202019957

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本　(11)公開編號：TW 202019957 A

(43)公開日： 中華民國 109 (2020) 年 06 月 01 日

(21)申請案號：108124511　(22)申請日： 中華民國 108 (2019) 年 07 月 11 日

(51)Int. Cl.：　*C07K16/22* (2006.01)　*C07K16/28* (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2018/07/11　美國　62/696,774

2018/08/23　美國　62/722,081

2018/11/09　美國　62/757,917

(71)申請人：美商供石公司 (美國) SCHOLAR ROCK, INC.　(US)

美國

(72)發明人：達塔　阿彼錫 DATTA, ABHISHEK (US)；舒爾柏夫　湯瑪斯 SCHURPF, THOMAS (CH)；卡庇里　艾倫 CAPILI, ALLAN (US)；瓦韋西克　史特凡 WAWERSIK, STEFAN (US)；查浦隆　克里斯多福 CHAPRON, CHRISTOPHER (US)；利特菲爾德　克里斯多夫 LITTLEFIELD, CHRISTOPHER (US)；卡紛　格雷戈瑞　J CARVEN, GREGORY J. (US)；戴格貝　凱文　B DAGBAY, KEVIN B. (PH)；林　珊珊 LIN, SUSAN (US)；傑克森　賈斯丁　W JACKSON, JUSTIN W. (US)；凱特琳　斯坦 STEIN,CAITLIN (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無　申請專利範圍項數：19 項　圖式數：19　共 515 頁

(54)名稱

TGFβ1 抑制劑及其用途

(57)摘要

本發明揭示能夠選擇性抑制 TGFβ1 之單株抗體及其抗原結合片段。亦揭示相關組合物、方法及治療用途。

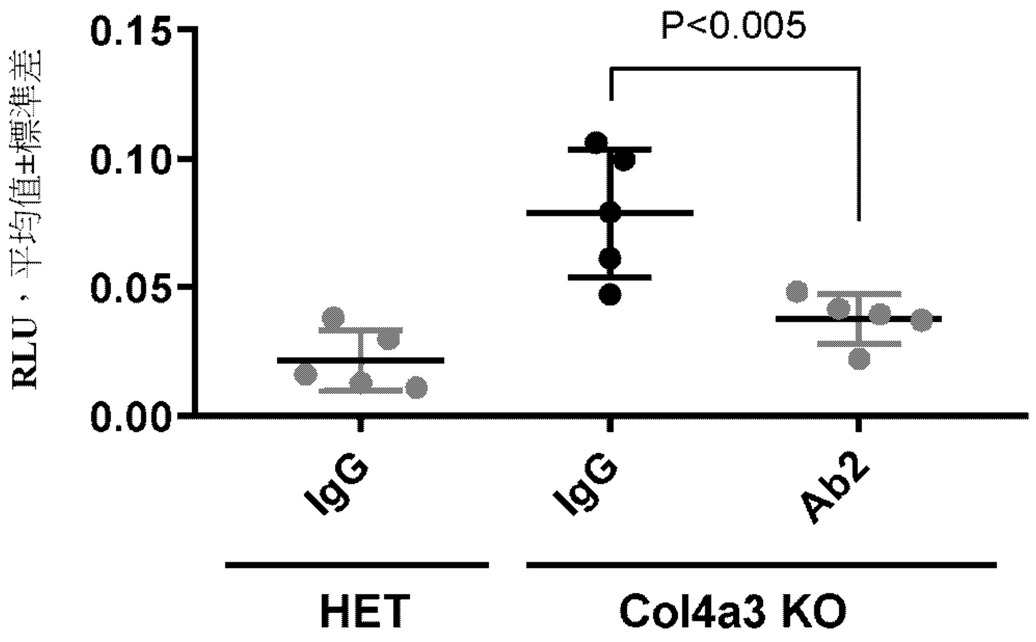
Disclosed herein are monoclonal antibodies and antigen-binding fragments thereof capable of selectively inhibiting TGFβ1. Related compositions, methods and therapeutic use are also disclosed.

指定代表圖：

符號簡單說明：

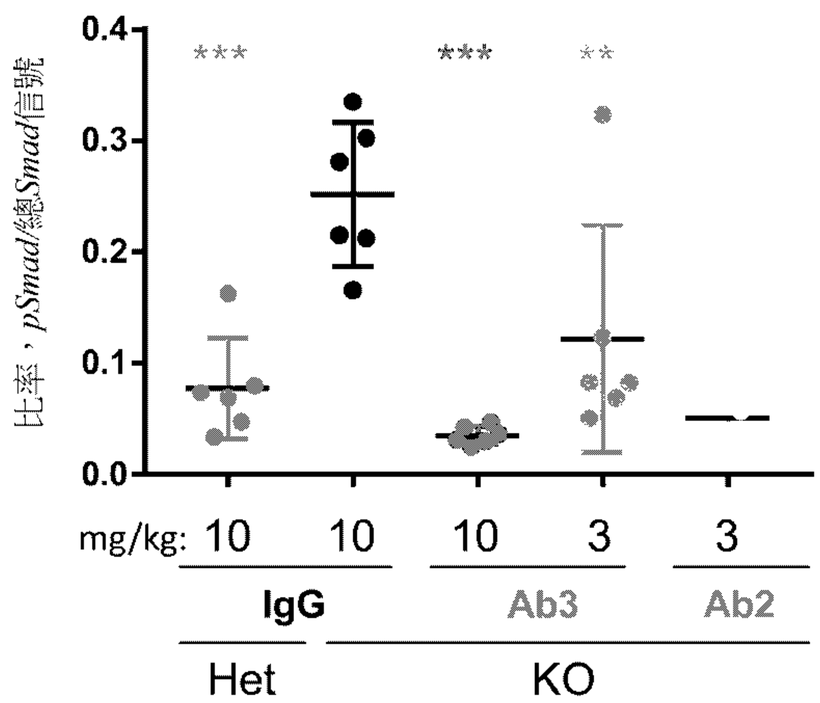
無

Ab2之單一劑量(10 mg/kg，投藥後48小時)抑制來自9週大
Col4a3 KO小鼠之腎臟中的pSmad2/3



【圖7A】

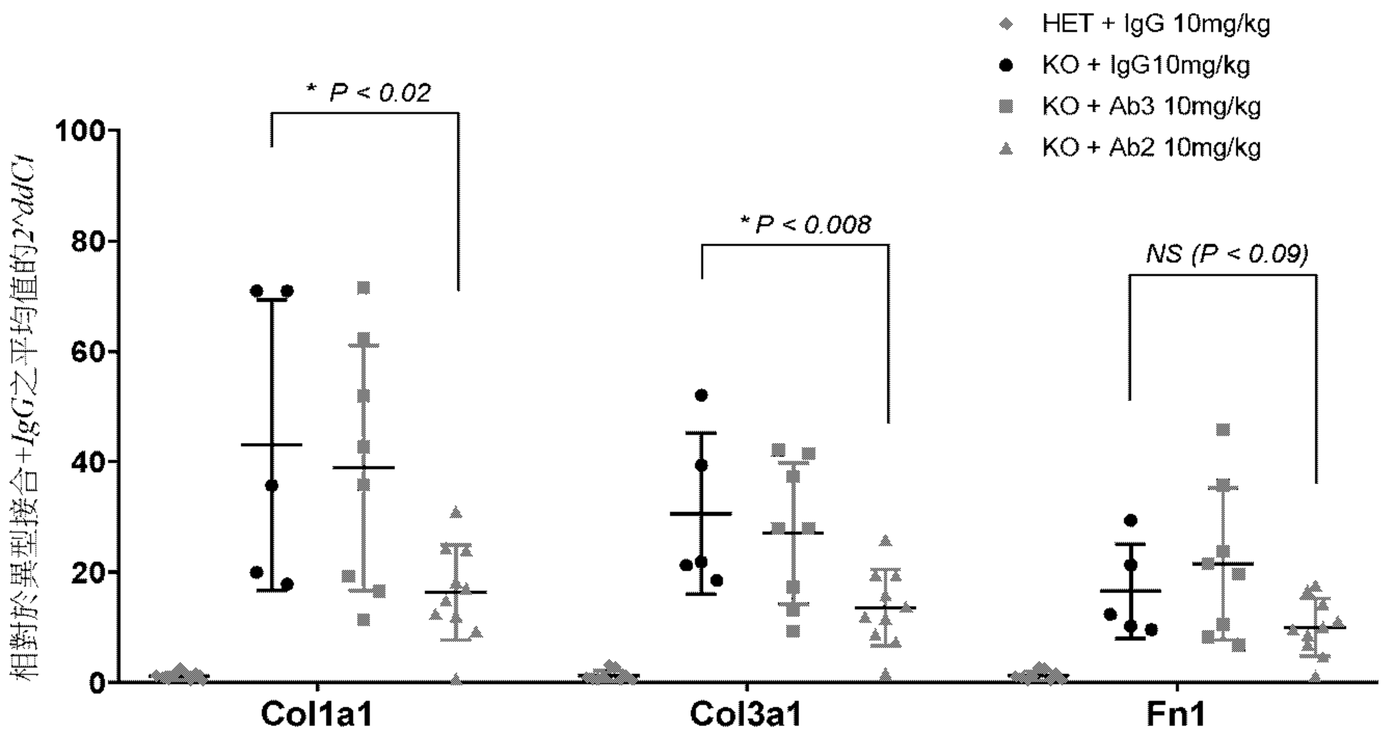
TGFβ1同工型特異性抗體對奧爾波特症候群之
遺傳模型中之pSmad2/3的影響



* P < 0.05 相對於KO + IgG
** P < 0.005
*** P < 0.0005

【圖7B】

TGFβ1同工型特異性抗體對奧爾波特症候群之遺傳模型中之纖維變性基因表現的影響



【圖7C】

202019957

【發明摘要】

【中文發明名稱】

TGFβ1抑制劑及其用途

【英文發明名稱】

TGFβ1 INHIBITORS AND USE THEREOF

【中文】

本發明揭示能夠選擇性抑制TGFβ1之單株抗體及其抗原結合片段。亦揭示相關組合物、方法及治療用途。

【英文】

Disclosed herein are monoclonal antibodies and antigen-binding fragments thereof capable of selectively inhibiting TGFβ1. Related compositions, methods and therapeutic use are also disclosed.

【指定代表圖】

圖7A-7C

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

TGFβ1抑制劑及其用途

【英文發明名稱】

TGFβ1 INHIBITORS AND USE THEREOF

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 轉型生長因子β1 (TGFβ1)，連同兩種其他結構相關之同工型，亦即TGFβ2及TGFβ3一起，為生長因子之TGFβ超家族之成員，其中之每一者係由獨立基因編碼。TGFβ充當調節細胞增殖、分化、免疫調節(例如，應變性免疫反應)以及內穩定與疾病情形兩者中的其他各種生物過程的多效性細胞介素。三種TGFβ同工型經由相同細胞表面受體進行信號傳遞且觸發類似典型下游信號轉導事件，包括SMAD2/3路徑。然而，小鼠中之基因基因剔除研究顯示各種表型，其表明各同工型在活體內起離散作用。此可在某種程度上藉由三種同工型之差異表現譜來達成。

【0002】 TGFβ1之生物功能具有多樣性。舉例而言，TGFβ1涉及多種生物過程，包括細胞生長之抑制、組織內穩定、細胞外基質(ECM)重塑、內皮-間葉轉化、細胞遷移及侵襲及免疫調節/抑制，以及上皮-間葉轉化。相對於ECM重塑，TGFβ信號傳遞可增加纖維母細胞群及ECM沈積(例如，膠原蛋白)。在免疫系統中，TGFβ配位體調節T調節細胞功能及免疫前驅體細胞生長及內穩定之維持。TGFβ調節異常與多種疾病病狀相關，諸如癌症、纖維化及免疫病症。

【0003】 出於此等及其他原因，TGFβ已視為針對纖維變性病狀、

免疫病症及各種增生性病症之治療的引人注目之治療目標。然而，來自臨床前研究(包括大鼠及狗中之研究)之觀測結果已顯示，與活體內TGFβ之全身性抑制相關的嚴重毒性。另外，儘管到目前為止已研發出若干TGFβ抑制劑，但大多數靶向TGFβ之臨床程序歸因於嚴重副作用之風險已中斷(概述於例如WO 2017/156500中)。因此，儘管有多種直接及間接證據指向在諸如纖維化及癌症之疾病的進展中涉及TGFβ信號傳遞，但到目前為止尚不存在安全及有效的市售TGFβ抑制劑。

【0004】 此前，申請者已描述經新穎作用機制起作用以調節生長因子信號傳遞之一類單株抗體(參見例如WO 2014/182676)。此等抗體經設計以利用以下事實：生長因子之TGFβ超家族沈積為由前域及生長因子構成之非活性(或「潛伏」)前體蛋白質複合物，其需要觸發成熟生長因子自潛伏複合物釋放之活化步驟。藉由利用此活化機制，申請者設法靶向細胞外生態棲位中所錨定之潛伏複合物。與直接靶向活化後之成熟生長因子本身(例如，中和抗體)或替代地阻斷其下游受體的傳統方法相比，抑制性抗體之新穎類別特異性結合前前體蛋白質複合物，藉此搶先阻斷活化步驟、配位體-受體相互作用之上游。據推論，此獨特作用機制應提供達成空間及時間益處之優點，原因在於其在來源處，亦即，藉由在活化進行之前靶向疾病微環境中之潛伏proTGFβ1(前體TGF)複合物而起作用。實際上，與可溶性活性物種(亦即，自來源釋放之後的成熟生長因子)相反，局部靶向來源處之經組織/細胞繫留之複合物的優點得到近期研究之進一步支持。Ishihara等人 (Sci. Transl. Med. 11, eaau3259 (2019) 「Targeted antibody and cytokine cancer immunotherapies through collagen affinity」)報導稱，相較於非靶向對應物，當經全身性地投與之藥物藉由

與膠原蛋白結合部分結合來靶向受影響組織時，其能夠增強抗腫瘤免疫力且減少治療相關毒性。

【0005】 因此，以同工型選擇性方式產生特異性結合TGFβ1且抑制TGFβ1之活化步驟(亦即，成熟生長因子自潛伏複合物釋放)的單株抗體(參見WO 2017/156500)。WO 2018/129329進一步描述能夠抑制與多種生物背景相關的TGFβ1之活化的同工型選擇性抑制劑。實際上，已顯示其中所述之抗體能夠靶向細胞外基質(ECM)締合之TGFβ1及免疫細胞締合之TGFβ1兩者，藉此阻斷TGFβ1自多個來源釋放，同時維持同工型特異性。揭示來自多個活體內模型的顯示同工型選擇性TGFβ1活化抑制劑之功效及安全性的資料，其證明此類抑制劑適用於治療涉及活體內ECM締合之TGFβ1及免疫細胞締合之TGFβ1兩者之調節異常的疾病。其中所呈現之資料證實了WO 2017/156500中所認識到的以下觀點：藉由活化抑制劑實現的TGFβ之同工型特異性抑制(與泛抑制相反)可活體內改善安全概況。

【0006】 儘管上文所述之早先研究已證明抗體能夠結合已知proTGFβ1-呈遞分子複合物中之每一者的實用性及活體外及活體內的抑制性活性，但本申請案之發明人提出產生具有增加之親和性、效能及治療功效的經改良之TGFβ1活化之抑制劑。

【發明內容】

【0007】 本文揭示TGFβ1之高親和性、高效、同工型選擇性抑制劑。根據本發明之TGFβ1選擇性抑制劑為單株抗體(包括免疫球蛋白及其抗原結合片段或部分)，其能夠選擇性地抑制TGFβ1信號傳遞且符合根據本文中之**表1**的第1至5類中之一或多者的抗體準則。在一些實施例中，抗體可由胺基酸序列，諸如CDR及可變區來界定。在一些實施例中，抗體可

由如藉由基於溶液平衡滴定之分析所測定的結合概況界定。

【0008】 本發明包括適用於向人類患者投與之組合物，諸如醫藥組合物(例如，調配物、藥劑)，其包含根據本發明之抗體中之至少一者或其片段及賦形劑。因此，根據本發明之抗體或其片段可用於該藥劑之製造中。

【0009】 本發明進一步提供此類抗體之治療用途。因此，本發明之TGFβ1選擇性抑制劑(例如，單株抗體或其抗原結合片段)可用於個體中之TGFβ1相關適應症之治療中。TGFβ1選擇性抑制劑可尤其有利於治療涉及細胞外基質之調節異常的此類疾病或病症，其包括例如纖維變性病症(諸如器官纖維化及涉及慢性發炎之纖維化)、增生性病症(諸如癌症，例如實體腫瘤及骨髓纖維化)、涉及內皮-間葉轉化(EndMT)之疾病、涉及上皮-間葉轉化(EMT)之疾病、涉及蛋白酶之疾病、伴隨本文中所述之某些標記物之異常基因表現的疾病。TGFβ1選擇性抑制劑可結合另一療法以組合療法(例如，附加療法)形式使用。本發明涵蓋用於治療此類疾病或病症之方法，其包含以單一療法或組合療法形式在個體中投與TGFβ1選擇性抑制劑。

【0010】 本發明包括選擇可能對TGFβ1抑制療法起反應或自其收益之個體或患者。相關診斷方法以及用於監測或測定對TGFβ1抑制療法之治療反應的方法涵蓋在本文中。

【0011】 本發明涵蓋用於鑑別或選擇適用於治療用途之TGFβ1選擇性抑制劑的過程及方法。選擇符合表1之類別中之一或多者的準則的一種抗體或複數種抗體。採用適合臨床前模型，在包含功效研究及毒理學/安全性研究之臨床前研究中評估所選抗體或所選複數種抗體。功效研究中測

定的一或多種抗體之有效量低於毒理學/安全性研究中測定的產生非所期望之毒性的量。較佳地，選擇具有至少3倍、6倍且更佳10倍治療窗之一或多種抗體。當每週投與一次時，根據本發明之抗體之有效量可在約0.1 mg/kg與約30 mg/kg之間。在較佳實施例中，當每週投配一次持續至少4週時，根據本發明之抗體之最大耐受劑量(MTD)> 100 mg/kg。

【圖式簡單說明】

【0012】 **圖1**為顯示LN229分析中LTBP1-proTGFβ活化之抑制的曲線圖。

【0013】 **圖2**為顯示LN229細胞中LTBP3-proTGFβ1複合物活化之抑制的曲線圖。

【0014】 **圖3**為顯示SW480β6分析中GARP-proTGFβ1活化之抑制的曲線圖。

【0015】 **圖4**為顯示SW480β6分析中LRRC33-proTGFβ1活化之抑制的曲線圖。

【0016】 **圖5A**為顯示UUO小鼠中Ab2或Ab3對膠原蛋白基因(Col1a1及Col3a1)之表現的影響的圖式。用3、10或30毫克/公斤/週之Ab3或3或10毫克/公斤/週之Ab2處理小鼠。單獨的IgG用作對照。

【0017】 **圖5B**為顯示UUO小鼠中Ab3或Ab2對Fn1及Loxl2基因之表現的影響的圖式。用3、10或30毫克/公斤/週之Ab3或3或10毫克/公斤/週之Ab2處理小鼠。單獨的IgG用作對照。

【0018】 **圖6**彙匯在UUO模型中進行處理之後，基因表現之變化的統計顯著性(相對於UUO + IgG)。

【0019】 **圖7A**及**圖7B**為顯示來自用及未用抗體Ab2及Ab3處理的奧

爾波特症候群(Alport syndrome)之基因模型的腎臟中磷酸化相對於總(磷酸化及未磷酸化) Smad2/3之相對比率的圖式。**圖7C**為顯示Ab3及Ab2對來自奧爾波特症候群之基因模型的腎臟中的基因表現的圖式。

【0020】 **圖8A**為顯示6、8、10及12週時，CDHFD小鼠模型中Ab2之血清暴露量的圖式。**圖8B**為顯示Ab2對來自經CDHFD處理之小鼠的肝臟組織中的Smad2/3磷酸化之影響的圖式。**圖8C**為顯示經減少之磷酸化Smad2/3與Ab2暴露量之間的相關性的圖式。**圖8D**為顯示Ab3及Ab2對來自經CDHFD處理之小鼠的肝臟組織中的Smad2/3磷酸化之影響的比較結果的圖式。**圖8E**為顯示如藉由羥脯胺酸量所量測，Ab3及Ab2對肝纖維化之影響的圖式。**圖8F**為顯示藉由IHC的Ab2對經CDHFD處理之小鼠中的α-Col1之影響的圖式。**圖8G**為顯示Ab2暴露量與經降低之α-Col1量之間的相關性的圖式。

【0021】 **圖9**為顯示肝纖維化之CCL4小鼠模型中Ab3及Ab2對天狼星紅染色(picrosirius red staining；PRS)之影響的圖式。

【0022】 **圖10A**提供Ab3 Fab-LTBP3:proTGFβ1複合物之HDX-MS熱圖。**圖10B**顯示proTGFβ1之表面及帶狀結構上的受Ab3保護之區域。**圖10C**提供Ab2 Fab-proTGFβ1 C4S複合物之HDX-MS熱圖。**圖10D**顯示proTGFβ1之表面及帶狀結構上的受Ab2保護之區域。

【0023】 **圖11**提供結合至proTGFβ1之Ab2 Fab的晶體結構。

【0024】 **圖12A**描繪根據來自1週大鼠毒理學研究之泛TGFβ抗體的微觀心臟結果。**圖12B**描繪根據來自4週大鼠毒理學研究之相較於ALK5抑制劑或泛TGFβ抗體的Ab3之微觀心臟結果。**圖12C**及**圖12D**描繪根據來自4週大鼠毒理學研究之相較於ALK5抑制劑或泛TGFβ抗體的Ab3及Ab2之

微觀心臟、骨及肺臟結果。

【0025】 **圖13A至圖13D**提供TGFβ同工型之相對表現。**圖13A**顯示相對於正常比較物之TGFβ同工型表現(根據癌症類型)。**圖13B**顯示藉由人類癌症類型的TGFβ同工型表現之出現率。**圖13C**顯示根據癌症類型的個別腫瘤樣本中之TGFβ同工型表現。**圖13D**顯示小鼠同基因型癌細胞株模型中之TGFβ同工型表現。

【0026】 **圖14**為顯示MBT-2腫瘤模型中與抗PD1 ($P < 0.05$，曼-惠特尼U測試(Mann-Whitney U test))組合，在30 mg/kg或10 mg/kg下投與Ab3或在3 mg/kg或10 mg/kg下投與Ab2之後，隨時間(天數)推移量測的腫瘤生長(腫瘤體積(mm^3))之變化的圖式。單獨抗PD1用作對照。

【0027】 **圖15**為顯示MBT-2腫瘤模型中與抗PD1 ($P < 0.05$，曼-惠特尼U測試)組合，在30 mg/kg或10 mg/kg下投與Ab3或在3 mg/kg或10 mg/kg下投與Ab2之小鼠中在第15天之中值腫瘤體積(mm^3)的圖式。

【0028】 **圖16**提供顯示S91中值腫瘤體積隨時間之變化的圖式。組合組表示兩種劑量下之兩種不同同工型選擇性TGFβ1抑制劑(Ab3及Ab2)，各與抗PD-1處理組合。

【0029】 **圖17A**及**圖17B**提供經CD8+細胞標記物染色之S91腫瘤模型之代表性免疫組織化學切片。**圖17A**為來自用單獨抗PD-1處理之動物的腫瘤切片。**圖17B**為來自用抗PD-1及代表性非背景依賴性TGFβ1抑制劑兩者處理之動物的腫瘤切片。

【0030】 **圖18A**及**圖18B**提供經巨噬細胞標記物染色之S91腫瘤之代表性免疫組織化學切片。**圖18A**為來自用單獨抗PD-1處理之動物的腫瘤切片。**圖18B**為來自用抗PD-1及代表性非背景依賴性TGFβ1抑制劑兩者處理

之動物的腫瘤切片。

【0031】 **圖19**提供顯示不同pH下Ab2與TGFβ1 C4S之締合及解離的圖式。

【實施方式】

相關申請案

【0032】 本申請案主張2018年7月11日申請的美國臨時申請案第62/696,774號、2018年8月23日申請的美國臨時申請案第62/722,081號及2018年11月9日申請的美國臨時申請案第62/757,917號之權益及優先權，其各自之全部內容以明確引用之方式併入本文中。

定義

【0033】 為了使本發明可較易於理解，首先定義某些術語。此等定義應根據本發明之其餘部分來閱讀且如一般熟習此項技術者所理解。除非另外定義，否則本文所用之所有技術及科學術語具有如一般熟習此項技術者通常理解之相同的含義。在通篇[實施方式]中，闡述其他定義。

【0034】 *晚期癌症*、*晚期惡性疾病*：如本文所用，術語「晚期癌症」或「晚期惡性疾病」具有相關技術中所理解之含義，例如在診斷或治療患有癌症之個體/患者之情形下如由腫瘤學家理解之含義。伴隨實體腫瘤之晚期惡性疾病可為局部晚期或轉移性的。術語「局部晚期癌」用於描述已生長至癌症開始出現之器官外，但尚未擴散至身體之遠端部位的癌症(例如，腫瘤)。因此，該術語包括已自癌症開始出現處擴散至鄰近組織或淋巴結的癌症。相比之下，「轉移癌」為已自癌症開始出現之身體部位(原發位點)擴散至身體之其他部位(例如，遠端部位)的癌症。

【0035】 *親和性*：親和性為分子(諸如抗體)與其配位體(諸如抗原)

之結合強度。其通常藉由平衡解離常數(KD)來量測及報導。在抗體-抗原相互作用之情形下，KD為抗體解離速率(「解離速率(off rate)」或Koff或Kdis) (抗體自其抗原解離之快速程度)與抗體之抗體締合速率(「締合速率(on rate)」或Kon) (其結合至其抗原之快速程度)的比率。舉例而言，經適合活體外結合分析測定，親和性為≤ 5 nM之抗體的KD值為5 nM或更低(亦即，5 nM或更高親和性)。可使用適合活體外分析來量測抗體對於其抗原之KD值，諸如生物層干涉術(BLI)及溶液平衡滴定(例如，MSD-SET)。

【0036】 *抗體*：術語「抗體」涵蓋任何天然存在、重組、經修飾或經工程改造之免疫球蛋白或類免疫球蛋白結構或其抗原結合片段或部分，或其衍生物，如本文中其他處進一步所述。除非相反地說明，否則如本文所用，術語「抗原」應涵蓋其抗原結合片段及功能變異體。因此，該術語係指特異性結合至目標抗原之免疫球蛋白分子，且包括嵌合、人類化、完全人類及雙特異性抗體。完整抗體通常將包含至少兩條全長重鏈及兩條全長輕鏈，但在一些情況下可包括較少鏈，諸如駱駝中天然存在之抗體可僅包含重鏈。抗體可僅源自單一來源，或可為「嵌合」的，亦即，抗體之不同部分可源自兩種不同抗體。抗體或其抗原結合部分可在融合瘤中，藉由重組DNA技術或藉由完整抗體之酶促或化學裂解產生。如本文所用，術語抗體分別包括單株抗體、雙特異性抗體、微型抗體、域抗體、合成性抗體(有時在本文中稱為「抗體模擬物」)、嵌合抗體、人類化抗體、人類抗體、抗體融合物(有時在本文中稱為「抗體結合物」)。在一些實施例中，該術語亦涵蓋肽體。

【0037】 *抗原*：術語「抗原」廣義上包括在抗體或結合片段特異性

結合的一或多個結合區中包含抗原決定子之任何分子。抗原可為單一單元分子(諸如蛋白質單體或片段)或由多重組分構成之複合物。抗原提供抗原決定基，例如分子或分子之一部分，或分子或分子之部分的複合物，其能夠經選擇性結合劑，諸如抗原結合蛋白(包括抗體)結合。因此，選擇性結合劑可特異性結合至由兩種或更多種組分形成的呈複合物形式之抗原。在一些實施例中，抗原能夠用於動物中以產生能夠結合至彼抗原之抗體。抗原可具有一或多個能夠與不同抗原結合蛋白，例如抗體相互作用之抗原決定基。在本發明之情形下，適合抗原為含有與呈遞分子締合之proTGF二聚體的複合物(例如，由相締合之多重組分構成的多聚複合物)。proTGF二聚體之各單體包含前域及生長因子域，其藉由弗林蛋白酶(furin)裂解序列分隔。兩種此類單體形成proTGF二聚體複合物。此轉而經由二硫鍵與呈遞分子共價締合，其涉及接近於proTGF單體中之每一者之N端存在的半胱胺酸殘基。藉由結合至呈遞分子之proTGF二聚體所形成的此多重複合物一般稱作大型潛伏複合物。適用於篩選抗體或抗原結合片段之抗原複合物例如包括大型潛伏複合物之呈遞分子組分。此類呈遞分子組分可為全長呈遞分子或其一或多個片段。呈遞分子之所需最小部分通常含有呈遞分子多肽之至少50個胺基酸，但更佳至少100個胺基酸，該呈遞分子多肽包含能夠形成與proTGFβ1二聚體之共價鍵的兩個半胱胺酸殘基。

【0038】 *抗原結合部分/片段*：如本文所用，術語抗體之「抗原結合部分」或「抗原結合片段」係指保留特異性結合至抗原(例如，TGFβ1)之能力的抗體之一或多個片段。抗原結合部分包括(但不限於)特異性結合抗原以形成複合物的任何天然存在、可酶促獲得、合成性或經基因工程改造之多肽或糖蛋白。在一些實施例中，抗體之抗原結合部分可例如使用任何

適合之標準技術自完整抗體分子衍生，該等技術諸如蛋白水解消化或重組基因工程改造技術，其涉及編碼抗體可變域及視情況存在之恆定域之DNA之操縱及表現。抗原結合部分之非限制性實例包括：(i) Fab片段，由VL、VH、CL及CH1域組成之單價片段；(ii) F(ab')2片段，包含經鉸鏈區處之二硫橋鍵連接的兩個Fab片段的二價片段；(iii)Fd片段，其由VH及CH1域組成；(iv)Fv片段，其由抗體之單臂之VL及VH域組成；(v)單鏈Fv (scFv)分子(參見例如Bird等人 (1988) SCIENCE 242:423-426；及Huston等人 (1988) PROC. NAT'L. ACAD. SCI. USA 85:5879-5883)；(vi)dAb片段(參見例如Ward等人 (1989) NATURE 341: 544-546)；及(vii)最小識別單位，其由模仿抗體之高變區(例如，經分離之互補決定區(CDR))的胺基酸殘基組成。亦涵蓋單鏈抗體之其他形式，諸如雙功能抗體。術語抗體之抗原結合部分包括「單鏈Fab片段」，另外稱為「scFab」，其包含抗體重鏈可變域(VH)、抗體恆定域1 (CH1)、抗體輕鏈可變域(VL)、抗體輕鏈恆定域(CL)及連接子，其中該等抗體域及該連接子沿N端至C端方向具有以下次序中之一者：a) VH-CH1-連接子-VL-CL；b) VL-CL-連接子-VH-CH1；c) VH-CL-連接子-VL-CH1或d) VL-CH1-連接子-VH-CL；且其中該連接子為至少30個胺基酸，較佳在32與50個胺基酸之間的多肽。

【0039】 *偏向*：在本發明之情形下，術語「偏向」係指對或針對抗體能夠特異性結合之一小類抗原的偏斜或不平等親和性。舉例而言，當對一種抗原複合物之親和性及對另一抗原複合物之親和性不等(例如，親和性相差超過五倍)時，則稱抗體具有偏向。本發明之較佳抗體包括「*基質偏向性*」(或「*LTBP偏向性*」)抗體，其優先結合EMC締合之複合物(LTBP1-proTGFβ1及LTBP3-proTGFβ)，使得基質締合之複合物中之至少

一者與細胞締合之複合物(GARP-proTGFβ1及/或LRRC33-proTGFβ1複合物)中之至少一者之間的相對親和性超過五倍。相比之下，表徵為「無偏向」之抗體對此類抗原複合物具有大致相等親和性(例如，親和性差異低於五倍)。

【0040】 *結合區*：如本文所用，「結合區」為抗原(例如，抗原複合物)之一部分，當結合至抗體或其片段時，其可形成抗體-抗原相互作用之界面。抗體結合後，結合區變得「受保護」而避免表面暴露，其可由適合技術，諸如HDX-MS偵測。抗體-抗原相互作用可經由多個(例如，兩個或更多個)結合區介導。結合區可包含抗原決定子或抗原決定基。

【0041】 *癌症*：如本文所用，術語「癌症」係指多細胞真核生物中，通常以不受調控之細胞增殖及惡性疾病為特徵的生理病狀。該術語廣義上涵蓋實體及液體惡性疾病，包括腫瘤、血液癌症(例如，白血病、淋巴瘤及骨髓瘤)以及骨髓纖維化。

【0042】 細胞締合之*TGFβ1/proTGFβ1*：該術語係指經膜結合(例如，繫於細胞表面)之TGFβ1或其信號傳遞複合物(例如，proTGFβ1/潛伏TGFβ1))。典型地，此類細胞為免疫細胞。藉由GARP或LRRC33呈遞之TGFβ1為細胞締合之TGFβ1。GARP及LRRC33為在特定細胞之細胞表面上表現的跨膜呈遞分子。GARP-proTGFβ1及LRRC33-proTGFβ1可統稱為「細胞締合之」(或「細胞表面」)proTGFβ1複合物，其介導細胞締合之(例如，免疫細胞締合之)TGFβ1活化/信號傳遞。可計算抗體(或其片段)對GARP-proTGFβ1複合物及LRRC33-proTGFβ1複合物之平均KD值以共同表示對細胞締合之(例如，免疫細胞締合之)proTGFβ1複合物的親和性。參見例如表，欄(G)。呈遞分子或呈遞分子複合物之人類對應物可由

蛋白質或蛋白質複合物之前的「h」指示，例如「hGARP」、「hGARP-proTGFβ1」、「hLRRC33」及「hLRRC33-proTGFβ1」。

【0043】*檢查點抑制劑*：在本發明之情形下，檢查點抑制劑係指免疫檢查點抑制劑且帶有如此項技術中理解之含義。通常，目標為T細胞或NK細胞上之受體分子或抗原呈遞細胞(APC)或腫瘤細胞上之相應細胞表面配位體。免疫檢查點在免疫細胞中活化會阻止針對「自體」產生的發炎免疫力。因此，經由檢查點抑制改變免疫系統之平衡應允許其充分活化以偵測及消除癌症。涉及免疫反應之控制的最佳已知抑制受體為細胞毒性T淋巴球抗原-4 (CTLA-4)、計劃性細胞死亡蛋白1 (PD-1)、PD-L1、T細胞免疫球蛋白域及黏蛋白域-3 (TIM3)、淋巴球活化基因3 (LAG3)、殺手細胞類免疫球蛋白受體(KIR)、糖皮質激素誘導之腫瘤壞死因子受體(GITR)及T細胞活化的含V域免疫球蛋白(Ig)之抑制因子(VISTA)。檢查點抑制劑之非限制性實例包括：納武單抗(Nivolumab)、派姆單抗(Pembrolizumab)、BMS-936559、阿特珠單抗(Atezolizumab)、艾維路單抗(Avelumab)、德瓦魯單抗(Durvalumab)、伊匹單抗(Ipilimumab)、曲美單抗(Tremelimumab)、IMP-321、BMS-986016及利瑞路單抗(Lirilumab)。Keytruda®為PD-1抑制劑之一個實例。採用免疫檢查點抑制劑中之一或多者的療法或治療方案可稱為檢查點阻斷療法(CBT)。

【0044】*臨床益處*：如本文所用，術語「臨床益處」意欲包括療法之功效及安全性兩者。因此，達成期望臨床益處之治療性治療為有效且安全的(例如，伴隨可耐受或可接受之毒性或不良事件)。

【0045】*組合療法*：「組合療法」係指包含兩種或更多種治療劑的針對臨床適應症之治療方案。因此，該術語係指其中結合包含第二組合物

(活性成分)之第二療法向患者投與包含第一組合物(例如，活性成分)之第一療法的治療方案，其意欲治療相同或重疊的疾病或臨床病狀。第一和第二組合物可均對相同細胞目標或對離散細胞目標起作用。在組合療法之情形下，片語「結合」意謂在接受組合療法之個體中，第一療法之治療作用暫時及/或在空間上與第二療法之治療作用重疊。因此，組合療法可調配為用於療法之同時投與之單一調配物或用於療法之連續投與的獨立調配物。當向已用治療疾病之第一療法治療的個體投與第二療法以治療相同疾病時，該第二療法可稱為「附加療法」或「輔助療法」。

【0046】 *組合(combinatory/combinatorial)抗原決定基*：組合抗原決定基為在一位點經組合抗體識別且結合之抗原決定基(亦即，抗原決定子)，其係藉由抗原之一或多種組分的非相鄰部分形成，該等部分以三維結構形式緊靠在一起以形成抗原決定基。因此，本發明之抗體可結合藉由proTGFβ1/潛伏TGFβ1複合物之兩種或更多種組分(例如，部分或區段)形成的抗原決定基。組合抗原決定基可包含來自複合物之第一組分的一或多個胺基酸殘基及來自複合物之第二組分的一或多個胺基酸殘基等。各組分可具有抗原複合物之單一蛋白質或兩種或更多種蛋白質。組合抗原決定基係由抗原或抗原複合物之兩種或更多種組分(例如，部分或區段，諸如胺基酸殘基)經結構比重形成。

【0047】 *競爭或交叉競爭*：當用於為同一抗原決定基競爭之抗原結合蛋白(例如，抗體或其抗原結合部分)之情形下時，術語「競爭」意謂抗原結合蛋白之間的競爭，如藉由其中所測試之抗原結合蛋白阻止或抑制(例如，降低)參考抗原結合蛋白特異性結合至共同抗原(例如，TGFβ1或其片段)的分析所測定。可使用多種類型之競爭結合分析來判定一種抗原

結合蛋白是否與另一抗原結合蛋白競爭，例如：固相直接或間接放射免疫分析(RIA)；固相直接或間接酶免疫分析(EIA)；夾心競爭分析；固相直接生物素-抗生蛋白EIA；固相直接標記分析及固相直接標記夾心分析。通常,當競爭抗原結合蛋白過量存在時，其將抑制(例如，降低)參考抗原結合蛋白特異性結合至共同抗原至少40至45%、45至50%、50至55%、55至60%、60至65%、65至70%、70至75%或75%或更多。在一些情況下，結合被抑制至少80至85%、85至90%、90至95%、95至97%或約97%或更多。在一些實施例中，第一抗體或其抗原結合部分及第二抗體或其抗原結合部分相對於相同抗原彼此交叉阻斷、舉例而言，如由BLI (諸如Biacor或Octet®)，使用標準測試條件，例如根據製造商之說明書(例如，在室溫，約20至25℃下分析之結合)所分析。在一些實施例中，第一抗體或其片段及第二抗體或其片段可具有相同抗原決定基。在其他實施例中，第一抗體或其片段及第二抗體或其片段可具有不相同但重疊之抗原決定基。在又其他實施例中，第一抗體或其片段及第二抗體或其片段可具有獨立(不同)抗原決定基，其在三維空間中極為接近，使得抗體結合經由位阻交叉阻斷。「交叉阻斷」意謂第一抗體結合至抗原阻止第二抗體結合至同一抗原，且類似地，第二抗體與抗原之結合阻止第一抗體結合至同一抗原。

【0048】 *互補決定區(CDR)*：如本文所用，術語「CDR」係指在抗體可變序列內之互補決定區。重鏈及輕鏈之可變區中各自存在三個CDR，對於各可變區，該等CDR命名為CDR1、CDR2及CDR3。如本文中所用，術語「CDR組」係指存在於可結合抗原之單一可變區中的一組三個CDR。此等CDR之準確邊界已根據不同系統以不同方式加以界定。Kabat (Kabat等 人(1987; 1991) Sequences of Proteins of Immunological

Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md.)所述之系統 不僅提供適用於抗體之任何可變區的明確殘基編號系統，而且亦提供界定該三個CDR之精確殘基邊界。此等CDR可稱為Kabat CDR。Chothia及同事(Chothia及Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917；Chothia等人 (1989) Nature 342: 877-883)發現，Kabat CDR內之某些子部分採用幾乎一致的肽主鏈構形，儘管在胺基酸序列層面上具有極大差異性。此等次部分表示為L-CDR1、L-CDR2及L-CDR3或H-CDR1、H-CDR2及H-CDR3， 其 中「L」及「H」分別表示輕鏈區及重鏈區。此等區可稱為Chothia CDR，其具有與Kabat CDR重疊之邊界。界定與Kabat CDR重疊之CDR的其他邊界已由Padlan (1995) FASEB J. 9: 133-139及MacCallum (1996) J. Mol. Biol. 262(5): 732-45所述。又其他CDR邊界定義可不嚴格遵循本文系統中之一者，但仍然將與Kabat CDR重疊，但其可根據特定殘基或殘基群或甚至全部CDR不顯著影響抗原結合之預測或實驗發現經縮短或延長(參見例如：Lu X等人, MAbs. 2019年1月;11(1):45-57)。本文中所用之方法可利用根據此等系統中之任一者界定之CDR，但某些實施例使用經Kabat或Chothia界定之CDR。

【0049】 *構形抗原決定基*：構形抗原決定基為呈三維構形，而非呈相同胺基酸序列之未摺疊肽的經構形抗體識別且結合之抗原決定基。構形抗原決定基可稱為構形特異性抗原決定基、構形依賴性抗原決定基或構形敏感性抗原決定基。特異性結合此類抗原決定基之相應抗體或其片段可稱為構形特異性抗體、構形選擇性抗體或構形依賴性抗體。抗原結合至構形抗原決定基視抗原或抗原複合物之三維結構(構形)而定。

【0050】 *恆定區/恆定域*：免疫球蛋白恆定域係指重鏈或輕鏈恆定

域。人類IgG重鏈及輕鏈恆定域胺基酸序列為此項技術中已知的。

【0051】 *背景偏向(context-biased)*：如本文所用，「背景偏向性抗體」係指一種構形抗體之類型，當抗原與相互作用蛋白質或其片段締合(亦即結合或附接)時，該等抗體以差異親和性結合抗原。因此，特異性結合proTGFβ1內抗原決定基的背景偏向性抗體可以差別親和性結合LTBP1-proTGFβ1、LTBP3-proTGFβ1、GARP-proTGFβ1及LRRC33-proTGFβ1。舉例而言，若相較於對細胞締合之proTGFβ1複合物(例如，GARP-proTGFβ1及LRRC33-proTGFβ1)，抗體對基質締合之proTGFβ1複合物(例如，LTBP1-proTGFβ1及LTBP3-proTGFβ1)的親和性較高，則該抗體稱為「基質偏向的」。[基質締合之複合物]:[細胞締合之複合物]之相對親和性可藉由取前者之平均KD值，取後者之平均KD值，且計算兩者之比率來獲得，如本文中所例示。背景偏向性抗體亦可相對於其他呈遞分子-proTGFβ1複合物對或針對一種呈遞分子-proTGFβ1複合物有偏向，使得對後者之親和性(如藉由KD所量測)分別比前者之平均值弱或強超過10倍。

【0052】 *非背景依賴性*：根據本發明，結合proTGFβ1之「非背景依賴性抗體」遍及四種已知呈遞分子-proTGFβ1複合物，亦即LTBP1-proTGFβ1、LTBP3-proTGFβ1、GARP-proTGFβ1及LRRC33-proTGFβ1具有相等親和性。非背景依賴性抗體亦可表徵為「無偏向」或「平衡」的。通常，非背景依賴性抗體顯示親和性方面不超過五倍之偏向，使得如藉由適合活體外結合分析，諸如表面電漿子共振、生物層干涉術(BLI)及/或溶液平衡滴定(例如，MSD-SET)所量測，基質締合之複合物與細胞締合之複合物之間的KD量測值之相對比率不超過5。

【0053】 *ECM締合之TGFβ1/proTGFβ1*：該術語係指TGFβ1或其信號傳遞複合物(例如，前/潛伏TGFβ1)，其為細胞外基質(例如，沈積至細胞外基質中)之組分。藉由LTBP1或LTBP3呈遞之TGFβ1為ECM締合之TGFβ1。LTBP對於TGFβ在ECM中的適當沈積及後續生物可用性至關重要，其中咸信原纖維蛋白(Fbn)及纖維結合蛋白(FN)為負責LTBP與ECM締合之主要基質蛋白。可計算抗體(或其片段)對LTBP1-proTGFβ1複合物及LTBP3-proTGFβ1複合物的平均KD值以共同表示對ECM締合(或基質締合)之proTGFβ1複合物的親和性。參見例如表，欄(D)。呈遞分子或呈遞分子複合物之人類對應物可由蛋白質或蛋白質複合物之前的「h」指示，例如「hLTBP1」、「hLTBP1-proTGFβ1」、「hLTBP3」及「hLTBP3-proTGFβ1」。

【0054】 *有效量*：「有效量」(或治療有效量，或治療劑量)為在患者群中達成統計學上顯著之臨床效益(例如，功效)的劑量、濃度或給藥方案。舉例而言，已顯示Ab2在臨床前模型中在低至3 mg/kg或更小及高達30 mg/kg之劑量下為有效的。因此，可稱Ab2之有效量在約3至30 mg/kg之間。

【0055】 *有效腫瘤控制*：術語「有效腫瘤控制」可用於指對治療起反應而達成之腫瘤消退之程度，其中舉例而言，腫瘤消退呈指標腫瘤體積之限定百分率(諸如<25%)。舉例而言，在特定模型中，若指標腫瘤體積設定為2,000 mm^3，則腫瘤減小至小於500 mm^3(假定臨限值<25%)，達成有效腫瘤控制。因此，有效腫瘤控制涵蓋完全消退。

【0056】 *效應T細胞*：如本文所用，效應T細胞為對刺激，諸如協同刺激即刻積極反應之T淋巴球，且包括(但不限於)CD4+ T細胞(亦稱為T輔

助細胞或Th細胞)及CD8+ T細胞(亦稱為細胞毒性T細胞)。Th細胞在免疫過程中輔助其他白血球，包括B細胞成熟為漿細胞及記憶B細胞以及細胞毒性T細胞及巨噬細胞之活化。由於此等細胞在其表面上表現CD4糖蛋白，因此其亦稱為CD4+ T細胞。當輔助T細胞藉由表現於抗原呈遞細胞(APC)之表面上的MHC II類分子呈現有肽抗原時，其變得活化。在活化後，其快速分裂且分泌調節或輔助活性免疫反應之稱為細胞介素的小型蛋白質。此等細胞可分化成若干亞型，包括Th1、Th2、Th3、Th17、Th9或TFh，該等亞型分泌不同細胞介素以促進不同類型之免疫反應。自APC進行之信號傳遞引導T細胞呈特定亞型。另一方面，細胞毒性(殺手) T細胞(TC細胞、CTL、T殺手細胞、殺手T細胞)破壞經病毒感染之細胞及癌細胞，且亦涉及移植排斥。由於此等細胞在其表面處表現CD8糖蛋白，因此其亦稱為CD8+ T細胞。此等細胞藉由結合至與存在於所有成核細胞之表面上的MHC I類分子締合之抗原來識別其目標。細胞毒性效應細胞(例如，CD8+細胞)包括例如穿孔蛋白及顆粒酶B。

【0057】 *抗原決定基*：術語「抗原決定基」亦可稱為抗原決定子，其為可經結合劑、免疫球蛋白或T細胞受體特異性結合的分子決定子(例如，多肽決定子)。抗原決定基決定子包括分子之化學活性表面基團(諸如胺基酸、糖側鏈、磷醯基或磺醯基)，且在某些實施例中，其可具有特定三維結構特徵及/或特定電荷特徵。抗體或抗體之抗原結合片段所識別之抗原決定基為與抗體或片段之CDR (例如，互補位點)相互作用的抗原之結構元件。抗原決定基可藉由來自若干胺基酸殘基之作用形成，該等胺基酸殘基與抗體之CDR相互作用以產生特異性。抗原片段可含有多於一個抗原決定基。在某些實施例中，在蛋白質及/或大分子之複合混合物中，當

抗體識別其目標抗原時，該抗體特異性結合抗原。

【0058】 *纖維化*：術語「纖維化」或「纖維變性病狀/病症」係指特徵為組織或器官中之細胞外基質(ECM)組分(諸如膠原蛋白)病理性積聚的過程或表現。

【0059】 *纖維變性微環境*：術語「纖維變性微環境」係指組織中的局部疾病生態棲位，其中活體內存在纖維化。纖維變性微環境可包含疾病相關分子特徵(一組趨化因子、細胞介素等)、疾病相關細胞群(諸如活化巨噬細胞、MDSC等)以及疾病相關ECM環境(ECM組分及/或結構有變化)。纖維變性微環境被認為會支持纖維母細胞以TGFβ依賴性方式轉化成α-平滑肌肌動蛋白陽性肌纖維母細胞。纖維變性微環境之進一步特徵可為浸潤特定免疫細胞(諸如巨噬細胞及MDSC)。

【0060】 *GARP-TGFβ1複合物*：如本文所使用，術語「GARP-TGFβ1複合物」(或「GARP-proTGFβ1複合物」)係指包含轉型生長因子-β1 (TGFβ1)蛋白之前體蛋白質形式或潛伏形式及以糖蛋白-A重複序列為主型蛋白(GARP)或其片段或變異體的蛋白質複合物。在一些實施例中，TGFβ1蛋白之前體蛋白質形式或潛伏形式可稱為「proTGFβ1蛋白/潛伏TGFβ1蛋白」。在一些實施例中，GARP-TGFβ1複合物包含經由一或多個二硫鍵與proTGFβ1/潛伏TGFβ1共價連接之GARP。本質上，此類共價鍵由接近於proTGFβ1二聚體複合物之N端(例如，胺基酸位置4)存在的半胱胺酸殘基形成。在其他實施例中，GARP-TGFβ1複合物包含與proTGFβ1/潛伏TGFβ1非共價連接之GARP。在一些實施例中，GARP-TGFβ1複合物為天然存在之複合物，例如細胞中之GARP-TGFβ1複合物。術語「hGARP」表示人類GARP。

【0061】 *人類抗體*：如本文所用，術語「人類抗體」意欲包括具有源自人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區及恆定區的抗體。本發明之人類抗體可包括例如CDR，且尤其CDR3中非由人類生殖系免疫球蛋白序列編碼的胺基酸殘基(例如，藉由活體外無規或定點突變誘發或藉由活體內體細胞突變引入之突變)。然而，如本文所用，術語「人類抗體」並不意欲包括源自另一種哺乳動物物種(諸如小鼠)之生殖系之CDR序列已移植於人類構架序列上的抗體。

【0062】 *人類化抗體*：術語「人類化抗體」係指包含來自非人類物種(例如小鼠)之重鏈及輕鏈可變區序列但該VH及/或VL序列之至少一部分已變成較「類人類(human-like)」，亦即，更類似於人類生殖系可變序列。一種人類化抗體類型為其中人類CDR序列引入非人類VH及VL序列中以置換對應非人類CDR序列的CDR移植抗體。「人類化抗體」亦為免疫特異性地結合至相關抗原，且包含實質上具有人類抗體之胺基酸序列的FR區及實質上具有非人類抗體之胺基酸序列的CDR區的抗體或其變異體、衍生物、類似物或片段。如本文所用，術語「實質上」在CDR之情形下係指CDR之胺基酸序列與非人類抗體CDR之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%一致性。人類化抗體實質上包含所有至少一個且通常兩個可變域(Fab、Fab'、$F(ab')_2$、FabC、Fv)，其中所有或實質上所有CDR區對應於非人類免疫球蛋白(亦即，供體抗體)之CDR區且所有或實質上所有FR區係具有人類免疫球蛋白共同序列之FR區。在一實施例中，人類化抗體亦包含免疫球蛋白Fc區之至少一部分，通常人類免疫球蛋白之Fc區之至少一部分。在一些實施例中，人類化抗體含有輕鏈以及至少重鏈之可變域。抗體亦可包括重鏈之CH1、鉸鏈、

CH2、CH3及CH4區。在一些實施例中，人類化抗體僅含人類化輕鏈。在一些實施例中，人類化抗體僅含人類化重鏈。在特定實施例中，人類化抗體僅含輕鏈及/或人類化重鏈之人類化可變域。

【0063】 *氫/氘交換質譜(HDX-MS)*：HDX-MS為用於藉由量測溶劑可接近性之程度來查詢蛋白質確認及溶液中的蛋白質-蛋白質相互作用的熟知技術。參見例如，Wei等人, (2014) Drug Discov Today 19(1): 95-102. 「Hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry for probing higher order structure of protein therapeutics: methodology and applications」。HDX-MS技術可用於測定經抗體結合之一或多個區(亦即，「一或多個結合區」)。因此，該(等)結合區可含有或形成抗原決定基。

【0064】 免疫抑制(*Immunosuppression/immunosuppressive*)：該術語係指抑制免疫細胞,諸如T細胞、NK細胞及B細胞之能力。用於評估免疫抑制功能之最高準則為抑制T細胞活性，其可包括抗原特異性抑制及非特異性抑制。調節T細胞(Treg)及MDSC可視為免疫抑制細胞。M2極化巨噬細胞(例如，TAM)亦可表徵為免疫抑制的。

【0065】 同工型特異性/選擇性：術語「同工型特異性」或「同工型選擇性」係指藥劑判別一種同工型與其他結構相關同工型之能力(亦即，選擇性)。同工型特異性TGFβ抑制劑在給定濃度下對TGFβ之一種同工型，而非對TGFβ之其他同工型施加其抑制活性。舉例而言，同工型特異性TGFβ1抗體選擇性地結合TGFβ1。相對於TGFβ2或TGFβ3，TGFβ1特異性抑制劑(抗體)以實質上較高親和性優先靶向(結合，藉此抑制)TGFβ1同工型。舉例而言，此情形下之選擇性可指如藉由活體外結合分析，諸如

Octet®及Biacor®所量測，各別親和性相差至少500至1000倍。在一些實施例中，選擇性使得當以一定劑量使用時，抑制劑會有效地活體內抑制TGFβ1，而不抑制TGFβ2及TGFβ3。舉例而言，抗體可以約1 pM之親和性優先結合TGFβ1，同時同一抗體可以約0.5至50 nM結合TGFβ2及/或TGFβ3。為了使此類抑制劑適用作達成期望效應之治療性劑量(例如，治療有效量)，其必須處於以下窗內，在該窗內抑制劑可有效地抑制TGFβ1同工型而不抑制TGFβ2或TGFβ3。

【0066】 *分離*：如本文所用，「分離」抗體係指實質上不含具有不同抗原特異性的其他抗體之抗體。在一些實施例中，分離抗體實質上不含其他非預期細胞物質及/或化學物質。

【0067】 *局部*：在本發明之情形下，術語「局部」(如在「局部腫瘤」中)係指解剖學上分離或可分離之異常，諸如實體惡性疾病，其與全身性疾病相對。某些白血病，例如可具有針對疾病的局部組分(例如骨髓)及全身性組分(例如循環血細胞)。

【0068】 *LRRC33-TGFβ1複合物*：如本文所用，術語「LRRC33-TGFβ1複合物」(或「LRRC33-proTGFβ1複合物」)係指轉型生長因子-β1(TGFβ1)蛋白質之前體蛋白質形式或潛伏形式與含富白胺酸重複序列之蛋白質33 (LRRC33；亦稱為活性含氧物之負調節劑或NRROS)或其片段或變異體之間的複合物。在一些實施例中，LRRC33-TGFβ1複合物包含經由一或多個二硫鍵與proTGFβ1/潛伏TGFβ1共價連接之LRRC33。本質上，此類共價鍵由接近於proTGFβ1二聚體複合物之N端(例如，胺基酸位置4)存在的半胱胺酸殘基形成。在其他實施例中，LRRC33-TGFβ1複合物包含與proTGFβ1/潛伏TGFβ1非共價連接之LRRC33。在一些實施例中，

LRRC33-TGFβ1複合物為天然存在之複合物，例如細胞中之LRRC33-TGFβ1複合物。術語「hLRRC33」表示人類LRRC33。

【0069】*LTBP1-TGFβ1複合物*：如本文所用，術語「LTBP1-TGFβ1複合物」(或「LTBP1-proTGFβ1複合物」)係指包含轉型生長因子-β1 (TGFβ1)蛋白質之前體蛋白質形式或潛伏形式與潛伏TGF-β結合蛋白1(LTBP1)或其片段或變異體的蛋白質複合物。在一些實施例中，LTBP1-TGFβ1複合物包含經由一或多個二硫鍵與proTGFβ1/潛伏TGFβ1共價連接之LTBP1。本質上，此類共價鍵由接近於proTGFβ1二聚體複合物之N端(例如，胺基酸位置4)存在的半胱胺酸殘基形成。在其他實施例中，LTBP1-TGFβ1複合物包含與proTGFβ1/潛伏TGFβ1非共價連接之LTBP1。在一些實施例中，LTBP1-TGFβ1複合物為天然存在之複合物，例如細胞中之LTBP1-TGFβ1複合物。術語「hLTBP1」表示人類LTBP1。

【0070】*LTBP3-TGFβ1複合物*：如本文所用，術語「LTBP3-TGFβ1複合物」(或「LTBP3-proTGFβ1複合物」)係指包含轉型生長因子-β1 (TGFβ1)蛋白質之前體蛋白質形式或潛伏形式與潛伏TGF-β結合蛋白3(LTBP3)或其片段或變異體的蛋白質複合物。在一些實施例中，LTBP3-TGFβ1複合物包含LTBP3經由一或多個二硫鍵與proTGFβ1/潛伏TGFβ1共價連接。本質上，此類共價鍵由接近於proTGFβ1二聚體複合物之N端(例如，胺基酸位置4)存在的半胱胺酸殘基形成。在其他實施例中，LTBP3-TGFβ1複合物包含LTBP3與proTGFβ1/潛伏TGFβ1非共價連接。在一些實施例中，LTBP3-TGFβ1複合物為天然存在之複合物，例如細胞中之LTBP3-TGFβ1複合物。術語「hLTBP3」表示人類LTBP3。

