说明,否则“约”或“基本上包含”的含义应被认为在该特定值或组成的可接受误差范围内。

[0089] 如本文所述,除非另有说明,否则任何浓度范围、百分比范围、比率范围或整数范围应理解为包括所述范围内的任何整数的值,并且在适当时,包括其分数(例如整数的十分之一和百分之一)。

[0090] 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本公开相关领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。例如,Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 第2版, 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 第3版, 1999, Academic Press; 以及 Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, 修改, 2000, Oxford University Press, 为技术人员提供了本公开中使用的许多术语的通用词典。

[0091] 单位、前缀和符号以其国际单位制(SI)接受的形式来表示。数值范围包括限定该范围的数字。

[0092] 本文提供的标题不是对本公开内容的各个方面的限制,其可以通过参考整个说明书而获得本公开内容。因此,通过参考说明书的全部内容来更全面地定义下文紧接着定义的术语。

[0093] “拮抗剂”应包括但不限于能够阻断、降低或以其它方式限制靶分子(例如LAG-3)的相互作用或活性的任何分子。在一些方面中,拮抗剂是抗体。在其他方面中,拮抗剂包括小分子。术语“拮抗剂”和“抑制剂”在本文中可互换使用。

[0094] “抗体”(Ab)应非限制性地包括特异性结合抗原并包含通过二硫键相互连接的至少两条重(H)链和两条轻(L)链的糖蛋白免疫球蛋白,或其抗原结合部分。每条H链包含重链可变区(本文缩写为VH)和重链恒定区。重链恒定区包含三个恒定结构域CH1、CH2和CH3。每条轻链包含轻链可变区(本文缩写为VL)和轻链恒定区。轻链恒定区包含一个恒定结构域CL。VH和VL区可以进一步细分为称为互补决定区(CDR)的高变区,中间散布有更保守的称为

框架区 (FR) 的区域。每个 VH 和 VL 包含三个 CDR 和四个 FR, 从氨基末端到羧基末端按以下顺序排列: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3 和 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的结合, 所述宿主组织或因子包括免疫系统的各种细胞 (例如效应细胞) 和经典补系统的第一组分 (C1q)。重链可具有或不具有 C-末端赖氨酸。

[0095] 免疫球蛋白可源自任何通常已知的同种型, 包括但不限于 IgA、分泌型 IgA、IgG 和 IgM。IgG 亚类也是本领域技术人员熟知的, 并且包括但不限于人 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4。“同种型”是指由重链恒定区基因编码的抗体类别或亚类 (例如 IgM 或 IgG1)。作为实例, 术语“抗体”包括天然存在的和非天然存在的抗体; 单克隆和多克隆抗体; 嵌合和人源化抗体; 人或非人抗体; 全合成抗体; 单链抗体; 单特异性抗体; 双特异性抗体; 和多特异性抗体。非人抗体可以通过重组方法人源化以降低其在人中的免疫原性。在没有明确说明的情况下, 并且除非上下文另有说明, 否则术语“抗体”还包括上述任何免疫球蛋白的抗原结合片段或抗原结合部分, 并且包括单价和二价片段或部分, 其保留与由整个免疫球蛋白结合的抗原特异性结合的能力。“抗原结合部分”或“抗原结合片段”的实例包括: (1) Fab 片段 (来自木瓜蛋白酶切割的片段) 或由 VL、VH、LC 和 CH1 结构域组成的类似单价片段; (2) F(ab')₂ 片段 (来自胃蛋白酶切割的片段) 或类似的二价片段, 其包含在铰链区通过二硫桥连接的两个 Fab 片段; (3) 由 VH 和 CH1 结构域组成的 Fd 片段; (4) 由单臂的 VL 和 VH 结构域组成的 Fv 片段; (5) 单结构域抗体 (dAb) 片段 (Ward 等, (1989) Nature 341:544-546), 其由 VH 结构域组成; (6) 双单结构域抗体, 其由通过铰链连接的两个 VH 结构域组成 (双亲和力重靶向抗体 (DART)); 或 (7) 双重可变结构域免疫球蛋白。此外, 尽管 Fv 片段的两个结构域 VL 和 VH 由单独的基因编码, 但它们可以使用重组方法通过合成接头连接, 所述合成接头使得它们能够制成单个蛋白质链, 其中 VL 和 VH 区配对以形成单价分子 (称为单链 Fv (scFv); 参见例如 Bird 等 (1988) Science 242:423-426; 和 Huston 等 (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883)。使用本领域技术人员已知的常规技术获得这些抗原结合部分或片段, 并且以与完整抗体相同的方式筛选所述部分或片段的效用。抗原结合部分或片段可以通过重组 DNA 技术或通过完整免疫球蛋白的酶促或化学切割来产生。

[0096] “分离的抗体”是指基本上不含具有不同抗原特异性的其它抗体的抗体 (例如, 特异性结合 LAG-3 的分离的抗体基本上不含特异性结合除 LAG-3 以外的其他抗原的抗体)。然而, 特异性结合 LAG-3 的分离的抗体可以具有与其他抗原 (例如来自不同物种的 LAG-3 分子) 的交叉反应性。此外, 分离的抗体可以基本上不含其他细胞材料和/或化学物质。

[0097] 术语“单克隆抗体” (mAb) 是指单一分子组成的抗体分子的非天然存在的制备物, 即其一级序列基本上相同并且对特定表位显示单一结合特异性和亲和力的抗体分子。单克隆抗体是分离的抗体的实例。单克隆抗体可以通过杂交瘤、重组、转基因或本领域技术人员已知的其他技术产生。

[0098] “人抗体” (HuMAb) 是指具有可变区的抗体, 其中框架区和 CDR 区均源自人种系免疫球蛋白序列。此外, 如果抗体含有恒定区, 则恒定区也源自人种系免疫球蛋白序列。本公开的人抗体可包括不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)。然而, 如本文所用, 术语“人抗体”不旨在包括其中源自另一种哺乳动物物种 (例如小鼠) 的种系的抗体的 CDR 序列已经移植到人框

架序列上的抗体。术语“人抗体”和“完全人抗体”同义使用。

[0099] “人源化抗体”是指其中非人抗体的CDR之外的一些、大多数或所有氨基酸被源自人免疫球蛋白的相应氨基酸替换的抗体。在抗体的人源化形式的一个方面中,CDR外的一些、大多数或所有氨基酸已被来自人免疫球蛋白的氨基酸替换,而一个或多个CDR内的一些、大多数或所有氨基酸未改变。氨基酸的小的添加、缺失、插入、取代或修饰是允许的,只要它们不消除抗体结合特定抗原的能力即可。“人源化抗体”保留与原始抗体相似的抗原特异性。

[0100] “嵌合抗体”是指其中可变区源自一个物种且恒定区源自另一个物种的抗体,如其中可变区源自小鼠抗体且恒定区源自人抗体的抗体。

[0101] “抗-抗原抗体”指与抗原特异性结合的抗体。例如,抗LAG-3抗体特异性结合LAG-3,抗PD-1抗体特异性结合PD-1,抗PD-L1抗体特异性结合PD-L1,并且抗CTLA-4抗体特异性结合CTLA-4。

[0102] “LAG-3”是指淋巴细胞活化基因-3。术语“LAG-3”包括变体、同种型、同源物、直系同源物和旁系同源物。例如,在某些情况下,对人LAG-3蛋白具有特异性的抗体可与来自除人以外的其他物种的LAG-3蛋白交叉反应。在其他方面中,对人LAG-3蛋白具有特异性的抗体可完全对人LAG-3蛋白具有特异性,并且不表现出物种或其他类型的交叉反应性,或者可与来自某些其他物种但不是所有其他物种的LAG-3交叉反应(例如,与猴LAG-3而非小鼠LAG-3交叉反应)。术语“人LAG-3”是指人序列LAG-3,如具有GenBank登录号NP_002277的人LAG-3的完整氨基酸序列。术语“小鼠LAG-3”是指小鼠序列LAG-3,如具有GenBank登录号NP_032505的小鼠LAG-3的完整氨基酸序列。LAG-3在本领域中也称为例如CD223。人LAG-3序列可以与GenBank登录号NP_002277的人LAG-3不同,差异在于具有例如保守突变或非保守区域中的突变,并且LAG-3具有与GenBank登录号NP_002277的人LAG-3基本上相同的生物学功能。例如,人LAG-3的生物学功能是在LAG-3的胞外结构域中具有由本公开的抗体特异性结合的表位,或人LAG-3的生物学功能是结合MHC II类分子。

[0103] “程序性死亡-1”(PD-1)是指属于CD28家族的免疫抑制性受体。PD-1在体内主要在先前活化的T细胞上表达,并与两种配体PD-L1和PD-L2结合。如本文所用的术语“PD-1”包括人PD-1(hPD-1),hPD-1的变体、同种型和物种同系物,以及与hPD-1具有至少一个共同表位的类似物。完整的hPD-1序列可以在GenBank登录号No.U64863下找到。“PD-1”和“PD-1受体”在本文中可互换使用。

[0104] “程序性死亡配体-1”(PD-L1)是PD-1的两种细胞表面糖蛋白配体之一(另一种是PD-L2),其在与PD-1结合后下调T细胞活化和细胞因子分泌。如本文所用的术语“PD-L1”包括人PD-L1(hPD-L1),hPD-L1的变体、同种型和物种同系物,以及与hPD-L1具有至少一个共同表位的类似物。完整的hPD-L1序列可以在GenBank登录号No.Q9NZQ7下找到。人PD-L1蛋白由人CD274基因(NCBI基因ID:29126)编码。

[0105] 本文所用的术语“程序性死亡配体-2”和“PD-L2”包括人PD-L2(hPD-L2),hPD-L2的变体、同工型和物种同系物,以及与hPD-L2具有至少一个共同表位的类似物。完整的hPD-L2序列可以在GenBank登录号No.Q9BQ51下找到。

[0106] “细胞毒性T-淋巴细胞抗原-4”(CTLA-4)是指属于CD 28家族的免疫抑制性受体。CTLA-4专门地在体内T细胞上表达,并与两种配体CD80和CD86(也分别称为B7-1和B7-2)结

合。如本文所用的术语“CTLA-4”包括人CTLA-4 (hCTLA-4), hCTLA-4的变体、同种型和物种同系物,以及与hCTLA-4具有至少一个共同表位的类似物。完整的hCTLA-4序列可以在GenBank登录号No. AAB59385下找到。

[0107] “T细胞免疫球蛋白和粘蛋白结构域-3”(TIM-3),也称为甲型肝炎病毒细胞受体2 (HAVCR2),是指I型跨膜蛋白,其最初在活化的产生IFN- γ 的T细胞(例如,1型辅助CD4+T细胞和细胞毒性CD8+T细胞)上鉴定到,并显示出在与半乳糖凝集素-9(galectin-9)结合后诱导T细胞死亡或耗竭。如本文所用的术语“TIM-3”包括人TIM-3 (hTIM-3), hTIM-3的变体、同种型和物种同系物,以及与hTIM-3具有至少一个共同表位的类似物。已经鉴定了hTIM-3的两种同种型。同种型1 (GenBank登录号No. NP_116171)由301个氨基酸组成,并代表规范序列。同种型2 (GenBank登录号No. AAH20843)由142个氨基酸组成,并且是可溶的。

[0108] 与LAG-3表达相关的术语“LAG-3阳性”或“LAG-3表达阳性”是指在包含肿瘤细胞和肿瘤浸润性炎性细胞的测试组织样品中的细胞比例,高于该比例,组织样品被评分为表达LAG-3。

[0109] “LAG-3阴性”或“LAG-3表达阴性”是指在包含肿瘤细胞和肿瘤浸润性炎性细胞的测试组织样品中不是LAG-3阳性或LAG-3表达阳性的细胞的比例。

[0110] 涉及细胞表面PD-L1表达的术语“PD-L1阳性”或“PD-L1表达阳性”是指在包含肿瘤细胞和肿瘤浸润性炎性细胞的测试组织样品中的细胞比例,高于该比例,样品被评分为表达细胞表面PD-L1。

[0111] 涉及细胞表面PD-L1表达的术语“PD-L1阴性”或“PD-L1表达阴性”是指在包含肿瘤细胞和肿瘤浸润性炎性细胞的测试组织样品中不是PD-L1阳性或PD-L1表达阳性的细胞的比例。

[0112] 如本文所用的术语“肿瘤突变负荷”(TMB)是指肿瘤基因组中体细胞突变的数目和/或单位面积肿瘤基因组的体细胞突变的数目。确定TMB时,排除种系(遗传)变体,因为免疫系统具有更高的可能性将这些识别为自身。肿瘤突变负荷(TMB)也可以与“肿瘤突变载量”、“肿瘤突变的负荷”或“肿瘤突变的载量”互换使用。

[0113] “受试者”包括任何人或非人动物。术语“非人动物”包括但不限于脊椎动物,如非人灵长类动物、绵羊、狗和啮齿动物,如小鼠、大鼠和豚鼠。在优选的方面,受试者是人。术语“受试者”和“患者”在本文中可互换使用。

[0114] “施用”是指使用本领域技术人员已知的各种方法和递送系统中的任一种将包含治疗剂的组合物物理引入受试者中。免疫疗法(例如LAG-3拮抗剂)的优选施用途径包括静脉内、肌内、皮下、腹膜内、脊柱或其他肠胃外施用途径,例如通过注射或输注。如本文所用的短语“肠胃外施用”意指除肠内和局部施用之外的施用模式,通常通过注射,并且包括但不限于静脉内、肌内、动脉内、鞘内、淋巴管内、病灶内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外和胸骨内注射和输注,以及体内电穿孔。在一些方面中,制剂通过非肠胃外途径施用,在一些方面中,通过口服施用。其他非肠胃外途径包括局部、表皮或粘膜施用途径,例如鼻内、阴道、直肠、舌下或局部。还可以例如一次、多次和/或历经一个或多个延长的时间段内进行施用。

[0115] 受试者的“治疗”或“疗法”是指对受试者进行的任何类型的干预或过程,或给受试者施用活性剂,目的是逆转、减轻、改善、抑制、减缓症状、并发症或病症的进展、发展、严重

程度或复发,或与疾病相关的生化指标。实体瘤反应评价标准(RECIST)是治疗功效的量度,并且是确定肿瘤在治疗期间何时反应、稳定或进展的既定规则。RECIST 1.1是用于成人和儿科癌症临床试验的肿瘤尺寸变化的客观评估的实体瘤测量和定义的通用指南。

[0116] 如本文所用的,“有效治疗”是指产生有益效果的治疗,例如改善疾病或病症的至少一种症状。有益效果可以采取超过基线的改善的形式,即超过在根据该方法开始治疗之前进行的测量或观察的改善。有益效果还可以采取阻止、减缓、阻滞或稳定实体瘤标志物的有害进展的形式。有效治疗可以指减轻实体瘤的至少一种症状。这种有效治疗可以例如减少患者疼痛,减小病变的大小和/或数量,可以减少或预防肿瘤转移,和/或可以减缓肿瘤生长。

[0117] 术语“有效量”是指提供所需生物学、治疗和/或预防结果的药剂的量。该结果可以是一个或多个疾病体征、症状或病因的减少、改善、缓和、减轻、延迟和/或缓解,或生物系统的任何其他期望的改变。关于实体瘤,有效量包括足以引起肿瘤缩小和/或降低肿瘤的生长速率(例如抑制肿瘤生长)或延迟其他不想要的细胞增殖的量。在一些方面中,有效量是足以预防或延迟肿瘤复发的量。有效量可以在一次或多次施用中施用。药物或组合物的有效量可以:(i)减少癌细胞的数量;(ii)减小肿瘤大小;(iii)在一定程度上抑制、延迟、减缓并且可以阻止癌细胞浸润到外周器官中;(iv)抑制(即,在一定程度上减缓并可以阻止肿瘤转移);(v)抑制肿瘤生长;(vi)防止或延迟肿瘤出现和/或复发;和/或(vii)在一定程度上缓解与癌症相关的一个或多个症状。在一个实例中,“有效量”是临床上证明影响癌症(如晚期实体瘤)显著减少或延缓癌症进展的单独的抗LAG-3抗体的量或组合的抗LAG-3抗体的量和另外的治疗剂(例如抗PD-1抗体)的量。

[0118] 如本文所用,术语“固定剂量”、“平剂量(flat dose)”和“平固定剂量(flat-fixed dose)”可互换使用,并且是指不考虑患者的体重或体表面积(BSA)而施用于患者的剂量。因此,固定剂量或平剂量不以mg/kg剂量提供,而是以药剂的绝对量(例如,以 μg 或mg计的量)提供。

