



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110612309 A

(43)申请公布日 2019.12.24

(21)申请号 201880029818.2

孙正勋 坎德萨米·哈里哈兰

(22)申请日 2018.03.26

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

(30)优先权数据

代理人 武晶晶

62/477,257 2017.03.27 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

(51)Int.Cl.

2019.11.05

C07K 16/28(2006.01)

A61K 39/00(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/024316 2018.03.26

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/183182 EN 2018.10.04

(71)申请人 细胞基因公司

地址 美国新泽西州

(72)发明人 杰弗里·C·约翰逊

劳伦斯·迪尔思

哈拉兰博斯·哈德杰瓦斯林

权利要求书3页 说明书46页

(54)发明名称

用于降低免疫原性的方法和组合物

(57)摘要

本文提供涉及抗CD20抗体例如利妥昔单抗(rituximab)与蛋白质治疗剂例如抗体(例如,特异性结合人CD47的抗体)的组合的方法和用途。

1. 一种降低对象中的免疫原性的方法,该方法包括向对象施用利妥昔单抗与蛋白质治疗剂的组合,其中该免疫原性与单独施用该蛋白质治疗剂时该对象中的免疫原性相比降低。

2. 如权利要求1所述的方法,其中该蛋白质治疗剂是抗体治疗剂。

3. 如权利要求1所述的方法,其中该蛋白质治疗剂是细胞因子。

4. 如权利要求1所述的方法,其中该蛋白质治疗剂是白介素。

5. 如权利要求1所述的方法,其中该蛋白质治疗剂不是酶。

6. 如权利要求2所述的方法,其中该抗体治疗剂是结合CD47的抗体或其抗原结合片段。

7. 如权利要求6所述的方法,其中该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:50的可变重链(VH)互补决定区(CDR)1、含有SEQ ID NO:72的VH CDR2、含有SEQ ID NO:52的VH CDR3序列、含有SEQ ID NO:53的可变轻链(VL)CDR1、含有SEQ ID NO:71的VL CDR2和含有SEQ ID NO:55的VL CDR3。

8. 如权利要求6所述的方法,其中该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含VH,该VH含有选自自由SEQ ID NO:5-30组成的组的序列。

9. 如权利要求6所述的方法,其中该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含VL,该VL含有选自自由SEQ ID NO:31-47组成的组的序列。

10. 如权利要求6所述的方法,其中该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含VH和VL,该VH含有选自自由SEQ ID NO:5-30组成的组的序列,并且该VL含有选自自由SEQ ID NO:31-47组成的组的序列。

11. 如权利要求6所述的方法,其中该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:50的VH CDR1、含有SEQ ID NO:51的VH CDR2、含有SEQ ID NO:52的VH CDR3、含有SEQ ID NO:53的VL CDR1、含有SEQ ID NO:54的VL CDR2和含有SEQ ID NO:55的VL CDR3。

12. 如权利要求6所述的方法,其中该结合CD47的抗体或其抗原结合片段是选自自由IgG1同种型、IgG2同种型、IgG3同种型和IgG4同种型组成的组的IgG同种型。

13. 如权利要求6所述的方法,其中该结合CD47的抗体或其抗原结合片段是选自IgG4P和IgG4PE的IgG同种型。

14. 如权利要求6所述的方法,其中该结合CD47的抗体或其抗原结合片段是药物组合物的组分,该组合物包含结合CD47的抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的载剂。

15. 如权利要求6-14中任一项所述的方法,其中该抗体是嵌合的、人源化的或完全人的。

16. 如权利要求1-15中任一项所述的方法,其中该对象是人。

17. 如权利要求1-15中任一项所述的方法,该方法进一步包括施用化疗。

18. 如权利要求17所述的方法,其中所述化疗是放疗。

19. 如权利要求7-17中任一项所述的方法,其中将该结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.3、1、2、4、8、15或20mg/kg的剂量施用给该对象。

20. 如权利要求1-19中任一项所述的方法,其中将该利妥昔单抗以300、325、350、375、400、425、450或500mg/m²的剂量施用给该对象。

21. 如权利要求7-20中任一项所述的方法,其中该利妥昔单抗在该结合CD47的抗体或其抗原结合片段之前施用。

22. 如权利要求1-21中任一项所述的方法,其中该方法不包括向该对象施用蛋白酶体抑制剂。

23. 如权利要求22所述的方法,其中该方法不包括向该对象施用硼替佐米。

24. 如权利要求1-23中任一项所述的方法,其中该方法不包括向该对象施用甲氨蝶呤。

25. 一种治疗癌症的方法,该方法包括向有此需要的对象施用治疗有效量的结合CD47的抗体或其抗原结合片段,其中该方法另外包括向该对象施用利妥昔单抗。

26. 如权利要求25所述的方法,其中该利妥昔单抗在该结合CD47的抗体或其抗原结合片段之前施用。

27. 如权利要求25或26所述的方法,该方法进一步包括施用放射或化疗。

28. 如权利要求25-27中任一项所述的方法,该方法进一步包括施用另一种抗癌剂。

29. 如权利要求25-28中任一项所述的方法,其中该癌症是血液学癌症。

30. 如权利要求25-28中任一项所述的方法,其中该癌症是实体癌症。

31. 如权利要求25-28中任一项所述的方法,其中该癌症是多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、急性髓性白血病(AML)、乳腺癌、膀胱癌、非小细胞肺癌、肝细胞癌(HCC)、肉瘤或头颈癌。

32. 如权利要求31所述的方法,其中该癌症是非霍奇金淋巴瘤。

33. 如权利要求32所述的方法,其中该非霍奇金淋巴瘤是CD20阳性的。

34. 如权利要求31或32所述的方法,其中该非霍奇金淋巴瘤是复发性或难治性的。

35. 如权利要求25-34中任一项所述的方法,其中该对象先前已用利妥昔单抗治疗。

36. 如权利要求25-35中任一项所述的方法,其中将该结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.3、1、2、4、8、15或20mg/kg的剂量施用给该对象。

37. 如权利要求25-36中任一项所述的方法,其中将该利妥昔单抗以300、325、350、375、400、425、450或500mg/m²的剂量施用给该对象。

38. 如权利要求25-37中任一项所述的方法,其中该方法不包括向该对象施用蛋白酶体抑制剂。

39. 如权利要求38所述的方法,其中该方法不包括向该对象施用硼替佐米。

40. 如权利要求25-39中任一项所述的方法,其中该方法不包括向该对象施用甲氨蝶呤。

41. 如权利要求25-40中任一项所述的方法,其中该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:50的VH CDR1、含有SEQ ID NO:72的VH CDR2、含有SEQ ID NO:52的VH CDR3序列、含有SEQ ID NO:53的可变轻链(VL) CDR1、含有SEQ ID NO:71的VL CDR2和含有SEQ ID NO:55的VL CDR3。

42. 如权利要求25-40中任一项所述的方法,其中该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含VH,该VH含有选自由SEQ ID NO:5-30组成的组的序列。

43. 如权利要求25-40中任一项所述的方法,其中该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含VL,该VL含有选自由SEQ ID NO:31-47组成的组的序列。

44. 如权利要求25-40中任一项所述的方法,其中该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含VH和VL,该VH含有选自由SEQ ID NO:5-30组成的组的序列,并且该VL含有选自由SEQ ID NO:31-47组成的组的序列。

45. 如权利要求25-40中任一项所述的方法, 其中该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:50的VH CDR1、含有SEQ ID NO:51的VH CDR2、含有SEQ ID NO:52的VH CDR3、含有SEQ ID NO:53的VL CDR1、含有SEQ ID NO:54的VL CDR2和含有SEQ ID NO:55的VL CDR3。

46. 如权利要求25-45中任一项所述的方法, 其中该结合CD47的抗体或其抗原结合片段是选自由IgG1同种型、IgG2同种型、IgG3同种型和IgG4同种型组成的组的IgG同种型。

47. 如权利要求25-45中任一项所述的方法, 其中该结合CD47的抗体或其抗原结合片段是选自IgG4P和IgG4PE的IgG同种型。

48. 如权利要求25-47中任一项所述的方法, 其中该结合CD47的抗体或其抗原结合片段是药物组合物的组分, 该组合物包含结合CD47的抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的载剂。

49. 如权利要求25-48中任一项所述的方法, 其中该抗体是嵌合的、人源化的或完全人的。

50. 如权利要求25-49中任一项所述的方法, 其中该对象是人。

用于降低免疫原性的方法和组合物

1. 技术领域

[0001] 本文提供涉及抗CD20抗体例如利妥昔单抗(rituximab)与蛋白质治疗剂例如抗体(例如,特异性结合人CD47的抗体)的组合的方法和用途。

2. 背景技术

[0002] 虽然蛋白质治疗剂已经用于治疗许多疾病,但是当施用给对象时,它们可能促进涉及产生抗药物抗体的免疫应答。这可能导致治疗剂功效降低和/或毒性。因此,对减少这种免疫应答的方法存在需要。

[0003] CD47,也称为整合素相关蛋白(IAP)、卵巢癌抗原OA3、Rh相关抗原和MER6,是属于免疫球蛋白超家族的多跨膜受体。在巨噬细胞上表达的SIRP α (信号调节蛋白 α)与CD47相互作用,并且这种相互作用负面地控制先天免疫细胞的效应功能,诸如宿主细胞吞噬作用。CD47表达和/或活性与许多疾病和障碍有关。因此,对靶向CD47的疗法存在需要。

3. 发明内容

[0004] 本文提供了用于降低对象中的免疫原性的方法和组合物,包括向对象施用抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)与蛋白质治疗剂的组合,其中免疫原性与单独施用蛋白质治疗剂时对象中的免疫原性相比降低。在某些方面,蛋白质治疗剂是抗体治疗剂。在某些方面,蛋白质治疗剂是融合蛋白,例如含Fc的融合蛋白,例如可溶性受体融合蛋白。在某些方面,蛋白质治疗剂是细胞因子。在某些方面,蛋白质治疗剂是白介素。在某些方面,蛋白质治疗剂不是酶。在某些方面,对象是人。

[0005] 在本文提供的方法和组合物的某些方面,蛋白质治疗剂是抗体,其中抗体治疗剂是结合CD47的抗体或其抗原结合片段。

[0006] 在具体方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:50的VH CDR1、含有SEQ ID NO:72的VH CDR2、含有SEQ ID NO:52的VH CDR3、含有SEQ ID NO:53的VL CDR1、含有SEQ ID NO:71的VL CDR2和含有SEQ ID NO:55的VL CDR3。

[0007] 在具体方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:50的VH CDR1、含有SEQ ID NO:51的VH CDR2、含有SEQ ID NO:52的VH CDR3、含有SEQ ID NO:53的VL CDR1、含有SEQ ID NO:54的VL CDR2和含有SEQ ID NO:55的VL CDR3。

[0008] 在某些方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含VH,该VH含有选自由SEQ ID NO:5-30组成的组的序列。在某些方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含VL,该VL含有选自由SEQ ID NO:31-47组成的组的序列。在某些方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含VH和VL,该VH含有选自由SEQ ID NO:5-30组成的组的序列,并且该VL含有选自由SEQ ID NO:31-47组成的组的序列。

[0009] 在某些方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段是选自由IgG1同种型、IgG2同种型、IgG3同种型和IgG4同种型组成的组的IgG同种型。在某些方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段是选自IgG4P和IgG4PE的IgG同种型。

[0010] 在某些方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段是药物组合物的组分,该组合物包含结合CD47的抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的载剂。

[0011] 在某些方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段是嵌合的、人源化的或完全人抗体。

[0012] 在某些方面,本文提供的方法另外包括施用第二治疗剂,例如小分子治疗剂,诸如化疗治疗剂。在具体方面,所述化疗是放疗。

[0013] 在某些方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.3、1、2、4、8、15或20mg/kg的剂量施用给对象。在某些方面,该抗CD20抗体例如利妥昔单抗以300、325、350、375、400、425、450或500mg/m²的剂量施用给对象。在某些方面,该抗CD20抗体是利妥昔单抗。在某些方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.3、1、2、4、8、15或20mg/kg的剂量施用给对象,并且该抗CD20抗体例如利妥昔单抗以300、325、350、375、400、425、450或500mg/m²的剂量施用给对象。在某些方面,该抗CD20抗体例如利妥昔单抗在蛋白质治疗剂之前施用。在某些方面,该抗CD20抗体例如利妥昔单抗在蛋白质治疗剂之前1、2、3、4、5或6周施用。在某些方面,该抗CD20抗体例如利妥昔单抗在蛋白质治疗剂之前1、2、3、4、5或6天施用。在某些方面,利妥昔单抗在结合CD47的抗体或其抗原结合片段之前施用。在某些方面,该抗CD20抗体例如利妥昔单抗在结合CD47的抗体或其抗原结合片段之前1、2、3、4、5或6周施用。在某些方面,该抗CD20抗体例如利妥昔单抗在结合CD47的抗体或其抗原结合片段之前1、2、3、4、5或6天施用。

[0014] 在某些方面,本文提供的方法不包括向对象施用蛋白酶体抑制剂。在某些方面,本文提供的方法不包括向对象施用硼替佐米。在某些方面,本文提供的方法不包括向对象施用甲氨蝶呤。

[0015] 本文提供了用于治疗癌症的方法,该方法包括向有此需要的对象施用治疗有效量的结合CD47的抗体或其抗原结合片段,其中该方法另外包括向对象施用抗CD20抗体,例如利妥昔单抗。在某些方面,该抗CD20抗体是利妥昔单抗。在某些方面,对象是人。在某些方面,本文提供的方法进一步包括施用放射或化疗。在某些方面,本文提供的方法进一步包括施用另一种抗癌剂。在某些方面,癌症是血液学癌症。在某些方面,癌症是实体癌症。在某些方面,癌症是多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、急性髓性白血病(AML)、乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌)、膀胱癌、非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer/carcinoma)、肝细胞癌(HCC)、肉瘤或头颈癌。在某些方面,癌症是多发性骨髓瘤。在某些方面,癌症是非霍奇金淋巴瘤。在具体方面,非霍奇金淋巴瘤是CD20阳性的。在具体方面,非霍奇金淋巴瘤是复发性或难治性的。在具体方面,对象先前已接受包括抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)的治疗方案。

[0016] 本文提供了用于治疗癌症的方法,该方法包括向有此需要的对象施用治疗有效量的结合CD47的抗体或其抗原结合片段。在某些方面,对象是人。在某些方面,本文提供的方法进一步包括施用放射或化疗。在某些方面,本文提供的方法进一步包括施用另一种抗癌剂。在某些方面,癌症是血液学癌症。在某些方面,癌症是实体癌症。在某些方面,癌症是多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、急性髓性白血病(AML)、乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌)、膀胱癌、非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer/carcinoma)、肝细胞癌(HCC)、肉瘤或头颈癌。在某些方面,癌症是多发性骨髓瘤。在某些方面,癌症是非霍奇金淋巴瘤。在具体方

面,非霍奇金淋巴瘤是CD20阳性的。在具体方面,非霍奇金淋巴瘤是复发性或难治性的。在具体方面,对象先前已接受包括抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)的治疗方案。

[0017] 在某些方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.3、1、2、4、8、15或20mg/kg的剂量施用给对象。在某些方面,该抗CD20抗体例如利妥昔单抗以300、325、350、375、400、425、450或500mg/m²的剂量施用给对象。在某些方面,该抗CD20抗体例如利妥昔单抗在结合CD47的抗体或其抗原结合片段之前施用。

[0018] 在某些方面,该方法不包括向对象施用蛋白酶体抑制剂。在某些方面,该方法不包括向对象施用硼替佐米。在某些方面,该方法不包括向对象施用甲氨蝶呤。

[0019] 在本文提供的治疗癌症的方法的某些方面,该蛋白质治疗剂是抗体,其中该抗体治疗剂是结合CD47的抗体或其抗原结合片段。

[0020] 在具体方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:50的VH CDR1、含有SEQ ID NO:72的VH CDR2、含有SEQ ID NO:52的VH CDR3、含有SEQ ID NO:53的VL CDR1、含有SEQ ID NO:71的VL CDR2和含有SEQ ID NO:55的VL CDR3。

[0021] 在具体方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:50的VH CDR1、含有SEQ ID NO:51的VH CDR2、含有SEQ ID NO:52的VH CDR3、含有SEQ ID NO:53的VL CDR1、含有SEQ ID NO:54的VL CDR2和含有SEQ ID NO:55的VL CDR3。