【0071】*M2或類M2巨噬細胞*：M2巨噬細胞表示一小類活化或極

化巨噬細胞，且包括纖維變性及腫瘤微環境中的疾病相關之巨噬細胞。M2極化巨噬細胞之細胞表面標記物通常包括CD206及CD163 (亦即，CD206+/CD163+)。申請者近年來發現，M2極化巨噬細胞亦可表現細胞表面LRRC33。M2巨噬細胞之活化主要由IL-4、IL-13、IL-10及TGFβ促進；其分泌活化該等巨噬細胞之相同細胞介素(IL-4、IL-13、IL-10及TGFβ)。此等細胞具有較高吞噬能力且產生ECM組分、血管生成及趨化性因子。由巨噬細胞釋放TGFβ可維持纖維變性組織中的肌纖維母細胞活化、EMT及EndMT誘導。舉例而言，M2巨噬細胞對於TGFβ驅動肺纖維化必不可少。

【0072】*基質締合之proTGFβ1*： LTBP1及LTBP3為呈細胞外基質(ECM)之組分的呈遞分子。LTBP1-proTGFβ1及LTBP3-proTGFβ1可統稱為「ECM締合之」(或「基質締合之」)proTGFβ1複合物，其介導ECM締合之TGFβ1活化/信號傳遞。

【0073】*最大耐受劑量(MTD)*：在安全性/毒理學考慮因素之情形下，術語MTD通常係指評估有無觀測到的不良反應量(NOAEL)的測試製品(諸如TGFβ1抑制劑)之最高量。舉例而言，基於四週毒理學研究，大鼠中的Ab2之NOAEL為所評估之最高劑量(100 mg/kg)，其表明Ab2之MTD > 100 mg/kg。

【0074】*Meso-Scale Discovery*：「Meso-Scale Discovery」或「MSD」為一種採用高結合碳電極來捕獲蛋白質(例如，抗體)的免疫分析之類型。抗體可與特定抗原一起培育，可用與電化學發光標記結合之二級抗體偵測其結合。出現電信號後，可量測光強度以對樣本中之分析物進行定量。

【0075】 *骨髓纖維化*：「骨髓纖維化」，亦稱為骨性骨髓纖維化，為相對罕見的骨髓增生性病症((例如，癌症)，其屬於稱作骨髓增生病之疾病類別且包括原發性骨髓纖維化及繼發性骨髓纖維化。特徵在於骨髓及其他部位處的造血幹細胞之異常純系之增殖的骨髓纖維化引起纖維化或骨髓經疤痕組織替代。骨髓纖維化之特徵在於突變，其引起下游JAK路徑上調或過度活化。

【0076】 *骨髓衍生之抑制細胞*：骨髓衍生之抑制細胞(MDSC)為多種病理性病狀期間產生的異質細胞群，且認為其表示單核細胞之活化之病理狀態及相對較不成熟之嗜中性白血球。MDSC包括至少兩類細胞，其稱為i) 「顆粒球性」(G-MDSC)或多形核(PMN-MDSC)，其在表型及形態上與嗜中性白血球相似；及ii)單核球性(M-MDSC)，其在表型及形態上與單核球相似。MDSC之特徵在於一組獨特的基因體及生物化學特徵，且可藉由特異性表面分子來區分。舉例而言，人類G-MDSC/PMN-MDSC通常表現細胞表面標記物CD11b、CD33、CD15及CD66。此外，人類G-MDSC/PMN-MDSC亦可表現HLA-DR及/或精胺酸酶。相比之下，人類M-MDSC通常表現細胞表面標記物CD11b、CD33及CD14。MDSC亦可表現CD39及CD73以介導涉及器官纖維化(諸如肝纖維化及肺纖維化)、癌症及骨髓纖維化的腺苷信號傳遞。此外，人類M-MDSC亦可表現HLA-DR。除了此類細胞表面標記物之外，MDSC之特徵在於抑制免疫細胞，諸如T細胞、NK細胞及B細胞之能力。MDSC之免疫抑制功能可包括非抗原特異性功能之抑制及抗原特異性功能之抑制。MDSC可表現細胞表面LRRC33及/或LRRC33-proTGFβ1。

【0077】 *肌纖維母細胞*：肌纖維母細胞為具有纖維母細胞及平滑肌

細胞之某些表型的細胞，且一般表現波形蛋白、α-平滑肌肌動蛋白(α-SMA；人類基因ACTA2)及帕拉丁蛋白(paladin)。在涉及細胞外基質調節異常(諸如基質硬度增加)的多種疾病病狀中，正常纖維母細胞以TGFβ依賴性方式變得去分化成肌纖維母細胞。TGFβ之異常過度表現在肌纖維母細胞驅動病變中為常見的。已知TGFβ會促成肌纖維母細胞分化、細胞增殖及基質產生。纖維變性微環境中之肌纖維母細胞或肌纖維母細胞樣細胞可稱為纖維化相關纖維母細胞(或「FAF」)，且腫瘤微環境中之肌纖維母細胞或肌纖維母細胞樣細胞可稱為癌症相關纖維母細胞(或「CAF」)。

【0078】 *泛TGFβ抑制劑/TGFβ之泛抑制*：術語「泛TGFβ抑制劑」或「TGFβ之泛抑制劑」係指能夠抑制或拮抗TGFβ之全部三種同工型的任何藥劑。此類抑制劑可為TGFβ同工型之小分子抑制劑。該術語包括泛TGFβ抗體，其係指能夠結合至TGFβ同工型中之每一者，亦即TGFβ1、TGFβ2及TGFβ3的任何抗體。在一些實施例中，泛TGFβ抗體結合且中和全部三種同工型之活性，亦即TGFβ1、TGFβ2及TGFβ3之活性。抗體1D11 (或人類類似物福萊索單抗(Fresolimumab) (GC1008))為中和TGFβ之全部三種同工型的泛TGFβ抗體之熟知實例。小分子泛TGFβ抑制劑之實例包括高倫替布(galunisertib) (LY2157299單水合物)，其為介導所有三種TGFβ同工型之信號傳遞的TGFβ受體I激酶/ALK5的拮抗劑。

【0079】 *效能*：如本文所用，術語「效能」係指藥物，諸如具有抑制活性之抑制性抗體(或片段)相對於產生限定作用的該藥物之濃度或量之活性。舉例而言，能夠在給定劑量下產生某些作用的抗體要比為產生等效作用需要兩倍該量(劑量)之另一抗體強效。效能可在基於細胞之分析，諸如TGFβ活化/抑制分析中量測。通常，在能夠結合至抗原之相同或重疊結

合區的抗體(例如，交叉阻斷抗體)中，具有較高親和性(較低KD值)之抗體往往會顯示出比具有較低親和性(較高KD值)之抗體要高的效能。

【0080】*呈遞分子*：在本發明之情形下，呈遞分子係指可與潛伏前體蛋白質(例如，proTGFβ1)形成共價鍵，且在細胞外生態棲位(諸如ECM或免疫細胞表面)中「呈遞」非活性複合物，藉此在活化事件出現之前維持其潛伏。已知的proTGFβ1之呈遞分子包括：LTBP1、LTBP3、GARP(亦稱為LRRC32)及LRRC33，其可分別形成呈遞分子-proTGFβ1複合物，亦即，LTBP1-proTGFβ1、LTBP3-proTGFβ1、GARP-proTGFβ1及LRRC33-proTGFβ1。LTBP1及LTBP3為細胞外基質(ECM)之組分；因此，LTBP1-proTGFβ1及LTBP3-proTGFβ1可統稱為「ECM締合之」(或「基質締合之」)proTGFβ1複合物，其介導ECM締合之TGFβ1信號傳遞/活性。另一方面，GARP及LRRC33為表現於某些細胞之細胞表面上之跨膜蛋白；因此，GARP-proTGFβ1及LRRC33-proTGFβ1可統稱為「細胞締合之」(或「細胞表面」)proTGFβ1複合物，其介導細胞締合之(例如，免疫細胞締合之) TGFβ1信號傳遞/活性。

【0081】*保護(避免溶劑暴露)*：在蛋白質-蛋白質相互作用，諸如抗體-抗原結合的基於HDX-MS之評定之情形下，蛋白質(例如，含有抗原決定基的蛋白質之區域)暴露於溶劑，藉此使得質子交換發生的程度與結合/相互作用之程度逆相關。因此，當本文中所述之抗體結合至抗原之區域時，結合區「受保護」而避免暴露於溶劑，因為蛋白質-蛋白質相互作用會阻止結合區以避免可經周圍溶劑接近。因此，受保護區指示相互作用之位點。通常，適合溶劑為生理緩衝液。

【0082】*proTGFβ1*：如本文所用，術語「proTGFβ1」意欲涵蓋在

複合物中包含TGFβ1之前域序列的非活性TGFβ1二聚體複合物之前驅體形式。因此，該術語可包括proTGFβ1形式以及潛伏TGFβ1形式。表述「proTGFβ1/潛伏TGFβ1」可互換使用。「前」TGFβ1形式在弗林蛋白酶位點處發生蛋白質裂解之前存在。裂解後，所得形式稱為TGFβ1之「潛伏」形式。「潛伏」複合物在觸發進一步活化，諸如整合素驅動活化事件之前保持締合。proTGFβ1複合物係由與二硫鍵連接之二聚TGFβ1前體蛋白質多肽構成。潛伏二聚體複合物經由proTGFβ1多肽中之每一者之位置4處的半胱胺酸殘基(Cys4)共價連接至單一呈遞分子。形容詞「潛伏」可通常用於描述經整合素介導或其他活化事件之前，TGFβ1之「非活性」狀態。proTGFβ1多肽含有前域(LAP)及生長因子域(SEQ ID NO: 24)。

【0083】 *消退*：腫瘤或腫瘤生長之消退可用作活體內功效量度。在臨床前環境中，中值腫瘤體積(MTV)及消退反應治療功效之準則(Criteria for Regression Responses Treatment efficacy)可由在最後一天，研究中剩餘的動物之腫瘤體積測定。治療功效亦可由在研究期間觀測到的消退反應之發生率及大小來測定。在動物中治療可使腫瘤部分消退(PR)或完全消退(CR)。對療法(例如，藥物之投與)起反應而達成之完全消退可稱為「完全反應」，且達成完全反應之個體可稱為「完全反應者」。在臨床前腫瘤模型之一些實施例中，PR反應定義為對於研究過程期間的三次連續量測，腫瘤體積為其第1天體積之50%或更小，且對於此等三次量測中之一或多者而言，等於或大於13.5 mm^3。在一些實施例中，CR反應定義為對於研究過程期間的三次連續量測，腫瘤體積低於13.5 mm^3。在臨床前模型中，研究結束時具有CR反應之動物可另外歸類為無腫瘤存活者(TFS)。術語「有效腫瘤控制」可用於指對治療起反應而達成之腫瘤消退之程度，其

中舉例而言，腫瘤體積縮小至小於指標腫瘤體積之25%。舉例而言，在特定模型中，若指標腫瘤體積為2,000 mm^3，則若腫瘤縮小至小於500 mm^3，即達成有效腫瘤控制。因此，有效腫瘤控制涵蓋完全消退以及達至臨限縮小值之部分消退。類似地，纖維化之消退可用作療法，諸如TGFβ1抑制劑之活體內功效量度。纖維變性病狀之消退可基於藉由疾病期評定纖維變性表現之嚴重程度的標準準則來測定。

【0084】*調節T細胞*：「調節T細胞」或Treg為藉由生物標記物CD4、FOXP3及CD25之表現表徵的免疫細胞之類型。Treg有時稱作抑制T細胞且表示調節免疫系統、維持對自身抗原之耐受性及預防自體免疫疾病的T細胞之亞群。Treg為免疫抑制的且一般抑制或下調效應T(Teff)細胞之誘導及增殖。Treg可在胸腺中產生(所謂CD4+ Foxp3+ 「天然」Treg)或自周邊中之初始CD4+ T細胞，例如在暴露於TGFβ或視黃酸之後分化。Treg可表現細胞表面GARP-proTGFβ1。

【0085】*(對療法之)抗性*：對特定療法(諸如CBT)之抗性可歸因於諸如癌症之疾病的先天性特徵(「原發性抗性」)或歸因於治療之後隨時間推移產生的後天性表型(「後天抗性」)。未顯示對療法有治療反應之患者(例如，為無反應者或對療法之反應較差的患者)被稱為對療法具有原發性抗性，且可表徵為原發性無反應者。起初顯示對療法有治療反應，但隨後喪失效應(例如，儘管療法繼續，但仍出現進展或再發)之患者被稱為對療法具有後天抗性。

【0086】*實體腫瘤中之反應評估準則(RECIST)及iRECIST*：RECIST為界定癌症患者中之腫瘤在治療期間何時改善(「反應」)、保持原樣(「穩定」)或惡化(「進展」)的一組公開規則。該等準則由包括歐洲

癌症研究及治療組織(European Organisation for Research and Treatment of Cancer；EORTC)、美國國家癌症研究所(National Cancer Institute of the United States)及加拿大國家癌症研究所臨床試驗組(National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group)之國際合作於2000年2月公佈。之後已普遍採用RECIST準則之修訂版(RECIST v 1.1)，(參見：Eisenhauera等人 (2009), 「New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (版本1.1)」 Eur J Cancer 45: 228-247，其併入本文中)。反應準則如下：完全反應(CR)：所有目標病變消失；部分反應(PR)：以基線LD總和作為參考，目標病變之LD總和下降至少30%；穩定疾病(SD)：自開始治療起，以最小LD總和作為參考，既未足以縮小至符合PR，亦未足以增加至符合PD；進行性疾病(PD)：自開始治療或出現一或多個新型病變起，以所記錄之最小LD總和作為參考，目標病變之LD總和增加至少20%。另一方面，iRECIST提供考慮免疫相關反應之經修改之一組準則。參見：www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5648544/。RECIST及iRECIST準則為標準化的，可隨著更多的資料變得可用進行不定期修訂，且在此項技術中得到較好理解。

【0087】 *實體腫瘤*：術語「實體腫瘤」係指引起組織之異常生長或腫塊的增生性病症，該組織通常不含囊腫或液態區域。實體腫瘤可為良性(非癌性)或惡性(癌性)。實體腫瘤通常由多種細胞類型構成，其包括(但不限於)癌性(惡性)細胞、基質細胞(諸如CAF)及浸潤白血球(諸如巨噬細胞及淋巴細胞)。用TGFβ1之同工型選擇性抑制劑治療的實體腫瘤，諸如本文中所述之實體腫瘤通常為TGFβ1陽性(TGFβ1+)腫瘤。

【0088】 *溶液平衡滴定(SET)*： SET為一種以下分析：藉由該分析，兩種分子(諸如抗原及結合抗原之抗體)之間的結合可在溶液中在平衡下量測。舉例而言，基於Meso-Scale Discovery(「MSD」)之SET或MSD-SET為一種測定特別高親和性蛋白質-蛋白質相互作用，諸如結合至其抗原之皮莫耳親和性抗體，在平衡下之解離常數的適用模式(參見例如：Ducata等人(2015) J Biomolecular Screening 20(10): 1256-1267)。基於SET之分析尤其適用於測定具有次奈莫耳(例如，皮莫耳)親和性的抗體之KD值。

【0089】 *特異性結合*：如本文所用，術語「特異性結合(specific binding/specifically binds)」意謂抗體或其抗原結合部分與抗原或胺基酸殘基之相互作用視特定結構(例如，抗原決定子或抗原決定基)之存在而定。舉例而言，抗體或其抗原結合部分結合至特異性蛋白質而非以一般方式結合至蛋白質。在一些實施例中，若抗體對於目標之KD為至少約10^{-8} M、10^{-9} M、10^{-10} M、10^{-11} M、10^{-12} M或更小，則抗體或其抗原結合部分特異性結合至目標，例如TGFβ1。在一些實施例中，如本文所用，術語「特異性結合至proTGFβ1之抗原決定基(specific binding to an epitope of proTGFβ1/specifically binds to an epitope of proTGFβ1)」、「特異性結合至proTGFβ1 (specific binding to proTGFβ1/specifically binds to proTGFβ1)」係指如藉由適合活體外結合分析所測定，抗體或其抗原結合部分結合至proTGFβ1且解離常數(KD)為1.0×10^{-8} M或更小。在一個實施例中，抗體或其抗原結合部分可特異性結合至proTGFβ1之人類及非人類(例如，小鼠)直系同源物兩者。

【0090】 *個體*：在治療性應用之情形下，術語「個體」係指接受臨

床照護或干預，諸如治療、診斷等的個體。適合個體包括脊椎動物，其包括(但不限於)哺乳動物(例如，人類及非人類哺乳動物)。在個體為人類個體之情況下，術語「患者」可互換使用。在臨床情形下，術語「患者群」或「患者亞群」用以指落入一組準則內之個體群組，諸如臨床準則(例如疾病表現、疾病期、對特定病狀之易感性、對療法之反應性等)、病史、健康狀況、性別、年齡群、遺傳準則(例如，特定突變、多形現象、基因複製、DNA序列重複序列等之攜帶者)及生活方式因素(例如，飲食、吸菸、飲酒、運動等)。

【0091】 *TGFβ1相關適應症*：「TGFβ1相關適應症」意謂與TGFβ1之表現、活性及/或代謝相關的任何疾病、病症及/或病狀；或可受益於TGFβ1之活性及/或量之抑制的任何疾病、病症及/或病狀。某些TGFβ1相關適應症主要由TGFβ1同工型驅動。TGFβ1相關適應症包括(但不限於)：纖維變性病狀(諸如器官纖維化及涉及慢性發炎之組織的纖維化)；增生性病症(諸如癌症，例如實體腫瘤及骨髓纖維化)；與ECM調節異常相關之疾病(諸如涉及基質僵硬及重塑之病狀)；涉及內皮-間葉轉化(EndMT)之疾病；涉及上皮-間葉轉化(EMT)之疾病；涉及蛋白酶之疾病；伴隨本文中所述之某些標記物之異常基因表現的疾病，該等適應症並不相互排斥。

【0092】 *TGFβ抑制劑*：術語「TGFβ抑制劑」廣義上係指能夠拮抗TGFβ生長因子(例如，TGFβ1、TGFβ2及/或TGFβ3)之生物活性、信號傳遞或功能的任何藥劑。該術語並不意欲限制其作用機制，且包括例如TGFβ之中和抗體、受體拮抗劑、可溶性配位體捕獲劑及活化抑制劑。非選擇性TGFβ抑制劑通常稱作TGFβ之「泛抑制劑」。TGFβ抑制劑亦包括能夠例如藉由誘導經抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)及/或抗體依賴

性細胞吞噬作用(ADPC)來降低可在生態棲位中活化的潛伏proTGFβ之可用性的抗體，以及引起包含潛伏proTGFβ之細胞表面複合物之內化，藉此在不耗損細胞本身的情況下自質膜移除前驅體的抗體。內化可為含LRRC33蛋白複合物(諸如人類LRRC33-proTGFβ1)之適合作用機制，其產生減少量之在細胞表面上表現含LRRC33蛋白複合物之細胞。

【0093】「*TGFβ家族*」為TGFβ超家族中之一類且在人類中含有三名結構相似且由獨立基因編碼之成員：TGFβ1、TGFβ2及TGFβ3。已知三種生長因子經由相同受體進行信號傳遞。

【0094】*治療窗*：術語「治療窗」係指在個體中產生治療反應而不產生顯著不良反應的劑量/濃度之範圍。治療窗可計算為最低有效濃度(MEC)與最低毒性濃度(MTC)之間的比率。為進行說明，在10 mg/kg下達成活體內功效且在100 mg/kg下顯示耐受性或可接受毒性的TGFβ1抑制劑至少提供10倍(例如，10×)治療窗。相比之下，在10 mg/kg下有效但在5 mg/kg下引起不良反應的TGFβ之泛抑制劑被稱為具有「劑量限制性毒性」。舉例而言，在臨床前模型，諸如大鼠中，已顯示Ab2在介於約< 3與30毫克/公斤/週之間的劑量下為有效的，且亦顯示不含與至少100毫克/公斤/週持續4週的TGFβ之泛抑制相關的可觀測到之毒性。基於此，Ab2顯示最低3.3倍及至多33倍治療窗。

【0095】*毒性*：如本文所用，術語「毒性(toxicity/toxicities)」係指個體(例如，患者)中的與向個體(例如，患者)投與之療法相關的非所期望之活體內作用，諸如不合需要之副作用及不良事件。「耐受性」係指與療法或治療方案相關的毒性之水準，其可經患者合理耐受，而不存在歸因於毒性而中斷療法。通常，在臨床研發之前在一或多個臨床前模型中進行

毒性/毒理學研究以評定候選藥物(例如，單株抗體療法)之安全概況。毒性/毒理學研究可幫助測定測試物之「*無觀測到之不良反應量(NOAEL)*」及「*最大耐受劑量(MTD)*」，基於其可推斷治療窗。較佳地，應選擇顯示出對特定干預敏感之物種作為在其中待進行安全性/毒性研究之臨床前動物模型。在TGFβ抑制之情況下，適合物種包括大鼠、狗及食蟹獼猴。據報導，小鼠對TGFβ之藥理學抑制較不敏感，且其可能不會展現出對其他物種，包括人類有潛在危險的毒性，儘管某些研究報導在TGFβ之泛抑制之情況下在小鼠中觀測到毒性。為在本發明之情形下進行說明，基於四週毒理學研究，大鼠中的Ab2之NOAEL為所評估之最高劑量(100 mg/kg)，其表明MTD > 100 mg/kg。

【0096】*治療(treat/treatment)*：術語「治療(treat/treatment)」包括治療性治療、預防性治療及其中降低個體將罹患病症之風險或降低其他風險因素的應用。因此，該術語意欲在廣義上意謂：藉由例如減緩疾病進展、逆轉某些疾病特徵、標準化基因表現、提高或強化身體之免疫力；降低或逆轉免疫抑制；降低、自身體移除或根除有害細胞或物質；降低疾病負擔(例如，纖維化及腫瘤負荷)；預防再發或復發；延長不反應期及/或以其他方式改善存活期而在患者中引起治療性益處。該術語包括治療性治療、預防性治療及其中降低個體將罹患病症之風險或減少其他風險因素的應用。治療不需要完全治癒病症且涵蓋治療減少症狀或潛在風險因素之實施例。在組合療法之情形下，術語亦可指：i)第二治療劑降低第一治療劑之有效劑量以降低副作用且增加耐受性之能力；ii)第二療法使得患者對第一療法更具反應之能力；及/或iii)實現附加或協同臨床益處之能力。

【0097】*腫瘤相關之巨噬細胞(TAM)*： TAM為具有促腫瘤表型之極

化/活化巨噬細胞(類M2巨噬細胞)。TAM可為募集至腫瘤位點的骨髓源單核球/巨噬細胞或源自紅系骨髓祖細胞。單核球/巨噬細胞分化成TAM會受多種因素影響，其包括局部化學信號，諸如細胞介素、趨化細胞素、生長因子及充當配位體之其他分子，以及生態棲位(腫瘤微環境)中所存在的單核球/巨噬細胞之間的細胞-細胞相互作用。通常，單核球/巨噬細胞可極化成所謂的「M1」或「M2」亞型，後者更多地與促腫瘤表型相關。在實體腫瘤中，50%腫瘤塊可對應於巨噬細胞，其優先為M2極化的。在腫瘤相關單核球及骨髓細胞群中，M1巨噬細胞通常表現細胞表面HLA-DR、CD68及CD86，而M2巨噬細胞通常表現細胞表面HLA-DR、CD68、CD163及CD206。腫瘤相關的類M2巨噬細胞(諸如M2c及M2d亞型)可表現細胞表面LRRC33及/或LRRC33-proTGFβ1。類M2巨噬細胞亦可在纖維變性微環境中富集。

【0098】 *腫瘤微環境*：術語「腫瘤微環境(TME)」係指局部疾病生態棲位，其中活體內駐留有腫瘤(例如，實體腫瘤)。TME可包含疾病相關分子標籤(一組趨化細胞素、細胞介素等)、疾病相關細胞群(諸如TAM、CAF、MDSC等)以及疾病相關ECM環境(ECM組分及/或結構變化)。

【0099】 *可變區*：術語「可變區」或「可變域」係指抗體之輕鏈及/或重鏈之一部分，其通常包括重鏈中的大約120至130個胺基端胺基酸及輕鏈中的約100至110個胺基端胺基酸。在某些實施例中，不同抗體之可變區在胺基酸序列方面有很廣泛地差異，甚至在相同物種之抗體中。抗體之可變區通常決定特定抗體對其目標之特異性。

【0100】 應瞭解，除操作實例中或其中另有說明之外，本文中所用之表示成分之量或反應條件的所有數字可在所有情況下藉由術語「約」修

飾。術語「約」當結合百分比使用時可意謂±1%。

【0101】 除非明確相反指示，否則如在本文說明書及申請專利範圍中使用之不定冠詞「一(a/an)」應理解為意謂「至少一個」。

【0102】 如本文在說明書及申請專利範圍中使用之片語「及/或」應理解為意謂如此結合之要素的「任一者或兩者」，亦即，在一些情況下結合地存在且在其他情況下未結合地存在的要素。除非明確相反指示，否則除由「及/或」條項具體標識之要素以外可視情況存在其他要素，不論與具體標識之彼等要素相關或不相關。因此，作為非限制性實例，在一個實施例中，當結合開放式語言，諸如「包含」使用時，提及「A及/或B」可指A而不存在B (視情況包括除B以外之要素)；在另一實施例中，指B而不存在A(視情況包括除A以外之要素)；在又另一實施例中，指A與B(視情況包括其他要素)；等。

【0103】 如本說明書及申請專利範圍中所用，關於一系列一或多個要素之片語「至少一個」應理解為意謂由該系列要素中之要素之任何一或多個中選出的至少一個要素，但未必包括該系列要素內具體列出的各個及每個要素中之至少一者，且未必排除該系列要素中之要素的任何組合。此定義亦允許可視情況存在除片語「至少一個」所指的要素之清單內具體鑑別的要素以外的要素，而無論與具體鑑別的彼等要素相關抑或不相關。由此，作為非限制性實例，「至少一個A及B」(或等效地「至少一個A或B，」或，等效地「至少一個A及/或B」)可在一個實施例中指至少一個(視情況包括超過一個)A而不存在B (且視情況包括除B以外的要素)；在另一實施例中，指至少一個(視情況包括超過一個)B而不存在A (且視情況包括除A以外的要素)；在又一實施例中，指至少一個(視情況包括超過一個)

A及至少一個(視情況包括超過一個) B (且視情況包括其他要素)；等。

【0104】 在申請專利範圍中使用諸如「第一」、「第二」、「第三」等序數術語修飾請求項要素本身不意味著一個請求項要素相對於另一請求項要素的任何優先權、優先性或次序或執行方法動作之時間次序，而是僅用作標記以區分具有某一名稱之一個請求項要素與具有相同名稱(但使用序數術語)之另一要素以區分該等請求項要素。

【0105】 本文所提供之範圍應理解為範圍內所有值之簡寫。舉例而言，1至50之範圍應理解為包括來自由以下組成之群的任何數值、數值之組合或子範圍：1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50，例如10至20、1至10、30至40等。

轉型生長因子-β (TGFβ)

【0106】 轉型生長因子-β (TGFβ)活性及可溶性生長因子之後續部分純化首先描述於20世紀70年代晚期至20世紀80年代早期，伴隨其TGFβ領域在約40年前已開始。到目前為止，已鑑別出構成大型TGFβ超家族之33種基因產物。TGFβ超家族可藉由結構相似性分類成至少三種子類：TGFβ、生長分化因子及骨形態生成蛋白(BMP)。TGFβ子類由三種高度保守的同工型，亦即TGFβ1、TGFβ2及TGFβ3構成，其在人類中由三種獨立基因編碼。

【0107】 TGFβ被認為在諸如細胞增殖之抑制、細胞外基質(ECM)重塑及免疫內穩定之各種過程中起關鍵作用。TGFβ1對於T細胞內穩定之重要性係由TGFβ1-/-小鼠存活僅3至4週，由於大規模免疫活化而面臨多

器官衰竭而證明(Kulkarni, A.B.等人, Proc Natl Acad Sci U S A, 1993. 90(2): 第770-4頁；Shull, M.M.等人, Nature, 1992. 359(6397): 第693-9頁)。TGFβ2及TGFβ3之作用較不明確。儘管三種TGFβ同工型具有不同時間及空間表現型態，但其經由相同受體，TGFβRI及TGFβRII進行信號傳遞，儘管在一些情況下，例如對於TGFβ2信號傳遞，亦需要第III型受體，諸如β聚糖(betaglycan)(Feng, X.H.及R. Derynck, Annu Rev Cell Dev Biol, 2005. 21: 第659-93頁；Massague, J., Annu Rev Biochem, 1998. 67: 第753-91頁)。TGFβRI/TGFβRII之經配位體誘導之寡聚會觸發SMAD轉錄因子之磷酸化，引起目標基因，諸如Col1a1、Col3a1、ACTA2及SERPINE1之轉錄(Massague, J., J. Seoane及D. Wotton, Genes Dev, 2005. 19(23): 第2783-810頁)。亦描述非SMAD依賴性TGFβ信號傳遞路徑，例如在癌症中或在馬凡氏(Marfan)小鼠之主動脈病變中(Derynck, R.及Y.E. Zhang, Nature, 2003. 425(6958): 第577-84頁; Holm, T.M.等人, Science, 2011. 332(6027): 第358-61頁)。

【0108】 TGFβ路徑在人類中之生物重要性已藉由基因疾病驗證。卡-恩二氏病(Camurati-Engelman disease)由於TGFB1基因中的常染色體顯性突變引起骨發育不良，使得TGFβ1信號傳遞之組成性活化(Janssens, K.等人, J Med Genet, 2006. 43(1): 第1-11頁)。患有洛伊-迪茨症候群(Loeys/Dietz syndrome)之患者在TGFβ信號傳遞路徑之組分中攜帶常染色體顯性突變，其會引起主動脈瘤、器官過距(hypertelorism)及分岐懸壅垂(bifid uvula)(Van Laer, L., H. Dietz及B. Loeys, Adv Exp Med Biol, 2014. 802: 第95-105頁)。由於TGFβ路徑調節異常涉及多重疾病，已研發靶向TGFβ路徑之若干藥物且在患者中進行測試，但成果有限。

【0109】 TGFβ信號傳遞之調節異常與多種多樣的人類疾病相關。實際上，在多種疾病病狀中，此類調節異常可涉及TGFβ功能之多層面。患病組織，諸如纖維變性及/或發炎組織及腫瘤可形成以下局部環境，在該局部環境中TGFβ活化會導致疾病惡化或進展，其可至少部分地由以自分泌及/或旁分泌方式活化的多個TGFβ反應性細胞以及在特定疾病環境中起一定作用的多種其他細胞介素、趨化細胞素及生長因子之間的相互作用介導。

本發明之新穎TGFβ1選擇性抑制劑

【0110】 申請者先前研究已描述，當proTGFβ1複合物呈與呈遞分子，亦即LTBP1、LTBP3、GARP及LRRC33中之任一者相關時，抗體能夠特異性結合該複合物。出於此類抗體靶向及抑制TGFβ1生長因子自呈遞分子-proTGFβ1複合物中之任一者釋放的能力，其稱作TGFβ1之「情形准許」或「非背景依賴性」抗體。值得注意地，此等抗體之結合及抑制性活性僅對TGFβ1同工型具有特異性。實際上，對TGFβ2及TGFβ3對應物既未偵測到顯著結合亦未偵測到抑制。

【0111】 拮抗TGFβ信號傳遞之傳統方法呈i)在成熟生長因子已經變得具活性之後，直接中和該生長因子以耗竭可用於受體結合的(例如，自其潛伏前驅體複合物釋放之)游離配位體；ii)採用能夠隔離游離配位體之可溶性受體片段(例如，所謂的配位體捕獲劑)；或iii)靶向其一或多個細胞表面受體以阻斷配位體-受體相互作用。此等習知方法中之每一者需要拮抗劑競爭對抗內源性對應物。另外，以上前兩種方法(i及ii)靶向活性、可溶性配位體，該配位體為瞬態物種。因此，在短暫的時間窗期間，此類拮抗劑必須能夠在動力學上勝過內源性受體。第三種方法可提供相比而言較

持久作用，但由於多種生長因子(例如，至多約20種)經由相同受體進行信號傳遞，因此會無意中產生不合需要之抑制性作用(因此，產生可能毒性)。

【0112】 實際上，同工型選擇性之觀點亦出於安全考慮為至關重要的。習知TGFβ抑制劑通常並非對一種同工型具有選擇性，確切而言，大多數情況下被稱為「泛抑制劑」；亦即，當向諸如大鼠、狗、非人類靈長類動物、小鼠及人類之動物投與時，其拮抗TGFβ1、TGFβ2及TGFβ3且與可能存在之嚴重毒性相關。根據此等觀測結果，本發明之申請者先前假設所觀測到之毒性可能由先前技術抑制劑缺乏同工型選擇性產生。之後，申請者描述能夠選擇性地結合且抑制TGFβ1活化之抗體，且證明此類抗體顯示明顯改善之安全概況。舉例而言，直至所測試之最高劑量(其在四週大鼠毒理學研究中呈100毫克/公斤/週)並未觀測到測試物相關毒性。申請者進一步設法鑑別具有與先前所鑑別之抗體至少相等水準之安全性/毒理學概況的TGFβ1選擇性抑制性抗體，但伴隨甚至較高效能。

【0113】 因此，對於本文中所呈現之研究，設想經改良之抗體應體現以下特徵：1)應維持對TGFβ1之選擇性以使與泛抑制相關的不合需要之毒性降至最低(「同工型選擇性」) (參見例如WO 2017/156500)；2)應展現廣泛結合活性以適應多種生物情形，或適應基質締合及細胞締合之類別(WO 2018/129329)；3)應具有穩健抑制性活性(「效能」)；4)較佳作用機制保持阻斷活化步驟，以使得抑制劑可靶向組織繫留之潛伏TGFβ1複合物，以便搶先防止發生下游活化事件，進而達成持久作用，而不是直接靶向可溶性/游離生長因子(「持久性」)；及5)較佳地，經改良之抗體應發揮對基質締合之TGFβ1的增強偏向(例如，優先結合親和性) (較佳在平衡下

測定)以便較準確反映此等抗體之作用機制。

【0114】 對於以上最後一個特徵(5)，預期增強之背景偏向可用作在其中細胞外基質之調節異常起一定作用的某些疾病病狀(例如，纖維變性病症)中提供治療優點之特徵。因此，經改良之抗體應體現對基質締合之TGFβ1 (例如，LTBP1-proTGFβ1及LTBP3-proTGFβ1)的優先(例如，偏向)結合活性，較佳地，如藉由適合活體外結合分析所量測，相對於GARP-proTGFβ1，對LTBP1-proTGFβ1及/或LTBP3-proTGFβ1複合物之親和性呈五倍或更大。

【0115】 在一些實施例中，此類抗體對GARP-proTGFβ1複合物有偏向，使得對經GARP呈遞之潛伏TGFβ1的結合親和性要比對由其他三種已知呈遞分子中之一者呈遞的潛伏TGFβ1之結合親和性差。在其他實施例中，相對於基質締合之複合物，此類抗體對所謂的細胞締合之proTGFβ1複合物(經GARP或LRRC33締合)有偏向。

【0116】 因此，本文揭示經改良之TGFβ1抑制劑，其特徵在於，相較於早先揭示內容之TGFβ1選擇性抑制劑，此等抗體具有經增強之結合特性、增加之抑制性效能且維持期望安全概況。本發明之TGFβ1選擇性抑制劑為特異性結合proTGFβ1複合物之前域(有時稱作「LAP」)之至少一部分，且對TGFβ1具有同工型選擇性抑制活性(參見表1之「核心特性」)的單株抗體(例如，免疫球蛋白、經工程改造之類免疫球蛋白分子、其抗原結合片段或部分)。除了此等特徵外，本文所揭示之抗體進一步符合如本文中之表1中所示之第1至5類中之一或多者的抗體準則。

表1：本發明之經改良之TGFβ1選擇性抑制劑

類別	抗體準則	例示性抗體
(全部)	**核心特性：** ● 相對於TGFβ2及TGFβ3信號傳遞，選擇性地抑制TGFβ1信號傳遞 ● 特異性結合以下中之每一者：LTBP1-proTGFβ1、LTBP3-proTGFβ1、GARP-proTGFβ1及LRRC33-proTGFβ1複合物(人類及/或鼠類) ● 結合涉及proTGFβ1之前域之至少一部分 ● 相較於泛TGFβ抑制劑，經改良之安全性/毒理學概況	● 本發明 ● WO 2018/129329 (Ab3) ● WO 2017/156500
由CDR序列界定之額外所需準則		
1	i) **H-CDR1**具有由FTF(X1)(X2)(X3)AM(X4)表示之胺基酸序列，其中X1為A或S；X2為N、**D**、S或A；X3為Y或F；及/或X4為S、T或V (SEQ ID NO: 252)； ii) **H-CDR2**具有由(X1)IS(X2)(X3)(X4)(X5)(X6)(X7)Y(X8)ADSVKG表示之胺基酸序列，其中視情況地，X1為S或A；X2為G或S；X3為**S**、T或F；X4為G或A；X5為G、A、F或S；X6為A、H、T、S或V；X7為T或I；及/或X8為Y或F (SEQ ID NO: 253)； iii) **H-CDR3**具有由A(X1)VSS(X2)(X3)WD(X4)D(X5)表示之胺基酸序列，其中視情況地，X1為R或T；X2為**G**或Y；X3為**H**或L；X4為F、Y或L；及/或X5為Y或E (SEQ ID NO: 254)； iv) **L-CDR1**具有由(X1)ASQ(X2)IS(X3)(X4)LN表示之胺基酸序列，其中視情況地，X1為R或Q；X2為S或D；X3為S或N； 及/或X4為F、Y或S (SEQ ID NO: 255)； v) **L-CDR2**具有由(X1)AS(X2)L(X3)(X4)表示之胺基酸序列，其中視情況地，X1為D或A；X2為S或N；X3為Q或E；及/或X4為S或T (SEQ ID NO: 256)；及， vi) **L-CDR3**具有由QQ(X1)(X2)(X3)(X4)P(X5)T表示	Ab7 Ab8 Ab9 Ab12 Ab13 Ab14 Ab15 Ab2 Ab16 Ab17 Ab18 Ab19 Ab20

類別	抗體準則	例示性抗體
	之胺基酸序列，其中視情況地，X1為S、A、**T**或V；X2為F、**Y**或P；X3為S、N、T或D；X4為A、L、V或P；及/或X5為F或L (SEQ ID NO: 257)。	
2	包含以下CDR中之至少兩者 i) H-CDR1 = FTFS**D**YAMT (SEQ ID NO: 250) ii) H-CDR2 = AISG**S**GAATYYADSVKG (SEQ ID NO: 251) iii) H-CDR3 = ARVSS**GH**WDFDY (SEQ ID NO: 110) iv) L-CDR1 = RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 111) v) L-CDR2 = AASNLQS (SEQ ID NO: 136) vi) L-CDR3 = QQ**TY**TVPLT (SEQ ID NO: 12) 其中視情況地，CDR中之每一者含有一種胺基酸變化， 其限制條件為抗體包含至少一個CDR，其選自由上文所列之H-CDR1、H-CDR2、L-CDR2及L-CDR3組成之群。	Ab7 Ab8 Ab9 Ab11 Ab12 Ab13 Ab14 Ab15 Ab2 Ab16 Ab17 Ab18 Ab19 Ab20
由結合概況(如藉由溶液平衡滴定所測定)界定之額外所需準則		
3	各以≤ 1 nM之KD結合人類LTBP1-proTGFβ1及LTBP3-proTGFβ1複合物；且各以＞ 1 nM之KD結合人類GARP-proTGFβ1及LRRC33-proTGFβ1複合物	**至少：** Ab12 Ab2 Ab20 Ab35
4	各以≤ 1 nM之KD結合人類LTBP1-proTGFβ1及LTBP3-proTGFβ1複合物；且對人類LTBP1-proTGFβ1及LTBP3-proTGFβ1複合物之平均親和性比對人類GARP-proTGFβ1及LRRC33-proTGFβ1複合物之平均親和性大至少五倍	**至少：** Ab2 Ab20
5	各以≤ 10 nM (較佳≤ 5 nM)之親和性結合人類LTBP1-proTGFβ1、人類LTBP3-proTGFβ1、人類GARP-proTGFβ1及人類LRRC33-proTGFβ1複合物；且抗體在基質締合之複合物中之至少一者與細胞締合之複合物中之至少一者之間的相對親和性方面具有超過五倍基質/LTBP偏向	**至少：** Ab11 Ab2 Ab20 Ab35

第1類抗體

【0117】在一個態樣中，本發明提供具有表1之核心特性且進一步符合由第1類之CDR序列界定之額外所需準則的抗體(例如，免疫球蛋白、經修飾或經工程改造之類免疫球蛋白分子及其抗原結合片段)。因此，此類抗體或其片段能夠特異性結合以下抗原複合物中之每一者：hLTBP1-proTGFβ1、hLTBP3-proTGFβ1、hGARP-proTGFβ1及hLRRC33-proTGFβ1，且該抗體或片段包含下表2中所彙匯之六個CDR共同序列。

表2：第1類抗體之CDR序列要求

CDR	共同序列
H-CDR1	FTF(X_1)(X_2)(X_3)AM(X_4)，其中：X_1 = A或S；X_2 = N、D、S或A；X_3 = Y或F；及/或X_4 = S、T或V (SEQ ID NO: 252)。
H-CDR2	(X_1)IS(X_2)(X_3)(X_4)(X_5)(X_6)(X_7)Y(X_8)ADSVKG，其中視情況地：X_1 = S或A；X_2 = G或S；X_3 = S、T或F；X_4 = G或A；X_5 = G、A、F或S；X_6 = A、H、T、S或V；X_7 = T或I；及/或X_8 = Y或F (SEQ ID NO: 253)。
H-CDR3	A(X_1)VSS(X_2)(X_3)WD(X_4)D(X_5)，其中視情況地：X_1 = R或T；X_2 = G或Y；X_3 = H或L；X_4 = F、Y或L；及/或X_5 = Y或E (SEQ ID NO: 254)。
L-CDR1	(X_1)ASQ(X_2)IS(X_3)(X_4)LN，其中視情況地：X_1 = R或Q；X_2 = S或D；X_3 = S或N；及/或X_4 = F、Y或S (SEQ ID NO: 255)。
L-CDR2	(X_1)AS(X_2)L(X_3)(X_4)，其中視情況地：X_1 = D或A；X_2 = S或N；X_3 = Q或E；及/或X_4 = S或T (SEQ ID NO: 256)。
L-CDR3	QQ(X_1)(X_2)(X_3)(X_4)P(X_5)T，其中視情況地：X_1 = S、A、T或V；X_2 = F、Y或P；X_3 = S、N、T或D；X_4 = A、L、V或P；及/或X_5 = F或L (SEQ ID NO: 257)。

【0118】因此，本發明提供一種分離單株抗體或其抗原結合片段，其包含H-CDR1、HCDR-2、H-CDR3、L-CDR1、L-CDR2及L-CDR3，其中：

i) H-CDR1具有由FTF(X_1)(X_2)(X_3)AM(X_4)表示之胺基酸序列，其中X_1為A或S；X_2為N、D、S或A；X_3為Y或F；及/或X_4為S、T或V (SEQ ID NO: 252)；

ii) H-CDR2具有由(X_1)IS(X_2)(X_3)(X_4)(X_5)(X_6)(X_7)Y(X_8)ADSVKG表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為S或A；X_2為G或S；X_3為S、T或F；X_4為G或A；X_5為G、A、F或S；X_6為A、H、T、S或V；X_7為T或I；及/或X_8為Y或F (SEQ ID NO: 253)；

iii) H-CDR3具有由A(X_1)VSS(X_2)(X_3)WD(X_4)D(X_5)表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為R或T；X_2為G或Y；X_3為H或L；X_4為F、Y或L；及/或X_5為Y或E (SEQ ID NO: 254)；

iv) L-CDR1具有由(X_1)ASQ(X_2)IS(X_3)(X_4)LN表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為R或Q；X_2為S或D；X_3為S或N；及/或X_4為F、Y或S (SEQ ID NO: 255)；

v) L-CDR2具有由(X_1)AS(X_2)L(X_3)(X_4)表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為D或A；X_2為S或N；X_3為Q或E；及/或X_4為S或T (SEQ ID NO: 256)；及，

vi) L-CDR3具有由QQ(X_1)(X_2)(X_3)(X_4)P(X_5)T表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為S、A、T或V；X_2為F、Y或P；X_3為S、N、T或D；X_4為A、L、V或P；及/或X_5為F或L (SEQ ID NO: 257)。

【0119】 在一些實施例中，H-CDR1包含在位置X_2之D。

【0120】 在一些實施例中，H-CDR2包含在位置X_3之S。

【0121】 在一些實施例中，H-CDR3包含在位置X_2之G。

【0122】 在一些實施例中，H-CDR3包含在位置X_3之H。

【0123】 在一些實施例中，L-CDR1包含在位置X_4之Y。

【0124】 在一些實施例中，L-CDR3包含在位置X_1之T。

【0125】 在一些實施例中，L-CDR3包含在位置X_2之Y。

【0126】在一些實施例中，抗體或其片段之特徵在於：H-CDR1之X_2為D；H-CDR2之X_3為S；H-CDR3之X_2及X_3分 別 為G及H；L-CDR2緊接在Y殘基之後；及/或L-CDR3之X_1及X_2分別為T及Y。

【0127】在一些實施例中，抗體或片段包含H-CDR1、H-CDR-2、H-CDR3、L-CDR1、L-CDR2及L-CDR3，其中：

i) H-CDR1具有由FTF(X_1)D(X_3)AM(X_4)表示之胺基酸序列，其中X_1為A或S；X_3為Y或F；及/或X_4為S、T或V (SEQ ID NO: 276)；

ii) H-CDR2具 有 由(X_1)IS(X_2)S(X_4)(X_5)(X_6)(X_7)Y(X_8)ADSVKG表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為S或A；X_2為G或S；X_4為G或A；X_5為G、A、F或S；X_6為A、H、T、S或V；X_7為T或I； 及/或X_8為Y或F (SEQ ID NO: 277)；

iii) H-CDR3具 有 由A(X_1)VSSGHWD(X_4)D(X_5)表 示 之 胺 基 酸 序列，其中視情況地，X_1為R或T；X_4為F、Y或L； 及/或X_5為Y或E (SEQ ID NO: 278)；

iv) L-CDR1具有由(X_1)ASQ(X_2)IS(X_3)(X_4)LN表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為R或Q；X_2為S或D；X_3為S或N； 及/或X_4為F、Y或S (SEQ ID NO: 255)；

v) L-CDR2具有由Y(X_1)AS(X_2)L(X_3)(X_4)表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為D或A；X_2為S或N；X_3為Q或E； 及/或X_4為S或T (SEQ ID NO: 279)；及，

vi) L-CDR3具有由QQTY(X_3)(X_4)P(X_5)T表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_3為S、N、T或D；X_4為A、L、V或P； 及/或X_5為F或L (SEQ ID NO: 280)。

【0128】 例示性抗體及其各別CDR序列提供於下表3中。

表3：例示性抗體及基於Lu X等人, MAbs. 2019年1月;11(1):45-57中所述之編號方案的CDR

抗體	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
Ab7	FTFADYAMT (SEQ ID NO: 108)	AISGTGAHTY YADSVKG (SEQ ID NO: 109)	ARVSSGHW DFDY (SEQ ID NO: 110)	RASQSISSY LN (SEQ ID NO: 111)	DASSLQS (SEQ ID NO: 112)	QQSYSAPFT (SEQ ID NO: 113)
Ab8	FTFSDYAMV (SEQ ID NO: 114)	AISGSGFTTYY ADSVKG (SEQ ID NO: 115)	ARVSSGHW DFDY (SEQ ID NO: 110)	RASQSISSY LN (SEQ ID NO: 111)	DASSLQS (SEQ ID NO: 112)	QQSYSAPFT (SEQ ID NO: 113)
Ab9	FTFSSFAMT (SEQ ID NO: 120)	AISGSGAATY FADSVKG (SEQ ID NO: 121)	ARVSSGHW DFDY (SEQ ID NO: 110)	RASQSISSY LN (SEQ ID NO: 111)	DASSLQS (SEQ ID NO: 112)	QQSYSAPFT (SEQ ID NO: 113)
Ab10	FTFRNYAMS (SEQ ID NO: 126)	SISGSGGATYY ADSVKG (SEQ ID NO: 127)	ARVSSGHW DFDY (SEQ ID NO: 110)	QASQDISNS LN (SEQ ID NO: 129)	DASNLET (SEQ ID NO: 130)	QQAPNLPFT (SEQ ID NO: 131)
Ab11	FTFRNYAMS (SEQ ID NO: 126)	SISGSGGATYY ADSVKG (SEQ ID NO: 127)	ARVSSGHW DFDY (SEQ ID NO: 110)	RASQSISSY LN (SEQ ID NO: 111)	AASNLQS (SEQ ID NO: 136)	QQTYTVPLT (SEQ ID NO: 12)
Ab12	FTFSDYAMV (SEQ ID NO: 114)	AISGSGFTTYY ADSVKG (SEQ ID NO: 115)	ARVSSGHW DFDY (SEQ ID NO: 110)	RASQSISSY LN (SEQ ID NO: 111)	AASNLQS (SEQ ID NO: 136)	QQTYTVPLT (SEQ ID NO: 12)
Ab13	FTFADYAMT (SEQ ID NO: 108)	AISSFASAIYY ADSVKG (SEQ ID NO: 145)	ARVSSGHW DFDY (SEQ ID NO: 110)	RASQSISSY LN (SEQ ID NO: 111)	AASSLQS (SEQ ID NO: 148)	QQVYDPPLT (SEQ ID NO: 149)
Ab14	FTFSAYAMT (SEQ ID NO: 150)	AISGTGGSTY YADSVKG (SEQ ID NO: 151)	ARVSSGHW DFDY (SEQ ID NO: 110)	RASQSISSY LN (SEQ ID NO: 111)	AASSLQS (SEQ ID NO: 148)	QQVYDPPLT (SEQ ID NO: 149)
Ab15	FTFSDYAMV (SEQ ID NO: 114)	AISGSGFTTYY ADSVKG (SEQ ID NO: 115)	ARVSSGHW DFDY (SEQ ID NO: 110)	RASQSISSY LN (SEQ ID NO: 111)	AASNLQS (SEQ ID NO: 136)	QQTYTVPLT (SEQ ID NO: 12)
Ab2	FTFADYAMT (SEQ ID NO: 108)	AISGSGAATY FADSVKG (SEQ ID NO: 121)	ARVSSGHW DFDY (SEQ ID NO: 110)	RASQSISSY LN (SEQ ID NO: 111)	AASNLQS (SEQ ID NO: 136)	QQTYTVPLT (SEQ ID NO: 12)
Ab16	FTFSNYAMS (SEQ ID NO: 168)	AISGSGFTTYY ADSVKG (SEQ ID NO: 115)	ARVSSGHW DFDY (SEQ ID NO: 110)	RASQSISSY LN (SEQ ID NO: 111)	AASNLQS (SEQ ID NO: 136)	QQTYTVPLT (SEQ ID NO: 12)
Ab17	FTFSSFAMT (SEQ ID NO: 120)	AISGSGAATY FADSVKG (SEQ ID NO: 121)	ARVSSGHW DFDY (SEQ ID NO: 110)	RASQSISSY LN (SEQ ID NO: 111)	AASNLQS (SEQ ID NO: 136)	QQTYTVPLT (SEQ ID NO: 12)
Ab18	FTFSDYAMV (SEQ ID NO: 114)	AISGSGAATY FADSVKG (SEQ ID NO: 121)	ATVSSGHW DFDY (SEQ ID NO: 182)	RASQSISSY LN (SEQ ID NO: 111)	AASNLQS (SEQ ID NO: 136)	QQTYTVPLT (SEQ ID NO: 12)

Ab19	FTFSSFAMT (SEQ ID NO: 120)	AISGSGAATY FADSVKG (SEQ ID NO: 121)	ARVSSGHW DFDE (SEQ ID NO: 188)	RASQSISSY LN (SEQ ID NO: 111)	AASNLQS (SEQ ID NO: 136)	QQTYTVPLT (SEQ ID NO: 12)
Ab20	FTFSAYAMT (SEQ ID NO: 150)	AISGSGGVTY YADSVKG (SEQ ID NO: 193)	ARVSSGHW DYDY (SEQ ID NO: 194)	RASQSISSY LN (SEQ ID NO: 111)	AASNLQS (SEQ ID NO: 136)	QQTYTVPLT (SEQ ID NO: 12)
Ab35	FTFRNYAMS (SEQ ID NO: 126)	SISGSGGATYY ADSVKG (SEQ ID NO: 127)	ARVSSYLW DFDY (SEQ ID NO: 200)	RASQSISSY LN (SEQ ID NO: 111)	DASSLQS (SEQ ID NO: 112)	QQSYSAPFT (SEQ ID NO: 113)
Ab36	FTFRNYAMS (SEQ ID NO: 126)	SISGSGGATYY ADSVKG (SEQ ID NO: 127)	ARVSSGHW DLDY (SEQ ID NO: 206)	RASQSISSY LN (SEQ ID NO: 111)	DASSLQS (SEQ ID NO: 112)	QQSYSAPFT (SEQ ID NO: 113)

【0129】在相關實施例中，第1類抗體可包含六個CDR，其中之每一者與表3中所提供之例示性抗體中之任一者的相應CDR具有至少85%序列一致性，除Ab36外。

【0130】在較佳實施例中，藉由Kabat編號方案，抗體包含包括GFTFADYAM (SEQ ID NO: 2)之H-CDR1、包括ISGSGAA(SEQ ID NO: 4)之H-CDR2及包括CARVSSGHWDFDY (SEQ ID NO: 6)之H-CDR3、包括QSISSY (SEQ ID NO: 8)之L-CDR1及包括AAS (SEQ ID NO: 10)之L-CDR2以及包括QQTYTVPLT (SEQ ID NO: 12)之L-CDR3。替代性地，藉由Lu等人之編號系統，抗體包含包括FTFADYAMT (SEQ ID NO: 108)之H-CDR1、包括AISGSGAATYFADSVKG (SEQ ID NO: 121)之H-CDR2及包括ARVSSGHWDFDY (SEQ ID NO: 110)之H-CDR3、包括RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 111)之L-CDR1及包括AASNLQS (SEQ ID NO: 136)之L-CDR2以及包括QQTYTVPLT (SEQ ID NO: 12)之L-CDR3。

【0131】在一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含與針對SEQ ID NO: 13中所示之胺基酸序列具有至少95%一致性之重鏈可變區(V_H)及與SEQ ID NO: 15中所示之胺基酸序列具有至少95%一致性之輕鏈可變區

(V_L)。在根據SEQ ID NO: 13之重鏈可變區中，位置31處之殘基可為D、位置33處之殘基可為A、位置54處之殘基可為S、位置59處之殘基可為Y、位置101處之殘基可為S、位置102處之殘基可為G、位置103處之殘基可為H、位置104處之殘基可為W或其任何組合。在根據SEQ ID NO: 15之輕鏈可變區中，位置32處之殘基可為Y、位置49處之殘基可為Y、位置91處之殘基可為T、位置92處之殘基可為Y或其任何組合。

【0132】 在一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含與針對SEQ ID NO: 13中所示之胺基酸序列具有至少90%一致性，且基於SEQ ID NO: 13中所示之胺基酸序列，包含胺基酸殘基D31、A33、S54、Y59、S101、G102、H103及W104之重鏈可變區(V_H)；及與SEQ ID NO: 15中所示之胺基酸序列具有至少90%一致性，且基於SEQ ID NO: 15中所示之胺基酸序列，包含胺基酸殘基Y32、Y49、T91及Y92之輕鏈可變區(V_L)。

【0133】 例示性第1類抗體之重鏈可變區及輕鏈可變區序列提供於下表4中：

表4：例示性抗體及其重鏈及輕鏈可變域序列

抗體	重鏈可變域(V_H)	輕鏈可變域(V_L)
Ab7	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFADYAMTWVRQAPGKGLEWVS AISGTGAHTYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVS SGHWDFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 210)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYDA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSAPFTFGQGTK VEIK (SEQ ID NO: 211)
Ab8	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSDYAMVWVRQAPGKGLEWVS AISGSGFTTYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVS SGHWDFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 212)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYDA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSAPFTFGQGTK VEIK (SEQ ID NO: 211)
Ab9	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSFAMTWVRQAPGKGLEWVS AISGSGAATYFADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVS SGHWDFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 214)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYDA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSAPFTFGQGTK VEIK (SEQ ID NO: 211)
Ab10	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFRNYAMSWVRQAPGKGLEWVS SISGSGGATYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVS SGHWDFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 216)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS QDISNSLNWYQQKPGKAPKLLIYDA SNLETGVPSRFSGSRSGTDFTFTISSL QPEDIATYYCQQAPNLPFTFGGGTK VEIK (SEQ ID NO: 217)
Ab11	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFRNYAMSWVRQAPGKGLEWVS SISGSGGATYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVS SGHWDFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 216)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS NLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQTYTVPLTFGGGTKV EIK (SEQ ID NO: 15)
Ab12	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSDYAMVWVRQAPGKGLEWVS AISGSGFTTYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVS SGHWDFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 212)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS NLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQTYTVPLTFGGGTKV EIK (SEQ ID NO: 15)