[0119] 关于本发明的组合物的术语“固定的剂量组合”的使用意指在单一组合物中的如本文所述的两种或更多种不同抑制剂(例如抗LAG-3抗体和抗PD-1抗体)以彼此特定的(固定的)比率存在于组合物中。在一些方面中,固定剂量基于抑制剂的重量(例如mg)。在某些方面中,固定的剂量基于抑制剂的浓度(例如,mg/ml)。在一些方面中,所述比例为至少约1:1、约1:2、约1:3、约1:4、约1:5、约1:6、约1:7、约1:8、约1:9、约1:10、约1:15、约1:20、约1:30、约1:40、约1:50、约1:60、约1:70、约1:80、约1:90、约1:100、约1:120、约1:140、约1:160、约1:180、约1:200、约200:1、约180:1、约160:1、约140:1、约120:1、约100:1、约90:1、约80:1、约70:1、约60:1、约50:1、约40:1、约30:1、约20:1。约5:1、约4:1、约3:1或约2:1的mg第一抑制剂比mg第二抑制剂。例如,第一抗体和第二抗体的3:1比率可意指小瓶可含有约240mg第一抗体和80mg第二抗体或约3mg/ml第一抗体和1mg/ml第二抗体。

[0120] 本文所称的术语“基于体重的剂量”是指基于患者体重计算施用于患者的剂量。例如,具有60kg体重的患者需要3mg/kg的抗LAG-3抗体结合3mg/kg的抗PD-1抗体时,可以从抗LAG3抗体和抗PD-1抗体的1:1比率的固定剂量组合中一次抽取适当量的抗LAG-3抗体(即180mg)和抗PD-1抗体(即180mg)。

[0121] 本文所用的“给药间隔”是指施用于受试者的本文公开的制剂的多个剂量之间经

过的时间的量。因此,给药间隔可以表示为范围。

[0122] 本文所用的术语“给药频率”是指在给定时间内施用本文公开的制剂剂量的频率。给药频率可以表示为每个给定时间的剂量数,例如每周一次或两周一次等。

[0123] 本文所用的术语“约一周一次”、“约每周一次”、“约每两周一次”或任何其它类似的给药间隔术语是指近似数量,并且“约一周一次”或“约每周一次”可包括每七天±两天,即每五天至每九天。因此,“每周一次”的给药频率可以是每五天、每六天、每七天、每八天或每九天一次。“约每三周一次”可包括每21天±3天,即每25天至每31天。类似的近似值适用于例如约每两周一次、约每四周一次、约每五周一次、约每六周一次、约每七周一次、约每八周一次、约每九周一次、约每十周一次、约每十一周一次和约每十二周一次。在一些方面中,约每六周一次或约每十二周一次的给药间隔意指第一剂量可以在第一周的任何一天给予,然后下一剂量可以分别在第六周或第十二周的任何一天给予。在其他方面中,约每六周一次或约每十二周一次的给药间隔意指第一剂量在第一周的特定日(例如,星期一)施用,然后下一剂量分别在第六周或第十二周的同一天(即,星期一)施用。

[0124] 本文所用的“不良事件”(AE)是与使用医学治疗相关的任何不利的和通常非预期的或不希望的迹象(包括异常的实验室发现)、症状或疾病。例如,不良事件可以与响应于治疗的免疫系统的激活或免疫系统细胞(例如,T细胞)的扩增相关。医学治疗可具有一种或多种相关AE,并且每种AE可具有相同或不同的严重程度。提及能够“改变不良事件”的方法意指降低与使用不同治疗方案相关的一种或多种AE的发生率和/或严重性的治疗方案。

[0125] 本文所用的术语“肿瘤”是指由良性(非癌性)或恶性(癌性)(包括癌前病变)的过度细胞生长或增殖导致的任何组织块,。

[0126] 举例来说,“抗癌剂”促进受试者的癌症消退。在优选的方面中,治疗有效量的药物促进癌症消退至消除癌症的程度。“促进癌症消退”意指单独或与另一种药剂组合施用有效量的抗癌剂导致肿瘤生长或大小减少、肿瘤坏死、至少一种疾病症状的严重程度降低、疾病无症状期的频率和持续时间增加、或预防由于疾病痛苦引起的损伤或失能。此外,术语关于治疗的“有效”和“有效性”包括药理学有效性和生理安全性。药理学有效性是指药物在患者中促进癌症消退的能力。生理安全性是指由施用药剂引起的细胞、器官和/或生物体水平的毒性或其他不良生理作用(不良作用)的水平。

[0127] 作为治疗肿瘤的实例,相对于未治疗的受试者,治疗有效量的抗癌剂优选抑制细胞生长或肿瘤生长至少约20%、至少约40%、至少约60%或至少约80%。在本公开的其他方面中,可以观察到肿瘤消退并持续至少约20天、至少约40天或至少约60天的时间段。尽管有这些治疗效果的最最终测量,但免疫治疗性药物的评估也必须考虑免疫相关的应答模式。

[0128] 如本文所用,“免疫肿瘤学”疗法或“I-0”或“I0”疗法是指包括利用免疫应答来靶向和治疗受试者中的肿瘤的疗法。因此,如本文所用,I-0疗法是一类抗癌疗法。在一些方面中,I-0疗法包括给受试者施用抗体或其抗原结合片段。在一些方面中,I-0疗法包括给受试者施用免疫细胞,例如T细胞,例如经修饰的T细胞,例如经修饰以表达嵌合抗原受体或特定T细胞受体的T细胞。在一些方面中,I-0疗法包括给受试者施用治疗性疫苗。在一些方面中,I-0疗法包括给受试者施用细胞因子或趋化因子。在一些方面中,I-0疗法包括给受试者施用白介素。在一些方面中,I-0疗法包括给受试者施用干扰素。在一些方面中,I-0疗法包括给受试者施用集落刺激因子。

[0129] “免疫应答”是指免疫系统的细胞(例如,T淋巴细胞、B淋巴细胞、自然杀伤(NK)细胞、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、树突细胞和中性粒细胞)和由任何这些细胞或肝脏产生的可溶性大分子(包括抗体、细胞因子和补体)的作用,其导致选择性靶向、结合、损害、破坏和/或消除脊椎动物体内入侵的病原体、感染病原体的细胞或组织、癌细胞或其他异常细胞,或者(在自身免疫或病理性炎症的情况下)正常的人细胞或组织。

[0130] “肿瘤浸润性炎性细胞”或“肿瘤相关炎性细胞”是通常参与受试者的炎性反应并浸润肿瘤组织的任何类型的细胞。此类细胞包括肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)、巨噬细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、组织细胞和树突细胞。

[0131] 如本文所用的术语“肿瘤样品”是指从受试者的肿瘤分离的肿瘤材料。肿瘤样品可以含有适于例如通过免疫组织化学(IHC)确定靶蛋白表达(例如LAG-3、II类MHC和/或肿瘤抗原)的肿瘤的任何部分。在一个方面中,肿瘤样品是肿瘤组织活检,例如福尔马林固定的石蜡包埋(FFPE)的肿瘤组织或新鲜冷冻的肿瘤组织等等。在另一个方面中,可以将肿瘤样品切成多个肿瘤切片。在其他方面中,将肿瘤样品连续切片成多个切片。

[0132] 在以下小节中进一步详细描述了本公开的各个方面。

[0133] II. 本公开的方法

[0134] 本文提供了通过鉴定或选择适合LAG-3拮抗剂疗法或对LAG-3拮抗剂疗法有响应的人类受试者或人类受试者群体来提高LAG-3拮抗剂疗法的功效的方法。本文提供的方法涉及适合LAG-3拮抗剂疗法或对LAG-3拮抗剂疗法有响应的人类受试者的定量空间剖析。在一个方面中,本公开涉及一种治疗有需要的人类受试者的癌症(例如减少肿瘤的体积和/或生长)的方法,其包括给受试者施用淋巴细胞活化基因-3(LAG-3)拮抗剂,其中受试者鉴定为在获自受试者的肿瘤样品中具有(i)高LAG-3密度(LAG-3-D)评分,(ii)高LAG-3比例(LAG-3-P)评分,或(iii)高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者。

[0135] 在另一个方面中,本公开涉及一种治疗有需要的人类受试者的癌症的方法,其包括:(a)鉴定在获自受试者的肿瘤样品中具有(i)高LAG-3-D评分,(ii)高LAG-3-P评分,或(iii)高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者的受试者,和(b)给受试者施用LAG-3拮抗剂。

[0136] 在另一个方面中,本公开涉及一种鉴定或选择患有适合于LAG-3拮抗剂疗法的癌症的人类受试者的方法,所述方法包括计算在获自需要LAG-3拮抗剂疗法的受试者的肿瘤样品中的(i)LAG-3-D评分,(ii)LAG-3-P评分,或(iii)LAG-3-D评分和LAG-3-P评分两者。在一些方面中,受试者表现出高LAG-3-D评分、高LAG-3-P评分或高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者。在一些方面中,所述方法还包括给受试者施用LAG-3拮抗剂。在一些方面中,通过本方法鉴定或选择的受试者对LAG-3拮抗剂疗法有响应。

[0137] 在另一个方面中,本公开涉及LAG-3拮抗剂用于治疗有需要的人类受试者的癌症,其中受试者鉴定为在获自受试者的肿瘤样品中具有(i)高LAG-3-D评分,(ii)高LAG-3-P评分,或(iii)高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者。

[0138] 在另一个方面中,本公开涉及LAG-3拮抗剂用于鉴定或选择患有适合LAG-3拮抗剂疗法的癌症的受试者,其中计算了在获自受试者的肿瘤样品中的(i)LAG-3-D评分,(ii)LAG-3-P评分,或(iii)LAG-3-D评分和LAG-3-P评分两者。在一些方面中,受试者表现出高LAG-3-D评分、高LAG-3-P评分或高LAG-3-D评分和高LAG-3-P评分两者。在一些方面中,通过本方法鉴定或选择的受试者对LAG-3拮抗剂疗法有响应。

[0139] II.A.LAG-3-D评分和LAG-3-P评分

[0140] 根据本公开的LAG-3-D评分可以通过测量肿瘤样品中与表达II类主要组织相容性复合体(MHC II)的一个或多个肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的密度来确定。在一些方面中,LAG-3-D评分计算为(i)与表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的数目除以(ii)肿瘤样品的肿瘤面积(mm^2)。

[0141] 根据本公开的LAG-3-P评分可以通过测量肿瘤样品中与表达MHC II的一个或多个肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的比例来确定。在一些方面中,将LAG-3-P评分计算为(i)与表达MHC II的肿瘤细胞接近的表达LAG-3的T细胞的数量除以(ii)肿瘤样品中表达LAG-3的T细胞的总数。

[0142] 在一些方面中,接近是在表达LAG-3的T细胞的细胞表面与表达MHC II的肿瘤细胞的细胞表面之间。

[0143] 在一些方面中,接近是在表达LAG-3的T细胞的细胞核与表达MHC II的肿瘤细胞的细胞核之间。

[0144] 在一些方面中,接近是在LAG-3与II类MHC之间和/或在LAG-3与肿瘤细胞上表达的肿瘤抗原之间。

[0145] 在一些方面中,接近是等于或小于约50 μm ,等于或小于约45 μm ,等于或小于约40 μm ,等于或小于约35 μm ,或等于或小于约30 μm 。在一些方面中,接近是等于或小于约50 μm 。在一些方面中,接近是等于或小于约40 μm 。在一些方面中,接近度等于或小于约35 μm 。在一些方面中,接近度等于或小于约30 μm 。

[0146] 在一些方面中,肿瘤样品包括一个或多个源自肿瘤组织活组织检查或肿瘤组织切除的肿瘤切片。在一些方面中,一个或多个肿瘤切片包含福尔马林固定的石蜡包埋的肿瘤组织或新鲜冷冻的肿瘤组织。在一些方面中,一个或多个肿瘤切片包括连续切片的肿瘤切片。在一些方面中,通过免疫组织化学(IHC)对一个或多个肿瘤切片进行染色。在一些方面中,一个或多个肿瘤切片包括一个肿瘤切片、两个肿瘤切片、三个肿瘤切片、四个肿瘤切片、五个肿瘤切片、六个肿瘤切片、七个肿瘤切片、八个肿瘤切片、九个肿瘤切片、十个肿瘤切片、11个肿瘤切片、12个肿瘤切片、13个肿瘤切片、14个肿瘤切片、15个肿瘤切片、16个肿瘤切片、17个肿瘤切片、18个肿瘤切片、19个肿瘤切片、20个肿瘤切片、21个肿瘤切片、22个肿瘤切片、23个肿瘤切片、24个肿瘤切片、25个肿瘤切片、26个肿瘤切片、27个肿瘤切片、28个肿瘤切片、29个肿瘤切片,或30个肿瘤切片。在一些方面中,一个或多个肿瘤切片包括三个肿瘤切片。在一些方面中,一个或多个肿瘤切片包括15个肿瘤切片。在一些方面中,一个或多个肿瘤切片包括18个肿瘤切片。在一些方面中,一个或多个肿瘤切片包括20个肿瘤切片。在一些方面中,一个或多个肿瘤切片包括21个肿瘤切片。

[0147] 在一些方面中,针对LAG-3和/或MHC II对肿瘤样品的一个肿瘤切片进行染色。在一些方面中,进一步针对肿瘤抗原对肿瘤切片进行染色。在一些方面中,肿瘤抗原是广谱细胞角蛋白(Pan-CK)。在一些方面中,针对所有三种标志物(即LAG-3、II类MHC和肿瘤抗原(例如,pan-CK))对肿瘤样品的一个肿瘤切片进行染色。

[0148] 在一些方面中,肿瘤样品包含针对LAG-3染色的第一肿瘤切片、针对MHC II染色的第二肿瘤切片和针对肿瘤抗原染色的第三肿瘤切片。在一些方面中,从肿瘤样品连续切片第一肿瘤切片、第二肿瘤切片和第三肿瘤切片。在一些方面中,肿瘤样品包含针对LAG-3染

色的第一组肿瘤切片(例如,2、3、4、5、6、7、8、9或10个肿瘤切片)、针对MHC II染色的第二组肿瘤切片(例如,2、3、4、5、6、7、8、9或10个肿瘤切片)和针对肿瘤抗原染色的第三组肿瘤切片(例如,2、3、4、5、6、7、8、9或10个肿瘤切片)。在一些方面中,从肿瘤样品连续切片第一组、第二组和第三组肿瘤切片。

[0149] 在一些方面中,通过定量空间剖析确定LAG-3-D评分和LAG-3-P评分。在一些方面中,定量空间剖析是数字空间分析。

[0150] 在一些方面中,高LAG-3-D评分是至少约5个细胞/ mm^2 、至少约6个细胞/ mm^2 、至少约7个细胞/ mm^2 、至少约8个细胞/ mm^2 、至少约9个细胞/ mm^2 、至少约10个细胞/ mm^2 、至少约11个细胞/ mm^2 、至少约12个细胞/ mm^2 、至少约13个细胞/ mm^2 、至少约14个细胞/ mm^2 、至少约15个细胞/ mm^2 、至少约16个细胞/ mm^2 、至少约17个细胞/ mm^2 、至少约18个细胞/ mm^2 、至少约19个细胞/ mm^2 、至少约20个细胞/ mm^2 、至少约25个细胞/ mm^2 、至少约30个细胞/ mm^2 、至少约35个细胞/ mm^2 、至少约40个细胞/ mm^2 、至少约45个细胞/ mm^2 、至少约50个细胞/ mm^2 、至少约55个细胞/ mm^2 、至少约60个细胞/ mm^2 、至少约65个细胞/ mm^2 、至少约70个细胞/ mm^2 、至少约75个细胞/ mm^2 、至少约80个细胞/ mm^2 、至少约85个细胞/ mm^2 、至少约90个细胞/ mm^2 、至少约95个细胞/ mm^2 或至少约100个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约5个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约10个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约15个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约20个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约25个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约30个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约35个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约40个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约45个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约50个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约55个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约60个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约65个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约70个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约75个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约80个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约85个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约90个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约95个细胞/ mm^2 。在一些方面中,高LAG-3-D评分为至少约100个细胞/ mm^2 。

[0151] 在一些方面中,高LAG-3-P评分是至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或至少约100%。在一些方面中,高LAG-3-P评分在至少约40%和约100%之间。在一些方面中,高LAG-3-P评分为至少约40%。在一些方面中,高LAG-3-P评分为至少约45%。在一些方面中,高LAG-3-P评分为至少约50%。在一些方面中,高LAG-3-P评分为至少约55%。在一些方面中,高LAG-3-P评分为至少约60%。在一些方面中,高LAG-3-P评分为至少约65%。在一些方面中,高LAG-3-P评分为至少约70%。在一些方面中,高LAG-3-P评分为至少约75%。在一些方面中,高LAG-3-P评分为至少约80%。在一些方面中,高LAG-3-P评分为至少约85%。在一些方面中,高LAG-3-P评分为至少约90%。在一些方面中,高LAG-3-P评分为至少约95%。在一些方面中,高LAG-3-P评分为至少约100%。在一些方面中,高LAG-3-P评分在至少约40%和约100%之间。在一些方面中,高LAG-3-P评分在至少约50%和约100%之间。在一些方面中,高LAG-3-P评分在至少约60%和约100%之间。在一些方面中,高