[0022] 在某些方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含VH,该VH含有选自自由SEQ ID NO:5-30组成的组的序列。在某些方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含VL,该VL含有选自自由SEQ ID NO:31-47组成的组的序列。在某些方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段包含VH和VL,该VH含有选自自由SEQ ID NO:5-30组成的组的序列,并且该VL含有选自自由SEQ ID NO:31-47组成的组的序列。

[0023] 在某些方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段是选自自由IgG1同种型、IgG2同种型、IgG3同种型和IgG4同种型组成的组的IgG同种型。在某些方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段是选自IgG4P和IgG4PE的IgG同种型。在某些方面,该结合CD47的抗体或其抗原结合片段是嵌合的、人源化的或完全人的。

4. 具体实施方式

[0024] 4.1方法

[0025] 4.1.1降低免疫原性的方法

[0026] 本文提供了用于降低对象中的免疫原性的方法,包括向对象施用抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)与蛋白质治疗剂的组合,其中免疫原性与单独施用蛋白质治疗剂时对象中的免疫原性相比降低。在某些实施例中,蛋白质治疗剂是抗体治疗剂。在某些实施例中,蛋白质治疗剂是细胞因子。在某些实施例中,细胞因子是骨形态发生蛋白(BMP)、促红细胞生成素(EPO)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、干扰素 α (IFN- α)、干扰素 β (IFN- β)、白介素2(IL-2)、白介素11(IL-11)或干扰素 γ (IFN- γ)。在某些实施例中,蛋白质治疗剂是白介素。在某些实施例中,蛋白质治疗剂不是酶。

[0027] 在本文提供的方法的某些实施例中,蛋白质治疗剂是抗体治疗剂,其中抗体治疗剂是结合CD47的抗体或其抗原结合片段。

[0028] 在某些实施例中,结合CD47的抗体或其抗原结合片段是药物组合物的组分,该药

物组合物包含结合CD47的抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的载剂。

[0029] 在某些实施例中,本文提供的方法包括施用化疗。在具体实施例中,所述化疗是放疗。

[0030] 在某些实施例中,抗CD20抗体例如利妥昔单抗在蛋白质治疗剂之前施用和/或与之同时施用。在某些实施例中,抗CD20抗体例如利妥昔单抗在蛋白质治疗剂之前施用。在某些实施例中,抗CD20抗体例如利妥昔单抗与蛋白质治疗剂同时施用。

[0031] 在某些实施例中,抗CD20抗体例如利妥昔单抗在结合CD47的抗体或其抗原结合片段之前施用和/或与之同时施用。在某些实施例中,抗CD20抗体例如利妥昔单抗在结合CD47的抗体或其抗原结合片段之前施用。在某些实施例中,抗CD20抗体例如利妥昔单抗与结合CD47的抗体或其抗原结合片段同时施用。

[0032] 在某些实施例中,本文提供的方法不包括向对象施用蛋白酶体抑制剂。在某些实施例中,本文提供的方法不包括向对象施用硼替佐米。在某些实施例中,本文提供的方法不包括向对象施用甲氨蝶呤。

[0033] 免疫原性可以通过本领域技术人员已知的任何方法测量。在某些实施例中,通过测定血清中存在的抗药物抗体的数量和/或浓度来测量免疫原性。在某些实施例中,通过测定血清中存在的抗药物抗体的滴度来测量免疫原性。在某些实施例中,通过测定每体积血清所中和的蛋白质治疗剂的量来测量免疫原性。在某些实施例中,通过过敏性反应、细胞因子释放综合征、输注反应、迟发型超敏反应和/或与内源性蛋白的交叉反应的发生来指示免疫原性的存在。在某些实施例中,通过筛选测定法来测量免疫原性。在具体实施例中,筛选测定法是直接结合酶联免疫吸附测定法(ELISA)、桥式ELISA、放射免疫沉淀测定法(RIPA)、表面等离子体共振(SPR)测定法、Bethesda测定法或桥式电化学发光测定法。在某些实施例中,通过中和测定法来测量免疫原性。在具体实施例中,中和测定法是基于细胞的生物测定法或不基于细胞的竞争性配体结合测定法。在某些实施例中,抗药物抗体结合蛋白质治疗剂。在某些实施例中,抗药物抗体中和蛋白质治疗剂。在某些实施例中,抗药物抗体结合并中和蛋白质治疗剂。

[0034] 在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后一周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后两周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后三周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后四周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后五周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后六周测量免疫原性。

[0035] 在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后每周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后一周和之后每周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后两周和之后每周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后三周和之后每周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后四周和之后每周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后五周和之后每周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后六周和之后每周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后每隔一周测量免疫原性。

[0036] 在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后一周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后两周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后三周测量B

细胞计数。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后四周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后五周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后六周测量B细胞计数。

[0037] 在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后一周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后两周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后三周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后四周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后五周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后六周测量B细胞计数。

[0038] 在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后每周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后一周和之后每周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后两周和之后每周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后三周和之后每周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后四周和之后每周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后五周和之后每周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后六周和之后每周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后每隔一周测量B细胞计数。

[0039] 在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后一周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后两周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后三周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后四周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后五周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂蛋白质治疗剂后六周测量免疫原性。

[0040] 在某些方面,在第一剂抗CD20抗体例如利妥昔单抗后每周测量免疫原性。在某些方面,该抗CD20抗体是利妥昔单抗。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后一周和之后每周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后两周和之后每周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后三周和之后每周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后四周和之后每周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后五周和之后每周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后六周和之后每周测量免疫原性。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后每隔一周测量免疫原性。

[0041] 在某些方面,在第一剂抗CD20抗体例如利妥昔单抗后一周测量B细胞计数。在某些方面,该抗CD20抗体是利妥昔单抗。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后两周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后三周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后四周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后五周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后六周测量B细胞计数。

[0042] 在某些方面,在第一剂抗CD20抗体例如利妥昔单抗后一周测量B细胞计数。在某些方面,该抗CD20抗体是利妥昔单抗。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后两周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后三周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后四周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后五周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后六周测量B细胞计数。

[0043] 在某些方面,在第一剂抗CD20抗体例如利妥昔单抗后每周测量B细胞计数。在某些方面,该抗CD20抗体是利妥昔单抗。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后一周和之后每周测

量B细胞计数。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后两周和之后每周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后三周和之后每周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后四周和之后每周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后五周和之后每周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后六周和之后每周测量B细胞计数。在某些方面,在第一剂利妥昔单抗后每隔一周测量B细胞计数。

[0044] 4.1.2治疗癌症的方法

[0045] 本文提供了用于治疗癌症的方法,该方法包括向有此需要的对象施用治疗有效量的结合CD47的抗体或其抗原结合片段,其中该方法另外包括向对象施用抗CD20抗体,例如利妥昔单抗。在某些实施例中,抗CD20抗体是利妥昔单抗。本文还提供了用于治疗癌症的方法,该方法包括向有此需要的对象施用治疗有效量的结合CD47的抗体或其抗原结合片段。

[0046] 在某些实施例中,本文提供的用于治疗癌症的方法进一步包括施用放射或化疗。在某些实施例中,本文提供的方法进一步包括施用另一种抗癌剂。在某些实施例中,癌症是血液学癌症。在某些实施例中,癌症是实体癌症。在某些实施例中,癌症是多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、急性髓性白血病(AML)、乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌)、膀胱癌、非小细胞肺癌、肝细胞癌(HCC)、肉瘤或头颈癌。在具体实施例中,癌症是非霍奇金淋巴瘤。在具体实施例中,非霍奇金淋巴瘤是CD20阳性的。在具体实施例中,非霍奇金淋巴瘤是复发性或难治性的。在具体实施例中,对象先前已经用抗CD20抗体例如利妥昔单抗治疗。

[0047] 在某些实施例中,抗CD20抗体例如利妥昔单抗在结合CD47的抗体或其抗原结合片段之前施用和/或与之同时施用。在某些实施例中,抗CD20抗体是利妥昔单抗。在某些实施例中,抗CD20抗体例如利妥昔单抗在结合CD47的抗体或其抗原结合片段之前施用。在某些实施例中,抗CD20抗体例如利妥昔单抗与结合CD47的抗体或其抗原结合片段同时施用。

[0048] 在某些实施例中,该方法不包括向对象施用蛋白酶体抑制剂。在某些实施例中,该方法不包括向对象施用硼替佐米。在某些实施例中,该方法不包括向对象施用甲氨蝶呤。在某些实施例中,该方法另外包括向对象施用甲氨蝶呤。

[0049] 在某些实施例中,结合CD47的抗体或其抗原结合片段是药物组合物的组分,该药物组合物包含结合CD47的抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的载剂。

[0050] 在某些实施例中,本文提供了单独地或与抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)组合使用本文所述的抗CD47抗体来防止病症或障碍(诸如癌症)的方法。

[0051] 在特定实施例中,本文提供了用于管理、治疗、预防或防止癌症的方法,包括向有此需要的对象单独地或与抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)组合施用治疗有效量的本文所述的与CD47(例如人CD47)特异性结合的抗体或抗原结合片段。在某些实施例中,本文提供了缓解、抑制或降低与癌症相关的一种或多种症状的进展或严重性的方法。

[0052] 如本文所用,“施用”是指向对象或患者(例如人)注射或以其他方式物理递送某物质(例如,抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)、或本文提供的抗CD47抗体或其抗原结合片段)的行为,例如通过粘膜、局部、皮内、肠胃外、静脉内、皮下、肌肉内递送和/或本文所述或本领域已知的任何其他物理递送方法。在某些实施例中,静脉内施用抗CD20抗体,例如利妥昔单抗。在某些实施例中,静脉内施用本文提供的抗CD47抗体。在某些实施例中,静脉内施用利妥昔单抗和本文提供的抗CD47抗体。

[0053] 如本文所用,术语有效量是指组合物的量(例如,本文提供的抗体或药物组合物、

或抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)、或本文提供的药物组合物),该量足以实现特定的读数,例如减少和/或改善给定病症、障碍或疾病(例如,癌症、转移或血管生成)和/或与其相关的症状的严重性和/或持续时间。这个术语还涵盖减少、减缓或改善给定疾病的前进或进展,减少、减缓或改善给定疾病的复发、发展或发作,和/或改善或增强另一种疗法(例如,除本文提供的抗CD47抗体之外的疗法)的一种或多种预防或治疗效果所必需的量。在一些实施例中,如本文所用的“有效量”是指如本文所述与降低蛋白质治疗剂的免疫原性相关的抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)的量。

[0054] 例如,将与蛋白质治疗剂(诸如抗CD47抗体)组合施用的抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)的剂量可包括约0.1mg/kg体重至约100mg/kg体重。例如,将与蛋白质治疗剂(诸如抗CD47抗体)组合施用的利妥昔单抗的剂量可包括约25mg/m²至约1500mg/m²。在一些实施例中,利妥昔单抗以0.1mg/kg、0.5mg/kg、1mg/kg、2mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、50mg/kg、75mg/kg、100mg/kg或更高的剂量施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以0.1、0.3、0.5、1、2、4、5、8、10、15、20、25、30、50、75或100mg/kg的剂量施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以0.3、1、2、4、8、15或20mg/kg的剂量施用给对象。在一些实施例中,利妥昔单抗以25、50、75、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、750、1000、1250、1500mg/m²或更高的剂量施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以300、325、350、375、400、425、450、475或500mg/m²的剂量施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以375mg/m²的剂量施用给对象。

[0055] 抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)的给药频率可以在例如从每天两次至每月一次的范围内。在某些实施例中,利妥昔单抗以300、325、350、375、400、425、450、475或500mg/m²的剂量每周一次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以300、325、350、375、400、425、450、475或500mg/m²的剂量每两周一次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以300、325、350、375、400、425、450、475或500mg/m²的剂量每四周一次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以375mg/m²的剂量每周一次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以375mg/m²的剂量每两周一次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以375mg/m²的剂量每四周一次施用给对象。

[0056] 例如,将与抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)组合施用的抗CD47抗体或其抗原结合片段的剂量可包括约0.1mg/kg体重至约100mg/kg体重。在一些实施例中,抗CD47抗体以0.1mg/kg、0.5mg/kg、1mg/kg、2mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、50mg/kg、75mg/kg、100mg/kg或更高的剂量施用给对象。在某些实施例中,结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.1、0.3、0.5、1、2、4、5、8、10、15、20、25、30、50、75或100mg/kg的剂量施用给对象。在某些实施例中,结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.3、1、2、4、8、15或20mg/kg的剂量施用给对象。

[0057] 抗CD47抗体或其抗原结合片段的给药频率可以在例如从每天两次至每周一次的范围内。在某些实施例中,结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.3、1、2、4、8、15或20mg/kg的剂量每周一次施用给对象。在某些实施例中,结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.3、1、2、4、8、15或20mg/kg的剂量每周两次施用给对象。在某些实施例中,结合CD47的抗体或其抗原结合片段以8mg/kg的剂量每周两次施用给对象。在某些实施例中,结合CD47的抗体或其抗原结合片段以20mg/kg的剂量每周一次施用给对象。

[0058] 在一些实施例中,抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)以25、50、75、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、750、1000、1250、1500mg/m²的剂量施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.1、0.3、0.5、1、2、4、5、8、10、15、20、25、30、50、75或100mg/kg的剂量施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以300、325、350、375、400、425、450、475或500mg/m²的剂量施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.3、1、2、4、8、15或20mg/kg的剂量施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以375mg/m²的剂量施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.3、1、2、4、8、15或20mg/kg的剂量施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以300、325、350、375、400、425、450、475或500mg/m²的剂量每周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.3、1、2、4、8、15或20mg/kg的剂量每周一次施用给对象。

[0059] 在某些实施例中,抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)以300、325、350、375、400、425、450、475或500mg/m²的剂量每两周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.3、1、2、4、8、15或20mg/kg的剂量每周两次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以300、325、350、375、400、425、450、475或500mg/m²的剂量每两周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以8mg/kg的剂量每周两次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以300、325、350、375、400、425、450、475或500mg/m²的剂量每两周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以8mg/kg的剂量每周两次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以300、325、350、375、400、425、450、475或500mg/m²的剂量每两周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以20mg/kg的剂量每周一次施用给对象。

[0060] 在某些实施例中,抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)以300、325、350、375、400、425、450、475或500mg/m²的剂量每四周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.3、1、2、4、8、15或20mg/kg的剂量每周两次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以300、325、350、375、400、425、450、475或500mg/m²的剂量每四周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以8mg/kg的剂量每周两次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以300、325、350、375、400、425、450、475或500mg/m²的剂量每四周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以8mg/kg的剂量每周两次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以300、325、350、375、400、425、450、475或500mg/m²的剂量每四周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以20mg/kg的剂量每周一次施用给对象。

[0061] 在某些实施例中,抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)以375mg/m²的剂量每周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.3、1、2、4、8、15或20mg/kg的剂量每周两次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以375mg/m²的剂量每周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以8mg/kg的剂量每周两次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以375mg/m²的剂量每周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以8mg/kg的剂量每周两次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以375mg/m²的剂量每周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以20mg/kg的剂量每周一次施用给对象。

[0062] 在某些实施例中,抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)以375mg/m²的剂量每两周一次

施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.3、1、2、4、8、15或20mg/kg的剂量每周两次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以375mg/m²的剂量每两周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以8mg/kg的剂量每周两次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以375mg/m²的剂量每两周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以8mg/kg的剂量每周两次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以375mg/m²的剂量每两周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以20mg/kg的剂量每周一次施用给对象。

[0063] 在某些实施例中,抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)以375mg/m²的剂量每四周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以0.3、1、2、4、8、15或20mg/kg的剂量每周两次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以375mg/m²的剂量每四周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以8mg/kg的剂量每周两次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以375mg/m²的剂量每四周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以8mg/kg的剂量每周两次施用给对象。在某些实施例中,利妥昔单抗以375mg/m²的剂量每四周一次施用给对象,并且结合CD47的抗体或其抗原结合片段以20mg/kg的剂量每周一次施用给对象。

[0064] 如本文所用,在施用其他疗法的背景下,术语“组合”是指使用一种以上的疗法。术语“组合”的使用不限制施用疗法的顺序。这些疗法可以例如连续地、顺序地、同时地或伴随地施用。

[0065] 在本文提供的方法的某些实施例中,抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)在蛋白质治疗剂(例如抗CD47抗体)之前施用。在本文提供的方法的某些实施例中,抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)与蛋白质治疗剂(例如抗CD47抗体)同时施用。在本文提供的方法的某些实施例中,抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)在蛋白质治疗剂(例如抗CD47抗体)之后施用。在本文提供的方法的某些实施例中,抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)在蛋白质治疗剂(例如抗CD47抗体)之前施用并且与之同时施用。