Ab13	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFADYAMTWVRQAPGKGLEWVS AISSFASAIYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVSS GHWDFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 222)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQVYDPPLTFGGGTK VEIK (SEQ ID NO: 223)
Ab14	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSAYAMTWVRQAPGKGLEWVS AISGTGGSTYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVS SGHWDFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 224)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQVYDPPLTFGGGTK VEIK (SEQ ID NO: 223)
Ab15	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSDYAMVWVRQAPGKGLEWVS AISGSGFTTYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVS SGHWDFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 226)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS NLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQTYTVPLTFGGGTKV EIK (SEQ ID NO: 15)
Ab2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFADYAMTWVRQAPGKGLEWVS AISGSGAATYFADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVS SGHWDFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 13)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS NLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQTYTVPLTFGGGTKV EIK (SEQ ID NO: 15)
Ab16	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGFTTYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVS SGHWDFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 228)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS NLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQTYTVPLTFGGGTKV EIK (SEQ ID NO: 15)
Ab17	EVQLLESGGGVVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSFAMTWVRQAPGKGLEWVS AISGSGAATYFADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVS SGHWDFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 230)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS NLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQTYTVPLTFGGGTKV EIK (SEQ ID NO: 15)
Ab18	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSDYAMVWVRQAPGKGLEWVS AISGSGAATYFADSVKGRFTISRDNS	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS NLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ

	KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATVS SGHWDFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 232)	PEDFATYYCQQTYTVPLTFGGGTKV EIK (SEQ ID NO: 15)
Ab19	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFSSFAMTWVRQAPGKGLEWVS AISGSGAATYFADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVS SGHWDFDEWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 234)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS NLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQTYTVPLTFGGGTKV EIK (SEQ ID NO: 15)
Ab20	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSAYAMTWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGVTYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVS SGHWDYDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 236)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS NLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQTYTVPLTFGGGTKV EIK (SEQ ID NO: 15)
Ab35	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFRNYAMSWVRQAPGKGLEWVS SISGSGGATYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVS SYLWDFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 238)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYDA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSAPFTFGQGTK VEIK (SEQ ID NO: 211)
Ab36	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFRNYAMSWVRQAPGKGLEWVS SISGSGGATYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVS SGHWDLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 240)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYDA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSAPFTFGQGTK VEIK (SEQ ID NO: 211)
Ab1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFRNYAMSWVRQAPGKGLEWVS SISGSGGATYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVS SGHWDFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 216)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQ DISNFLNWYQQKPGKAPKLLIYDAS NLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQ PEDIATYYCQQVFNPPLTFGGGTKVE IK (SEQ ID NO: 243)

【0134】在相關實施例中、抗體或其片段可包含與表4中所提供之重鏈可變域序列(例如，選自SEQ ID NO: 210、212、214、216、222、224、226、13、228、230、232、234及236)中之任一者具有至少95%序

列一致性的重鏈可變域；及與表4中所提供之輕鏈可變域序列(例如，選自SEQ ID NO: 211、217、223、15及243)中之任一者具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列一致性的相應輕鏈可變域。舉例而言，抗體可包含與Ab2之重鏈可變域(SEQ ID NO: 13)具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之重鏈可變域；及與Ab2之輕鏈可變域(SEQ ID NO: 15)具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之輕鏈可變域。

【0135】 在較佳實施例中，抗體與鼠類對應物交叉反應。在尤其較佳實施例中，抗體顯示與人類、食蟹獼猴、小鼠及大鼠抗原之交叉反應性。

【0136】 在抗體-抗原相互作用之情形下，抗體之結合形成界面所處的抗原之區域可稱為「結合區」。在一些實施例中，第1類抗體與proTGFβ1複合物之一或多個結合區可包含proTGFβ1之前域之至少一部分。在較佳實施例中，抗體所結合之前域之部分包含潛伏套索之一或多個胺基酸殘基。在尤其較佳實施例中，抗體結合組合抗原決定基，其包含潛伏套索之一或多個胺基酸殘基(在前域中)且額外包含proTGFβ1之生長因子域之一或多個胺基酸殘基。在第1類抗體之一些實施例中，基於如SEQ ID NO: 24所示之胺基酸序列，抗體或抗原結合片段接觸人類proTGFβ1之以下胺基酸殘基中之一或多者：S35、G37、E38、V39、P40、P41、G42、P43、R274、K280及H283。

【0137】 在一些實施例中，第1類抗體具有針對TGFβ1之抑制性效能，使得當藉由適合基於細胞之分析(諸如本文中所述之CAGA分析)所量測時，抗體對hLTBP1-TGFβ1複合物及hLTBP3-TGFβ1複合物之IC_{50}為≤ 5

nM (例如，≤ 5 nM、≤ 4 nM、≤ 3 nM、≤ 2 nM、≤ 1 nM)。

【0138】在較佳實施例中，抗體包含包括以下胺基酸之重鏈：

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFADYAMTWVRQAPGKGLE
WVSAISGSGAATYFADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV
YYCARVSSGHWDFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES
TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV
TVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS
SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS
VMHEALHNHYTQKSLSLSLG (SEQ ID NO: 17)；及包含以下胺基酸序列之輕鏈：

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIY
AASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTYTVPLTF
GGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY
ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 19)。

第2類抗體

【0139】在另一態樣中，本發明提供具有表1之核心特性且進一步符合由第2類之CDR序列界定之額外所需準則的抗體(例如，免疫球蛋白、經修飾或經工程改造之類免疫球蛋白分子及其抗原結合片段)。因此，此類抗體或其片段特異性結合hLTBP1-proTGFβ1、hLTBP3-proTGFβ1、

hGARP-proTGFβ1及hLRRC33-proTGFβ1複合物中之每一者，其中該抗體或片段包含下表5中所提供的以下CDR中之兩者或更多者，其限制條件為抗體包含選自由下表5中所提供的以下組成之群的至少一個CDR：H-CDR1、H-CDR2、L-CDR2及L-CDR3。

表5：第2抗體之CDR序列要求

CDR	序列
H-CDR1	FTFSDYAMT (SEQ ID NO: 250)，視情況伴隨1個胺基酸變化
H-CDR2	AISGSGAATYYADSVKG (SEQ ID NO: 251)，視情況伴隨1個胺基酸變化
H-CDR3	ARVSSGHWDFDY (SEQ ID NO: 110)，視情況伴隨1個胺基酸變化
L-CDR1	RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 111)，視情況伴隨1個胺基酸變化
L-CDR2	AASNLQS (SEQ ID NO: 136)，視情況伴隨1個胺基酸變化
L-CDR3	QQTYTVPLT (SEQ ID NO: 12)，視情況伴隨1個胺基酸變化

【0140】因此，本發明提供一種分離單株抗體或其抗原結合片段，其包含H-CDR1、HCDR-2、H-CDR3、L-CDR1、L-CDR2及L-CDR3，其中：

H-CDR1包含胺基酸序列FTFSDYAMT (SEQ ID NO: 250)，視情況伴隨1個胺基酸變化；

H-CDR2包含胺基酸序列AISGSGAATYYADSVKG (SEQ ID NO: 251)，視情況伴隨1個胺基酸變化；

H-CDR3包含胺基酸序列ARVSSGHWDFDY (SEQ ID NO: 110)，視情況伴隨1個胺基酸變化；

L-CDR1包含胺基酸序列RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 111)，視情況伴隨1個胺基酸變化；

L-CDR2包含胺基酸序列AASNLQS (SEQ ID NO: 136)，視情況伴隨1個胺基酸變化；及，

L-CDR3包含胺基酸序列QQTYTVPLT (SEQ ID NO: 12)，視情況伴隨1個胺基酸變化。

【0141】 如本文所用，片語「胺基酸變化」或「胺基酸殘基變化」包括胺基酸取代及/或缺失。

【0142】 在一些實施例中，抗體包含以下CDR序列中之三者或更多者(例如，3、4、5或全部6者)：

H-CDR1為FTFSDYAMT (SEQ ID NO: 250)；

H-CDR2為AISGSGAATYYADSVKG (SEQ ID NO: 251)；

H-CDR3為ARVSSGHWDFDY (SEQ ID NO: 110)；

L-CDR1為RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 111)；

L-CDR2為AASNLQS (SEQ ID NO: 136)；及，

L-CDR3為QQTYTVPLT (SEQ ID NO: 12)。

【0143】 在一些實施例中，抗體包含所有六個CDR序列：FTFSDYAMT (SEQ ID NO: 250)、AISGSGAATYYADSVKG (SEQ ID NO: 251)、ARVSSGHWDFDY (SEQ ID NO: 110)、RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 111)、AASNLQS (SEQ ID NO: 136)及QQTYTVPLT (SEQ ID NO: 12)。

【0144】 在第2類抗體之一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含與針對SEQ ID NO: 13中所示之胺基酸序列具有至少95%一致性之重鏈可變區(V_H)及與SEQ ID NO: 15中所示之胺基酸序列具有至少95%一致性之輕鏈可變區(V_L)。在根據SEQ ID NO: 13之重鏈可變區中，位置31處之殘基可為D、位置33處之殘基可為A、位置54處之殘基可為S、位置59處之殘基可為Y、位置101處之殘基可為S、位置102處之殘基可為G、位置103

處之殘基可為H、位置104處之殘基可為W或其任何組合。在根據SEQ ID NO: 15之輕鏈可變區中，位置32處之殘基可為Y、位置49處之殘基可為Y、位置91處之殘基可為T、位置92處之殘基可為Y或其任何組合。

【0145】 在一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含與針對SEQ ID NO: 13中所示之胺基酸序列具有至少90%一致性，且基於SEQ ID NO: 13中所示之胺基酸序列，包含胺基酸殘基D31、A33、S54、Y59、S101、G102、H103及W104之重鏈可變區(V_H)；及與SEQ ID NO: 15中所示之胺基酸序列具有至少90%一致性，且基於SEQ ID NO: 15中所示之胺基酸序列，包含胺基酸殘基Y32、Y49、T91及Y92之輕鏈可變區(V_L)。

【0146】 在一些實施例中，抗體與鼠類對應物交叉反應。在尤其較佳實施例中，抗體顯示與人類、食蟹獼猴、小鼠及大鼠抗原之交叉反應性。

【0147】 在一些實施例中，第2類抗體與proTGFβ1複合物之結合涉及proTGFβ1之前域之至少一部分。在較佳實施例中，抗體所結合之前域之部分包含潛伏套索之一或多個胺基酸殘基。在尤其較佳實施例中，抗體結合組合抗原決定基，其包含潛伏套索之一或多個胺基酸殘基(在前域中)及proTGFβ1之生長因子域之一或多個胺基酸殘基。在第2類抗體之一些實施例中，基於如SEQ ID NO: 24所示之胺基酸序列，抗體或抗原結合片段接觸人類proTGFβ1之以下胺基酸殘基中之一或多者：S35、G37、E38、V39、P40、P41、G42、P43、R274、K280及H283。

【0148】 在一些實施例中，第2類抗體具有針對TGFβ1之抑制性效能，使得當藉由適合基於細胞之分析(諸如本文中所述之CAGA分析)所量測時，抗體對hLTBP1-TGFβ1複合物及hLTBP3-TGFβ1複合物之IC_{50}為≤ 5

nM (例如，≤ 5 nM、≤ 4 nM、≤ 3 nM、≤ 2 nM、≤ 1 nM)。

第3類抗體

【0149】 在另一態樣中，本發明提供特異性結合以下中之每一者：hLTBP1-proTGFβ1、hLTBP3-proTGFβ1、hGARP-proTGFβ1及hLRRC33-proTGFβ1複合物，且能夠選擇性地抑制TGFβ1信號傳遞的單株抗體或其抗原結合片段，其中如藉由溶液平衡滴定所量測，抗體或片段以≤ 1 nM之KD結合hLTBP1-proTGFβ1及hLTBP3-proTGFβ1複合物中之每一者，且以KD ＞ 1 nM結合hGARP-proTGFβ1及hLRRC33-proTGFβ1複合物中之每一者。

【0150】 在一些實施例中，抗體與鼠類對應物交叉反應。在尤其較佳實施例中，抗體顯示與人類、食蟹獼猴、小鼠及大鼠抗原之交叉反應性。

【0151】 在一些實施例中，第3類抗體所結合的proTGFβ1複合物之一或多個結合區可包括proTGFβ1之前域之至少一部分。在較佳實施例中，抗體所結合之前域之部分包含潛伏套索之一或多個胺基酸殘基。在尤其較佳實施例中，抗體結合組合抗原決定基，其包含潛伏套索之一或多個胺基酸殘基(在前域中)及proTGFβ1之生長因子域之一或多個胺基酸殘基。在一些實施例中，基於SEQ ID NO: 24中所示之胺基酸序列，第3類抗體或抗原結合片段接觸人類proTGFβ1之以下胺基酸殘基中之一或多者　　：S35、G37、E38、V39、P40、P41、G42、P43、R274、K280及H283。

【0152】 在一些實施例中，第3類抗體具有針對TGFβ1之抑制性效能，使得當藉由適合基於細胞之分析(諸如本文中所述之CAGA分析)所量

測時，抗體對hLTBP1-TGFβ1複合物及hLTBP3-TGFβ1複合物之IC_{50}為≤ 5 nM (例如，≤ 5 nM、≤ 4 nM、≤ 3 nM、≤ 2 nM、≤ 1 nM)。

第4類抗體

【0153】在又另一態樣中，本發明提供特異性結合以下中之每一者　　：hLTBP1-proTGFβ1、hLTBP3-proTGFβ1、hGARP-proTGFβ1及hLRRC33-proTGFβ1複合物，且能夠選擇性地抑制TGFβ1信號傳遞的單株抗體或其抗原結合片段，其中如藉由溶液平衡滴定所量測，抗體或片段以≤ 1 nM之KD結合hLTBP1-proTGFβ1及hLTBP3-proTGFβ1複合物中之每一者，且其中對hLTBP1-proTGFβ1及hLTBP3-proTGFβ1複合物之平均親和性比對hGARP-proTGFβ1及hLRRC33-proTGFβ1複合物之平均親和性大至少五倍。

【0154】在一些實施例中，抗體與鼠類對應物交叉反應。在尤其較佳實施例中，抗體顯示與人類、食蟹獼猴、小鼠及大鼠抗原之交叉反應性。

【0155】在一些實施例中，第4類抗體所結合的proTGFβ1複合物之一或多個結合區可包括proTGFβ1之前域之至少一部分。在較佳實施例中，抗體所結合之前域之部分包含潛伏套索之一或多個胺基酸殘基。在尤其較佳實施例中，抗體結合組合抗原決定基，其包含潛伏套索之一或多個胺基酸殘基(在前域中)及proTGFβ1之生長因子域之一或多個胺基酸殘基。在一些實施例中，基於SEQ ID NO: 24中所示之胺基酸序列，第4類抗體或抗原結合片段接觸人類proTGFβ1之以下胺基酸殘基中之一或多者　　：S35、G37、E38、V39、P40、P41、G42、P43、R274、K280及H283。

【0156】在一些實施例中，第4類抗體具有針對TGFβ1之抑制性效能，使得當藉由適合基於細胞之分析(諸如本文中所述之CAGA分析)所量測時，抗體對hLTBP1-TGFβ1複合物及hLTBP3-TGFβ1複合物之IC_{50}為≤ 5 nM (例如，≤ 5 nM、≤ 4 nM、≤ 3 nM、≤ 2 nM、≤ 1 nM)。

第5類抗體

【0157】在另一態樣中，本發明提供以≤ 10 nM (較佳≤ 5 nM)之KD特異性結合以下中之每一者的單株抗體或其抗原結合片段：hLTBP1-proTGFβ1、hLTBP3-proTGFβ1、hGARP-proTGFβ1及hLRRC33-proTGFβ1複合物，；且其中抗體在基質締合之複合物中之至少一者(例如，hLTBP1-proTGFβ1及hLTBP3-proTGFβ)與細胞締合之複合物中之至少一者(例如，hGARP-proTGFβ1及/或hLRRC33-proTGFβ1)之間的相對親和性方面具有超過五倍基質/LTBP偏向。

【0158】在一些實施例中，抗體與鼠類對應物交叉反應。在尤其較佳實施例中，抗體顯示與人類、食蟹獼猴、小鼠及大鼠抗原之交叉反應性。

【0159】在一些實施例中，第5類抗體所結合的proTGFβ1複合物之一或多個結合區可包括proTGFβ1之前域之至少一部分。在較佳實施例中，抗體所結合之前域之部分包含潛伏套索之一或多個胺基酸殘基。在尤其較佳實施例中，抗體結合組合抗原決定基，其包含潛伏套索之一或多個胺基酸殘基(在前域中)及proTGFβ1之生長因子域之一或多個胺基酸殘基。在一些實施例中，基於SEQ ID NO: 24中所示之胺基酸序列，第5類抗體抗體或抗原結合片段接觸人類proTGFβ1之以下胺基酸殘基中之一或多者：S35、G37、E38、V39、P40、P41、G42、P43、R274、K280及

H283。

【0160】在一些實施例中，第5類抗體具有針對TGFβ1之抑制性效能，使得當藉由適合基於細胞之分析(諸如本文中所述之CAGA分析)所量測時，抗體對hLTBP1-TGFβ1複合物及hLTBP3-TGFβ1複合物之IC_{50}為≤ 5 nM (例如，≤ 5 nM、≤ 4 nM、≤ 3 nM、≤ 2 nM、≤ 1 nM)。

本發明之新穎經改良之抗體之特徵

結合概況

【0161】本文所揭示之抗體具有經增強之結合活性。抗體能夠特異性結合至呈遞分子-proTGFβ1複合物(有時稱作「大型潛伏複合物」，其為由偶合至單一呈遞分子之proTGFβ1二聚體構成的三元複合物)中之每一者，亦即，LTBP1-proTGFβ1、LTBP3-proTGFβ1、GARP-proTGFβ1及LRRC33-proTGFβ1。通常，使用重組產生的純化蛋白質複合物作為抗原(例如，抗原複合物)以在適合活體外結合分析中評估或確認抗體結合抗原之能力。此類分析為此項技術中所熟知，且包括(但不限於)基於生物層干涉術(BLI)之分析(諸如Octet®)及基於溶液平衡滴定之分析(諸如MSD-SET)。

【0162】基於BLI之結合分析普遍用於此項技術中以量測抗體對抗原之親和性及動力學。其為其中基於光干擾分析生物分子相互作用的無標記技術。蛋白質中之一者，例如所測試抗體可固定於生物感測器端部上。當溶液中之另一蛋白質，例如抗原變得結合至固定抗體時，其引起干擾圖案變化，其可得到即時量測。此實現監測結合特異性、締合及解離速率以及濃度依賴性。因此，BLI為顯示系統動力學之動力學量測術。當用作初始篩選方法以在篩選過程中鑑別及分離一組「結合子」與一組「非結合

子」或「弱結合子」時，歸因於其易用性及快速結果，基於BLI之分析，諸如Octet®系統(購自ForteBio/Molecular Devices, Fremont California)為尤其適宜的。

【0163】基於BLI之結合分析顯示兩類結合子。第一類稱為「情形平衡/非背景依賴性」抗體。當藉由Octet®量測結合親和性時，Ab11、Ab2及Ab20屬於此類(表6中突出顯示)。如在彙匯抗體之非限制性實例的基於BLI之結合概況的表中可見，此等抗體在四種目標複合物中顯示在次奈莫耳範圍內之相對較均一KD值，伴隨相對較低基質-細胞差異(不超過五倍偏向)(參見行(H))。此可與先前鑑別之抗體Ab3形成對比，其顯示比細胞締合之複合物明顯較高的對基質締合複合物之相對親和性(27+倍偏向)。進行本文中達成之偏向校正，因此不會不利地影響對LTBP1/3複合物之親和性。實際上，儘管顯著降低四種複合物中背景偏向性程度，但亦達成親和性之總體增強。

【0164】第二類表示下表中例示的抗體之大部分且稱為「背景偏向」抗體。當藉由Octet®量測時，相較於參考抗體Ab3，此等抗體之總體親和性得到改良，而相對於細胞締合之複合物對基質複合物的偏好/偏向得到維持或增強。在一些實施例中，背景偏向抗體顯示相對於其他三種目標複合物，對GARP-proTGFβ1複合物(例如，人類GARP-proTGFβ1)之偏向。如本文所用，表述「對GARP-proTGFβ1複合物之偏向」意謂抗體對GARP複合物之親和性(亦即，較高KD值)要比對其他目標複合物之親和性差。此類背景偏向抗體可宜用於治療不希望刺激個體之免疫系統的病狀。

【0165】應注意，相較於先前較一般使用情況，術語「非背景依賴性」在本文中以較高嚴格度使用。根據本發明，該術語賦予抗體可對不同

抗原複合物施加之相對親和性之均一水準(亦即，無偏向)。因此，本文所揭示之非背景依賴性抗體能夠靶向多種類型之TGFβ1前驅體複合物(例如，呈遞分子-proTGFβ1複合物)，且能夠以如藉由Octet®所量測，KD值為至少5 nM之相等親和性(亦即，無偏向)結合至各該複合物。如下文所呈現，本發明所涵蓋之多種抗體具有在次奈莫耳範圍內之KD值。

【0166】 下表6提供本發明所涵蓋之高親和性、非背景依賴性及背景依賴性proTGFβ1抗體之非限制性實例。該表提供來自活體外結合分析，如藉由Octet®所量測之代表性結果。亦藉由基於SPR之技術(Biacore®系統)獲得相似結果。

【0167】 表之行(A)提供具有離散胺基酸序列之單株抗體。Ab3(以粗體示出)為先前鑑別之參考抗體，其在基於細胞之分析中顯示為強效的；在多種動物模型中為有效的；且伴有清晰毒理學概況(揭示於PCT/US2018/012601中)。行(B)、(C)、(E)及(F)提供所列抗體中之每一者分別對如所指示之抗原複合物之親和性，其以KD量測。更具體言之，行(B)顯示抗體中之每一者對重組人類LTBP1-proTGFβ1複合物之親和性；行(C)顯示對重組人類LTBP3-proTGFβ1複合物之親和性；(E)顯示對重組人類GARP-proTGFβ1複合物之親和性；且(F)顯示對重組人類LRRC33-proTGFβ1複合物之親和性。由(B)及(C)計算之平均KD值顯示於相應行(D)中，其共同表示抗體對ECM締合或基質締合之proTGFβ1複合物之親和性。同樣，由(E)及(F)計算之平均KD值顯示於相應行(G)中，其共同表示抗體對細胞表面或細胞締合之proTGFβ1複合物之親和性。最後，來自行(D)及(G)之平均KD值之間的相對比率表示為行(H)中的「倍數偏向」。因此，當對抗體對基質締合之複合物的結合偏好與細胞表面複合

物比較時，行(H)之數值愈大，對特定抗體存在之偏向愈大。此為定量地呈現及比較抗體對其目標複合物之內在偏向的一種方式。此類分析可適用於引導針對用於特定治療用途之候選抗體的選擇過程。

表6：藉由Octet®的代表性抗體之活體外動力學結合概況

(A) 參考 Ab	基質締合之proTGFβ1			細胞締合之proTGFβ1			(H) G/D (倍數偏向)
	(B) hLTBP1	(C) hLTBP3	(D) ECM AVRG (nM)	(E) hGARP	(F) hLRRC33	(G) 細胞AVRG (nM)	
Ab3	4.70E-10	4.59E-10	0.4645	1.73E-08	8.52E-09	12.91	27.79
Ab7	4.87E-10	4.17E-10	0.452	1.80E-08	1.03E-08	14.15	31.3
Ab8	3.29E-10	3.02E-10	0.3155	1.54E-08	1.00E-08	12.7	40.25
Ab9	3.48E-10	2.84E-10	0.316	1.55E-08	1.30E-09	8.4	26.58
Ab10	2.62E-10	3.19E-10	0.2905	1.02E-08	1.06E-09	5.63	19.38
Ab11	1.67E-10	1.54E-10	0.1605	8.42E-10	5.55E-10	0.6985	4.352
Ab12	1.57E-10	1.83E-10	0.17	7.01E-09	7.75E-10	3.8925	22.897
Ab13	2.76E-10	2.49E-10	0.2625	1.00E-08	1.40E-09	5.7	21.71
Ab14	3.36E-10	3.46E-10	0.341	1.05E-08	1.34E-09	5.92	17.36
Ab15	1.50E-10	1.68E-10	0.159	7.01E-09	7.02E-10	3.856	24.25
Ab2	1.65E-10	1.48E-10	0.1565	7.78E-10	5.08E-10	0.643	4.1086
Ab16	1.81E-10	1.32E-10	0.1565	4.16E-09	6.31E-10	2.3955	15.307
Ab17	1.74E-10	2.08E-10	0.191	8.62E-09	6.58E-10	4.639	24.288
Ab18	3.12E-10	2.57E-10	0.2845	1.15E-08	1.02E-09	6.26	22.00
Ab19	1.89E-10	1.56E-10	0.1725	1.12E-08	6.92E-10	5.946	34.47
Ab20	1.92E-10	1.31E-10	0.1615	8.84E-10	5.45E-10	0.7145	4.424
Ab35	1.59E-10	1.69E-10	0.164	7.37E-09	5.45E-10	3.9575	24.13
Ab36	3.53E-10	4.15E-10	0.384	1.28E-08	1.42E-09	7.11	18.5156

【0168】儘管可獲自基於BLI之分析的結合概況之動力學(例如，「締合」及「解離」速率)提供適用資訊，但本發明申請者預期，基於本文所揭示之活化抑制劑，亦即，藉由結合至繫留(例如，組織定位)非活性(例如，潛伏)目標，藉此防止其變活化而起作用之抗體的作用機制，在平衡下量測之結合特性可較為準確地反映其活體內效能。舉例而言，具有快速「締合」速率(「K_{on}」)的，將在藉由BLI獲得之結合量測中得到反映的抗體可提供評估中和抗體(例如，直接靶向且隔絕活性、可溶性生長因子本身之抗體)的適用參數。然而，此可能未必適用於充當活化抑制劑之抗

體，諸如本文所揭示之彼等抗體。將作用機制中的此差異考慮在內，藉由使用允許在平衡下測定親和性的活體外結合分析之另一模式來進行結合特性之進一步評估。

【0169】 溶液平衡滴定(「SET」)為一種以下分析，藉由其可在平衡下在溶液中量測兩個分子(諸如抗原與結合該抗原之抗體)之間的結合。舉例而言，基於Meso-Scale Discovery(「MSD」)之SET或MSD-SET為尤其針對平衡下之高親和性蛋白質-蛋白質相互作用測定解離常數之適用模式(參見例如：Ducata等人 (2015) J Biomolecular Screening 20(10): 1256-1267)。基於SET之分析尤其適用於測定具有次奈莫耳(例如，皮莫耳)親和性的抗體之KD值。

【0170】 如藉由MSD-SET所量測，本發明之所選抗體顯示相對於細胞締合之複合物，對基質締合之複合物的背景偏向(亦即，大於五倍偏向)或無偏向(亦即，低於5倍偏向)。舉例而言，如表7中所示，當藉由MSD-SET所量測時，相對於細胞締合之複合物，Ab2顯示對基質締合之複合物有背景偏向(亦即，8.66倍偏向)。或者，當藉由MSD-SET所量測時，Ab3及Ab19顯示較小程度之該偏向(亦即，分別僅2.16倍及1.675倍偏向)。在不受特定理論束縛之情況下，重組蛋白之性質方面的分析動力學及/或差異可解釋與以下MSD-SET分析(參見下表7)相比，上述Octet分析(參見表6)中觀測到的結合至hGARP複合物之Ab19中所看到的明顯差異。舉例而言，Octet分析量測動力學締合及解離速率，而MSD-SET分析量測平衡下之結合。此外，Octet分析中所用之重組抗體表示為酵母中之IgG1抗體，而MSD分析中所用之抗體表示為哺乳動物細胞中之IgG4抗體。

表7：藉由MSD-SET的在平衡下量測之所選抗體之活體外結合概況

(A) 參考 Ab	基質締合之proTGFβ1			細胞締合之proTGFβ1			(H) G/D (倍數偏向)
	(B) hLTBP1	(C) hLTBP3	(D) ECM AVRG (nM)	(E) hGARP	(F) hLRRC33	(G) 細胞AVRG (nM)	
C1	3.30E-08	1.40E-08	23.2	5.10E-09	2.20E-09	3.65	0.16
C2	2.10E-08	1.20E-08	16.5	8.80E-09	6.10E-09	7.45	0.48
Ab3	1.30E-08	1.62E-08	14.6	2.80E-08	3.50E-08	31.5	2.16
Ab11	1.20E-09	1.20E-09	1.2	3.00E-09	6.30E-09	4.65	3.87
AB12	7.80E-10	6.60E-10	0.72	1.70E-09	3.20E-09	2.45	3.40
Ab2	3.60E-10	1.71E-10	0.266	1.40E-09	3.20E-09	2.30	8.66
Ab19	2.10E-09	2.70E-09	2.835	3.80E-09	5.70E-09	4.75	1.68
Ab20	2.20E-10	1.80E-10	0.20	1.10E-09	1.60E-09	1.35	6.75
Ab35	2.70E-10	2.60E-10	0.265	1.10E-09	1.10E-09	1.1	4.15

【0171】表7亦包括作為參考抗體的三種先前所述之TGFβ1選擇性抗體(C1、C2及Ab3)。C1及C2初次揭示於以WO 2017/156500公佈之PCT/US2017/021972中，且Ab3描述於以WO 2018/129329公佈之PCT/US2018/012601中。

【0172】如表7中可見，相較於早先TGFβ1選擇性抗體，在平衡下量測的新穎抗體對基質締合之複合物(hLTBP1-proTGFβ1及hLTBP3-proTGFβ1)之結合活性顯示顯著改善。本文所揭示之多種新穎抗體對hLTBP1-proTGFβ1及hLTBP3-proTGFβ1複合物具有高親和性，伴隨KD值在次奈莫耳範圍(例如，低於1 nM)內，同時對細胞締合之複合物(hGARP-proTGFβ1及hLRRC33-proTGFβ1)維持中度親和性(例如，單位數奈莫耳範圍，例如在1與5 nM之間)，使得此等新穎抗體尤其有利於用於涉及細胞外基質之調節異常的疾病之治療中。細胞外基質調節異常可包括尤其由ECM骨架蛋白之異常表現所引起的基質重塑及/或增加僵硬。可在受影響組織(諸如纖維化及腫瘤)中觀測到肌纖維母細胞及肌纖維母細胞樣細胞之出現率增加，其可藉由本發明之TGFβ1選擇性抑制劑標準化。

【0173】在一相關態樣中，本發明提供一種以下抗體或其抗原結合

片段：i)其與第1類或第2類抗體中之任一者交叉競爭及ii)符合第3類、第4類及/或第5類中所闡述之準則。

功效

【0174】本文所揭示之抗體可出於其抑制TGFβ1信號傳遞之能力在廣義上表徵為「功能性抗體」。如本文所用，「功能性抗體」藉助於其結合抗原(例如，抗原複合物)之能力賦予一或多種生物活性。功能性抗體因此在廣義上包括能夠調節目標分子(亦即，抗原)之活性/功能。此類調節抗體包括抑制抗體(或抑制性抗體)及活化抗體。本發明牽涉可抑制與多種TGFβ1情形相關的由TGFβ1信號傳遞介導之生物過程的抗體。當以治療有效劑量(在可接受毒性量內達成足夠功效所處的劑量)投與時，用於進行本發明之抑制性藥劑，諸如本文中所述之抗體意欲為TGFβ1選擇性的，且並不靶向或干擾TGFβ2及TGFβ3。相較於先前鑑別之TGFβ1之活化抑制劑，本發明之新穎抗體具有增強之抑制活性(效能)。

【0175】在一些實施例中，可在適合的基於細胞之分析，諸如本文中所述之CAGA報導體分析中量測抑制性抗體之效能。通常，培養細胞，諸如異質細胞及初級細胞可用於進行基於細胞之效能分析。可使用表現內源性TGFβ1及/或相關呈遞分子，諸如LTBP1、LTBP3、GARP及LRRC33之細胞。或者，編碼一或多種相關蛋白質，諸如TGFβ1及/或相關呈遞分子，諸如LTBP1、LTBP3、GARP及LRRC33之外源性核酸可例如藉由轉染(例如，穩定轉染或瞬時轉染)或藉由基於病毒載體之感染引入至此類細胞中。在一些實施例中，將LN229細胞用於該分析。使表現TGFβ1及相關呈遞分子(例如，LTBP1、LTBP3、GARP或LRRC33)之細胞在培養物中生長，該等細胞在細胞表面(當與GARP或LRRC33締合時)上「存在」大

型潛伏複合物或沈積於ECM中(當與LTBP締合時)。TGFβ1之活化可藉由表現於另一細胞表面上的整合素觸發。表現整合素之細胞可為共表現大型潛伏複合物之相同細胞或獨立細胞類型。將報導體細胞添加至分析系統，其併入有TGFβ反應性元件。以此方式，可藉由在TGFβ活化後，偵測來自報導體細胞(例如，TGFβ反應性報導體基因，諸如偶合至TGFβ反應性啟動子元件的螢光素酶)的信號來量測TGFβ活化之程度。使用此類基於細胞之分析系統，可藉由量測在存在或不存在測試抗體下，報導體基因信號(例如，如藉由螢光讀取結果所量測的螢光素酶活性)之變化(減少)或差異來測定抗體之抑制活性。

【0176】在一些實施例中，針對hLTBP1-proTGFβ1及hLTBP3-proTGFβ1複合物中之每一者所量測，根據基於細胞之分析(諸如本文中其他處所述之LN229細胞分析)計算的本發明之新穎抗體之抑制性效能(IC50)可低於10 nM。在一些實施例中，針對hLTBP1-proTGFβ1及hLTBP3-proTGFβ1複合物中之每一者所量測，抗體之IC50為5 nM或更小(亦即，≤ 5 nM)。在較佳實施例中，針對hLTBP1-proTGFβ1及hLTBP3-proTGFβ1複合物中之每一者所量測，抗體之IC50低於1 nM。在一些實施例中，針對hLTBP1-proTGFβ1及hLTBP3-proTGFβ1複合物中之每一者以及進一步針對mLTBP1-proTGFβ1及mLTBP3-proTGFβ1複合物中之至少一者，抗體之IC50低於1 nM。在一些實施例中，對於hLTBP1-proTGFβ1、hLTBP3-proTGFβ1、hGARP-proTGFβ1及hLRRC33-proTGFβ1複合物中之每一者，本發明抗體之IC50為10 nM或更小(亦即，≤ 10 nM)。在一些實施例中，對於hLTBP1-proTGFβ1、hLTBP3-proTGFβ1、hGARP-proTGFβ1及hLRRC33-proTGFβ1複合物中之每一

者，本發明抗體之IC50為5 nM或更小(亦即，≤ 5 nM)。

【0177】 在一些實施例中，可在適合活體內模型中評估效能作為功效及/或藥效學作用之量度。舉例而言，若第一抗體在活體內模型中在特定濃度下為有效的，且第二抗體在同一活體內模型中在比第一抗體低的濃度下等效，則可稱第二抗體比第一抗體更有效。可使用此項技術中已知的任何適合疾病模式來評定TGFβ1抑制劑之相對效能，其視相關特定適應症，例如癌症模型及纖維化模型而定。較佳地，各測試抗體之多個劑量或濃度包括於此類研究中。

【0178】 同樣，可量測藥效學(PD)作用以測定抑制性抗體之相對效能。TGFβ信號傳遞路徑之常用PD量度包括(但不限於)SMAD2/3之磷酸化及其轉錄對TGFβ活化敏感的下游效應基因之表現，諸如伴隨TGFβ反應性啟動子元件(例如Smad結合元件)之基因。在一些實施例中，當以3 mg/kg或更小之劑量投與動物時，本發明之抗體能夠在臨床前纖維化模型中完全阻斷疾病誘導之SMAD2/3磷酸化。在一些實施例中，當在腎纖維化之UUO模型中以10 mg/kg或更小之劑量投與動物時，本發明之抗體能夠顯著抑制包括Acta2、Col1a1、Col3a1、Fn1、Itga11、Lox、Loxl2之一組標記基因的經纖維化誘導之表現。

安全性/毒理學

【0179】 如上文所提及，已證明拮抗所有TGFβ同工型，亦即TGFβ1、TGFβ2及TGFβ3之已知泛抑制劑在多種哺乳動物物種中會引起多種毒性。最顯著之已知毒性包括心血管毒性(諸如瓣膜病)及上皮增生、發炎及出血。更具體言之，文獻中所報導的與泛TGFβ抑制劑(例如，TGFβR之小分子拮抗劑及非選擇性中和抗體)相關的所觀測到之毒性中之一些包

括以下。

【0180】 與TGFβ抑制相關之心血管毒性包括：主動脈瓣膜、右AV瓣膜及左AV瓣膜中之增生；主動脈瓣膜、左AV瓣膜及升主動脈中發炎；升主動脈、主動脈瓣膜及左AV瓣膜中出血；升主動脈中結締組織退化(參見例如，Strauber等人 (2014) 「Nonclinical safety evaluation of a Transforming Growth Factor β receptor I kinase inhibitor in Fischer 344 rats and beagle dogs」 J. Clin. Pract 4(3): 1000196)。

【0181】 此外，結合全部三種TGFβ同工型之中和抗體與某些上皮毒性相關，其概述於下表中。

表8：針對1D11及GC1008在物種中的上皮及其他毒性

	小鼠	食蟹獼猴	人類
毒性	● 舌、牙齦及食道出現增生及發炎。 ● 結果非可逆(12週恢復)	● 牙齦、鼻部上皮及膀胱出現增生 ● 貧血導致治療停止 ● 變化為可逆的(膀胱除外)	● 牙齦出血 ● 流鼻血 ● 頭痛 ● 疲勞 ● 多種皮膚病症，包括角化棘皮瘤(KA)、過度角化、皮膚SCC及基底細胞癌
藥物/劑量/持續時間	1D11 劑量：50 mg/kg (3次/週) 持續時間：9至12週	GC1008 劑量：10及50 mg/kg 持續時間：6個月	GC1008 劑量：0.1、0.3、1、3、10、15 mg/kg 持續時間：4個月劑量
暴露量	血清濃度 = 1至2 mg/mL (超過4至12週)	未揭示	半衰期：21.7天 DN C最大 約(350 ng/mL)mg
*Vitsky等人 Am. J Pathology 第174卷, 2009；及Lonning等人 Current Pharmaceutical Biotech, 2011			

【0182】 本發明之申請者先前已證明藉由靶向潛伏proTGFβ1複合物來選擇性地阻斷TGFβ1之活化步驟的單株抗體之經改善之安全概況(參

見例如WO 2017/156500及WO 2018/129329)。在其中所述之大鼠毒理學研究中，當用至多100毫克/公斤/週之抑制劑投配動物持續4週時，未可觀測到測試物相關毒性。

【0183】建立在習知TGFβ拮抗劑之同工型特異性的缺乏可形成與TGFβ抑制相關之毒性之來源的基礎的本發明申請者之較早認識(參見PCT/US2017/021972)之上，本發明人設法進一步達成用於治療顯現多層面TGFβ1調節異常之多種疾病，同時維持同工型選擇性抑制劑之安全性/耐受性態樣的廣效TGFβ1抑制。因此，本文中所呈現之研究的目標中之一者在於至少維持相同或相等水準之安全概況，同時增加此類抑制劑之效能。實際上，本文中所呈現之資料顯示已達成目標。

【0184】因此，在一些實施例中，當每週投配一次持續至少4週時，根據本發明之新穎抗體具有>100 mg/kg之最大耐受劑量(MTD)。在一些實施例中，當每週投配一次持續至少4週時，根據本發明之新穎抗體具有至多100 mg/kg之無觀測到的不良反應量(NOAEL)。用於進行TGFβ抑制劑及TGFβ1抑制劑之安全性/毒理學研究的適合動物模型包括(但不限於)：大鼠、狗、食蟹獼猴及小鼠。在較佳實施例中，基於適合臨床前功效研究的抗體之最低有效量低於NOAEL。更佳地，抗體之最低有效量為NOAEL之約三分之一或更小。在尤其較佳實施例中，抗體之最低有效量為NOAEL之約六分之一或更小。在一些實施例中，抗體之最低有效量為NOAEL之約十分之一或更小。

結合區

【0185】在本發明之情形下，抗原之「一或多個結合區」提供抗體-抗原相互作用之結構基礎。如本文所用，「結合區」係指抗體與抗原之間

界面之區域，使得當在生理溶液中結合至proTGFβ1複合物(「抗原」)時，抗體或片段保護結合區避免溶劑暴露，如藉由適合技術，諸如氫-氘交換質譜(HDX-MS)所測定。

【0186】 HDX-MS對於此項技術為熟悉的，其為用於探究蛋白質構形或溶液中蛋白質-蛋白質相互作用的普遍使用之技術。此方法依賴於蛋白質主鏈醯胺中的氫與溶液中所存在之氘交換。藉由量測氫-氘交換速率，吾人可獲得關於蛋白質動力學及構形之資訊(綜述於：Wei等人(2014)「Hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry for probing higher order structure of protein therapeutics: methodology and applications」. Drug Disco Today. 19(1): 95-102；其以引用之方式併入)。此技術之應用係基於以下假定，當抗體-抗原複合物形成時，結合搭配物之間的界面可封閉溶劑，藉此歸因於溶劑之空間排阻而降低或阻止交換速率。

【0187】 使用此技術，可測定proTGFβ1之結合(因此受保護之)區。在一些實施例中，鑑別為對符合本文所闡述之準則(表1之抗體第1至5類中之一或多者所需之準則)的抗體或片段之結合至關重要的proTGFβ1上之一部分包括胺基酸伸長部SPPSQGEVPPGPLPEAVLALYNST (SEQ ID NO:261)之至少一部分(「第一結合區」)，其大部分與通常稱作潛伏套索的LAP中之蛋白域重疊。在一些實施例中，抗體至少結合(因此保護)LAP之臂域中的胺基酸序列LREAVPE (SEQ ID NO: 259) (「第二結合區」)之部分。在一些實施例中，抗體至少結合(因此保護)胺基酸序列WKWIHEPKGYHANFCLG (SEQ ID NO:262) (「第三結合區」)之一部分，其大部分與生長因子域中之所謂的指-1重疊。在一些實施例中，抗體

結合至proTGFβ1複合物之抗原決定基，該proTGFβ1複合物包含SPPSQGEVPPGPLPEAVLALYNST (SEQ ID NO: 261) (「第一結合區」)之一或多個胺基酸殘基、LREAVPE (SEQ ID NO: 259) (「第二結合區」)及/或WKWIHEPKGYHANFCLG (SEQ ID NO: 262) (「第三結合區」)之一或多個胺基酸殘基。

【0188】 在一些實施例中，第一結合區及/或第二結合區賦予抗體或片段之同工型選擇性。

【0189】 有利地，本發明之較佳抑制性抗體能夠抑制成熟生長因子自潛伏複合物釋放，藉此減少生長因子信號傳遞。此類抗體可靶向當與此類抗體締合時，引起生長因子釋放或活性減少之任何抗原決定基。在一些實施例中，本發明之抗體特異性結合組合抗原決定基，亦即藉由抗原或抗原複合物之兩種或更多種組分/部分形成的抗原決定基。舉例而言，組合抗原決定基可藉由來自單一蛋白質之多個部分，亦即來自同一蛋白質之多於一個非相鄰區段的胺基酸殘基之作用而形成。或者，組合抗原決定基可藉由來自抗原複合物之多種蛋白質組分的作用而形成。在一些實施例中，本發明之抗體特異性結合構形抗原決定基(或構形特異性抗原決定基)，例如對抗原或抗原複合物之三維結構(亦即，構形)敏感的抗原決定基。在較佳實施例中，組合抗原決定基包含潛伏套索中之胺基酸殘基及生長因子域中之胺基酸殘基。

表9：人類TGFβ1多肽之所選蛋白域/模組

人類TGFβ1域/模組	胺基酸序列	SEQ ID NO
潛伏相關肽(LAP) (前域)	LSTCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGEVPPG PLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADYYAKEVTRVL MVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFFNTSELREAVPEPVLLSRA ELRLLRLKLKVEQHVELYQKYSNNSWRYLSNRLLAPSDSP EWLSFDVTGVVRQWLSRGGEIEGFRLSAHCSCDSRDNTLQ VDINGFTTGRRGDLATIHGMNRPFLLLMATPLERAQHLQSS RHRR *(「第一結合區」加下劃線)*	263
緊束衣(Straight Jacket)	LSTCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGEVPPG PLP	264
生長因子域	ALDTNYCFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKGYH ANFCLGPCPYIWSLDTQYSKVLALYNQHNPGASAAPCCVP QALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS	265
扣件(Fastener)	殘基74至76，YYA	n/a
弗林裂解位點	RHRR	266
臂	EAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADYYAKEVTRVLMV ETHNEIYDKFKQSTHSIYMFFNTSELREAVPEPVLLSRAELR LLRLKLKVEQHVELYQKYSNNSWRYLSNRLLAPSDSPEWL SFDVTGVVRQWLSRGGEIEGFRLSAHCSCDSRDNTLQVDI NGFTTGRRGDLATIHGMNRPFLLLMATPLERAQHLQSSRH RR *(「第二結合區」加下劃線)*	267
指-1(Finger-1)	CVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKGYHANFC *(「第三結合區」加下劃線)*	268
指-2	CVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS	269
呈遞分子締合之殘基	Cys 4	n/a
潛伏套索	LASPPSQGEVPPGPL	270
經延長之潛伏套索	LASPPSQGEVPPGPLPEAVLALYNSTR	271
α-1螺旋	LSTCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLR	272
α-2螺旋	AVLALYNSTR	273
觸發環	NGFTTGRRGDLATIHGMNRP	274
整合素結合	殘基215至217，RGD	n/a
蝶形(Bowtie)	CSCDSRDNTLQVD	275

抗原複合物及組分

【0190】本發明之新穎抗體特異性結合四種已知的人類大型潛伏複合物(例如，hLTBP1-proTGFβ1、hLTBP3-proTGFβ1、hGARP-proTGFβ1及hLRRC33-proTGFβ1)中之每一者，選擇性地抑制TGFβ1活化，且符合表1中所闡述之第1至5類中之一或多者的準則。此類抗體之篩選(例如，鑑別及選擇)涉及使用適合抗原複合物，其通常經重組產生。提供可包含此類抗原複合物之適用蛋白質組分，其包括TGFβ同工型及相關多肽、片段及變異體、呈遞分子(例如，LTBP、GARP、LRRC33)及相關多肽、片段及變異體。此等組分可經表現、純化且使其形成蛋白質複合物(諸如大型潛伏複合物)，其可用於抗體篩選之過程中。篩選可包括陽性選擇，其中期望結合子係選自結合子及非結合子之池或庫；及陰性選擇，其中非所期望之結合子自該池移除。

【0191】在一些實施例中，TGFβ1包含天然存在之哺乳動物胺基酸序列。在一些實施例中，TGFβ1包含天然存在之人類胺基酸序列。在一些實施例中，TGFβ1包含人類、猴、大鼠或小鼠胺基酸序列。在一些實施例中，本文中所述之抗體或其抗原結合部分並非特異性結合至TGFβ2。在一些實施例中，本文中所述之抗體或其抗原結合部分並非特異性結合至TGFβ3。在一些實施例中，本文中所述之抗體或其抗原結合部分並非特異性結合至TGFβ2或TGFβ3。在一些實施例中，本文中所述之抗體或其抗原結合部分特異性結合至包含SEQ ID NO: 24中所示之胺基酸序列的TGFβ1。TGFβ2之胺基酸序列及TGFβ3胺基酸序列分別示於SEQ ID NO: 28及SEQ ID NO: 32中。在一些實施例中，本文中所述之抗體或其抗原結合部分特異性結合至包含非天然存在之胺基酸序列的TGFβ1 (或者，在本

文中稱為非天然存在之TGFβ1)。舉例而言，非天然存在之TGFβ1可包含相對於天然存在之TGFβ1胺基酸序列的一或多個經重組生成之突變。在一些實施例中，TGFβ1、TGFβ2或TGFβ3胺基酸序列包含如SEQ ID NO: 24至SEQ ID NO: 35中所示之胺基酸序列，如表10中所示。在一些實施例中，TGFβ1、TGFβ2或TGFβ3胺基酸序列包含如SEQ ID NO: 36至SEQ ID NO: 43中所示之胺基酸序列，如表11中所示。

【0192】 TGFβ1 (前域+生長因子域)

LSTCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGEVPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADYYAKEV
TRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFFNTSELREAVPEPVLLSRAELRLLRLKLKVEQHVELYQKYSNNSWRYLSNRLL
APSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRGGEIEGFRLSAHCSCDSRDNTLQVDINGFTTGRRGDLATIHGMNRPFLLLMATP
LERAQHLQSSRHRRALDTNYCFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKGYHANFCLGPCPYIWSLDTQYSKVLA
LYNQHNPGASAAPCCVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS (SEQ ID NO: 24)

【0193】 TGFβ2 (前域+生長因子域)

SLSTCSTLDMDQFMRKRIEAIRGQILSKLKLTSPPEDYPEPEEVPPEVISIYNSTRDLLQEKASRRAAACERERSDEEY
YAKEVYKIDMPPFFPSENAIPPTFYRPYFRIVRFDVSAMEKNASNLVKAEFRVFRLQNPKARVPEQRIELYQILKSKDLT
SPTQRYIDSKVVKTRAEGEWLSFDVTDAVHEWLHHKDRNLGFKISLHCPCCTFVPSNNYIIPNKSEELEARFAGIDGTS
TYTSGDQKTIKSTRKKNSGKTPHLLLMLLPSYRLESQQTNRRKKRALDAAYCFRNVQDNCCLRPLYIDFKRDLGWKWI
HEPKGYNANFCAGACPYLWSSDTQHSRVLSLYNTINPEASASPCCVSQDLEPLTILYYIGKTPKIEQLSNMIVKSCKCS
(SEQ ID NO: 28)

【0194】 TGFβ3 (前域+生長因子域)

SLSLSTCTTLDFGHIKKKRVEAIRGQILSKLRLTSPPEPTVMTHVPYQVLALYNSTRELLEEMHGEREEGCTQENTESE
YYAKEIHKFDMIQGLAEHNELAVCPKGITSKVFRFNVSSVEKNRTNLFRAEFRVLRVPNPSSKRNEQRIELFQILRPDE
HIAKQRYIGGKNLPTRGTAEWLSFDVTDTVREWLLRRESNLGLEISIHCPCHTFQPNGDILENIHEVMEIKFKGVDNED
DHGRGDLGRLKKQKDHHNPHLILMMIPPHRLDNPGQGGQRKKRALDTNYCFRNLEENCCVRPLYIDFRQDLGWKW
VHEPKGYYANFCSGPCPYLRSADTTHSTVLGLYNTLNPEASASPCCVPQDLEPLTILYYVGRTPKVEQLSNMVVKSC
KCS (SEQ ID NO: 32)

表10：例示性TGFβ1、TGFβ2及TGFβ3胺基酸序列

蛋白質	序列	SEQ ID NO
proTGFβ1	LSTCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGEV PPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADYYAK EVTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFFNTSELREAV PEPVLLSRAELRLLRLKLKVEQHVELYQKYSNNSWRY LSNRLLAPSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRGGEIEGFR LSAHCSCDSRDNTLQVDINGFTTGRRGDLATIHGMNR PFLLLMATPLERAQHLQSSRHRRALDTNYCFSSTEKN	24

	CCVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKGYHANFCLGPCPYI WSLDTQYSKVLALYNQHNPGASAAPCCVPQALEPLPI VYYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS	
proTGFβ1 C4S	LSTSKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGEV PPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADYYAK EVTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFFNTSELREAV PEPVLLSRAELRLLRLKLKVEQHVELYQKYSNNSWRY LSNRLLAPSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRGGEIEGFR LSAHCSCDSRDNTLQVDINGFTTGRRGDLATIHGMNR PFLLLMATPLERAQHLQSSRHRRALDTNYCFSSTEKN CCVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKGYHANFCLGPCPYI WSLDTQYSKVLALYNQHNPGASAAPCCVPQALEPLPI VYYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS	25
proTGFβ1 D2G	LSTCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGEV PPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADYYAK EVTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFFNTSELREAV PEPVLLSRAELRLLRLKLKVEQHVELYQKYSNNSWRY LSNRLLAPSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRGGEIEGFR LSAHCSCDSRDNTLQVDINGFTTGRRGDLATIHGMNR PFLLLMATPLERAQHLQSSRHGALDTNYCFSSTEKNC CVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKGYHANFCLGPCPYIW SLDTQYSKVLALYNQHNPGASAAPCCVPQALEPLPIV YYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS	26
proTGFβ1 C4S D2G	LSTSKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGEV PPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADYYAK EVTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFFNTSELREAV PEPVLLSRAELRLLRLKLKVEQHVELYQKYSNNSWRY LSNRLLAPSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRGGEIEGFR LSAHCSCDSRDNTLQVDINGFTTGRRGDLATIHGMNR PFLLLMATPLERAQHLQSSRHGALDTNYCFSSTEKNC CVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKGYHANFCLGPCPYIW SLDTQYSKVLALYNQHNPGASAAPCCVPQALEPLPIV YYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS	27
proTGFβ2	SLSTCSTLDMDQFMRKRIEAIRGQILSKLKLTSPPEDYP EPEEVPPEVISIYNSTRDLLQEKASRRAAACERERSDEE YYAKEVYKIDMPPFFPSENAIPPTFYRPYFRIVRFDVSA MEKNASNLVKAEFRVFRLQNPKARVPEQRIELYQILKS KDLTSPTQRYIDSKVVKTRAEGEWLSFDVTDAVHEWL HHKDRNLGFKISLHCPCCTFVPSNNYIIPNKSEELEARF	28

	AGIDGTSTYTSGDQKTIKSTRKKNSGKTPHLLLMLLPS YRLESQQTNRRKKRALDAAYCFRNVQDNCCLRPLYID FKRDLGWKWIHEPKGYNANFCAGACPYLWSSDTQHS RVLSLYNTINPEASASPCCVSQDLEPLTILYYIGKTPKIE QLSNMIVKSCKCS	
proTGFβ2 C5S	SLSTSSTLDMDQFMRKRIEAIRGQILSKLKLTSPPEDYP EPEEVPPEVISIYNSTRDLLQEKASRRAAACERERSDEE YYAKEVYKIDMPPFFPSENAIPPTFYRPYFRIVRFDVSA MEKNASNLVKAEFRVFRLQNPKARVPEQRIELYQILKS KDLTSPTQRYIDSKVVKTRAEGEWLSFDVTDAVHEWL HHKDRNLGFKISLHCPCCTFVPSNNYIIPNKSEELEARF AGIDGTSTYTSGDQKTIKSTRKKNSGKTPHLLLMLLPS YRLESQQTNRRKKRALDAAYCFRNVQDNCCLRPLYID FKRDLGWKWIHEPKGYNANFCAGACPYLWSSDTQHS RVLSLYNTINPEASASPCCVSQDLEPLTILYYIGKTPKIE QLSNMIVKSCKCS	29
proTGFβ2 C5S D2G	SLSTSSTLDMDQFMRKRIEAIRGQILSKLKLTSPPEDYP EPEEVPPEVISIYNSTRDLLQEKASRRAAACERERSDEE YYAKEVYKIDMPPFFPSENAIPPTFYRPYFRIVRFDVSA MEKNASNLVKAEFRVFRLQNPKARVPEQRIELYQILKS KDLTSPTQRYIDSKVVKTRAEGEWLSFDVTDAVHEWL HHKDRNLGFKISLHCPCCTFVPSNNYIIPNKSEELEARF AGIDGTSTYTSGDQKTIKSTRKKNSGKTPHLLLMLLPS YRLESQQTNRRKGALDAAYCFRNVQDNCCLRPLYIDF KRDLGWKWIHEPKGYNANFCAGACPYLWSSDTQHSR VLSLYNTINPEASASPCCVSQDLEPLTILYYIGKTPKIEQ LSNMIVKSCKCS	30
proTGFβ2 D2G	SLSTCSTLDMDQFMRKRIEAIRGQILSKLKLTSPPEDYP EPEEVPPEVISIYNSTRDLLQEKASRRAAACERERSDEE YYAKEVYKIDMPPFFPSENAIPPTFYRPYFRIVRFDVSA MEKNASNLVKAEFRVFRLQNPKARVPEQRIELYQILKS KDLTSPTQRYIDSKVVKTRAEGEWLSFDVTDAVHEWL HHKDRNLGFKISLHCPCCTFVPSNNYIIPNKSEELEARF AGIDGTSTYTSGDQKTIKSTRKKNSGKTPHLLLMLLPS YRLESQQTNRRKGALDAAYCFRNVQDNCCLRPLYIDF KRDLGWKWIHEPKGYNANFCAGACPYLWSSDTQHSR VLSLYNTINPEASASPCCVSQDLEPLTILYYIGKTPKIEQ LSNMIVKSCKCS	31
proTGFβ3	SLSLSTCTTLDFGHIKKKRVEAIRGQILSKLRLTSPPEPT	32