LAG-3-P评分在至少约70%和约100%之间。在一些方面中,高LAG-3-P评分在至少约80%和约100%之间。在一些方面中,高LAG-3-P评分在至少约90%和约100%之间。

[0152] II.B.LAG-3拮抗剂和组合疗法

[0153] 在一些方面中,本公开涉及治疗有需要的人类受试者的癌症的方法和用途,其包括给受试者施用LAG-3拮抗剂。在一些方面中,给受试者施用LAG-3拮抗剂单一疗法,例如,其中不给受试者施用一种或多种另外的治疗剂(例如抗癌剂)。

[0154] 在一些方面中,给受试者施用组合疗法,例如其中给受试者施用LAG-3拮抗剂和一种或多种另外的治疗剂(例如抗癌剂)。

[0155] 在一些方面中,用于治疗癌症的方法和用途还包括给受试者施用另外的检查点抑制剂。在一些方面中,检查点抑制剂包括抗PD-1抗体、抗CTLA-4抗体、抗TIM3抗体、抗PD-L1抗体,或其任何组合。在一些方面中,检查点抑制剂包括抗PD-1抗体。在一些方面中,检查点抑制剂包括抗PD-L1抗体。

[0156] II.B.1.LAG-3拮抗剂

[0157] 如本文所用,LAG-3拮抗剂包括但不限于LAG-3结合剂,例如LAG-3抗体,和可溶性LAG-3多肽,例如包含LAG-3胞外部分的融合蛋白。如本文所用的术语“LAG-3拮抗剂”可与术语“LAG-3抑制剂”互换。

[0158] 在一些方面中,LAG-3拮抗剂是可溶性LAG-3多肽。在一些方面中,可溶性LAG-3多肽是融合多肽,例如包含LAG-3的胞外部分的融合蛋白。在一些方面中,可溶性LAG-3多肽是能够结合II类MHC的LAG-3-Fc融合多肽。在一些方面中,可溶性LAG-3多肽包含LAG-3胞外结构域的配体结合片段。在一些方面中,可溶性LAG-3多肽还包含半衰期延长部分。在一些方面中,半衰期延长部分包含免疫球蛋白恒定区或其部分、免疫球蛋白结合多肽、免疫球蛋白G(IgG)、白蛋白结合多肽(ABP)、PAS化部分、HES化部分、XTEN、PEG化部分、Fc区或其任何组合。在一些方面中,可溶性LAG-3多肽是IMP321(eftilagimod alpha)。参见,例如,Brignone C.等,J Immunol.2013年12月;(2007);179:4202-4211和W02009/044273。

[0159] 在一些方面中,LAG-3拮抗剂是抗LAG-3抗体。

[0160] 可使用本领域熟知的方法产生适用于本文的抗LAG-3抗体(或由其衍生的VH/VL结构域)。或者,可以使用本领域公认的抗LAG-3抗体。与LAG-3结合的抗体已经公开于例如国际公开号W0/2015/042246;以及美国公开号2014/0093511和2011/0150892,其各自通过引用整体并入本文。

[0161] 可用于本公开的示例性LAG-3抗体是25F7(描述于美国公开No.2011/0150892)。可用于本公开的另外的示例性LAG-3抗体是BMS-986016(relatlimab)。在一些方面中,可用于本公开的抗LAG-3抗体与25F7或BMS-986016(relatlimab)交叉竞争与人LAG-3的结合。在一些方面中,可用于本公开的抗LAG-3抗体与25F7或BMS-986016(relatlimab)结合相同的表位。

[0162] 可用于本公开的方法和用途的其他本领域公认的抗LAG-3抗体包括US 2011/007023中所述的IMP731(H5L7BW)、W02016028672中所述的MK-4280(28G-10)、Burova E等,J.Immunother.2014;Cancer(2016);4(增补1):P195中所述的REGN3767(fianlimab)、W02017/019894中所述的人源化BAP050、GSK2831781、IMP-701(LAG-525;ieramilimab)、aLAG3(0414)、aLAG3(0416)、Sym022、TSR-033、TSR-075、XmAb22841、MGD013、BI754111、

FS118、P 13B02-30、AVA-017和AGEN1746。可用于要求保护的发明的这些和其他抗LAG-3抗体可见于例如：US 10,188,730；WO 2016/028672、WO 2017/106129、WO2017/062888、WO2009/044273、WO2016/069500、WO2016/126858、WO2014/179664、WO2016/200782、WO2015/200119、WO2017/019846、WO2017/198741、WO2017/220555、WO2017/220569、WO2018/071500、WO2017/015560、WO2017/025498、WO2017/087589、WO2017/087901、WO2018/083087、WO2017/149143、WO2017/219995、US2017/0260271、WO2017/086367、WO2017/086419、WO2018/034227、WO2018/185046、WO2018/185043、WO2018/217940、WO19/011306、WO2018/208868、WO2014/140180、WO2018/201096、WO2018/204374和WO2019/018730。这些参考文献中的每一篇的内容通过引用整体并入。

[0163] 可用于本公开的方法和用途的抗LAG-3抗体还包括分离的特异性结合人LAG-3并与本文公开的任何抗LAG-3抗体(例如relatlimab)交叉竞争与人LAG-3的结合的抗体。在一些方面中,该抗LAG-3抗体与本文所述的任何抗LAG-3抗体(例如relatlimab)结合相同的表位。

[0164] 在一些方面中,与本文所公开的任何抗LAG-3抗体(例如relatlimab)交叉竞争与人LAG-3的结合或与本文所公开的任何抗LAG-3抗体(例如relatlimab)结合相同的表位区的抗体是单克隆抗体。对于施用于人类受试者,这些交叉竞争抗体是嵌合抗体、工程化抗体或人源化抗体或人抗体。此类嵌合、工程化、人源化或人单克隆抗体可以通过本领域熟知的方法制备和分离。

[0165] 抗体交叉竞争结合抗原的能力表明抗体结合抗原的相同表位区,并在空间上阻碍其它交叉竞争抗体结合该特定表位区。预期这些交叉竞争抗体由于其与相同表位区的结合而具有非常类似于参考抗体(例如relatlimab)的功能特性。可以基于交叉竞争抗体在标准结合测定(如Biacore分析、ELISA测定或流式细胞术)中交叉竞争的能力而轻松地鉴定交叉竞争抗体(参见例如WO 2013/173223)。

[0166] 可用于本公开的方法和用途的抗LAG-3抗体还包括任何上述全长抗体的抗原结合部分。已经充分证明,抗体的抗原结合功能可以由全长抗体的片段执行。

[0167] 本文公开的任何抗LAG-3抗体的生物仿制药也可用于本公开的方法和用途中。

[0168] 在其它方面中,抗LAG-3抗体具有本文公开的任何抗LAG-3抗体(例如relatlimab)的重链和轻链CDR或可变区。因此,在一个方面中,抗体包含本文所公开的抗LAG-3抗体(例如relatlimab)的VH区的CDR1、CDR2和CDR3结构域,以及抗体(例如relatlimab)的VL区的CDR1、CDR2和CDR3结构域。在另一个方面中,抗LAG-3抗体包含本文公开的任何抗LAG-3抗体(例如relatlimab)的VH和/或VL区。

[0169] 在一些方面中,抗LAG-3抗体是全长抗体。

[0170] 在一些方面中,抗LAG-3抗体是单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体或多特异性抗体。在一些方面中,多特异性抗体是双亲和力重靶向抗体(DART)、DVD-Ig或双特异性抗体。

[0171] 在一些方面中,抗LAG-3抗体是F(ab')₂片段、Fab'片段、Fab片段、Fv片段、scFv片段、dsFv片段、dAb片段或单链结合多肽。

[0172] 在一些方面中,抗LAG-3抗体是BMS-986016(relatlimab)、LAG-525(IMP-701、ieramilimab)、MK-4280(28G-10)、REGN3767(fianlimab)、TSR-033、TSR-075、Sym022、FS-

118、IMP731 (H5L7BW)、GSK2831781、人源化BAP050、aLAG3 (0414)、aLAG3 (0416)、XmAb22841、MGD013、BI754111、P 13B02-30、AVA-017、25F7、AGEN1746,或包含其抗原结合部分。

[0173] 在某些方面中,抗LAG-3抗体用于测定LAG-3表达。在一些方面中,针对其结合福尔马林固定、石蜡包埋 (FFPE) 组织样本中的LAG-3的能力来选择抗LAG-3抗体。在其它方面中,抗LAG-3抗体能够结合冷冻组织中的LAG-3。在其他方面,抗LAG-3抗体能够区分膜结合的、胞质和/或可溶性形式的LAG-3。

[0174] 在一些方面中,可用于根据本文所述方法测定、检测和/或定量LAG-3表达的抗LAG-3抗体是17B4小鼠IgG1抗人LAG-3单克隆抗体或其抗原结合片段。参见例如Matsuzaki, J等;PNAS 107,7875 (2010)。

[0175] II.B.2另外的治疗剂和疗法

[0176] 在一些方面中,本公开的方法和用途还包括给受试者施用另外的治疗剂和/或抗癌疗法。

[0177] 另外的抗癌疗法可包括本领域已知的用于治疗受试者肿瘤的任何疗法和/或如本文公开的任何标准护理疗法。在一些方面中,另外的抗癌疗法包括手术、放疗、化疗、免疫疗法或其任何组合。在一些方面中,另外的抗癌疗法包括化疗,包括本文公开的任何化疗剂。在一些方面中,化疗包括铂双重化疗。

[0178] 在一些方面中,另外的治疗剂包括抗癌剂。在一些方面中,抗癌剂包括酪氨酸激酶抑制剂、抗血管生成剂、检查点抑制剂、检查点刺激剂、化疗剂、免疫治疗剂、铂剂、烷化剂、紫杉烷类、核苷类似物、抗代谢物、拓扑异构酶抑制剂、蒽环类、长春花生物碱或其任何组合。

[0179] 在一些方面中,酪氨酸激酶抑制剂包括索拉非尼 (例如,甲苯磺酸索拉非尼,也称为 **NEXAVAR®**)、乐伐替尼 (例如,甲磺酸乐伐替尼,也称为 **LENVIMA®**)、瑞戈非尼 (例如, **STIVARGA®**)、卡博替尼 (例如,S-苹果酸卡博替尼,也称为 **CABOMETYX®**)、舒尼替尼 (例如,苹果酸舒尼替尼,也称为 **SUTENT®**)、brivanib、linifanib、厄洛替尼 (例如,盐酸厄洛替尼,也称为 **TARCEVA®**)、培米替尼 (也称为PEMAZYRE™)、依维莫司 (也称为 **AFINITOR®**或 **ZORTRESS®**)、吉非替尼 (**IRESSA®**)、伊马替尼 (例如,甲磺酸伊马替尼)、拉帕替尼 (例如,二甲苯磺酸拉帕替尼,也称为 **TASIGNA®**)、帕唑帕尼 (例如盐酸帕唑帕尼,也称为 **VOTRIENT®**)、坦罗莫司 (也称为 **TORISEL®**) 或其任何组合。

[0180] 在一些方面中,抗血管生成剂包括血管内皮生长因子 (VEGF)、VEGF受体 (VEGFR)、血小板衍生生长因子 (PDGF)、PDGF受体 (PDGFR)、血管生成素 (Ang)、具有Ig样和EGF样结构域的酪氨酸激酶 (Tie) 受体、肝细胞生长因子 (HGF)、酪氨酸蛋白激酶Met (c-MET)、C-型凝集素家族14成员A (CLEC14A)、多聚体蛋白2 (MMRN2)、休克蛋白70-1A (HSP70-1A)、表皮生长因子 (EGF)、EGF受体 (EGFR) 或其任意组合的抑制剂。在一些方面中,抗血管生成剂包括贝伐单抗 (也称为 **AVASTIN®**)、雷莫芦单抗 (也称为 **CYRAMZA®**)、阿柏西普 (也称为 **EYLEA®**或 **ZALTRAP®**)、他尼鲁单抗、奥拉木单抗 (也称为LARTRUV0™)、nesvacumab、AMG780、MEDI3617、vanucizumab、rilotumumab、ficlatuzumab、TAK-701、onartuzumab、emibetuzumab,或其任何组合。

[0181] 在一些方面中,检查点刺激剂包括B7-1、B7-2、CD28、4-1BB (CD137)、4-1BBL、GITR、诱导型T细胞共刺激因子 (ICOS)、ICOS-L、OX40、OX40L、CD70、CD27、CD40、死亡受体3 (DR3)、

CD28H或其任何组合。

[0182] 在一些方面中,化疗剂包括烷化剂、抗代谢物、抗肿瘤抗生素、有丝分裂抑制剂、激素或激素调节剂、蛋白酪氨酸激酶抑制剂、表皮生长因子抑制剂、蛋白酶体抑制剂、其它肿瘤剂,或其任意组合。

[0183] 在一些方面中,免疫治疗剂包括特异性结合 ICOS、CD137 (4-1BB)、CD134 (OX40)、NKG2A、CD27、CD96、GITR、疱疹病毒进入介质 (HVEM)、PD-1、PD-L1、CTLA-4、BTLA、TIM-3、A2aR、杀伤细胞凝集素样受体G1 (KLRG-1)、自然杀伤细胞受体2B4 (CD 244)、CD160、TIGIT、VISTA、KIR、TGF β 、IL-10、IL-8、B7-H4、Fas配体、CSF1R、CXCR4、间皮素、CEACAM-1、CD52、HER2、MICA、MICB,或其任意组合的抗体。

[0184] 在一些方面中,铂剂包括顺铂、卡铂、奥沙利铂、satraplatin、picoplatin、nedaplatin、三铂(例如四硝酸三铂)、lipoplatin、phenanthriplatin,或其任意组合。

[0185] 在一些方面中,烷化剂包括六甲蜜胺、苯达莫司汀、白消安、卡铂、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、顺铂、环磷酰胺、达卡巴嗪、异环磷酰胺、洛莫司汀、氮芥、美法仑、奥沙利铂、丙卡巴肼、链佐星、替莫唑胺、噻替派,或其任意组合。

[0186] 在一些方面中,紫杉烷包括紫杉醇、白蛋白结合的紫杉醇、多西他赛、卡巴他赛,或其任何组合。

[0187] 在一些方面中,核苷类似物包括阿糖胞苷、吉西他滨、拉米夫定、恩替卡韦、替比夫定,或其任意组合。

[0188] 在一些方面中,抗代谢物包括卡培他滨、克拉屈滨、氟达拉滨、阿糖胞苷、氟尿苷、氟达拉滨、氟尿嘧啶、吉西他滨、硫嘌呤、甲氨蝶呤、培美曲塞、喷司他丁、普拉曲沙、硫鸟嘌呤,或其任意组合。

[0189] 在一些实施方案中,拓扑异构酶抑制剂包括依托泊苷、米托蒽醌、多柔比星、伊立替康、拓扑替康、喜树碱,或其任意组合。

[0190] 在一些方面中,蒽环类抗生素是多柔比星、柔红霉素、表柔比星、伊达比星,或其任意组合。

[0191] 在一些方面中,长春花生物碱是长春碱、长春新碱、长春瑞滨、长春地辛、vincaminol、vineridine、vinburnine,或其任意组合。

[0192] II.B.3检查点抑制剂

[0193] 在一些方面中,在本公开的方法中作为另外的治疗剂施用的抗癌剂是检查点抑制剂。

[0194] 在一些方面中,检查点抑制剂包括程序性死亡-1 (PD-1) 途径抑制剂、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4 (CTLA-4) 抑制剂、T细胞免疫球蛋白和ITIM结构域 (TIGIT) 抑制剂、T细胞免疫球蛋白和含粘蛋白结构域3 (TIM-3) 抑制剂、TIM-1抑制剂、TIM-4抑制剂、B7-H3抑制剂、B7-H4抑制剂、B和T细胞淋巴细胞衰减子 (BTLA) 抑制剂、T细胞活化的V结构域Ig抑制因子 (VISTA) 抑制剂、吡哆胺2,3-双加氧酶 (IDO) 抑制剂、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶同种型2 (NOX2) 抑制剂、杀伤细胞免疫球蛋白样受体 (KIR) 抑制剂、腺苷A2a受体 (A2aR) 抑制剂、转化生长因子 β (TGF- β) 抑制剂、磷酸肌醇3-激酶 (PI3K) 抑制剂、CD47抑制剂、CD48抑制剂、CD73抑制剂、CD113抑制剂、唾液酸结合免疫球蛋白样凝集素-7 (SIGLEC-7) 抑制剂、SIGLEC-9抑制剂、SIGLEC-15抑制剂、糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白 (GITR) 抑制剂、半乳