[0066] 如本文所用,术语“对象”和“患者”可互换使用。如本文所用,对象是哺乳动物,诸如非灵长类动物(例如牛、猪、马、猫、狗、山羊、兔、大鼠、小鼠等)或灵长类动物(例如猴子和人类),例如人类。在一个实施例中,对象是被诊断患有本文提供的病症或障碍(例如癌症、转移或血管生成)的哺乳动物,例如人类。在另一个实施例中,对象是具有发展本文提供的病症或障碍(例如癌症、转移或血管生成)风险的哺乳动物,例如人类。在另一个实施例中,对象是人类。

[0067] 如本文所用,“血液学癌症”是指血液的癌症,并且包括白血病、淋巴瘤和骨髓瘤等。“白血病”是指血液的癌症,其中产生了过多的对抗感染无效的白细胞,因而排挤构成血液的其他部分,诸如血小板和红细胞。众所周知,白血病病例分为急性或慢性的。以非限制性实例的方式,白血病的某些形式包括急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、骨髓增生性疾病/肿瘤(MPDS)、和骨髓增生异常综合征。“淋巴瘤”可以指霍奇金淋巴瘤、惰性和侵袭性非霍奇金淋巴瘤、伯基特淋巴瘤和滤泡性淋巴瘤(小细胞和大细胞)等。骨髓瘤可以指多发性骨髓瘤(MM)、巨细胞骨髓瘤、重链骨髓瘤和轻链或Bence-Jones骨髓瘤。在某些实施例中,血液学癌症是多发性骨髓瘤。在某些实施例中,血液学癌症是非霍奇金淋巴瘤。

[0068] 可以用本文所述的抗CD47抗体单独地或与抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)组合治疗或管理的病症的非限制性实例包括血液学癌症和/或实体瘤,以及与异常CD47表达、活性和/或信号传导相关的疾病或障碍以非限制性实例的方式包括血液学癌症和/或实体瘤。血液学癌症包括例如白血病、淋巴瘤和骨髓瘤。以非限制性实例的方式,白血病的某些形式包括急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、骨髓增生性疾病/肿瘤(MPDS)、和骨髓增生异常综合征。以非限制性实例的方式,淋巴瘤的某些形式包括霍奇金淋巴瘤、惰性和侵袭性非霍奇金淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤和滤泡性淋巴瘤(小细胞和大细胞)。以非限制性实例的方式,骨髓瘤的某些形式包括多发性骨髓瘤(MM)、巨细胞骨髓瘤、重链骨髓瘤和轻链或Bence-Jones骨髓瘤。实体瘤包括例如乳腺肿瘤、卵巢肿瘤、肺肿瘤、胰腺肿瘤、前列腺肿瘤、黑素瘤、结肠直肠肿瘤、肺肿瘤、头颈肿瘤、膀胱肿瘤、食道肿瘤、肝肿瘤和肾肿瘤。

[0069] 与癌症和其他肿瘤性疾病相关的症状包括例如炎症、发烧、全身不适、发烧、疼痛(往往位于发炎区域)、食欲不振、体重减轻、水肿、头痛、疲劳、皮疹、贫血、肌肉无力、肌肉疲劳和腹部症状,例如腹痛、腹泻或便秘。

[0070] 在具体方面,本文提供抗CD47抗体,这些抗体可单独地或与抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)组合用于治疗癌症(例如MM、NHL、AML、乳腺癌(例如三阴性乳腺癌)、膀胱癌、非小细胞肺癌、肝细胞癌(HCC)、肉瘤和头颈癌)、延缓该癌症的进展、阻止该癌症、防止该癌症的复发或缓解该癌症的症状。例如,本文所述的CD47抗体可以单独地或与抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)组合用于治疗血液恶性肿瘤和/或肿瘤,例如血液恶性肿瘤和/或肿瘤。例如,本文所述的CD47抗体可用于治疗CD47+肿瘤。以非限制性实例的方式,本文所述的CD47抗体可用于治疗非霍奇金淋巴瘤(NHL)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、多发性骨髓瘤(MM)、乳腺癌(例如三阴性乳腺癌)、卵巢癌、头颈癌、膀胱癌、黑素瘤、结肠直肠癌、胰腺癌、肺癌、平滑肌瘤、平滑肌肉瘤、胶质瘤、胶质母细胞瘤等。实体瘤包括例如乳腺肿瘤、卵巢肿瘤、肺肿瘤(例如NSCLC)、胰腺肿瘤、前列腺肿瘤、黑素瘤、结肠直肠肿瘤、肺肿瘤、头颈肿瘤、膀胱肿瘤、食道肿瘤、肝肿瘤(例如肝细胞癌)、肉瘤和肾肿瘤。

[0071] 在一个具体实施例中,本文提供了治疗对象中的癌症(例如,血液障碍/癌症或实体癌症)的方法,包括向有此需要的对象施用(例如,同时或相继施用)(i)单独的或与抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)组合的特异性结合CD47(诸如人CD47)的本文所述的抗CD47抗体或其抗原结合片段,以及(ii)另一种抗癌剂。在某些实施例中,抗癌剂是化学治疗剂(例如,微管拆散阻滞剂、抗代谢物、拓扑异构酶抑制剂和DNA交联剂或损伤剂)。在某些实施例中,抗癌剂是酪氨酸激酶抑制剂(例如GLEEVEC®(甲磺酸伊马替尼)或SUTENT®(SU11248或舒尼替尼))。酪氨酸激酶抑制剂的其他非限制性实例包括706和AMN107(尼罗替尼)。RAD001、PKC412、吉非替尼(IRESSA™)、埃罗替尼(TARCEVA®)、索拉非尼(NEXAVAR®)、帕唑帕尼(VOTRIENT™)、阿西替尼、博舒替尼、西地尼布(RECENTIN®)、SPRYCEL®(达沙替尼)、拉帕替尼(TYKERB®)、来他替尼、来那替尼、尼罗替尼(TASIGNA®)、司马沙尼、托西尼布(PALLADIA™)、凡德他尼(ZACTIMA™)和瓦

他拉尼。

[0072] 在一个具体方面,本文提供了治疗对象中的癌症(例如,血液障碍/癌症或实体癌症)的方法,包括向有此需要的对象施用(例如,同时或相继施用)(i)单独的或与抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)组合的特异性结合CD47(诸如人CD47)的本文所述的抗CD47抗体或其抗原结合片段,以及(ii)放疗。

[0073] 在一个具体方面,本文提供了促进(例如,诱导或增强)吞噬作用(例如,巨噬细胞介导的对肿瘤细胞的吞噬杀伤)的方法,包括使单独的或与抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)组合的有效量的本文所述的特异性结合人CD47的抗CD47抗体与肿瘤细胞接触。本文还提供了促进(例如,诱导或增强)有需要的对象(例如,具有肿瘤细胞诸如表达CD47的肿瘤细胞的对象)中的吞噬作用(例如,巨噬细胞介导的对肿瘤细胞的吞噬杀伤)的方法,包括向对象施用单独的或与抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)组合的有效量的本文所述的特异性结合人CD47的抗CD47抗体。

[0074] 在一个特定方面,本文提供了减小肿瘤体积的方法,包括使单独的或与抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)组合的有效量的本文所述的特异性结合人CD47的抗CD47抗体与肿瘤接触。本文还提供了减小有需要的对象(例如,具有肿瘤诸如表达CD47的肿瘤的对象)中的肿瘤体积的方法,包括向对象施用单独的或与抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)组合的有效量的本文所述的特异性结合人CD47的抗CD47抗体。

[0075] 在一个特定方面,本文提供了抑制癌细胞生长或增殖的方法,包括使单独的或与抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)组合的有效量的本文所述的特异性结合人CD47的抗CD47抗体与癌细胞接触。本文还提供了抑制有需要的对象(例如,具有癌细胞诸如表达CD47的癌细胞的对象)中的癌细胞生长或增殖的方法,包括向对象施用单独的或与抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)组合的有效量的本文所述的特异性结合人CD47的抗CD47抗体。

[0076] 4.2组合物

[0077] 4.2.1蛋白质治疗剂:

[0078] 在本文所述的方法中例如与抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)组合使用的蛋白质治疗剂可以是本领域技术人员已知的任何蛋白质治疗剂。在某些实施例中,蛋白质治疗剂是细胞因子。在某些实施例中,细胞因子是骨形态发生蛋白(BMP)、促红细胞生成素(EPO)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、干扰素 α (IFN- α)、干扰素 β (IFN- β)、白介素2(IL-2)、白介素11(IL-11)或干扰素 γ (IFN- γ)。在某些实施例中,蛋白质治疗剂是白介素。在某些实施例中,蛋白质治疗剂不是酶。

[0079] 在某些实施例中,蛋白质治疗剂是融合蛋白,例如含Fc的融合蛋白,例如可溶性受体融合蛋白。

[0080] 4.2.2抗体

[0081] 在本文所述的方法中例如与抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)组合使用的蛋白质治疗剂可以是抗体治疗剂。在一些实施例中,抗CD20抗体是利妥昔单抗。利妥昔单抗(RITUXAN®,百健(Biogen)/基因泰克(Genentech))是针对CD20抗原的嵌合鼠/人单克隆IgG1 κ 抗体。利妥昔单抗的分子量约为145kD,对CD20抗原的结合亲和力约为8.0nM。利妥昔单抗由含有抗生素庆大霉素的营养培养基中的哺乳动物细胞(中国仓鼠卵巢)悬浮培养物产生。庆大霉素不能在最终产品中检出。RITUXAN®是一种供静脉内施用的无菌、透明、

无色、无防腐剂的液体浓缩物。RITUXAN®以100mg/10mL或500mg/50mL一次性小瓶中10mg/mL的浓度提供。该产品在聚山梨醇酯80(0.7mg/mL)、氯化钠(9mg/mL)、柠檬酸钠二水合物(7.35mg/mL)和注射用水中配制。pH为6.5。在一些实施例中,抗CD20抗体是奥美珠单抗(ocrelizumab)。在一些实施例中,抗CD20抗体是奥法木单抗(ofatumumab)。在一些实施例中,抗CD20抗体是奥比妥珠单抗(obinutuzumab)。在一些实施例中,抗CD20抗体是托西莫单抗(tositumomab)。在一些实施例中,抗CD20抗体是替伊莫单抗(ibritumomab)。在一些实施例中,抗CD20抗体是奥卡妥珠单抗(ocaratuzumab)。在一些实施例中,抗CD20抗体是维妥珠单抗(veltuzumab)。

[0082] 如本文所用并且除非另有说明,否则术语“约”或“大约”表示在给定值或范围的±10%内。在需要整数的情况下,这些术语表示在给定值或范围的±10%内,向上或向下舍入到最接近的整数。

[0083] 如本文所用,术语“抗体”和“免疫球蛋白”和“Ig”是本领域的术语且在本文可互换使用,并且是指具有特异性结合抗原的抗原结合位点的分子。

[0084] 本文提供的抗体可包括例如单克隆抗体、重组产生的抗体、单特异性抗体、多特异性抗体(包括双特异性抗体)、人抗体、人源化抗体、鼠抗体(例如小鼠或大鼠抗体)、嵌合抗体、合成抗体以及包含两个重链和两个轻链分子的四聚体抗体。在具体实施例中,抗体可包括但不限于抗体轻链单体、抗体重链单体、抗体轻链二聚体、抗体重链二聚体、抗体轻链-抗体重链对、胞内抗体、异源偶联抗体(heteroconjugate antibody)、单结构域抗体和单价抗体。在一个具体实施例中,抗体可包括抗原结合片段或表位结合片段,诸如但不限于单链抗体或单链Fv(scFv)(例如,包括单特异性、双特异性等)、骆驼化抗体、亲和体、Fab片段、F(ab')片段、F(ab')₂片段和二硫键连接的Fv(sdFv)。在某些实施例中,本文所述的抗体是指多克隆抗体群。

[0085] 抗体可以是任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY)、任何类别(例如,IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁、或IgA₂)或任何亚类(例如,IgG_{2a}或IgG_{2b})的免疫球蛋白分子。在某些实施例中,本文所述的抗体是IgG抗体、或其类别(例如,人IgG₁、IgG₂、IgG₃或IgG₄)或亚类。在某些实施例中,本文所述的抗体是IgG₁抗体(例如人IgG₁)或其亚类。在某些实施例中,本文所述的IgG₁抗体在恒定区中包含一个或多个氨基酸取代和/或缺失。在某些实施例中,本文所述的抗体是IgG₄抗体(例如人IgG₄)或其亚类。在某些实施例中,本文所述的IgG₄抗体在恒定区中包含一个或多个氨基酸取代和/或缺失。

[0086] 如本文所用,“抗原”是含有抗体可特异性结合的表位的一部分或分子。因此,抗原也特异性地被抗体结合。

[0087] 如本文所用,“表位”是本领域中的术语并且是指抗体可特异性结合的抗原的局部区域。表位可以是线性表位或构象、非线性或不连续表位。例如,在多肽抗原的情况下,表位可以是多肽的连续氨基酸(“线性”表位),或者表位可以包含来自多肽的两个或更多个非连续区域的氨基酸(“构象”、“非线性”或“不连续”表位)。本领域技术人员将理解,通常,线性表位可以或不依赖于二级、三级或四级结构。

[0088] 如本文所用,术语“单克隆抗体”是本领域熟知的术语,是指从均质性或基本上均质性的抗体的群体获得的抗体。术语“单克隆”不限于制备抗体的任何特定方法。通常,单克隆抗体群可以由细胞、细胞群或细胞系生成。在具体实施例中,如本文所用的“单克隆抗体”

是由单细胞或细胞系产生的抗体,其中该抗体免疫特异性结合CD47表位,如例如通过ELISA或者本领域已知或本文提供的实例中的其他抗原结合或竞争性结合测定法所确定的。在特定实施例中,单克隆抗体可以是嵌合抗体或人源化抗体。在某些实施例中,单克隆抗体是单价抗体或多价(例如,二价)抗体。

[0089] 如本文所用,术语“非天然氨基酸”是指不是蛋白氨基酸的氨基酸,或其翻译后修饰的变体。特别地,该术语是指不是20种常见氨基酸或吡咯赖氨酸或硒代半胱氨酸之一的氨基酸,或其翻译后修饰的变体。

[0090] 如本文所用,术语“多克隆抗体”是指包含多种不同抗体的抗体群,这些抗体免疫特异性结合一种或多种抗原内的相同和/或不同表位。

[0091] 如本文所用,术语“可变区”或“可变结构域”是指抗体的一部分,通常是抗体轻链或重链的一部分,典型地在成熟重链中的氨基末端110至120个氨基酸附近以及成熟轻链中的氨基末端90至100个氨基酸附近。可变区包含侧翼为框架区(FR)的互补决定区(CDR)。通常,CDR和FR的空间取向在N末端到C末端的方向上如下:FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。不希望受任何特定机制或理论的束缚,据信轻链和重链的CDR主要负责抗体与抗原的相互作用和抗体对表位的特异性。在一个具体实施例中,本文所述的抗体的氨基酸位置的编号根据EU Index,如见于Kabat等人(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest [具有免疫学意义的蛋白质序列],第五版,美国卫生与公众服务部(U.S.Department of Health and Human Services),NIH出版物编号91-3242。在某些实施例中,可变区是人类可变区。在某些实施例中,可变区包含鼠(例如,小鼠或大鼠)CDR和人框架区(FR)。在特定实施例中,可变区是灵长类动物(例如,人类或非人灵长类动物)可变区。在某些实施例中,可变区包含鼠(例如,小鼠或大鼠)CDR和灵长类动物(例如,人类或非人灵长类动物)框架区(FR)。作为非限制性实例,本文所述的可变区是通过将人序列的两个或更多个片段组装成复合人序列而获得的。

[0092] 在某些方面,抗体的CDR可以根据(i) Kabat编号系统(Kabat等人(1971) *Ann. NY Acad. Sci.* [纽约科学院年报] 190:382-391和Kabat等人(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest [具有免疫学意义的蛋白质序列],第五版,美国卫生与公众服务部(U.S.Department of Health and Human Services),NIH出版物编号91-3242);或(ii) Chothia编号方案,该方案将在本文称为“Chothia CDR”(参见例如Chothia和Lesk,1987, *J. Mol. Biol.* [分子生物学杂志], 196:901-917;Al-Lazikani等人,1997, *J. Mol. Biol.* [分子生物学杂志], 273:927-948;Chothia等人,1992, *J. Mol. Biol.* [分子生物学杂志], 227:799-817;Tramontano A等人1990, *J. Mol. Biol.* [分子生物学杂志] 215(1):175-82;以及美国专利号7,709,226);或(iii) ImMunoGeneTics (IMGT) 编号系统,例如,如Lefranc, M.-P., 1999, *The Immunologist* [免疫学家], 7:132-136和Lefranc, M.-P.等人1999, *Nucleic Acids Res.* [核酸研究], 27:209-212 (“IMGT CDR”);或(iv) MacCallum等人,1996, *J. Mol. Biol.* [分子生物学杂志], 262:732-745确定。另见例如Martin, A., “Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains” [抗体可变结构域的蛋白质序列及结构分析], *Antibody Engineering* [抗体工程], Kontermann和Dübel编,第31章,第422-439页,柏林斯普林格出版社(Springer-Verlag, Berlin) (2001)。