	VMTHVPYQVLALYNSTRELLEEMHGEREEGCTQENT ESEYYAKEIHKFDMIQGLAEHNELAVCPKGITSKVFRF NVSSVEKNRTNLFRAEFRVLRVPNPSSKRNEQRIELFQI LRPDEHIAKQRYIGGKNLPTRGTAEWLSFDVTDTVRE WLLRRESNLGLEISIHCPCHTFQPNGDILENIHEVMEIK FKGVDNEDDHGRGDLGRLKKQKDHHNPHLILMMIPP HRLDNPGQGGQRKKRALDTNYCFRNLEENCCVRPLYI DFRQDLGWKWVHEPKGYYANFCSGPCPYLRSADTTH STVLGLYNTLNPEASASPCCVPQDLEPLTILYYVGRTPK VEQLSNMVVKSCKCS	
proTGFβ3 C7S	SLSLSTSTTLDFGHIKKKRVEAIRGQILSKLRLTSPPEPT VMTHVPYQVLALYNSTRELLEEMHGEREEGCTQENT ESEYYAKEIHKFDMIQGLAEHNELAVCPKGITSKVFRF NVSSVEKNRTNLFRAEFRVLRVPNPSSKRNEQRIELFQI LRPDEHIAKQRYIGGKNLPTRGTAEWLSFDVTDTVRE WLLRRESNLGLEISIHCPCHTFQPNGDILENIHEVMEIK FKGVDNEDDHGRGDLGRLKKQKDHHNPHLILMMIPP HRLDNPGQGGQRKKRALDTNYCFRNLEENCCVRPLYI DFRQDLGWKWVHEPKGYYANFCSGPCPYLRSADTTH STVLGLYNTLNPEASASPCCVPQDLEPLTILYYVGRTPK VEQLSNMVVKSCKCS	33
proTGFβ3 C7S D2G	SLSLSTSTTLDFGHIKKKRVEAIRGQILSKLRLTSPPEPT VMTHVPYQVLALYNSTRELLEEMHGEREEGCTQENT ESEYYAKEIHKFDMIQGLAEHNELAVCPKGITSKVFRF NVSSVEKNRTNLFRAEFRVLRVPNPSSKRNEQRIELFQI LRPDEHIAKQRYIGGKNLPTRGTAEWLSFDVTDTVRE WLLRRESNLGLEISIHCPCHTFQPNGDILENIHEVMEIK FKGVDNEDDHGRGDLGRLKKQKDHHNPHLILMMIPP HRLDNPGQGGQRKGALDTNYCFRNLEENCCVRPLYID FRQDLGWKWVHEPKGYYANFCSGPCPYLRSADTTHS TVLGLYNTLNPEASASPCCVPQDLEPLTILYYVGRTPK VEQLSNMVVKSCKCS	34
proTGFβ3 D2G	SLSLSTCTTLDFGHIKKKRVEAIRGQILSKLRLTSPPEPT VMTHVPYQVLALYNSTRELLEEMHGEREEGCTQENT ESEYYAKEIHKFDMIQGLAEHNELAVCPKGITSKVFRF NVSSVEKNRTNLFRAEFRVLRVPNPSSKRNEQRIELFQI LRPDEHIAKQRYIGGKNLPTRGTAEWLSFDVTDTVRE WLLRRESNLGLEISIHCPCHTFQPNGDILENIHEVMEIK FKGVDNEDDHGRGDLGRLKKQKDHHNPHLILMMIPP	

	HRLDNPGQGGQRKGALDTNYCFRNLEENCCVRPLYID FRQDLGWKWVHEPKGYYANFCSGPCPYLRSADTTHS TVLGLYNTLNPEASASPCCVPQDLEPLTILYYVGRTPK VEQLSNMVVKSCKCS	

表11：例示性非人類胺基酸序列

蛋白質	物種	序列	SEQ ID NO
proTGFβ1	小鼠	LSTCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQG EVPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESADPEPEPEAD YYAKEVTRVLMVDRNNAIYEKTKDISHSIYMFFNTS DIREAVPEPPLLSRAELRLQRLKSSVEQHVELYQKY SNNSWRYLGNRLLTPTDTPEWLSFDVTGVVRQWL NQGDGIQGFRFSAHCSCDSKDNKLHVEINGISPKRR GDLGTIHDMNRPFLLLMATPLERAQHLHSSRHRRA LDTNYCFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKWIHEP KGYHANFCLGPCPYIWSLDTQYSKVLALYNQHNPG ASASPCCVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVR SCKCS	36
proTGFβ1	食蟹獼猴	LSTCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQG EVPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADY YAKEVTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFFNTSE LREAVPEPVLLSRAELRLLRLKLKVEQHVELYQKYS NNSWRYLSNRLLAPSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSR GGEIEGFRLSAHCSCDSKDNTLQVDINGFTTGRRGD LATIHGMNRPFLLLMATPLERAQHLQSSRHRRALDT NYCFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKGY HANFCLGPCPYIWSLDTQYSKVLALYNQHNPGASA APCCVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVRSCK CS	37
TGFβ1 LAP C4S	小鼠	LSTSKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGE VPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESADPEPEPEADY YAKEVTRVLMVDRNNAIYEKTKDISHSIYMFFNTSD IREAVPEPPLLSRAELRLQRLKSSVEQHVELYQKYS NNSWRYLGNRLLTPTDTPEWLSFDVTGVVRQWLN QGDGIQGFRFSAHCSCDSKDNKLHVEINGISPKRRG DLGTIHDMNRPFLLLMATPLERAQHLHSSRHRR	38
TGFβ1 LAP C4S	食蟹獼猴	LSTSKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGE VPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADYY	39

		AKEVTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFFNTSEL REAVPEPVLLSRAELRLLRLKLKVEQHVELYQKYSN NSWRYLSNRLLAPSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRG GEIEGFRLSAHCSCDSKDNTLQVDINGFTTGRRGDL ATIHGMNRPFLLLMATPLERAQHLQSSRHRR	
proTGFβ1 C4S D2G	小鼠	LSTSKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGE VPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESADPEPEPEADY YAKEVTRVLMVDRNNAIYEKTKDISHSIYMFFNTSD IREAVPEPPLLSRAELRLQRLKSSVEQHVELYQKYS NNSWRYLGNRLLTPTDTPEWLSFDVTGVVRQWLN QGDGIQGFRFSAHCSCDSKDNKLHVEINGISPKRRG DLGTIHDMNRPFLLLMATPLERAQHLHSSRHGALD TNYCFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKG YHANFCLGPCPYIWSLDTQYSKVLALYNQHNPGAS ASPCCVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVRSC KCS	40
proTGFβ1 C4S	小鼠	LSTSKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGE VPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESADPEPEPEADY YAKEVTRVLMVDRNNAIYEKTKDISHSIYMFFNTSD IREAVPEPPLLSRAELRLQRLKSSVEQHVELYQKYS NNSWRYLGNRLLTPTDTPEWLSFDVTGVVRQWLN QGDGIQGFRFSAHCSCDSKDNKLHVEINGISPKRRG DLGTIHDMNRPFLLLMATPLERAQHLHSSRHRRAL DTNYCFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPK GYHANFCLGPCPYIWSLDTQYSKVLALYNQHNPGA SASPCCVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVRS CKCS	41
proTGFβ1 C4S	食蟹獼猴	LSTSKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGE VPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADYY AKEVTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFFNTSEL REAVPEPVLLSRAELRLLRLKLKVEQHVELYQKYSN NSWRYLSNRLLAPSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRG GEIEGFRLSAHCSCDSKDNTLQVDINGFTTGRRGDL ATIHGMNRPFLLLMATPLERAQHLQSSRHRRALDT NYCFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKGY HANFCLGPCPYIWSLDTQYSKVLALYNQHNPGASA APCCVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVRSCK CS	42
proTGFβ1	食蟹獼	LSTSKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGE	43

C4S D2G	猴	VPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADYY AKEVTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFFNTSEL REAVPEPVLLSRAELRLLRLKLKVEQHVELYQKYSN NSWRYLSNRLLAPSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRG GEIEGFRLSAHCSCDSKDNTLQVDINGFTTGRRGDL ATIHGMNRPFLLLMATPLERAQHLQSSRHGALDTN YCFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKGYH ANFCLGPCPYIWSLDTQYSKVLALYNQHNPGASAA PCCVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKC S	
LTBP3	食蟹獼猴	GPAGERGAGGGGALARERFKVVFAPVICKRTCLKG QCRDSCQQGSNMTLIGENGHSTDTLTGSGFRVVVC PLPCMNGGQCSSRNQCLCPPDFTGRFCQVPAGGAG GGTGGSGPGLSRAGALSTGALPPLAPEGDSVASKH AIYAVQVIADPPGPGEGPPAQHAAFLVPLGPGQISAE VQAPPPVVNVRVHHPPEASVQVHRIESSNAEGAAPS QHLLPHPKPSHPRPPTQKPLGRCFQDTLPKQPCGSN PLPGLTKQEDCCGSIGTAWGQSKCHKCPQLQYTGV QKPGPVRGEVGADCPQGYKRLNSTHCQDINECAM PGVCRHGDCLNNPGSYRCVCPPGHSLGPSRTQCIAD KPEEKSLCFRLVSPEHQCQHPLTTRLTRQLCCCSVG KAWGARCQRCPADGTAAFKEICPAGKGYHILTSHQ TLTIQGESDFSLFLHPDGPPKPQQLPESPSQAPPPEDT EEERGVTTDSPVSEERSVQQSHPTATTSPARPYPELIS RPSPPTMRWFLPDLPPSRSAVEIAPTQVTETDECRLN QNICGHGECVPGPPDYSCHCNPGYRSHPQHRYCVD VNECEAEPCGPGRGICMNTGGSYNCHCNRGYRLH VGAGGRSCVDLNECAKPHLCGDGGFCINFPGHYKC NCYPGYRLKASRPPVCEDIDECRDPSSCPDGKCENK PGSFKCIACQPGYRSQGGGACRDVNECAEGSPCSP GWCENLPGSFRCTCAQGYAPAPDGRSCVDVDECEA GDVCDNGICTNTPGSFQCQCLSGYHLSRDRSHCEDI DECDFPAACIGGDCINTNGSYRCLCPQGHRLVGGRK CQDIDECTQDPGLCLPHGACKNLQGSYVCVCDEGF TPTQDQHGCEEVEQPHHKKECYLNFDDTVFCDSVL ATNVTQQECCCSLGAGWGDHCEIYPCPVYSSAEFH SLCPDGKGYTQDNNIVNYGIPAHRDIDECMLFGAEI CKEGKCVNTQPGYECYCKQGFYYDGNLLECVDVD ECLDESNCRNGVCENTRGGYRCACTPPAEYSPAQR	44

		QCLSPEEMDVDECQDPAACRPGRCVNLPGSYRCEC RPPWVPGPSGRDCQLPESPAERAPERRDVCWSQRG EDGMCAGPQAGPALTFDDCCCRQGRGWGAQCRPC PPRGAGSQCPTSQSESNSFWDTSPLLLGKPRRDEDS SEEDSDECRCVSGRCVPRPGGAVCECPGGFQLDAS RARCVDIDECRELNQRGLLCKSERCVNTSGSFRCV CKAGFARSRPHGACVPQRRR	
LTBP3	小鼠	GPAGERGTGGGGALARERFKVVFAPVICKRTCLKG QCRDSCQQGSNMTLIGENGHSTDTLTGSAFRVVVC PLPCMNGGQCSSRNQCLCPPDFTGRFCQVPAAGTG AGTGSSGPGLARTGAMSTGPLPPLAPEGESVASKHA IYAVQVIADPPGPGEGPPAQHAAFLVPLGPGQISAEV QAPPPVVNVRVHHPPEASVQVHRIEGPNAEGPASSQ HLLPHPKPPHPRPPTQKPLGRCFQDTLPKQPCGSNP LPGLTKQEDCCGSIGTAWGQSKCHKCPQLQYTGVQ KPVPVRGEVGADCPQGYKRLNSTHCQDINECAMP GNVCHGDCLNNPGSYRCVCPPGHSLGPLAAQCIAD KPEEKSLCFRLVSTEHQCQHPLTTRLTRQLCCCSVG KAWGARCQRCPADGTAAFKEICPGKGYHILTSHQTL TIQGESDFSLFLHPDGPPKPQQLPESPSRAPPLEDTEE ERGVTMDPPVSEERSVQQSHPTTTTSPPRPYPELISR PSPPTFHRFLPDLPPSRSAVEIAPTQVTETDECRLNQ NICGHGQCVPGPSDYSCHCNAGYRSHPQHRYCVDV NECEAEPCGPGKGICMNTGGSYNCHCNRGYRLHV GAGGRSCVDLNECAKPHLCGDGGFCINFPGHYKCN CYPGYRLKASRPPICEDIDECRDPSTCPDGKCENKP GSFKCIACQPGYRSQGGGACRDVNECSEGTPCSPG WCENLPGSYRCTCAQYEPAQDGLSCIDVDECEAGK VCQDGICTNTPGSFQCQCLSGYHLSRDRSRCEDIDE CDFPAACIGGDCINTNGSYRCLCPLGHRLVGGRKCK KDIDECSQDPGLCLPHACENLQGSYVCVCDEGFTLT QDQHGCEEVEQPHHKKECYLNFDDTVFCDSVLATN VTQQECCCSLGAGWGDHCEIYPCPVYSSAEFHSLVP DGKRLHSGQQHCELCIPAHRDIDECILFGAEICKEGK CVNTQPGYECYCKQGFYYDGNLLECVDVDECLDE SNCRNGVCENTRGGYRCACTPPAEYSPAQAQCLIPE RWSTPQRDVKCAGASEERTACVWGPWAGPALTFD DCCCRQPRLGTQCRPCPPRGTGSQCPTSQSESNSFW DTSPLLLGKSPRDEDSSEEDSDECRCVSGRCVPRPG	45

		GAVCECPGGFQLDASRARCVDIDECRELNQRGLLC KSERCVNTSGSFRCVCKAGFTRSRPHGPACLSAAA DDAAIAHTSVIDHRGYFH	
LTBP1S	食蟹獼猴	NHTGRIKVVFTPSICKVTCTKGSCQNSCEKGNTTTLI SENGHAADTLTATNFRVVLCHLPCMNGGQCSSRDK CQCPPNFTGKLCQIPVHGASVPKLYQHSQQPGKAL GTHVIHSTHTLPLTVTSQQGVKVKFPPNIVNIHVKH PPEASVQIHQVSRIDGPTGQKTKEAQPGQSQVSYQG LPVQKTQTIHSTYSHQQVIPHVYPVAAKTQLGRCFQ ETIGSQCGKALPGLSKQEDCCGTVGTSWGFNKCQK CPKKPSYHGYNQMMECLPGYKRVNNTFCQDINEC QLQGVCPNGECLNTMGSYRCTCKIGFGPDPTFSSCV PDPPVISEEKGPCYRLVSSGRQCMHPLSVHLTKQLC CCSVGKAWGPHCEKCPLPGTAAFKEICPGGMGYTV SGVHRRRPIHHHVGKGPVFVKPKNTQPVAKSTHPPP LPAKEEPVEALTFSREHGPGVAEPEVATAPPEKEIPSL DQEKTKLEPGQPQLSPGISTIHLHPQFPVVIEKTSPPV PVEVAPEASTSSASQVIAPTQVTEINECTVNPDICGA GHCINLPVRYTCICYEGYKFSEQQRKCVDIDECTQV QHLCSQGRCENTEGSFLCICPAGFMASEEGTNCIDV DECLRPDVCGEGHCVNTVGAFRCEYCDSGYRMTQ RGRCEDIDECLNPSTCPDEQCVNSPGSYQCVPCTEG FRGWNGQCLDVDECLEPNVCTNGDCSNLEGSYMC SCHKGYTRTPDHKHCKDIDECQQGNLCVNGQCKN TEGSFRCTCGQGYQLSAAKDQCEDIDECQHHHLCA HGQCRNTEGSFQCVCDQGYRASGLGDHCEDINECL EDKSVCQRGDCINTAGSYDCTCPDGFQLDDNKTCQ DINECEHPGLCGPQGECLNTEGSFHCVCQQGFSISA DGRTCEDIDECVNNTVCDSHGFCDNTAGSFRCLCY QGFQAPQDGQGCVDVNECELLSGVCGEAFCENVE GSFLCVCADENQEYSPMTGQCRSRTSTDLDVEQPK EEKKECYYNLNDASLCDNVLAPNVTKQECCCTSG AGWGDNCEIFPCPVLGTAEFTEMCPKGKGFVPAGE SSSEAGGENYKDADECLLFGQEICKNGFCLNTRPG YECYCKQGTYYDPVKLQCFDMDECQDPSSCIDGQC VNTEGSYNCFCTHPMVLDASEKRCIRPAESNEQIEE TDVYQDLCWEHLSDEYVCSRPLVGKQTTYTECCCL YGEAWGMQCALCPMKDSDDYAQLCNIPVTGRRQP YGRDALVDFSEQYAPEADPYFIQDRFLNSFEELQAE	46

		ECGILNGCENGRCVRVQEGYTCDCFDGYHLDTAK MTCVDVNECDELNNRMSLCKNAKCINTEGSYKCL CLPGYVPSDKPNYCTPLNTALNLEKDSDLE	
LTBP1S	小鼠	NHTGRIKVVFTPSICKVTCTKGNCQNSCQKGNTTTL ISENGHAADTLTATNFRVVICHLPCMNGGQCSSRDK CQCPPNFTGKLCQIPVLGASMPKLYQHAQQQGKAL GSHVIHSTHTLPLTMTSQQGVKVKFPPNIVNIHVKH PPEASVQIHQVSRIDSPGGQKVKEAQPGQSQVSYQG LPVQKTQTVHSTYSHQQLIPHVYPVAAKTQLGRCF QETIGSQCGKALPGLSKQEDCCGTVGTSWGFNKCQ KCPKKQSYHGYTQMMECLQGYKRVNNTFCQDINE CQLQGVCPNGECLNTMGSYRCSCKMGFGPDPTFSS CVPDPPVISEEKGPCYRLVSPGRHCMHPLSVHLTKQI CCCSVGKAWGPHCEKCPLPGTAAFKEICPGGMGYT VSGVHRRRPIHQHIGKEAVYVKPKNTQPVAKSTHPP PLPAKEEPVEALTSSWEHGPRGAEPEVVTAPPEKEIP SLDQEKTRLEPGQPQLSPGVSTIHLHPQFPVVVEKT SPPVPVEVAPEASTSSASQVIAPTQVTEINECTVNPDI CGAGHCINLPVRYTCICYEGYKFSEQLRKCVDIDEC AQVRHLCSQGRCENTEGSFLCVCPAGFMASEEGTN CIDVDECLRPDMCRDGRCINTAGAFRCEYCDSGYR MSRRGYCEDIDECLKPSTCPEEQCVNTPGSYQCVPC TEGFRGWNGQCLDVDECLQPKVCTNGSCTNLEGS YMCSCHRGYSPTPDHRHCQDIDECQQGNLCMNGQ CRNTDGSFRCTCGQGYQLSAAKDQCEDIDECEHHH LCSHGQCRNTEGSFQCVCNQGYRASVLGDHCEDIN ECLEDSSVCQGGDCINTAGSYDCTCPDGFQLNDNK GCQDINECAQPGLCGSHGECLNTQGSFHCVCEQGF SISADGRTCEDIDECVNNTVCDSHGFCDNTAGSFRC LCYQGFQAPQDGQGCVDVNECELLSGVCGEAFCE NVEGSFLCVCADENQEYSPMTGQCRSRVTEDSGVD RQPREEKKECYYNLNDASLCDNVLAPNVTKQECC CTSGAGWGDNCEIFPCPVQGTAEFTEMCPRGKGLV PAGESSYDTGGENYKDADECLLFGEEICKNGYCLN TQPGYECYCKQGTYYDPVKLQCFDMDECQDPNSCI DGQCVNTEGSYNCFCTHPMVLDASEKRCVQPTESN EQIEETDVYQDLCWEHLSEEYVCSRPLVGKQTTYT ECCCLYGEAWGMQCALCPMKDSDDYAQLCNIPVT GRRRPYGRDALVDFSEQYGPETDPYFIQDRFLNSFE	47

		ELQAEECGILNGCENGRCVRVQEGYTCDCFDGYHL DMAKMTCVDVNECSELNNRMSLCKNAKCINTEGS YKCLCLPGYIPSDKPNYCTPLNSALNLDKESDLE	
GARP	小鼠	ISQRREQVPCRTVNKEALCHGLGLLQVPSVLSLDIQ ALYLSGNQLQSILVSPLGFYTALRHLDLSDNQISFLQ AGVFQALPYLEHLNLAHNRLATGMALNSGGLGRLP LLVSLDLSGNSLHGNLVERLLGETPRLRTLSLAENSL TRLARHTFWGMPAVEQLDLHSNVLMDIEDGAFEAL PHLTHLNLSRNSLTCISDFSLQQLQVLDLSCNSIEAF QTAPEPQAQFQLAWLDLRENKLLHFPDLAVFPRLIY LNVSNNLIQLPAGLPRGSEDLHAPSEGWSASPLSNP SRNASTHPLSQLLNLDLSYNEIELVPASFLEHLTSLRF LNLSRNCLRSFEARQVDSLPCLVLLDLSHNVLEALE LGTKVLGSLQTLLLQDNALQELPPYTFASLASLQRL NLQGNQVSPCGGPAEPGPPGCVDFSGIPTLHVLNM AGNSMGMLRAGSFLHTPLTELDLSTNPGLDVATGA LVGLEASLEVLELQGNGLTVLRVDLPCFLRLKRLNL AENQLSHLPAWTRAVSLEVLDLRNNSFSLLPGNAM GGLETSLRRLYLQGNPLSCCGNGWLAAQLHQGRV DVDATQDLICRFGSQEELSLSLVRPEDCEKGGLKNV NLILLLSFTLVSAIVLTTLATICFLRRQKLSQQYKA	48
sGARP	小鼠	ISQRREQVPCRTVNKEALCHGLGLLQVPSVLSLDIQ ALYLSGNQLQSILVSPLGFYTALRHLDLSDNQISFLQ AGVFQALPYLEHLNLAHNRLATGMALNSGGLGRLP LLVSLDLSGNSLHGNLVERLLGETPRLRTLSLAENSL TRLARHTFWGMPAVEQLDLHSNVLMDIEDGAFEAL PHLTHLNLSRNSLTCISDFSLQQLQVLDLSCNSIEAF QTAPEPQAQFQLAWLDLRENKLLHFPDLAVFPRLIY LNVSNNLIQLPAGLPRGSEDLHAPSEGWSASPLSNP SRNASTHPLSQLLNLDLSYNEIELVPASFLEHLTSLRF LNLSRNCLRSFEARQVDSLPCLVLLDLSHNVLEALE LGTKVLGSLQTLLLQDNALQELPPYTFASLASLQRL NLQGNQVSPCGGPAEPGPPGCVDFSGIPTLHVLNM AGNSMGMLRAGSFLHTPLTELDLSTNPGLDVATGA LVGLEASLEVLELQGNGLTVLRVDLPCFLRLKRLNL AENQLSHLPAWTRAVSLEVLDLRNNSFSLLPGNAM GGLETSLRRLYLQGNPLSCCGNGWLAAQLHQGRV DVDATQDLICRFGSQEELSLSLVRPEDCEKGGLKNV N	49

【0195】 在一些實施例中，抗原蛋白質複合物(例如，LTBP-TGFβ1複合物)可包含一或多種呈遞分子，諸如LTBP蛋白(例如，LTBP1、LTBP2、LTBP3及LTBP4)、GARP蛋白、LRRC33蛋白或其片段。通常，適用於進行本文所揭示之實施例的最小所需片段包括呈遞分子蛋白質之至少50個胺基酸、較佳至少100個胺基酸，該呈遞分子蛋白質包含能夠形成與proTGFβ1複合物的二硫鍵的至少兩個半胱胺酸殘基。特定地，此等Cys殘基與proTGFβ1複合物之各單體之近N端存在之半胱胺酸殘基形成共價鍵。

【0196】 如本文所述之抗體或其抗原結合部分能夠結合至LTBP1-TGFβ1複合物。在一些實施例中，LTBP1蛋白質為天然存在之蛋白質或其片段。在一些實施例中，LTBP1蛋白質為非天然存在之蛋白質或其片段。在一些實施例中，LTBP1蛋白質為重組蛋白。此類重組LTBP1蛋白質可包含LTBP1，其替代性地剪接變異體及/或其片段。重組LTBP1蛋白亦可經修飾以包含一或多個可偵測標記。在一些實施例中，LTBP1蛋白包含前導序列(例如，天然或非天然前導序列)。在一些實施例中，LTBP1蛋白不包含前導序列(亦即，該前導序列已加工或裂解)。此類可偵測標記可包括(但不限於)生物素標記、聚組胺酸標籤、myc標籤、HA標籤及/或螢光標籤。在一些實施例中，LTBP1蛋白為哺乳動物LTBP1蛋白。在一些實施例中，LTBP1蛋白為人類、猴、小鼠或大鼠LTBP1蛋白。在一些實施例中，LTBP1蛋白包含如表11中的SEQ ID NO: 46及SEQ ID NO: 47中所示之胺基酸序列。在一些實施例中，LTBP1蛋白包含如表12中的SEQ ID NO: 50中所示之胺基酸序列。

【0197】 如本文所述之抗體或其抗原結合部分能夠結合至LTBP3-

TGFβ1複合物。在一些實施例中，LTBP3蛋白為天然存在之蛋白質或其片段。在一些實施例中，LTBP3蛋白為非天然存在之蛋白質或其片段。在一些實施例中，LTBP3蛋白為重組蛋白。此類重組LTBP3蛋白可包含LTBP3，其替代性地剪接變異體及/或其片段。在一些實施例中，LTBP3蛋白包含前導序列(例如，天然或非天然前導序列)。在一些實施例中，LTBP3蛋白不包含前導序列(亦即，該前導序列已加工或裂解)。重組LTBP3蛋白亦可經修飾以包含一或多個可偵測標記。此類可偵測標記可包括(但不限於)生物素標記、聚組胺酸標籤、myc標籤、HA標籤及/或螢光標籤。在一些實施例中，LTBP3蛋白為哺乳動物LTBP3蛋白。在一些實施例中，LTBP3蛋白為人類、猴、小鼠或大鼠LTBP3蛋白。在一些實施例中，LTBP3蛋白包含如表11中的SEQ ID NO: 44及SEQ ID NO: 45中所示之胺基酸序列。在一些實施例中，LTBP3蛋白包含如表12中的SEQ ID NO: 51中所示之胺基酸序列。

【0198】 如本文所述之抗體或其抗原結合部分能夠結合至GARP-TGFβ1複合物。在一些實施例中，GARP蛋白為天然存在之蛋白質或其片段。在一些實施例中，GARP蛋白為非天然存在之蛋白質或其片段。在一些實施例中，GARP蛋白為重組蛋白。此類GARP可為重組的，在本文中稱為重組GARP。相較於野生型GARP，一些重組GARP可包含一或多種修飾、截短及/或突變。重組GARP可經修飾而具有可溶性。在一些實施例中，GARP蛋白包含前導序列(例如，天然或非天然前導序列)。在一些實施例中，GARP蛋白不包含前導序列(亦即，該前導序列已加工或裂解)。在其他實施例中，重組GARP經修飾以包含一或多個可偵測標記。在其他實施例中，此類可偵測標記可包括(但不限於)生物素標記、聚組胺酸標

籤、flag標籤、myc標籤、HA標籤及/或螢光標籤。在一些實施例中，GARP蛋白為哺乳動物GARP蛋白。在一些實施例中，GARP蛋白為人類、猴、小鼠或大鼠GARP蛋白。在一些實施例中，GARP蛋白包含如表11中的SEQ ID NO: 48至SEQ ID NO: 49中所示之胺基酸序列。在一些實施例中，GARP蛋白包含如表13中的SEQ ID NO: 52及SEQ ID NO: 53中所示之胺基酸序列。在一些實施例中，本文中所述之抗體或其抗原結合部分不以背景依賴性方式結合至TGFβ1，例如僅當TGFβ1分子與特異性呈遞分子，諸如GARP複合時才將出現結合至TGFβ1。替代地，抗體及其抗原結合部分以非背景依賴性方式結合至TGFβ1。換言之，當結合至任何呈遞分子：GARP、LTBP1、LTBP3及/或LRCC33時，抗體或其抗原結合部分結合至TGFβ1。

【0199】 如本文所述之抗體或其抗原結合部分能夠結合至LRRC33-TGFβ1複合物。在一些實施例中，LRRC33蛋白為天然存在之蛋白質或其片段。在一些實施例中，LRRC33蛋白為非天然存在之蛋白質或其片段。在一些實施例中，LRRC33蛋白為重組蛋白。此類LRRC33可為重組的，在本文中稱為重組LRRC33。相較於野生型LRRC33，一些重組LRRC33蛋白可包含一或多種修飾、截短及/或突變。重組LRRC33蛋白可經修飾而具有可溶性。舉例而言，在一些實施例中，LRRC33之胞外域可經C端His標籤表現以便表現可溶性LRRC33蛋白(sLRRC33；參見例如SEQ ID NO: 84)。在一些實施例中，LRRC33蛋白包含前導序列(例如，天然或非天然前導序列)。在一些實施例中，LRRC33蛋白不包含前導序列(亦即，該前導序列已加工或裂解)。在其他實施例中，重組LRRC33蛋白經修飾以包含一或多個可偵測標記。在其他實施例中，此類可偵測標記可包括(但不

限於)生物素標記、聚組胺酸標籤、flag標籤、myc標籤、HA標籤及/或螢光標籤。在一些實施例中，LRRC33蛋白為哺乳動物LRRC33蛋白。在一些實施例中，LRRC33蛋白為人類、猴、小鼠或大鼠LRRC33蛋白。在一些實施例中，LRRC33蛋白包含如表13中的SEQ ID NO: 83、SEQ ID NO: 84及SEQ ID NO: 101中所示之胺基酸序列。

表12：例示性LTBP胺基酸序列

蛋白質	序列	SEQ ID NO
LTBP1S	NHTGRIKVVFTPSICKVTCTKGSCQNSCEKGNTTTLISENGHA ADTLTATNFRVVICHLPCMNGGQCSSRDKCQCPPNFTGKLCQI PVHGASVPKLYQHSQQPGKALGTHVIHSTHTLPLTVTSQQGV KVKFPPNIVNIHVKHPPEASVQIHQVSRIDGPTGQKTKEAQPG QSQVSYQGLPVQKTQTIHSTYSHQQVIPHVYPVAAKTQLGRC FQETIGSQCGKALPGLSKQEDCCGTVGTSWGFNKCQKCPKK PSYHGYNQMMECLPGYKRVNNTFCQDINECQLQGVCPNGEC LNTMGSYRCTCKIGFGPDPTFSSCVPDPPVISEEKGPCYRLVSS GRQCMHPLSVHLTKQLCCCSVGKAWGPHCEKCPLPGTAAFK EICPGGMGYTVSGVHRRRPIHHHVGKGPVFVKPKNTQPVAKS THPPPLPAKEEPVEALTFSREHGPGVAEPEVATAPPEKEIPSLDQ EKTKLEPGQPQLSPGISTIHLHPQFPVVIEKTSPPVPVEVAPEAS TSSASQVIAPTQVTEINECTVNPDICGAGHCINLPVRYTCICYE GYRFSEQQRKCVDIDECTQVQHLCSQGRCENTEGSFLCICPA GFMASEEGTNCIDVDECLRPDVCGEGHCVNTVGAFRCEYCD SGYRMTQRGRCEDIDECLNPSTCPDEQCVNSPGSYQCVPCTE GFRGWNGQCLDVDECLEPNVCANGDCSNLEGSYMCSCHKG YTRTPDHKHCRDIDECQQGNLCVNGQCKNTEGSFRCTCGQG YQLSAAKDQCEDIDECQHRHLCAHGQCRNTEGSFQCVCDQG YRASGLGDHCEDINECLEDKSVCQRGDCINTAGSYDCTCPDG FQLDDNKTCQDINECEHPGLCGPQGECLNTEGSFHCVCQQGF SISADGRTCEDIDECVNNTVCDSHGFCDNTAGSFRCLCYQGF QAPQDGQGCVDVNECELLSGVCGEAFCENVEGSFLCVCADE NQEYSPMTGQCRSRTSTDLDVDVDQPKEEKKECYYNLNDAS LCDNVLAPNVTKQECCCTSGVGWGDNCEIFPCPVLGTAEFTE MCPKGKGFVPAGESSSEAGGENYKDADECLLFGQEICKNGFC LNTRPGYECYCKQGTYYDPVKLQCFDMDECQDPSSCIDGQC	50

	VNTEGSYNCFCTHPMVLDASEKRCIRPAESNEQIEETDVYQD LCWEHLSDEYVCSRPLVGKQTTYTECCCLYGEAWGMQCALC PLKDSDDYAQLCNIPVTGRRQPYGRDALVDFSEQYTPEADPY FIQDRFLNSFEELQAEECGILNGCENGRCVRVQEGYTCDCFD GYHLDTAKMTCVDVNECDELNNRMSLCKNAKCINTDGSYK CLCLPGYVPSDKPNYCTPLNTALNLEKDSDLE	
LTBP3	GPAGERGAGGGGALARERFKVVFAPVICKRTCLKGQCRDSC QQGSNMTLIGENGHSTDTLTGSGFRVVVCPLPCMNGGQCSSR NQCLCPPDFTGRFCQVPAGGAGGGTGGSGPGLSRTGALSTGA LPPLAPEGDSVASKHAIYAVQVIADPPGPGEGPPAQHAAFLVP LGPGQISAEVQAPPPVVNVRVHHPPEASVQVHRIESSNAESAA PSQHLLPHPKPSHPRPPTQKPLGRCFQDTLPKQPCGSNPLPGL TKQEDCCGSIGTAWGQSKCHKCPQLQYTGVQKPGPVRGEVG ADCPQGYKRLNSTHCQDINECAMPGVCRHGDCLNNPGSYRC VCPPGHSLGPSRTQCIADKPEEKSLCFRLVSPEHQCQHPLTTRL TRQLCCCSVGKAWGARCQRCPTDGTAAFKEICPAGKGYHILT SHQTLTIQGESDFSLFLHPDGPPKPQQLPESPSQAPPPEDTEEE RGVTTDSPVSEERSVQQSHPTATTTPARPYPELISRPSPPTMRW FLPDLPPSRSAVEIAPTQVTETDECRLNQNICGHGECVPGPPD YSCHCNPGYRSHPQHRYCVDVNECEAEPCGPGRGICMNTGG SYNCHCNRGYRLHVGAGGRSCVDLNECAKPHLCGDGGFCIN FPGHYKCNCYPGYRLKASRPPVCEDIDECRDPSSCPDGKCEN KPGSFKCIACQPGYRSQGGGACRDVNECAEGSPCSPGWCEN LPGSFRCTCAQGYAPAPDGRSCLDVDECEAGDVCDNGICSNT PGSFQCQCLSGYHLSRDRSHCEDIDECDFPAACIGGDCINTNG SYRCLCPQGHRLVGGRKCQDIDECSQDPSLCLPHGACKNLQG SYVCVCDEGFTPTQDQHGCEEVEQPHHKKECYLNFDDTVFC DSVLATNVTQQECCCSLGAGWGDHCEIYPCPVYSSAEFHSLC PDGKGYTQDNNIVNYGIPAHRDIDECMLFGSEICKEGKCVNT QPGYECYCKQGFYYDGNLLECVDVDECLDESNCRNGVCENT RGGYRCACTPPAEYSPAQRQCLSPEEMDVDECQDPAACRPGR CVNLPGSYRCECRPPWVPGPSGRDCQLPESPAERAPERRDVC WSQRGEDGMCAGPLAGPALTFDDCCCRQGRGWGAQCRPCP PRGAGSHCPTSQSESNSFWDTSPLLLGKPPRDEDSSEEDSDEC RCVSGRCVPRPGGAVCECPGGFQLDASRARCVDIDECRELNQ RGLLCKSERCVNTSGSFRCVCKAGFARSRPHGACVPQRRR	51

表13：例示性GARP及LRRC33胺基酸序列

蛋白質	序列	SEQ ID NO
GARP	AQHQDKVPCKMVDKKVSCQVLGLLQVPSVLPPDTETLDLSG NQLRSILASPLGFYTALRHLDLSTNEISFLQPGAFQALTHLEHL SLAHNRLAMATALSAGGLGPLPRVTSLDLSGNSLYSGLLERLL GEAPSLHTLSLAENSLTRLTRHTFRDMPALEQLDLHSNVLMDI EDGAFEGLPRLTHLNLSRNSLTCISDFSLQQLRVLDLSCNSIEA FQTASQPQAEFQLTWLDLRENKLLHFPDLAALPRLIYLNLSNN LIRLPTGPPQDSKGIHAPSEGWSALPLSAPSGNASGRPLSQLL NLDLSYNEIELIPDSFLEHLTSLCFLNLSRNCLRTFEARRLGSLP CLMLLDLSHNALETLELGARALGSLRTLLLQGNALRDLPPYT FANLASLQRLNLQGNRVSPCGGPDEPGPSGCVAFSGITSLRSL SLVDNEIELLRAGAFLHTPLTELDLSSNPGLEVATGALGGLEA SLEVLALQGNGLMVLQVDLPCFICLKRLNLAENRLSHLPAWT QAVSLEVLDLRNNSFSLLPGSAMGGLETSLRRLYLQGNPLSC CGNGWLAAQLHQGRVDVDATQDLICRFSSQEEVSLSHVRPE DCEKGGLKNINLIIILTFILVSAILLTTLAACCCVRRQKFNQQY KA	52
sGARP	AQHQDKVPCKMVDKKVSCQVLGLLQVPSVLPPDTETLDLSG NQLRSILASPLGFYTALRHLDLSTNEISFLQPGAFQALTHLEHL SLAHNRLAMATALSAGGLGPLPRVTSLDLSGNSLYSGLLERLL GEAPSLHTLSLAENSLTRLTRHTFRDMPALEQLDLHSNVLMDI EDGAFEGLPRLTHLNLSRNSLTCISDFSLQQLRVLDLSCNSIEA FQTASQPQAEFQLTWLDLRENKLLHFPDLAALPRLIYLNLSNN LIRLPTGPPQDSKGIHAPSEGWSALPLSAPSGNASGRPLSQLL NLDLSYNEIELIPDSFLEHLTSLCFLNLSRNCLRTFEARRLGSLP CLMLLDLSHNALETLELGARALGSLRTLLLQGNALRDLPPYT FANLASLQRLNLQGNRVSPCGGPDEPGPSGCVAFSGITSLRSL SLVDNEIELLRAGAFLHTPLTELDLSSNPGLEVATGALGGLEA SLEVLALQGNGLMVLQVDLPCFICLKRLNLAENRLSHLPAWT QAVSLEVLDLRNNSFSLLPGSAMGGLETSLRRLYLQGNPLSC CGNGWLAAQLHQGRVDVDATQDLICRFSSQEEVSLSHVRPE DCEKGGLKNIN	53
LRRC33 (亦稱為NRROS；Uniprot寄存	**MELLPLWLCLGFHFLTVG**WRNRSGTATAASQGVCKLVGGA ADCRGQSLASVPSSLPPHARMLTLDANPLKTLWNHSLQPYPL LESLSLHSCHLERISRGAFQEQGHLRSLVLGDNCLSENYEETA AALHALPGLRRLDLSGNALTEDMAALMLQNLSSLRSVSLAG	83

編號 Q86YC3)	NTIMRLDDSVFEGLERLRELDLQRNYIFEIEGGAFDGLAELRH LNLAFNNLPCIVDFGLTRLRVLNVSYNVLEWFLATGGEAAFE LETLDLSHNQLLFFPLLPQYSKLRTLLLRDNNMGFYRDLYNT SSPREMVAQFLLVDGNVTNITTVSLWEEFSSSDLADLRFLDMS QNQFQYLPDGFLRKMPSLSHLNLHQNCLMTLHIREHEPPGAL TELDLSHNQLSELHLAPGLASCLGSLRLFNLSSNQLLGVPPGL FANARNITTLDMSHNQISLCPLPAASDRVGPPSCVDFRNMASL RSLSLEGCGLGALPDCPFQGTSLTYLDLSSNWGVLNGSLAPL QDVAPMLQVLSLRNMGLHSSFMALDFSGFGNLRDLDLSGNC LTTFPRFGGSLALETLDLRRNSLTALPQKAVSEQLSRGLRTIYL SQNPYDCCGVDGWGALQHGQTVADWAMVTCNLSSKIIRVTE LPGGVPRDCKWERLDLGLLYLVLILPSCLTLLVACTVIVLTFKK PLLQVIKSRCHWSSVY * 天然信號肽以粗體繪示。	
可溶性 LRRC33 (sLRRC33)	**MDMRVPAQLLGLLLLWFSGVLG**WRNRSGTATAASQGVCK LVGGAADCRGQSLASVPSSLPPHARMLTLDANPLKTLWNHSL QPYPLLESLSLHSCHLERISRGAFQEQGHLRSLVLGDNCLSEN YEETAAALHALPGLRRLDLSGNALTEDMAALMLQNLSSLRS VSLAGNTIMRLDDSVFEGLERLRELDLQRNYIFEIEGGAFDGL AELRHLNLAFNNLPCIVDFGLTRLRVLNVSYNVLEWFLATGG EAAFELETLDLSHNQLLFFPLLPQYSKLRTLLLRDNNMGFYR DLYNTSSPREMVAQFLLVDGNVTNITTVSLWEEFSSSDLADLR FLDMSQNQFQYLPDGFLRKMPSLSHLNLHQNCLMTLHIREHE PPGALTELDLSHNQLSELHLAPGLASCLGSLRLFNLSSNQLLG VPPGLFANARNITTLDMSHNQISLCPLPAASDRVGPPSCVDFR NMASLRSLSLEGCGLGALPDCPFQGTSLTYLDLSSNWGVLNG SLAPLQDVAPMLQVLSLRNMGLHSSFMALDFSGFGNLRDLD LSGNCLTTFPRFGGSLALETLDLRRNSLTALPQKAVSEQLSRG LRTIYLSQNPYDCCGVDGWGALQHGQTVADWAMVTCNLSS KIIRVTELPGGVPRDCKWERLDLGL<u>HHHHHH</u> *經修飾之人類κ輕鏈信號肽以粗體繪示。 **組胺酸標籤加下劃線。	84
人類 LRRC33- GARP嵌合 體	**MDMRVPAQLLGLLLLWFSGVLG**<u>WRNRSGTATAASQGVCK LVGGAADCRGQSLASVPSSLPPHARMLTLDANPLKTLWNHSL QPYPLLESLSLHSCHLERISRGAFQEQGHLRSLVLGDNCLSEN YEETAAALHALPGLRRLDLSGNALTEDMAALMLQNLSSLRS VSLAGNTIMRLDDSVFEGLERLRELDLQRNYIFEIEGGAFDGL</u>	101

	AELRHLNLAFNNLPCIVDFGLTRLRVLNVSYNVLEWFLATGG EAAFELETLDLSHNQLLFFPLLPQYSKLRTLLLRDNNMGFYR DLYNTSSPREMVAQFLLVDGNVTNITTVSLWEEFSSSDLADLR FLDMSQNQFQYLPDGFLRKMPSLSHLNLHQNCLMTLHIREHE PPGALTELDLSHNQLSELHLAPGLASCLGSLRLFNLSSNQLLG VPPGLFANARNITTLDMSHNQISLCPLPAASDRVGPPSCVDFR NMASLRSLSLEGCGLGALPDCPFQGTSLTYLDLSSNWGVLNG SLAPLQDVAPMLQVLSLRNMGLHSSFMALDFSGFGNLRDLD LSGNCLTTFPRFGGSLALETLDLRRNSLTALPQKAVSEQLSRG LRTIYLSQNPYDCCGVDGWGALQHGQTVADWAMVTCNLSS KIIRVTELPGGVPRDCKWERLDLGL*LIIILTFILVSAILLTTLAACC* CVRRQKFNQQYKA * 經修飾之人類κ輕鏈信號肽以粗體繪示。 ** LRRC33胞外域加下劃線。 # GARP跨膜域呈斜體。 ## GARP細胞內尾加雙下劃線。	

治療目標及活體內作用機制

【0200】因此，此類醫藥組合物及調配物用於活體內靶向可經抑制劑接近之含TGFβ潛伏複合物。因此，本發明之抗體目標為靶向疾病位點(例如TME或纖維變性組織)中以下複合物，該抗體在該疾病位點搶先結合潛伏複合物，藉此阻止生長因子釋放：i)由GARP呈遞之proTGFβ1；ii)由LRRC33呈遞之proTGFβ1；iii)由LTBP1呈遞之proTGFβ1；及iv)由LTBP3呈遞之proTGFβ1。通常，以上複合物(i)及(ii)存在於細胞表面上，因為GARP及LRRC33兩者均為跨膜蛋白，能夠將潛伏proTGFβ1呈遞或繫於表現GARP或LRRC33之細胞的細胞外表面上，而複合物(iii)及(iv)為細胞外基質之組分。以此方式，本文中實施之抑制劑不必與內源性高親和性受體完全結合來發揮抑制作用。另外，靶向配位體/受體相互作用之上游可實現較持久作用，因為目標可接近性之窗較習知抑制劑長且更侷限於相關組織，習知抑制劑僅靶向已自潛伏複合物釋放後之活性可溶性生長因

子。

【0201】多種研究已闡明TGFβ1活化之機制。已證明三種整合素αVβ6、αVβ8及αVβ1為潛伏TGFβ1之主要活化劑(Reed, N.I.等人, Sci Transl Med, 2015. 7 (288): 第288ra79頁；Travis, M.A.及D. Sheppard, Annu Rev Immunol, 2014. 32: 第51-82頁；Munger, J.S.等人, Cell, 1999. 96(3): 第319-28頁)。αV整合素以高親和性結合TGFβ1及TGFβ1 LAPs中所存在之RGD序列(Dong, X.等人, Nat Struct Mol Biol, 2014. 21(12): 第1091-6頁)。在TGFβ1 RGD位點具有阻止整合素結合而非分泌之突變的轉殖基因小鼠表型模擬(phenocopy) TGFβ1-/-小鼠(Yang, Z.等人, J Cell Biol, 2007. 176(6): 第787-93頁)。缺乏β6及β8整合素兩者之小鼠復現(recapitulate) TGFβ1及TGFβ3基因剔除小鼠之所有基本表型，包括多器官發炎及裂顎，證實此兩種整合素對於發育及體內穩定中TGFβ1活化的基本作用(Aluwihare, P.等人, J Cell Sci, 2009. 122(Pt 2): 第227-32頁) 。潛伏TGFβ1之整合素依賴性活化的關鍵在於共價繫於呈遞分子；突變誘發GARP與TGFβ1 LAP之間二硫鍵之破壞不會損害複合物形成，但完全廢除由αVβ6之TGFβ1活化(Wang, R.等人, Mol Biol Cell, 2012. 23(6): 第1129-39頁)。潛伏TGFβ1之最新結構闡明整合素如何能使活性TGFβ1自潛伏複合物釋放：潛伏TGFβ1共價連接至其呈遞分子將潛伏TGFβ1經由LTBPs錨定至ECM或經由GARP或LRRC33錨定至細胞骨架。整合素結合至RGD序列造成LAP之結構發生力依賴性變化，使得活性TGFβ1釋放且結合鄰近受體(Shi, M.等人, Nature, 2011. 474(7351): 第343-9頁)。疾病中整合素依賴性TGFβ1活化之重要性亦已充分驗證。αVβ1之小分子抑制劑防護博萊黴素(bleomycin)誘發之肺纖維化及四氯化碳誘發之肝纖維化

(Reed, N.I.等人, Sci Transl Med, 2015. 7(288): 第288ra79頁)，且抗體阻斷αVβ6或整合素β6表現之喪失抑制博萊黴素誘發之肺纖維化及放射線誘發之纖維化(Munger, J.S.等人, Cell, 1999. 96(3): 第319-28頁；Horan, G.S.等人, Am J Respir Crit Care Med, 2008. 177(1): 第56-65頁)。除了整合素外，已表明TGFβ1活化之其他機制，包括血小板反應蛋白-1(thrombospondin-1)及由蛋白酶，諸如纖維蛋白溶酶、基質金屬蛋白酶(MMPs，例如MMP2、MMP9及MMP12)、組織蛋白酶D及激肽釋放酶活化。血小板反應蛋白-1之基因剔除在一些組織中復現TGFβ1-/-表型之一些態樣，但在博萊黴素誘發之肺纖維化中無保護性，已知為TGFβ依賴性(Ezzie, M.E.等人, Am J Respir Cell Mol Biol, 2011. 44(4): 第556-61頁)。另外，候選蛋白酶之基因剔除不產生TGFβ1表型(Worthington, J.J., J.E. Klementowicz及M.A. Travis, Trends Biochem Sci, 2011. 36(1): 第47-54頁)。此可藉由冗餘或藉由此等機制在特定疾病而不是發育及體內穩定方面至關重要來解釋。

【0202】 本發明之抗體藉由阻止TGFβ1活化之步驟起作用。在一些實施例中，此類抑制劑可抑制TGFβ1之整合素依賴性(例如，機械或力驅動)活化。在一些實施例中，此類抑制劑可抑制TGFβ1之蛋白酶依賴性或經蛋白酶誘導之活化。後者包括以非整合素依賴性方式抑制TGFβ1活化步驟之抑制劑。在一些實施例中，此類抑制劑可無關於活化模式抑制TGFβ1活化，例如抑制TGFβ1之整合素依賴性活化及蛋白酶依賴性活化兩者。可活化TGFβ1之蛋白酶之非限制性實例包括絲胺酸蛋白酶，諸如激肽釋放酶、胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶、彈性蛋白酶、纖維蛋白溶酶以及鋅金屬蛋白酶(MMP家族) (諸如MMP-2、MMP-9、MMP-12、MMP-13)及ADAM

蛋白酶(例如，ADAM10及ADAM17)。激肽釋放酶包括血漿-激肽釋放酶及組織激肽釋放酶，諸如KLK1、KLK2、KLK3、KLK4、KLK5、KLK6、KLK7、KLK8、KLK9、KLK10、KLK11、KLK12、KLK13、KLK14及KLK15。本文中呈現之資料證明同工型特異性TGFβ1抑制劑之實例能夠活體外抑制TGFβ1之激肽釋放酶依賴性活化。在一些實施例中，本發明之抑制劑防止活性(成熟) TGFβ1生長因子自潛伏複合物釋放或解離。

【0203】 在一些實施例中，根據本發明之抗體可誘導包含結合至細胞表面上之LRRC33或GARP的proTGFβ1之複合物內化。在一些實施例中，抗體為細胞締合之TGFβ1 (例如，經GARP呈遞之proTGFβ1及經LRRC33呈遞之proTGFβ1)的抑制劑。本發明包括特異性結合此類複合物(例如，GARP-proTGFβ1/潛伏TGFβ1及LRRC33-proTGFβ1/潛伏TGFβ1)之抗體或其片段，藉此觸發複合物之內化(例如，內飲作用)。此作用模式引起非活性TGFβ1複合物自細胞表面(例如，Treg、巨噬細胞、MDSC等)移除或耗竭，因此減少可用於活化之潛伏TGFβ1。

適用於治療用途之TGFβ抑制劑

【0204】 有大量證據支持多種疾病顯現TGFβ信號傳遞之複雜擾動的觀點，其可能涉及賦予TGFβ功能之不同作用的異質細胞類型之參與，其係由TGFβ與所謂的呈遞分子之相互作用介導。已鑑別出至少四種此類呈遞分子，其可在細胞外生態棲位處(niche)「呈遞」多個TGFβ以實現其對局部刺激起反應而活化。在一種類別中，TGFβ沈積至與諸如LTBP1及LTBP3之ECM締合之呈遞分子締合之ECM中，該等呈遞分子介導ECM締合之TGFβ活性。在另一類別中，TGFβ經由諸如GARP及LRRC33之呈遞

分子繫於細胞(例如，免疫細胞)之表面上，該等呈遞分子介導特定免疫功能。此等呈遞分子在不同組織及細胞類型中顯示差異表現、定位及/或功能，表明觸發事件及TGFβ活化之結果將有所變化，其視生物或病理性微環境而定。基於多種TGFβ效應可相互作用且促成疾病進展之觀點，可拮抗多方面TGFβ功能之治療劑可提供較高功效。

【0205】已認識到，多種疾病涉及作為TGFβ1之多種來源的異質細胞群，其共同促成疾病之發病機制及/或進展。多於一種類型之含TGFβ1複合物(「多情形」)可能共存於同一疾病微環境中。因此，在不同生物情形下抑制TGFβ1之能力可為至關重要的。

【0206】然而，在某些情況下，仍特異性結合至所有四種抗原複合物，但相對於細胞締合之複合物，對於基質締合之複合物以較強親和性結合的所謂的背景偏向性抗體可為有利的。相對於免疫細胞複合物，針對ECM複合物的此等抗體之特徵，亦即差異結合親和性可提高此類抑制劑可尤其適用作治療纖維變性病狀，諸如器官纖維化之治療劑的可能性，其中受影響患者接受治療慢性病狀之長期治療方案。在此等情況下，期望使免疫刺激所觸發之不合需要之發炎降至最低。

【0207】在一些實施例中，如藉由例如溶液平衡滴定所測定，相對於細胞締合之複合物，本發明抗體對EMC複合物，例如hLTBP1-proTGFβ1及hLTBP3-proTGFβ1 具有較高親和性(< 1 nM之KD)。據設想，EMC偏向性抗體能夠活體內優先靶向及抑制EMC締合之TGFβ1。此類抗體可有利於用於伴隨ECM調節異常，諸如ECM之異常重塑及/或僵硬的病狀之治療中。通常，ECM調節異常可伴隨疾病環境，諸如腫瘤微環境及纖維變性微環境中肌纖維母細胞或肌纖維母細胞樣細胞數目增加。

ECM之多種異常特徵通常體現在廣泛範圍之病理性病狀(包括纖維化)中，且增生性病症至少部分地由TGFβ1路徑驅動。

【0208】 在一些實施例中，本發明之背景偏向性TGFβ1抗體顯示相對於細胞締合之複合物(GARP締合及LRRC33締合之proTGFβ1複合物)，針對基質締合之複合物(LTBP1締合及LTBP3締合之proTGFβ1複合物)的偏向。在一些實施例中，如藉由溶液平衡滴定所測定，針對ECM締合之複合物的平均K_D值在次奈莫耳範圍(例如，約0.1至0.9 nM)內，且針對細胞締合之複合物的平均K_D值呈1 nM或更大。

【0209】 在一些實施例中，本發明之背景偏向性TGFβ1抗體顯示相對於其他三種複合物，特異性針對GARP締合之複合物的偏向。在較佳實施例中，此類抗體展現相對於人類LRRC33-proTGFβ1、人類LTBP1-proTGFβ1及人類LTBP3-proTGFβ1，特異性但較弱結合至人類GARP-proTGFβ1（針對其偏向)。在一些實施例中，此類抗體對人類GARP-proTGFβ1複合物的所量測之K_D值可比對人類LRRC33-proTGFβ1、人類LTBP1-proTGFβ1及人類LTBP3-proTGFβ1複合物的所量測之K_D值大約5至20倍。在一些實施例中，針對人類GARP-proTGFβ1複合物的背景偏向性抗體的所量測之K_D值為1 nM或更大，而針對其他三種複合物(人類LRRC33-proTGFβ1、人類LTBP1-proTGFβ1及人類LTBP3-proTGFβ1)中之每一者的所量測之K_D值處於次奈莫耳範圍(例如，約0.1至0.9 nM)內。

【0210】 較弱結合至GARP締合之TGFβ複合物 (例如，人類GARP-proTGFβ1)的背景偏向性抗體用於其中不希望刺激個體之免疫反應的病狀之治療中及/或其中預期個體受益於長期TGFβ抑制療法之情況下。對GARP-proTGFβ1具有較弱結合親和性的TGFβ1抑制劑之治療用途的基本

原理呈至少三重：

【0211】第一，GARP主要表現於調節T細胞上，該等調節T細胞在維持對自身抗原之耐受性及預防自體免疫疾病方面起關鍵作用。由於Treg一般抑制、減弱或下調效應T細胞之誘導及增殖，因此，此功能之全身性抑制可藉由使通常由Treg細胞提供之「中斷」失能而引起宿主中之免疫反應過度活化或擴大。因此，本文中所採用之方法(例如，未充分使Treg功能失能的TGFβ1抑制)旨在避開引起自體免疫之風險。此外，在不存在功能性Treg之可獲得性的情況下，已具有產生過度敏感免疫反應或自體免疫之傾向的患者可能尤其處於觸發或加重此類病狀之風險下；且因此，至少部分地保留經GARP介導之TGFβ1功能的抑制劑可有利地使該風險降至最低。

【0212】第二，有證據表明Th17/Treg比率之變化引起促纖維變性Th17細胞介素失衡，其與諸如肝纖維化之纖維化的嚴重程度相關(參見例如Shoukry等人 (2017) J Immunol 198 (第1增刊): 197.12)。本發明人推論，TGFβ1功能之GARP臂的失能擾動可直接地或間接地加重纖維變性病狀。

【0213】第三，調節T細胞對於免疫內穩定及自體免疫之預防為必不可少的。據推論，尤其對於意欲用於長期或慢性投藥之TGFβ1抑制療法而言，留下經GARP介導之TGFβ1的至少一部分且避開源於維持免疫內穩定方面之正常Treg功能的完全擾動的潛在副作用將為期望的(例如以下中所綜述：Richert-Spuhler及Lund (2015) Prog Mol Biol Transl Sci. 136: 217-243)。此策略至少部分地旨在保留尤其對於抗擊感染所需的正常免疫功能。

TGFβ1相關適應症

【0214】本文中所述之同工型特異性TGFβ1抑制劑可用於治療個體中之TGFβ1相關適應症。已表明多種疾病病狀涉及作為促成因素之TGFβ信號傳遞之調節異常。實際上，某些人類病狀之發病機制及/或進展呈現主要由TGFβ1活性驅動或與其相關。另外，預期在TGFβ1反應性細胞中存在串擾。在一些情況下，TGFβ1軸之多層面活性之間的相互作用可觸發一系列事件，其會導致疾病進展、惡化及/或宿主對抗疾病之能力的抑制。舉例而言，某些疾病微環境，諸如腫瘤微環境(TME)可能與藉由多種不同呈遞分子呈遞之TGFβ1，例如LTBP1-proTGFβ1、LTBP3-proTGFβ1、GARP-proTGFβ1、LRRC33-proTGFβ1及其任何組合相關。一種情形之TGFβ1活性可反過來調節或影響另一情形之TGFβ1活性，提高當調節異常時，此可引起疾病病狀之惡化的可能性。因此，期望在TGFβ1功能之多種模式(亦即，多種情形)中廣泛地抑制，同時選擇性地限制對TGFβ1同工型之此類抑制性作用。並不旨在干擾由其他同工型，包括TGFβ3介導之內穩TGFβ信號傳遞，其在傷口癒合方面其重要作用。