糖凝集素-1抑制剂、半乳糖凝集素-9抑制剂、癌胚抗原相关细胞粘附分子-1 (CEACAM-1) 抑制剂、G蛋白偶联受体56 (GPR56) 抑制剂、糖蛋白A重复优势蛋白 (GARP) 抑制剂、2B4抑制剂、程序性死亡-1同系物 (PD1H) 抑制剂、白细胞相关免疫球蛋白样受体1 (LAIR1) 抑制剂,或其任意组合。

[0195] II.B.4.PD-1途径抑制剂

[0196] 在一些方面中,用于本公开的方法和用途的检查点抑制剂包括PD-1途径抑制剂。

[0197] 在一些方面中,PD-1途径抑制剂是PD-1抑制剂和/或PD-L1抑制剂。

[0198] 在一些方面中,PD-1抑制剂和/或PD-L1抑制剂是小分子。

[0199] 在一些方面中,PD-1抑制剂和/或PD-L1抑制剂是millamolecule。

[0200] 在一些方面中,PD-1抑制剂和/或PD-L1抑制剂是大环肽

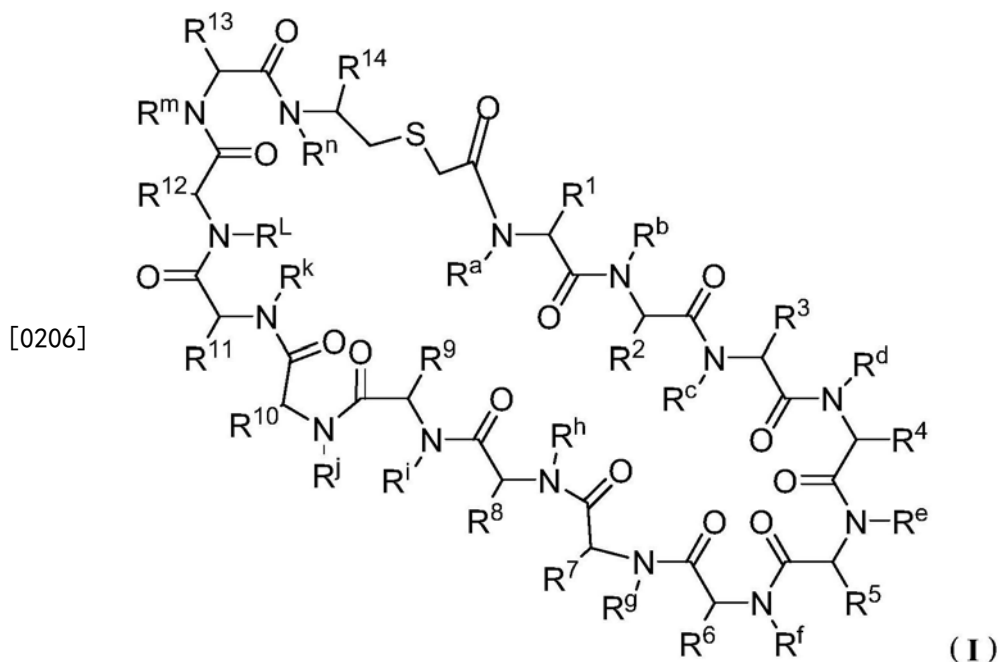
[0201] 在某些方面,PD-1抑制剂和/或PD-L1抑制剂是BMS-986189。

[0202] 在一些方面中,PD-1抑制剂是国际公开No.WO2014/151634中公开的抑制剂,其通过引用整体并入本文。

[0203] 在一些方面中,PD-1抑制剂是INCMGA 00012 (Insight Pharmaceuticals)。

[0204] 在一些方面中,PD-1抑制剂包括本文公开的抗PD-1抗体和PD-1小分子抑制剂的组合。

[0205] 在一些方面中,PD-L1抑制剂包括具有式(I)所示结构式的millamolecule:



[0207] 其中R1-R13是氨基酸侧链,Ra-Rn是氢、甲基,或与邻位R基团形成环,并且R14是-C(O)NHR15,其中R15是氢,或一个甘氨酸残基,可选地被另外的甘氨酸残基和/或尾部替代,可改善药代动力学特性。在一些方面中,PD-L1抑制剂包括国际公开No.WO2014/151634中公开的化合物,其全部内容通过引用并入本文。在一些方面中,PD-L1抑制剂包括国际公开No.WO2016/039749、WO2016/149351、WO2016/077518、WO2016/100285、WO2016/100608、WO2016/126646、WO2016/057624、WO2017/151830、WO2017/176608、WO2018/085750、WO2018/237153或WO2019/070643,其各自通过引用整体并入本文。

[0208] 在一些方面中,PD-L1抑制剂包括国际公开No.WO2015/034820、WO2015/160641、

W02018/044963、W02017/066227、W02018/009505、W02018/183171、W02018/118848、W02019/147662或W02019/169123中公开的小分子PD-L1抑制剂,其各自通过引用整体并入本文。

[0209] 在一些方面中,PD-1途径抑制剂是可溶性PD-L2多肽。在一些方面中,可溶性PD-L2多肽是融合多肽。在一些方面中,可溶性PD-L2多肽包含PD-L2细胞外结构域的配体结合片段。在一些方面中,可溶性PD-L2多肽进一步包含半衰期延长部分。在一些方面中,半衰期延长部分包含免疫球蛋白恒定区或其部分、免疫球蛋白结合多肽、免疫球蛋白G(IgG)、白蛋白结合多肽(ABP)、PAS化部分、HES化部分、XTEN、PEG化部分、Fc区或其任何组合。在一些方面中,可溶性PD-L2多肽是AMP-224(参见例如US2013/0017199)。

[0210] 在一些方面中,PD-1途径抑制剂是抗-PD-1抗体和/或抗-PD-L1抗体。

[0211] II.B.4.a抗PD-1抗体

[0212] 本领域已知的抗-PD-1抗体可用于本公开的方法和用途中。以高亲和力特异性结合PD-1的各种人单克隆抗体已公开于美国专利No.8,008,449中。美国专利No.8,008,449中公开的抗PD-1人抗体已被证明表现出以下的一个或多个特征:(a)以 1×10^{-7} M或更低的 K_D 结合人PD-1,如使用Biacore生物传感器系统通过表面等离子体共振测定的;(b)基本上不与CD28、CTLA-4或ICOS结合;(c)在混合淋巴细胞反应(MLR)测定中增加T细胞增殖;(d)在MLR测定中增加干扰素- γ 的产生;(e)在MLR测定中增加IL-2分泌;(f)结合人PD-1和食蟹猴PD-1;(g)抑制PD-L1和/或PD-L2与PD-1的结合;(h)刺激抗原特异性记忆应答;(i)刺激抗体应答;和(j)抑制体内肿瘤细胞生长。可用于本公开的抗PD-1抗体包括特异性结合人PD-1并表现出至少一个,在一些方面中,至少五个前述特征的单克隆抗体。

[0213] 其他抗PD-1单克隆抗体已描述于例如美国专利号No.6,808,710、7,488,802、8,168,757和8,354,509,美国公开号2016/0272708,和PCT公开号W0 2012/145493、W0 2008/156712、W0 2015/112900、W0 2012/145493、W0 2015/112800、W0 2014/206107、W0 2015/35606、W0 2015/085847、W0 2014/179664、W0 2017/020291、W0 2017/020858、W0 2016/197367、W0 2017/024515、W0 2017/025051、W0 2017/123557、W0 2016/106159、W0 2014/194302、W0 2017/040790、W0 2017/133540、W0 2017/132827、W0 2017/024465、W0 2017/025016、W0 2017/106061、W0 2017/19846、W0 2017/024465、W0 2017/025016、W0 2017/132825和W0 2017/133540中,其各自通过引用整体并入。

[0214] 在一些方面中,抗PD-1抗体选自:纳武单抗(也称为**OPDIVO®**、5C4、BMS-936558、MDX-1106和ONO-4538)、派姆单抗(Merck;也称为**KEYTRUDA®**、lambrolizumab和MK-3475;参见W02008/156712)、PDR001(Novartis;也称为司帕珠单抗;参见W0 2015/112900)、MEDI-0680(AstraZeneca;也称为AMP-514;参见W0 2012/145493)、西米利单抗(Regeneron;也称为**LIBTAYO®**或REGN-2810;参见W0 2015/112800)、JS001(泰州君实药业;也称为特瑞普利单抗;参见Si-Yang Liu等,J.Hematol.Oncol.10:136(2017))、PF-06801591(Pfizer;也称为sasanlimab;US 2016/0159905)、BGB-A317(Beigene;也称为tislelizumab;参见W0 2015/35606和US 2015/0079109)、BI 754091(Boehringer Ingelheim;参见Zettl M等,Cancer.Res.2013;78(13增补):摘要4558)、INCSHR1210(江苏恒瑞药业;也称为SHR-1210或卡瑞利珠单抗;参见W0 2015/085847;Si-Yang Liu等,J.Hematol.Oncol.10:136(2017))、TSR-042(Tesaro Biopharmaceutical;也称为ANB011或dostarlimab;参见W02014/179664)、GLS-010(无锡/哈尔滨誉衡制药;也称为WBP3055;参见

Si-Yang Liu等, J. Hematol. Oncol. 10:136 (2017))、AM-0001 (Armo)、STI-1110 (Sorrento Therapeutics; 参见WO 2014/194302)、AGEN2034 (Agenus; 参见WO 2017/040790)、MGA012 (Macrogenics, 参见WO 2017/19846)、BCD-100 (Biocad; Kaplon等, mAbs 10 (2):183-203 (2018)、IBI308 (信达; 也称为信迪利单抗; 参见WO 2017/024465、WO 2017/025016、WO 2017/132825和WO 2017/133540)和SSI-361 (Lyvgen Biopharma Holdings Limited, US 2018/0346569)。

[0215] 可用于本公开的方法和用途的抗PD-1抗体还包括分离的特异性结合人PD-1并与本文公开的任何抗PD-1抗体(例如纳武单抗)交叉竞争与人PD-1的结合的抗体(参见例如美国专利No. 8,008,449和8,779,105; WO 2013/173223)。在一些方面中,抗PD-1抗体与本文所述的任何抗PD-1抗体(例如纳武单抗)结合相同的表位。

[0216] 在一些方面中,与本文公开的任何抗-PD-1抗体(例如纳武单抗)交叉竞争结合人PD-1或结合相同表位区域的抗体是单克隆抗体。对于给人类受试者施用,这些交叉竞争抗体是嵌合抗体、工程化抗体或人源化抗体或人抗体。此类嵌合、工程化、人源化或人单克隆抗体可以通过本领域熟知的方法制备和分离。

[0217] 可用于本公开方法中的抗-PD-1抗体还包括任何上述全长抗体的抗原结合部分。

[0218] 可用于本公开方法中的抗-PD-1抗体是以高特异性和亲和力结合PD-1、阻断PD-L1和/或PD-L2的结合,和抑制PD-1信号传导途径的免疫抑制作用的抗体。在本文公开的任何组合物或方法中,抗PD-1“抗体”包括结合PD-1受体并在抑制配体结合和上调免疫系统方面表现出与完整抗体的那些类似的功能特性的抗原结合部分或片段。在某些方面中,抗PD-1抗体或其抗原结合部分与纳武单抗交叉竞争与人PD-1的结合。

[0219] 纳武单抗是完全人IgG4 (S228P) PD-1免疫检查点抑制剂抗体,其选择性地阻止与PD-1配体(PD-L1和PD-L2)的相互作用,从而阻断抗肿瘤T细胞功能的下调(美国专利No. 8,008,449; Wang等, 2014 Cancer Immunol Res. 2 (9):846-56)。

[0220] 派姆单抗是针对人细胞表面受体PD-1的人源化单克隆IgG4 (S228P) 抗体。派姆单抗描述于例如美国专利No. 8,354,509和8,900,587中。

[0221] 本文公开的任何抗-PD-1抗体的生物仿制药也可用于本公开的方法和用途中。

[0222] 在其它方面中,抗-PD-1抗体具有本文公开的任何抗-PD-1抗体(例如纳武单抗)的重链和轻链CDR或可变区。因此,在一个方面中,抗体包含本文公开的抗PD-1抗体(例如纳武单抗)的VH区的CDR1、CDR2和CDR3结构域,以及抗体(例如纳武单抗)的VL区的CDR1、CDR2和CDR3结构域。在另一个方面中,抗PD-1抗体包含本文公开的任何抗PD-1抗体(例如纳武单抗)的VH和/或VL区。

[0223] 在一些方面中,抗-PD-1抗体是全长抗体。

[0224] 在一些方面中,抗-PD-1抗体是单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体或多特异性抗体。在一些方面中,多特异性抗体是双亲和力重靶向抗体(DART)、DVD-Ig或双特异性抗体。

[0225] 在一些方面中,抗-PD-1抗体是F(ab')₂片段、Fab'片段、Fab片段、Fv片段、scFv片段、dsFv片段、dAb片段或单链结合多肽。

[0226] 在一些方面中,抗-PD-1抗体与纳武单抗交叉竞争与人PD-1的结合。

[0227] 在一些方面中,抗-PD-1抗体与纳武单抗结合相同的表位。

- [0228] 在一些方面中,抗-PD-1抗体是纳武单抗的生物仿制药。
- [0229] 在一些方面中,抗-PD-1抗体是纳武单抗。
- [0230] 在一些方面中,抗-PD-1抗体与派姆单抗交叉竞争与人PD-1的结合。
- [0231] 在一些方面中,抗-PD-1抗体与派姆单抗结合相同的表位。
- [0232] 在一些方面中,抗-PD-1抗体是派姆单抗的生物仿制药。
- [0233] 在一些方面中,抗-PD-1抗体是派姆单抗。
- [0234] 在一些方面中,抗-PD-1抗体是纳武单抗、派姆单抗、PDR001、MEDI-0680、TSR-042、cemiplimab、JS001、PF-06801591、BGB-A317、BI 754091、INCSHR1210、GLS-010、AM-001、STI-1110、AGEN2034、MGA012、BCD-100、IBI308、SSI-361,或包含其抗原结合部分。
- [0235] II.B.4.b抗PD-L1抗体
- [0236] 在某些方面,在本文公开的任何方法或用途中,用抗-PD-L1抗体替代抗-PD-1抗体。
- [0237] 本领域已知的抗PD-L1抗体可用于本公开的方法和用途中。可用于本公开的组合物和方法的抗PD-L1抗体的实例包括美国专利No.9,580,507中公开的抗体。美国专利No.9,580,507中公开的抗PD-L1人单克隆抗体已被证明表现出以下的一个或多个特征:(a)以 1×10^{-7} M或更低的 K_D 结合人PD-L1,如使用Biacore生物传感器系统通过表面等离子体共振测定的;(b)在混合淋巴细胞反应(MLR)测定中增加T细胞增殖;(c)在MLR测定中增加干扰素- γ 产生;(d)在MLR测定中增加IL-2分泌;(e)刺激抗体应答;和(f)逆转T调节细胞对T细胞效应细胞和/或树突细胞的作用。可用于本公开的抗PD-L1抗体包括特异性结合人PD-L1并表现出至少一个,在一些方面中,至少五个前述特征的单克隆抗体。
- [0238] 在某些方面中,抗PD-L1抗体选自BMS-936559(也称为12A4,MDX-1105;参见例如美国专利No.7,943,743和WO 2013/173223)、阿特珠单抗(Roche;也称为**TECENTRIQ®**;MPDL3280A,RG7446;参见US 8,217,149;还参见Herbst等(2013)J Clin Oncol 31(增补):3000)、度伐利尤单抗(AstraZeneca;也称为Imminzi[™],MEDI-4736;参见WO 2011/066389)、阿维鲁单抗(Pfizer;也称为**BAVENCIO®**,MSB-0010718C;参见WO 2013/079174)、STI-1014(Sorrento;参见WO2013/181634)、CX-072(Cytomx;参见WO2016/149201)、KN035(3D Med/Alphamab;参见Zhang等,Cell Discov.2013;参见例如WO 2017/034916)、BGB-A333(BeiGene;参见Desai等,JCO 36(15增补):TPS3113(2018))、IC0 36和CK-301(Checkpoint Therapeutics;参见Gorelik等,AACR:Abstract 4606(2016年4月))。
- [0239] 可用于本公开的方法和用途的抗PD-L1抗体还包括分离的特异性结合人PD-L1并与本文公开的任何抗PD-L1抗体(例如阿特珠单抗、度伐利尤单抗和/或阿维鲁单抗)交叉竞争与人PD-L1的结合的抗体。在一些方面中,抗PD-L1抗体与本文所述的任何抗PD-L1抗体(例如阿特珠单抗、度伐利尤单抗和/或阿维鲁单抗)结合相同的表位。在某些方面中,与本文公开的任何抗PD-L1抗体(例如阿特珠单抗、度伐利尤单抗和/或阿维鲁单抗)交叉竞争与人PD-L1的结合或结合相同表位区域的抗体是单克隆抗体。为了给人类受试者施用,这些交叉竞争抗体是嵌合抗体、工程化抗体或人源化抗体或人抗体。此类嵌合、工程化、人源化或人单克隆抗体可以通过本领域熟知的方法制备和分离。
- [0240] 可用于本公开的方法和用途的抗PD-L1抗体还包括任何上述全长抗体的抗原结合部分。