[0093] 关于Kabat编号系统,抗体重链分子中的CDR典型地存在于氨基酸位置31至35,其

任选地可以包含一个或两个额外的氨基酸在35之后(在Kabat编号方案中被称为35A和35B)(CDR1)、氨基酸位置50至65(CDR2)和氨基酸位置95至102(CDR3)。使用Kabat编号系统,抗体轻链分子中的CDR典型地存在于氨基酸位置24至34(CDR1)、氨基酸位置50至56(CDR2)和氨基酸位置89至97(CDR3)。如本领域技术人员所熟知的,使用Kabat编号系统,由于FR和/或CDR的缩短或延长,抗体可变结构域的实际线性氨基酸序列可能含有更少的或额外的氨基酸,因此,氨基酸的Kabat编号不一定与其线性氨基酸编号相同。

[0094] 本文提供的抗体可以是任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA或IgY)、任何类别(例如,IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁、或IgA₂)或任何亚类(例如,IgG_{2a}或IgG_{2b}或其混合物)的免疫球蛋白分子。在某些实施例中,本文所述的抗体是IgG抗体(例如,人IgG)或其类别(例如,人IgG₁、IgG₂、IgG₃或IgG₄)或其亚类。

[0095] 在具体方面,本文提供了包含抗体轻链和重链(例如,单独的轻链和重链)的抗体。关于轻链,在一个具体实施例中,本文所述的抗体的轻链是kappa(κ)轻链。在另一个具体实施例中,本文所述的抗体的轻链是lambda(λ)轻链。在另一个实施例中,轻链是混合序列,例如轻链的可变部分包含κ轻链序列,而轻链的恒定区包含λ轻链序列,反之亦然。在某些实施例中,本文所述的抗体的轻链是人κ轻链或人λ轻链。人恒定区序列的非限制性实例已在本领域中进行了描述,例如参见美国专利号5,693,780和Kabat等人(1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*[具有免疫学意义的蛋白质序列],第五版,美国卫生与公众服务部(U.S.Department of Health and Human Services),NIH出版物编号91-3242。

[0096] 在某些实施例中,本文所述的抗CD47抗体或其抗原结合片段包含相对于亲本抗体具有某一百分比同一性的氨基酸序列。

[0097] 两个序列(例如,氨基酸序列或核酸序列)之间的百分比同一性的确定也可以使用数学算法来完成。用于比较两个序列的数学算法的非限制性实例是Karlin和Altschul,1990,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.[美国国家科学院院刊],87:22642268的算法,如在Karlin和Altschul,1993,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.[美国国家科学院院刊]90:58735877中所修改。这种算法被并入Altschul等人,1990,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]215:403的NBLAST和XBLAST程序中。BLAST核苷酸检索可由NBLAST核苷酸程序参数设定为例如分数=100,字长=12,来进行以获得与本文所述的核酸分子同源的核苷酸序列。BLAST蛋白质检索可由XBLAST程序参数设定为例如分数50,字长=3,来进行以获得与本文所述的蛋白质分子同源的氨基酸序列。为了获得用于比较目的的空位的比对,可以利用如在Altschul等人,(1997) *Nucleic Acids Res.*[核酸研究]25:33893402中所述的Gapped BLAST。替代性地,可以将PSI BLAST用于进行检测分子之间的远缘关系的迭代检索(出处同前)。当利用BLAST、Gapped BLAST和PSI Blast程序时,可以使用相应程序的(例如,XBLAST和NBLAST的)默认参数(参见例如在万维网ncbi.nlm.nih.gov上的国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information,NCBI))。用于序列比较的数学算法的另一个优选的非限制性实例是Myers和Miller,1988,CABIOS 4:11 17的算法。这种算法被并入ALIGN程序(第2.0版)中,该程序是GCG序列比对软件包的一部分。当利用ALIGN程序比较氨基酸序列时,可以使用PAM120权重残差表、空位长度罚分12和空位罚分4。

[0098] 可使用类似于上述那些技术的技术,在容许或不容许空位的情况下确定两个序列

之间的百分比同一性。在计算百分比同一性中，典型地仅计数确切的匹配。

[0099] 本文所述的抗CD47抗体还包括特异性结合CD47的单克隆抗体，其中该抗体不促进（例如，诱导或增强）或引起显著水平的凝集，例如红细胞血凝（“RBC血凝”）。

[0100] 根据本发明的药物组合物可包含本发明的抗体和药学上可接受的载剂。

[0101] 在一些实施例中，抗体或其抗原结合片段是IgG同种型。在一些实施例中，抗体的恒定区是人IgG1同种型，具有以下氨基酸序列：

(SEQ ID NO: 1) ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG
GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS
[0102] NTKVDKKVEPEYKCKVSNKA LPAPIEKTIS
KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC
LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPPV
LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV
MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

[0103] 在一些实施例中，人IgG1恒定区在氨基酸Asn297 (Boxed, Kabat编号) 处被修饰以防止抗体的糖基化，例如Asn297Ala (N297A)。在一些实施例中，抗体的恒定区在氨基酸Leu235 (Kabat编号) 处被修饰以改变Fc受体相互作用，例如Leu235Glu (L235E) 或Leu235Ala (L235A)。在一些实施例中，抗体的恒定区在氨基酸Leu234 (Kabat编号) 处被修饰以改变Fc受体相互作用，例如Leu234Ala (L234A)。在一些实施例中，抗体的恒定区在氨基酸234和235处均被改变，例如Leu234Ala和Leu235Ala (L234A/L235A) (Kabat等人, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学意义的蛋白质序列]中的EU index)。

[0104] 在一些实施例中，抗体的恒定区是人IgG2同种型，具有以下氨基酸序列：

(SEQ ID NO: 2) ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE
STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
[0105] HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT
YTCNVDHKPS NTKVDKTVR KCCVECPPCP
APPVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC
VVVDVSHEDPKVSNKGLPAP IEKTISKTKG
QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG
[0106] FYPSDISVEW ESNGQPENNY KTTTPMLDSD
GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA
LHNHYTQKSL SLSPGK

[0107] 在一些实施例中，人IgG2恒定区在氨基酸Asn297 (Boxed, Kabat编号) 处被修饰以防止抗体糖基化，例如Asn297Ala (N297A)。

[0108] 在一些实施例中，抗体的恒定区是人IgG3同种型，具有以下氨基酸序列：

(SEQ ID NO: 3) ASTKGPSVFP LAPCSRSTSG GTAALGCLVK
DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT
VPSSSLGTQT YTCNVNHKPS NTKVDKRVEL KTPLGDTTHT
[0109] CPRCPEPKSC DTPPPCPRCP EPKSCDTPPP CPRCPEPKSC
DTPPPCPRCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT
CVVVDVSHED CKVSNKALPA PIEKTISKTK GQPREPQVYT
LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESSGQPENN
YNTTPPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG

[0110] 在一些实施例中,人IgG3恒定区在氨基酸Asn297 (Boxed, Kabat编号) 处被修饰以防止抗体糖基化,例如Asn297Ala (N297A)。在一些实施例中,人IgG3恒定区在氨基酸435处被修饰以延长半衰期,例如Arg435H是 (R435H) (Kabat等人,1991,Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学意义的蛋白质序列]中的EU index)。

[0111] 在一些实施例中,抗体的恒定区是人IgG4同种型,具有以下氨基酸序列:

(SEQ ID NO: 4) ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK
DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT
[0112] VPSSSLGTTK YTCNVNDHKPS NTKVDKRVES CKVSNKGLPS
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK
GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDL DGSFFLYSRL
TVDKSRWQEG NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSLGK

[0113] 在一些实施例中,人IgG4恒定区在铰链区内被修饰以防止或减少链交换,例如Ser228Pro (S228P)。在其他实施例中,人IgG4恒定区在氨基酸235处被修饰以改变Fc受体相互作用,例如Leu235Glu (L235E)。在一些实施例中,人IgG4恒定区在铰链内和氨基酸235处被修饰,例如Ser228Pro和Leu235Glu (S228P/L235E)。在一些实施例中,人IgG4恒定区在氨基酸Asn297 (Kabat编号) 处被修饰以防止抗体的糖基化,例如Asn297Ala (N297A)。在本发明的一些实施例中,人IgG4恒定区在氨基酸位置Ser228、Leu235和Asn297处被修饰(例如S228P/L235E/N297A)。(Kabat等人,1991,Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学意义的蛋白质序列]中的EU index)。在本发明的其他实施例中,抗体是人IgG4亚类且缺乏糖基化。在这些实施例中,可以通过第297位 (Kabat编号) 的突变消除糖基化,例如N297A。在其他实施例中,可以通过在缺乏翻译后糖基化能力的宿主细胞(例如细菌或酵母衍生的系统或经修饰的哺乳动物细胞表达系统)中产生抗体来消除糖基化。

[0114] 在一些实施例中,人IgG恒定区被修饰以增强FcRn结合。增强与FcRn结合的Fc突变的实例是Met252Tyr、Ser254Thr、Thr256Glu(分别是M252Y、S254T、T256E) (Kabat编号, Dall'Acqua等人,2006,J. Biol. Chem[生物化学杂志],第281卷(33) 23514-23524) 或 Met428Leu和Asn434Ser (M428L、N434S) (Zalevsky等人,2010,Nature Biotech[自然-生物技术],第28卷(2) 157-159)。(Kabat等人,1991,Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学意义的蛋白质序列]中的EU index)。

[0115] 在一些实施例中,人IgG恒定区被修饰以改变抗体依赖性细胞毒性 (ADCC) 和/或补体依赖性细胞毒性 (CDC),例如以下文献中所述的氨基酸修饰:Natsume等人,2008 Cancer Res[癌症研究],68 (10):3863-72;Idusogie等人,2001 J Immunol[免疫学杂志],166 (4):

2571-5;Moore等人,2010 mAbs[单克隆抗体],2(2):181-189;Lazar等人,2006PNAS[美国国家科学院院刊],103(11):4005-4010;Shields等人,2001 JBC[生物化学杂志],276(9):6591-6604;Stavenhagen等人,2007 Cancer Res[癌症研究],67(18):8882-8890;Stavenhagen等人,2008 Advan.Enzyme Regul.[酶调节进展],48:152-164;Alegre等人,1992 J Immunol[免疫学杂志],148:3461-3468;综述于Kaneko和Niwa,2011 Biodrugs[生物药物],25(1):1-11。

[0116] 在一些实施例中,人IgG恒定区被修饰以诱导异源二聚体化。例如,具有在CH3结构域内在Thr366处的氨基酸修饰,当用更大体积的氨基酸如Try(T366W)代替时,能够优先地与具有在位置Thr366、Leu368和Tyr407处(例如,分别为Ser、Ala和Val)的更小体积氨基酸的氨基酸修饰(T366S/L368A/Y407V)的第二CH3结构域配对。通过引入二硫键,例如通过将相对的CH3结构域上的Ser354改变为Cys(S354C)以及将Y349改变为Cys(Y349C),经由CH3修饰的异源二聚体化可以被进一步稳定化(综述于Carter,2001,Journal of Immunological Methods[免疫学方法杂志],248:7-15)。

[0117] 在本发明的其他实施例中,抗体缺乏糖基化,但在氨基酸Asn297(Kabat编号)处未修饰。在这些实施例中,可以通过在缺乏翻译后糖基化能力的宿主细胞(例如细菌或酵母衍生的系统或经修饰的哺乳动物细胞表达系统)中产生抗体来消除糖基化。

[0118] 4.2.2.1用于本文提供的方法的抗CD47抗体

[0119] 在一个具体方面,用于本文提供的方法的是特异性结合CD47(例如,人CD47)的抗体。此类抗CD47抗体包括美国专利申请公开号2014/0140989中披露的所有抗体,该专利申请通过援引以其全文并入本文。此类抗CD47抗体还包括国际专利申请公开号W0 2016/109415中披露的所有抗体,该专利申请通过援引以其全文并入本文。

[0120] 如本文所用,术语“CD47”或“整合素相关蛋白”或“IAP”或“卵巢癌抗原”或“OA3”或“Rh相关抗原”或“MER6”可互换使用并且是指属于免疫球蛋白超家族的多跨膜受体。以下提供了示例性人CD47的氨基酸序列(GenBank登录号Q08722.1(GI:1171879),通过援引并入本文)。信号序列(氨基酸1-18)带有下划线。

[0121] 1 MWPLVAALLL GSACCGSAQL LFNKTKSVEF TFCNDTVVIP
CFVTNMEAQN TTEVYVKWKF
61 KGRDIYTFDG ALNKSTVPTD FSSAKIEVSQ LLKGDASLKM
DKSDAVSHTG NYTCEVTELT
121 REGETHIELK YRVVSWFSPN ENILIVIFPI FAILLFWGQF
GIKTLKYRSG GMDEKTIALL
181 VAGLVITVIV IVGAILFVPG EYSLKNATGL GLIVTSTGIL
ILLHYYVFST AIGLTSFVIA
241 ILVIQVIAYI LAVVGLSLCI AACIPMHGPL LISGLSILAL
AQLLGLVYMK FVASNQKTIQ
301 PPRKAVEEPL NAFKESKGMM NDE (SEQ ID NO: 48)

[0122] 为清楚起见,下文提供了不包含信号序列的示例性人CD47的氨基酸序列。

1 QLLFNKTKSV EFTFCNDTVV IPCFVTNMEA QNTTEVYVKW
KFKGRDIYTF DGALNKSTVP

61 TDFSSAKIEV SQLLKGDASL KMDKSDAVSH TGNYTCEVTE
LTREGETIIE LKYRVVSWFS

[0123] 121 PNENILIVIF PIFAILLFWG QFGIKTLKYR SGGMDEKTIA
LLVAGLVITV IVIVGAILFV

181 PGEYSLKNAT GLGLIVTSTG ILILLHYYVF STAIGLTSFV
IAILVIQVIA YILAVVGLSL

241 CIAACIPMHG PLLISGLSIL ALAQLLGLVY MKFVASNQKT
IQPPRKAVEE PLNAFKESKG

301 MMNDE (SEQ ID NO: 49)。

[0124] 本发明还提供了包含一种或多种结合CD47的单克隆抗体或其免疫活性片段的药物组合物,其中该抗体在施用后不会引起显著水平的红细胞血凝。

[0125] 血凝是同型相互作用的实例,其中当用二价CD47结合实体处理时,使两种表达CD47的细胞聚集或结块。本发明的抗体结合细胞表面上的CD47并且不引起细胞结块现象的能力不限于红细胞。已经观察到本发明的抗体以不促进CD47阳性细胞系例如Daudi细胞结块的方式独特地结合CD47。

[0126] 在一些情况下,用于本文提供的方法的抗体包含选自由SEQ ID NO:5-30组成的组的可变重(VH)链区。抗体任选地包含选自由SEQ ID NO:31-47组成的组的可变轻(VL)链区。在一些情况下,抗体包含选自由SEQ ID NO:5-30组成的组的VH链区和选自由SEQ ID NO:31-47组成的组的VL链区。本发明的抗体还包括具有以下可变重链和可变轻链的抗体,该可变重链与SEQ ID NO:5-30中的至少一个所示的序列的同一性为至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高,该可变轻链与SEQ ID NO:31-47中的至少一个所示的序列的同一性为至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高。在其他方面,抗体包含与SEQ ID NO:31-39、42、43、44和47中的任一个提供的VL区配对的SEQ ID NO:5、7、8、11、15-17、20-22和27-30中的任一个提供的VH区。在另一个实施例中,抗体包含与SEQ ID NO:31、32、35、40、41、42、43、44和47中的任一个提供的VL区配对的SEQ ID NO:5、7、8、11、12、15-17、20-22和27-30中的任一个提供的VH区。在又一个方面,抗体包含VH链区和VL链区的组合,该组合选自表1中所列的组合。

[0127] 表1. 示例性抗CD47抗体VH/VL组合。

[0128]