【0215】本發明對為「適當患者群」選擇「適當TGFβ1抑制劑」來治療具有某些準則及/或臨床特徵之疾病病狀的觀點加以延伸。可進行至少兩次詢問以鑑別/選擇適合適應症及/或患者群，針對其，本文中所述之TGFβ1抑制劑可能具有有利作用(例如，臨床益處)：i)相對於其他同工型，人類中之疾病是否主要由TGFβ1同工型驅動或依賴於其(或至少共顯性)；及ii)疾病是否涉及基質締合及/或免疫細胞締合之TGFβ1功能。

【0216】對於以上第一次詢問，已在多種組織中的正常(健康；內穩)條件以及疾病病狀下觀測到三種已知TGFβ同工型，亦即TGFβ1、

TGFβ2及TGFβ3的差異表現。然而，同工型選擇性之概念既未得到充分利用，亦未經促進TGFβ在多種同工型中之泛抑制的習知方法達成。另外，同工型之表現譜可加以差異調節，不僅在正常(內穩)對異常(病理學)條件下，且亦在患者之不同亞群中。由於大多數臨床前研究係在有限數目之動物模型中進行，因此伴隨使用此類模型獲得的資料可能具有偏向性，導致資料之錯誤解譯或關於對人類病狀之適用性(亦即，可譯性)的誤導性結論。

【0217】 因此，本發明包括以下認識，在預測特定抑制劑之有效性方面以及將關於在人類臨床病狀中的可譯性的臨床前資料之有意義的解譯方面，應將臨床前動物模型中的TGFβ同工型之差異表現考慮在內。如本文中所例示，TGFβ1及TGFβ3在臨床前研究中普遍使用的某些鼠類同基因型癌症模型(例如，EMT-6及4T1)中呈共顯性(參見**圖13D**)。相比之下，多種其他癌症模型(例如，S91、B16及MBT-2)幾乎完全表現TGFβ1，與多種人類腫瘤中所觀測到之結果相似，其中TGFβ1相對於TGFβ2/TGFβ3更通常呈現為顯性同工型(參見**圖13B**及**圖13C**)。此外，在內穩條件下主要表現之TGFβ同工型可能並非疾病相關同工型。舉例而言，在健康大鼠中的正常肺臟組織中，強直TGFβ信號傳遞呈現主要由TGFβ3介導。然而，在疾病病狀，諸如肺纖維化中，TGFβ1呈現變得受到顯著上調。綜合而言，測試或確認臨床樣本中TGFβ同工型之相對表現為有益的，以便選擇患者可能有反應的適合療法。

【0218】 如本文所述，同工型選擇性TGFβ1抑制劑尤其有利於治療其中相對於其他同工型主要表現TGFβ1同工型(例如，稱作TGFβ1顯性)的疾病。例如，具有TGFB1 (*左*)、TGFB2 (*中*)及TGFB3 (*右*)之相對表現量

的人類癌症臨床樣本之非限制性清單提供於**圖13C**中。三種同工型中的各水平線表示單一患者。如可看出，在多種腫瘤/癌症類型中，總TGFβ1表現(TGFB1)在大多數此等人類腫瘤/癌症中要明顯高於其他兩種同工型，表明TGFβ1選擇性抑制在此等疾病類型中可為有益的。

【0219】 然而，應注意某些例外情況。第一，此類傾向並不始終適用於疾病類型中的某些個別患者。亦即，甚至在相對於總體TGFβ2/TGFβ3顯示幾乎均一TGFβ1顯性的癌症類型中，仍存在並未遵循此一般規則/傾向之數名個體。處於少數亞群中的患者因此可能不會以對於大部分患者起作用之方式對TGFβ1同工型特異性抑制劑療法起反應。第二，存在其中TGFβ1與另一同工型呈共顯性或其中TGFβ2及/或TGFβ3表現明顯高於TGFβ1的若干癌症類型。在此等情況中，單獨使用TGFβ1選擇性抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑不大可能有效。確切而言，可結合採用靶向其他一或多種同工型之一或多種額外適合抑制劑(參見例如WO 2016/201282)。然而，為了處理可能存在之嚴重毒性，應避免用泛TGFβ抑制劑以及拮抗TGFβ2及TGFβ3兩者之抑制劑。

【0220】 舉例而言，在其中TGFβ1與TGFβ3呈共顯性(例如，如藉由活檢分析所示)的疾病(諸如某些類型之癌瘤及肉瘤)或個別患者中，適合治療方案可包括TGFβ1抑制劑及TGFβ3抑制劑兩者。較佳地，該等抑制劑中之每一者為同工型選擇性抑制劑，以避免與所有TGFβ同工型之泛抑制相關的不合需要之副作用或毒性。在一些實施例中，同工型選擇性抑制劑中之一或兩者抑制TGFβ同工型(例如，TGFβ1及/或TGFβ3)之活化步驟。在較佳實施例中，同工型選擇性TGFβ1抑制劑為活化抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑。在一些實施例中，同工型選擇性TGFβ3抑制劑為

TGFβ3之活化抑制劑，其係藉由包含選擇特異性結合proTGFβ3複合物之抗體或抗原結合片段之步驟的方法得到。通常，該方法進一步包括針對結合多種抗原複合物，例如LTBP1-proTGFβ3、LTBP3-proTGFβ3、GARP-proTGFβ3及/或LRRC33-proTGFβ3之能力來選擇或確認抗體或片段。較佳地，該方法進一步包括針對抑制生長因子自潛伏複合物釋放(亦即，活化抑制)之能力來選擇或確認抗體或片段。

【0221】 當適合治療方案包括兩種同工型選擇性TGFβ抑制劑，諸如TGFβ1及TGFβ3(如上文實例中)時，該療法可包含包括TGFβ1及TGFβ3抑制劑兩者的單一調配物。此類調配物可含有例如10至50mg/ml之各抑制劑及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑。

【0222】 或者，該療法可包含使用兩種獨立調配物，其各自包含用於投與患者或患者群之單一抑制劑。此在調整待向患者或患者群投與的兩種抑制劑劑量之比率方面提供附加靈活性，其視顯示存在於自患者或患者群收集的一或多個生物樣本中的兩種TGFβ同工型之相對表現量(超出健康量)而定(且針對其進行定製)。舉例而言，對於在TGFβ1陽性、TGFβ3陽性癌症/腫瘤(諸如乳癌)之治療(其中相對於後者，前者為顯性疾病相關同工型)中之使用，可以較高劑量及/或較長持續時間使用TGFβ1抑制劑作為治療方案之一部分。

【0223】 在一些實施例中，儘管TGFβ1及TGFβ3共表現，但本文所揭示之TGFβ1選擇性抑制劑足以治療疾病(例如，纖維化、實體腫瘤等)。

【0224】 因此，測試或確認自個別患者收集之臨床樣本中的三種TGFβ同工型(亦即，TGFβ1、TGFβ2及TGFβ3)之相對表現量為有益的。此類資訊可提供關於特定療法在個別患者或患者群中之有效性的較好預

測，其可幫助確保合適治療方案(例如，個別化/個性化治療)之選擇以便增加臨床反應之可能性。

【0225】 因此，本發明包括一種用於選擇可能對包含根據本發明之同工型特異性TGFβ1抑制劑之療法起反應的患者群或個體的方法。該方法包含以下步驟：提供自個體收集之生物樣本(例如，臨床樣本)；測定(例如，量測或分析)樣本中的TGFβ1、TGFβ2及TGFβ3之相對量；且若相對於TGFβ2及TGFβ3，TGFβ1為顯性同工型；及/或若相較於對照，TGFβ1明顯過度表現或上調，則向個體投與包含TGFβ1抑制劑之組合物。在一些實施例中，此類方法包含以下步驟：獲得關於先前測定之TGFβ1、TGFβ2及TGFβ3之相對表現量的資訊；鑑別個體患有TGFβ1陽性，較佳TGFβ1顯性疾病；且向個體投與TGFβ1抑制劑。在一些實施例中，該個體患有對療法(諸如癌症療法)具有抗性之疾病(諸如癌症)。在一些實施例中，該個體顯示對療法之不耐受，且因此必須或可能要中斷療法。將TGFβ1抑制劑添加至治療方案中可使得第一療法之劑量降低且仍達成組合臨床益處。

【0226】 可藉由此項技術中熟知的基於RNA之分析及/或基於蛋白質之分析測定同工型之相對量。在一些實施例中，投藥步驟亦可包括另一療法，諸如免疫檢查點抑制劑或本文中其他處所提供之其他藥劑。此類方法可視情況包括藉由在兩個或更多個時間點監測TGFβ1、TGFβ2及TGFβ3之相對量的變化來評估治療反應之步驟。在一些實施例中，在投藥之前及之後收集臨床樣本(諸如活檢體)。在一些實施例中，在治療後多次收集臨床樣本(諸如活檢體)以評定隨時間推移之活體內作用。

【0227】 除了涉及同工型特異性之態樣的第一次詢問外，第二次詢問詢問涉及特定疾病之TGFβ1功能的廣度。此可由TGFβ1情形，亦即何種

呈遞分子介導疾病相關TGFβ1功能之數目來表示。TGFβ1特異性廣情形抑制劑，諸如非背景依賴性抑制劑有利於治療涉及TGFβ1功能之ECM組分及免疫組分兩者的疾病。此類疾病可能與ECM中之調節異常以及免疫細胞功能或免疫反應之擾動相關。

【0228】 無論患者之特定病狀是否涉及TGFβ1功能之多種態樣或由其驅動，其可藉由在自患者收集之臨床樣本中評估呈遞分子之表現圖譜來評定。多種分析為此項技術中已知的，包括基於RNA之分析及基於蛋白質之分析，可進行其來獲得表現圖譜。一或多個樣本中的LTBP1、LTBP3、GARP及LRRC33之相對表現量(及/或其變化/改變)可指示與病狀相關的TGFβ1活性之來源及/或情形。舉例而言，取自實體腫瘤之活檢體樣本可展現所有四種呈遞分子之高表現。舉例而言，LTBP1及LTBP3可高度表現於腫瘤基質中的CAF中，而GARP及LRRC33可分別藉由疾病相關免疫細胞，諸如Treg、MDSC及白血球浸潤物高度表現。同樣，LTBP1及LTBP3可高度表現於纖維變性微環境中的FAF(例如，肌纖維母細胞)中，而LRRC33可由纖維化相關免疫細胞(諸如M2巨噬細胞及MDSC)高度表現。

【0229】 因此，本發明包括一種在相對於TGFβ2及TGFβ3下，測定(例如，測試或確認)涉及疾病之TGFβ1之方法。在一些實施例中，該方法進一步包含以下步驟：鑑別疾病相關之TGFβ1的來源(或背景)。在一些實施例中，藉由測定自患者收集之臨床樣本中的TGFβ呈遞分子(例如LTBP1、LTBP3、GARP及LRRC33)之表現來分析來源/背景。

【0230】 同工型選擇性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之彼等抑制劑，可用於治療人類個體中與TGFβ1調節異常相關之多種疾病、病症及/

或病狀(亦即，TGFβ1相關適應症)，如本文所用，「與TGFβ1調節異常相關之疾病(病症或病狀)」或「TGFβ1相關適應症」意謂與TGFβ1之表現、活性及/或代謝相關的任何疾病、病症及/或病狀；或可因抑制TGFβ1活性及/或含量而受益的任何疾病、病症及/或病狀。

【0231】 本發明包括以此等同工型特異性TGFβ1抑制劑於治療人類個體中與TGFβ1調節異常相關之疾病的方法上之用途。此等抑制劑通常調配於醫藥組合物中，該醫藥組合物進一步包含醫藥學上可接受之賦形劑。TGFβ為ECM組分、結構及功能之關鍵調節因子。該抑制劑在活體內有利地靶向ECM締合之TGFβ1及免疫細胞締合之TGFβ1兩者，但不靶向TGFβ2或TGFβ3。在一些實施例中，該抑制劑優先結合ECM締合之proTGFβ1複合物，藉此阻斷基質生態棲位處之TGFβ1信號傳遞。該疾病可涉及ECM組分或功能之調節異常或受損，且包含增加之膠原蛋白沈積。在一些實施例中，ECM組分或功能之調節異常或受損可進一步包括增加之僵硬及/或ECM重組。在一些實施例中，ECM組分或功能之調節異常或受損包括疾病位點中增加肌纖維母細胞。

【0232】 在一些實施例中，疾病之特徵在於骨髓細胞增殖或分化之調節異常或受損；其中視情況地，骨髓細胞之調節異常或受損包括單核球募集至疾病位點或分化成極化M2細胞，及/或異常之巨噬細胞功能。在一些實施例中，骨髓細胞之調節異常包括增加之MDSC量。升高之MDSC可包含例如周邊血液中增加循環MDSC之數量/頻率。升高之MDSC可在疾病位點，諸如纖維變性組織及實體腫瘤處觀測到。

【0233】 在一些實施例中，疾病之特徵在於涉及上皮至間葉之轉化(EMT)及/或內皮至間葉之轉化(EndMT)之異常細胞分化。在一些實施例

中，發生在疾病位點(諸如TME及纖維變性微環境)處之此等過程造成該位點處增加肌纖維母細胞或肌纖維母細胞樣細胞。此等包括(例如)CAF及FAF。

【0234】在一些實施例中，疾病之特徵在於選自由以下組成之群的標記基因中之一或多者出現異常基因表現：PAI-1、ACTA2、CCL2、Col1a1、Col3a1、FN-1、CTGF及TGFβ1。

【0235】向患有或診斷患有該疾病之個體投與治療有效量之該抑制劑。

【0236】在一些實施例中，纖維母細胞分化之調節異常或損傷包含增加之肌纖維母細胞或肌纖維母細胞樣細胞。在一些實施例中，肌纖維母細胞或肌纖維母細胞樣細胞為癌症相關纖維母細胞(CAF)。在一些實施例中，CAF係與腫瘤基質相關且可產生CCL2/MCP-1及/或CXCL12/SDF-1。

【0237】在一些實施例中，調節T細胞之調節異常或損傷包含增加之Treg活性。

【0238】在一些實施例中，效應T細胞(Teff)增殖或功能之調節異常或損傷包含抑制CD4+/CD8+細胞增殖。

【0239】在一些實施例中，骨髓細胞增殖或分化之調節異常或損傷包含增加之骨髓祖細胞增殖。增加之骨髓細胞增殖可發生在骨髓中。

【0240】在一些實施例中，單核球分化之調節異常或損傷包含疾病位點(諸如纖維變性組織及/或實體腫瘤)處骨髓衍生及/或組織駐留單核球分化成巨噬細胞有所增加。

【0241】在一些實施例中，單核球募集之調節異常或損傷包含骨髓

衍生單核球募集於諸如TME之疾病位點處有所增加，引起增加之巨噬細胞分化及M2極化，繼之以增加之TAM。

【0242】 在一些實施例中，巨噬細胞功能之調節異常或損傷包含巨噬細胞極化成M2表型有所增加。

【0243】 在一些實施例中，骨髓細胞增殖或分化之調節異常或損傷包含增加之Treg、MDSC及/或TAN數目。

【0244】 TGFβ相關適應症可包括包含免疫排除疾病微環境，諸如藉由排除效應免疫細胞(例如，CD4+及/或CD8+ T細胞)部分抑制人體正常防衛機制/免疫力的腫瘤或癌組織之病狀。在一些實施例中，此類免疫排除病狀係與對治療(例如，癌症療法)之反應性較差相關。患者反應不佳之癌症療法之非限制性實例包括(但不限於)：檢查點抑制劑療法、癌症疫苗、化學療法及放射療法。在不意欲受特定理論束縛之情況下，預期TGFβ抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑，可藉由修復T細胞(例如，CD8+細胞)進入來幫助對抗腫瘤避開或排除抗癌免疫力之能力，該修復藉由促進T細胞擴增及/或浸潤於腫瘤中來進行。

【0245】 因此，TGFβ抑制可藉由解阻及修復效應T細胞進入及細胞毒性效應功能來克服免疫排除疾病環境(諸如TME)中的治療抗性(例如，免疫檢查點抗性、癌症疫苗抗性、CAR-T抗性、化學療法抗性、放射療法抗性等)。TGFβ抑制之此類作用可進一步提供例如藉由CD8+ T細胞介導的持久免疫記憶。

【0246】 TGFβ相關適應症之非限制性實例包括：纖維化，其包括器官纖維化(例如，腎纖維化、肝纖維化、心臟/心血管纖維化、肌肉纖維化、皮膚纖維化、子宮纖維化/子宮內膜異位及肺纖維化)；硬皮病；奧爾

波特症候群；癌症(包括(但不限於)：血癌，諸如白血病、骨髓纖維化、多發性骨髓瘤、結腸癌、腎癌、乳癌、惡性黑素瘤、神經膠母細胞瘤)；與實體腫瘤相關之纖維化(例如，癌變結締組織增生，諸如結締組織增生性黑素瘤、胰臟癌相關結締組織增生及乳房癌結締組織增生)；基質纖維化(例如，乳房之基質纖維化)；放射線誘發之纖維化(例如，放射性纖維化症候群)；化學療法後快速造血加快(facilitation of rapid hematopoiesis following chemotherapy)；骨癒合；創傷癒合；癡呆；骨髓纖維化；骨髓發育不良(例如，骨髓發育不良症候群或MDS)；腎病(例如，末期腎病或ESRD)；單側輸尿管阻塞(UUO)；牙齒缺失及/或退化；內皮增生症候群；哮喘及過敏；胃腸道病症；老年貧血；主動脈瘤；孤兒適應症(諸如馬凡症候群(Marfan's syndrome)及卡-恩二氏病)；肥胖症；糖尿病；關節炎；多發性硬化；肌肉萎縮症(例如，肌緊張性肌肉萎縮症、杜氏肌營養不良(Duchenne muscular dystrophy)、貝克爾肌肉萎縮症(Becker muscular dystrophy、肢帶型肌肉萎縮症、臉肩胛肱骨肌肉萎縮症(Facioscapulohumeral muscular dystrophy)、先天性肌肉萎縮症、外眼肌咽肌肌肉萎縮症(Oculopharyngeal muscular dystrophy)、遠端肌肉萎縮症及艾梅氏(Emery-Dreifuss)肌肉萎縮症)；肌肉萎縮性側索硬化(ALS)；帕金森氏病；骨質疏鬆症；骨關節炎；骨質減少；代謝症候群；營養病症；器官萎縮；慢性阻塞性肺病(COPD)及食慾不振。

【0247】TGFβ相關適應症亦可包括其中主要組織相容複合體(MHC) I類缺失或缺乏(例如，下調)之病狀。此類病狀包括其中經MHC介導之信號傳遞之一或多種組分異常的遺傳病症，以及其中MHC表現因其他因素(諸如癌症、感染、纖維化及藥療)而變化的病狀。

【0248】 舉例而言，腫瘤中之MHC I下調係與腫瘤自免疫監視逃避相關。實際上，旨在避開T細胞識別之免疫逃避策略，包括腫瘤MHC I類表現之喪失，通常存在於惡性細胞中。已觀測到腫瘤免疫逃避對癌症免疫療法，包括用阻斷免疫檢查點分子之抗體進行之治療之臨床結果具有不利影響(例如以下中所綜述：Garrido等人 (2017) Curr Opin Immunol 39: 44-51.「The urgent need to recover MHC class I in cancers for effective immunotherapy」，其以引用之方式併入本文中)。因此，本發明所涵蓋之同工型選擇性TGFβ1抑制劑可以單一療法形式或與另一療法(諸如檢查點抑制劑、化學療法、放射療法等)結合投與以釋放或增加抗癌免疫力及/或促進對另一療法之反應性或另一療法之有效性。

【0249】 I類MHC蛋白之下調亦與某些傳染病，包括諸如HIV之病毒感染相關。參見例如Cohen等人 (1999) Immunity 10(6): 661-671.「HIV-1所致的I類主要組織相容複合體蛋白之選擇性下調保護受HIV感染細胞與NK細胞相隔(The selective downregulation of class I major histocompatibility complex proteins by HIV-1 protects HIV-infected cells from NK Cells)」，其以引用之方式併入本文中。因此，本發明所涵蓋之同工型選擇性TGFβ1抑制劑可以單一療法形式或與另一療法(諸如抗病毒療法、蛋白酶抑制劑療法等)結合投與以釋放或增加宿主免疫力及/或促進對另一療法之反應性或另一療法之有效性。

纖維變性病狀

【0250】 反應於物理損傷/外傷、有毒物質及/或感染所致之組織損傷，開始天然修復過程，其涉及若干細胞類型，包括纖維母細胞、若干不同類型的免疫細胞及駐留上皮及內皮細胞。然而，若不進行檢查，此過程

會引起細胞外基質(ECM)之過度積聚及纖維化，其反過來會引起組織功能之進行性喪失及器官衰竭(Caja等人, *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19, 1294)。

【0251】 纖維化可發生若干不同器官中，包括肺臟、腎臟、肝臟、心臟及皮膚。無關於器官，纖維變性反應之特徵在於發炎、變化之上皮-間葉細胞相互作用及纖維母細胞增殖。纖維化之標誌中之一者為纖維母細胞分化成肌纖維母細胞，其在很大程度上促成ECM之調節異常。然而亦已提出肌纖維母細胞來自其他細胞來源(例如，內皮細胞、上皮細胞及間葉幹細胞) (Kim, K.K.等人 Cold Spring Harb. Perspect. Biol., 2017；Okabe,, H. Histol. Histophathol., 2016, 31, 141-148；及Li, C等人, Nat Commun., 2016, 7, 11455)。另外，免疫細胞藉由分泌促進肌纖維母細胞之分化、刺激ECM沈積及將其他免疫細胞募集至受損組織的細胞介素及趨化細胞素而在該過程中起重要作用(Caja等人, *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19, 1294)。

【0252】 與纖維變性組織相似，癌症相關纖維母細胞之活化可發生在腫瘤環境中，其產生過量ECM。ECM提供用於其他細胞(例如，促致瘤免疫細胞)之浸潤的骨架及用於細胞遷移之受質。在其他情況下，過量ECM可充當抗致瘤免疫細胞之障壁。

【0253】 TGFβ識別為纖維變性反應之中央協調器。TGFβ可促進肌纖維母細胞分化、募集免疫細胞且影響上皮及內皮細胞分化。特定而言，TGFβ上調ECM及基底膜蛋白，諸如纖維結合蛋白、膠原蛋白、層黏連蛋白、骨橋蛋白、肌腱蛋白、彈性蛋白、核心蛋白聚糖的產量。TGFβ誘導之肌纖維母細胞分化會引起ECM蛋白之額外沈積、基質金屬蛋白酶(MMP)之分泌及肌纖維母細胞增殖(Fabregat等人, *FEBS J.* 2016, 283,

2219-2232；Meng等 人, *Nat. Rev. Nephrol.* 2016, 12, 325-338；及Kulkarni等人, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2016, 54, 751-760)。另外，TGFβ介導影響血管平滑肌細胞(VSCM)中的收縮性蛋白及膠原蛋白I的表型變化，且可活化肌纖維母細胞及其他基質細胞以促進膠原蛋白交聯蛋白，諸如基質重塑酶之離胺醯氧化酶(LOX)家族的合成(Busnadiego等人, *Mol. Cell. Biol.* 2013, 33, 2388-2401)。此外，已顯示TGFβ調節EMT及EndMT兩者，其促成促纖維變性細胞類型，諸如肌纖維母細胞及CAF分化。此外，已顯示TGFβ誘導上皮細胞凋亡，其可促進肺及肝纖維化以及其他組織纖維化(Barbas-Filho等人, *J. Clin. Pathol.* 2001, 54, 132-138；及Wang等人, *Dev. Dyn.* 2017, 247, 492-508)。

【0254】 無論先天性或經募集，巨噬細胞在對組織損傷及修復之反應中起重要作用。然而，在特定信號後，其可變得促纖維變性。亦顯示TGFβ以及其他細胞介素會活化M2巨噬細胞，其為促炎性的。活化後，此等巨噬細胞分泌其自身細胞介素，包括TGFβ、ECM組分、血管生成因子及趨化性因子。已顯示M2巨噬細胞對於TGFβ驅動肺纖維化必不可少(Murray等人, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2011, 43, 154-162)。

【0255】 因此，根據本發明，將同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑用於個體中之纖維化(例如，纖維變性適應症、纖維變性病狀)的治療中。進行本發明之適合抑制劑包括根據本發明之抗體及/或組合物，其可適用於改變或改善纖維化。更具體言之，此類抗體及/或組合物為能夠靶向由各種類型之呈遞分子呈遞的TGFβ1的TGFβ1之選擇性拮抗劑。

【0256】 靶向TGFβ之抗體降低多種臨床前模型中的纖維化。此類

抗體及/或基於抗體之化合物包括LY2382770 (Eli Lilly, Indianapolis, IN)。亦包括美國專利第US 6,492,497號、第US 7,151,169號、第US 7,723,486號及美國申請公開案第2011/0008364號中所述之彼等者，其中之每一者之內容以全文引用之方式併入本文中。先前技術TGFβ拮抗劑包括例如靶向及阻斷TGFβ之整合素依賴性活化的藥劑。

【0257】 然而，有證據表明此類先前技術藥劑可能並不介導同工型特異性抑制，且藉由無意阻斷TGFβ2及/或TGFβ3之正常功能而可能引起不合需要之作用。實際上，本文中呈現之資料支持此觀點。正常(未患病)肺臟組織含有相對較低但可量測量之TGFβ2及TGFβ3，但顯著較少TGFβ1。相比之下，在諸如纖維化之某些疾病病狀中，TGFβ1相對於其他同工型變得優先上調。較佳地，供用於此類病狀之治療中的TGFβ拮抗劑僅對疾病誘導或疾病相關同工型發揮其抑制性活性，同時保留其他同工型經正常表現以介導組織中之強直信號傳遞的功能。顯示先前技術抑制劑(LY2109761(一種小分子TGFβ受體拮抗劑)及靶向αVβ6整合素之單株抗體)兩者抑制未患病大鼠BAL中的TGFβ下游強直信號傳遞，提高此等抑制劑可引起不合需要之副作用的可能性。或者或另外，靶向及阻斷TGFβ之整合素依賴性活化的藥劑可能夠在由多種細胞類型表現且在發病機制中起一定作用的多種整合素類型中，僅阻斷負責疾病相關TGFβ1活化之一小類整合素。此外，即使在此類拮抗劑可選擇性地阻斷TGFβ1同工型之經整合素介導之活化的情況下，其在阻斷藉由諸如蛋白酶依賴性活化之其他模式觸發的TGFβ1活化方面可為無效的。相比之下，同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑旨在無關於特定活化模式防止發生TGFβ1之活化步驟，同時維持同工型選擇性。

【0258】 進一步預期相對於細胞締合之抗原複合物優先抑制基質締合之抗原複合物(亦即，顯示背景偏向)的同工型特異性TGFβ1抑制劑可在某些臨床情況下提供治療優點。舉例而言，TGFβ1抑制劑(其靶向所有四種抗原複合物)可經由靶向細胞締合之TGFβ1 (例如，GARP-TGFβ1，其表現於調節T細胞上)而增加免疫活化。免疫活化對於某些患者，例如患有自體免疫疾病或處於敗血症風險下之患者可能為不利的。因此，背景偏向性抗體可適用於治療與基質締合之TGFβ1複合物相關之疾病(例如，纖維化)，同時使免疫活化降至最低。

【0259】 進一步預期同工型特異性TGFβ3抑制劑可在特定疾病病況中提供治療效益。舉例而言，待用TGFβ1抑制劑治療之某些纖維變性疾病亦可呈TGFβ3陽性(亦即，TGFβ1+/TGFβ3+纖維變性組織)，其特徵在於疾病組織(例如，纖維變性組織)表現該等同工型兩者。因此，本發明包括同工型選擇性TGFβ1抑制劑以及同工型選擇性TGFβ3抑制劑在治療此類病狀中之用途。此類TGFβ3抑制劑可為非背景依賴性或背景偏向的。可在治療上使用本發明之抗體及/或組合物的纖維變性適應症包括(但不限於)肺臟適應症(例如特發性肺纖維化(IPF)、慢性阻塞性肺疾病(COPD)、過敏性哮喘、急性肺損傷、嗜伊紅血球性食道炎、肺動脈高血壓及化學氣體損傷)、腎臟適應症(例如，糖尿病性腎小球硬化、局部區段性腎小球硬化(FSGS)、慢性腎病(CKD)、與腎臟移植及慢性排斥反應相關之纖維化、IgA腎病變及溶血性尿毒症候群)、肝纖維化(例如，與非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)、慢性病毒性肝炎、寄生蟲血症、先天性代謝缺陷、經毒素介導之纖維化(諸如酒精纖維化)、非酒精性脂肪變性肝炎-肝細胞癌(NASH-HCC)、原發性膽汁性肝硬化症及硬化性膽管炎相關或由其所引

起)、心血管纖維化(例如，心肌病、肥厚性心肌症、動脈粥樣硬化及再狹窄)、全身性硬化症、皮膚纖維化(例如全身性硬化症、彌漫性皮膚全身性硬化症、硬皮病、病理性皮膚疤痕、瘢痕瘤、手術後疤痕、疤痕修復手術、輻射誘發之疤痕及慢性創傷中的皮膚纖維化)中的視網膜下纖維化、眼部相關病狀(諸如視網膜下纖維化、葡萄膜炎症候群、與特發性腹膜後纖維化相關之葡萄膜炎、細胞外肌肉纖維化、與主要組織相容複合體(MHC I類)或組織相容抗原相關之眼病、黃斑變性(例如，老年性黃斑變性)中的視網膜下纖維化及癌症或繼發性纖維化(例如骨髓纖維化、頭頸癌、M7急性巨核母細胞白血病及黏膜炎)。可使用本發明之化合物及/或組合物治療的與纖維化(包括退化性病症)相關的其他疾病、病症或病狀包括(但不限於)子宮腺肌症、子宮內膜異位、馬凡症候群(Marfan's syndrome)、僵直皮膚症候群、硬皮病、類風濕性關節炎、骨髓纖維化、克羅恩氏病(Crohn's disease)、潰瘍性結腸炎、全身性紅斑性狼瘡症、肌肉萎縮症(諸如DMD)、帕金森病、ALS、掌肌膜攣縮症(Dupuytren's contracture)、卡-恩二氏病(Camurati-Engelmann disease)、神經疤痕、癡呆、增生性玻璃體視網膜病變、角膜損傷、青光眼引流手術後之併發症及多發性硬化(MS)。多種此類纖維變性適應症亦與受影響組織之發炎相關，其表明涉及免疫組分。此類發炎可伴有異常免疫細胞群，諸如增加之Th17細胞數，減少之Treg細胞數及/或兩者。在各情況下，受影響患者可展現增加之Th17/Treg細胞比率。

【0260】 在一些實施例中，可用本文所述之組合物及/或方法治療之纖維變性適應症包括器官纖維化，諸如肺纖維化(例如，IPF)、腎纖維化(例如，與CKD相關之纖維化)、肝纖維化(例如，與NASH相關或NASH所

致)、心臟或心臟組織之纖維化、皮膚纖維化(例如，硬皮病)、子宮(例如，子宮內膜、子宮肌層)纖維化、肌肉(例如，骨胳肌肉)纖維化及骨髓纖維化。在一些實施例中，此類療法可在患者中減少或延遲對器官移植之需求。在一些實施例中，此類療法可延長患者之存活期。

【0261】 為了治療IPF，可受益於該治療之患者包括患有家族性IPF之患者及患有偶發性IPF之患者。投與治療有效量之同工型特異性TGFβ1抑制劑可減少肌纖維母細胞在肺臟組織中之積聚、減少膠原蛋白沈積物、減少IPF症狀、改善或維持肺臟功能且延長存活期。在一些實施例中，抑制劑阻斷IPF之纖維變性環境中的ECM締合之TGFβ1 (例如，LTBP1/LTBP3所呈遞之proTGFβ1/潛伏TGFβ1)之活化。抑制劑可視情況進一步阻斷巨噬細胞(例如肺泡巨噬細胞)締合之TGFβ1 (例如，LRRC33所呈遞之proTGFβ1/潛伏TGFβ1)之活化。因此，抑制劑可抑制纖維結合蛋白釋放及其他纖維化相關因子。在一些實施例中，抑制劑阻斷肝星狀細胞活化。

【0262】 公認肝星狀細胞(HSC)之活化為肝臟損傷中的纖維化之主要驅動子。在此過程中，靜息的儲存維生素A之細胞轉分化成增殖性纖維生成肌纖維母細胞(細胞外基質(ECM)蛋白積聚之主要來源)。然而已顯示此過程由多種不同路徑介導，其包括自噬、內質網應激、氧化應激、視黃醇及膽固醇代謝、後生學及受體介導之信號。另外，亦顯示包括巨噬細胞、肝細胞、肝竇狀內皮細胞、自然殺手細胞、自然殺手T細胞、血小板及B細胞之發炎細胞調節HSC活化(Tsuchida及Friedman, Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology 第14卷, 第397-411頁 (2017))。在僅一個特定實例中，Seki等人證明了TLR4 (其識別細菌所呈現之LPS)活化引起

趨化細胞素分泌上調且誘導庫弗細胞之趨化性，且亦使HSC對經TGFβ誘導之信號敏感，且允許庫弗細胞不受限制地活化(Seki等人 Nature Medicine 第13卷, 第1324-1332頁 (2007))。

【0263】眾所周知，發炎在肝纖維化罹患及進展中起關鍵作用。具體言之，肝臟損傷引起發炎及單核球/巨噬細胞(以及淋巴細胞、嗜伊紅血球及漿細胞)募集，其會產生促纖維變性因子，包括TGFβ。另外，研究表明，駐留肝組織之巨噬細胞(庫弗細胞)及骨髓衍生的經募集之巨噬細胞在肝纖維化之進展中其重要作用，且TGFβ路徑可在肝纖維化期間促進巨噬細胞之極化及促纖維變性功能。實際上，已顯示庫弗細胞及經募集之巨噬細胞均可藉由旁分泌機制(包括TGFβ)活化HSC且誘導其轉分化成肌纖維母細胞。肌纖維母細胞反過來產生且沈積ECM組分，引起纖維化(Fabregat及Caballero-Diaz, Front Oncol. 2018; 8: 357)。

【0264】然而，肌纖維母細胞亦可來自其他來源，包括門靜脈及駐留纖維母細胞、骨髓衍生之纖維細胞、經歷EMT之肝臟上皮細胞、經歷EndMT之內皮細胞及血管平滑肌細胞以及外被細胞。實際上，亦已顯示TGFβ調節引起肌纖維母細胞增加之EndMT及EMT兩者，其推進肝纖維化。(Pardali等人, Int J Mol Sci. 2017 Oct; 18(10): 2157)。因此，靶向TGFβ已成為治療纖維變性病狀之引人注目之治療目標。

【0265】已顯示TGFβ在肝纖維化及疾病進展中起多種作用。舉例而言，已顯示TGFβ負責將HSC活化成肌纖維母細胞。亦已顯示TGFβ介導肝細胞中之上皮-間葉轉化(EMT)，其可促成增加肌纖維母細胞群。另外，已顯示TGFβ誘導腫瘤細胞可塑性之變化(Fabregat及Caballero-Diaz, Front Oncol. 2018; 8: 357)。

【0266】 儘管TGFβ可存在於纖維變性及/或腫瘤微環境中的多種不同細胞來源上，由此表明藉由多種不同呈遞分子(例如，LTBP1、LTBP3、GARP及/或LRRC33)進行TGFb呈遞，但在某些情況下，相對於其他靶向TGFβ之特定來源可為有益的。舉例而言，Henderson等人顯示刪除HSC中之αv整合素保護小鼠免於形成經CCL_4誘發之肝纖維化(Henderson等人, *Nat. Med.* 2013, 19, 1617-16-24)。由於整合素為經LTBP呈遞之TGFβ的主要活化劑，因此此結果表明，靶向經LTBP呈遞之TGFβ可足以在某些情況下治療之纖維化。然而，由於免疫細胞在纖維變性反應中起重要作用，因此靶向由大多數或所有呈遞分子-TGFβ複合物所呈遞之TGFβ的TGFβ抑制劑可為有益的。

【0267】 近年來，歸因於世界各地肝纖維化之發病率有所增加，肝纖維化之治療已變成關注領域。舉例而言，非酒精性脂肪肝病(NAFLD)係與代謝異常，諸如肥胖症、胰島素抗性、空腹高血糖症、血脂異常及變化之脂肪細胞因子概況相關。NAFLD之特徵在於肝細胞中過量脂質積聚，且為自肝脂肪變性(肝細胞中脂質/脂肪滴積聚)進展成非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)、肝纖維化且在最嚴重情況下最終進展成肝硬化的一系列疾病。伴隨纖維化或肝硬化之NASH增加罹患肝細胞癌(HCC)之風險(Starley BQ等人 Hepatology 2010; 51: 1820-1832)。已提出藉由『多命中物(multiple-hit)』模型調節脂肪變性進展成NASH，其中第一命中物為胰島素抗性及代謝紊亂，其引起肝脂肪變性、繼之以氧化應激、促炎性細胞介素介導之肝細胞損傷、由游離脂肪酸介導的變化之脂質分配及肝臟毒性、異常肝內膽固醇負荷、高胰島素血症、高瘦體素血症(hyperleptinaemia)及低脂締素血症(hypoadiponectinaemia) (Tilg H,

Moschen AR, Hepatology 2010; 52: 1836-1846；及Yilmaz Y., Aliment Pharmacol Ther 2012; 36: 815-823)。

【0268】存在已研發以研究肝纖維化的多種動物模型。舉例而言，已顯示小鼠中之高脂飲食來模仿人類NAFLD之組織病理學及發病機制。另外，一些基因模型亦顯示人類代謝症候群及NAFLD之特徵，諸如*db*/*db*及*ob*/*ob*小鼠模型。亦存在用於研究NASH之動物模型、其主要由多種飲食誘導之模型組成，包括(但不限於)甲硫胺酸及膽鹼缺乏飲食(MCD)、高膽固醇飲食(HCD)、膽鹼缺乏高脂飲食(CDHFD)、膽鹼缺乏L-胺基酸缺乏飲食、膽鹼缺乏L-胺基酸缺乏飲食+四氯化碳、高脂飲食+鏈佐黴素、高脂+高膽固醇飲食(HFHC)、高果糖飲食(HFD)及高果糖高脂飲食(HFHF)。用於研究NASH之基因小鼠模型包括(但不限於)foz/foz小鼠、肝細胞特異性PTEN缺乏小鼠、Db/db小鼠+二乙基亞硝胺(DEN)及*db*/*db*小鼠+ MCD。所有此等模型之詳情，包括各者之利弊，概述於Jennie Ka Ching Lau等人, *J Pathol* 2017; **241:** 36-44中；其內容以引用之方式併入本文中。

【0269】適用於測試同工型特異性TGFβ抑制劑在肝纖維化中之功效的另一模型包括四氯化碳(CCL_4)模型。適用於測試同工型特異性TGFβ抑制劑在肝纖維化中之功效的另一模型包括膽管結紮(BDL)模型(參見例如Tag等人, *J Vis Exp*. 2015; (96): 52438)。

【0270】同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文所提供之彼等抑制劑，可用於治療肝臟之纖維變性病狀，諸如脂肪肝(例如非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肪變性肝炎(NASH))。脂肪肝可或可不為發炎的。脂肪肝(亦即，脂肪變性肝炎)所致的肝臟之發炎可發展成疤痕(纖維

化)，其隨後通常發展成肝硬化(使肝臟結構變形且損害其功能的疤痕)。可因此使用抑制劑來治療此類病狀。在一些實施例中，抑制劑阻斷肝臟之纖維變性環境中的ECM締合之TGFβ1 (例如，LTBP1/LTBP3所呈遞之proTGFβ1/潛伏TGFβ1)之活化。抑制劑可視情況進一步阻斷巨噬細胞(例如庫弗細胞(亦稱為星狀巨噬細胞)以及浸潤單核球衍生之巨噬細胞及MDSC)締合之TGFβ1 (例如，LRRC33所呈遞之proTGFβ1/潛伏TGFβ1)之活化。因此，抑制劑可抑制纖維化相關因子(例如，本文中所述之纖維變性標記物)。在患有此類病狀之個體中投與抑制劑可減少一種或多種症狀、預防或延緩疾病之進展、減少肝中之脂肪堆積物或使其穩定、減少疾病相關生物標記物(諸如血清膠原蛋白片段)、減少肝臟疤痕、減少肝臟僵硬及/或相較於未用該抑制劑治療之對照群，在用抑制劑治療之患者群中另外產生有臨床意義之結果。在一些實施例中，有效量之抑制劑可在NASH患者中達成減少之肝臟脂肪及減少之纖維化(例如，疤痕)。在一些實施例中，有效量之抑制劑可在NASH患者中藉由至少一個分期未出現惡化之脂肪變性肝炎而達成改善纖維化。在一些實施例中，有效量之抑制劑可在NASH患者中減少肝功能衰竭及/或肝癌之出現率。

【0271】 在一些實施例中，有效量之抑制劑可相較於對照，標準化如在療法開始後，在例如12至36週所評定的多種發炎或纖維變性血清生物標記物的量。在一些實施例中，發炎或纖維變性生物標記物可用於評定NAFLD之嚴重程度(藉由量測肝脂肪變性之程度)、選擇治療患者及/或監測疾病進展或治療反應。舉例而言，血液生物標記物及小組可包括(但不限於)：

i) 脂肪肝指數(BMI、腰圍、血清三酸甘油酯及γ-麩胺醯基轉移酶

(GGT)；

ii) 肝脂肪變性指數(血清天冬胺酸胺基轉移酶(AST):丙胺酸轉胺酶(ALT)比率、BMI、性別及糖尿病之存在)；

iii) NAFLD肝臟脂肪評分(血清ALT、HDL膽固醇、三酸甘油酯、血紅素A_{1c}及白血球計數)；

iv) SteatoTest (BioPredictive) (總膽紅素之血清量、GGT、α2-巨球蛋白、結合球蛋白、ALT、脂蛋白元AI、總膽固醇、三酸甘油酯、葡萄糖(針對年齡及性別加以調整)及BMI)；及

v) NAFLD嶺評分(ALT之血清量、HDL膽固醇、三酸甘油酯、血紅素A_{1c}、白血球計數及共同罹病率資料(及高血壓之存在))。

【0272】 在一些實施例中，成像生物標記物可用於評定肝脂肪變性之程度。舉例而言，成像生物標記物可包括(但不限於)：超音波檢查術、受控衰減參數(CAP)、經MRI估計之質子密度脂肪分數(MRI-estimated proton density fat fraction；MRI-PDFF)及磁共振光譜分析(MRS)。

【0273】 肝臟活檢體為用於診斷NASH之當前標準，然而，病理學家中的變化性限制了此類診斷方法之有效性。因此，脂肪肝進展抑制(Fatty Liver Inhibition of Progression；FLIP)演算法(包含組織學脂肪變性、活性及纖維化評分)可用於改良利用活檢體進行的NASH診斷之一致性。另外，多種非侵襲性生物標記物亦可適用於診斷及監測疾病。因此，在一些實施例中，發炎或纖維變性生物標記物可用於評定NASH之嚴重程度、選擇治療患者及/或監測疾病進展或治療反應。血液生物標記物可包括：

i) 細胞凋亡標記物，諸如CK18片段、總細胞角蛋白及sFAS；

ii) 發炎標記物，諸如CRP、TNF、IL-8及CXCL10；

iii) 脂質氧化產物，諸如11-HETE、9-HODE、13-HODE、12-側氧基-ODE、LA-13-HODE (oxNASHscore)、及11,12-diHETrE；

iv) 溶酶體酶，諸如組織蛋白酶D；及

v) 組合小組，諸如NASHTest (BioPredictive)及NASH診斷小組(包含糖尿病之存在、性別、BMI及三酸甘油酯之血清量、CK18片段及總CK18)。

【0274】 在一些實施例中，生物標記物及相關小組可適用於診斷纖維化及/或硬化之程度、選擇治療患者及/或監測疾病進展或治療反應。舉例而言，肝纖維化及肝硬化之非侵襲性測試包括(但不限於)：AST:ALT比率、AST:血小板比率指數、纖維化-4指數(年齡、AST、ALT及血小板計數)、NAFLD纖維化評分(年齡、BMI、空腹葡萄糖異常及/或糖尿病、AST ALT、血小板計數及白蛋白)、BARD評分(AST、ALT、BMI及糖尿病)。

【0275】 特定纖維化標記物及小組亦可適用，且包括(但不限於)：玻尿酸；PIIPNP；Pro-C3；TIMP1；層黏連蛋白；增強型肝纖維化(ELF)小組(PIINP、玻尿酸、TIMP1)；FibroTest (GGT、總膽紅素、α_2m、脂蛋白元AI及結合球蛋白)；及FibroMeter NAFLD (體重、凝血酶原指數、ALT、AST、鐵蛋白及空腹葡萄糖)。肝纖維化之成像生物標記物可包括(但不限於)：FibroScan (TE)、點剪切波彈性成像(pSWE) (亦稱為聲輻射力脈衝(ARFI))、2D-3D SWE、磁共振彈性成像(MRE)及多參數MRI。

【0276】 在一些實施例中，基因及基因體生物標記物可適用於評定NAFLD風險及嚴重程度，其包括評定多種SNP、無細胞ncRNA及

miRNA。已知基因及基因體生物標記物以及以上論述之血液生物標記物、小組、成像生物標記物及測試的綜述概述於VWS Wong等人, Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2018年8月;15(8):461-478；其內容以引用之方式併入本文中。

【0277】 在NASH患者中之一些實施例中，可在接受一或多種額外療法之患者中投與同工型特異性TGFβ1抑制劑，該等額外療法包括(但不限於)肌肉抑制素抑制劑，其一般可促進具有代謝症候群(包括NASH及NAFLD)之臨床表現的患者中之代謝調節。

【0278】 在一些實施例中，額外療法可為TGFβ3抑制劑。在一些實施例中，TGFβ3抑制劑為同工型特異性TGFβ3抑制劑。在一些實施例中，TGFβ3抑制劑為非背景依賴性或背景偏向性TGFβ3抑制劑。在一些實施例中，NASH患者具有TGFβ1陽性及TGFβ3陽性纖維變性組織。在一些實施例中，測定或已測定NASH患者對TGFβ1抑制劑療法起部分反應。

【0279】 在NASH患者中之一些實施例中，可在接受乙醯CoA羧酶抑制劑(ACCi) (例如，firsocostat(亦稱為GS-0976)或PF-05221304)之患者中投與同工型特異性TGFβ1抑制劑。可適用於與經改良之本文中所述之同工型特異性TGFβ1抑制劑組合的其他療法包括(但不限於)：GLP-1受體促效劑或類似物(例如，索馬魯肽(semaglutide))；法尼醇X受體(FXR)促效劑(例如，GS-9674；亦稱為Cilofexor)；ASK1抑制劑(例如，司隆色替(selonsertib))；奧貝膽酸；PPAR促效劑(例如，GFT505；亦稱為elafibranor)；硝唑尼特(nitazoxanide)；己酮糖激酶(KHK)抑制劑(例如，PF-06835919)；及/或二醯甘油鄰醯基轉移酶2 (DGAT2)抑制劑(例如，PF-06865571)。在一些實施例中，上述療法中之任何一或多者可用於與

本發明之同工型特異性TGFβ1抑制劑組合，舉例而言，同工型特異性TGFβ1抑制劑與FXR促效劑、ACC抑制劑及/或GLP-1類似物組合。

【0280】在一些實施例中，如藉由MRI-PDFF所量測，用單獨或與一或多種額外療法組合的同工型特異性TGFβ1抑制劑進行之治療會減少肝脂肪。在一些實施例中，肝脂肪減少至少20%，例如≥ 20%、≥ 25%、≥ 30%、≥ 35%、≥ 40%、≥ 45%或≥ 50%。在一些實施例中，用單獨或與一或多種額外療法組合的同工型特異性TGFβ1抑制劑進行之治療會使血清ALT及/或GGT減少至少20%，例如≥ 20%、≥ 25%、≥ 30%、≥ 35%、≥ 40%、≥ 45%或≥ 50%。在一些實施例中，用單獨或與一或多種額外療法組合的同工型特異性TGFβ1抑制劑進行之治療會減少膽汁酸合成。

【0281】在一些實施例中，NASH患者可能患有晚期肝纖維化(F3/F4期)。在一些實施例中，此類患者患有F3期晚期肝纖維化。在一些實施例中，此類患者患有F4期肝纖維化，其特徵在於肝硬化。在一些實施例中，NASH患者罹患或處於罹患肝細胞癌及/或食道靜脈曲張之風險下。

【0282】根據源於精性脂肪變性肝炎臨床研究網路病理學委員會(Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network Pathology Committee)的分類法的非酒精性脂肪肝病之纖維化分期提供如下：

纖維變性表現	纖維化分期
竇周或門靜脈周	1
輕度竇周纖維化(3區)	1A
中度竇周纖維化(3區)	1B
門靜脈/門靜脈周纖維化	1C
竇周及門靜脈/門靜脈周纖維化	2
橋接纖維化	3
肝硬化	4

【0283】為了實現對療法期間的多種組織學特徵進行評定且涵蓋整個NAFLD系列，NASH臨床研究網路(CRN)病理學委員會針對NASH中觀測到不同組織學特徵與根據病理學委員會之NASH診斷之間的相關性進行了一項徹底的單變量及多變量分析。結果為NASH活性(等級)及膠原蛋白沈積外加架構重塑(分期)之評分系統。定級系統，NASH活性評分(NAS)為三種組織學組分之未加權總和：脂肪變性(0-3)、小葉發炎(0-3)及氣脹變性(0-2)。其範圍為0至8。NAS包括可能可逆的活性損傷之特徵。另外，進一步研發出Brunt等人之纖維化分期系統。在NASH CRN系統中，1期之纖維化評分細分成纖細(1A)及緻密(1B)竇周纖維化，而1C期界定為未附隨竇周纖維化之門靜脈纖維化((Stål, World J Gastroenterol. 2015年10月 21; 21(39): 11077-11087所綜述，以引用之方式併入本文中)。

【0284】同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所提供之彼等抑制劑，可用於治療腎臟之纖維變性病狀，例如特徵為細胞外基質積聚之疾病(IgA腎病變、局部及區段性腎小球硬化、新月體性型絲球體腎炎(crescentic glomerulonephritis)、狼瘡性腎炎及糖尿病性腎病變)，其中已在腎小球及腎小管間質中觀測到明顯增加之TGFβ表現。儘管由TGFβ、纖維結合蛋白EDA+及PAI-1誘導的兩種基質組分之腎小球及腎小管間質沈積在具有基質積聚之所有疾病中明顯升高，但相關分析已顯示主要與TGFβ1同工型之密切關係。因此，同工型特異性TGFβ1抑制劑適用作其中TGFβ與細胞外基質之病理性積聚相關的一系列人類腎小球病症之治療劑。

【0285】在一些實施例中，腎臟之纖維變性病狀與慢性腎病(CKD)相關。CKD主要由高血壓或糖尿病造成且每年會奪去超過一百萬條生

命。CKD患者需要介於嚴格飲食與藥療範圍內的終身醫療照護以透析及移植。在一些實施例中，本文中所述之TGFβ1抑制劑療法可減少或延遲對滲析及/或移植之需求。在一些實施例中，此類療法可減少其他治療需求(例如，劑量、頻率)。在一些實施例中，可在接受一或多種額外療法之患者中投與同工型特異性TGFβ1抑制劑，該等額外療法包括(但不限於)肌肉抑制素抑制劑，其一般可促進患有CKD之患者中的代謝調節。

【0286】 可用本發明之TGFβ1抑制劑治療的纖維變性病狀包括涉及纖維化及/或慢性發炎之病狀。此類病狀可為神經肌肉病症，其包括(但不限於)杜氏肌營養不良(DMD)及其他遺傳病症，諸如多發性硬化(MS)及囊腫性纖維化(CF)。經由ECM締合之及免疫細胞締合之TGFβ1臂兩者之抑制，認為TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之彼等抑制劑會抑制纖維變性進展且恢復M1/M2巨噬細胞極化。

【0287】 適用於研究CKD及腎纖維化之模型包括(但不限於)NZB/W、MRL/*lpr*及BXSB小鼠品系；抗GBM模型；抗Thy1模型；5/6腎切除、放射性腎病變、嘌呤黴素胺基核苷腎病(PAN)及阿德力黴素腎病變(adriamycin nephropathy)、葉酸腎病變、CyA腎病變、DOCA-鹽腎病變、HIV相關性腎病變(HIVAN)轉殖基因小鼠模型；自發性高血壓大鼠(SHR)；布法羅(Buffalo)/mna大鼠；慕尼黑維斯塔弗洛特(Munich Wistar Frömter；MWF)大鼠；單側輸尿管阻塞(**UUO**)、Col4A基因剔除小鼠(奧爾波特症候群)(參見Yang等人 Drug Discov Today Dis Models. 2010; 7(1-2): 13-19；其內容以引用之方式併入本文中)。

【0288】 可用本文所提供之方法治療的器官纖維化包括心臟(例如，心血管)纖維化。在一些實施例中，心臟纖維化與心臟衰竭，例如慢性心

臟衰竭(CHF)相關。在一些實施例中，心臟衰竭可能與心肌疾病及/或代謝疾病相關。在一些實施例中，可在接受一或多種額外療法之患者中投與同工型特異性TGFβ1抑制劑，該等額外療法包括(但不限於)患有涉及心臟纖維化及代謝病症之心臟功能障礙的患者中的肌肉抑制素抑制劑。

【0289】 適用於研究心臟纖維化之基因模型包括(但不限於)心肌細胞特異性FAK-KO小鼠、經遺傳修飾之SR-BI/apoE雙KO (dKO)小鼠、多配體蛋白聚糖-1剔除式小鼠、EC-SOD過度表現小鼠、PKC-δ基因剔除小鼠。適用於研究心臟纖維化之手術小鼠模型包括(但不限於)冠狀動脈結紮、缺血再灌注模型(開放及閉合胸腔)、慢性局部缺血模型、伴隨缺血性預適應之局部缺血再灌注模型、Langendorff模型、橫向主動脈縮窄(TAC)、升主動脈縮窄、腹主動脈縮窄、肺動脈狹窄術、伴隨遠端左前冠狀動脈結紮之TAC、主動脈腔靜脈瘺(aortocaval fistula；ACF)模型及主動脈功能不全模型(參見Rai等人, Mol Cell Biochem. 2017 Jan; 424(1-2): 123-145；其內容以引用之方式併入本文中)。

【0290】 在一些實施例中，可用本文所述之組合物及/或方法治療之纖維變性病狀包括結締組織增生。結締組織增生可發生在贅瘤周圍，引起腫瘤周圍緻密纖維化(例如，結締組織增生性基質)或腹部手術之後腹內有疤痕組織。在一些實施例中，結締組織增生與惡性腫瘤相關。歸因於其圍繞惡性疾病之緻密形成，習知抗癌療法(例如，化學療法)可能不會有效地滲透而達至針對臨床作用之癌細胞。同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之彼等抑制劑，可用於破壞結締組織增生，使得纖維變性形成物可得以鬆散以輔助抗癌療法之作用。在一些實施例中，同工型特異性TGFβ1抑制劑可用作單一療法(詳情見下文)。

【0291】 在一些實施例中，患者患有纖維變性實體腫瘤(例如，結締組織增生)且自或已自手術候選池排除，使得纖維變性實體腫瘤視為不可切除或不可手術。此類患者可為接受本發明之TGFβ1抑制療法的候選者。本發明之TGFβ1抑制劑可使腫瘤在投藥之後變得可切除或可手術，以使得患者可變成手術切除術之候選者。

【0292】 為了治療患有纖維變性病狀之患者，以有效治療纖維化之量向個體投與同工型特異性TGFβ1抑制劑。此類抗體之有效量為在個體中有效地達成治療功效及臨床安全性兩者的量。在一些實施例中，抑制劑為可阻斷定位(例如繫)於ECM中的經LTBP介導之TGFβ1，及定位於免疫細胞中(例如繫於其上)之經GARP介導之TGFβ1的活化的抗體。在一些實施例中，抗體為可阻斷定位於ECM中的經LTBP介導之TGFβ1，及定位於單核球/巨噬細胞中(例如繫於其上)之經LRRC33介導之TGFβ1的活化的抗體。在一些實施例中，LTBP為LTBP1及/或LTBP3。在一些實施例中，靶向及抑制纖維變性微環境中的促纖維變性類M2巨噬細胞上的由LRRC33呈遞之TGFβ1可為有益的。

【0293】 適用於針對纖維化之變化測定本發明之抗體及/或組合物之功效的分析包括(但不限於)此項技術中已知的用於對纖維母細胞進行計數之組織學分析及基礎免疫組織化學分析。

【0294】 在一些實施例中，循環LAP片段可用作纖維生成之血清標記物。參見例如美國專利8,198,412，其內容以引用之方式併入本文中。

涉及ECM調節異常之疾病

【0295】 細胞外基質為圍繞細胞且主要由蛋白聚糖及纖維變性蛋白質構成的經細胞分泌之網路，其中膠原蛋白為最豐富的。本文所揭示之新

穎抗體可用於治療與細胞外基質調節異常相關之疾病。與細胞外基質調節異常相關之疾病通常為經肌纖維母細胞驅動之病變，且包括癌症、纖維化及心血管疾病(例如以下中所綜述：Lampi及Reinhart-King (2018)「Targeting extracellular matrix stiffness to attenuate disease: From molecular mechanisms to clinical trials」 Sci Tarnsl Med 10(422): eaao0475)。纖維變性病狀之進展涉及沈積至ECM中之基質組分量增加及/或ECM之維持/重塑。TGFβ1至少部分地促成此過程。此例如藉由觀測到諸如膠原蛋白之ECM組分的沈積之增加可改變ECM之物理機械特性(例如，基質/受質之僵硬)所支持，且此現象係與TGFβ1信號傳遞相關。TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑可用於阻斷此過程以對抗涉及諸如纖維化、腫瘤生長、侵襲、癌轉移及結締組織增生之ECM變化的疾病進展。此類抑制劑之LTBP臂可直接阻斷由LTBP1及/或LTBP3呈遞的ECM締合之proTGFβ/潛伏TGFβ複合物，藉此阻止生長因子自疾病生態棲位處之複合物活化/釋放。在一些實施例中，同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑可標準化ECM僵硬以治療涉及整合素依賴性信號傳遞之疾病。在一些實施例中，整合素包含α11鏈、β1鏈或兩者。