[0241] 可用于本公开内容的方法和用途的抗PD-L1抗体是以高特异性和亲和力与PD-L1结合、阻断PD-1的结合并抑制PD-1信号传导途径的免疫抑制作用的抗体。在本文公开的任何方法或用途中,抗PD-L1“抗体”包括结合PD-L1并在抑制受体结合和上调免疫系统方面表现出与完整抗体相似的功能特性的抗原结合部分或片段。在某些方面中,抗PD-L1抗体或其抗原结合部分与阿特殊单抗、度伐利尤单抗和/或阿维鲁单抗交叉竞争与人PD-L1的结合。

[0242] 本文公开的任何抗PD-L1抗体的生物仿制药也可用于本公开的方法和用途中。

[0243] 在其它方面中,抗PD-L1抗体具有本文公开的任何抗PD-L1抗体(例如阿特殊单抗)的重链和轻链CDR或可变区。因此,在一个方面中,抗体包含本文公开的抗PD-L1抗体(例如,阿特殊单抗)的VH区的CDR1、CDR2和CDR3结构域,以及抗体(例如,阿特殊单抗)的VL区的CDR1、CDR2和CDR3结构域。在另一个方面中,抗PD-L1抗体包含本文公开的任何抗PD-L1抗体(例如阿特殊单抗)的VH和/或VL区。

[0244] 在一些方面中,抗PD-L1抗体是全长抗体。

[0245] 在一些方面中,抗PD-L1抗体是单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体或多特异性抗体。在一些方面中,多特异性抗体是双亲和力重靶向抗体(DART)、DVD-Ig或双特异性抗体。

[0246] 在一些方面中,抗PD-L1抗体是F(ab')₂片段、Fab'片段、Fab片段、Fv片段、scFv片段、dsFv片段、dAb片段或单链结合多肽。

[0247] 在一些方面中,抗PD-L1抗体是BMS-936559、阿特殊单抗、度伐利尤单抗、阿维鲁单抗、STI-1014、CX-072、KN035、LY3300054、BGB-A333、ICO 36、CK-301,或包含其抗原结合部分。

[0248] II.B.5.抗CTLA-4抗体

[0249] 在一些方面中,本文公开的检查点抑制剂包括CTLA-4抑制剂。在一些方面中,CTLA-4抑制剂是抗CTLA-4抗体。

[0250] 本领域已知的抗CTLA-4抗体可用于本公开的方法和用途中。本公开的抗CTLA-4抗体结合人CTLA-4,以便破坏CTLA-4与人B7受体的相互作用。因为CTLA-4与B7的相互作用转导导致携带CTLA-4受体的T细胞失活的信号,所以相互作用的破坏有效地诱导、增强或延长此类T细胞的活化,从而诱导、增强或延长免疫应答。

[0251] 以高亲和力特异性结合CTLA-4的人单克隆抗体已在美国专利No.6,984,720中公开。其他抗CTLA-4单克隆抗体已描述于例如美国专利No.5,977,318、6,051,227、6,682,736和7,034,121以及国际公开No.WO 2012/122444、WO 2007/113648、WO 2016/196237和WO2000/037504中,其各自通过引用整体并入本文。美国专利No.6,984,720中公开的抗CTLA-4人单克隆抗体已被证明表现出以下的一个或多个特征:(a)以由至少约107M⁻¹、或约109M⁻¹、或约1010M⁻¹至1011M⁻¹或更高的平衡缔合常数(K_a)反映的结合亲和力特异性结合人CTLA-4,如通过Biacore分析所测定的;(b)至少约103、约104或约105m⁻¹s⁻¹的动力学缔合常数(K_a);(c)至少约103、约104或约105m⁻¹s⁻¹的动力学解离常数(k_d);和(d)抑制CTLA-4与B7-1(CD80)和B7-2(CD86)的结合。可用于本公开的抗CTLA-4抗体包括特异性结合人CTLA-4并表现出至少一个、至少两个或至少三个前述特征的单克隆抗体。

[0252] 在某些方面中,CTLA-4抗体选自伊匹单抗(也称为**YERVOY®**,MDX-010,10D1;参见美国专利No.6,984,720)、MK-1308(Merck)、AGEN-1884(Agenus Inc.;参见WO2016/

196237)和曲美木单抗(AstraZeneca;也称为ticilimumab,CP-675,206;参见W02000/037504和Ribas,Update Cancer Ther.2(3):133-39(2007))。

[0253] 在一些方面中,抗CTLA-4抗体特异性结合人CTLA-4并与本文公开的任何抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗和/或曲美木单抗)交叉竞争与人CTLA-4的结合。在一些方面中,抗CTLA-4抗体与本文所述的任何抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗和/或曲美木单抗)结合相同的表位。在一些方面中,与本文公开的任何抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗和/或曲美木单抗)交叉竞争与人CTLA-4的结合或与本文公开的任何抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗和/或曲美木单抗)结合相同的表位区的抗体是单克隆抗体。对于给人类受试者施用,这些交叉竞争抗体是嵌合抗体、工程化抗体或人源化抗体或人抗体。

[0254] 可用于本公开的方法和用途中的抗CTLA-4抗体还包括任何上述全长抗体的抗原结合部分。

[0255] 本文公开的任何抗CTLA-4抗体的生物仿制药也可用于本公开的方法和用途中。

[0256] 在其它方面中,抗CTLA-4抗体具有本文公开的任何抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗或曲美木单抗)的重链和轻链CDR或可变区。因此,在一个方面中,抗体包含本文公开的抗CTLA-4抗体(例如,伊匹单抗或曲美木单抗)的VH区的CDR1、CDR2和CDR3结构域,以及抗体(例如,伊匹单抗或曲美木单抗)的VL区的CDR1、CDR2和CDR3结构域。在另一个方面中,抗CTLA-4抗体包含本文公开的任何抗CTLA-4抗体(例如伊匹单抗或曲美木单抗)的VH和/或VL区。

[0257] 在一些方面中,抗CTLA-4抗体是全长抗体。

[0258] 在一些方面中,抗CTLA-4抗体是单克隆抗体、人抗体、人源化抗体、嵌合抗体或多特异性抗体。在一些方面中,多特异性抗体是DART、DVD-Ig或双特异性抗体。

[0259] 在一些方面中,抗CTLA-4抗体是F(ab')₂片段、Fab'片段、Fab片段、Fv片段、scFv片段、dsFv片段、dAb片段或单链结合多肽。

[0260] 在一些方面中,抗-CTLA-4抗体是伊匹单抗、曲美木单抗、MK-1308、AGEN-1884,或包含其抗原结合部分。

[0261] II.B.6. 抗TIM-3抗体

[0262] 在一些方面中,本文公开的检查点抑制剂包括TIM-3抑制剂。在一些方面中,TIM-3抑制剂是抗TIM-3抗体。

[0263] 本领域已知的抗TIM-3抗体可用于目前描述的组合物和方法中。

[0264] 在一些方面中,抗TIM-3抗体是TSR-022、LY 3321367或W0 2018/013818中公开的抗TIM-3抗体,其通过引用整体并入本文。

[0265] 在一些方面中,抗TIM-3抗体特异性结合人TIM-3并与本文公开的任何抗TIM-3抗体交叉竞争与人TIM-3的结合。在一些方面中,抗TIM-3抗体与本文所述的任何抗TIM-3抗体结合相同的表位。在一些方面中,与本文公开的任何抗TIM-3抗体交叉竞争与人TIM-3的结合或与本文公开的任何抗TIM-3抗体结合相同表位区的抗体是单克隆抗体。对于给人类受试者施用,这些交叉竞争抗体是嵌合抗体、工程化抗体或人源化抗体或人抗体。

[0266] 可用于本公开的方法和用途中的抗TIM-3抗体还包括任何上述全长抗体的抗原结合部分。

[0267] 本文公开的任何抗TIM-3抗体的生物仿制药也可用于本公开的方法和用途中。

[0268] 在其它方面中,抗TIM-3抗体具有本文公开的任何抗TIM-3抗体的重链和轻链CDR或可变区。因此,在一个方面中,抗体包含本文公开的抗TIM-3抗体的VH区的CDR1、CDR2和CDR3结构域,以及抗体的VL区的CDR1、CDR2和CDR3结构域。在另一个方面中,抗TIM-3包含本文公开的任何抗TIM-3抗体的VH和/或VL区。

[0269] 在一些方面中,抗TIM-3抗体是全长抗体。

[0270] 在一些方面中,抗TIM-3抗体是单克隆抗体、人抗体、人源化抗体、嵌合抗体或多特异性抗体。在一些方面中,多特异性抗体是DART、DVD-Ig或双特异性抗体

[0271] 在一些方面中,抗TIM-3抗体是F(ab')₂片段、Fab'片段、Fab片段、Fv片段、scFv片段、dsFv片段、dAb片段或单链结合多肽。

[0272] II.C. 癌症

[0273] 在一些方面中,本文公开癌症选自乳腺癌、肝细胞癌、胃食管癌、黑色素瘤、膀胱癌、胃癌、肺癌、肾癌、头颈癌、结肠癌,及其任意组合。

[0274] 在一些方面中,本文公开的肿瘤或肿瘤样品与选自乳腺癌、肝细胞癌、胃食管癌、黑色素瘤、膀胱癌、胃癌、肺癌、肾癌、头颈癌、结肠癌,及其任意组合的癌症相关。

[0275] 在一些方面中,癌症是膀胱癌。在一些方面中,癌症是胃癌。在一些方面中,癌症是黑色素瘤。在一些方面中,癌症是肺癌。在一些方面中,癌症是乳腺癌。在一些方面中,癌症是肝细胞癌。

[0276] 可通过本文公开的方法和用途治疗的癌症和良性病变包括但不限于循环系统的癌症和良性病变,例如心脏(肉瘤[血管肉瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、脂肪肉瘤]、粘液瘤、横纹肌瘤、纤维瘤、脂肪瘤和畸胎瘤)、纵隔和胸膜以及其它胸内器官、血管肿瘤和肿瘤相关血管组织;呼吸道,例如鼻腔和中耳、副鼻窦、喉、气管、支气管和肺,如小细胞肺癌(SCLC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、支气管癌(鳞状细胞、未分化的小细胞、未分化的大细胞、腺癌)、肺泡癌(细支气管)癌、支气管腺瘤、肉瘤、淋巴瘤、软骨瘤性错构瘤、间皮瘤;胃肠系统,例如食管(鳞状细胞癌、腺癌、平滑肌肉瘤、淋巴瘤)、胃(癌、淋巴瘤、平滑肌肉瘤)、胃的、胰腺(导管腺癌、胰岛素瘤、胰高血糖素瘤、胃泌素瘤、类癌瘤、血管活性肠肽瘤)、小肠(腺癌、淋巴瘤、类癌瘤、卡波西肉瘤、平滑肌瘤、血管瘤、脂肪瘤、神经纤维瘤、纤维瘤)、大肠(腺癌、管状腺瘤、绒毛状腺瘤、错构瘤、平滑肌瘤);泌尿生殖道,例如肾(腺癌、维尔姆斯瘤[肾母细胞瘤]、淋巴瘤、白血病)、膀胱和/或尿道(鳞状细胞癌、移行细胞癌、腺癌)、前列腺(腺癌、肉瘤)、睾丸(精原细胞瘤、畸胎瘤、胚胎性癌、畸胎瘤、绒毛膜癌、肉瘤、间质细胞癌、纤维瘤、纤维腺瘤、腺瘤样瘤、脂肪瘤);肝脏,例如肝细胞癌(肝细胞癌)、胆管癌、肝母细胞瘤、血管肉瘤、肝细胞腺瘤、血管瘤、胰腺内分泌肿瘤(如嗜铬细胞瘤、胰岛素瘤、血管活性肠肽肿瘤、胰岛细胞肿瘤和胰高血糖素瘤);骨,例如成骨肉瘤(骨肉瘤)、纤维肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、软骨肉瘤、尤因氏肉瘤、恶性淋巴瘤(网状细胞肉瘤)、多发性骨髓瘤、恶性巨细胞瘤脊索瘤、骨软骨瘤(骨软骨外生骨疣)、良性软骨瘤、软骨母细胞瘤、软骨粘液纤维瘤、骨样骨瘤和巨细胞瘤;神经系统,例如中枢神经系统(CNS)的肿瘤、原发性CNS淋巴瘤、颅骨癌(骨瘤、血管瘤、肉芽肿、黄瘤、畸形性骨炎)、脑膜(脑膜瘤、脑膜肉瘤、神经胶质瘤病)、脑癌(星形细胞瘤、成神经管细胞瘤、神经胶质瘤、室管膜瘤、生殖细胞瘤[松果体瘤]、多形性胶质母细胞瘤、少突神经胶质瘤、神经鞘瘤、视网膜母细胞瘤、先天性肿瘤)、脊髓神经纤维瘤、脑膜瘤、神经胶质瘤、肉瘤);生殖系统,例如妇科、子宫(子宫内膜癌)、子宫颈(宫颈癌、肿瘤前子宫颈发育不

良)、卵巢(卵巢癌[浆液性囊腺癌、粘液性囊腺癌、未分类癌]、粒层-鞘细胞瘤、Sertoli-Leydig细胞瘤、无性细胞瘤、恶性畸胎瘤)、外阴(鳞状细胞癌、上皮内癌、腺癌、纤维肉瘤、黑色素瘤)、阴道(透明细胞癌、鳞状细胞癌、葡萄样肉瘤(胚胎性横纹肌肉瘤)、输卵管(癌)以及及与女性生殖器官相关的其他部位;胎盘、阴茎、前列腺、睾丸以及与男性生殖器官相关的其它部位;血液系统,例如血液(骨髓性白血病[急性和慢性]、急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、骨髓增生性疾病、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征)、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤[恶性淋巴瘤];口腔,例如唇、舌、牙龈、口底、腭和口腔的其他部分、腮腺和唾液腺的其他部分、扁桃体、口咽、鼻咽、梨状窦、下咽以及唇、口腔和咽中的其他部位;皮肤,例如恶性黑色素瘤、皮肤黑色素瘤、基底细胞癌、鳞状细胞癌、卡波西肉瘤、发育不良痣、脂肪瘤、血管瘤、皮肤纤维瘤和瘢痕疙瘩;肾上腺:神经母细胞瘤;和其他组织,包括结缔组织和软组织、腹膜后和腹膜、眼、眼内黑色素瘤和附件、乳腺、头或/和颈、肛门区、甲状腺、甲状旁腺、肾上腺和其他内分泌腺和相关结构、继发性和未指定的恶性淋巴结赘生物、呼吸系统和消化系统的继发性恶性赘生物以及其他部位的继发性恶性赘生物,或其一种或多种的组合。

[0277] II.D. 肿瘤突变负荷(TMB) 状态

[0278] 在一些方面中,本文公开的方法和用途还包括测量肿瘤突变负荷(TMB) 状态。

[0279] TMB是肿瘤基因组的遗传分析,因此可以通过应用本领域技术人员公知的测序方法来测量。可以将肿瘤DNA与来自患者匹配的正常组织的DNA进行比较,以消除种系突变或多态性。

[0280] 在一些方面中,通过使用高通量测序技术(例如,下一代测序(NGS)或基于NGS的方法)对肿瘤DNA进行测序来确定TMB。在一些方面中,基于NGS的方法选自癌症基因的组的全基因组测序(WGS)、全外显子组测序(WES)或综合基因组谱(CGP),诸如**FOUNDATIONONE®CDX™**和MSK-IMPACT临床测试。在一些方面中,如本文所用,TMB是指测序DNA的每兆碱基(Mb)的体细胞突变数。在一个方面中,TMB是使用非同义突变的总数测量的,例如错义突变(即,改变蛋白质中的特定氨基酸)和/或无义(导致蛋白质序列的过早终止并因此截短),通过将匹配的肿瘤与种系样品标准化来鉴定以排除任何遗传的种系遗传改变。在另一个方面中,使用肿瘤中错义突变的总数测量TMB。为了测量TMB,需要足够量的样品。在一个方面中,使用组织样品(例如,最少10个载玻片)进行评估。在一些方面中,TMB表示为NsM/兆碱基(NsM/Mb)。1兆碱基代表1百万个碱基。