抗体	可变重 (VH) 链	可变轻 (VL) 链
2A1	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 31
2A1-xi	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 32
AB2.03	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 33
AB2.04	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 34
AB2.05	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 35
AB2.06	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 36
AB2.07	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 37
AB2.08	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 38
AB2.09	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 39
AB2.13	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 43
AB3.09	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 39
AB6.12	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 42
AB6.13	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 43

[0129]

AB6.14	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 44
AB6.17	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 47
AB10.13	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 43
AB10.14	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 44
AB11.05	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 35
AB12.05	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 35
AB15.05	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 35
AB16.05	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 35
AB17.05	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 35
AB22.05	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 35
AB23.05	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 35
AB24.05	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 35
AB25.05	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 35

[0130] 在一些实施例中,用于本文提供的方法的CD47抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65或SEQ ID NO:66中所示的VH互补决定区1(CDR1)序列,SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75或SEQ ID NO:76中所示的VH CDR2序列,SEQ ID NO:52或SEQ ID NO:77中所示的VH CDR3序列,SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:67或SEQ ID NO:68中所示的VL CDR1序列,SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:71中所示的VL CDR2序列,以及SEQ ID NO:55中所示的VL CDR3序列。例如,抗体或其免疫学活性片段包含SEQ ID NO:50中所示的VH CDR1序列,SEQ ID NO:51中所示的VH CDR2序列,SEQ ID NO:52中所示的VH CDR3序列,SEQ ID NO:53中所示的VL CDR1序列,SEQ ID NO:54中所示的VL CDR2序列,以及SEQ ID NO:55中所示的VL CDR3序列。在另一个实例中,抗体或其免疫学活性片段包含SEQ ID NO:50中所示的VH CDR1序列,SEQ ID NO:72中所示的VH CDR2序列,SEQ ID NO:52中所示的VH CDR3序列,SEQ ID NO:53中所示的VL CDR1,SEQ ID NO:71中所示的VL CDR2序列,以及SEQ ID NO:55中所示的VL CDR3序列。

[0131] 在一个具体方面,本文提供了特异性结合人CD47的抗体,例如单克隆抗体,其中这种抗CD47抗体是亲本抗CD47抗体的变体,其中该抗CD47抗体当使用无细胞(CF)表达系统产生时,具有与在CF系统中表达时的亲本抗CD47抗体相比更高的抗体表达效价或产量,并且

其中该抗CD47抗体相对于亲本抗CD47抗体包含一个或多个氨基酸修饰,例如1-15个氨基酸修饰。在一个特定方面,该一个或多个氨基酸修饰,例如1-15个氨基酸修饰,在重链或VH(例如,SEQ ID NO:6)内。在一个特定方面,该一个或多个氨基酸修饰,例如1-15个氨基酸修饰,在VH(例如,SEQ ID NO:6)的框架区内。在某些方面,本文提供的作为亲本抗CD47抗体的变体的抗CD47抗体包含亲本抗CD47抗体的CDR(例如,Kabat CDR)。

[0132] 在一个具体方面,本文提供了特异性结合人CD47的抗体,例如单克隆抗体,其中这种抗CD47抗体是亲本抗CD47抗体的变体,其中该抗CD47抗体当使用无细胞(CF)表达系统产生时,具有与在CF系统中表达时的亲本抗CD47抗体相比更高的抗体表达效价或产量,并且其中该抗CD47抗体相对于亲本抗CD47抗体包含一个或多个氨基酸修饰,例如1-15个氨基酸修饰。在一个特定方面,该一个或多个氨基酸修饰,例如5或14个氨基酸修饰,在重链或VH(例如,SEQ ID NO:6)内。在一个特定方面,该一个或多个氨基酸修饰,例如5、10、13或14个氨基酸修饰,在VH(例如,SEQ ID NO:6)的框架区内。在一个特定方面,该一个或多个氨基酸修饰,例如5、13或14个氨基酸修饰,在VH(例如,SEQ ID NO:6)的框架区内。在某些方面,本文提供的作为亲本抗CD47抗体的变体的抗CD47抗体包含亲本抗CD47抗体的CDR(例如,Kabat CDR)。在某些方面,这种抗CD47抗体是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型抗体。在某些方面,这种抗CD47抗体是IgG1同种型抗体。在某些方面,这种抗CD47抗体是IgG1 Z同种异型同种型抗体。在某些方面,这种抗CD47抗体是IgG4(诸如IgG4P或IgG4PE)同种型抗体。

[0133] 在一个具体方面,本文提供了特异性结合人CD47的抗体,例如单克隆抗体,其中这种抗CD47抗体是亲本抗CD47抗体的变体,其中该抗CD47抗体当使用无细胞(CF)表达系统产生时,具有与在CF系统中表达时的亲本抗CD47抗体相比更高的抗体表达效价或产量。在具体实施例中,亲本抗CD47抗体是抗体AB6.12(参见例如美国申请公开号US2014/0140989A1,该申请通过援引以其全文并入本文)。以下提供抗体AB6.12的重链可变区(VH)和轻链可变区(VL)的氨基酸序列,其中Kabat CDR带有下划线。在某个方面,本文提供的抗CD47抗体是亲本抗体AB6.12的变体,并且包含亲本抗体AB6.12的CDR(例如,Kabat CDR),例如SEQ ID NO:50、72、52、53、71和55。在某些方面,这种抗CD47抗体是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型抗体。在某些方面,这种抗CD47抗体是IgG1同种型抗体。在某些方面,这种抗CD47抗体是IgG1Z同种异型同种型抗体。在某些方面,这种抗CD47抗体是IgG4(诸如IgG4P或IgG4PE)同种型抗体。

[0134] 抗CD47抗体AB6.12重链可变区(VH)(Kabat CDR 1-3带有下划线,SEQ ID NO:50、72和52):

[0135] QMQLVQSGAEVKKKTGSSVKVSKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQALEWMGWIDPDQGDTEYAQKFQDRV
TITRDRSMSTAYMELSSLRSEDTAMYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGT TTVTV (SEQ ID NO:6)

[0136] 抗CD47抗体AB6.12轻链可变区(VL)(Kabat CDR 1-3带有下划线,SEQ ID NO:53、71和55):

[0137] NIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCKASQDIHRYLSWFQQKPGKVPKHLIYRANRLVSGVPSRFSGSGSG
TEFTLTISSLQPEDFATYYCLQYDEFPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:42)

[0138] 在一个具体实施例中,本文所述的抗CD47包含亲本抗体(例如选自本文所述的抗CD47抗体的亲本抗体)的一个或多个氨基酸修饰(例如,1-15个氨基酸修饰),例如在VH框架区中。

[0139] 在一个具体方面,本文提供了特异性结合人CD47的抗体,例如单克隆抗体,其中这种抗CD47抗体是亲本抗CD47抗体的变体,其中该抗CD47抗体当使用无细胞(CF)表达系统产生时,具有与在CF系统中表达时的亲本抗CD47抗体相比更高的抗体表达效价或产量,并且其中该抗CD47抗体包含含有以下从N末端到C末端序列的VH:X₁QX₂QLVQSGAEVKKX₃GX₄SVKVSCKASGFNIKDYYLHWVRQAPGQX₅LEWMGWIDPDQGDTEYAQKX₆QX₇RVTX₈TX₉DX₁₀SX₁₁STAYMELX₁₂SLRSX₁₃DTAX₁₄YYCNAAYGSSSPMDYWGQGTTVTV(SEQ ID NO:89),其中X₁-X₁₄的带有下划线的氨基酸残基从N末端至C末端有序排列,其中X₁是M或在位置X₁处无氨基酸,X₂是具有疏水侧链的氨基酸诸如M或V,X₃是T或P,X₄是S或A,X₅是具有脂肪族侧链的酸诸如A或G,X₆是F或L,X₇是D或G,X₈是具有疏水侧链的氨基酸诸如I或M,X₉是R或T,X₁₀是R或T,X₁₁是M或T,X₁₂是S或R,X₁₃是带负电荷的氨基酸诸如E或D,并且X₁₄是具有疏水侧链的氨基酸诸如M或V。

[0140] 在特定方面,本文所述的抗CD47抗体包含含有SEQ ID NO:89的序列的VH,其中在位置X₁处的氨基酸是任何氨基酸诸如M,X₂不是M,X₃不是T,X₄不是S,X₅不是A,X₆不是F,X₇不是D,X₈不是I,X₉不是R,X₁₀不是R,X₁₁不是M,X₁₂不是S,X₁₃不是E,和/或X₁₄不是M。在特定方面,X₁至X₁₄中的任何1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个不是这些氨基酸。在特定方面,VH氨基酸序列不是抗体AB6.12的VH氨基酸序列,例如,VH氨基酸序列不是SEQ ID NO:6。

[0141] 在特定方面,本文所述的抗CD47抗体包含含有SEQ ID NO:89的序列的VH,其中在位置X₇处的氨基酸不是G,X₉不是A和/或X₁₁不是S。在特定方面,X₇、X₉和X₁₁中的任何1、2或3个不是这些氨基酸。在特定方面,当在位置X₇处的氨基酸是G时,则X₈是M和/或X₁₀是T,X₉不是A和/或X₁₁不是S。

[0142] 在特定方面,本文所述的抗CD47抗体包含含有SEQ ID NO:89的序列的VH,其中在位置X₇处的氨基酸不是G,X₈不是M,X₉不是E,X₁₀不是T,和/或X₁₁不是T。在特定方面,X₇至X₁₁中的任何1、2、3或4个不是这些氨基酸。在特定方面,当在位置X₇处的氨基酸是G时,则X₈是M,X₁₀是T,X₉不是E,并且X₁₁是T。

[0143] 在一个特定方面,本文所述的抗CD47抗体包含含有SEQ ID NO:89的序列的VH,其中该VH不包含美国申请公开号US2014/0140989 A1的SEQ ID NO:5、6、7、8、9、10、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30的氨基酸序列,该申请通过援引以其全文并入本文。在一个特定方面,本文所述的抗CD47抗体包含含有SEQ ID NO:89的共有序列的VH,其中该VH不包含美国申请公开号US2014/0140989A1的SEQ ID NO:5、6、7、8、9、10、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30的氨基酸序列的框架区,该申请通过援引以其全文并入本文。

[0144] 在特定方面,X₁是M,X₂是V,X₃是P,X₄是A,X₅是G,X₆是L,X₇是G,X₈是M,X₉是T,X₁₀是T,X₁₁是T,X₁₂是R,X₁₃是D,和/或X₁₄是V。在特定实施例中,X₁至X₁₄中的任何1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个是这些氨基酸。

[0145] 在特定方面,X₁是M,X₂是M,X₃是P,X₄是S,X₅是A,X₆是F,X₇是G,X₈是I,X₉是R,X₁₀是R,X₁₁是T,X₁₂是R,X₁₃是E,和/或X₁₄是V。在特定实施例中,X₁至X₁₄中的任何1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个是这些氨基酸。

[0146] 在一个特定方面,本文提供的抗CD47抗体不是抗体AB6.12。在一个特定方面,本文提供的抗CD47抗体不包含抗体AB6.12的VH(例如,SEQ ID NO:6)和/或VL(例如,SEQ ID NO:42)。

[0147] 在一个具体方面,本文提供的抗CD47抗体包含表2中提供的以下VH氨基酸序列之一。

[0148] 表2:VH氨基酸序列

SEQ ID NO:	描述	VH 氨基酸序列
89	共有	<u>X₁</u> <u>QX₂</u> QLVQSGAEVKK <u>X₃</u> <u>GX₄</u> SVKVSCKASGFNIKDYLLH WVRQAPGQ <u>X₅</u> LEWMGWIDPDQGDTEYAQK <u>X₆</u> <u>QX₇</u> RV T <u>X₈</u> T <u>X₉</u> D <u>X₁₀</u> S <u>X₁₁</u> STAYMEL <u>X₁₂</u> SLRS <u>X₁₃</u> DTA <u>X₁₄</u> YYCNAAYGSSSYPM DYWGQGTTVT
[0149] 90	13m	MQVQLVQSGAEVKK <u>PGAS</u> SVKVSCKASGFNIKDYLLH WVRQAPGQGLEWMGWIDPDQGDTEYAQK <u>LQGRVTM</u> TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGTTVT
91	5m	MQMQLVQSGAEVKK <u>PGSS</u> SVKVSCKASGFNIKDYLLH WVRQAPGQALEWMGWIDPDQGDTEYAQKLQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGTTVT

[0150] 在一个具体方面,本文提供了特异性结合人CD47的抗体,例如单克隆抗体,其中这种抗CD47抗体是亲本抗CD47抗体的变体,其中该抗CD47抗体当使用无细胞(CF)表达系统产生时,具有与在CF系统中表达时的亲本抗CD47抗体相比更高的抗体表达效价或产量,并且其中该抗CD47抗体包含含有SEQ ID NO:90的VH。在某些方面,这种抗CD47抗体是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型抗体。在某些方面,这种抗CD47抗体是IgG1同种型抗体。在某些方面,这种抗CD47抗体是IgG1 Z同种异型同种型抗体。在某些方面,这种抗CD47抗体是IgG4 (诸如IgG4P或IgG4PE)同种型抗体。

[0151] 在一个具体方面,本文提供了特异性结合人CD47的抗体,例如单克隆抗体,其中这种抗CD47抗体是亲本抗CD47抗体的变体,其中该抗CD47抗体当使用无细胞(CF)表达系统产生时,具有与在CF系统中表达时的亲本抗CD47抗体相比更高的抗体表达效价或产量,并且其中该抗CD47抗体包含含有SEQ ID NO:91的VH。在某些方面,这种抗CD47抗体是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型抗体。在某些方面,这种抗CD47抗体是IgG1同种型抗体。在某些方面,这种抗CD47抗体是IgG1 Z同种异型同种型抗体。在某些方面,这种抗CD47抗体是IgG4 (诸如IgG4P或IgG4PE)同种型抗体。

[0152] 在一个特定方面,本文提供的抗CD47抗体(IgG1-13m)包含含有如下所示的氨基酸序列的IgG1重链:

[0153] MQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQGLEWMGWIDPDQGDTEYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:81)

[0154] 在一个特定方面,本文提供的抗CD47抗体(IgG1-13mZ)包含含有如下所示的氨基酸序列的IgG1-Z同种异型重链:

[0155] MQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQGLEWMGWIDPDQGDTEYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPMQDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:82)

[0156] 在一个特定方面,本文提供的抗CD47抗体(IgG1-5m)包含含有如下所示的氨基酸序列的IgG1重链:

[0157] MQMQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQALEWMGWIDPDQGDTEYAQKFQGRVTITRDRSTSTAYMELRSLRSEDVAVYYCNAAYGSSSYPMQDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:83)

[0158] 在一个特定方面,本文提供的抗CD47抗体(IgG4P-13m)包含含有如下所示的氨基酸序列的IgG4P抗体:

[0159] MQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQGLEWMGWIDPDQGDTEYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPMQDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVE SKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:84)

[0160] 在一个特定方面,本文提供的抗CD47抗体(IgG4P-5m)包含含有如下所示的氨基酸序列的IgG4P重链:

[0161] MQMQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQALEWMGWIDPDQGDTEYAQKFQGRVTITRDRSTSTAYMELRSLRSEDVAVYYCNAAYGSSSYPMQDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVE SKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:85)

[0162] 在一个特定方面,本文提供的抗CD47抗体(IgG4PE-13m)包含含有如下所示的氨基酸序列的IgG4PE重链:

[0163] MQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQGLEWMGWIDPDQGDTEYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPMQDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVE

SKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK
(SEQ ID NO:86)

[0164] 在一个特定方面,本文提供的抗CD47抗体(IgG4PE-5m)包含含有如下所示的氨基酸序列的IgG4PE重链:

[0165] MQMQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDYYLHWVRQAPGQALEWMGWIDPDQGDTEYAQKFQGR
VTITRDRSTSTAYMELRSLRSED TAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA
ALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDK RVE
SKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK
(SEQ ID NO:87)

[0166] 在一个具体方面,本文提供了特异性结合人CD47的抗体,例如单克隆抗体,其中这种抗CD47抗体是亲本抗CD47抗体的变体,其中该抗CD47抗体当使用无细胞(CF)表达系统产生时,具有与在CF系统中表达时的亲本抗CD47抗体相比更高的抗体表达效价或产量,并且其中该抗CD47抗体包含含有κ或λ轻链恒定区(例如,人κ或λ轻链恒定区)的轻链,例如SEQ ID NO:88。