【0296】因此，可以有效治療疾病之量向診斷患有伴隨細胞外基質調節異常之疾病的個體投與該抗體。抗體之治療有效量可為足以減少肌纖維母細胞之一或多種標記物，諸如α-SMA之表現的量。該量可為足以減少受影響組織(例如，纖維變性組織)之細胞外基質之僵硬的量。該量可為足以減少TGFβ1下游效應子，諸如SMAD2及/或SMAD3之磷酸化的量。

涉及內皮-間葉轉化(EndMT)之疾病

【0297】同樣，TGFβ亦為諸如心臟形成之正常發育中觀測到的內

皮-間葉轉化(EndMT)之主要調節因子。然而，相同或類似現象亦見於多種疾病，諸如癌症基質中。在一些疾病過程中，諸如CD31之內皮標記物在TGFβ1暴露後變得下調，且替代地，諸如FSP-1、α-SMA及纖維結合蛋白之間葉標記物之表現變得受到誘導。實際上，基質CAF可源自血管內皮細胞。因此，可使用同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑來治療由EndMT引發或由其驅動之疾病。

涉及上皮-間葉轉化(EMT)之疾病

【0298】 上皮-間葉轉化(EMT)為以下方法，藉由該方法具有緊密連接(tight junction)之上皮細胞轉換呈間葉細胞特性(表型)，諸如疏鬆細胞-細胞接觸。該過程會在多種正常生物過程以及病理性情況，包括胚胎發生、創傷癒合、癌轉移及纖維化中觀測到(綜述於例如Shiga等人 (2015)「Cancer-Associated Fibroblasts: Their Characteristics and Their Roles in Tumor Growth.」 Cancers, 7: 2443-2458中)。通常，咸信EMT信號主要由TGFβ誘導。

【0299】 亦已提出上皮細胞藉由在若干纖維變性組織，諸如腎臟、肺臟中及在肝臟中經歷EMT過程而產生肌纖維母細胞。當上皮細胞喪失其立方形，喪失黏附及緊密連接蛋白之表現時，進行EMT，其引起細胞-細胞接觸較弱及其肌動蛋白細胞骨架重組；儘管細胞獲得間葉蛋白(纖維結合蛋白、波形蛋白N-鈣黏素)之表現，但其採納有利於細胞遷移及侵襲之類纖維母細胞架構。EMT係由多種生長因子誘導，其中TGFβ為極有效誘導因子，其調節已知為EMT-TF之若干轉錄因子(Snail1/Snail、Snail2/Slug、ZEB1、ZEB2、Twist1/Twist等)之表現及活性，該等轉錄因子為執行細胞分化變化(亦即EMT)之負責角色。在纖維化之情形下，用於

在EMT之後鑑別間葉細胞之產生的基因及蛋白質標記物為FSP1 (纖維母細胞特異性蛋白1)、α-SMA及膠原蛋白I以及波形蛋白及結蛋白，其表現增加，伴隨上皮標記物(E-鈣黏素及某些細胞角蛋白)之表現量降低。共表現上皮及間葉標記物之細胞代表EMT之中間期(例如由以下所綜述：Caja等人 Int. J. Mol. Sci. 2018, 19(5), 1294)。

【0300】 舉例而言，多種類型之癌症呈現涉及細胞朝向間葉表型(諸如CAF)之轉分化，其與較不良預後相關。因此，可使用同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑來治療由EMT引發或由其驅動之疾病。實際上，本文中(例如，圖12及圖13)所例示之資料顯示，此類抑制劑具有活體內抑制CAF標記物，諸如α-SMA、I型膠原蛋白(Col1)及纖維結合蛋白(FN)之表現的能力。

涉及蛋白酶之疾病

【0301】 TGFβ自其潛伏複合物活化可藉由整合素以力依賴性方式觸發及/或藉由蛋白酶觸發。有證據表明，某些類別之蛋白酶可涉及該過程，其包括(但不限於)Ser/Thr蛋白酶，諸如激肽釋放酶、胰凝乳蛋白酶、彈性蛋白酶、纖維蛋白溶酶以及ADAM家族之鋅金屬蛋白酶(諸如ADAM 10及ADAM 17)以及MMP家族之鋅金屬蛋白酶(諸如MMP-2、MMP-9及MMP-13)。MMP-2降解基底膜之最豐富組分，膠原蛋白IV，提高可在ECM締合之TGFβ1調節中起一定作用的可能性。MMP-9已涉及在腫瘤進展、血管生成、基質重塑及癌轉移中起主要作用。因此，ECM中的TGFβ1之蛋白酶依賴性活化對於治療癌症可為至關重要的。

【0302】 激肽釋放酶(KLK)為類胰蛋白酶或類胰凝乳蛋白酶絲胺酸蛋白酶，其包括血漿激肽釋放酶及組織激肽釋放酶。ECM在組織內穩定

中起一定作用，充當抑制惡性生長之結構性及信號傳遞架構及障壁。KLK可在降解ECM蛋白及可促進腫瘤擴增及侵襲之其他組分中起一定作用。舉例而言，KLK1在某些乳癌中高度上調且可活化前MMP-2及前MMP-9。KLK2活化潛伏TGFβ1，使得鄰近於纖維母細胞之前列腺癌容許癌症生長。KLK3已作為前列腺癌(PSA)之診斷標記物得到普遍研究。KLK3可藉由將纖維蛋白溶酶原加工成以蛋白分解方式裂解LAP之纖維蛋白溶酶來直接活化TGFβ1。KLK6可為阿茲海默氏病之潛在標記物。

【0303】 諸如纖維蛋白溶酶、TSP-1及αVβ6整合素的TGFβ1之已知活化劑均與LAP直接相互作用。假定LAP之蛋白水解裂解可使LAP-TGFβ相互作用不穩定，藉此釋放活性TGFβ1。已表明，含有54-LSKLRL-59之區域對於維持TGFβ1潛伏至關重要。因此，穩定相互作用或阻斷LAP之蛋白水解裂解的藥劑(例如，抗體)可防止TGFβ活化。

【0304】 與病理性病狀(例如，癌症)相關之多種此等蛋白酶中經由不同作用機制起作用。因此，特定蛋白酶或蛋白酶之組合之靶向抑制可為涉及蛋白酶-TGFβ軸之病狀的治療提供治療益處。因此，預期選擇性地抑制TGFβ1之經蛋白酶誘導之活化的抑制劑(例如，TGFβ1抗體)在此類疾病(例如，纖維化及癌症)之治療中可為有利的。同樣，相對於另一蛋白酶藉由一種蛋白酶選擇性抑制TGFβ1活化亦可為較佳的，其視所治療之病狀而定。

【0305】 纖維蛋白溶酶為經產生呈稱作纖維蛋白溶酶原之前驅體形式的絲胺酸蛋白酶。釋放後，纖維蛋白溶酶進入循環且因此會在血清中偵測到。升高之纖維蛋白溶酶量呈現與癌症進展相關，可能經由涉及促進腫瘤細胞活動力、侵襲及癌轉移的細胞外基質(例如，基底膜及基質障壁)之

中斷的機制。纖維蛋白溶酶亦可影響黏附、增殖、細胞凋亡、癌症營養、供氧、血管形成及VEGF之活化(Didiasova等人, *Int. J. Mol. Sci*, 2014, 15, 21229-21252)。此外，纖維蛋白溶酶可促進巨噬細胞遷移至腫瘤微環境中(Philips等人, ***Cancer Res.*** 2011年11月1日;71(21):6676-83及Choong等人, *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2003, *415S*, S46-S58)。實際上，經由其促進腫瘤生長、侵襲、癌轉移及血管生成之能力，腫瘤相關巨噬細胞(TAM)為腫瘤形成之經充分表徵之驅動子。

【0306】 纖維蛋白溶酶活性主要與ECM之中斷相關。然而，愈來愈多之證據表明纖維蛋白溶酶亦調節下游MMP及TGFβ活化。具體言之，已表明纖維蛋白溶酶會經由源自TGFβ基因產物之N端區的潛伏相關肽(Latency Associated Peptide；LAP)之蛋白水解裂解來引起TGFβ活化(Horiguchi等人, *J Biochem.* 2012年10月; 152(4):321-9)，引起活性生長因子釋放。由於TGFβ1可促進癌症進展，因此此會提高TGFb之經纖維蛋白溶酶誘導之活化可至少部分地介導此過程的可能性。

【0307】 亦顯示TGFβ1調節uPA之表現，該uPA為纖維蛋白溶酶原轉化成纖維蛋白溶酶中的關鍵參與者(Santibanez, Juan F., *ISRN Dermatology*, 2013: 597927)。已獨立地顯示uPA藉由結合至其細胞表面受體(uPAR)且促進纖維蛋白溶酶原轉化成纖維蛋白溶酶來促進癌症進展(例如，黏附、增殖及遷移)。另外，研究顯示，uPA及/或纖維蛋白溶酶原活化劑抑制劑-1 (PAI-1)之表現為結腸直腸癌(D. Q. Seetoo等人, *Journal of Surgical Oncology*, 第82卷, 第3期, 第184-193頁, 2003)、乳癌(N. Harbeck等人, *Clinical Breast Cancer*, 第5卷, 第5期, 第348-352頁, 2004)及皮膚癌(Santibanez, Juan F., *ISRN Dermatology*, 2013: 597927)中之不

良預後之預測物。因此，在不希望受特定理論束縛之情況下，纖維蛋白溶酶、TGFβ1及uPA之間的相互作用可形成針對促進癌症進展之正反饋迴路。因此，選擇性地抑制纖維蛋白溶酶依賴性TGFβ1活化的抑制劑可尤其適用於治療依賴纖維蛋白溶酶/TGFβ1信號傳遞軸之癌症。

【0308】在本發明之一個態樣中，本文中所述之同工型特異性TGFβ1抑制劑包括可抑制TGFβ1之蛋白酶依賴性活化的抑制劑。在一些實施例中，抑制劑可以非整合素依賴性方式抑制蛋白酶依賴性TGFβ1活化。在一些實施例中，此類抑制劑可無關於活化模式抑制TGFβ1活化，例如抑制TGFβ1之整合素依賴性活化及蛋白酶依賴性活化兩者。在一些實施例中，蛋白酶係選自由以下組成之群：絲胺酸蛋白酶，諸如激肽釋放酶、胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶、彈性蛋白酶、纖維蛋白溶酶以及鋅金屬蛋白酶(MMP家族) (諸如MMP-2、MMP-9及MMP-13)。

【0309】在一些實施例中，抑制劑可抑制TGFβ1之經纖維蛋白溶酶誘導之活化。在一些實施例中，抑制劑可抑制經纖維蛋白溶酶及經整合素誘導之TGFβ1活化。在一些實施例中，抑制劑為特異性結合TGFβ1之單株抗體。在一些實施例中，抗體為特異性結合proTGFβ1之單株抗體。在一些實施例中，抗體結合潛伏proTGFβ1，藉此抑制成熟生長因子自潛伏複合物釋放。在一些實施例中，適用於抑制TGFβ1之纖維蛋白溶酶依賴性活化之方法中的TGFβ1活化之抑制劑本文所揭示之同工型特異性抑制劑中之任一者。

【0310】在一些實施例中，抑制劑(例如，TGFβ1抗體)抑制癌細胞遷移。在一些實施例中，抑制劑抑制單核球/巨噬細胞遷移。在一些實施例中，抑制劑抑制TAM積聚。

【0311】 在另一態樣中，本文提供一種治療有需要之個體中的癌症之方法，該方法包含向個體投與有效量之TGFβ1抑制劑(例如，TGFβ1抗體)，其中該抑制劑抑制TGFβ1之經蛋白酶(例如，纖維蛋白溶酶)誘導之活化，藉此治療個體中之癌症。

【0312】 在另一態樣中，本文提供一種降低有需要之個體中的腫瘤生長之方法，該方法包含向個體投與有效量之TGFβ1抑制劑(例如，TGFβ1抗體)，其中該抑制劑抑制TGFβ1之經蛋白酶(例如，纖維蛋白溶酶)誘導之活化，藉此降低個體中之腫瘤生長。

涉及異常基因表現之疾病

【0313】 已觀測到，多種疾病病狀中的TGFβ1信號轉導路徑之異常活化係與多個標記物之變化的基因表現相關。此等基因表現標記物(例如，如藉由mRNA所量測)包括(但不限於)：絲胺酸蛋白酶抑制劑E1 (Serpine 1)（編碼PAI-1)、MCP-1(亦稱為CCL2)、Col1a1、Col3a1、FN1、TGFβ1、CTGF、ACTA2(編碼α-SMA)、SNAI1（藉由下調E-鈣黏素(Cdh1)驅動纖維化及癌轉移中的EMT)、MMP2（與EMT相關之基質金屬蛋白酶)、MMP9（與EMT相關之基質金屬蛋白酶)、TIMP1（與EMT相關之基質金屬蛋白酶)、FOXP3（Treg誘導之標記物)、CDH1（經TGFβ下調之E鈣黏素(上皮細胞之標記物))及CDH2（經TGFβ上調之N鈣黏素(間葉細胞之標記物))。引起關注地是，多種此等基因涉及在各類疾病病狀，包括各種類型之器官纖維化，以及在包括骨髓纖維化之多種癌症中起一定作用。實際上，已表明纖維變性病狀及異常細胞增殖、腫瘤發生及癌轉移之間的病理生理學聯繫。參見例如Cox及Erler (2014) Clinical Cancer Research 20(14): 3637-43 「Molecular pathways: connecting fibrosis

and solid tumor metastasis」; Shiga等人 (2015) Cancers 7:2443-2458「Cancer-associated fibroblasts: their characteristics and their roles in tumor growth」; Wynn及Barron (2010) Semin. Liver Dis. 30(3): 245-257「Macrophages: master regulators of inflammation and fibrosis」, 該等文獻之內容以引用之方式併入本文中。在不希望受特定理論束縛之情況下，本發明之發明人預期TGFβ1信號傳遞路徑實際上可為此等廣泛病變之間的關鍵環節。

【0314】 趨化性細胞介素(或趨化細胞素)介導白血球(例如，單核球/巨噬細胞)募集至受傷或疾病組織的能力在疾病進展中具有至關重要後果。此過程涉及C-C趨化細胞素家族之成員，諸如單核球化學引誘劑蛋白1 (MCP-1) (亦稱為CCL2)、巨噬細胞發炎蛋白1-α (MIP-1α) (亦稱為CCL3)及MIP-1β (亦稱為CCL4)。

【0315】 舉例而言，認為MCP-1/CCL2在纖維化及癌症兩者中起一定作用。MCP-1/CCL2表徵為促纖維變性趨化細胞素且為單核球化學引誘劑，且有證據表明其可能涉及癌症之開始及進展。在纖維化中，已顯示MCP-1/CCL2在纖維化之發炎階段中起重要作用。舉例而言，MCP-1之中和引起腎小球新月體形成及I型膠原蛋白之沈積顯著降低。同樣，顯示使用抗MCP-1或抗MIP-1α抗體之被動免疫療法顯著減少經博萊黴素攻擊之小鼠中的單核吞噬細胞積聚，表明MIP-1α及MCP-1在肺發炎反應期間促成白血球之募集(Smith, Biol Signals. 1996 年7月至8月;5(4):223-31,「Chemotactic cytokines mediate leukocyte recruitment in fibrotic lung disease」)。已報導患有囊腫性纖維化及多發性骨髓瘤之患者中的MIP-1α量升高(參見例如：Mrugacz等人, J Interferon Cytokine Res. 2007年6

月;27(6):491-5)，支持了MIP-1α與局部或全身性發炎反應相關的觀點。

【0316】一系列證據指出腫瘤進展中涉及C-C趨化細胞素。舉例而言，腫瘤衍生MCP-1/CCL2可在巨噬細胞中促進「促癌」表型。舉例而言，在肺癌中，已顯示MCP-1/CCL2由基質細胞產生且促進癌轉移。在人類胰臟癌中，腫瘤分泌CCL2，且免疫抑制CCR2陽性巨噬細胞浸潤此等腫瘤。展現高CCL2表現/低CD8 T細胞浸潤物的患有腫瘤之患者具有明顯降低之存活期。在不希望受特定理論束縛之情況下，預期募集至受傷或患病組織環境的單核球可隨後對局部線索起反應(諸如對腫瘤衍生細胞介素起反應)變得極化，藉此進一步促成疾病進展。此等類M2巨噬細胞有可能藉由抑制效應細胞，諸如CD4+及CD8+ T細胞促成免疫逃避。在一些實施例中，此過程由活化巨噬細胞所表現之LRRC33-TGFβ1部分介導。在一些實施例中，此過程由Treg所表現之GARP-TGFβ1部分介導。

【0317】同樣，PAI-1/絲胺酸蛋白酶抑制劑E1之參與已涉及多種癌症、血管生成、發炎、神經退化性疾病(例如，阿茲海默氏病)。在多種癌症，諸如乳癌及膀胱癌(例如，移行細胞癌)以及骨髓纖維化中，腫瘤及/或血清中之升高的PAI-1表現與不良預後(例如，較短存活期、增加之癌轉移)相關。在纖維變性病狀之情形下，PAI-1已被公認為經TGFβ1誘發之纖維化的重要下游效應子，且已在多種形式之組織纖維化，包括肺纖維化(諸如特發性肺纖維化(IPF))、腎纖維化、肝纖維化及硬皮病中觀測到增加之PAI-1表現。在一些實施例中，此過程例如經由LTBP1及/或LTBP3，由ECM締合之TGFβ1部分介導。

【0318】在一些實施例中，TGFβ1抑制劑療法之活體內作用可藉由量測基因標記物之變化來評定。適合標記物包括TGFβ 例如，TGFβ1、

TGFβ2及TGFβ3)。適合的標記物亦可包括一或多種TGFβ (例如，TGFβ1、TGFβ2及TGFβ3)之呈遞分子，諸如LTBP1、LTBP3、GARP (或LRRC32)及LRRC33。在一些實施例中，適合標記物包括間葉轉化基因(例如，纖維結合蛋白、波形蛋白、N-鈣黏素、AXL、ROR2、WNT5A、LOXL2、TWIST2、TAGLN及/或FAP)、免疫抑制基因(例如，IL10、VEGFA、VEGFC)、單核球及巨噬細胞趨化性基因(例如，CCL2、CCL3、CCL4、CCL7、CCL8及CCL13)及/或本文所論述之多種纖維變性標記物。較佳標記物為血漿標記物。

【0319】如本文中之實例中所示，本文中所述之同工型特異性TGFβ1抑制劑可在機理性動物模型(諸如UUO)中降低多種此等標記物之表現量，已顯示其為TGFβ1依賴性的。因此，此類抑制劑可用於治療藉由基因表現標記物中之一或多者的異常表現(例如，過度表現/上調或表現不足/下調)表徵的疾病或病症。

【0320】因此，在一些實施例中，同工型特異性TGFβ1抑制劑用於治療與以下中之一或多者之過度表現相關的疾病：PAI-1 (由絲胺酸蛋白酶抑制劑E1編碼)、MMP2、MMP9、MCP-1 (亦稱為CCL2)、Col1a1、Col3a1、FN1、TGFβ1、CTGF、α-SMA、ITGA11及ACTA2，其中該治療包含以有效地治療該疾病之量向患有疾病之個體投與抑制劑。在一些實施例中，抑制劑用於治療與PAI-1、MCP-1/CCL2、CTGF及/或α-SMA之過度表現相關的疾病。在一些實施例中，疾病為骨髓纖維化。在一些實施例中，疾病為癌症，舉例而言，癌症包含實體腫瘤。在一些實施例中，疾病為器官纖維化，例如肝臟、腎臟、肺臟、肌肉、皮膚及/或心臟或心血管組織之纖維化。在一些實施例中，疾病為奧爾波特症候群。在一些實施

例中，抑制劑減少以下中之一或多者的表現：PAI-1(由絲胺酸蛋白酶抑制劑E1編　碼)、MMP2、MMP9、MCP-1　(亦　稱　為CCL2)、Col1a1、Col3a1、FN1、TGFβ1、CTGF、α-SMA、ITGA11及ACTA2。

【0321】可用於評定TGFβ1抑制劑療法之活體內作用之另一生物標記物為血尿素氮(BUN)。尿素作為蛋白質分解之副產物天然形成於體內。尿素自肝臟行進至腎臟，在該等腎臟中，其自血液過濾/移除。因此，在當患者之腎臟不正常起作用時之情況下，BUN量有所增加。舉例而言，患有腎纖維化之患者可顯示增加之BUN。因此，在一些實施例中，量測BUN以評定如本文所述之同工型特異性TGFβ1抑制劑之活體內作用。在其他實施例中，同工型特異性TGFβ1抑制劑用於治療與增加之BUN相關之疾病(例如，腎纖維化及/或急性或慢性腎病、損傷或衰竭)。在一特定實施例中，與增加之BUN相關之疾病為奧爾波特症候群。

【0322】因此，本發明包括一種選擇可能對TGFβ1抑制療法起反應之候選患者或患者群的方法。該方法可包含以下步驟：針對本文所論述之標記物中之一或多者的表現來測試自患者(或患者群)收集之生物樣本，諸如活檢體樣本。同樣，此類遺傳標記物可用於監測患者對療法之反應性的目的。監測可包括例如在投與療法之前及之後、在治療方案隨時間推移之過程期間測試自患者收集之兩個或更多個生物樣本，以評估標記物中之一或多者之基因表現量的變化，其指示治療反應或有效性。

【0323】在一些實施例中，選擇可能對TGFβ1抑制療法起反應的候選患者或患者群之方法可包含以下步驟：鑑別先前針對遺傳標記物，諸如本文中所述之遺傳標記物測試的顯示其異常表現的患者或患者群。在一些實施例中，異常標記物表現包括升高量之以下中之至少一者：TGFβ1、

LRRC33、GARP、LTBP1、LTBP3、CCL2、CCL3、PAI-1/絲胺酸蛋白酶抑制劑E1、MMP2、MMP9、Col1a1、Col3a1、FN1、CTGF、α-SMA、ITGA11及ACTA2。在一些實施例中，患者或患者群(例如，自其收集之生物樣本)顯示升高之TGFβ1活化、磷酸化Smad2/3或其組合。在一些實施例中，患者或患者群顯示升高之BUN。

【0324】 在一些實施例中，患者或患者群(例如，自其收集之生物樣本)顯示升高之MDSC。在一些實施例中，此類患者或患者群患有癌症，其可包含實體腫瘤。實體腫瘤可為TGFβ1顯性腫瘤，其中相對於其他同工型，TGFβ1為腫瘤中所表現之主要同工型。在一些實施例中，此類患者或患者群展現對癌症療法之抗性，諸如化學療法、放射療法及/或免疫檢查點療法，例如抗PD-1 (例如，派姆單抗及納武單抗)、抗PD-L1 (例如，阿特珠單抗)、抗CTLA4(例如，伊匹單抗)、經工程改造之免疫細胞療法(例如，CAR-T)及癌症疫苗等。根據本發明，同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文所揭示之抑制劑藉由解除免疫抑制阻斷以允許效應細胞進入癌細胞，藉此達成抗腫瘤作用來克服抗性。

增生性病症(例如，骨髓增生性病症)

【0325】 在一些實施例中，本文中所述之抗體可用於治療增生性病症。在一些實施例中，增生性病症為癌症或骨髓增生性病症。在一些實施例中，骨髓增生性病症為骨髓纖維化。

【0326】 骨髓纖維化，亦稱為骨性骨髓纖維化，為相對罕見的骨髓增生性病症(癌症)，其屬於稱作骨髓增生病之疾病類別。骨髓纖維化劃分在骨髓增生性贅瘤之費城染色體陰性分支中。骨髓纖維化之特徵在於純系骨髓增生、異常細胞介素產量、髓外造血及骨髓纖維化。骨髓及其他部位

處的造血幹細胞之異常純系之增殖引起纖維化或骨髓經疤痕組織替代。除非另外規定，否則術語骨髓纖維化係指原發性骨髓纖維化(PMF)。此亦可稱作慢性特發性骨髓纖維化(cIMF) (術語特發性及原發性意謂在此等情況下疾病具有未知或自發源)。此與繼發於真性多紅血球症或原發性血小板增多症形成的骨髓纖維化形成對比。骨髓纖維化為一種骨髓細胞化生之形式，其係指骨髓之造血組織中的細胞類型發生變化，且通常兩種術語以同義使用。術語原因不明性骨髓細胞化生及伴隨骨髓細胞化生之骨髓纖維化(MMM)亦用以指原發性骨髓纖維化。在一些實施例中，可根據本發明治療之血液科增生性病症包括骨髓增生病，諸如骨髓纖維化。所謂的BCR-ABL (Ph)陰性慢性骨髓增生病之「經典」類別包括原發性血小板增多症(ET)、真性多紅血球症(PV)及原發性骨髓纖維化(PMF)。

【0327】 骨髓纖維化干擾身體血細胞之正常產生。結果為骨髓中有大量疤痕，引起嚴重貧血、無力、疲勞且通常引起脾臟增大。藉由異常造血細胞純系(尤其藉由巨核細胞)產生諸如纖維母細胞生長因子之細胞介素會引起骨髓之造血組織經由膠原蛋白纖維化由結締組織替代。造血組織之減少會削弱患者產生新血細胞之能力，引起進行性全部血球減少症(所有血球類型不足)。然而，認為纖維母細胞之增殖及膠原蛋白之沈積為繼發性現象，且纖維母細胞本身可能並非異常細胞純系之一部分。

【0328】 骨髓纖維化可由骨髓中之異常血液幹細胞引起。異常幹細胞產生成熟及低分化細胞，其快速生長且接替骨髓，引起纖維化(疤痕組織形成)及慢性發炎。

【0329】 原發性骨髓纖維化係與傑納斯激酶2 (JAK2)、血小板生成素受體(MPL)及鈣網蛋白(CALR)之突變相關，其會引起骨髓之JAK-STAT

路徑的組成性活化、進行性疤痕或纖維化發生。患者可罹患髓外造血，亦即在除骨髓外之部位出現血球形成，因為造血細胞被迫轉移至其他區域，特定而言，肝臟及脾臟。此引起此等器官增大。在肝臟中，異常大小稱作肝腫大。脾臟增大稱作脾腫大，其亦有助於引起全部血球減少症，尤其血小板減少及貧血。髓外造血之另一併發症為異形紅血球症(poikilocytosis)或存在形狀異常之紅血球。

【0330】 骨髓纖維化中髓外造血的主要部位為脾臟，其在患有骨髓纖維化之患者中通常顯著增大。由於脾臟之大規模增大，在脾臟中通常會發生多囊下梗塞，其意謂歸因於對脾臟之供氧中斷，部分或整個組織發生死亡。關於細胞量，脾臟含有紅血球前驅體、粒細胞前驅體及巨核細胞，其中巨核細胞在其數目且在其異常形狀方面突出。巨核細胞可涉及引起此病狀中所見之繼發性纖維化。

【0331】 已表明，TGFβ可涉及骨髓纖維化之發病機制之纖維變性態樣中(參見例如Agarwal等人, 「Bone marrow fibrosis in primary myelofibrosis: pathogenic mechanisms and the role of TGFβ」 (2016) Stem Cell Investig 3:5)。原發性骨髓纖維化中之骨髓病理學之特徵在於纖維化、血管新生及骨硬化，且纖維化係與ECM中沈積的膠原蛋白之產量增加相關。

【0332】 已描述多種生物標記物，其改變指示疾病或與其相關。在一些實施例中，生物標記物為細胞標記物。此類疾病相關生物標記物適用於診斷及/或監測疾病進展以及療法之有效性(例如，患者對療法之反應性)。此等生物標記物包括多種纖維變性標記物以及細胞標記物。據報導，在肺癌中，舉例而言，相較於患有良性疾病之患者，患有肺癌之患者

中的支氣管肺泡灌洗(BAL)流體中之TGFβ1濃度明顯較高(約2+倍增加)，其亦可充當用於診斷及/或監測肺癌之進展或治療作用的生物標記物。

【0333】 由於原發性骨髓纖維化係與異常巨核細胞產生相關，因此巨核細胞以及其幹細胞譜系之祖細胞的某些細胞標記物可充當診斷及/或監測疾病進展以及療法之有效性的標記物。在一些實施例中，適用標記物包括(但不限於)：分化巨核細胞之細胞標記物(例如，CD41、CD42及TpoR)、巨核細胞-紅血球系祖細胞之細胞標記物(例如，CD34、CD38、及CD45RA-)、共同骨髓祖細胞之細胞標記物(例如，IL-3α/CD127、CD34、SCFR/c-kit及Flt-3/Flk-2)及造血幹細胞之細胞標記物(例如，CD34、CD38-、Flt-3/Flk-2)。在一些實施例中，適用生物標記物包括纖維變性標記物。此等包括(但不限於)：TGFβ1、PAI-1 (亦稱為絲胺酸蛋白酶抑制劑E1)、MCP-1 (亦稱為CCL2)、Col1a1、Col3a1、FN1、CTGF、α-SMA、ACTA2、Timp1、Mmp8及Mmp9。在一些實施例中，適用生物標記物為血清標記物(例如，血清樣本中存在及偵測到的蛋白質或片段)。

【0334】 基於TGFβ為白血病骨髓生態棲位之組分的發現，預期用TGFβ抑制劑靶向骨髓微環境可為減少表現呈遞分子之白血病細胞的有前景之方法，該等呈遞分子調節受影響組織中的局部TGFβ可獲得性。

【0335】 實際上，歸因於表現骨髓增殖性及纖維變性態樣(如術語「*骨髓纖維化*」本身所表明)中之TGFβ依賴性調節異常的病理學之多層面性質，靶向經基質及細胞締合之TGFβ1複合物的同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑可為患有骨髓纖維化之患者提供尤其有利之治療作用。預期此類抑制劑之LTBP臂可靶向骨髓中之ECM締合之TGFβ1複合物，而抑制劑之LRRC33臂可阻斷骨髓細胞締合之TGFβ1。此外，與

骨髓纖維化相關之異常巨核細胞生物學可涉及經GARP及經LTBP介導之TGFβ1活性。同工型特異性TGFβ1抑制劑能夠靶向此類複合物，藉此抑制生態棲位中活性TGFβ1之釋放。

【0336】 因此，此類TGFβ1抑制劑適用於治療患有真性多紅血球症之患者，其對諸如羥基尿素及JAK抑制劑之其他(或標準照護)治療反應不充分或不耐受。此類抑制劑亦適用於治療患有中度或高風險骨髓纖維化(MF)，包括原發性MF、真性多紅血球症後MF及原發性血小板增多症後MF的患者。

【0337】 因此，本發明之一態樣係關於用於治療原發性骨髓纖維化之方法。該方法包含向患有原發性骨髓纖維化之患者投與治療有效量之包含引起TGFβ可獲得性降低之TGFβ抑制劑的組合物。在一些實施例中，向患有骨髓纖維化之患者投與TGFβ1活化之抑制劑。此類抗體可以範圍在0.1與100 mg/kg之間，諸如在1與30 mg之間，例如1 mg/kg、3mg/kg、5mg/kg、10 mg/kg、15mg/kg、20mg/kg等的劑量投與。舉例而言，適合給藥方案包括在每週投與一次的1至20 mg/kg之間。醫藥組合物之較佳給藥途徑包含靜脈內或皮下投與抗體。當時靜脈內投與組合物時，每次治療可在適合持續時間內給與患者治療劑，例如大約30至120分鐘(例如，30分鐘、60分鐘、75分鐘、90分鐘及120分鐘)，且隨後每數週重複，例如3週、4週、6週等、持續總共數個週期，例如4個週期、6個週期、8個週期、10個週期、12個週期等。在一些實施例中，經由靜脈內投藥每28天(4週)用包含抑制性抗體之組合物以1至10 mg/kg(例如，每劑量1、2、3、4、5、6、7、8、9或10 mg/kg)之劑量治療患者持續6個週期或12個週期。在一些實施例中，以慢性(長期)療法(例如，無限期地持續，只要認

為有益即可)代替在固定週期之投藥之後中斷來投與此類治療。

【0338】 儘管骨髓纖維化視為一種白血病之類型，但其亦藉由纖維化之表現表徵。由於已知TGFβ調節ECM內穩定之態樣，其調節異常會引起組織纖維化，因此期望抑制與ECM相關之TGFβ活性。因此，本文中所述之抗體或片段抑制由LTBP (諸如LTBP1及LTBP3)呈遞之proTGFβ，且抑制由GARP及LRRC33呈遞之proTGFβ。

【0339】 早期活體內資料指示，同工型選擇性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑可用於在原發性骨髓纖維化之可轉譯鼠類模型中治療骨髓纖維化。不同於JAK2抑制劑之當前標準照護療法(其僅提供症狀緩解但不提供臨床或存活益處)，同工型選擇性TGFβ1抑制劑在患病小鼠之骨髓中達成顯著抗纖維變性作用，且亦可延長存活期，其支持了TGFβ1抑制劑可有效地治療人類患者中之骨髓增生病的觀點。

【0340】 可用本文中所述之組合物及方法治療的骨髓增生性贅瘤之適合患者群可包括(但不限於)：a) 呈費城(+)之患者群；b)呈費城(-)之患者群；c)歸類為「經典」(PV、ET及PMF)之患者群；d)攜帶突變JAK2V617F(+)之患者群；e)攜帶JAK2V617F (-)之患者群；f)具有JAK2外顯子12(+)之患者群；g)具有MPL(+)之患者群；及h)具有CALR(+)之患者群。

【0341】 在一些實施例中，患者群包括患有中度-2或高風險骨髓纖維化之患者。在一些實施例中，患者群包含患有難以用可用療法治療的骨髓纖維化或並非可用療法之候選者的個體。在一些實施例中，個體之血小板計數在100至200 × 10^9/L之間。在一些實施例中，在接受治療之前，個體之血小板計數> 200 × 10^9/L。

【0342】 在一些實施例中，接受同工型特異性TGFβ1抑制劑療法(及可自接受其受益)的個體診斷患有中度-1或更高原發性骨髓纖維化(PMF)或真性紅血球增多症/原發性血小板增多症後骨髓纖維化(PV/ET後MF)。在一些實施例中，個體在治療之前患有經記載之骨髓纖維化。在一些實施例中，在治療之前，個體患有如藉由歐洲共識定級評分(European consensus grading score)所評定，MF-2或更高MF及如藉由改進型鮑爾邁斯特評分(Bauermeister scale)所評定，3級或更高MF。在一些實施例中，在治療之前，個體之ECOG效能狀態為1。在一些實施例中，在治療之前，個體之白血球計數(10^9/L)介於5與120之間。在一些實施例中，個體之*JAK2V617F*對偶基因負荷介於10%至100%之間。

【0343】 在一些實施例中，接受同工型特異性TGFβ1抑制劑療法(及可自接受其受益)的個體呈輸血依賴性(治療之前)，其特徵在於針對與臨床上明顯出血不相關的低於8.5 g/dL之血色素量，該個體在最近一個月內有至少兩個單位之紅血球輸血史。

【0344】 在一些實施例中，接受同工型特異性TGFβ1抑制劑療法(及可自接受其受益)的個體先前已接受治療骨髓纖維化之療法。在一些實施例中，個體已用包括(但不限於)以下之療法中之一或多者治療：AZD1480、帕比諾他(panobinostat)、EPO、IFNα、羥基尿素、聚乙二醇化干擾素、沙立度胺(thalidomide)、強的松(prednisone)及JAK2抑制劑(例如，來他替尼(Lestaurtinib)、CEP-701)。

【0345】 在一些實施例中，患者患有髓外造血。在一些實施例中，髓外造血處於肝臟、肺臟、脾臟、及/或淋巴結處。在一些實施例中，本發明之醫藥組合物局部投與至疾病表現之定位部位中之一或多者。

【0346】以有效治療骨髓纖維化之量向患者投與同工型特異性TGFβ1抑制劑。治療有效量為足以緩解患者中的骨髓纖維化之一種或多種症狀及/或併發症的量，該等症狀及/或併發症包括(但不限於)：骨髓基質中之ECM過量沈積、血管新生、骨硬化、脾腫大、肝腫大、貧血、出血、骨痛及其他骨相關發病、髓外造血、血小板增多、白血球減少症、惡病質、感染、栓塞及死亡。

【0347】在一些實施例中，該量有效地減少患者中的(諸如巨核細胞之)TGFβ1表現及/或分泌。該抑制劑可因此減少所治療患者中的TGFβ1 mRNA量。在一些實施例中，該抑制劑減少骨髓中，諸如單核細胞中的TGFβ1 mRNA量。PMF患者通常顯示超過約2,500 pg/mL，例如超過3,000、3,500、4,000、4,500、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000及10,000 pg/mL (對比約600至2,000 pg/mL之正常範圍，如藉由ELISA所量測)之血漿TGFβ1量(參見例如Mascaremhas等人 (Leukemia & Lymphoma, 2014, 55(2): 450-452))。Zingariello ((Blood, 2013, 121(17): 3345-3363)對PMF患者及對照個體之血漿中的生物活性及總TGFβ1含量進行了定量。根據此參考文獻，PMF患者中的中值生物活性TGFβ1為43 ng/mL(介於4至218 ng/mL之間)且總TGFβ1為153 ng/mL (32至1000 ng/mL)，而在對照對應物中，值分別為18 (0.05至144)與52 (8至860)。因此，基於此等報告，相較於對照或健康血漿樣本，PMF患者中之血漿TGFβ1含量升高數倍，例如2倍、3倍、4倍、5倍等。本文中所述之用抑制劑進行之治療(例如按照4至12個週期之投藥(例如，2、4、6、8、10、12個週期)或慢性或長期治療，例如每4週，在0.1至100 mg/kg，例如1至30 mg/kg單株抗體之劑量下)可使血漿TGFβ1量相對於相應基線(治療前)減少至少10%，例如

至少15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%及50%。

【0348】 治療開始之後，例如1週、2週、3週、4週、5週或6週之後，可相對較快地觀測到治療作用中之一些。舉例而言，在1至8週內抑制劑可有效地增加用抑制劑治療之患者的骨髓中的幹細胞及/或前驅細胞之數目。此等包括造血幹細胞及血液前驅細胞。可進行骨髓活檢以評定骨髓細胞出現率/數目之變化。相應地，患者可顯示經改善之症狀，諸如骨痛及疲勞。

【0349】 骨髓纖維化之形態標誌中之一者為骨髓(例如，骨髓基質)中出現纖維化，其特徵部分在於存在異常ECM。在一些實施例中，量例如藉由間葉基質細胞有效地減少過量膠原蛋白沈積。在一些實施例中，相較於未接受治療之對照個體，抑制劑有效地減少所治療個體中之CD41陽性細胞，例如巨核細胞之數目。在一些實施例中，如用隨機選擇切片所測定，PMF骨髓中之巨核細胞之基線出現率可介於每平方毫米(mm^2) 200至700個細胞之間，且在PMF脾臟中，介於每平方毫米(mm^2) 40至300個巨核細胞之間。相比之下，正常供體之骨髓及脾臟中的巨核細胞出現率分別呈低於140個及低於10個。用抑制劑進行之治療可減少骨髓及/或脾臟中的巨核細胞之數目(例如，出現率)。在一些實施例中，用抑制劑進行之治療可引起減少量之下游效應子信號傳遞，諸如SMAD2/3之磷酸化。

【0350】 患有骨髓纖維化之患者可罹患脾臟增大。因此，可監測脾臟大小變化來評估治療劑之臨床作用。可藉由已知技術，諸如藉由觸診評定脾臟長度及/或藉由超音波評定脾臟體積來檢查脾臟大小。在一些實施例中，如藉由觸診所評定，用同工型特異性TGFβ1抑制劑治療之個體的基線脾臟長度(治療之前)為5 cm或更大，例如介於5與30 cm之間。在一些實

施例中，如藉由超音波所評定，用同工型特異性TGFβ1抑制劑治療之個體的基線脾臟體積(治療之前)為300 mL更大，例如介於300與1500 mL之間。本文中所述之用抑制劑進行之治療(例如按照4至12個週期之投藥(例如，2、4、6、8、10、12個週期)，例如每4週，在0.1至30 mg/kg單株抗體之劑量下)可減少個體中之脾臟大小。在一些實施例中，相對於相應基線值，有效量之抑制劑足以使接受抑制劑治療之患者群中的脾臟大小減小至少10%、20%、30%、35%、40%、50%及60%。舉例而言，在12至24週內，如藉由MRI或CT掃描所量測，相較於安慰劑對照，治療有效地達成脾臟體積自基線縮小≥35%。在一些實施例中，在24至48週內，如藉由MRI或CT掃描所量測，相較於最佳可用療法對照，治療有效地達成脾臟體積自基線縮小≥35%。最佳可用療法可包括羥基尿素、糖皮質激素以及無藥療、阿那格雷(anagrelide)、阿法依泊汀(epoetin alfa)、沙立度胺、來那度胺(lenalidomide)、巯基嘌呤、硫鳥嘌呤、達那唑(danazol)、聚乙二醇化干擾素α-2a、干擾素-α、美法侖(melphalan)、乙醯水楊酸、阿糖胞苷及秋水仙鹼。

【0351】 在一些實施例中，用同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑治療之患者群顯示如藉由例如骨髓纖維化研究及治療國際工作組(International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment；IWG-MRT)準則所評定的統計學上經改善之治療反應；治療(例如，4、6、8或12個週期)後，藉由改進型鮑爾邁斯特評分及歐洲共識定級系統量測的統計學上經改善之骨髓纖維化級別的變化程度；使用骨髓增生性腫瘤症狀評定表(Myeloproliferative Neoplasm Symptom Assessment Form；MPN-SAF)的統計學上經改善之症狀反應。

【0352】 在一些實施例中，用同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑進行之治療達成如藉由例如改進型骨髓纖維化症狀評定表(Myelofibrosis Symptom Assessment Form；MFSAF)所評定，統計學上經改善之治療反應，其中症狀係藉由MFSAF工具(諸如版本2.0)(採集骨髓纖維化之虛弱症狀(腹部不適、早飽腹感、左肋下疼痛、搔癢、盜汗及骨/肌肉痛)的daukt日記)，使用0至10之評分(其中0為無痛且10為最不能想像之疼痛)量測。在一些實施例中，治療有效地達成在例如12至24週內，總MFSAF評分自基線減小≥50%。在一些實施例中，相較於服用安慰劑之患者，大部分接受療法之患者的總症狀評分達成≥ 50%改善。舉例而言，達成≥ 50%改善的患者池之百分率可超過40%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%。

【0353】 在一些實施例中，抑制劑之治療有效量為如藉由貧血反應所評定，足以實現臨床改善之量。舉例而言，經改善之貧血反應可包括治療4至12個週期，例如6個週期之後，較長持續時間之非輸注依賴性，例如8週或較長。

【0354】 在一些實施例中，抑制劑之治療有效量為足以維持穩定疾病持續一定持續時間，例如6週、8週、12週、六個月等之量。在一些實施例中，可藉由總骨髓細胞含量之變化、網硬蛋白或膠原蛋白纖維化之量及/或*JAK2V617F*對偶基因負荷之變化來評估疾病之進展。

【0355】 在一些實施例中，相較於未接受治療之對照群，用同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑治療的患者群顯示統計學上經改善之存活期。舉例而言，在對照組中，PMF患者之中值存活期為大約六年(高風險患者中，呈大約16個月)，且預期低於20%之患者在診斷後

存活10年或更長。用同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑進行之治療可使存活時間延長至少6個月、12個月、18個月、24個月、30個月、36個月或48個月。在一些實施例中，相較於接受安慰劑之患者，治療在26週、52週、78週、104週、130週、144週或156週下有效達成經改善之總存活率。

【0356】療法之臨床益處，諸如上文例示之益處，可見於存在或不存在新發貧血中。

【0357】同工型特異性TGFβ1抑制劑之有利特徵中之一者為，相較於不具有選擇性之習知TGFβ拮抗劑，其維持同工型選擇性所實現之經改良之安全概況。因此，預期在此類事件之出現率及/或嚴重程度方面，與用習知TGFβ拮抗劑治療之相等患者群相比，用同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑進行之治療可減少患者群中之不良事件。因此，同工型特異性TGFβ1抑制劑可提供關於治療劑量及/或持續時間之較大治療窗。

【0358】不良事件可藉由此項技術中公認的適合方法，諸如通用不良事件術語準則(Common Terminology Criteria for Adverse Events；CTCAE)第4版。接受TGFβ拮抗劑，諸如GC1008的人類患者中的先前報導之不良事件包括：白血球增多症(3級)、疲勞(3級)、低氧(3級)、心收縮不全(5級)、白血球減少症(1級)、復發性短暫性嫩紅斑性、結節性皮膚病變、化膿性皮膚炎及帶狀疱疹。

【0359】在骨髓纖維化患者中，在例如貧血、血小板減少症、嗜中性白血球減少症、高膽固醇血症、升高之丙胺酸轉胺酶(ALT)、升高之天冬胺酸轉胺酶(AST)、淤血、眩暈及頭痛方面，相較於JAK抑制劑療法，

同工型特異性TGFβ1抑制劑療法可引起較不常見及/或較不嚴重不良事件(副作用)，由此提供安全治療選擇。

【0360】 預期TGFβ1信號傳遞之抑制劑可與用於治療骨髓纖維化之一或多種療法結合以組合療法形式使用。在一些實施例中，向患有骨髓纖維化，已接受JAK1抑制劑、JAK2抑制劑或JAK1/JAK2抑制劑之患者投與本文中所述之TGFβ1活化之抑制劑。在一些實施例中，此類患者對JAK1抑制劑、JAK2抑制劑或JAK1/JAK2抑制劑療法起反應，而在其他實施例中，此類患者對JAK1抑制劑、JAK2抑制劑或JAK1/JAK2抑制劑療法反應不佳或不起反應。在一些實施例中，使用本文中所述之同工型特異性TGFβ1抑制劑可使得對JAK1抑制劑、JAK2抑制劑或JAK1/JAK2抑制劑療法反應不佳或不起反應之彼等者較具反應。在一些實施例中，使用本文中所述之同工型特異性TGFβ1抑制劑可允許減少劑量之JAK1抑制劑、JAK2抑制劑或JAK1/JAK2抑制劑，其仍在患者中產生等效臨床功效，但產生較少或較小程度的藥物相關毒性或不良事件(諸如上文所列之彼等不良事件)。在一些實施例中，結合JAK1抑制劑、JAK2抑制劑或JAK1/JAK2抑制劑療法使用的用本文中所述之TGFβ1活化之抑制劑進行之治療可在患者中產生協同或附加治療作用。在一些實施例中，用本文中所述之TGFβ1活化之抑制劑進行之治療可增加為治療骨髓纖維化給與的JAK1抑制劑、JAK2抑制劑或JAK1/JAK2抑制劑或其他療法之益處。在一些實施例中，患者可額外接受治療劑以解決與骨髓纖維化相關之貧血。

TGFβ1陽性癌症：

【0361】 多種癌症涉及TGFβ1活性且可用本發明之抗體及/或組合物治療。如本文所用，術語「癌症」係指多種TGFβ1陽性惡性贅瘤中之任一

者，其特徵在於未分化細胞之增殖往往會侵襲周圍組織且轉移至新的身體部位，且指特徵在於此類惡性贅生性生長之病理性病狀。癌症可為局部(例如，實體腫瘤)或全身性的。在本發明之情形下，術語「局部」(如在「局部腫瘤」中)係指相較於全身性疾病(例如，所謂液體腫瘤或血癌)，解剖學上分離或可解剖學上分離之異常/病變，諸如實體惡性疾病。舉例而言，某些癌症，諸如某些白血病(例如，骨髓纖維化)及多發性骨髓瘤可具有針對疾病之局部組分(例如，骨髓)及全身性組分(例如，循環血細胞)。在一些實施例中，癌症可為全身性的，諸如血液惡性病。可根據本發明治療之癌症呈TGFβ1陽性且包括(但不限於)所有類型之淋巴瘤/白血病、癌瘤及肉瘤，諸如以下中存在的彼等癌症或腫瘤：肛門、膀胱、膽管、骨、腦、乳房、子宮頸、結腸/直腸、子宮內膜、食道、眼部、膽囊、頭頸部、肝臟、腎臟、喉、肺臟、縱隔(胸腔)、口腔、卵巢、胰臟、陰莖、前列腺、皮膚、小腸、胃、脊髓、尾骨、睾丸、甲狀腺及子宮。在癌症中，TGFβ (例如，TGFβ1)可呈生長促進性或生長抑制性。例如，在胰臟癌中，SMAD4野生型腫瘤可經歷反應於TGFβ之經抑制之生長，但隨著疾病進展，通常存在經組成性活化之第II型受體。另外，存在SMAD4剔除式胰臟癌。在一些實施例中，本發明之抗體、其抗原結合部分及/或組合物經設計以選擇性地靶向在一或多種癌症形式中起獨特作用的TGFβ信號傳遞路徑之組分。白血病或特徵在於白血細胞(亦即白血球)異常增殖的血液或骨髓癌症可劃分成四大類，包括急性淋巴母細胞白血病(ALL)、慢性淋巴球性白血病(CLL)、急性骨髓白血病或急性骨髓白血病(AML)(染色體10與染色體11之間出現易位[t(10, 11)]、染色體8與染色體21之間出現易位[t(8;21)]、染色體15與染色體17之間出現易位[t(15;17)]及染色

體16中出現倒位[inv(16)]的AML；伴隨多譜系發育不良之AML，其包括先前患有骨髓發育不良症候群(MDS)或骨髓增生性疾病，其轉變成AML之患者；療法相關AML及骨髓發育不良症候群(MDS)，該類別包括先前經歷化學療法及/或放射且之後發生AML或MDS之患者；d)未另外歸類之AML，其包括不屬於以上類別的AML之亞型；及e)不明確譜系之急性白血病，其在白血病細胞無法歸類為骨髓或淋巴細胞或兩種類型之細胞均存在時發生)；及慢性骨髓性白血病(CML)。

【0362】 本發明之同工型選擇性TGFβ1抑制劑可用於治療患有慢性骨髓白血病之患者，該慢性骨髓白血病為幹細胞疾病，其中BCR/ABL癌蛋白視為對贅生性細胞之異常生長及積聚必不可少的 伊馬替尼(imatinib)為治療此病狀之經批准之療法；然而，大部分骨髓白血病患者顯示伊馬替尼抗性。藉由抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑來達成之TGFβ1抑制可增強對抗經BCR/ABL驅動之贅生性細胞之異常生長及積聚的再殖/擴增，藉此提供臨床益處。

【0363】 同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑可用於治療多發性骨髓瘤。多發性骨髓瘤為在骨髓中產生且擴增的哦B淋巴球(例如，漿細胞、漿母細胞、記憶B細胞)之癌症，其引起破壞性骨病變(亦即，溶骨病變)。通常，該疾病表現經增強之破骨骨骼再吸收、抑制成骨細胞分化(例如，分化停滯)及異常骨形成，其部分特徵在於溶骨病變、骨質減少、骨質疏鬆症、高鈣血症以及漿細胞瘤、血小板減少、嗜中性白血球減少症及神經病變。本文中所述之TGFβ1選擇性抑制劑療法可有效地減輕患者中的一或多種此類臨床表現或症狀。可向接受一或多種治療多發性骨髓瘤之額外療法，包括本文中其他處列舉之療法的患者投與TGFβ1抑

制劑。在一些實施例中，多發性骨髓瘤可用TGFβ1抑制劑與肌肉抑制素抑制劑或IL-6抑制劑之組合治療。在一些實施例中，TGFβ1抑制劑可與傳統多發性骨髓瘤療法，諸如硼替佐米(bortezomib)、來那度胺、卡非佐米(carfilzomib)、泊利度胺(pomalidomide)、沙立度胺、小紅莓、皮質類固醇(例如，地塞米松(dexamethasone)及強的松)、化學療法(例如，美法侖)、放射療法、幹細胞移植、普替德新(plitidepsin)、埃羅妥珠單抗(Elotuzumab)、依薩佐米(Ixazomib)、馬賽替尼(Masitinib)及/或帕比諾他組合使用。

【0364】 可藉由本發明方法治療的癌瘤類型包括(但不限於)乳頭狀瘤/癌瘤、絨毛膜癌、內胚層竇瘤、畸胎瘤、腺瘤/腺癌、黑素瘤、纖維瘤、脂肪瘤、平滑肌瘤、橫紋肌瘤、間皮瘤、血管瘤、骨瘤、軟骨瘤、神經膠質瘤、淋巴瘤/白血病、鱗狀細胞癌、小細胞癌瘤、大細胞未分化癌瘤、基底細胞癌及鼻腔鼻竇未分化性瘤。

【0365】 肉瘤類型包括(但不限於)軟組織肉瘤，諸如軟組織肺泡狀肉瘤、血管肉瘤、皮膚纖維肉瘤、硬纖維瘤腫瘤、結締組織增生性小型圓形細胞腫瘤、骨外軟骨肉瘤、骨外骨肉瘤、纖維肉瘤、血管外皮瘤、血管肉瘤、卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)、平滑肌肉瘤、脂肪肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴肉瘤、惡性纖維組織細胞瘤、神經纖維肉瘤、橫紋肌肉瘤、滑膜肉瘤、及阿斯金腫瘤(Askin's tumor)、尤文氏肉瘤(Ewing's sarcoma)(原始神經外胚層瘤)、惡性血管內皮瘤、惡性神經鞘瘤、骨肉瘤及軟骨肉瘤。

【0366】 TGFβ1活化之同工型選擇性抑制劑,諸如本文中所述之抑制劑可適合於治療涉及神經脊源之細胞的惡性疾病。神經脊譜系癌症(亦

即，神經脊衍生腫瘤)包括(但不限於)：黑素瘤(黑色素細胞之癌症)、神經母細胞瘤(交感腎上腺前驅體之癌症)、神經節細胞瘤(周邊神經系統神經節之癌症)、甲狀腺髓樣癌(甲狀腺C細胞之癌症)、嗜鉻細胞瘤(腎上腺髓質之嗜鉻細胞之癌症)及MPNST(神經鞘細胞之癌症)。在一些實施例中，可用於治療一或多種類型之癌症或癌症相關病狀的本發明之抗體及方法可包括(但不限於)結腸癌、腎癌、乳癌、惡性黑素瘤及神經膠母細胞瘤(Schlingensiepen等人, 2008；Ouhtit等人, 2013)。

【0367】 儘管Treg在抑制健康個體中之免疫反應中起重要作用，但癌症中升高數目之Treg與不良預後相關。舉例而言，人類卵巢癌腹水經Foxp3+ GARP+ Treg浸潤(Downs-Canner等人, Nat Commun. 2017, 8: 14649)。同樣，Treg與晚期肝細胞癌中的較具免疫抑制及較具侵襲性之表型正相關(Kalathil等人, Cancer Res. 2013, 73(8): 2435-44)。Treg可抑制效應T細胞增殖。此外，Treg經由TGFβ1之產生施加免疫細胞(例如，初始CD4+ T細胞)之接觸依賴性抑制。因此，為了對抗腫瘤，抑制Treg為有利的，以使足夠效應T細胞可可用於發揮抗腫瘤活性。

【0368】 一系列增加之證據表明巨噬細胞在腫瘤/癌症進展中之作用。本發明涵蓋此由疾病環境，諸如TME中的TGFβ1活化部分介導的觀點。反應於腫瘤衍生之細胞介素/趨化細胞素(諸如CCL2、CCL3及CCL4)，骨髓衍生之單核球(例如，CD11b+)募集至腫瘤位點，其中單核球經歷分化及極化以獲得促癌表型(例如，M2偏向性TAM或類TAM細胞)。多種腫瘤中之大部分TAM為M2偏向的。在類M2巨噬細胞中，發現M2c及M2d亞型(並非M1)在細胞表面上表現升高之LRRC33。另外，巨噬細胞可藉由M-CSF暴露進一步偏斜或活化，引起LRRC33表現之顯著增

加，其與TGFβ1表現相一致。亦觀測到患有骨髓增生性疾病(例如，骨髓纖維化)之患者中之循環M-CSF (亦即，血清M-CSF濃度)增加。通常，具有高巨噬細胞(TAM)及/或MDSC浸潤物之腫瘤與不良預後相關。同樣，升高之M-CSF量亦指示不良預後。

【0369】 另一方面，巨噬細胞浸潤於腫瘤中亦可表示療法之有效性。如**圖17A至圖17B**及**圖18A至圖18B**中所例示，在用檢查點抑制劑及非背景依賴性(或背景偏向)TGFβ1抑制劑之組合進行治療之後，由效應T細胞(例如，CD8+ T細胞)有效滲透之腫瘤會引起清除細胞碎片之吞噬單核球/巨噬細胞募集。如自圖**17B**清楚可見，相較於單獨之抗PD-1治療，抗PD-1及TGFβ1抑制劑之組合引起穩健CD8 T細胞流入整個腫瘤中。同時，觀測到F4/80陽性巨噬細胞大量浸潤腫瘤(參見**圖18B**)。此可指示巨噬細胞清除由細胞毒性細胞產生之癌細胞碎片，且推測為TGFβ1抑制之直接結果。

【0370】 如上文所提及，TGFβ1活化之抑制劑可用於黑素瘤之治療中。可用此類抑制劑治療的黑素瘤之類型包括(但不限於)：惡性雀斑樣痣；惡性雀斑樣痣黑素瘤；淺表擴散性黑素瘤；肢端雀斑痣性黑素瘤；黏膜黑素瘤；結節性黑素瘤；息肉樣黑素瘤及結締組織增生性黑素瘤。在一些實施例中，黑素瘤為轉移性黑素瘤。