[0281] TMB状态可以是数值或相对值,例如高、中或低;在参考集的最高分位数内或在最高三分位数内。

[0282] 在一些方面中,TMB状态是高TMB。

[0283] 在一些方面中,“高TMB”是指肿瘤基因组中的体细胞突变数目高于正常或平均体细胞突变数目。在一些方面中,高TMB具有至少210、至少215、至少220、至少225、至少230、至少235、至少240、至少245、至少250、至少255、至少260、至少265、至少270、至少275、至少280、至少285、至少290、至少295、至少300、至少305、至少310、至少315、至少320、至少325、至少330、至少335、至少340、至少345、至少350、至少355、至少360、至少365、至少370、至少375、至少380、至少385、至少390、至少395、至少400、至少405、至少410、至少415、至少420、至少425、至少430、至少400、至少405、至少410、至少415、至少420、至少425、至少430、至少435、至少440、至少445、至少450、至少455、至少460、至少465、至少470、至少475、至少480、

至少485、至少490、至少495或至少500的评分。在一些方面中，高TMB状态具有至少221、至少222、至少223、至少224、至少225、至少226、至少227、至少228、至少229、至少230、至少231、至少232、至少233、至少234、至少235、至少236、至少237、至少238、至少239、至少240、至少241、至少242、至少243、至少244、至少245、至少246、至少247、至少248、至少249或至少250的评分。在一些方面中，高TMB状态具有至少243的评分。

[0284] 在一些方面中，“高TMB”是指在参考TMB值的最高分位数内的TMB。例如，根据TMB的分位数分布将具有可评估TMB数据的所有受试者分组，即，受试者从最高到最低数量的遗传改变排序并分成限定数量的组。在一些方面中，将具有可评估TMB数据的所有受试者排序并分成三分位，“高TMB”在参考TMB值的前三分位内。在一些方面中，三分位边界是0<100个遗传改变；100至243个遗传改变；和>243个遗传改变。应当理解，一旦排序，具有可评估TMB数据的受试者可以分成任何数量的组，例如四分位数、五分位数等。

[0285] 在一些方面中，“高TMB”是指至少约20个突变/肿瘤、至少约25个突变/肿瘤、至少约30个突变/肿瘤、至少约35个突变/肿瘤、至少约40个突变/肿瘤、至少约45个突变/肿瘤、至少约50个突变/肿瘤、至少约55个突变/肿瘤、至少约60个突变/肿瘤、至少约65个突变/肿瘤、至少约70个突变/肿瘤、至少约75个突变/肿瘤、至少约80个突变/肿瘤、至少约85个突变/肿瘤、至少约90个突变/肿瘤、至少约95个突变/肿瘤或至少约100个突变/肿瘤的TMB。在一些方面中，“高TMB”是指至少约105个突变/肿瘤、至少约110个突变/肿瘤、至少约115个突变/肿瘤、至少约120个突变/肿瘤、至少约125个突变/肿瘤、至少约130个突变/肿瘤、至少约135个突变/肿瘤、至少约140个突变/肿瘤、至少约145个突变/肿瘤、至少约150个突变/肿瘤、至少约175个突变/肿瘤或至少约200个突变/肿瘤的TMB。在某些方面中，具有高TMB的肿瘤具有至少约100个突变/肿瘤。

[0286] 在一些方面中，“高TMB”也可以指测序的基因组的每百万碱基的突变数目，例如，如通过突变测定（例如**FOUNDATIONONE®CDX™**测定）测量的。在一个方面中，高TMB是指基因组每兆碱基至少约9个、至少约10个、至少约11个、至少12个、至少约13个、至少约14个、至少约15个、至少约16个、至少约17个、至少约18个、至少约19个或至少约20个突变，如通过**FOUNDATIONONE®CDX™**测定测量的。在一个特定方面中，“高TMB”是指通过**FOUNDATIONONE®CDX™**测定测序的每兆碱基基因组至少10个突变。

[0287] 如本文所用，术语“中TMB”是指肿瘤基因组中的体细胞突变数目等于或接近正常或平均的体细胞突变数目，而术语“低TMB”是指肿瘤基因组中的体细胞突变数目低于正常或平均体细胞突变数目。在一个特定方面，“高TMB”具有至少243的评分，“中TMB”具有在100和242之间的评分，并且“低TMB”具有小于100（或在0和100之间）的评分。“中或低TMB”是指测序的每兆碱基基因组少于9个突变，例如，如通过**FOUNDATIONONE®CDX™**测定测量的。

[0288] 微卫星不稳定性是由受损的DNA错配修复（MMR）引起的遗传超突变性的状况。MSI的存在代表MMR功能不正常的表型证据。在大多数情况下，MSI肿瘤不稳定性的遗传基础是五种人MMR基因MSH2、MLH1、MSH6、PMS2和PMS1中任一种的遗传种系改变。在某些方面中，接受肿瘤治疗的受试者具有高度微卫星不稳定性（MSI-H）并且在基因MSH2、MLH1、MSH6、PMS2或PMS1中具有至少一个突变。在其他方面中，对照组内接受肿瘤治疗的受试者不具有微卫星不稳定性（MSS或MSI稳定）并且在基因MSH2、MLH1、MSH6、PMS2和PMS1中不具有突变。

[0289] II.E.肿瘤中的PD-L1表达

[0290] 在一些方面中,本文公开的方法和用途还包括测量获自受试者的肿瘤样品中的膜PD-L1表达。

[0291] 在一些方面中,通过免疫组织化学(IHC),例如用mAb 28-8测定肿瘤中的膜PD-L1表达。

[0292] 在一些方面中,肿瘤是PD-L1阳性的。

[0293] 在一些方面中,PD-L1阳性肿瘤或PD-L1表达阳性肿瘤意指细胞总数的至少约0.01%、至少约0.5%、至少约1%、至少约2%、至少约3%、至少约4%、至少约5%、至少约6%、至少约7%、至少约8%、至少约9%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%或至少约30%表达PD-L1。PD-L1阳性肿瘤或PD-L1表达阳性肿瘤在本文中也可称为表达PD-L1的肿瘤。在其他方面中,PD-L1阳性肿瘤或PD-L1表达阳性肿瘤意指细胞总数的至少约0.1%至至少约20%表达PD-L1。在某些方面中,PD-L1阳性肿瘤或PD-L1表达阳性肿瘤意指细胞总数的至少约0.1%至至少约10%表达PD-L1。在一些方面中,PD-L1阳性或PD-L1表达阳性肿瘤意指细胞总数的至少约1%在细胞表面上表达PD-L1。在其他方面中,PD-L1阳性或PD-L1表达阳性肿瘤意指细胞总数的至少约5%在细胞表面上表达PD-L1。在一个特定方面中,PD-L1阳性或PD-L1表达阳性肿瘤意指细胞总数的至少约1%或1-5%范围的在细胞表面上表达PD-L1。

[0294] II.F.肿瘤中的LAG-3表达

[0295] 在一些方面中,本文公开的方法和用途还包括测量获自受试者的肿瘤样品中的LAG-3表达。

[0296] 在一些方面中,通过免疫组织化学(IHC)测定肿瘤中的LAG-3表达。

[0297] 在一些方面中,肿瘤是LAG-3阳性的。

[0298] 在一些方面中,LAG-3阳性肿瘤或LAG-3表达阳性肿瘤意指细胞总数的至少约0.01%、至少约0.5%、至少约1%、至少约2%、至少约3%、至少约4%、至少约5%、至少约6%、至少约7%、至少约8%、至少约9%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或约100%表达LAG-3。在其它方面中,对于通过免疫组织化学(IHC)或流式细胞术测定的LAG-3表达,LAG-3阳性肿瘤或LAG-3表达阳性肿瘤意指至少肿瘤相关炎性细胞(例如,T细胞、CD8+T细胞、CD4+T细胞、FOXP3+细胞、NK细胞)总数的约0.01%、至少约0.5%、至少约1%、至少约2%、至少约3%、至少约4%、至少约5%、至少约6%、至少约7%、至少约8%、至少约9%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或约100%表达LAG-3。LAG-3阳性肿瘤或LAG-3表达阳性肿瘤在本文中也可以表达为表达LAG-3的肿瘤。在一些方面中,LAG-3阳性肿瘤或LAG-3表达阳性肿瘤意味着细胞总数的至少约0.1%至至少约20%表达LAG-3。在某些方面中,LAG-3阳性肿瘤或LAG-3表达阳性肿瘤意指肿瘤相关炎性细胞(例如,T细胞、CD8+T细胞、CD4+T细胞、FOXP3+细胞、NK细胞)总数的至少约0.1%至至少约20%表达LAG-3。在某些方面中,LAG-3阳性肿瘤或LAG-3表达阳性肿瘤意指细胞总数的至少约0.1%至至少约10%表达LAG-3。在某些方面中,LAG-3阳性肿瘤或LAG-3表达阳性肿瘤意指肿瘤浸润性炎性细胞(例如,T细胞、CD8+T细胞、CD4+T细胞、FOXP3+细胞、NK细胞)总数的至少约

0.1%至至少约10%表达LAG-3。在一些方面中,LAG-3阳性或LAG-3表达阳性肿瘤意指细胞总数的至少约1%在细胞表面上表达LAG-3。在一些方面中,LAG-3阳性或LAG-3表达阳性肿瘤意指肿瘤浸润性炎性细胞(例如,T细胞、CD8+T细胞、CD4+T细胞、FOXP3+细胞、NK细胞)总数的至少约1%在细胞表面上表达LAG-3。在其他方面中,LAG-3阳性或LAG-3表达阳性肿瘤意指细胞总数的至少约5%在细胞表面上表达LAG-3。在其他方面中,LAG-3阳性或LAG-3表达阳性肿瘤意指肿瘤浸润性炎性细胞(例如,T细胞、CD8+T细胞、CD4+T细胞、FOXP3+细胞、NK细胞)总数的至少约5%在细胞表面上表达LAG-3。在一个特定方面中,LAG-3阳性或LAG-3表达阳性肿瘤意指细胞总数的至少约1%或1-5%范围的在细胞表面上表达LAG-3。在一个特定方面中,LAG-3阳性或LAG-3表达阳性肿瘤意指肿瘤浸润性炎性细胞(例如,T细胞、CD8+T细胞、CD4+T细胞、FOXP3+细胞、NK细胞)总数的至少约1%或1-5%范围的在细胞表面上表达LAG-3。

[0299] II.G. 治疗方案

[0300] 在一些方面中,用于治疗人类受试者癌症的合适治疗方案包括给患者施用有效量的如本文所公开的LAG-3拮抗剂(例如,抗LAG-3抗体,如relatlimab)或施用有效量的如本文所公开的LAG-3拮抗剂(例如,抗LAG-3抗体,如relatlimab)和施用有效量的如本文所公开的检查点抑制剂(例如,抗PD-1抗体,如纳武单抗)。

[0301] 在一些方面中,LAG-3拮抗剂和/或检查点抑制剂以基于体重的剂量施用。

[0302] 在一些方面中,LAG-3拮抗剂和/或检查点抑制剂以平剂量施用。

[0303] 在一些方面中,LAG-3拮抗剂和/或检查点抑制剂配制用于静脉内施用。

[0304] 在一些方面中,LAG-3拮抗剂和检查点抑制剂分开配制。在一些方面中,检查点抑制剂包含多于一种检查点抑制剂时,单独配制每种检查点抑制剂。在一些方面中,检查点抑制剂在LAG-3拮抗剂之前施用。在一些方面中,LAG-3拮抗剂在检查点抑制剂之前施用。

[0305] 在一些方面中,LAG-3拮抗剂和检查点抑制剂一起配制(即,作为单一组合物)。

[0306] 在一些方面中,检查点抑制剂包含多于一种检查点抑制剂时,将两种或更多种检查点抑制剂一起配制。

[0307] 在一些方面中,LAG-3拮抗剂和检查点抑制剂同时施用。

[0308] 在一些方面中,抗LAG-3拮抗剂是抗LAG-3抗体(例如relatlimab),而检查点抑制剂是抗PD-1抗体(例如纳武单抗)。

[0309] 在一些方面中,抗LAG-3抗体是以从约0.0001至约100mg/kg或约0.01至约5mg/kg受试者体重的剂量给药。例如,剂量可以是约0.3mg/kg体重、约1mg/kg体重、约3mg/kg体重、约5mg/kg体重或约10mg/kg体重或在约1至约10mg/kg的范围内。在一些方面中,抗LAG-3抗体每周一次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、每月一次、每3个月一次或每3至6个月一次施用。在一些方面中,通过静脉内施用以约1mg/kg体重或约3mg/kg体重施用抗LAG-3抗体,并且使用以下给药方案之一给予所述抗体:(i)每四周一次,持续六剂,然后每三个月一次;(ii)每三周一次;(iii)3mg/kg体重一次然后按每三周1mg/kg体重。在一些方法中,调整剂量以达到约1-1000 μ g/ml的血浆抗体浓度,并且在一些方法中,达到约25-300 μ g/ml的血浆抗体浓度。

[0310] 在一些方面中,以约0.1、约0.5、约1、约2、约3、约4、约5、约10、约15、约20、约50、约75、约80、约200、约240、约300、约360、约400、约480、约500、约750或约1,500mg抗体的剂量

施用抗LAG-3抗体或抗LAG-3抗体与抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体的组合。

[0311] 在一些方面中,每一周、每两周、每三周、每四周、每五周、每六周、每七周、每八周、每九周、每十周、每十一周或每十二周施用抗LAG-3抗体的剂量。

[0312] 一些方面中,抗LAG-3抗体以约1、约3、约10、约20、约50、约80、约100、约120、约130、约150、约160、约180、约200、约240或约280mg的剂量施用,而抗PD-1抗体以约50、约80、约100、约130、约150、约180、约200、约240、约280、约320、约360、约400、约440或约480mg的剂量施用。在一些方面中,抗LAG-3抗体以约320、约360、约400、约440、约480、约520、约560、约600、约640、约680、约720、约760、约800、约840、约880、约920、约960或约1000mg的剂量施用。在一些方面中,抗LAG-3抗体以约1040、约1080、约1120、约1160、约1200、约1240、约1280、约1320、约1360、约1400、约1440、约1480、约1520、约1560、约1600、约1640、约1680、约1720、约1760、约1800、约1840、约1880、约1920、约1960或约2000mg的剂量施用。在一些方面中,抗LAG-3抗体以约480mg的剂量施用。在一些方面中,抗LAG-3抗体以约0.01、约0.03、约0.25、约0.1、约0.3、约1、约3、约5、约8或约10mg/kg体重的剂量施用,而抗PD-1抗体以约0.1、约0.3、约1、约3、约5、约8或约10mg/kg体重的剂量施用。

[0313] 在一些方面中,抗LAG-3抗体和抗PD-1抗体以约80mg抗LAG-3抗体和约240mg抗PD-1抗体施用。

[0314] 在一些方面中,抗LAG-3抗体和抗PD-1抗体以约160mg抗LAG-3抗体和约480mg抗PD-1抗体施用。

[0315] 在一些方面中,抗-PD-1抗体是纳武单抗,并且以约240mg的平剂量施用,约每2周一次。在一些方面中,纳武单抗以约240mg的平剂量施用,约每3周一次。在一些方面中,纳武单抗以约360mg的平剂量施用,约每3周一次。在一些方面中,纳武单抗以约480mg的平剂量施用,约每4周一次。

[0316] 在一些方面中,检查点抑制剂是派姆单抗,并且以约200mg的平剂量施用,约每2周一次。在一些方面中,派姆单抗以约200mg的平剂量施用,约每3周一次。在一些方面中,派姆单抗以约400mg的平剂量施用,约每4周一次。

[0317] 在一些方面中,检查点抑制剂是阿特殊单抗,并且以约800mg的平剂量施用,约每2周一次。在一些方面中,阿特殊单抗以约840mg的平剂量施用,约每2周一次。

[0318] 在一些方面中,检查点抑制剂是度伐利尤单抗,并且以约10mg/kg的剂量施用,约每2周一次。在一些方面中,度伐利尤单抗以约800mg/kg的平剂量给予,约每2周一次。在一些方面中,度伐利尤单抗以约1200mg/kg的平剂量给予,约每3周一次。

[0319] 在一些方面中,检查点抑制剂是阿维单抗,并且以约800mg的平剂量施用,约每2周一次。

[0320] 在一些方面中,检查点抑制剂是伊匹单抗,并且以至少约3mg/kg的剂量施用,约每3周一次。在一些方面中,伊匹单抗以至少约10mg/kg的剂量给予,约每3周一次。在一些方面中,伊匹单抗以至少约10mg/kg的剂量给予,约每12周一次。在一些方面中,伊匹单抗施用四个剂量。