[0167] 在一个具体方面,本文提供了特异性结合人CD47的抗体,例如单克隆抗体,其中这种抗CD47抗体是亲本抗CD47抗体的变体,其中该抗CD47抗体当使用无细胞(CF)表达系统产生时,具有与在CF系统中表达时的亲本抗CD47抗体相比更高的抗体表达效价或产量,并且其中该抗CD47抗体包含(i)本文所述的VH(例如,SEQ ID NO:89、90或91)或本文所述的重链(例如,SEQ ID NO:81-87中的任一个),以及(ii)含有κ或λ轻链恒定区(例如,人κ或λ轻链恒定区)的轻链,例如SEQ ID NO:88,例如如下所示(抗CD47抗体轻链(Igκ)),或在N末端没有氨基酸M的SEQ ID NO:88:

[0168] MNIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCKASQDIHRYLSWFQQKPGKVPKHLIYRANRLVSGVPSRFSGSGS
GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQYDEFPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPRE
AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ
ID NO:88)。

[0169] 在某些实施例中,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:42的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的序列同一性的VL结构域,其中该抗体特异性结合CD47。在某些实施例中,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:42的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的序列同一性的VL结构域,其中该抗体特异性结合CD47,并且其中该抗体包含与SEQ ID NO:42的CDR(例如,VL CDR 1-3)(例如,SEQ ID NO:53、71和55)相同的CDR(例如,VL CDR1-3)。

[0170] 在某些实施例中,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:88的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的序列同一性的轻链,其中该抗体特异性结合CD47。在某些实施例中,本文所述的抗体或其抗原结合片段

包含与SEQ ID NO:88的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的序列同一性的轻结构域,其中该抗体特异性结合CD47,并且其中该抗体包含与SEQ ID NO:88的CDR(例如,VL CDR 1-3)(例如,SEQ ID NO:53、71和55)相同的CDR(例如,VL CDR1-3)。

[0171] 在某些实施例中,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:6的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的序列同一性的VH结构域,其中该抗体特异性结合CD47,并且其中该抗CD47抗体当使用无细胞(CF)表达系统产生时,具有与在CF系统中产生时的亲本抗体相比更高的抗体表达效价或产量。在某些实施例中,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:6的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的序列同一性的VH结构域,其中该抗体特异性结合CD47,并且其中该抗体包含与SEQ ID NO:6的CDR(例如,VL CDR 1-3)(例如,SEQ ID NO:50、72和52)相同的CDR(例如,VL CDR1-3)。

[0172] 在某些实施例中,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:78的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的序列同一性的轻链,其中该抗体特异性结合CD47,并且其中该抗CD47抗体当使用无细胞(CF)表达系统产生时,具有与在CF系统中产生时的亲本抗体相比更高的抗体表达效价或产量。在某些实施例中,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:78的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的序列同一性的重结构域,其中该抗体特异性结合CD47,并且其中该抗体包含与SEQ ID NO:78的CDR(例如,VL CDR 1-3)(例如,SEQ ID NO:53、71和55)相同的CDR(例如,VL CDR1-3)。

[0173] 在某些实施例中,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:79的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的序列同一性的轻链,其中该抗体特异性结合CD47,并且其中该抗CD47抗体当使用无细胞(CF)表达系统产生时,具有与在CF系统中产生时的亲本抗体相比更高的抗体表达效价或产量。在某些实施例中,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:79的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的序列同一性的重结构域,其中该抗体特异性结合CD47,并且其中该抗体包含与SEQ ID NO:79的CDR(例如,VL CDR 1-3)(例如,SEQ ID NO:53、71和55)相同的CDR(例如,VL CDR1-3)。

[0174] 在某些实施例中,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:80的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的序列同一性的轻链,其中该抗体特异性结合CD47,并且其中该抗CD47抗体当使用无细胞(CF)表达系统产生时,具有与在CF系统中产生时的亲本抗体相比更高的抗体表达效价或产量。在某些实施例中,本文所述的抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:80的氨基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的序列同一性的重结构域,其中该抗体特异性结合CD47,并且其中该抗体包含与SEQ ID NO:80的CDR(例如,VL CDR 1-3)(例如,SEQ ID NO:53、71和55)相同的CDR(例如,VL CDR1-3)。

[0175] 表3提供了本文所述的抗CD47抗体氨基酸序列的表。在某些实施例中,本文所述的抗体包含表3中的任何轻链可变区序列和表3中的任何重链可变区序列。

[0176] 表3.抗CD47抗体氨基酸序列。

[0177]

SEQ ID NO:	描述	氨基酸序列
1	IgG1	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTPPV LDSGGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
2	IgG2	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVR KCCVECPCP APPVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP KVSNGLPAP IEKTISKTKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDISVEW ESNGQPENNY KTPPMLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
3	IgG3	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YTCNVNHKPS NTKVDKRVEL KTPLGDTTHT CPRCPEPKSC DTPPPCPRCP EPKSCDTPPP CPRCPEPKSC DTPPPCPRCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED CKVSNKALPA PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESSGQPENN YNTTPPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG
4	IgG4	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK

[0178]

		GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK
5	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	EVQLQQSGAE LVRSGASVKL SCTASGFNIK DYYLHWVKQR PEQGLEWIGW IDPDNGDTEF APKFQGKATM TADTSSNTAY LQLSSLTSED TAVYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTSVTV
6	抗 CD47 抗体 AB6.12 重链 可变区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDQGDTEY AQKFQDRVITI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
7	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVITI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
8	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	EVQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVITI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
9	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQGRVTM TADTSSNTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
10	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQGRVTM TEDTSTDYAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
11	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDQGDTEY AQKFQDRVITI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
12	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDYGDTEY AQKFQDRVITI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
13	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDSGDTEY AQKFQDRVITI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
14	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNADTEY AQKFQDRVITI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV

[0179]

15	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNTDTEY AQKFQDRV TI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
16	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRV TI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSPYPMDYW GQGTTVTV*
17	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYTFT YYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRV TI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
18	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFTFT YYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRV TI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
19	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYNFT YYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRV TI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
20	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYTIT YYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRV TI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
21	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYTFK YYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRV TI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
22	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYTFT DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRV TI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
23	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFTFT DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRV TI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
24	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFTIT DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRV TI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
25	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYTFK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRV TI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV

[0180]

26	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFTFK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
27	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY LQLSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
28	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLTSED TAVYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
29	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	EVQLVQSGAE VKKPGATVKI SCKVSGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
30	人源化 CD47 抗体的可变 重链区	EVQLVQSGAE VKKPGATVKI SCKVSGFNIK DYYLHWVQQA PGKGLEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
31	人源化 CD47 抗体的可变 轻链区	DIKMTQSPSS LYASLGERVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKSPKILIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGQD YSLTISSLEY EDMGIYYCLQ YDEFPYTFGG GTKLEMK
32	人源化 CD47 抗体的可变 轻链区	DIKMTQSPSS LYASLGERVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKSPKILIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGQD YSLTISSLEY EDMGIYYCLQ YDEFPYTFGG GTKLEIK
33	人源化 CD47 抗体的可变 轻链区	DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCKASQDIH RYLSWYQQKP GKAPKLLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTD FTFTISLQPEDIATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
34	人源化 CD47 抗体的可变 轻链区	DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKAPKSLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
35	人源化 CD47 抗体的可变 轻链区	NIQMTQSPSA MSASVGDRVIT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKHILIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQPEDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
36	人源化 CD47 抗体的可变 轻链区	DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCKASQDIH RYLSWYQQKP GKAPKRILIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQPEDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK

[0181]

37	人源化 CD47 抗体的可变 轻链区	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIH RYLAWYQQKP GKVPKLLIYR ANRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCLQ YDEFPYTFGQ GTKVEIK
38	人源化 CD47 抗体的可变 轻链区	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQDIH RYLAWYQQKP GQAPRLLIYR ANRRATGIPA RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCLQ YDEFPYTGFQ GTRLEIK
39	人源化 CD47 抗体的可变 轻链区	DIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKHLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
40	人源化 CD47 抗体的可变 轻链区	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCRARQGIH RYLSWFQQKP GKVPKHLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
41	人源化 CD47 抗体的可变 轻链区	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKILIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
42	抗 CD47 抗体 AB6.12 轻链 可变区	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKHLIYR ANRLVSGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
43	人源化 CD47 抗体的可变 轻链区	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCRARQGIH RYLSWFQQKP GKVPKILIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
44	人源化 CD47 抗体的可变 轻链区	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCRARQGIH RYLSWFQQKP GKVPKHLIYR ANRLVSGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
45	人源化 CD47 抗体的可变 轻链区	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKLLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
46	人源化 CD47 抗体的可变 轻链区	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKLLIYR ANRLVSGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
47	人源化 CD47 抗体的可变 轻链区	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCRARQGIH RYLSWFQQKP

[0182]

		GKVPKLLIYR ANRLVSGVPS RFSGSGSGTE FTLTISLQ EDFATYYCLQ YDEFPTYTFGG GTKVEIK
48	示例性人 CD47 序列	MWPLVAALLL GSACCGSAQL LFNKTKSVEF TFCNDTVVIP CFVTNMEAQN TTEVYVKWKF KGRDIYTFDG ALNKSTVPTD FSSAKIEVSQ LLKGDASLKM DKSDAVSHTG NYTCEVTELT REGETIIEK YRVVSWFSPN ENILIVIFPI FAILLFWGQF GIKTLKYRSG GMDEKTIALL VAGLVITVIV IVGAILFVPG EYSLKNATGL GLIVTSTGIL ILLHYYVFST AIGLTSFVIA ILVIQVIAYI LAVVGLSLCI AACIPMHGPL LISGLSILAL AQLLGLVYMK FVASNQKTIQ PPRKAVEEPL NAFKESKGMM NDE
49	无信号序列 的示例性人 CD47 序列	QLLFNKTKSV EFTFCNDTVV IPCFVTNMEA QNTTEVYVKW KFKGRDIYTF DGALNKSTVP TDFSSAKIEV SQLLKGDASL KMDKSDAVSH TGNYTCEVTE LTREGETIIE LKYRVVSWFS PNENILIVIF PIFAILLFWG QFGIKTLKYR SGGMDEKTIA LLVAGLVITV IVIVGAILFV PGEYSLKNAT GLGLIVTSTG ILILLHYYVF STAIGLTSFV IAILVIQVIA YILAVVGLSL CIAACIPMHG PLLISGLSIL ALAQLLGLVY MKFVASNQKT IQPPRKAVEE PLNAFKESKG MMNDE
50	VH CDR1 的 氨基酸序列	GFNIKDYLYH
51	VH CDR2 的 氨基酸序列	WIDPDNGDTE
52	VH CDR3 的 氨基酸序列	NAAYGSSSYPM DY
53	VL CDR1 的 氨基酸序列	KASQDIHRYLS
54	VL CDR2 的 氨基酸序列	RANRLVD
55	VL CDR3 的 氨基酸序列	LQYDEFPTY

[0183]

56	CD47 表位	KGRD
57	VH CDR1 的 氨基酸序列	GYTFTYYYYLH
58	VH CDR1 的 氨基酸序列	GFTFTYYYYLH
59	VH CDR1 的 氨基酸序列	GYNFTYYYYLH
60	VH CDR1 的 氨基酸序列	GYTITYYYLH
61	VH CDR1 的 氨基酸序列	GYTFKYYYYLH
62	VH CDR1 的 氨基酸序列	GYTFTDYLYH
63	VH CDR1 的 氨基酸序列	GFTFTDYLYH
64	VH CDR1 的 氨基酸序列	GFTITDYLYH
65	VH CDR1 的 氨基酸序列	GYTFKDYYLH
66	VH CDR1 的 氨基酸序列	GFTFKDYLYH
67	VL CDR1 的 氨基酸序列	RASQDIHRYLA
68	VL CDR1 的 氨基酸序列	RARQGIHRYLS
69	VL CDR2 的 氨基酸序列	RANRLQS
70	VL CDR2 的 氨基酸序列	RANRRAT
71	VL CDR2 的 氨基酸序列	RANRLVS
72	VH CDR2 的 氨基酸序列	WIDPDQGDTE

[0184]

73	VH CDR2 的 氨基酸序列	WIDPDYGDTE
74	VH CDR2 的 氨基酸序列	WIDPDSGDTE
75	VH CDR2 的 氨基酸序列	WIDPDNADTE
76	VH CDR2 的 氨基酸序列	WIDPDNTDTE
77	VH CDR3 的 氨基酸序列	NAAYGSSPYPM DY
78	抗 CD47 抗体 IgG1 重链	MQMQLVQSGA EVKKTGSSVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKFQDRVT ITRDRSMSTA YMELSSLRSE DTAMYVCNAA YGSSSYPM DY WGQGT TVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVT V SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSV V TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKTHTC PPCPAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRD ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTTP VLDSDGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K
79	抗 CD47 抗体 IgG4P 重链	MQMQLVQSGA EVKKTGSSVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKFQDRVT ITRDRSMSTA YMELSSLRSE DTAMYVCNAA YGSSSYPM DY WGQGT TVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVT V SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSV V TVPSSSLGTK TYTCNVDHKP SNTKVDKRVE SKYGPPCPPC PAPEFLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSSLGK

[0185]

80	抗 CD47 抗体 IgG4PE 重链 (包含 S228P 和 L235E 取 代)	MQMQLVQSGA EVKKTGSSVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKFQDRVT ITRDRSMSTA YMELSSLRSE DTAMYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGTTVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTK TYTCNVDHKP SNTKVDKRVE SKYGPPCPPC PAPEFEGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK
81	抗 CD47 抗体 IgG1-13m 重 链	MQVQLVQSGA EVKKPGASVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQGLEWMG WIDPDQGDTE YAQKLQGRVT MTTDTSTSTA YMELRSLRSD DTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGTTVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKTHTC PPCAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRD ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTTP VLDSDGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K
82	抗 CD47 抗体 IgG1-13mZ 重链	MQVQLVQSGA EVKKPGASVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQGLEWMG WIDPDQGDTE YAQKLQGRVT MTTDTSTSTA YMELRSLRSD DTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGTTVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKTHTC PPCAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRE EMTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ

[0186]

		PENNYKTPP VLDS DGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
83	抗 CD47 抗体 IgG1-5m 重链	MQMQLVQSGA EVKKPGSSVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKFQGRVT ITRDRSTSTA YMELRSLRSE DTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGT TTVTS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKTHTC PPCAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRD ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTPP VLDS DGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K
84	抗 CD47 抗体 IgG4P-13m 重链	MQVQLVQSGA EVKKPGASVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQGLEWMG WIDPDQGDTE YAQKLQGRVT MTTDTSTSTA YMELRSLRSD DTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGT TTVTS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTK TYTCNVDHKP SNTKVDKRVE SKYGPPCPPC PAPEFLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTPPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK
85	抗 CD47 抗体 IgG4P-5m 重链	MQMQLVQSGA EVKKPGSSVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKFQGRVT ITRDRSTSTA YMELRSLRSE DTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGT TTVTS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTK TYTCNVDHKP SNTKVDKRVE SKYGPPCPPC PAPEFLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT

[0187]

		KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK
86	抗 CD47 抗体 IgG4PE-13m 重链	MQVQLVQSGA EVKKPGASVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQGLEWMG WIDPDQGDTE YAQKLQGRVT MTTDTSTSTA YMELRSLRSD DTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGTTVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTK TYTCNVDHKP SNTKVDKRVE SKYGPPCPPC PAPEFEGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK
87	抗 CD47 抗体 IgG4PE-5m 重链	MQMQLVQSGA EVKKPGSSVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKFQGRVT ITRDRSTSTA YMELRSLRSE DTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGTTVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTK TYTCNVDHKP SNTKVDKRVE SKYGPPCPPC PAPEFEGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK
88	轻链 (Ig κ)	MNIQMTQSPS AMSASVGDRV TITCKASQDI HRYLSWFQQK PGKVPKHLIY RANRLVSGVP SRFSGSGSGT EFTLTSSLQ PEDFATYYCL QYDEFPYTFG GGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYLSSTL TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC

[0188]	89	抗 CD47 抗体 重链可变区 的共有序列	X ₁ QX ₂ QLVQSGAEVKKX ₃ GX ₄ SVKVSCKASGFNIKD YYLHWVRQAPGQX ₅ LEWMGWIDPDQGDTEYAQK X ₆ QX ₇ RVTX ₈ TX ₉ DX ₁₀ SX ₁₁ STAYMELX ₁₂ SLRSX ₁₃ DTA X ₁₄ YYCNAAYGSSSYPM DYWGQGT TVTV
	90	抗 CD47 抗体 VH - 13m	VQLVQSGAEV KKP GASVKVS CKASGFNIKD YYLHWVRQAP GQGLEWMGWI DPDQGDTEYA QKLQGRVTMT TDTSTSTAYM ELRSLRSDDT AVYYCNAAYG SSSYPM DYWG QGT TVTV
	91	抗 CD47 抗体 VH - 5m	MQMQLVQSGA EVKKPGSSVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKLQGRVT MTTDTSTSTA YMELRSLRSD DTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGT TVTV