【0371】 近年來，免疫檢查點抑制劑已用於有效地治療晚期黑素瘤患者。詳言之，抗計劃性死亡(PD)-1抗體(例如，納武單抗及派姆單抗)現已變成某些類型之癌症，諸如晚期黑素瘤的標準照護療法，其已展示顯著活性及伴隨可管理之毒性概況的持久反應。然而，PD-1拮抗劑之有效臨床應用受到了高速先天性抗性(約60-70%)阻礙(參見Hugo等人(2016) Cell

165: 35-44)，展現出持續性挑戰仍在繼續，包括患者選擇問題及反應及抗性之預測物以及最佳化組合策略(Perrot等人 (2013) Ann Dermatol 25(2): 135-144)。另外，研究表明大約25%之起初對抗PD-1療法有反應的黑素瘤患者最終出現後天抗性(Ribas等人 (2016) JAMA 315: 1600-9)。

【0372】 表現PD-1及/或CTLA-4之腫瘤浸潤CD8+ T細胞之數目呈現為檢查點抑制成功之主要指示物，且PD-1及CTLA-4阻斷均可增加浸潤T細胞。然而，在伴隨較高腫瘤相關巨噬細胞存在量的患者中，CD8細胞之抗癌作用可能受到抑制。

【0373】 預期表現LRRC33之細胞，諸如骨髓細胞，包括骨髓前驅體、MDSC及TAM，可藉由抑制T細胞 (例如，T細胞耗竭)，諸如CD4及/或CD8 T細胞形成或支持免疫抑制環境(諸如TME及骨髓纖維變性骨髓)，該等T細胞可至少部分地強調某些患者群中的所觀測到之抗PD-1抗性。實際上，有證據表明對抗PD-1單一療法之抗性係藉由未能積聚CD8+細胞毒性T細胞及Teff/Treg比率縮小來標記。值得注意地，本發明人已認識到，在某些癌症患者，諸如黑素瘤患者群中在LRRC33表現量方面存在分叉：一個組展現高LRRC33表現($LRRC33^{高}$)，而另一組展現相對較低LRRC33表現($LRRC33^{1低}$)。因此，本發明包括以下觀點：$LRRC33^{高}$患者群可表示對免疫檢查點抑制劑療法反應不佳或對其具有抗性的患者群。因此抑制LRRC33之藥劑，諸如本文中所述之藥劑可尤其有益於治療對檢查點抑制劑療法(例如，抗PD-1)具有抗性的癌症，諸如黑素瘤、淋巴瘤及骨髓增生病。

【0374】 在一些實施例中，癌症/腫瘤對免疫檢查點抑制劑具有固有抗性或對其無反應。僅給出一個實例，某些淋巴瘤呈現對免疫檢查點抑

制，諸如抗PD-1療法反應不佳。同樣，已知一小類黑素瘤患者群顯示對免疫檢查點抑制劑之抗性。在不意欲受特定理論束縛之情況下，本發明之發明人預期此可至少部分地歸因於TGFβ1信號傳遞路徑之上調，其可形成其中檢查點抑制劑無法發揮其作用的免疫抑制微環境。TGFβ1抑制可使得此類癌症對檢查點抑制劑療法較具反應。可受益於免疫檢查點抑制劑及TGFβ1抑制劑之組合的癌症類型之非限制性實例包括：骨髓纖維化、黑素瘤、腎細胞癌、膀胱癌、結腸癌、血液科惡性疾病、非小細胞癌、非小細胞肺癌(NSCLC)、淋巴瘤(經典霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)及非霍奇金氏淋巴瘤)、頭頸癌、尿道上皮癌、具有高小型隨體不穩定性之癌症、具有錯配修復缺陷之癌症、胃癌、腎癌及肝細胞癌症。然而，如藉由例如活檢體所測定，其中TGFβ1過度表現或相對於TGFβ2/TGFβ3為顯性同工型的任何癌症(例如，患有該癌症之患者)可用根據本發明之同工型選擇性TGFβ1抑制劑治療。

【0375】 在一些實施例中，癌症/腫瘤隨時間推移變得有抗性。此現象稱為後天性抗性或應變性抗性。類似於固有抗性，在一些實施例中，後天性抗性至少部分地由TGFβ1依賴性路徑介導，本文中所述之同工型特異性TGFβ1抑制劑可在此等情況下有效修復抗癌免疫力。

【0376】 包含免疫檢查點抑制劑及靶向LRRC33-proTGFβ1複合物之同工型特異性TGFβ1抑制劑(諸如本文中所述之彼等抑制劑)的組合療法可有效治療該癌症。此外，腫瘤或其他具有異常細胞增殖之部位/組織中的高LRRC33陽性細胞浸潤物可充當宿主免疫抑制及免疫檢查點抗性之生物標記物。同樣，效應T細胞可自免疫抑制生態棲位受到阻止，該生態棲位限制人體對抗癌症之能力。另外，如下文實例章節中所示，表現經

GARP呈遞之TGFβ1的Treg抑制效應T細胞增殖。總之，TGFβ1可能為產生及維持免疫抑制性疾病微環境(諸如TME)的主要驅動子，且多種TGFβ1呈遞情形係與腫瘤相關。在一些實施例中，組合療法可達成較有利Teff/Treg比率。

【0377】在一些實施例中，如本文所述的特異性結合GARP-TGFβ1複合物、LTBP1-TGFβ1複合物、LTBP3-TGFβ1複合物及/或LRRC33-TGFβ1複合物之抗體或其抗原結合部分可用於治療有需要之個體之癌症的方法中，該方法包含向個體投與抗體或其抗原結合部分，以使得癌症得到治療。在某些實施例中，癌症為結腸癌。

【0378】在一些實施例中，如本文所述之抗體或其抗原結合部分可用於治療實體腫瘤之方法中。在一些實施例中，實體腫瘤可為結締組織增生腫瘤，其對於治療劑分子通常緻密且堅硬而無法滲透。藉由靶向此類腫瘤之ECM組分，此類抗體可「疏鬆」緻密腫瘤組織以發生崩解，促進治療劑進入以發揮其抗癌作用。因此，可組合使用額外療法，諸如任何已知的抗腫瘤藥物。

【0379】另外地或可替代地，能夠抑制TGFβ1活化之同工型特異性抗體或其片段，諸如本文所揭示之彼等抗體或其片段，可用於與作為基於細胞之免疫療法，諸如抗擊癌症之癌症免疫療法的嵌合抗原受體T細胞(「CAR-T」)技術結合使用。

【0380】在一些實施例中，如本文所述之抗體或其抗原結合部分可用於抑制或降低患有實體腫瘤之個體中的實體腫瘤生長的方法中，該方法包含向個體投與抗體或其抗原結合部分，以使得實體腫瘤生長得到抑制或降低。在某些實施例中，實體腫瘤為結腸癌腫瘤。在一些實施例中，適用

於治療癌症之抗體或其抗原結合部分為TGFβ1活化之同工型特異性抑制劑。

【0381】 本發明包括在治療個體中之癌症(包含實體腫瘤)中使用如本文所述之同工型特異性TGFβ1抑制劑。在一些實施例中，此類同工型特異性抑制劑可抑制TGFβ1之活化。在一些實施例中，實體腫瘤之特徵在於具有富含CD8+ T細胞之基質，使得直接接觸CAF及膠原蛋白纖維。此類腫瘤可形成免疫抑制環境，其防止抗腫瘤免疫細胞(例如，效應T細胞)有效地浸潤腫瘤，限制人體對抗癌症之能力。替代地，此類細胞可積聚在腫瘤基質內或接近於其。此等特徵可使得此類腫瘤對免疫檢查點抑制劑療法反應不佳。如在下文較詳細論述，本文所揭示之TGFβ1抑制劑可結合免疫檢查點抑制劑使用來解除抑制阻斷，以允許效應細胞達至且殺滅癌細胞。

【0382】 預期TGFβ1在腫瘤微環境中起多層面作用，包括腫瘤生長、宿主免疫抑制、惡性細胞增殖、血管分佈、血管生成、遷移、侵襲、癌轉移及化學抗性。環境中的TGFβ1呈遞之各「情形」可因此參與疾病進展之調節(或調節異常)。舉例而言，GARP軸在Treg反應中尤為重要，該Treg反應調節用於介導宿主免疫反應對抗癌細胞的效應T細胞反應。LTBP1/LTBP3軸可調節ECM，包括基質，在其中癌症相關纖維母細胞(CAF)在癌症之發病機制及進展中起一定作用。LRRC33軸可在循環單核球募集至腫瘤微環境、後續分化成腫瘤相關巨噬細胞(TAM)、浸潤於腫瘤組織中及疾病惡化中起至關重要作用。

【0383】 除了癌症(亦即，惡性)細胞外，腫瘤微環境(TME)含有表現TGFβ1之多種細胞類型，諸如活化肌纖維母細胞樣纖維母細胞、基質細胞、浸潤巨噬細胞、MDSC及其他免疫細胞。因此，TME表示表現TGFβ1

及/或對TGFβ1起反應但在生態棲位中與多於一種類型之呈遞分子，例如LTBP1、LTBP3、LRRC33及GARP締合之異質細胞群。

【0384】 近年來，提出稱作「免疫排除」之現象以描述藉由免疫抑制局部線索而自其遠離(因此「排除」)抗腫瘤效應T細胞(例如，CD8+ T細胞)之腫瘤環境，且認為TGFβ至少部分地介導此過程。在免疫排除腫瘤中，將另外能夠藉由識別細胞表面腫瘤抗原來攻擊癌細胞的效應細胞會阻止接近癌細胞之位點。以此方式，癌細胞避開宿主免疫力及利用且依賴於此類免疫力的免疫腫瘤學治療劑，諸如檢查點抑制劑。實際上，此類腫瘤顯示對檢查點抑制之抗性，諸如抗PD-1及抗PD-L1抗體，推測係因為目標T細胞被阻斷進入腫瘤，因此未能發揮抗癌作用。

【0385】 增加之證據表明TGFβ可為在疾病組織中產生及/或維持免疫抑制之主要參與者，包括免疫排除腫瘤環境。因此，TGFβ抑制可解除阻斷免疫抑制且使得效應T細胞(特定而言，細胞毒性CD8+ T細胞)能夠接近且殺死目標癌細胞。除了腫瘤浸潤之外，TGFβ抑制亦可促成CD8+ T細胞擴增。儘管強調此過程之確切機制尚待闡明，但預期免疫抑制係至少部分地由涉及調節T細胞及活化巨噬細胞的免疫細胞締合之TGFβ1活化介導。已報導，TGFβ直接促進CD4+ T細胞中的Foxp3表現，藉此將其轉化成調節表型(亦即，Treg)。另外，Treg抑制效應T細胞增殖(參見例如圖26)，藉此降低免疫反應。顯示此過程為TGFβ1依賴性的且有可能涉及GARP締合TGFβ1信號傳遞。人類及動物模型兩者中之觀測結果已表明，TME中Treg之增加係與多種類型之癌症中的不良預後相關。此外，申請者先前已顯示，暴露於諸如M-CSF之腫瘤衍生因子的M2極化巨噬細胞顯著地上調作為TGFβ1之呈遞分子的LRRC33之細胞表面表現(參見例如

PCT/US2018/031759)。此等所謂的腫瘤相關巨噬細胞(或TAM)被認為會促成TME中的所觀測到之TGFβ1依賴性免疫抑制且促進腫瘤生長。

【0386】 多種實體腫瘤之特徵在於具有富含肌纖維母細胞或肌纖維母細胞樣細胞之腫瘤基質。此等細胞產生包圍或包覆腫瘤(諸如結締組織增生)之膠原基質，其至少部分地可由過度活化TGFβ1信號傳遞引起。預期TGFβ1活化係在腫瘤基質中經由ECM締合之呈遞分子，例如LTBP1及LTBP3介導。

【0387】 在一些實施例中，表現TGFβ1之細胞浸潤腫瘤，產生免疫抑制局部環境。觀測到此類浸潤之程度可與較差預後相關。在一些實施例中，較高浸潤指示對另一癌症療法，諸如免疫檢查點抑制劑之較差治療反應。在一些實施例中，腫瘤微環境中表現TGFβ1之細胞包含Treg及/或骨髓細胞。在一些實施例中，骨髓細胞包括(但不限於)：巨噬細胞、單核球(組織駐留或骨髓衍生)及MDSC。

【0388】 在一些實施例中，TME中表現LRRC33之細胞為骨髓衍生之抑制細胞(MDSC)。MDSC浸潤(例如，實體腫瘤浸潤物)可藉由產生宿主之抗腫瘤免疫細胞變得排除在外之免疫抑制生態棲位來強調至少一種免疫逃避機制。有跡象表明，MDSC係藉由發炎相關信號，諸如腫瘤相關發炎因子移動，移動後，MDSC可藉由損害疾病對抗細胞，諸如CD8+ T細胞及NK細胞來影響免疫抑制作用。此外，MDSC可藉由分泌TGFβ及IL-10誘導Treg分化。因此，可向具有免疫逃避(例如，受損免疫監視)之患者投與同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之彼等抑制劑來恢復或增加人體對抗疾病(諸如腫瘤)之能力。如本文中較詳細地描述，此可進一步促進(例如，恢復或強化)人體對另一療法，諸如癌症療法之反應性或敏

感性。

【0389】在一些實施例中，患者中循環MDSC之出現(例如，數目)升高被預測對檢查點阻斷療法，諸如PD-1拮抗劑及PD-L1拮抗劑有較差反應性。舉例而言，生物標記物研究顯示，循環治療前HLA-DRlo/CD14+/CD11b+骨髓衍生之抑制細胞(MDSC)係與進展及較差OS相關(p = 0.0001及0.0009)。此外，發炎頭頸癌(HNC)中對PD-1檢查點阻斷之抗性與GM-CSF之表現及骨髓衍生抑制細胞(MDSC)標記物相關。此觀測結果表明，消耗MDSC之策略，諸如化學療法應考慮與抗PD-1組合或與抗PD-1依次進行。LRRC33或LRRC33-TGFβ複合物歸因於在免疫抑制骨髓細胞上之選擇性表現而代表癌症免疫療法之一種新穎目標。因此，在不意欲受特定理論束縛之情況下，靶向此複合物可提高標準照護檢查點抑制劑療法在患者群中之有效性。

【0390】本發明因此提供本文中所述之同工型特異性TGFβ1抑制劑用於治療包含實體腫瘤之癌症的用途。該治療包含以有效治療癌症之量向診斷患有包括至少一種局部腫瘤(實體腫瘤)之癌症之個體投與同工型特異性TGFβ1抑制劑。

【0391】有證據表明，癌症進展(例如，腫瘤增殖/生長、侵襲、血管生成及癌轉移)可至少部分地由腫瘤-基質相互作用驅動。詳言之，CAF可藉由分泌多種細胞介素及生長因子以及ECM重塑來促成此過程。參與該過程之因子包括(但不限於)基質-細胞衍生因子1 (SCD-1)、MMP2、MMP9、MMP3、MMP-13、TNF-α、TGFβ1、VEGF、IL-6、M-CSF。此外，CAF可藉由分泌因子，諸如CCL2/MCP-1及SDF-1/CXCL12至腫瘤位點來募集TAM；之後，產生TAM優先附著之前TAM生態棲位(例如，玻

尿酸富集基質區)。由於已表明TGFβ1促進正常纖維母細胞活化成肌纖維母細胞樣CAF，因此投與同工型特異性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之彼等抑制劑可有效地對抗CAF之促進癌症之活性。實際上，本文展現之資料表明，阻斷TGFβ1活化之同工型特異性抗體可抑制亦涉及多種癌症的諸如CCL2/MCP-1、α-SMA、FN1及Col1之標記基因的經UUO誘導之上調。

【0392】在某些實施例中，單獨或與額外藥劑，例如抗PD-1抗體(例如，抗PD-1拮抗劑)組合，向患有癌症或腫瘤之個體投與如本文所述之抗體或其抗原結合部分。包括於本發明中之其他組合療法為投與本文中所述之抗體或其抗原結合部分以及放射或化學治療劑。例示性額外藥劑包括(但不限於)、PD-1拮抗劑、PDL1拮抗劑、PD-L1或PDL2融合蛋白、CTLA4拮抗劑、GITR促效劑、抗ICOS抗體、抗ICOSL抗體、抗B7H3抗體、抗B7H4抗體、抗TIM3抗體、抗LAG3抗體、抗OX40抗體、抗CD27抗體、抗CD70抗體、抗CD47抗體、抗41BB抗體、抗PD-1抗體、抗CD20抗體、溶瘤病毒及PARP抑制劑。

【0393】在一些實施例中，判定或選擇適用特定癌症類型或患者群的組合療法之治療性方法可涉及以下：a)關於可利用標準照護療法之癌症類型(例如，批准用於免疫療法之適應症)的考慮因素；b)關於耐治療性亞群之考慮因素；及c)關於呈「TGFβ1路徑活性」或另外至少部分TGFβ1依賴性(例如，對TGFβ1抑制敏感)之癌症/腫瘤的考慮因素。舉例而言，多種癌症樣本藉由例如TCGA RNAseq分析顯示，TGFβ1為主要同工型。在一些實施例中，來自各腫瘤類型的樣本有超過50%(例如，超過50%、60%、70%、80%及90%)對TGFβ1同工型表現呈陽性。在一些實施例中，呈

「TGFβ1路徑活性」或另外至少部分TGFβ1依賴性(例如，對TGFβ1抑制敏感)之癌症/腫瘤含有至少一種Ras突變，諸如K-ras、N-ras及/或H-ras突變。在一些實施例中，癌症/腫瘤包含至少一種K-Ras突變。

【0394】 在一些實施例中，向診斷患有批准使用一或多種檢查點抑制劑療法或該等療法顯示作用的癌症的患者投與同工型特異性TGFβ1抑制劑以及檢查點抑制性療法。此等癌症包括(但不限於)：膀胱尿道上皮癌、鱗狀細胞癌(諸如頭部和頸部)、腎透明細胞癌、腎臟乳頭狀細胞癌、肝臟肝細胞癌、肺腺癌、皮膚黑素瘤及胃腺癌。在較佳實施例中，此類患者對檢查點抑制劑療法反應不佳或對其不起反應。在一些實施例中，較差反應性係歸因於原發抗性。在一些實施例中，對檢查點阻斷具有抗性之癌症顯示TCF7表現下調。在一些實施例中，抗檢查點抑制腫瘤中的TCF7下調可能與瘤內CD8+ T細胞之較低數目相關。

【0395】 同工型特異性TGFβ1抑制劑可用於治療抗化學療法或放射線療法癌症中。因此，在一些實施例中，向診斷患有患者針對其接受或已接受化學療法及/或放射療法之癌症的患者投與同工型特異性TGFβ1抑制劑。詳言之，在癌症(患者)對此類療法具有抗性之情況下，使用TGFβ1抑制劑為有利的。在一些實施例中，此類癌症包含靜息腫瘤繁殖癌細胞(TPC)，其中TGFβ信號傳遞控制其可逆地進入生長停滯狀態，保護TPC不受化學療法或放射療法影響。預期對TGFβ1進行藥理學抑制後，受損TPC未能進入靜態，且因此呈現易受化學療法及/或放射療法影響。此類癌症包括多種癌瘤，例如鱗狀細胞癌。參見例如，Brown等人 (2017) 「TGF-β-Induced Quiescence Mediates Chemoresistance of Tumor-Propagating Cells in Squamous Cell Carcinoma.」 Cell Stem Cell. 21(5):650-664。

【0396】 在一些實施例中，待用TGFβ1抑制劑治療之TGFβ1陽性癌症亦為TGFβ3陽性的(亦即，TGFβ1+/TGFβ3+癌症)，其特徵在於疾病組織(例如，腫瘤)表現兩種同工型。在一些實施例中，此類腫瘤對TGFβ1及TGFβ3同工型兩者有共顯性。因此，本發明包括同工型選擇性TGFβ1抑制劑以及同工型選擇性TGFβ3抑制劑在治療此類病狀中之用途。TGFβ1+/TGFβ3+癌症之非限制性實例包括(但不限於)：乳房癌(例如，乳房侵襲性癌)、膽管癌、多形性神經膠母細胞瘤、頭頸部鱗狀細胞癌、腎臟透明細胞癌瘤、肺臟鱗狀細胞癌、間皮瘤、胰臟腺癌、前列腺腺癌、肉瘤、胸腺瘤及子宮癌肉瘤。

受益於組織再生及幹細胞再殖之病狀

【0397】 有證據表明，TGFβ1在調節多種幹細胞群之內穩定及其在組織中的分化/再殖方面起一定作用。在內穩定期間，組織特異性幹細胞主要保持靜息，但在特定應激後觸發進入細胞循環。TGFβ1被認為在嚴格調節幹細胞分化及重建過程中充當「中斷物(break)」，且觸發進入細胞循環之應激與移除「中斷物」之TGFβ1抑制一致。因此，預期同工型選擇性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之彼等抑制劑可用於偏移或校正細胞循環及幹細胞/祖細胞離開/進入特定組織之決定。

【0398】 因此,本發明之發明人預期在以下條件下使用同工型選擇性TGFβ1抑制劑，其中：i)幹細胞/祖細胞分化/重建歸因於疾病而停止或擾亂或誘發為療法/介導之副作用；ii)患者處於導致健康細胞被殺死或耗竭之療法或介導中；iii)患者可受益於增加之幹細胞/母細胞分化/重建；iv)疾病與異常幹細胞分化或重建相關。

【0399】 舉例而言，間葉基質/幹細胞(MSC)為一小群存在於大多數

成人結締組織，諸如骨髓、脂肪組織及臍帶血中的基質細胞。MSC在活體內維持呈相對靜止狀態，但對多種生理及病理性刺激起反應，能夠增殖隨後分化成骨母細胞、軟骨細胞、脂肪細胞或其他中胚層型譜系，如平滑肌細胞(SMC)及心肌細胞。多個信號傳遞網路協調MSC分化成功能性間葉譜系，在該過程中TGF-β1成為主要參與者(例如由Zhao及Hantash(2011. Vitam Horm 87:127-41)綜述)。

【0400】 同樣，終身血球製造需要造血幹細胞來防止耗竭，大部分造血幹細胞在穩態造血期間保持靜息。然而，在血液學應激期間，此等細胞快速募集於細胞循環中且經歷大規模自體更新及分化以滿足增加之造血需求。TGFβ1可充當「開關(switch)」來控制靜止-再殖轉化/平衡。

【0401】 因此，同工型選擇性TGFβ1抑制劑可用於涉及造血幹細胞缺陷及骨髓衰竭之病狀的治療中。在一些實施例中，造血幹細胞儲集物之耗竭或損傷會導致造血障礙或血液科惡性疾病。在一些實施例中，此類病狀為DNA修復病症，其特徵在於進行性骨髓衰竭。在一些實施例中，此類病狀係由幹細胞及祖細胞耗損引起。在一些實施例中，此類病狀係與貧血相關。在一些實施例中，此類病狀為範康尼氏貧血(Fanconi Anemia；FA)。在一些實施例中，此類病狀之特徵在於活性過高TGFβ路徑，其在DNA受損後抑制某些細胞類型之存活。因此，預期同工型選擇性TGFβ1抑制劑可用於在患有FA之個體中挽救FA造血幹細胞之增殖缺陷及/或骨髓衰竭。參見例如，Zhang等人 (2016), Cell Stem Cell, 18: 668-681,「TGF-β inhibition rescues hematopoietic stem cell defects and bone marrow failure in Fanconi Anemia」。

涉及治療誘發之造血調節異常的病狀

【0402】 應認識到，經設計以治療多種疾病病狀之某些藥物通常會誘發或加重所治療患者中之貧血(例如，治療或藥物誘發之貧血，諸如化學療法誘發貧血及放射療法誘發貧血)。在一些實施例中，用骨髓抑制藥物治療患者，其可能會引起包括貧血之副作用。此類患者可受益於藥理學TGFβ1抑制以便增加造血。在一些實施例中，TGFβ1抑制劑可藉由防止進入靜息狀態而促進患者中之造血。在一些實施例中，患者可接受G-CSF療法(例如，非格司亭(Filgrastim))。

【0403】 因此，本發明包括同工型選擇性TGFβ1抑制劑，諸如本文所揭示之彼等抑制劑投與接受骨髓抑制療法(例如，具有包括骨髓抑制作用之副作用的療法)的患者的用途。骨髓抑制療法之實例包括(但不限於)：聚乙二醇化干擾素α-2a、干擾素α-n3、聚乙二醇化干擾素α-2b、阿地介白素、吉妥珠單抗奧佐米星(gemtuzumab ozogamicin)、干擾素alfacon-1、利妥昔單抗(rituximab)、替伊莫單抗替克西坦(ibritumomab tiuxetan)、托西莫單抗(tositumomab)、阿侖單抗(alemtuzumab)、貝伐單抗(bevacizumab)、L-苯丙胺酸、硼替佐米、克拉屈濱(cladribine)、卡莫司汀(carmustine)、安吖啶、氯芥苯丁酸、雷替曲塞(raltitrexed)、絲裂黴素、貝瑟羅汀(bexarotene)、長春地辛、氟尿苷、硫鳥嘌呤、長春瑞濱(長春瑞濱)、右雷佐生(右雷佐生)、索拉非尼(sorafenib)、鏈脲黴素、吉西他濱(gemcitabine)、替尼泊甙(teniposide)、表柔比星(epirubicin)、氯黴素、來那度胺、六甲蜜胺(altretamine)、齊多夫定(zidovudine)、順鉑、奧沙利鉑(oxaliplatin)、環磷醯胺、氟尿嘧啶、丙硫氧嘧啶(propylthiouracil)、噴司他汀(pentostatin)、甲胺喋呤(methotrexate)、卡馬西平(carbamazepine)、長春鹼、利奈唑胺(linezolid)、伊馬替尼、氯法

拉濱(clofarabine)、培美曲塞(pemetrexed)、道諾黴素(daunorubicin)、伊立替康(irinotecan)、甲巯基咪唑、依託泊苷(etoposide)、達卡巴嗪(dacarbazine)、替莫唑胺(temozolomide)、他克莫司(tacrolimus)、西羅莫司(sirolimus)、二氯甲基二乙胺、阿紮胞苷(azacitidine)、卡鉑、放線菌素D、阿糖胞苷、小紅莓、羥基尿素、白消安(busulfan)、拓朴替康(topotecan)、巯基嘌呤、沙立度胺、美法侖、氟達拉濱(fludarabine)、氟胞嘧啶(flucytosine)、卡培他濱(capecitabine)、丙卡巴肼(procarbazine)、三氧化二砷、艾達黴素(idarubicin)、異環磷醯胺、米托蒽醌(mitoxantrone)、洛莫司汀(lomustine)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、多西他賽(docetaxel)、達沙替尼(dasatinib)、地西他濱(decitabine)、奈拉濱(nelarabine)、依維莫司(everolimus)、伏立諾他(vorinostat)、噻替派(thiotepa)、伊沙匹隆(ixabepilone)、尼羅替尼(nilotinib)、貝林諾他(belinostat)、曲貝替定(trabectedin)、曲妥珠單抗恩他新(trastuzumab emtansine)、替西羅莫司(temsirolimus)、伯舒替尼(bosutinib)、苯達莫司汀(bendamustine)、卡巴他賽(cabazitaxel)、艾日布林(eribulin)、盧佐替尼(ruxolitinib)、卡非佐米、托法替尼(tofacitinib)、普納替尼(ponatinib)、泊利度胺、奧比珠單抗(obinutuzumab)、特地唑胺磷酸鹽(tedizolid phosphate)、布林莫單抗(blinatumomab)、依魯替尼(ibrutinib)、帕博希布(palbociclib)、奧拉帕尼(olaparib)、迪奴圖單抗(dinutuximab)及秋水仙鹼。

【0404】 其他適應症可包括美國公開案第2013/0122007號、美國專利第8,415,459號或國際公開案第WO 2011/151432號中所揭示之彼等適應症中之任一者，該等專利中之每一者之內容以全文引用之方式併入本文

中。

【0405】 在較佳實施例中，本發明之抗體、其抗原結合部分及組合物可用於治療與TGFβ1信號傳遞相關的多種疾病、病症及/或病狀。在一些實施例中，目標組織/細胞相對於其他同工型優先表現TGFβ1同工型。因此，本發明包括使用包含本文中所述之抗體或其抗原結合部分的醫藥組合物來治療此等與TGFβ1表現(例如，TGFβ1信號傳遞調節異常及/或TGFβ1表現上調)相關之病狀的方法。

【0406】 在一些實施例中，該疾病涉及與多種細胞來源相關(例如，存在於其等細胞上或由其等細胞沈積)之TGFβ1。在一些實施例中，此類疾病涉及TGFβ1功能之免疫組分及ECM組分二者。在一些實施例中，此類疾病涉及：i) ECM之調節異常(例如，ECM組分(諸如膠原蛋白及蛋白酶)之過度產生/沈積；ECM受質之僵硬度變化；諸如肌纖維母細胞及CAF之纖維母細胞的異常或病理性活化或分化)；ii) 因增加之Treg及/或受抑制之效應T細胞(Teff)所致之免疫抑制，例如Treg/Teff比率升高；白血球浸潤物(例如，巨噬細胞及MDSC)增加，造成抑制CD4及/或CD8 T細胞；及/或iii)骨髓細胞之異常或病理性活化、分化及/或募集，諸如巨噬細胞(例如，骨髓衍生單核球性/巨噬細胞及組織駐留性巨噬細胞)、單核球、骨髓衍生之抑制細胞(MDSC)、嗜中性白血球、樹突狀細胞及NK細胞。

【0407】 在一些實施例中，該病狀涉及藉由超過一種類型之呈遞分子(例如，以下中之兩者或更多者：GARP、LRRC33、LTBP1及/或LTBP3)呈遞之TGFβ1。在一些實施例中，受影響組織/器官/細胞包括來自多個細胞來源之TGFβ1。僅出示一個實例，實體腫瘤(其亦可包括涉及骨髓之增生性疾病，例如骨髓纖維化及多發性骨髓瘤)可包括來自多個來源

之TGFβ1，諸如癌細胞、基質細胞、周圍健康細胞及/或浸潤免疫細胞(例如，CD45+白血球)，其涉及不同類型之呈遞分子。相關免疫細胞包括(但不限於)骨髓細胞及淋巴細胞，舉例而言，嗜中性白血球、嗜伊紅血球、嗜鹼性血球、淋巴細胞(例如，B細胞、T細胞及NK細胞)及單核球。

治療方案及投藥

【0408】 為操作本文所揭示之方法，有效量之上文所述之醫藥組合物可經由合適途徑(諸如靜脈內投藥(例如快速注射或連續輸注一段時間)、肌肉內、腹膜內、腦脊髓內、皮下、關節內、滑膜內、鞘內、經口、吸入或表面途徑)投與需要治療之個體(例如人類)。包括噴嘴式噴霧器及超音波噴霧器之供液體調配物用之市售噴霧器適用於投藥。液體調配物可直接霧化，及凍乾粉末可在復水後霧化。或者，特異性結合GARP-TGFβ1複合物、LTBP1-TGFβ1複合物、LTBP3-TGFβ1複合物及/或LRRC33-TGFβ1複合物之抗體或其抗原結合部分可使用碳氟化合物調配物及定劑量吸入器氣霧化，或呈凍乾及磨粉形式吸入。

【0409】 藉由本文所述之方法治療的個體可為哺乳動物，更佳為人類。哺乳動物包括(但不限於)農場動物、運動型動物、寵物、靈長類動物、馬、狗、貓、小鼠及大鼠。需要治療之人類個體可為患有TGFβ相關適應症(諸如上述彼等適應症)、處於其風險下或疑似患有其等適應症之人類患者。患有TGFβ相關適應症之個體可藉由常規醫學檢查，例如實驗室測試、器官功能測試、CT掃描、MRI或超音波來鑑別。疑似患有此類適應症中之任一者的個體可顯示該適應症之一或多種症狀。處於適應症風險下之個體可為具有適應症之風險因素中之一或多者的個體。

【0410】 如本文所用，術語「有效量」及「有效劑量」係指足以滿

足其預期一或多個目的，亦即可接受效益/風險比下的組織或個體中的所需生物或醫學反應的化合物或組合物之任何量或劑量。舉例而言，在本發明之某些實施例中預期目的可為抑制TGFβ-1活體內活化，達成與TGFβ-1抑制相關的有臨床意義的結果。如熟習此項技術者所認知，有效量可有所變化，其視以下而定：所治療之特定病狀、病狀嚴重程度、個別患者參數(包括年齡、身體狀況、體型、性別及體重)、治療持續時間、並行療法(若存在)之性質、特定投藥途徑，及健康從業者之知識及專長範圍內的類似因素。此等因素已為一般技術者熟知且可僅用常規實驗便可解決。通常較佳使用個別組分或其組合之最大劑量，亦即根據合理醫學判斷的最高安全劑量。然而一般技術者應瞭解，患者因醫療原因、心理原因或實際上任何其他原因可堅持較低劑量或可耐受劑量。

【0411】 經驗考慮因素，諸如半衰期一般將促進劑量之測定。舉例而言，與人類免疫系統相容之抗體，諸如人類化抗體或完全人類抗體，可用於延長抗體半衰期且防止抗體受宿主之免疫系統攻擊。投藥頻率可加以確定且在治療過程中加以調整，且通常(但不一定)基於TGFβ相關適應症之治療及/或抑制及/或改善及/或延遲。或者，特異性結合GARP-TGFβ1複合物、LTBP1-TGFβ1複合物、LTBP3-TGFβ1複合物及/或LRRC33-TGFβ1複合物之抗體的持久連續釋放調配物可為合適的。用於達成持續釋放之多種調配物及裝置對熟習此項技術者將為顯而易知的且在本發明之範疇內。

【0412】 在一個實例中，如本文所述的特異性結合GARP-TGFβ1複合物、LTBP1-TGFβ1複合物、LTBP3-TGFβ1複合物及/或LRRC33-TGFβ1複合物的抗體之劑量可在已給與一或多次抗體之投藥的個體中憑經

驗確定。給與個體遞增劑量之拮抗劑。為評定功效，可根據TGFβ相關適應症之指示物。舉例而言，用於量測肌纖維損傷、肌纖維修復、肌肉中發炎程度及/或肌肉中纖維化程度的方法對一般熟習此項技術者為熟知的。

【0413】 本發明涵蓋以下認識，當用作藥劑時，能夠以同工型特異性方式調節TGFβ之活化步驟的藥劑可提供經改善之安全概況。因此，本發明包括抗體和其抗原結合片段，其特異性結合TGFβ1，而非TGFβ2或TGFβ3且抑制其活化，藉此賦予TGFβ1活體內信號傳遞之特異性抑制，同時將不合需要之副作用降至最低以避免影響TGFβ2及/或TGFβ3信號傳遞。

【0414】 在一些實施例中，當向個體投與時，如本文所述之抗體或其抗原結合部分沒有毒性。在一些實施例中，當向個體投與時，相較於特異性結合至TGFβ1及TGFβ2兩者之抗體，如本文所述之抗體或其抗原結合部分展現降低之毒性。在一些實施例中，當向個體投與時，相較於特異性結合至TGFβ1及TGFβ3兩者之抗體，如本文所述之抗體或其抗原結合部分展現降低之毒性。在一些實施例中，當向個體投與時，相較於特異性結合至TGFβ1、TGFβ2及TGFβ3之抗體，如本文所述之抗體或其抗原結合部分展現降低之毒性。

【0415】 通常，對於本文中所述之抗體中之任一者之投藥，初始候選劑量可為每次投藥(例如每週一次、每2週一次、每3週一次、每月一次等)約1至20 mg/kg。舉例而言，患者可每1週、每2週、每3週或每4週等接受約1至10 mg/kg之注射液，其呈有效地治療疾病(例如，纖維化或癌症)之量，其中量得到良好耐受(在可接受毒性或不良事件內)。

【0416】 出於本發明目的，典型劑量(每次投藥，諸如注射及輸注)

可在約0.1 mg/kg至1 mg/kg、至2 mg/kg、至3 mg/kg、至5 mg/kg、至10 mg/kg、至20 mg/kg、至30 mg/kg、至100 mg/kg或更大中之任一者範圍內，其視上述因素而定。對於歷經數天或更長時間之重複投藥，視病狀而定，持續治療直至出現所需症狀抑制或直至達成足夠治療量以緩解TGFβ相關適應症或其症狀。例示性給藥方案包含投與初始劑量，繼之以一或多個維持劑量。然而，其他劑量方案亦可能適用，視醫師希望達成之藥物動力學衰變模式而定。藥物動力學實驗已顯示，本文所揭示之抗體(例如，Ab3)之血清濃度在向臨床前動物模型(例如，小鼠模型)投與之後保持穩定持續至少7天。在不希望受任何特定理論束縛之情況下，此投藥後穩定性可為有利的，因為抗體可能以更低頻率投與，同時維持抗體所投與之個體(例如，人類個體)中之臨床上有效的血清濃度。在一些實施例中，給藥頻率為每週、每2週、每4週、每5週、每6週、每7週、每8週、每9週或每10週一次；或每月、每2個月或每3個月或更長時間一次。此療法之進程易於藉由習知技術及分析來監測。給藥方案(包括所用抗體)可隨時間改變。

【0417】 在一些實施例中，對於正常體重之成人患者而言，可投與介於約0.3至5.00 mg/kg範圍內之劑量。特定給藥方案，例如劑量、時間安排及重複，將視特定個體及個體病史，以及個別藥劑之特性(諸如藥劑之半衰期及其他相關考慮因素)而定。

【0418】 出於本發明之目的，本文所揭示之抗體之適當劑量將視以下而定：所用特異性抗體(或其組合物)、適應症之類型及嚴重程度、投與抗體是否用於預防或治療目的、先前療法、患者之臨床病史及對拮抗劑之反應，及主治醫師之判斷。在一些實施例中，臨床醫師將投與抗體直至達至達成所需結果之劑量。抗體之投藥可為連續的或間歇的，其視例如在接

受者之生理病狀後，投藥目的是否為治療性或預防性的及熟習醫師已知的其他因素而定。抗體之投藥可在預選定時段內呈基本上連續的，或可呈一系列間隔劑量，例如在罹患TGFβ相關適應症之前、期間或之後。

【0419】如本文所用，術語「治療」係指向患有TGFβ相關適應症、該適應症之症狀或適應症之傾向性的個體施加或投與包括一或多個活性劑之組合物，以便治癒、癒合、緩解、降低、改變、補救、減輕、改善或影響該適應症、該適應症之症狀或適應症之傾向性。

【0420】用本文所揭示之抗體緩解TGFβ相關適應症包括延遲該適應症之罹患或進展或降低適應症之嚴重程度。緩解該適應症未必需要治癒性結果。如其中所用，「延遲」與TGFβ相關適應症相關的適應症之發展意謂推遲、阻止、減緩、延緩、穩定或推遲該適應症之進展。此延遲可具有不同時間長度，視所治療適應症及/或個體之病史而定。「延遲」或緩解適應症發展或延遲適應症發作的方法為，與不使用該方法相比，在指定時間範圍內使出現適應症之一或多種症狀的機率降低及/或在指定時間範圍內降低症狀程度的方法。此類比較通常係基於臨床研究，使用足以產生統計學上顯著之結果的多名個體。

組合治療

【0421】本發明進一步涵蓋用作治療可受益於TGFβ活體內抑制之個體的組合療法的醫藥組合物及相關方法。在此等實施例中之任一者中，此類個體可接受組合療法，其包括包含至少一種TGFβ抑制劑，例如本文中所述之抗體或其抗原結合部分的第一組合物；以及包含至少一種意欲治療相同或重疊疾病或臨床病狀的額外治療劑的第二組合物。第一和第二組合物可均對相同細胞目標或對離散細胞目標起作用。在一些實施例中，第

一和第二組合物可治療或緩解相同或重疊疾病或臨床病狀之症狀或態樣組。在一些實施例中，第一和第二組合物可可治療或緩解單獨的疾病或臨床病狀之症狀或態樣組。僅給出一個實例，第一組合物可治療與TGFβ信號傳遞相關之疾病或病狀，而第二組合物可治療與同一疾病相關之發炎或纖維化等。此類組合療法可結合彼此投與。在組合療法之情形下，片語「結合」意謂在接受組合療法之個體中，第一療法之治療作用暫時及/或在空間上與第二療法之治療作用重疊。因此，組合療法可調配為用於療法之同時投與之單一調配物或用於療法之連續投與的獨立調配物。

【0422】 在較佳實施例中，組合療法在疾病治療中產生協同效應。術語「協同」係指總體上大於各單一療法之累加效應(例如，較高功效)的效應。

【0423】 在一些實施例中，包含本文中所述之醫藥組合物的組合療法產生總體上等效於由另一療法(諸如第二藥劑之單一療法)產生之功效，但相較於第二藥劑之單一療法，伴隨有較少與第二藥劑相關的不合需要之不良作用或較少嚴重毒性的功效。在一些實施例中，此類組合療法容許較低劑量之第二藥劑但維持總體功效。此類組合療法可尤其適用於確定進行長期治療及/或涉及小兒患者之患者群。

【0424】 因此，本發明提供供用於減少TGFβ1蛋白活化且治療或預防與TGFβ1信號傳遞相關之疾病或病狀的組合療法中的醫藥組合物及方法，如本文所述。因此，方法或醫藥組合物進一步包含第二治療劑。在一些實施例中，第二治療劑可適用於治療或預防與TGFβ1信號傳遞相關之疾病或病狀。第二治療劑可減輕或治療與靶向疾病相關之至少一種症狀。第一和第二治療劑可藉由相似或不相關作用機制發揮其生物效應；或第一和

第二治療劑中之任一者或兩者可藉由多重作用機制發揮其生物效應。

【0425】 應理解，本文中所述之醫藥組合物可具有處於同一醫藥學上可接受之載劑中或針對各所述實施例的不同的醫藥學上可接受之載劑中的第一和第二治療劑。應進一步理解，在所述實施例中，第一和第二治療劑可同時或依次投與。

【0426】 本發明之一或多種抗TGFβ抗體或其抗原結合部分可與額外治療劑中之一或多者組合使用。可與本發明之抗TGFβ抗體一起使用的額外治療劑之實例包括(但不限於)：癌症疫苗；經工程改造之免疫細胞療法；化學療法；放射療法；TGFβ超家族之成員之調節劑，諸如肌肉抑制素抑制劑及GDF11抑制劑；VEGF促效劑；IGF1促效劑；FXR促效劑；CCR2抑制劑；CCR5抑制劑；雙重CCR2/CCR5抑制劑；類離胺醯氧化酶2抑制劑；ASK1抑制劑；乙醯基-CoA羧化酶(ACC)抑制劑；p38激酶抑制劑；吡非尼酮(Pirfenidone)；尼達尼布(Nintedanib)；M-CSF抑制劑(例如，M-CSF受體拮抗劑及M-CSF中和劑)；MAPK抑制劑(例如，ERK抑制劑)、免疫檢查點促效劑或拮抗劑；IL-11拮抗劑；及IL-6拮抗劑；及其類似者。可與TGFβ抑制劑一起使用之額外治療劑之其他實例包括(但不限於)吲哚胺2,3-雙加氧酶(IDO)抑制劑、酪胺酸激酶抑制劑、Ser/Thr激酶抑制劑、雙重特異性激酶抑制劑。在一些實施例中，此類藥劑可為PI3K抑制劑、PKC抑制劑或JAK抑制劑。在一些實施例中，此類藥劑可為TGFβ3選擇性抑制劑。

【0427】 在一些實施例中，額外藥劑為檢查點抑制劑。在一些實施例中，額外藥劑係選自由以下組成之群：PD-1拮抗劑、PDL1拮抗劑、PD-L1或PDL2融合蛋白、CTLA4拮抗劑、GITR促效劑、抗ICOS抗體、

抗ICOSL抗體、抗B7H3抗體、抗B7H4抗體、抗TIM3抗體、抗LAG3抗體、抗OX40抗體、抗CD27抗體、抗CD70抗體、抗CD47抗體、抗41BB抗體、抗PD-1抗體、溶瘤病毒及PARP抑制劑。在一些實施例中，本文所揭示的TGFβ1活化之同工型特異性抑制劑用於為檢查點抑制療法之較差反應者或無反應者的個體中之癌症(諸如本文中所列出之彼等者)的治療中。

【0428】 在一些實施例中，額外藥劑結合T細胞共刺激分子，諸如抑制性共刺激分子及活化共刺激分子。在一些實施例中，額外藥劑係選自由以下組成之群：抗CD40抗體、抗CD38抗體、抗KIR抗體、抗CD33抗體、抗CD137抗體及抗CD74抗體。

【0429】 在一些實施例中，額外療法為放射。在一些實施例中，額外藥劑為化學治療劑。在一些實施例中，化學治療劑為紫杉醇(Taxol)。在一些實施例中，額外藥劑為消炎劑。在一些實施例中，額外藥劑抑制單核球/巨噬細胞募集及/或組織浸潤之過程。在一些實施例中，額外藥劑為肝星狀細胞活化之抑制劑。在一些實施例中，額外藥劑為趨化細胞素受體拮抗劑，例如CCR2拮抗劑及CCR5拮抗劑。在一些實施例中，此類趨化細胞素受體拮抗劑為雙重特異性拮抗劑，諸如CCR2/CCR5拮抗劑。待以組合療法形式投與之額外藥劑為或包含生長因子之TGFβ超家族之成員或其調節劑。在一些實施例中，此類藥劑係選自GDF8/肌肉抑制素及GDF11之調節劑(例如，抑制劑及活化劑)。在一些實施例中，此類藥劑為GDF8/肌肉抑制素信號傳遞之抑制劑。在一些實施例中，此類藥劑為特異性結合前肌肉抑制素/潛伏肌肉抑制素複合物且阻斷肌肉抑制素之活化的單株抗體。在一些實施例中，特異性結合前肌肉抑制素/潛伏肌肉抑制素複合物且阻斷肌肉抑制素之活化的單株抗體不結合游離成熟肌肉抑制素。

【0430】 在一些實施例中，額外療法包含細胞療法，諸如CAR-T療法。

【0431】 在一些實施例中，額外療法為癌症疫苗。測試基於肽之癌症疫苗的多種臨床試驗具有經靶向之血液惡性病(血液癌症)、黑素瘤(皮膚癌)、乳癌、頭頸癌、胃食道癌、肺癌、胰臟癌、前列腺癌、卵巢癌及結腸直腸癌。抗原包括來自HER2、端粒酶(TERT)、存活素(BIRC5)及威爾姆斯氏腫瘤1 (Wilms' tumor 1；WT1)之肽。若干試驗亦使用12至15種不同肽之「個性化」混合物。亦即，其含有來自患者之腫瘤的肽之混合物，該患者針對該腫瘤展現免疫反應。一些試驗靶向實體腫瘤、神經膠質瘤、神經膠母細胞瘤、黑素瘤、及乳癌、頸椎癌、卵巢癌、結腸直腸癌及非小肺細胞癌，且包括來自MUC1、IDO1 (吲哚胺2,3-雙加氧酶)、CTAG1B及兩種VEGF受體(FLT1及KDR)的抗原。值得注意地，在患有黑素瘤之患者中與免疫檢查點抑制劑伊匹單抗(ipilimumab)及BRAF(基因)抑制劑維羅非尼(vemurafenib)組合來測試IDO1疫苗。

【0432】 適用作癌症疫苗的腫瘤抗原之非限制性實例包括：NY-ESO-1、HER2、HPV16E7 (乳頭瘤病毒(Papillomaviridae) #E7)、癌胚抗原(CEA)、WT1、MART-1、gp100、酪胺酸酶、URLC10、VEGFR1、VEGFR2、存活抗原(surviving)、MUC1及MUC2。

【0433】 然而,藉由此類癌症疫苗預致敏之活化免疫細胞可在某種程度上經由TGFβ1依賴性機制自TME排除。為了克服免疫抑制，可考慮使用如本文所述之同工型特異性TGFβ1抑制劑以釋放疫苗之潛力。

【0434】 本文中所涵蓋之組合療法可有利地利用較低之所投與之治療劑的劑量，從而避免與各種單藥療法相關之可能的毒性或併發症。在一

些實施例中，使用本文中所述之同工型特異性TGFβ1抑制劑可使得對療法(例如，標準照護療法)反應不佳或無反應之彼等者較具反應性。在一些實施例中，使用本文中所述之同工型特異性TGFβ1抑制劑可允許降低之療法(例如，標準照護療法)劑量，其仍在患者中產生等效臨床功效，但產生較低或較小程度之藥物相關毒性或不良事件。

【0435】 在一些實施例中，本文所涵蓋之同工型選擇性TGFβ1抑制劑可與同工型選擇性TGFβ3抑制劑結合使用(例如，組合療法、附加療法等)。此類使用可進一步包含額外療法，諸如癌症療法，例如免疫檢查點抑制劑、癌症疫苗、放射療法及/或化學療法。

【0436】 在一些實施例中，本文所涵蓋之同工型選擇性TGFβ1抑制劑可與肌肉抑制素(GDF8)之選擇性抑制劑結合使用(例如，組合療法、附加療法等)。

診斷、患者選擇、監測

【0437】 傳統上活檢為用於診斷及監測多種疾病，諸如纖維化(例如，器官纖維化)及增生性病症(例如，癌症)之標準。然而，已知活檢具有併發情況。舉例而言，除了侵襲性之外，活檢體亦受觀測者內及觀測者外變化影響，且易於出現取樣誤差及程序相關併發情況。因此，較少侵襲性，較不易於出錯之替代方案可為較佳的。舉例而言，多種無創活體內成像技術可用於診斷、監測及選擇治療患者。因此，本發明包括使用活體內成像技術診斷及/或監測患者或個體之疾病。在一些實施例中，患者或個體接受如本文所述之同工型特異性TGFβ1抑制劑。在其他實施例中，活體內成像技術可用於選擇用同工型特異性TGFβ1抑制劑進行之處理的患者。

【0438】 用於診斷及監測患者之例示性活體內成像技術包括(但不限

於)X射線放射照相術、磁共振成像(MRI)、醫學超音波檢查術或超音波、內窺鏡檢查、彈性成像、觸覺成像、熱成像、醫學攝影術。其他成像技術包括核子醫學功能成像，例如正電子發射斷層攝影術(PET)及單光子發射電腦斷層攝影術(SPECT)。通常，此等活體內成像技術藉由無創手段產生資料。舉例而言，在醫學超音波檢查術之情況下，超音波壓力波及回波用於顯示內部結構。在投影放射照相術之情況下，使用X射線放射來產生影像，該X射線輻射以不同速率經不同組織類型，諸如骨、肌肉及脂肪吸收。用於進行此等技術及分析結果之方法為此項技術中已知的。

【0439】常用於診斷及監測纖維化之無創成像技術包括(但不限於)：超音波(例如，習知或顯影增強超音波)、超音波彈性成像(例如，瞬時彈性成像、點剪切波彈性成像及2D剪切波彈性成像)、CT掃描(例如，習知CT或CT灌注成像)、磁共振成像(MRI) (例如，習知MRI、磁共振彈性成像、擴散加權磁共振成像、釓塞酸二鈉及磁共振灌注成像)。

【0440】在一些實施例中，使用無創成像技術來評定肝纖維化或肝脂肪變性之程度。舉例而言，尤其適用於評定肝纖維化之成像技術可包括(但不限於)：FibroScan (瞬時彈性成像；TE)、點剪切波彈性成像(pSWE；亦稱為聲輻射力脈衝(ARFI))、2D-3D SWE、磁共振彈性成像(MRE)及多參數MRI。尤其適用於評定肝脂肪變性之成像技術可包括(但不限於)：超音波檢查術、受控衰減參數(CAP)彈性成像、經MRI估計之質子密度脂肪分數(MRI-PDFF)及磁共振光譜分析(MRS)。在一些實施例中，活體內成像技術用於評定肝臟僵硬。在一些實施例中，活體內成像技術用於偵測及評定肝內三酸甘油酯量。在一些實施例中，活體內成像技術用於評定肝臟表面結節(LSN；亦稱為「肝臟評分」)、肝臟僵硬及/或肝段

體積比(LSVR)，其在肝纖維化之分期及分期肝硬化中均為有利的。用於進行此等技術及分析結果之方法為此項技術中已知的。

【0441】 常用於診斷及監測癌症之無創成像技術包括(但不限於)：磁共振成像(MRI)、電腦斷層攝影術(CT)、超音波、正電子發射斷層攝影術(PET)、單光子發射電腦斷層攝影術(SPECT)、螢光反射成像(FRI)及螢光介導之斷層攝影術(FMT)。亦可使用混合成像平台來診斷及監測癌症。舉例而言，混合成像平台包括(但不限於)：PET-CT、FMT-CT、FMT-MRI及PET-MRI。動態顯影增強MRI (DCE-MRI)為常用於偵測乳癌之另一成像技術。用於進行此等技術及分析結果之方法為此項技術中已知的。

【0442】 近年來，正在研發將允許活體內偵測相關細胞(例如，細胞毒性T細胞、巨噬細胞及癌細胞)的無創成像方法。參見例如，www.imaginab.com/technology/；Tavare等人 (2014) PNAS, 111(3): 1108-1113；Tavare等人 (2015) J Nucl Med 56(8): 1258-1264；Rashidian等人 (2017) J Exp Med 214(8): 2243-2255；Beckford Vera等人 (2018) PLoS ONE 13(3): e0193832；及Tavare等人 (2015) Cancer Res 76(1): 73-82其中之每一者以引用之方式併入本文中。預期可使用相似技術來診斷及監測其他疾病，例如纖維化。通常，可將經工程改造有偵測部分(例如，放射性標記)之抗體或類抗體分子輸注於患者中，其隨後將分佈且定位至特定標記物(例如CD8+)之位點。

【0443】 可出於以下目的在多種適合方法中應用無創活體內成像技術：診斷患者；選擇或鑑別有可能受益於TGFβ1抑制劑療法之患者；及/或監測患者治療後之治療反應。具有已知細胞表面標記物之任何細胞可藉助於採用特異性結合至該細胞標記物之抗體或相似分子來偵測/定位。通

常，藉由使用此類技術偵測之細胞為免疫細胞，諸如細胞毒性T淋巴球、調節T細胞、MDSC、腫瘤相關巨噬細胞、NK細胞、樹突狀細胞及嗜中性白血球。然而，預期此類技術亦可用於偵測及監測纖維化相關細胞標記物，例如巨噬細胞(駐留或浸潤)及/或肌纖維母細胞。識別此類標記物的抗體或經工程改造之類抗體分子可偶合至偵測部分。

【0444】 適合免疫細胞標記物之非限制性實例包括單核球標記物、巨噬細胞標記物(例如，M1及/或M2巨噬細胞標記物)、CTL標記物、抑制免疫細胞標記物、MDSC標記物(例如，G-MDSC及/或M-MDSC之標記物)，其包括(但不限於)：CD8、CD3、CD4、CD11b、CD163、CD206、CD68、CD14、CD15、CD66、CD34、CD25及CD47。

【0445】 上文所述之活體內成像技術可用於偵測、定位及/或追蹤診斷患有TGFβ1相關疾病，諸如癌症及纖維化之患者的某些MDSC。健康個體在循環中不會出現或較少出現MDSC。伴隨此類疾病發作或進展，可偵測到升高之循環水準及/或疾病相關MDSC量。舉例而言，已報導CCR2陽性M-MDSC積聚至發炎組織且可引起組織中纖維化(諸如肺纖維化)之進展，且此顯示與TGFβ1表現相關。同樣，MDSC富集於多種實體腫瘤(包括三陰性乳癌)中，且部分程度上促成TME之免疫抑制表型。因此，對根據本發明之TGFβ1抑制療法的治療反應可藉由定位或追蹤MDSC來監測。可偵測之MDSC的減少或較少出現通常指示治療益處或較好預後。

【0446】 已知相較於健康對照，多種人類癌症會引起患者中MDSC量升高(例如Elliott等人(2017) 「Human tumor-infiltrating myeloid cells: phenotypic and functional diversity」 Frontiers in Immunology, 第8卷, 章節86所綜述)。此等人類癌症包括(但不限於)：膀胱癌、結腸直腸癌、

前列腺癌、乳癌、神經膠母細胞瘤、肝細胞癌、頭頸部鱗狀細胞癌、肺癌、黑素瘤、NSCL、卵巢癌、胰臟癌及腎細胞癌。升高之MDSC量可在生物樣本，諸如外周血單核細胞(PBMC)及組織樣本(例如，腫瘤活檢體)中偵測。舉例而言，MDSC之數目的出現率或變化可使用適合細胞表面標記物(表型)量測為：總PBMC之百分比(%)、CD14+細胞之百分比(%)、CD45+細胞之百分比(%)、單核細胞之百分比(%)、總細胞之百分比(%)、CD11b+細胞之百分比(%)、單核球之百分比(%)、非淋巴球性MNC之百分比(%)、KLA-DR細胞之百分比(%)。

【0447】 另外，在癌症之情況下，使用免疫細胞標記物可判定腫瘤是否具有免疫排除表型。若腫瘤判定為具有免疫排除表型，則單獨的癌症療法(諸如CBT)可能並不有效，因為腫瘤在腫瘤環境中缺乏足夠的細胞毒性細胞。因此，使用TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑的附加療法可降低免疫抑制，藉此使得抗癌症療法腫瘤對癌症療法較具反應。預期在纖維變性情形下，亦可使用免疫標記物來追蹤免疫細胞，及/或判定纖維變性組織之免疫細胞組成(例如，以追蹤巨噬細胞及/或肌纖維母細胞之存在)。

【0448】 因此，本發明亦包括一種用於治療TGFβ1相關之疾病或病狀之方法，其可包含以下步驟：i)選擇診斷患有TGFβ1相關之疾病或病狀的患者；及ii)以有效治療該疾病或病狀之量向患者投與本文中所涵蓋之抗體或片段。在一些實施例中，選擇步驟(i)包含偵測疾病標記物(例如，如本文所述之纖維化或癌症標記物)，其中視情況地，該偵測包含活檢分析、血清標記物分析及/或活體內成像。在一些實施例中，選擇步驟(i)包含如本文所述之活體內成像技術。