[0321] II.H. 结局

[0322] 根据本文公开的方法和用途治疗的患者优选经历至少一种癌症征象的改善。在一个方面中,通过可测量的肿瘤病灶的数量和/或大小的减少来度量改善。在另一个方面中,

可以在胸部X射线或CT或MRI片上测量病灶。在另一个方面中,细胞学或组织学可用于评估对治疗的反应性。

[0323] 在一个方面中,所治疗的患者表现出完全响应(CR)、部分响应(PR)、稳定疾病(SD)、免疫相关完全响应(irCR)、免疫相关部分响应(irPR)或免疫相关稳定疾病(irSD)。在另一个方面中,所治疗的患者经历肿瘤缩小和/或生长速率降低,即肿瘤生长的抑制。在另一个方面中,减少或抑制不想要的细胞增殖。在另一个方面中,可以发生以下中的一种或多种:可以减少癌细胞的数量;可以减小肿瘤大小;可以抑制、延迟、减缓或停止癌细胞浸润到外周器官中;可以减缓或抑制肿瘤转移;可以抑制肿瘤生长;可以防止或延迟肿瘤的复发;可以在一定程度上缓解与癌症相关的一种或多种症状。

[0324] 在其它方面中,本文提供的方法和用途产生至少一种选自肿瘤的大小减小、随时时间出现的转移病灶数目减少、完全缓解、部分缓解或疾病稳定的治疗效果。

[0325] 在其它方面中,本文提供的方法和用途产生至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或约100%的客观响应率($ORR=CR+PR$)。在一些方面中,中值响应持续时间为 ≥ 3 个月、 ≥ 6 个月、 ≥ 12 个月或 ≥ 18 个月。在一个方面中,中值响应持续时间 ≥ 6 个月。在一些方面中,响应持续时间 ≥ 6 个月的患者频率为至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约99%或约100%。

[0326] 在其它方面中,本文提供的方法和用途产生的疾病控制率($DRR=CR+PR+SD$)为至少约20%、至少约30%、至少约40%或至少约50%。至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约99%或约100%。在一些方面中,中值响应持续时间为 ≥ 3 个月、 ≥ 6 个月、 ≥ 12 个月或 ≥ 18 个月。在一个方面中,中值响应持续时间 ≥ 6 个月。在一些方面中,响应持续时间 ≥ 6 个月的患者频率为至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约99%或约100%。

[0327] 在一些方面中,与无应答者(具有低LAG-3D评分、低LAG-3-P评分或两者的受试者)相比,受试者表现出改善的总存活期或无进展存活期。

[0328] 在一些方面中,施用治疗癌症。

[0329] 在一些方面中,施用减小了与癌症相关的肿瘤的大小。

[0330] 在一些方面中,与施用前的肿瘤大小相比,肿瘤的大小减小了至少约10%、约20%、约30%、约40%或约50%。

[0331] 在一些方面中,受试者在初次施用后表现出至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月、至少约7个月、至少约8个月、至少约9个月、至少约10个月、至少约11个月、至少约1年、至少约18个月、至少约2年、至少约3年、至少约4年,或至少约5年的无进展存活期。

[0332] 在一些方面中,受试者在施用后表现出稳定的疾病。

[0333] 在一些方面中,受试者在施用后表现出部分响应。

[0334] 在一些方面中,受试者在施用后表现出完全响应

[0335] III. 药盒

[0336] 药盒也在本公开的范围内,其包含(a)一定剂量的本文公开的LAG-3拮抗剂,包括

本文公开的任何剂量。

[0337] 药盒通常包括指示药盒内容物的预期用途的标签和使用说明书。术语标签包括在药盒上或与药盒一起提供或以其他方式伴随药盒的任何书写或记录材料。因此,本公开提供了用于治疗患有肿瘤的受试者的药盒,该药盒包含:(a)一定剂量的LAG-3拮抗剂,包括本文公开的任何剂量;和(b)在本文公开的方法和用途中LAG-3拮抗剂的使用说明书。

[0338] 在治疗人患者的某些方面中,药盒还包含PD-1途径抑制剂。在一些方面中,药盒包含一定剂量的PD-1途径抑制剂,包括本文公开的检查点抑制剂的任何剂量。在一些方面中,PD-1途径抑制剂是本文公开的抗人PD-1抗体,例如纳武单抗或派姆单抗,和/或本文公开的抗PD-L1抗体,例如阿特珠单抗、度伐利尤单抗或阿维鲁单抗。在一些方面中,药盒包含一定剂量的抗PD-1抗体和/或抗PD-L1抗体。

[0339] 在一些方面中,药盒进一步包含抗CTLA-4抗体和/或抗TIM-3抗体。

[0340] 以上引用的所有参考文献以及本文引用的所有参考文献通过引用整体并入本文。

[0341] 提供以下实施例是为了说明而不是限制。

实施例

[0342] 实施例1

[0343] 基于LAG-3受体的MHC II配体结合,在示例性肿瘤样品中用定量空间剖析(profiling)研究了MHC II和LAG-3相互作用,其利用一系列的免疫组织化学(IHC)染色的载玻片切片来界定标志物的地理分布,无论是单独的还是彼此相关的。

[0344] 假设与目标

[0345] 假设了:LAG-3受体与MHC II配体的接合定位在特定的接近的范围内将使得LAG-3检查点接合和激活以及T细胞耗竭(图1)。

[0346] 因而,这个研究的目的是使用数字空间分析表征LAG-3+肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)与MHC II+或MHC II-的个体肿瘤细胞的空间关联。

[0347] 方法

[0348] 获得商业购买的胃和膀胱肿瘤样品(每种肿瘤类型n=20)。

[0349] 将肿瘤样品连续切片并通过IHC针对以下进行染色(图2):(1)LAG-3:使用针对17b4的单克隆抗体,(2)广谱细胞角蛋白(Pan CK):使用针对AE1-AE3的单克隆抗体来识别肿瘤中的上皮细胞谱系,和(3)MHC II:使用针对CR3/43的单克隆抗体。

[0350] 使用染色的载玻片进行数字空间剖析(profiling)(图2-4)。

[0351] 简言之,用**APERIO**[®]AT2扫描仪使用20x物镜扫描载玻片。

[0352] 使用针对LAG-3、MHC II和Pan CK的相应算法,通过**HALO**[®]软件对LAG-3、MHC II和Pan CK的全切片图像进行数字比对和分析,以产生**HALO**[®]空间图,将其合并用于空间分析。

[0353] 合并MHC II和Pan CK(肿瘤)图以鉴定MHC II+和MHC-肿瘤细胞。然后合并LAG-3+图和Pan CK+/MHC II图,以确定定位于Pan CK+/MHC II+或Pan CK+/MHC-肿瘤细胞的 $\leq 30\mu\text{M}$ 或 $>30\mu\text{M}$ 的LAG-3+TIL的数量。

[0354] 使用**HALO**[®]/**MATLAB**[®]工作流程来记录和定量标志物之间的密度、计数和接近度数据。使用R软件计算每个样品的LAG-3接合分数,其代表在MHC II+vs MHC II-肿瘤细胞

的 $\leq 30\mu\text{M}$ 内的LAG-3+TIL的密度(D) (即LAG-3-D)和在MHC II+vs MHC II-肿瘤细胞 $\leq 30\mu\text{M}$ 内的LAG-3+TIL的比例(P) (即LAG-3-P)。LAG-3-D(细胞/ mm^2) 计算为MHC II+或MHC II-肿瘤细胞 $\leq 30\mu\text{M}$ 内的LAG-3+TIL的数量除以Pan CK+肿瘤面积。LAG-3-P(%) 计算为MHC II+或MHC II-肿瘤细胞 $\leq 30\mu\text{M}$ 内的LAG-3+TIL的数量除以LAG-3图像上LAG-3+细胞的总数,图像包括了总目标肿瘤区域(ROI)。进行Mann-Whitney检验以评估 $\leq 30\mu\text{M}$ 内的LAG-3+TIL的比例在MHC II+和MHC-II肿瘤细胞之间的统计学差异。

[0355] 结果

[0356] 在这个分析研究的样品中,MHC II的表达有动态范围(图5)。在55%的膀胱和70%的胃样品中,至少1%的肿瘤细胞表达MHC II。

[0357] 在膀胱和胃癌中,MHC II+肿瘤区域中LAG-3接合的密度更高(中值[四分位数间距]6.53[1.76,24.9]细胞/ mm^2),相比于MHC II-肿瘤细胞(0.616[0.213,2.38]细胞/ mm^2 [P<0.001]) (图6)。

[0358] 在膀胱癌和胃癌中,MHC II+肿瘤细胞中在 $\leq$ 肿瘤细胞30 μM 内的LAG-3+TIL的比例(接合的中值[四分位数间距]46.7[30.1,70.4]%)更高,相比于MHC II-肿瘤细胞30 μM 内的LAG-3+TIL(17.5[6.09,30.1]%接合[P<0.001]) (图7)。