[0189] 在一些实施例中,本文所述的CD47抗体与一种或多种另外的药剂或另外的药剂的组合联合使用。合适的另外的药剂包括用于预期应用例如癌症的当前药物和/或手术疗法。例如,CD47抗体可以与一种或多种另外的化学治疗剂或抗肿瘤剂联合使用。替代性地,另外的化学治疗剂是放疗。在一些实施例中,化学治疗剂是细胞死亡诱导剂。在一些实施例中,化学治疗剂诱导跨质膜的磷脂不对称性的丧失,例如引起磷脂酰丝氨酸(PS)的细胞表面暴露。在一些实施例中,化学治疗剂诱导内质网(ER)应激。在一些实施例中,化学治疗剂是蛋白酶体抑制剂。在一些实施例中,化学治疗剂诱导ER蛋白向细胞表面的易位。在一些实施例中,化学治疗剂诱导钙网蛋白的易位和细胞表面暴露。

[0190] 在一些实施例中,将CD47抗体和另外的药剂配制成单一治疗组合物,并同时施用该CD47抗体和另外的药剂。替代性地,该CD47抗体和另外的试剂彼此分开,例如,各自配制成单独的治疗组合物,并且该CD47抗体和另外的药剂同时施用,或者该CD47抗体和另外的药剂在治疗方案期间的不同时间施用。例如,该CD47抗体在施用另外的药剂之前施用,该CD47抗体在施用另外的药剂之后施用,或该CD47抗体和另外的药剂以交替方式施用。如本文所述,该CD47抗体和另外的药剂以单剂量或多剂量施用。

[0191] 在特定方面,本文提供的抗CD47抗体在位点特异性位置包含一个或多个非天然氨基酸残基。参见例如美国申请公开号US2014/0046030A1,该申请通过援引以其全文并入本文。在具体方面,位点特异性位置的非天然氨基酸残基对于抗体产量、溶解度、结合亲和力和/或活性具有优势。已经描述了非天然氨基酸的非限制性实例,参见例如美国申请公开号US 2014/0066598 A1。

[0192] 在一个特定方面,本文提供了缀合至缀合部分或诸如标记或毒素的药剂的抗CD47抗体。缀合部分可以是本领域技术人员认为有用的任何缀合部分。例如,缀合部分可以是可以在体外或体内改善抗体稳定性的聚合物,诸如聚乙二醇。缀合部分可以具有治疗活性,从而产生抗体-药物缀合物。缀合部分可以是对目标细胞有害的分子有效负载。缀合部分可以是可用于检测或诊断的标记。在某些方面,缀合部分通过直接共价键与抗体连接。在某些方面,缀合部分通过接头与抗体连接。在特定方面,缀合部分或接头通过抗CD47抗体的非天然氨基酸之一连接。已经描述了示例性缀合部分和接头,例如,参见美国申请公开号US2014/0046030A1,该申请通过援引以其全文并入本文。

[0193] 本文所述的免疫特异性结合CD47(例如,人CD47的ECD)的抗体或抗原结合片段可通过本领域已知的任何方法产生。

[0194] 本文所述的抗体可以例如包括嵌合抗体。嵌合抗体是其中抗体的不同部分衍生自不同免疫球蛋白分子的分子。例如,嵌合抗体可包含融合至人抗体恒定区的小鼠或大鼠单克隆抗体的可变区。用于产生嵌合抗体的方法在本领域中是已知的。参见例如Morrison, 1985, Science[科学]229:1202; Oi等人, 1986, BioTechniques[生物技术]4:214; Gillies等人, 1989, J. Immunol. Methods[免疫学方法杂志]125:191-202; 以及美国专利号5,807,715、4,816,567、4,816,397和6,331,415。

[0195] 使用诸如本文所述的那些技术产生的抗体或抗原结合片段可使用标准的熟知技术分离。例如,抗体或抗原结合片段可以通过常规免疫球蛋白纯化程序(例如,蛋白质A-琼脂糖、羟基磷灰石层析、凝胶电泳、透析或亲和层析)适当地与例如培养基、腹水、血清、细胞裂解物、合成反应物质等分离。如本文所用,“分离的”或“纯化的”抗体基本上不含来自抗体所源自的细胞或组织来源的细胞材料或其他蛋白质,或基本上不含化学合成时的化学前体或其他化学物质,或不含用于产生抗体的CF表达系统的组分。

[0196] 本文所述的抗体包括识别特定CD47抗原的抗体片段,并且可以通过本领域技术人员已知的任何技术生成。例如,可使用酶如木瓜蛋白酶(以产生Fab片段)或胃蛋白酶(以产生F(ab')₂片段)通过免疫球蛋白分子的蛋白水解裂解产生本文所述的Fab和F(ab')₂片段。Fab片段对应于抗体分子的两条相同臂中的一条并且包含与重链的VH和CH1结构域配对的完整轻链。F(ab')₂片段包含抗体分子的通过铰链区中的二硫键连接的两条抗原结合臂。替代性地,本文所述的抗体片段可以常规地通过熟知的重组表达技术产生。参见例如PCT公开号WO 92/22324; Mullinax等人, 1992, BioTechniques[生物技术]12(6):864-869; Sawai等人, 1995, AJRI[美国生殖免疫学杂志]34:26-34; 以及Better等人, 1988, Science[科学]240:1041-1043。

[0197] 本文所述的抗体可以例如包括人源化抗体,例如去免疫化或复合人抗体。人源化抗体可包含人恒定区序列。在某些实施例中,人源化抗体可以选自免疫球蛋白的任何类别,包括IgM、IgG、IgD、IgA和IgE; 以及任何同种型,包括IgG₁、IgG₂、IgG₃和IgG₄。在某些实施例中,人源化抗体可包含κ或λ轻链恒定序列。

[0198] 可以使用本领域已知的多种技术产生人源化抗体,包括但不限于CDR-移植(欧洲专利号EP 239,400; 国际公开号WO 91/09967; 以及美国专利号5,225,539、5,530,101和5,585,089)、贴面(veneering)或重铺(resurfacing)(欧洲专利号EP 592,106和EP 519,596; Padlan, 1991, Molecular Immunology[分子免疫学]28(4/5):489-498; Studnicka等人 1994, Protein Engineering[蛋白质工程]7(6):805-814; 以及Roguska等人, 1994, PNAS[美国国家科学院院刊]91:969-973)、链改组(美国专利号5,565,332)和例如以下文献中所述的技术:美国专利号6,407,213,美国专利号5,766,886, WO 9317105, Tan等人, J. Immunol. [免疫学杂志]169:1119-1125(2002), Caldas等人, Protein Eng. [蛋白质工程]13(5):353-60(2000), Morea等人, Methods[方法]20(3):267-79(2000), Baca等人, J. Biol. Chem. [生物化学杂志]272(16):10678-84(1997), Roguska等人, Protein Eng. [蛋白质工程]9(10):895-904(1996), Couto等人, Cancer Res. [癌症研究]55(23增刊):5973s-5977s(1995), Couto等人, Cancer Res. [癌症研究]55(8):1717-22(1995), Sandhu JS, Gene[基因]150(2):409-10(1994)以及Pedersen等人, J. Mol. Biol. [分子生物学杂志]235(3):959-73(1994)。另见美国专利公开US 2005/0042664 A1(2005年2月24日),它们各自通过援引以其全文并入本文。

[0199] 本文所述的抗体可以例如是多特异性(例如双特异性)抗体。已经描述了制备多特异性(例如双特异性)抗体的方法,参见例如美国专利号7951917、7183076、8227577、5837242、5989830、5869620、6132992和8586713。

[0200] 可以通过本领域熟知的方法产生单域抗体,例如缺少轻链的抗体。参见Riechmann等人,1999,J.Immunol.[免疫学杂志]231:25-38;Nuttall等人,2000,Curr.Pharm.Biotechnol.[当代药物生物技术]1(3):253-263;Muylderman,2001,J.Biotechnol.[生物技术杂志]74(4):277302;美国专利号6,005,079;以及国际公开号W0 94/04678、W0 94/25591和W0 01/44301。

[0201] 可以使用本领域已知的任何方法产生人抗体。例如,可使用不能表达功能性内源鼠免疫球蛋白,但可以表达人类免疫球蛋白基因的熟知的转基因小鼠。替代性地,例如,可以使用上述噬菌体展示技术。此外,在一些实施例中,人抗体可以例如使用小鼠-人杂交瘤产生。例如,用EB病毒(EBV)转化的人类外周血淋巴细胞可与小鼠骨髓瘤细胞融合,以产生分泌人类单克隆抗体的小鼠-人类杂交瘤,并且可以筛选这些小鼠-人类杂交瘤,以确定分泌免疫特异性结合目标抗原(例如,人CD47的ECD)的人类单克隆抗体的杂交瘤。此类方法是已知的并且在本领域中有描述,参见例如Shinmoto等人,Cytotechnology[细胞技术],2004,46:19-23;Naganawa等人,Human Antibodies[人抗体],2005,14:27-31。

[0202] 具有所需结合特异性(抗体-抗原结合位点)的抗体可变结构域可以与免疫球蛋白恒定结构域序列融合。融合体优选地具有免疫球蛋白重链恒定结构域,包含铰链、CH2和CH3区的至少一部分。优选的是,使含有轻链结合所必需的位点的第一重链恒定区(CH1)存在于至少一种融合体中。将编码免疫球蛋白重链融合体和如果需要的免疫球蛋白轻链的DNA插入单独的表达载体中,然后共转染到合适的宿主生物中。关于生成双特异性抗体的进一步细节,参见例如Suresh等人,Methods in Enzymology[酶学方法],121:210(1986)。

[0203] 根据W0 96/27011中描述的另一种方法,可以工程改造一对抗体分子之间的界面以最大化从重组细胞培养物中回收的异二聚体的百分比。优选的界面包含抗体恒定结构域的CH3区的至少一部分。在该方法中,来自第一抗体分子的界面的一条或多条小氨基酸侧链被较大的侧链(例如酪氨酸或色氨酸)代替。通过用较小的氨基酸侧链(例如丙氨酸或苏氨酸)代替大氨基酸侧链,在第二抗体分子的界面上产生与大侧链相同或相似大小的补偿“腔”。这提供了用于增加异二聚体相对于其他不需要的终产物诸如同二聚体的产量的机制。

[0204] 双特异性抗体可以制备成全长抗体或抗体片段(例如F(ab')₂双特异性抗体)。用于从抗体片段生成双特异性抗体的技术已在文献中有描述。例如,可以使用化学键合来制备双特异性抗体。Brennan等人,Science[科学]229:81(1985)描述了一种程序,其中通过对完整抗体进行蛋白水解裂解以生成F(ab')₂片段。在二硫醇络合剂亚砷酸钠存在下还原这些片段以稳定邻位二硫醇并防止分子间二硫键形成。然后将生成的Fab'片段转化为硫代硝基苯甲酸(TNB)衍生物。然后通过用巯基乙胺还原将Fab'-TNB衍生物之一转化为Fab'-硫醇,并与等摩尔量的其他Fab'-TNB衍生物混合以形成双特异性抗体。所产生的双特异性抗体可用作选择性固定酶的试剂。

[0205] 4.2.3药物组合物和试剂盒

[0206] 本文提供了包含一种或多种本文所述的蛋白质治疗剂的组合物、药物组合物和试

剂盒。本文还提供了包含单独的或与本文所述的蛋白质治疗剂组合的抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)的组合物、药物组合物和试剂盒。特别地,本文提供了包含一种或多种本文所述的抗体(例如,抗CD47抗体)或其抗原结合片段或其缀合物的组合物、药物组合物和试剂盒。在某些方面,本文所述的组合物(例如,药物组合物)可用于体外、体内或离体用途。用途的非限制性实例包括用于降低免疫原性的用途,用于调节(例如,抑制或诱导/增强)CD47活性的用途,以及用于管理或治疗障碍(例如癌症)的用途。在具体实施例中,本文提供了包含本文所述的抗体(例如,人源化抗体)(或其抗原结合片段)和药学上可接受的载剂或赋形剂的药物组合物。

[0207] 如本文所用,术语“药学上可接受的”意指由联邦或州政府的监管机构批准的或者美国药典、欧洲药典或其他公认药典中列出的在哺乳动物中且更具体地讲是在人类中使用的。

[0208] 含有一种或多种本文提供的抗体或其抗原结合片段的制剂可以通过将具有所需纯度的抗体与任选的生理学上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂混合来制备以供储存(Remington's Pharmaceutical Sciences[雷明顿药物科学](1990)宾夕法尼亚州伊斯顿马克出版公司(Mack Publishing Co.,Easton,PA);Remington:The Science and Practice of Pharmacy[雷明顿:药学技术与实践]第21版(2006)马里兰州巴尔的摩利平科特·威廉斯·威尔金斯出版公司(Lippincott Williams&Wilkins,Baltimore,MD))。此类制剂可以例如呈例如冻干制剂或水溶液的形式。适于施用本文提供的抗体的药物载剂包括本领域技术人员已知适合特定施用模式的任何此类载剂。可接受的载剂、赋形剂或稳定剂在所采用的剂量和浓度下对接受者无毒,并且包括缓冲剂,诸如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;和/或非离子表面活性剂,诸如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。

[0209] 用于体内施用的制剂可以是无菌的。这可以例如通过例如无菌过滤膜过滤而容易地实现。

[0210] 在具体方面,用于本文提供的方法的药物组合物在药学上可接受的载剂中含有治疗有效量的一种或多种本文提供的蛋白质治疗剂。在具体方面,用于本文提供的方法的药物组合物在药学上可接受的载剂中含有单独的或与一种或多种本文提供的蛋白质治疗剂组合的治疗有效量的抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)。在具体方面,用于本文提供的方法的药物组合物在药学上可接受的载剂中含有治疗有效量的一种或多种本文提供的抗体或抗原结合片段。此类药物组合物可用于预防、治疗、管理或改善本文所述的病症或障碍或其一种或多种症状。

[0211] 用于本文提供的方法的组合物可含有一种或多种本文提供的蛋白质治疗剂。用于本文提供的方法的组合物可以含有单独的或与本文提供的一种或多种蛋白质治疗剂组合的利妥昔单抗。用于本文提供的方法的组合物可以含有一种或多种本文提供的抗体或其抗原结合片段。在一个实施例中,提供了组合物,其中将本文所述的抗体或抗原结合片段配制成合适的药物制剂,诸如溶液、混悬液、粉剂、缓释制剂或无菌溶液中的酞剂或用于肠胃外施用的混悬液,或者经皮贴片制剂和干粉吸入剂。

[0212] 在一个实施例中,将用于本文提供的方法的组合物配制成供单剂量施用。为了配制组合物,将一定重量分数的化合物以使得减轻、预防所治疗的病症或者改善一种或多种症状的有效浓度溶解、悬浮、分散或以其他方式混合于所选的载剂中。

[0213] 在某些方面,抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)以有效量包含在药学上可接受的载剂中,该有效量足以在所治疗的患者不存在或具有最小或可忽略的不良副作用的情况下发挥治疗上有用的作用。

[0214] 在某些方面,用于本文提供的方法的蛋白质治疗剂以有效量包含在药学上可接受的载剂中,该有效量足以在所治疗的患者不存在或具有最小或可忽略的不良副作用的情况下发挥治疗上有用的作用。

[0215] 在某些方面,用于本文提供的方法的抗体以有效量包含在药学上可接受的载剂中,该有效量足以在所治疗的患者不存在或具有最小或可忽略的不良副作用的情况下发挥治疗上有用的作用。

[0216] 蛋白质治疗剂(例如抗CD47抗体)在用于本文提供的方法的药物组合物中的浓度将取决于例如抗体的物理化学特征、剂量方案和施用的量以及其他因素。

[0217] 提供用于本文所述的方法的药物组合物以供以单位剂量形式施用给人或动物(例如,哺乳动物),诸如含有适量化合物或其药学上可接受的衍生物的无菌肠胃外(例如,静脉内)溶液或混悬液。还提供药物组合物以供以单位剂量形式施用给人和动物,诸如片剂、胶囊剂、丸剂、粉剂、颗粒剂和口服或鼻用溶液或悬浮液,以及含有适量蛋白质治疗剂或其药学上可接受的衍生物的油-水乳液。在一个实施例中,蛋白质治疗剂以单位剂量形式或多剂量形式配制和施用。本文所用的单位剂量形式是指适用于人或动物(例如,哺乳动物)对象并独立包装的物理上离散的单位。每个单位剂量含有与所需药物载剂、媒介物或稀释剂结合的足以产生所需治疗效果的预定量的蛋白质治疗剂。单位剂量形式的实例包括安瓿和注射器以及独立包装的片剂或胶囊剂。单位剂量形式可以按其分数或倍数施用。多剂量形式是包装在单个容器中的多个相同的单位剂量形式,以按分离的单位剂量形式施用。多剂量形式的实例包括小瓶、片剂或胶囊剂瓶、或瓶子。因此,在具体方面,多剂量形式是不分开包装的单位剂量的倍数。