[0359] 结论

[0360] 这些数据表明表达LAG-3的TIL优先定位于与MHC II+肿瘤细胞接近,以其接近度可以允许LAG-3检查点的接合和激活,这有助于T细胞耗竭。

[0361] 肿瘤微环境中肿瘤细胞和TIL的定量空间分析是可行的,并且捕获了具有异质MHC II表达的肿瘤中的细胞-细胞关系。

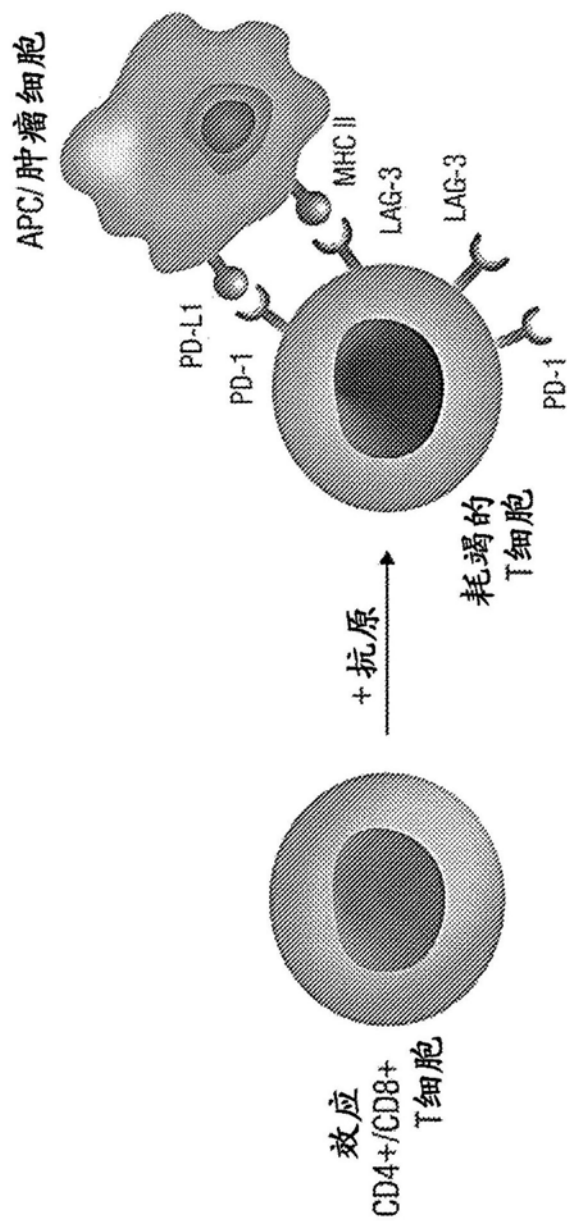


图1

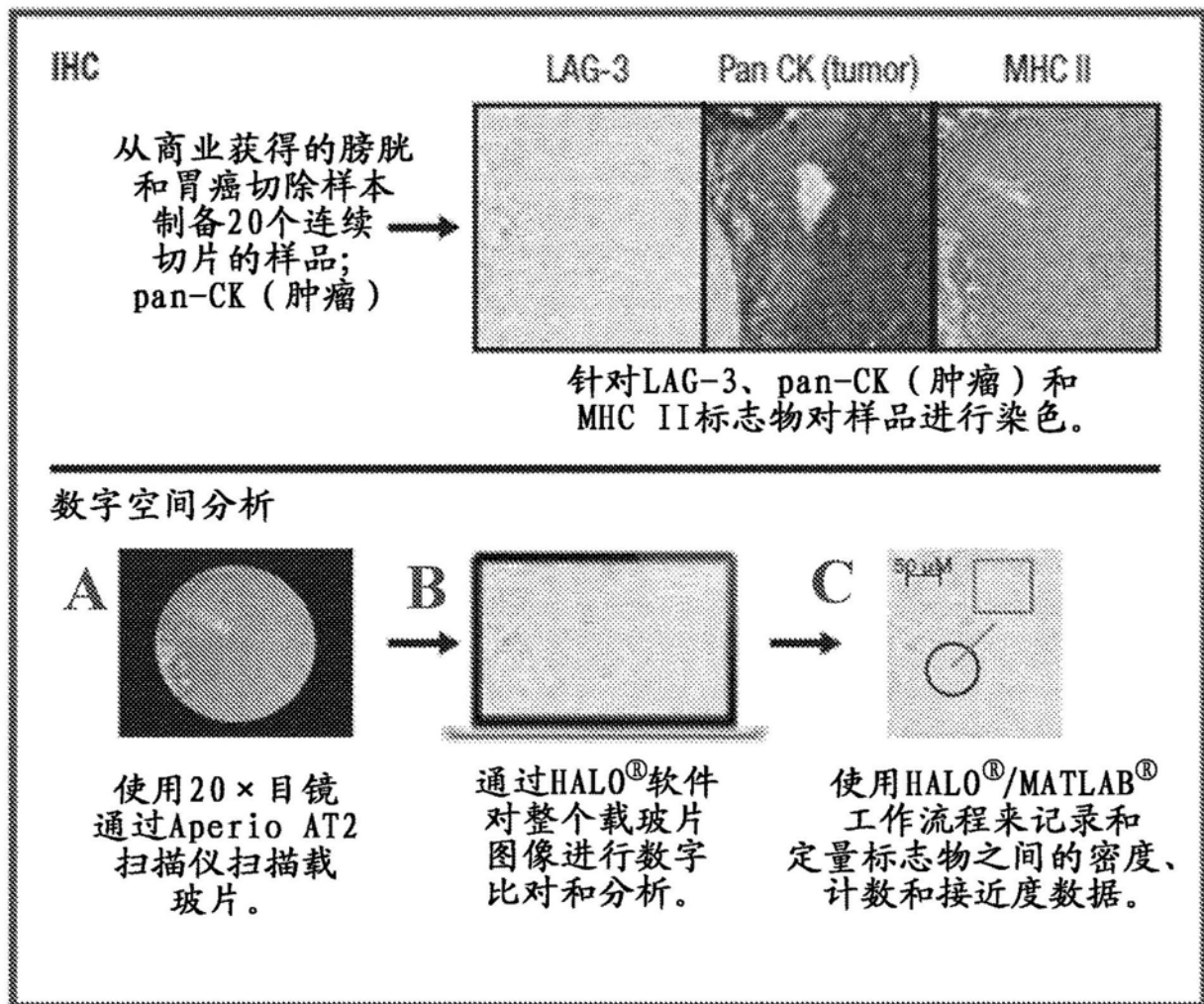


图2

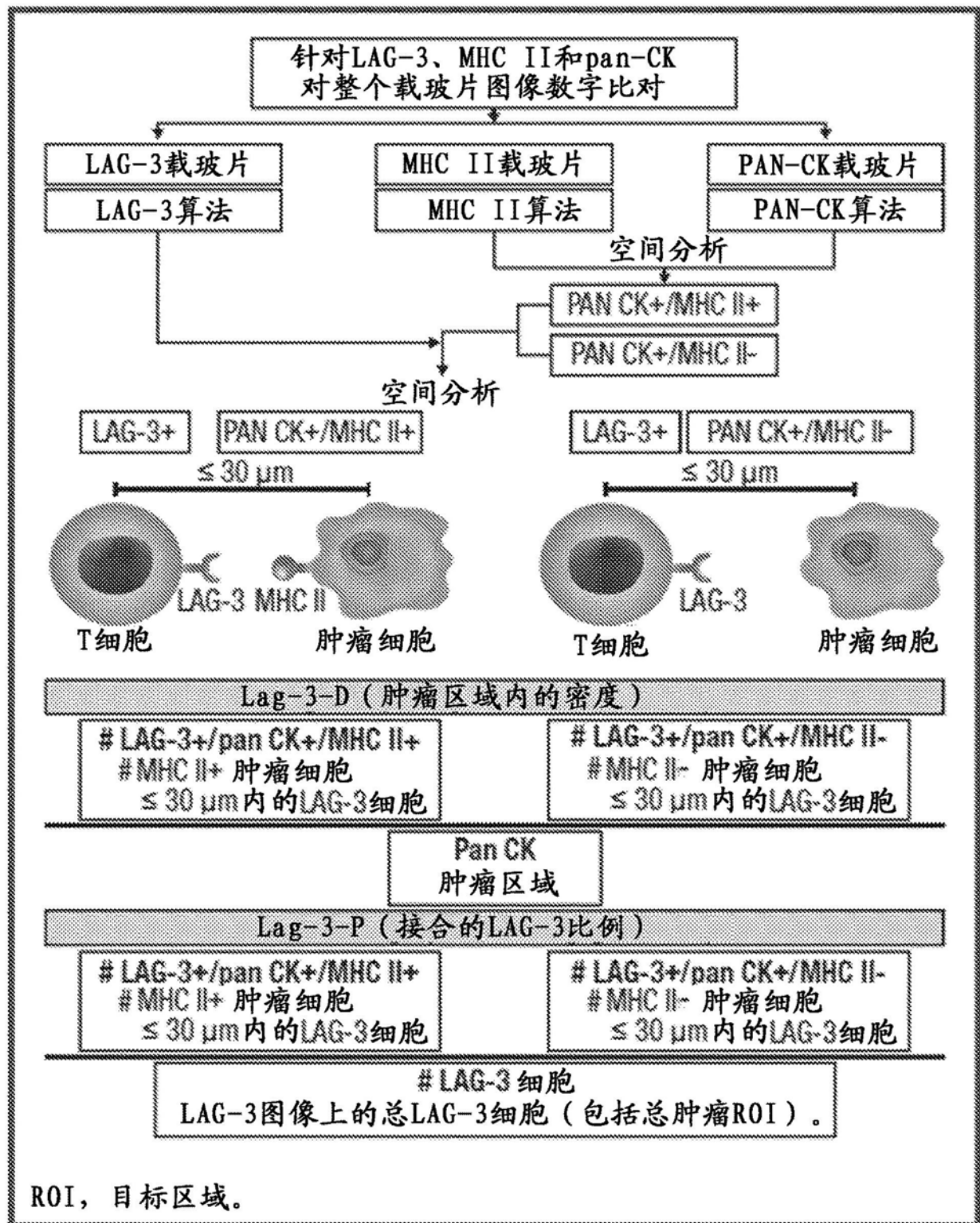


图3

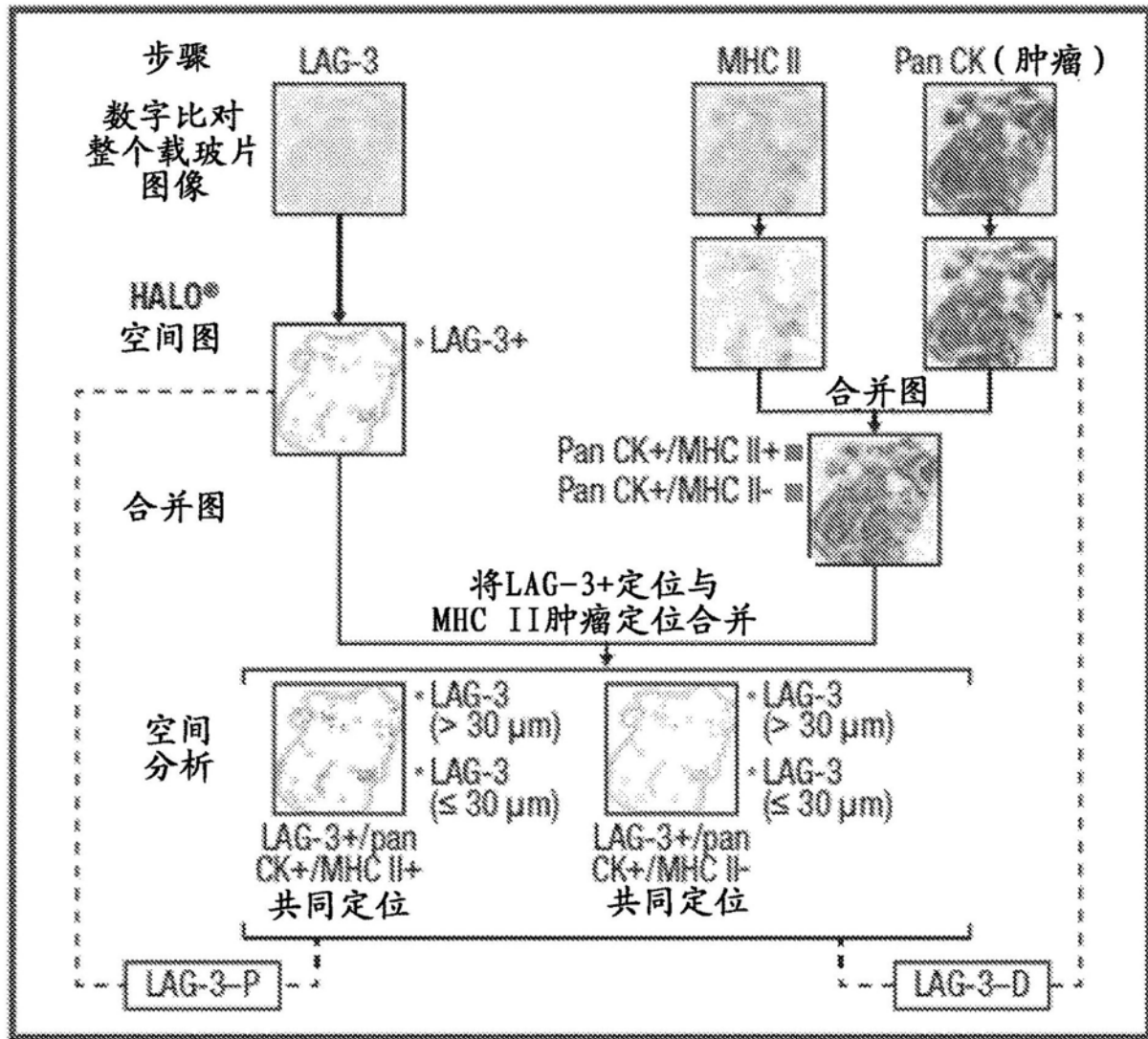


图4

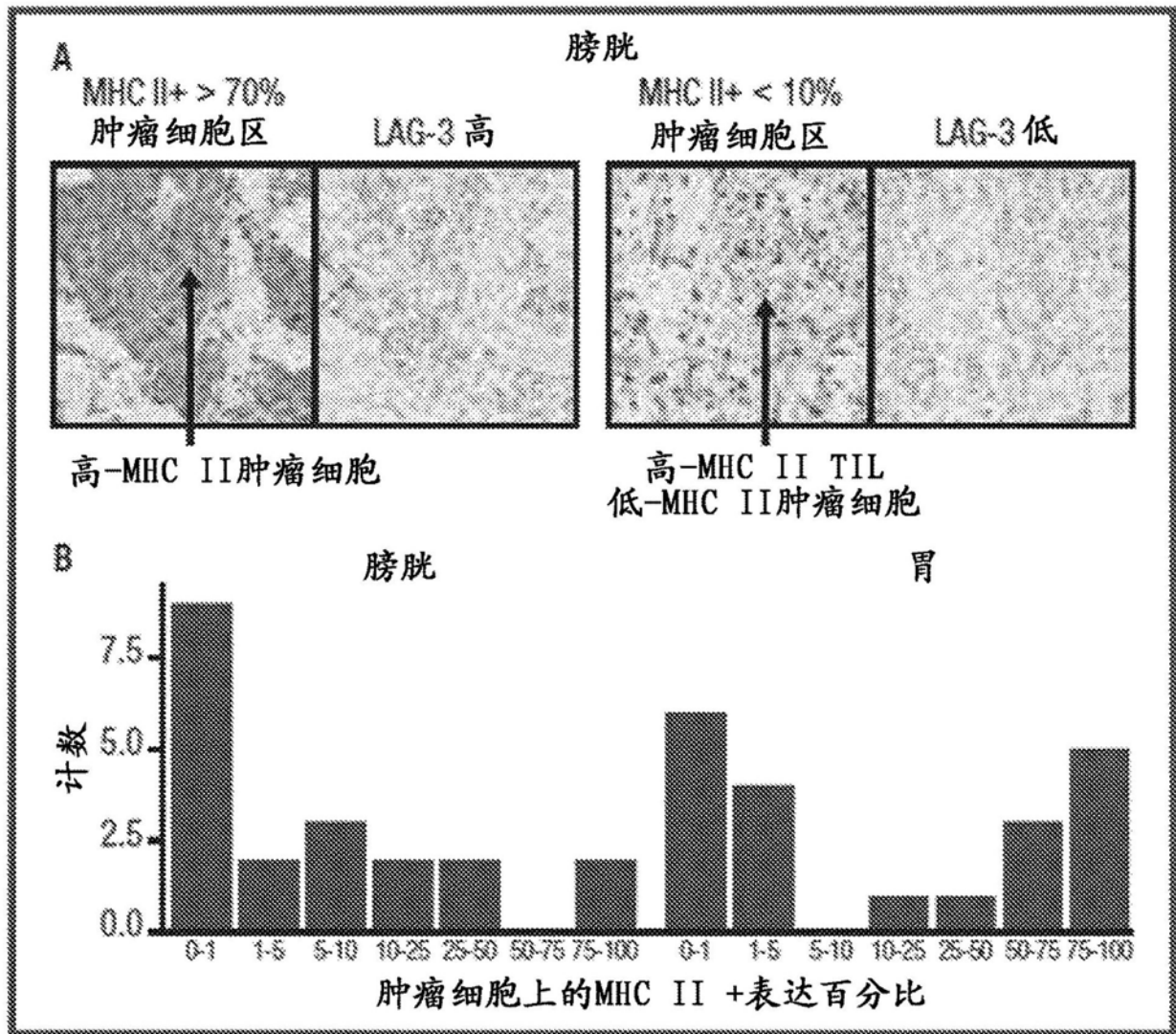


图5

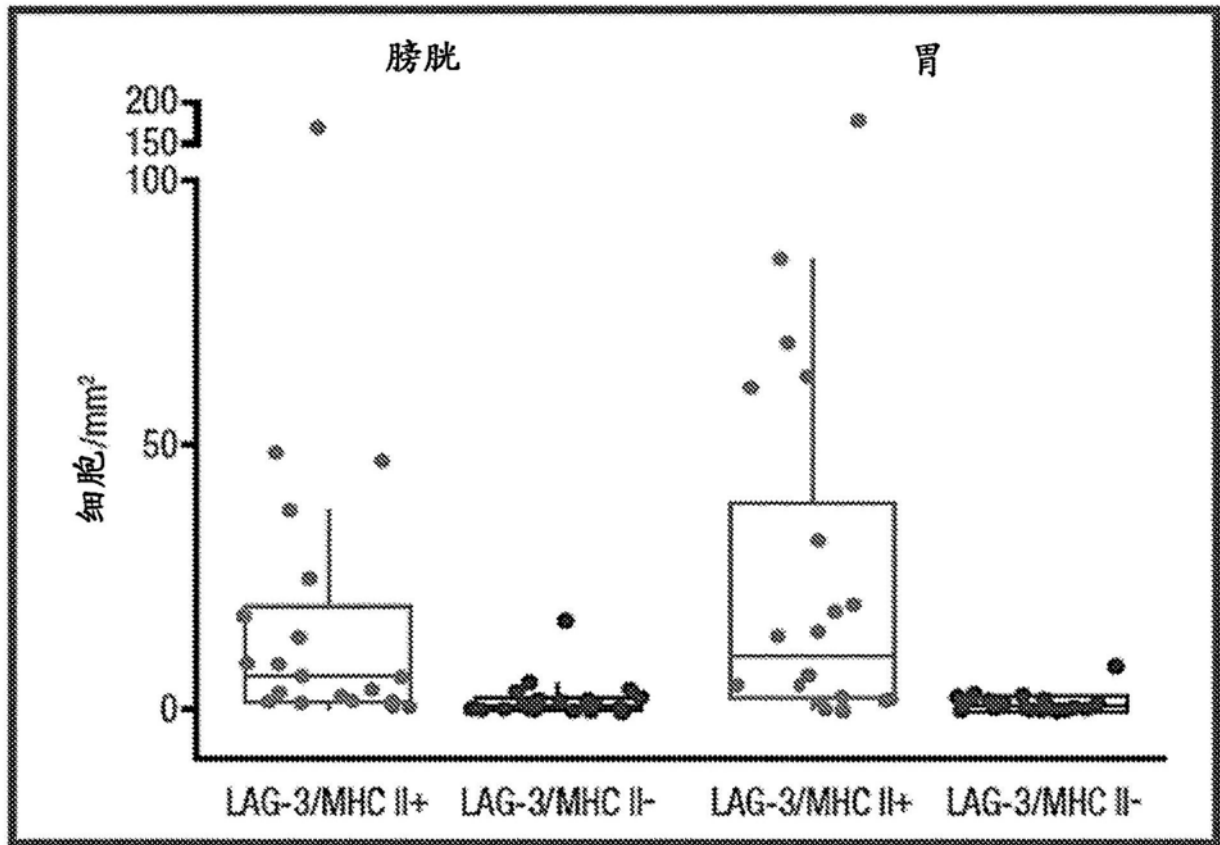


图6

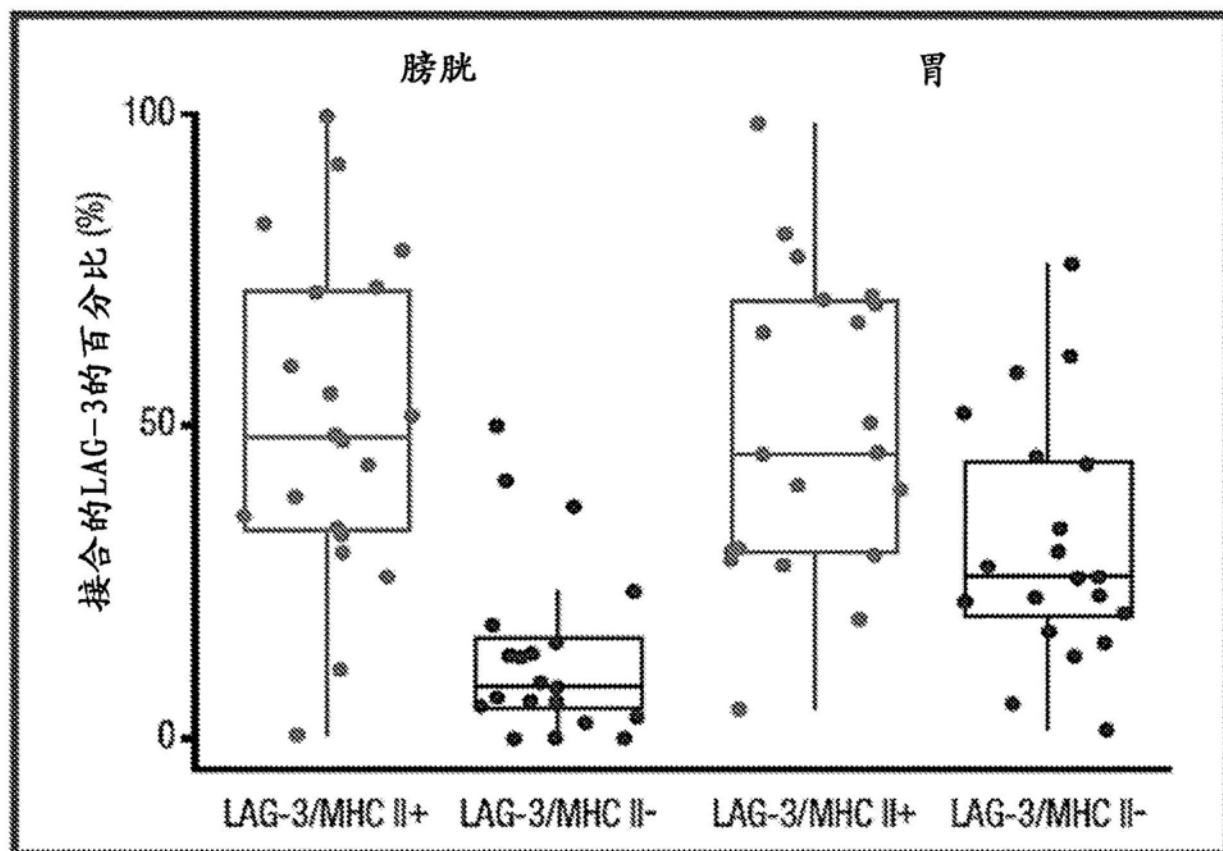


图7