[0218] 在某些实施例中,用于本文所述方法的一种或多种蛋白质治疗剂是液体药物制剂。可在药学上施用的液体组合物可以例如通过将抗体和任选的药物佐剂溶解、分散或以其他方式混合在载剂中来制备,该载剂诸如为水、盐水、葡萄糖水溶液、甘油、二醇等,从而形成溶液或悬浮液。在某些实施例中,本文提供的待施用的药物组合物还可含有少量无毒辅助物质,诸如润湿剂、乳化剂、增溶剂和pH缓冲剂等。

[0219] 制备此类剂型的方法对于本领域技术人员来说是已知的,或者是显而易见的。例如,参见例如Remington's Pharmaceutical Sciences[雷明顿药物科学](1990)宾夕法尼亚州伊斯顿马克出版公司(Mack Publishing Co.,Easton,PA);Remington:The Science and Practice of Pharmacy[雷明顿:药学技术与实践]第21版(2006)马里兰州巴尔的摩利平科特·威廉斯·威尔金斯出版公司(Lippincott Williams&Wilkins,Baltimore,MD)。

[0220] 在一个实施例中,肠胃外施用的特征在于本文还设想了皮下、肌肉内或静脉内注射。注射剂能够以常规形式制备,或者作为液体溶液,或者作为悬浮液、在注射前适于在液体中形成溶液或悬浮液的固体形式、或作为乳液。注射剂、溶液和乳液还含有一种或多种赋形剂。合适的赋形剂是例如水、盐水、右旋糖、甘油或乙醇。其他施用途径可包括肠内施用、脑内施用、鼻腔施用、动脉内施用、心内施用、骨内输注、鞘内施用和腹膜内施用。

[0221] 用于肠胃外施用的制剂包括即用于注射的无菌溶液,准备在临用前与溶剂组合的

无菌干燥可溶性产品(诸如冻干粉)(包括皮下片剂),即用于注射的无菌悬浮液,准备在临用前与媒介物组合的无菌干燥不溶性产品,以及无菌乳液。溶液可以是水溶液或非水溶液。

[0222] 如果静脉内施用,则合适的载剂包括生理盐水或磷酸盐缓冲盐水(PBS),以及含有增稠剂和增溶剂诸如葡萄糖、聚乙二醇和聚丙二醇及其混合物的溶液。

[0223] 用于肠胃外制剂的药理学上可接受的载剂包括含水媒介物、非水媒介物、抗微生物剂、等渗剂、缓冲剂、抗氧化剂、局部麻醉剂、助悬剂和分散剂、乳化剂、螯合剂(sequestering agent或chelating agent)和其他药理学上可接受的物质。

[0224] 药物载剂还包括用于水混溶性媒介物的乙醇、聚乙二醇和丙二醇;以及用于pH调节的氢氧化钠、盐酸、柠檬酸或乳酸。

[0225] 在某些实施例中,用于本文所述方法的含有蛋白质治疗剂的无菌水溶液的静脉内或动脉内输注是有效的施用方式。另一个实施例是根据需要注射以产生所需药理学效果的含有用于本文所述方法的蛋白质治疗剂的无菌水或油溶液或悬浮液。

[0226] 在具体实施例中,用于本文所述方法的蛋白质治疗剂可以微粉化或其他合适的形式悬浮。所得混合物的形式取决于许多因素,包括预期的施用方式和化合物在所选载剂或媒介物中的溶解度。

[0227] 在其他实施例中,药物制剂是可以重构以作为溶液、乳液和其他混合物施用的冻干粉。它们也可以重构并配制成固体或凝胶。

[0228] 冻干粉可以例如通过在合适的溶剂中溶解用于本文提供的方法的蛋白质治疗剂来制备。在一些实施例中,冻干粉是无菌的。合适的溶剂可含有改善粉末或由粉末制备的重构溶液的稳定性或其他药理学组分的赋形剂。可以使用的赋形剂包括但不限于右旋糖、山梨糖醇、果糖、玉米糖浆、木糖醇、甘油、葡萄糖,蔗糖或其他合适的试剂。合适的溶剂还可以含有缓冲剂,诸如柠檬酸盐、磷酸钠或磷酸钾、或本领域技术人员已知的其他此类缓冲剂,在一个实施例中,其pH约为中性。随后对溶液进行无菌过滤,然后在本领域技术人员已知的标准条件下冻干,得到了制剂的实例。在一个实施例中,所得溶液将被分配到小瓶中用于冻干。冻干粉可以在适当的条件下储存,诸如在约4℃至室温下。

[0229] 用注射用水重构该冻干粉提供了用于肠胃外施用的制剂。为了重构,将冻干粉加入无菌水或其他合适的载剂中。

[0230] 在某些方面,用于本文提供的方法的蛋白质治疗剂可以被配制成用于局部施用或外用,例如以凝胶、乳膏和洗液的形式外用于皮肤和粘膜,诸如在眼睛中,以及用于眼睛或用于脑池内或脊柱内应用。设想了外用以用于透皮递送以及用于眼睛或粘膜施用,或用于吸入疗法。也可以施用单独的或与其他药理学上可接受的赋形剂组合的活性化合物的鼻用溶液。

[0231] 用于本文提供的方法的抗CD47抗体、抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)和其他蛋白质治疗剂也可以被配制成靶向待治疗的对象的特定身体组织、器官或其他区域。许多这样的靶向方法是本领域技术人员熟知的。所有这样的靶向方法在本文均设想用于本发明的组合物。对于靶向方法的非限制实例,参见例如美国专利号6,316,652、6,274,552、6,271,359、6,253,872、6,139,865、6,131,570、6,120,751、6,071,495、6,060,082、6,048,736、6,039,975、6,004,534、5,985,307、5,972,366、5,900,252、5,840,674、5,759,542和5,709,874。在一些实施例中,本文所述的抗CD47抗体靶向(或以其他方式施用给)视觉器官、骨髓、

胃肠道、肺、脑或关节。在具体实施例中,本文所述的抗CD47抗体能够穿过血脑屏障。

[0232] 5. 实例

[0233] 以说明的方式而不是以限制的方式提供此章节(即章节5)中的实例。

[0234] 5.1实例1:在食蟹猴中共同给药利妥昔单抗和抗CD47抗体

[0235] 本研究的目的是监测包含SEQ ID NO:50、72和52的重链可变区CDR和SEQ ID NO:53、71和55的轻链可变区CDR的人源化抗CD47抗体(下文中称为“抗CD47抗体”)当与利妥昔单抗或利妥昔单抗和甲氨蝶呤共同给药时的免疫原性,并评价其在食蟹猴中静脉内施用后对药代动力学的影响。

[0236] 在本研究的第一部分,抗CD47抗体作为四次静脉内注射(IV)以20mg/kg的剂量(第1至4剂)施用给3组食蟹猴(5只动物/组,共15只动物),第1组的施用时间是研究第1、8、15和22天,第2和3组的施用时间是研究第15、22、29和36天。利妥昔单抗作为四次静脉内注射在研究第1、8、15和22天以10mg/kg的剂量施用给第2和3组动物。甲氨蝶呤作为三次皮下注射在研究第15、16和18天以0.4mg/kg的剂量施用给第3组动物。

[0237] 在该研究的第二部分,抗CD47抗体作为单次静脉内注射在研究第78天以20mg/kg的剂量(第5剂)施用给第1和3组动物。甲氨蝶呤作为多次皮下注射在研究第71、72、74、78、79、81、88、95、102和109天以0.4mg/kg的剂量施用给第3组动物。

[0238] 将食蟹猴中在第一、第四和第五剂抗CD47抗体后的浓度数据用于药代动力学(PK)评估,以了解共同给药的药物对抗CD47抗体的PK的影响。通过在整个研究中每周测试血清中的抗药物抗体(ADA)效价(其中“药物”是抗CD47抗体)来评估抗CD47抗体的免疫原性。在整个研究过程中每周跟踪B细胞计数。

[0239] 单独用抗CD47抗体给药的所有动物(第1组)在第4剂之前变为ADA阳性。对于第1组的五只动物,第4剂后0至168小时的血清浓度-时间曲线下抗CD47抗体面积(AUC₀₋₁₆₈)(抗CD47抗体血清浓度的量度)为第1剂后AUC₀₋₁₆₈的3%-37%。

[0240] 血清转化后AUC的这种降低归因于ADA介导的游离抗CD47抗体暴露的减少。这些动物中的CD20+B细胞数在正常范围内。接受利妥昔单抗的所有动物(第2和3组)的外周CD20+B细胞数迅速减少,并且在接受第一剂利妥昔单抗后24小时内<100个细胞/ μ l。在第2和3组的10只动物中的8只中,B细胞数量在第一次利妥昔单抗剂量后第15天左右开始恢复。B细胞的这种恢复可归因于抗利妥昔单抗抗体,因为所有动物到第15天都具有可检测的抗利妥昔单抗抗体,而血清利妥昔单抗浓度相应降低。到第36天,显示出B细胞数量恢复的8只动物变为抗药物抗体(ADA)的存在呈阳性,效价在5至625之间变化,并且所有8只动物的暴露均有不同程度的降低,范围在第1剂后的AUC₀₋₁₆₈的2%-53%内。

[0241] 在维持显著的利妥昔单抗浓度的动物11和15中,外周CD20+B细胞计数保持可忽略不计,直至第36天,此时向这些动物施用第四剂抗CD47抗体。在有效B细胞耗竭的情况下接受所有4剂抗CD47抗体的这两只动物在长时间内保持ADA阴性,分别直到第71天和研究结束。第4剂后的抗CD47抗体浓度与第1剂后观察到的浓度相似,在动物11和15中,第4周AUC₀₋₁₆₈分别是第1周平均AUC的115%和83%。

[0242] 单独用抗CD47抗体(第1组)或用所有三种药剂的组合(第3组)处理的猴子随后在12周(第78天)再次用抗CD47抗体挑战。在有效B细胞耗竭减轻了ADA发展的两只动物11和15中,第12周的PK曲线与抗CD47抗体第1剂后的PK曲线相当,并且第12周的AUC₀₋₁₆₈为第一剂后

的平均AUC₀₋₁₆₈的127%和120%，从而证实在这些动物中没有ADA介导的暴露损失。另外，在这两只动物中血清抗药物抗体水平维持在低水平，在最后一剂后的三周内存在可检测的药物。

[0243] ADA阳性动物中的抗CD47抗体浓度在最后一剂后超过4天时低于定量限。这些数据表明利妥昔单抗对B细胞的耗竭降低了对抗CD47抗体的免疫应答，并且在长时间内增加了对药物的暴露。另外，在抗CD47抗体加利妥昔单抗或抗CD47抗体加利妥昔单抗加甲氨蝶呤处理的猴子中没有观察到毒性。

[0244] 5.2实例2:抗CD47抗体联合利妥昔单抗的临床研究

[0245] 本文描述了在患有晚期难治性实体癌和血液学癌症的对象中通过静脉内(IV)输注而施用的抗CD47抗体的开放标记、1期剂量递增和扩展研究。该研究由2部分组成。A部分是剂量递增阶段，该阶段利用递增剂量的抗CD47抗体，B部分是剂量递增和扩展阶段，其中抗CD47抗体与利妥昔单抗联合施用于患有CD20阳性非霍奇金淋巴瘤(NHL)的对象。基于对来自A部分的安全性、PK和药效动力学数据的回顾，可以在剂量递增阶段中确立的最大耐受剂量(MTD)和/或在较低剂量、或替代性可耐受给药方案下进行扩展。将修改的3+3剂量递增设计用于确定抗CD47抗体的初始毒性。在限定的给药方案中用抗CD47抗体治疗3至6名可评估对象的队列，并且在一名对象中出现剂量限制性毒性(DLT)的情况下，将队列扩展至6名可评估对象的完整队列。在给定的剂量队列中，可以在前3名对象完成第1周期之前招募4至6号对象以获得额外的安全性信息并确保有足够数量的可评估患者用于DLT评估。在给定的剂量递增队列中，每天招募不超过一名对象。

[0246] 剂量包括每周一次(QW) 0.3mg/kg IV和每2周一次(Q2W) 1、2、4、8、15和20mg/kg IV。在剂量递增期间，基于对先前剂量队列的临床和实验室安全性数据的回顾，做出评估较低剂量队列、中间剂量队列、交替给药间隔或宣布MTD的决定。所有治疗均以28天的周期施用，在第1天和第15天施用抗CD47抗体。在任何队列中施用第一剂后，在可以开始下一个较高的、方案指定的剂量队列之前，观察对象至少28天(周期1, DLT窗口)。

[0247] 队列1的起始剂量为在周期1的第1天0.3mg/kg，之后为1mg/kg QW。

[0248] 对于B部分，在先前已接受利妥昔单抗的复发性或难治性CD20阳性非霍奇金淋巴瘤对象中，在施用抗CD47抗体前两周，开始每周一次以375mg/m²进行的利妥昔单抗给药。在周期1之前和期间，利妥昔单抗的给药为四个每周一次的剂量(第-15天、第-8天、第-1天、第8天)，周期2-6为每个周期一次(第8天)，如果有反应，则之后每两个月一次，直到12个周期(周期8、10和12)。评估连续B细胞计数和PK。此外，PK、PD和ADA评估按照A部分进行。

[0249] 纳入标准：

[0250] 1. 男性和女性，18岁或以上，A部分中患有晚期、复发性或难治性实体瘤、多发性骨髓瘤(MM)或非霍奇金淋巴瘤(NHL)。

[0251] 在B部分中，仅包括复发性或难治性CD20阳性NHL对象。

[0252] 2. 在患有实体瘤和NHL的对象中至少有一个具有可测疾病的部位。

[0253] 3. 东部肿瘤协作组体能状态(ECOG PS)为0或1。

[0254] 4. 对象必须具有通过特定实验室标准评估的足够的造血、肝、肾和凝血功能。

[0255] 5. 女性和男性必须同意避孕方法并避免在整个研究期间以及在最后一剂抗CD47抗体后长达8周怀孕。如果参加B部分，则有生育能力的女性在利妥昔单抗治疗后应继续使

用有效的避孕方法达12个月

[0256] 排除标准:

[0257] 1. 高级别淋巴瘤(伯基特淋巴瘤或淋巴母细胞性淋巴瘤)、浆细胞白血病。

[0258] 2. 高级别、快速增殖的具有广泛肿瘤负荷的实体瘤(例如,小细胞肺癌、生殖细胞肿瘤、神经母细胞瘤)。

[0259] 3. 症状性中枢神经系统受累。

[0260] 4. 心脏功能受损或临床上显著的心脏病。

[0261] 5. 在开始抗CD47抗体之前<3个月,接受过在先的红细胞(RBC)输血。

[0262] 6. 在开始抗CD47抗体之前 \leq 3个月,接受过在先的自体干细胞移植。

[0263] 7. 在开始抗CD47抗体前 \leq 6个月,接受过采用标准或减量预处理的在先同种异体干细胞移植。

[0264] 8. 在开始抗CD47抗体前 \leq 5个半衰期或4周(以较短者为准),接受过在先的全身性癌症导向治疗或试验药物。

[0265] 9. 在开始抗CD47抗体前 \leq 2周,进行过大手术。

[0266] 10. 怀孕或正在哺乳的女性。

[0267] 11. 已知的HIV感染。

[0268] 12. 已知的慢性乙型肝炎或丙型肝炎(HBV/HCV)感染。

[0269] 13. 长期、治疗性给予抗凝血剂的治疗仍在继续。

[0270] 14. 自身免疫性溶血性贫血或自身免疫性血小板减少症病史。

[0271] 15. 需要积极、持续的全身治疗的第二种并发癌症病史。

[0272] 出于所有目的,本文引用的全部参考文献(例如,出版物或专利或专利申请)通过援引以其全文并入本文,达到如同每个单独的参考文献(例如,出版物或专利或专利申请)具体地或单独地指明出于所有目的通过援引以其全文并入的相同程度。

[0273] 其他实施例在以下权利要求的范围内。