【0449】 在一些實施例中，TGFβ1相關之疾病或病狀為纖維變性病狀。在一些實施例中，選擇步驟(i)包含偵測肌纖維母細胞或其一或多個標記物。在一些實施例中，選擇步驟(i)包含偵測肝脂肪變性、肝三酸甘油酯、免疫細胞及/或肌纖維母細胞。在一些實施例中，偵測包含活檢分析、血清標記物分析及/或活體內成像。在一些實施例中，活體內成像包含超音波、超音波彈性成像、CT掃描、MRI、PET-SPECT、光學螢光/生物發光FibroScan (TE)、pSWE、2D-3D SWE、MRE、超音波檢查術、CAP、MRI-PDFF及/或MRS。在一些實施例中，活體內成像包含直接或間接標記免疫細胞或結合免疫細胞之細胞表面標記物之抗體。在一些實施例中，活體內成像包含使用追蹤劑。

【0450】 在一些實施例中，活體內成像技術量測肝脂肪變性、肝三酸甘油酯、免疫細胞(例如，如下文所述)及/或肌纖維母細胞。在一些實施例中，治療減少患病組織中之三酸甘油酯、脂肪變性、肝臟表面結節、發炎及/或巨噬細胞。在一些實施例中，治療將肝內三酸甘油酯含量降至≤5.5%。在一些實施例中，治療減少患病組織中的MDSC。在一些實施例中，治療減少患病組織中的巨噬細胞。在一些實施例中，有效量為0.1 mg/kg至30 mg/kg，視情況3 mg/kg至30 mg/kg。在一些實施例中，該方法進一步包含監測個體之如本文所述之治療反應(例如，降低之三酸甘油酯、減少之脂肪變性、減少之肝臟表面結節、減少之發炎、減少之巨噬細胞及/或降低之肝臟評分)。

【0451】 本發明亦包括一種治療癌症之方法，其可包含以下步驟：i)選擇診斷患有包含實體腫瘤之癌症的患者，其中實體腫瘤為或疑似為免疫排除腫瘤；及ii)以有效治療該癌症之量向患者投與本文中所涵蓋之抗體

或片段。較佳地，患者已接受或為接受癌症療法，諸如免疫檢查點抑制療法(例如，PD-(L)1抗體)、化學療法、放射療法、經工程改造之免疫細胞療法及癌症疫苗療法之候選者。在一些實施例中，選擇步驟(i)包含偵測免疫細胞或其一或多個標記物,其中視情況地，偵測包含腫瘤活檢分析、血清標記物分析及/或活體內成像。在一些實施例中，選擇步驟(i)包含如本文所述之活體內成像技術。在一些實施例中，該方法進一步包含監測如本文所述之治療反應。

【0452】 在一些實施例中，進行活體內成像以監測個體中對TGFβ1抑制療法之治療反應。活體內成像可包含本文中所述之成像技術中之任一者，且量測本文中所述之標記物及/或參數中之任一者。舉例而言，在肝纖維化之情況下，治療反應可包含減少之肝脂肪變性、降低之三酸甘油酯含量、減少之ECM沈積/纖維化、減少之肝硬化及/或減少之疾病進展。在一些實施例中，如藉由MRI所量測，用如本文所述之同工型特異性TGFB1抑制劑治療會將肝內三酸甘油酯含量降至≤ 5.5%之量。在癌症之情況下，治療反應可包含將免疫排除腫瘤轉化成發炎腫瘤(其與增加之免疫細胞浸潤於腫瘤中相關)、降低之腫瘤尺寸及/或減少之疾病進展。增加之免疫細胞浸潤可藉由瘤內免疫細胞出現或偵測信號，諸如放射性標記及螢光之程度增加來觀測。

【0453】 在一些實施例中，用於診斷、選擇、治療或監測患者之活體內成像包含MDSC追蹤，諸如G-MDSC (亦稱為PMN-MDSC)及M-MDSC。舉例而言，MDSC可在基線下富集在疾病位點(諸如纖維變性組織及實體腫瘤)。在療法(例如，TGFβ1抑制劑療法)後，如藉由降低之標記(諸如放射性同位素及螢光)之強度所量測，可觀測到較少MDSC，其指

示治療作用。

【0454】在一些實施例中，活體內成像包含追蹤或定位LRRC33陽性細胞。LRRC33陽性細胞包括例如MDSC及活化類M2巨噬細胞(例如，與纖維變性組織相關之TAM及活化巨噬細胞)。舉例而言，LRRC33陽性細胞可在基線下富集在疾病位點(諸如纖維變性組織及實體腫瘤)。在療法(例如，TGFβ1抑制劑療法)後，如藉由降低之標記(諸如放射性同位素及螢光)之強度所量測，可觀測到較少表現細胞表面LRRC33之細胞，其指示治療作用。

【0455】在一些實施例中，本文中所述之活體內成像技術可包含使用PET-SPECT、MRI及/或光學螢光/生物發光以便偵測相關細胞。

【0456】在一些實施例中，用偵測部分標記抗體或類抗體分子可包含直接標記或間接標記。

【0457】在一些實施例中，偵測部分可為追蹤劑。在一些實施例中，追蹤劑可為放射性同位素，其中視情況地，放射性同位素可為發射正電子同位素。在一些實施例中，放射性同位素係選自由以下組成之群：18F、11C、13N、15O、68Ga、177Lu、18F及89Zr。

【0458】因此，此類方法可用於在免疫-PET中伴隨使用標記抗體來進行活體內成像。

多種修飾及變異體

【0459】本發明所涵蓋的抗體或其抗原結合片段中之任一者的非限制性變化、修飾及特徵簡要地論述於下文中。亦提供相關分析方法之實施例。

【0460】天然存在之抗體結構單元通常包含四聚體。各此類四聚體

通常由多肽鏈之兩對相同多肽鏈構成，各對具有一個全長「輕」鏈(在某些實施例中，約25 kDa)及一個全長「重」鏈(在某些實施例中，約50至70 kDa)。各鏈之胺基端部分通常包括通常負責抗原識別之具有約100至110個或更多胺基酸之可變區。各鏈之羧基端部分通常界定可負責效應功能之恆定區。人類抗體輕鏈通常分為κ輕鏈及λ輕鏈。重鏈通常分為μ、δ、γ、α或ε，且界定抗體之同型。抗體可具有任何類型(例如，IgM、IgD、IgG、IgA、IgY及IgE)及類別(例如，IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgM_1、IgM_2、IgA_1及IgA_2)。在全長輕鏈及重鏈中，可變區及恆定區通常係由約12或更多個胺基酸之「J」區連接，同時重鏈亦包括約10或更多個胺基酸之「D」區(參見例如Fundamental Immunology, 第7章 (Paul, W. 編, 第2版 Raven Press, N.Y. (1989)) (其以全文引用之方式併入))。各輕鏈/重鏈對之可變區通常形成抗原結合位點。

【0461】在一些實施例中，使用如在Karlin及Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-77, 1993中經修改的Karlin及Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-68, 1990之演算法來測定兩個胺基酸序列之「百分比一致性」。此類演算法併入至Altschul等人 J. Mol. Biol. 215:403-10, 1990之NBLAST及XBLAST程式(版本2.0)中。BLAST蛋白質檢索可用XBLAST程式(評分=50，字長=3)進行以獲得與所關注蛋白質同源之胺基酸序列。當兩個序列之間存在間隙(gap)時，可如Altschul等人, Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402, 1997中所述利用間隙式BLAST。在利用BLAST及間隙式BLAST程式時，可使用各別程式(例如XBLAST及NBLAST)之預設參數。

【0462】在本文中所述之抗體或抗原結合片段中之任一者中，可將

一或多個保守突變引入至CDR或構架序列中的殘基不大可能參與抗體-抗原相互作用的位置處。在一些實施例中，此類一或多個保守突變可引入至CDR或構架序列中的，如基於晶體結構而判定的殘基不大可能參與與GARP-TGFβ1複合物、LTBP1-TGFβ1複合物、LTBP3-TGFβ1複合物及LRRC33-TGFβ1複合物相互作用的一或多個位置處。在一些實施例中，可由關於共有結構相似性之另一抗原的已知結構資訊推斷可能界面(例如，參與抗原-抗體相互作用之殘基)。

【0463】 如本文所用，「保守胺基酸取代」係指其中進行胺基酸取代不會改變蛋白質之相對電荷或尺寸特徵的胺基酸取代。可根據一般熟習此項技術者已知的改變多肽序列之方法製備變異體，諸如見於彙編此類方法之參考文獻，例如，Molecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook等人編, 第二版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989或Current Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel等人編, John Wiley & Sons, Inc., New York。胺基酸之保守取代包括在以下群組中的胺基酸中進行的取代：(a) M、I、L、V；(b) F、Y、W；(c) K、R、H；(d) A、G；(e) S、T；(f) Q、N；及(g) E、D。

【0464】 可變區通常展現由三個高變區(亦稱為互補決定區或CDR)連接之相對保守構架區(FR)之相同通用結構。來自各對之兩條鏈之CDR通常由構架區對準，其可實現與特異性抗原決定基結合。輕鏈及重鏈可變區之N端至C端均通常包含FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及FR4域。胺基酸至各域之指配係通常根據Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health, Bethesda, Md.

(1987與1991))或Chothia & Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917；Chothia等人 (1989) Nature 342: 878-883之定義。輕鏈之CDR亦可稱作L-CDR1、L-CDR2及L-CDR3，且重鏈之CDR亦可稱作H-CDR1、H-CDR2及H-CDR3。在一些實施例中，抗體可包含自重鏈之羧基端的少數胺基酸缺失。在一些實施例中，抗體包含在重鏈之羧基端處具有1至5個胺基酸缺失的重鏈。在某些實施例中，CDR之確定性描繪及包含抗體之結合位點之殘基的確認係藉由求解抗體之結構及/或求解抗體-配位體複合物之結構來實現。在某些實施例中，其可藉由熟習此項技術者已知的多種技術中任一者來實現，諸如X射線結晶法。在一些實施例中，可採用各種分析方法以鑑別或近似鑑別CDR區。此類方法之實例包括(但不限於)Kabat定義、Chothia定義、AbM定義及接觸定義(contact definition)。

【0465】「親和性成熟」抗體為在其一或多個CDR中伴隨一或多種變化之抗體，其在相較於不具有彼等變化之親本抗體，抗體對抗原之親和性方面產生改良。例示性親和性成熟抗體將對目標抗原具有奈莫耳或甚至皮莫耳親和性。藉由此項技術中已知的程序產生親和性成熟抗體。Marks等人 (1992) Bio/Technology 10: 779-783描述了藉由VH及VL域改組進行之親和性成熟。CDR及/或構架殘基之隨機突變誘發由Barbas等人 (1994) Proc Nat. Acad. Sci. USA 91: 3809-3813；Schier等人 (1995) Gene 169: 147- 155；Yelton等人, (1995) J. Immunol. 155: 1994-2004；Jackson等人 (1995) J. Immunol. 154(7): 3310-9；及Hawkins等人 (1992) J. Mol. Biol. 226: 889-896加以描述；且選擇性突變誘發位置、接觸或超突變位置處之伴隨活性提高之胺基酸殘基的選擇性突變描述於美國專利第6,914,128號中。

【0466】 術語「CDR移植抗體」係指包含來自一種物種之重鏈及輕鏈可變區序列，但其中VH及/或VL之一或多個CDR區之序列經另一物種之CDR序列置換的抗體，諸如具有其中一或多個人類CDR(例如CDR3)已經鼠類CDR序列置換之鼠類重鏈及輕鏈可變區的抗體。

【0467】 術語「嵌合抗體」係指包含來自一個物種之重鏈及輕鏈可變區序列及來自另一物種之恆定區序列的抗體，諸如具有連接至人類恆定區之鼠類重鏈及輕鏈可變區的抗體。

【0468】 如本文所用，術語「構架」或「構架序列」係指可變區減去CDR剩餘之序列。由於CDR序列之精確界定可藉由不同系統確定，因此構架序列之含義相對應地需要不同解釋。六個CDR (輕鏈之L-CDR1、L-CDR2及L-CDR3以及重鏈之H-CDR1、H-CDR2及H-CDR3)亦將輕鏈及重鏈上之構架區劃分成各鏈上的四個子區(FR1、FR2、FR3及FR4)，其中CDR1定位於FR1與FR2之間；CDR2定位於FR2與FR3之間；且CDR3定位於FR3與FR4之間。在不將特定子區指定為FR1、FR2、FR3或FR4的情況下，如由其他所指之構架區表示單一、天然存在之免疫球蛋白鏈之可變區內的組合FR。如本文所用，FR表示四個子區中之一者，且FR表示構成構架區之四個子區中的兩者或更多者。

【0469】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合部分包含以下之重鏈免疫球蛋白恆定域：人類IgM恆定域、人類IgG恆定域、人類IgG1恆定域、人類IgG2恆定域、人類IgG2A恆定域、人類IgG2B恆定域、人類IgG2恆定域、人類IgG3恆定域、人類IgG4恆定域、人類IgA恆定域、人類IgA1恆定域、人類IgA2恆定域、人類IgD恆定域或人類IgE恆定域。在一些實施例中，抗體或其抗原結合部分包含人類IgG1恆定域或人類IgG4

恆定域之重鏈免疫球蛋白恆定域。在一些實施例中，抗體或其抗原結合部分包含人類IgG4恆定域之重鏈免疫球蛋白恆定域。在一些實施例中，抗體或其抗原結合部分包含人類IgG4恆定域之重鏈免疫球蛋白恆定域，該人類IgG4恆定域具有Ser主鏈取代為Pro，其產生類IgG1鉸鏈其准許形成鏈間二硫鍵。

【0470】在一些實施例中，本文所提供之抗體包含賦予抗體期望特性之突變。舉例而言，為了避免因Fab-臂交換(已知其伴隨原生IgG4 mAb發生)所致之可能併發症本文所提供之抗體可包含穩定化『Adair』突變(Angal等 人, 「A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human (IgG4) antibody」, Mol Immunol 30, 105-108; 1993)，其中絲胺酸228 (EU編號；殘基241 (Kabat編號))轉化成脯胺酸，產生類IgG1 (CPPCP (SEQ ID NO: 54))鉸鏈序列。因此，抗體中之任一者可包括穩定化『Adair』突變或胺基酸序列CPPCP (SEQ ID NO: 54)。

【0471】在一些實施例中，抗體或其抗原結合部分進一步包含輕鏈免疫球蛋白恆定域，其包含人類Ig λ恆定域或人類Ig κ恆定域。

【0472】在一些實施例中，抗體為具有為兩條重鏈及兩條輕鏈之四條多肽鏈的IgG。

【0473】在一些實施例中，其中抗體為人類化抗體、雙功能抗體(diabody)或嵌合抗體。在一些實施例中，抗體為人類化抗體。在一些實施例中，抗體為人類抗體。在一些實施例中，抗體包含具有人類生殖系胺基酸序列之構架。

【0474】在一些實施例中，抗原結合部分為Fab片段、F(ab')2片

段、scFab片段或scFv片段。

【0475】 如本文所用，術語「生殖系抗體基因」或「基因片段」係指由未經歷導致基因重排及突變以表現特定免疫球蛋白之成熟過程的非淋巴細胞編碼的免疫球蛋白序列(參見例如Shapiro等人 (2002) Crit. Rev. Immunol. 22(3): 183-200；Marchalonis等人 (2001) Adv. Exp. Med. Biol. 484: 13-30)。本發明之多個實施例所提供優點之一源自認知生殖系抗體基因比成熟抗體基因更可能保留物種中個體的必需胺基酸序列結構特徵，因此當治療上用於該物種時，不大可能識別為來自外源。

【0476】 如本文所用，術語「中和」係指當結合蛋白特異性結合至抗原時，抵消抗原之生物活性。在一個實施例中，中和結合蛋白結合至抗原/目標，例如細胞介素、激酶、生長因子、細胞表面蛋白、可溶性蛋白、磷酸酶或受體配位體，且使其生物學活性降低至少約20%、40%、60%、80%、85%、90%、95%、96%、97%。98%、99%或更多。

【0477】 如本文所用，術語「結合蛋白」包括特異性結合至抗原(例如TGFβ1)之任何多肽，包括(但不限於)抗體或其抗原結合部分、DVD-IgTM、TVD-Ig、RAb-Ig、雙特異性抗體及雙重特異性抗體。

【0478】 術語「單株抗體」或「mAb」，當用於包含彼等之組合物時，可指由實質上均質抗體之群獲得的抗體製備物，亦即包含該群之個別抗體為相同的，除了可能少量存在的可能天然存在之突變之外。單株抗體針對單一抗原具有高度特異性。此外，與通常包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體的多株抗體製備物相反，各mAb係針對抗原上之單一決定子。修飾語「單株」不應解釋為需要藉由任何特定方法來產生抗體。

【0479】 如本文所用，術語「重組人類抗體」意欲包括藉由重組手

段製備、表現、產生或分離的所有人類抗體，諸如使用轉染於宿主細胞中之重組表現載體所表現的抗體(進一步描述於下文章節II C)；自重組、組合人類抗體庫分離之抗體(Hoogenboom, H.R. (1997) TIB Tech. 15: 62-70；Azzazy, H.及Highsmith, W.E. (2002) Clin. Biochem. 35: 425-445；Gavilondo, J.V.及Larrick, J.W. (2002) BioTechniques 29: 128-145；Hoogenboom, H.及Chames, P. (2000) Immunol. Today 21: 371-378，以引用之方式併入本文中)；自人類免疫球蛋白基因之轉殖基因的動物(例如小鼠)分離的抗體(參見Taylor, L. D.等人 (1992) Nucl. Acids Res. 20: 6287-6295；Kellermann, S-A.及Green, L.L. (2002) Cur. Opin. in Biotechnol. 13: 593-597；Little, M.等人 (2000) Immunol. Today 21: 364-370)；或藉由任何涉及人類免疫球蛋白基因序列剪接至其他DNA序列的其他手段製備、表現、產生或分離的抗體。此類重組人類抗體具有衍生自人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區及恆定區。然而，在某些實施例中，該等重組人類抗體經活體外突變誘發(或當使用人類Ig序列之動物轉殖基因時，經活體內體細胞突變誘發)，且因此重組抗體之VH及VL區之胺基酸序列雖然衍生自且關於人類生殖系VH及VL序列，但該等胺基酸序列為可能非天然存在於活體內人類抗體生殖系庫(repertoire)內之序列。

【0480】 在一些實施例中，抗體或抗原結合部分為抗體片段，例如(i) Fab片段，由VL、VH、CL及CH1域組成之單價片段；(ii) F(ab')2片段，包含由鉸鏈區處之二硫橋鍵連接的兩個Fab片段的二價片段；(iii)由VH及CH1域組成之Fd片段；(iv)由抗體之單臂之VL及VH域組成的Fv片段；(v)單鏈Fv (scFv)分子；(vi) dAb片段；或(vii)由模仿抗體之高變區(例如，分離互補決定區(CDR))的胺基酸殘基組成之最小識別單位。在一

些實施例中，抗體或抗原結合部分為(i)「雙重可變域免疫球蛋白」或「DVD-IgTM」；(ii)「三重可變域免疫球蛋白」或「TVD-Ig」；(iii)「受體-抗體免疫球蛋白」或「RAb-Ig」；(iv)「雙特異性抗體」或(v)「雙重特異性抗體」。

【0481】 如本文所用，「雙可變域免疫球蛋白」或「DVD-IgTM」及其類似者包括包含配對重鏈DVD多肽及輕鏈DVD多肽之結合蛋白，其中各配對重鏈及輕鏈提供兩個抗原結合位點。各結合位點包括總共6個參與每個抗原結合位點之抗原結合的CDR。DVD-IgTM通常具有至少部分地藉由CH3域之二聚彼此結合的兩個臂，其中DVD之各臂為雙特異性的，提供具有四個結合位點之免疫球蛋白。DVD-IgTM提供於美國專利公開案第2010/0260668號及第2009/0304693號中，其各自以引用之方式併入本文中，包括序列表。

【0482】 如本文所用，「三重可變域免疫球蛋白」或「TVD-Ig」及其類似者為包含配對重鏈TVD結合蛋白多肽及輕鏈TVD結合蛋白多肽之結合蛋白，其中各配對重鏈及輕鏈提供三個抗原結合位點。各結合位點包括總共6個參與每個抗原結合位點之抗原結合的CDR。TVD結合蛋白可具有至少部分地藉由CH3域之二聚彼此結合的兩個臂，其中TVD結合蛋白之各臂為三特異性的，提供具有六個結合位點之結合蛋白。

【0483】 如本文所用，「受體-抗體免疫球蛋白」或「RAb-Ig」及其類似者為包含重鏈RAb多肽及輕鏈RAb多肽之結合蛋白，該重鏈RAb多肽及該輕鏈RAb多肽一起形成總共三個抗原結合位點。一個抗原結合位點係藉由以下形成：重鏈RAb多肽及輕鏈RAb多肽中之每一者中所存在的重鏈及輕鏈抗體可變域進行配對以形成具有總共6個CDR之單一結合位點，提

供第一抗原結合位點。各重鏈RAb多肽及輕鏈RAb多肽包括受體序列，其獨立地結合配位體，提供第二及第三「抗原」結合位點。RAb-Ig通常具有至少部分地藉由CH3域之二聚彼此結合的兩個臂，其中RAb-Ig之各臂為三特異性的，提供具有六個結合位點之免疫球蛋白。RAb-Ig描述於美國專利申請公開案第2002/0127231號中，其全部內容，包括序列表係以引用之方式併入本文中)。

【0484】 如本文所用且如與「雙特異性半Ig結合蛋白」或「雙特異性(半Ig)結合蛋白」區分，術語「雙特異性抗體」係指藉由以下產生之全長抗體：四源雜交瘤(quadroma)技術(參見Milstein, C.及Cuello, A.C. (1983) Nature 305(5934): 第537-540頁)；兩種不同單株抗體之化學結合(參見Staerz, U.D.等人 (1985) Nature 314(6012): 628-631)；或杵臼或類似方法，其將突變引入Fc區中，其不會抑制CH3-CH3二聚(參見Holliger, P.等人 (1993) Proc. Natl. Acad. Sci USA 90(14): 6444-6448)，產生多種不同免疫球蛋白物種，其中僅一者為功能性雙特異性抗體。藉由分子功能，雙特異性抗體在其兩個結合臂中之一者(一對HC/LC)上結合一個抗原(或抗原決定基)，且在其第二臂(不同的HC/LC對)上結合不同抗原(或抗原決定基)。藉由此定義，雙特異性抗體具有兩個不同抗原結合臂(在特異性及CDR序列兩者方面)，且對於其所結合之各抗原呈單價。

【0485】 如本文所用且如與雙特異性半-Ig結合蛋白或雙特異性結合蛋白區分，術語「雙重特異性抗體」係指可在其兩個結合臂中之每一者(一對HC/LC)處結合兩個不同抗原(或抗原決定基)的全長抗體(參見PCT公開案第WO 02/02773號)。因此，雙重特異性結合蛋白具有兩個相同抗原結合臂，伴隨相同特異性及相同CDR序列，且對於其所結合之各抗原呈二

價。

【0486】如本文所用，術語「Kon」意欲指結合蛋白(例如，抗體)締合至抗原以形成例如如此項技術中已知的抗體/抗原複合物的締合速率常數。如在本文中可互換使用，「Kon」亦由術語「締合速率常數」或「ka」已知。指示抗體至其目標抗原之結合速率或在抗體與抗原之間形成複合物之速率的此值亦由以下方程式所示：抗體(「Ab」) + 抗原(「Ag」)→Ab-Ag。

如本文所用，術語「Koff」意欲指自例如此項技術中已知的抗體/抗原複合物解離結合蛋白(例如抗體)的解離速率常數。如在本文中可互換使用，「Koff」亦由術語「解離速率常數」或「kdis」已知。此值指示抗體自其目標抗原之解離速率或Ab-Ag複合物隨時間分離成游離抗體及抗原，如由以下方程式所示：Ab + Ag←Ab-Ag。

【0487】如在本文中可互換使用，術語「平衡解離常數」或「KD」係指在平衡下之滴定量測中或藉由解離速率常數(Koff)除以締合速率常數(Kon)獲得的值。締合速率常數、解離速率常數及平衡解離常數用於表示結合蛋白(例如抗體)與抗原之結合親和性。測定締合及解離速率常數之方法在此項技術中所熟知。使用基於螢光之技術提供高敏感度及檢查在平衡下之生理緩衝液中之樣本的能力。可使用其他實驗方法及儀器，諸如BIAcore®(生物分子相互作用分析)分析(例如可購自BIAcore International AB (一家GE Healthcare公司)，Uppsala, Sweden之儀器)。另外，亦可使用可購自Sapidyne Instruments (Boise,Idaho)之KinExA®(動力排除分析)分析。

【0488】如本文所用，術語「晶體」及「結晶的」係指以晶體形式

存在的結合蛋白(例如，抗體)或其抗原結合部分。晶體為物質之一種固態形式，其不同於諸如非晶形固態或液晶態之其他形式。晶體係由原子、離子、分子(例如蛋白質，諸如抗體)或分子集合體(例如抗原/抗體複合物)之規則、重複、三維陣列構成。此等三維陣列係根據本領域中充分瞭解之特定數學關係排列。在晶體中重複之基本單元或建構嵌段稱為不對稱單元。以符合給定之經良好定義的晶體學對稱性之排列重複不對稱單元提供晶體之「單位晶胞」。所有三個維度上單位晶胞藉由規則變換進行重複提供晶體。參見Giege, R.及Ducruix, A. Barrett, Crystallization of Nucleic Acids and Proteins, a Practical Approach, 第2版, 第201-16頁, Oxford University Press, New York, New York, (1999)。

【0489】術語「連接子」用於表示包含藉由肽鍵連接的兩個或更多個胺基酸殘基之多肽，且用於連接一或多個抗原結合部分。此類連接子多肽為此項技術中熟知(參見例如，Holliger, P.等人 (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448；Poljak, R.J.等人 (1994) Structure 2:1121-1123)。例示性連接子包括(但不限於)：ASTKGPSVFPLAP (SEQ ID NO: 55)；ASTKGP (SEQ ID NO: 56)；TVAAPSVFIFPP (SEQ ID NO: 57)；TVAAP (SEQ ID NO: 58)；AKTTPKLEEGEFSEAR (SEQ ID NO: 59)；AKTTPKLEEGEFSEARV (SEQ ID NO: 60)；AKTTPKLGG (SEQ ID NO: 61)；SAKTTPKLGG (SEQ ID NO: 62)；SAKTTP (SEQ ID NO: 63)；RADAAP (SEQ ID NO: 64)；RADAAPTVS (SEQ ID NO: 65)；RADAAAAGGPGS (SEQ ID NO: 66)；RADAAAA(G4S)4 (SEQ ID NO: 67)；SAKTTPKLEEGEFSEARV (SEQ ID NO: 68)；ADAAP (SEQ ID NO: 69)；ADAAPTVSIFPP (SEQ ID NO: 70)；QPKAAP (SEQ

ID NO: 71)；QPKAAPSVTLFPP (SEQ ID NO: 72)；AKTTPP (SEQ ID NO: 73)；AKTTPPSVTPLAP (SEQ ID NO: 74)；AKTTAP (SEQ ID NO: 75)；AKTTAPSVYPLAP (SEQ ID NO: 76)；GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 77)；GENKVEYAPALMALS (SEQ ID NO: 78)；GPAKELTPLKEAKVS (SEQ ID NO: 79)；GHEAAAVMQVQYPAS (SEQ ID NO: 80)；TVAAPSVFIFPPTVAAPSVFIFPP (SEQ ID NO: 81)；及ASTKGPSVFPLAPASTKGPSVFPLAP (SEQ ID NO: 82)。

【0490】「標記」及「可偵測標記」或「可偵測部分」意謂附接至特異性結合搭配物，諸如抗體或分析物以使特異性結合對之成員，諸如可偵測之抗體及分析物與特異性結合搭配物，例如抗體或分析物之間發生反應的部分，因此經標記(labeled)稱為「可偵測地標記(detectably labeled)」。因此，如本文所用，術語「經標記之結合蛋白」係指併入有標記以便鑑別結合蛋白之蛋白質。在一實施例中，標記為可產生可藉由目視或儀器方式偵測的信號之可偵測標記物，例如併入放射性標記之胺基酸或將可藉由經標記之抗生蛋白(例如，含有可藉由光學或比色方法偵測之螢光標記物或酶促活性的抗生蛋白鏈菌素)偵測之生物素基部分連接至多肽。多肽之標記之實例包括(但不限於)以下：放射性同位素或放射性核種(例如^{3}H、^{14}C、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I、^{177}Lu、^{166}Ho及^{153}Sm)；色素原；螢光標記(例如FITC、若丹明、鑭系磷光體)；酶標記(例如辣根過氧化酶、螢光素酶及鹼性磷酸酶)；化學發光標記物；生物素基；藉由二級報導體識別之預先確定的多肽抗原決定基(例如白胺酸拉鏈對序列、二級抗體之結合位點、金屬結合域及抗原決定基標籤)；及磁性劑，諸如釓螯合物。通常用於免疫分析之標記之代表性實例包括產生光之

部分(例如，吖錠化合物)及產生螢光之部分(例如，螢光素)。其他標記描述於本文中。就此而言，部分自身可能不為可偵測標記的但可在與又一部分反應之後變得可偵測。「可偵測標記」之使用意欲涵蓋可偵測標記之後一類型。

【0491】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合部分與抗原(例如，蛋白質複合物)，諸如呈遞分子-proTGFβ1複合物之結合親和性係使用Octet分析測定。在一些實施例中，Octet分析為一種測定指示抗體與抗原之間的結合的一或多個動力學參數的分析。在一些實施例中，使用Octet®系統(ForteBio, Menlo Park, CA)來測定抗體或其抗原結合部分與呈遞分子-proTGFβ1複合物之結合親和性。舉例而言，抗體之結合親和性可使用fortéBio Octet QKe dip and read無標記分析系統，利用生物層干涉術來測定。在一些實施例中，將抗原固定至生物感測器(例如，經抗生蛋白鏈菌素塗佈之生物感測器)，且抗體及複合物(例如，經生物素標記之呈遞分子-proTGFβ1複合物)以高濃度(50 μg/mL)存在於溶液中以量測結合相互作用。在一些實施例中，抗體或其抗原結合部分與呈遞分子-proTGFβ1複合物之結合親和性係使用表14中所概述之方案測定。

【0492】 根據本發明之抗體包括pH敏感之抗體。在一些實施例中，此類抗體或其片段以pH依賴性方式結合目標複合物，使得在中性或生理pH下出現相對較高親和性結合，但在酸性pH下抗體自其抗原較快解離；或解離速率在酸性pH下要比在中性pH下高。此類抗體或其片段可充當循環抗體。此類抗體亦可稱作「pH敏感之」抗體。

【0493】 因此，本發明涵蓋選擇性結合proTGFβ1複合物之pH敏感之抗體，其特徵在於相較於在酸性pH (例如，約pH 5)下，該等抗體在中

性pH (例如，約pH 7)下具有較低解離速率。一種此類抗體之pH依賴性結合概況提供於本文中之實例14中。

【0494】 在一些實施例中，根據本發明之抗體可誘導包含結合至細胞表面上之LRRC33或GARP的proTGFβ1之複合物內化。在一些實施例中，抗體為根據本發明之細胞締合之TGFβ1 (例如，經GARP呈遞之proTGFβ1及經LRRC33呈遞之proTGFβ1)之抑制劑包括特異性結合該複合物(例 如 ，GARP-proTGFβ1/潛 伏TGFβ1及LRRC33-proTGFβ1/潛 伏TGFβ1)之抗體或其片段，藉此觸發複合物之內化(例如，內飲作用)。此作用模式引起非活性TGFβ1複合物自細胞表面(例如，Treg、巨噬細胞、MDSC等)移除或耗竭，因此減少可用於活化之潛伏TGFβ1。此類抗體或其片段可充當循環抗體。此類抗體亦可稱作「pH敏感之」抗體。

【0495】 在一些實施例中，如藉由適合親和性分析(例如，生物層干涉術、表面電漿子共振及/或溶液平衡滴定)所量測，此類「pH敏感之」抗體在pH 5下之K_{dis} (亦稱為K_{off}) ≥ 5×10^{-3} s^{-1} (例如，≥ 5.1×10^{-3}、≥ 5.2×10^{-3}、≥ 5.3×10^{-3}、≥ 5.4×10^{-3}、≥ 5.5×10^{-3}、≥ 5.6×10^{-3}、≥ 5.7×10^{-3}、≥ 5.8×10^{-3}、≥ 5.9×10^{-3}或≥ 6.0×10^{-3})。在一特定實施例中，此類「pH敏感之」抗體在pH 5下之K_{dis} ≥ 5.6×10^{-3}。

在一些實施例中，如藉由適合親和性分析(例如，生物層干涉術、表面電漿子共振及/或溶液平衡滴定)所量測，此類「pH敏感之」抗體具有pH 5 K_{dis}至pH 7 K_{dis}比率(亦即在pH 5之K_{dis}: 在pH 7之K_{dis}) ≥ 1.5 (例如，≥ 1.6、≥ 1.7、≥ 1.8、≥ 1.9或≥ 2.0)。在一特定實施例中，如藉由生物層干涉術所量測，此類「pH敏感之」抗體之K_{dis}比率為≥ 2.0。

篩選方法；製造

【0496】 本發明涵蓋結合以下中之每一者的抗體或其片段的篩選方法、製造方法及製造製程：GARP-proTGFβ1複合物、LTBP1-proTGFβ1複合物、LTBP3-proTGFβ1複合物及LRRC33-proTGFβ1複合物；及包含該等抗體或其片段之醫藥組合物及相關套組。

【0497】 可使用多種方法來獲得本發明之抗體或其抗原結合片段。舉例而言，可使用重組DNA法產生抗體。亦可藉由根據已知方法生成融合瘤來產生單株抗體(參見例如，Kohler及Milstein (1975) Nature, 256: 495-499)。隨後使用標準方法，諸如酶聯結免疫吸附劑分析法(ELISA)及表面電漿子共振(例如，OCTET®或BIACORE)分析篩選以此方式形成之融合瘤，以鑑別產生特異性結合至指定抗原之抗體的一或多種融合瘤。指定抗原之任何形式可用作免疫原，例如重組抗原、天然存在之形式、任何變異體或其片段以及其抗原肽(例如，作為線性抗原決定基或處於骨架內的作為構形抗原決定基的本文中所述之抗原決定基中之任一者)。製造抗體之一種例示性方法包括篩選表現抗體或其片段(例如，scFv)之蛋白質表現庫，例如噬菌體或核糖體展示庫。噬菌體展示描述於例如Ladner等人，美國專利第5,223,409號；Smith (1985) Science 228:1315-1317；Clackson等人 (1991) Nature, 352: 624-628；Marks等人 (1991) J. Mol. Biol., 222: 581-597；WO 92/18619；WO 91/17271；WO 92/20791；WO 92/15679；WO 93/01288；WO 92/01047；WO 92/09690；及WO 90/02809。

【0498】 除了使用展示庫外，指定抗原(例如，呈遞分子-TGFβ1複合物)可用於免疫接種非人類宿主，例如兔、天竺鼠、大鼠、小鼠、倉鼠、綿羊、山羊、雞、駱駝以及諸如鯊魚之非哺乳動物宿主。在一個實施

例中，非人類動物為小鼠。

【0499】 在另一實施例中，單株抗體係由非人類動物獲得，且隨後使用適合重組DNA技術加以修飾，例如嵌合。已描述多種用於製造嵌合抗體之方法。參見例如，Morrison等人, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 81:6851, 1985；Takeda等人, Nature 314:452, 1985；Cabilly等人, 美國專利第4,816,567號；Boss等人, 美國專利第4,816,397號；Tanaguchi 等人, 歐洲專利公開案EP171496；歐洲專利公開案0173494；英國專利GB 2177096B。

【0500】 對於另外的抗體產生技術，參見Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow等人編, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988。本發明不必限制於抗體之任何特定來源、製造方法或其他特殊特徵。

【0501】 本發明之一些態樣係關於經聚核苷酸或載體轉型之宿主細胞。宿主細胞可為原核或真核細胞。存在於宿主細胞中的聚核苷酸或載體可整合至宿主細胞之基因組中或其可維持在染色體外。該宿主細胞可為任何原或真核細胞，諸如細菌細胞、昆蟲細胞、真菌細胞、植物細胞、動物細胞或人類細胞。在一些實施例中，真菌細胞為例如酵母菌屬之真菌細胞，尤其釀酒酵母物種之真菌細胞。術語「原核(prokaryotic)」包括可經DNA或RNA分子轉型或轉染以表現抗體或相應免疫球蛋白鏈的所有細菌。原核宿主可包括革蘭氏陰性以及革蘭氏陽性細菌，諸如大腸桿菌(*E. coli*)、鼠傷寒沙門桿菌(*S. typhimurium*)、黏質沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)及枯草芽孢桿菌(*Bacillus subtilis*)。術語「真核」包括酵母、高級植物、昆蟲及脊椎動物細胞，例如哺乳動物細胞，諸如NSO及CHO細胞。視重組製造程序中所用之宿主而定，由聚核苷酸編碼之抗體

或免疫球蛋白鏈可為糖基化或可為非糖基化的。抗體或相應免疫球蛋白鏈亦可包括初始甲硫胺酸胺基酸殘基。

【0502】在一些實施例中，在載體已併入至合適宿主中後，宿主可維持在適用於核苷酸序列之高度表現的條件下，且視需要，之後可進行免疫球蛋白輕鏈、重鏈、輕鏈/重鏈二聚體或完整抗體、抗原結合片段或其他免疫球蛋白形式之收集及純化；參見Beychok, Cells of Immunoglobulin Synthesis, Academic Press, N.Y., (1979)。因此，將聚核苷酸或載體引入至細胞中，其反過來產生抗體或抗原結合片段。此外，包含前述宿主細胞之轉殖基因動物，較佳哺乳動物，可用於大規模製造抗體或抗體片段。

【0503】轉型宿主細胞可在醱酵槽中生長且使用任何適合技術培養為達成最佳細胞生長。得到表現後，可根據此項技術之標準程序，包括硫酸銨沈澱、親和管柱、管柱層析、凝膠電泳及其類似者來純化完整抗體、其二聚體、個別輕鏈及重鏈、其他免疫球蛋白形式或抗原結合片段；參見Scopes,「Protein Purification」, Springer Verlag, N.Y. (1982)。抗體或抗原結合片段可隨後自生長培養基、細胞溶胞物或細胞膜部分分離。可藉由任何習知手段，諸如製備型層析分離及免疫分離，諸如涉及使用針對例如抗體之恆定區的單株或多株抗體的彼等分離，對例如經微生物表現之抗體或抗原結合片段進行分離及純化。

【0504】本發明之態樣係關於融合瘤，其提供單株抗體之無限期來源。作為直接自融合瘤之培養物獲得免疫球蛋白的替代方案，可使用永生化融合瘤細胞作為用於後續表現及/或基因操控的重排重鏈及輕鏈基因座之來源。重排抗體基因可自合適mRNA反轉錄以產生cDNA。在一些實施

例中，重鏈恆定區可與不同同型之重鏈恆定區交換或一起消除。可變區可經連接以編碼單鏈Fv區。多個Fv區可經連接以賦予與多於一種目標結合之能力，或可採用嵌合重鏈及輕鏈組合。可使用任何合適方法來選殖抗體可變區且生成重組抗體。

【0505】 在一些實施例中，獲得編碼重鏈及/或輕鏈之可變區的合適核酸，且將其插入至可轉染至標準重組宿主細胞中的表現載體。可使用多種此類宿主細胞。在一些實施例中，哺乳動物宿主細胞可有利於高效加工及製造。適用於此目的之典型哺乳動物細胞株包括CHO細胞、293細胞或NSO細胞。可藉由在適合於宿主細胞之生長及表現編碼序列之培養條件下培養經修飾之重組宿主來進行抗體或抗原結合片段之製造。抗體或抗原結合片段可藉由自培養物分離其來回收。表現系統可經設計以包括信號肽，以使得所得抗體分泌於培養基中；然而亦可進行細胞內製造。

【0506】 本發明亦包括編碼本文中所述之抗體之免疫球蛋白鏈的至少一個可變區的聚核苷酸。在一些實施例中，由聚核苷酸編碼之可變區包含由上述融合瘤中之任一者產生的抗體之可變區之VH及/或VL的至少一個互補決定區(CDR)。

【0507】 編碼抗體或抗原結合片段之聚核苷酸可為例如DNA、cDNA、RNA或經合成產生之DNA或RNA或經重組產生之嵌合核酸分子，其包含單獨或組合形式之彼等聚核苷酸中之任一者。在一些實施例中，聚核苷酸為載體之一部分。此類載體可包含其他基因，諸如標記基因，其使得可在適合宿主細胞中且在適合條件下選擇載體。

【0508】 在一些實施例中，聚核苷酸以可操作方式連接於允許在原核或真核細胞中進行表現的表現控制序列。聚核苷酸之表現包含將聚核苷

酸轉錄成可轉譯mRNA。確保在真核細胞(較佳哺乳動物細胞)中進行表現的調節元件已為熟習此項技術者熟知。其可包括促進轉錄開始之調節序列及視情況選用之促進轉錄結束及轉錄物之穩定的聚-A (poly-A)信號。其他調節元件可包括轉錄以及轉譯增強子，及/或天然相關的或異質啟動子區。准許原核宿主細胞中之表現的可能調節元件包括例如大腸桿菌中的PL、Lac、Trp或Tac啟動子，且准許真核宿主細胞中之表現的調節元件之實例為酵母中的AOX1或GAL1啟動子或哺乳動物及其他動物細胞中的CMV啟動子、SV40啟動子、RSV啟動子(勞斯肉瘤病毒(Rous sarcoma virus))、CMV強化子、SV40強化子或血球蛋白內含子。

【0509】 除負責轉錄起始之元件之外，此類調節元件亦可在聚核苷酸之下游包括轉錄終止信號，諸如SV40-聚-A位點或tk-聚-A位點。此外，視所用表現系統而定，能夠將多肽導引至細胞區室或將其分泌於培養基中的前導序列可添加至聚核苷酸之編碼序列，且先前已有描述。前導序列，且較佳地，能夠引導轉譯之蛋白質之分泌的前導序列或其一部分係在適當階段與轉譯、起始及終止序列一起組裝於細胞外介質中。視情況地，可使用異質聚核苷酸序列，其編碼包括C或N端鑑別肽之融合蛋白，該肽賦予所需特徵，例如經表現之重組產物的穩定或簡化純化。

【0510】 在一些實施例中，至少編碼輕鏈及/或重鏈之可變域的聚核苷酸可編碼兩個免疫球蛋白鏈或僅一者之可變域。同樣，聚核苷酸可處於同一啟動子控制下或可單獨地受控以供表現。此外，一些態樣係關於基因工程改造中所習知使用的載體，特定而言，質體、黏質體、病毒及噬菌體，其包含編碼抗體或抗原結合片段之免疫球蛋白鏈之可變域的聚核苷酸；其視情況與編碼抗體之另一免疫球蛋白鏈之可變域的聚核苷酸組合。

【0511】 在一些實施例中，表現控制序列提供為載體中能夠轉型或轉染真核宿主細胞的真核啟動子系統，但亦可使用原核宿主之控制序列。可使用源自諸如反轉錄病毒、痘瘡病毒、腺相關病毒、疱疹病毒或牛乳頭狀瘤病毒之病毒的表現載體來將聚核苷酸或載體遞送至目標細胞群中(例如，以對細胞進行工程改造來表現抗體或抗原結合片段)。可使用多種合適方法來構築重組病毒載體。在一些實施例中，聚核苷酸及載體可重建於脂質體中以遞送至目標細胞。含有聚核苷酸(例如，免疫球蛋白鏈編碼序列及表現控制序列的一或多個重鏈及/或輕鏈可變域)之載體可藉由適合方法轉移至宿主細胞中，其視細胞宿主類型而變化。

【0512】 篩選方法可包括評估或確認抗體或其片段之所需活性的步驟。在一些實施例中，該步驟包含選擇抑制目標功能，例如抑制成熟/可溶性生長因子(例如，TGFβ1)自潛伏複合物之釋放的能力。在較佳實施例中，該步驟包含基於細胞之效能分析，其中當proTGFβ複合物表現在細胞表面上時，藉由量測活化後培養基(例如，分析溶液)中所釋放的生長因子之量來分析一或多種測試抗體之抑制活性。釋放於培養基/溶液中的生長因子之量可藉由例如量測TGFβ活性來分析。適用的基於細胞之效能分析之非限制性實例描述於本文中之實例3中。

【0513】 在一些實施例中，篩選方法包含移除如藉由適合基於細胞之效能分析所量測，IC50大於5 nM (例如，大於10 nM)之抗體之步驟。在一些實施例中，篩選方法包含移除如藉由適合基於細胞之效能分析所量測 ， 對LTBP1-TGFβ1、LTBP3-TGFβ1、GARP-TGFβ1及/或LRRC33-TGFβ1之IC50大於5 nM (例如，大於10 nM)之抗體的步驟。

【0514】 在一些實施例中，篩選方法包含基於抗體對一或多種呈遞

分子-TGFb1親和性之偏向(或非偏向)選擇抗體之步驟。因此，在一些實施例中，篩選方法包含選擇具有對基質締合之TGFβ1複合物之偏向的抗體。在一些實施例中，篩選方法包含選擇對GARP-TGFβ1複合物、LTBP1-TGFβ1複合物、LTBP3-TGFβ1複合物及LRRC33-TGFβ1複合物具有相對相等親和性之抗體。

【0515】在一些實施例中，篩選方法包含選擇誘導ADCC之抗體或其片段的步驟。在一些實施例中，該步驟包含選擇積聚至活體內所需位點(例如，細胞類型、組織或器官)的抗體或其片段。在一些實施例中，該步驟包含選擇能夠穿過血腦屏障的抗體或其片段。該方法可視情況包括以下步驟：最佳化一或多個抗體或其片段，以得到具有如藉由諸如以下之準則所測定的期望概況之變異對應物：穩定性、結合親和性、功能性(例如，抑制活性、Fc功能等)、免疫原性、pH敏感性及可發展性(例如，高溶解度、低自結合等)。

【0516】在一些實施例中，篩選方法包含選擇pH敏感之抗體的步驟。在一些實施例中，篩選方法包含以下步驟：選擇如藉由適合親和性分析(例如，生物層干涉術、表面電漿子共振及/或溶液平衡滴定)所量測，pH 5下之$K_{dis} \geq 5 \times 10^{-3}\ s^{-1}$ (例如，$\geq 5.1 \times 10^{-3}$、$\geq 5.2 \times 10^{-3}$、$\geq 5.3 \times 10^{-3}$、$\geq 5.4 \times 10^{-3}$、$\geq 5.5 \times 10^{-3}$、$\geq 5.6 \times 10^{-3}$、$\geq 5.7 \times 10^{-3}$、$\geq 5.8 \times 10^{-3}$、$\geq 5.9 \times 10^{-3}$或$\geq 6.0 \times 10^{-3}$)之抗體。在一些實施例中，篩選方法包含以下步驟：選擇如藉由適合親和性分析(例如，生物層干涉術、表面電漿子共振及/或溶液平衡滴定)所量測，pH 5 K_{dis}至pH 7 K_{dis}比率(亦即，pH 5下之K_{dis}:pH 7下之K_{dis}) ≥ 1.5 (例如，≥ 1.6、≥ 1.7、≥ 1.8、≥ 1.9或≥ 2.0)之抗體。

修飾

【0517】 本發明之抗體或其抗原結合部分可經可偵測標記或可偵測部分修飾，其包括(但不限於)酶、輔基、螢光材料、發光材料、生物發光材料、放射性材料、發射正電子金屬、非放射性的順磁性金屬離子及親和性標籤，以供偵測及分離GARP-proTGFβ1複合物、LTBP1-proTGFβ1複合物、LTBP3-proTGFβ1複合物及/或LRRC33-proTGFβ1複合物。可偵測物質或部分可直接偶合或結合至本發明之多肽，或間接地經由中間物(諸如連接子(例如，可裂解連接子))，使用適合技術來偶合或結合至本發明之多肽。適合酶之非限制性實例包括辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶、β-半乳糖、葡萄糖氧化酶或乙醯膽鹼酯酶；適合輔基複合物之非限制性實例包括抗生蛋白鏈菌素/生物素及抗生蛋白/生物素；適合螢光物質之非限制性實例包括生物素、傘酮、螢光素、螢光異硫氰酸鹽、若丹明、二氯三嗪基胺螢光素、丹磺醯氯或藻紅素；發光材料之實例包括魯米諾(luminol)；生物發光物質之非限制性實例包括螢光素酶、螢光素及水母發光蛋白；且適合放射性材料之實例包括放射性金屬離子,例如α發射體或其他放射性同位素，諸如碘(^{131}I、^{125}I、^{123}I、^{121}I)、碳(^{14}C)、硫(^{35}S)、氚(^{3}H)、銦(^{115}mIn、^{113}mIn、^{112}In、^{111}In)及鎝(^{99}Tc、^{99}mTc)、鉈(^{201}Ti)、鎵(^{68}Ga、^{67}Ga)、鈀(^{103}Pd)、鉬(^{99}Mo)、氙(^{133}Xe)、氟(^{18}F)、^{153}Sm、Lu、^{159}Gd、^{149}Pm、^{140}La、^{175}Yb、^{166}Ho、^{90}Y、^{47}Sc、^{86}R、^{188}Re、^{142}Pr、^{105}Rh、^{97}Ru、^{68}Ge、^{57}Co、^{65}Zn、^{85}Sr、^{32}P、^{153}Gd、^{169}Yb、^{51}Cr、^{54}Mn、^{75}Se、鋯(^{89}Zr)及錫(^{113}Sn、^{117}Sn)。可偵測物質可直接偶合或結合至特異性結合至GARP-proTGFβ1複合物、LTBP1-proTGFβ1複合物、LTBP3-proTGFβ1複合物及/或LRRC33-proTGFβ1複合物或其任何組分的本發明

之抗體，或間接地經由中間物(諸如連接子)，使用適合技術來偶合或結合。與可偵測物質結合的本文所提供之抗體中之任一者可用於任何適合診斷分析，諸如本文中所述之分析。此類分析包括活體內成像，其可用於監測疾病進展及/或對療法，諸如本文中所述之TGFβ1抑制療法的反應。

【0518】 此外，本發明之抗體或其抗原結合部分亦可經藥物修飾。藥物可直接偶合或結合至本發明之多肽，或間接地經由中間物(諸如連接子(例如，可裂解連接子))，使用適合技術來偶合或結合至本發明之多肽。

靶向劑

【0519】 在一些實施例中，本發明之方法包含出於調節自GARP-proTGFβ1複合物、LTBP1-proTGFβ1複合物、LTBP3-proTGFβ1複合物及/或LRRC33-proTGFβ1複合物釋放成熟TGFβ之目的，使用一或多種靶向劑將如本文所揭示之抗體或其抗原結合部分靶向至個體中之特定位點。舉例而言，LTBP1-proTGFβ1複合物及LTBP3-proTGFβ1複合物通常定位至細胞外基質。因此，在一些實施例中，出於將抗體定位至LTBP締合之TGFβ1複合物所駐留之位點的目的，本文所揭示之抗體可與細胞外基質靶向劑結合。在此類實施例中，抗體之選擇性靶向引起LTBP1-proTGFβ1複合物及LTBP3-proTGFβ1複合物之選擇性調節。在一些實施例中，細胞外基質靶向劑包括肝素結合劑、基質金屬蛋白酶結合劑、離胺醯氧化酶結合域、原纖維蛋白結合劑、玻尿酸結合劑及其他靶向劑。

【0520】 類似地，GARP-proTGFβ1複合物及LRRC33-proTGFβ1複合物通常定位且錨定至細胞表面。前者表現於活化FOXP3+調節T細胞(Treg)上，而後者表現於骨髓細胞及一些癌細胞(諸如AML)上。因此，在

一些實施例中，出於將抗體定位至此等細胞締合之proTGFβ1複合物所駐留之位點的目的，本文所揭示之抗體可與免疫細胞(例如，Treg細胞、活化巨噬細胞等)結合劑結合。在此類實施例中，抗體之選擇性靶向引起選擇性抑制細胞締合之proTGFβ1複合物(舉例而言，例如在癌症治療中，出於免疫調節之目的，選擇性抑制成熟TGFβ1之釋放)。在此類實施例中，免疫細胞靶向劑可包括例如CCL22及CXCL12蛋白質或其片段。

【0521】 在一些實施例中，可使用雙特異性抗體，其具有選擇性地結合proTGFβ1複合物之第一部分及選擇性地結合目標位點之組分，例如ECM之組分(例如，原纖維蛋白)或Treg細胞之組分(例如，CTLA-4)的第二部分。

【0522】 如本文中進一步詳述，本發明預期同工型選擇性TGFβ1抑制劑，諸如本文中所述之抑制劑可用於促進或修復骨髓中之造血。因此，在一些實施例中，可將包含此類抑制劑(例如，高親和性的同工型選擇性TGFβ1抑制劑)的組合物靶向至骨髓。達成骨髓靶向之一個模式為使用優先靶向骨髓定位或積聚之某些載劑。舉例而言，可採用具有靶向骨髓特性之某些奈米粒子類載劑，例如基於脂質之奈米粒子或脂質體。參見例如Sou (2012) 「Advanced drug carriers targeting bone marrow」, ResearchGate公開案232725109。

醫藥組合物及調配物

【0523】 本發明進一步提供醫藥組合物，其用作適用於在人類及非人類個體中投藥之藥劑。本發明所涵蓋之一或多種同工型特異性抗體可與醫藥學上可接受之載劑(賦形劑)，包括例如緩衝劑調配或混合以形成醫藥組合物。此類調配物可用於治療涉及TGFβ信號傳遞之疾病或病症。在尤

其較佳實施例中，此類調配物可用於免疫-腫瘤學應用。

【0524】 可向患者投與本發明之醫藥組合物以緩解TGFβ相關適應症(例如，纖維化、免疫病症及/或癌症)。「可接受」意謂載劑與組合物之活性成分相容(且更佳能夠穩定活性成分)，且對所治療之個體無不利作用。醫藥學上可接受之賦形劑(載劑)之實例(包括緩衝劑)將對熟習此項技術者顯而易見，且先前已有描述。參見例如，Remington: The Science and Practice of Pharmacy 第20版 (2000) Lippincott Williams and Wilkins, K. E. Hoover編。在一個實例中，本文中所述之醫藥組合物含有多於一種特異性結合GARP-proTGFβ1複合物、LTBP1-proTGFβ1複合物、LTBP3-proTGFβ1複合物及LRRC33-proTGFβ1複合物的抗體，其中抗體識別複合物之不同抗原決定基/殘基。

【0525】 本發明方法中所用之醫藥組合物可包含呈凍乾調配物或水溶液形式的醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或穩定劑(Remington: The Science and Practice of Pharmacy 第20版 (2000) Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K. E. Hoover)。可接受載劑、賦形劑或穩定劑在所用劑量及濃度下對接受者無毒性，且可包含緩衝劑，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，其包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(諸如十八烷基二甲基苯甲基氯化銨；氯化六羥季銨；氯化苯甲烴銨、苄索氯銨；苯酚、丁醇或苯甲醇；對羥基苯甲酸烷酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(小於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合

物，包括葡萄糖、甘露糖或葡聚糖；螯合劑，諸如EDTA；糖，諸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇；成鹽抗衡離子，諸如鈉；金屬錯合物(例如Zn-蛋白質複合物)；及/或非離子界面活性劑，諸如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。本文中將進一步描述醫藥學上可接受之賦形劑。

【0526】 本發明亦包括包含根據本發明之抗體或其片段及醫藥學上可接受之賦形劑的醫藥組合物。

【0527】 因此，包含此類抗體之抗原結合片段的抗體或分子可調配於適用於人類投藥之醫藥組合物中。

【0528】 醫藥調配物可包括一或多種賦形劑。在一些實施例中，賦形劑可選自以下中所提供之清單：https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/index.Cfm?event=browseByLetter.page&Letter=A

【0529】 醫藥組合物通常調配至在約2 mg/mL與約200 mg/mL之間的活性生物製劑(例如，單株抗體、包含抗原結合片段中經工程改造之結合分子等)之最終濃度。舉例而言，調配物之最終濃度(wt/vol)可在介於以下之間的範圍內：約2至200、2至180、2至160、2至150、2至120、2至100、2至80、2至70、2至60、2至50、2至40、5至200、5至180、5至160、5至150、5至120、5至100、5至80、5至70、5至60、5至50、5至40、10至200、10至180、10至160、10至150、10至120、10至100、10至80、10至70、10至60、10至50、10至40、20至200、20至180、20至160、20至150、20至120、20至100、20至80、20至70、20至60、20至50、20至40、30至200、30至180、30至160、30至150、30至120、30至100、30至80、30至70、30至60、30至50、30至40、40至200、40至

180、40至160、40至150、40至120、40至100、40至80、40至70、40至60、40至50、50至200、50至180、50至160、50至150、50至120、50至100、50至80、50至70、50至60、60至200、60至180、60至160、60至150、60至120、60至100、60至80、60至70、70至200、70至180、70至160、70至150、70至120、70至100、70至80 mg/mL。在一些實施例中，調配物中的生物製劑之最終濃度為約10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190或200 mg/mL。

【0530】 本發明之醫藥組合物較佳調配有適合緩衝劑。適合緩衝劑包括(但不限於)：磷酸鹽緩衝劑、檸檬酸緩衝劑及組胺酸緩衝劑。

【0531】 調配物之最終pH通常在pH 5.0與8.0之間。舉例而言，醫藥組合物之pH可為約5.0、5.2、5.5、6.0、6.2、6.5、6.8、7.0、7.2、7.4、7.5、7.6或7.8。

【0532】 本發明之醫藥組合物可包含批准用於醫藥調配物中的界面活性劑，諸如非離子型清潔劑。此類界面活性劑包括例如聚山梨醇酯，諸如聚山梨醇酯20 (Tween-20)、聚山梨醇酯80 (Tween-80)及NP-40。

【0533】 本發明之醫藥組合物可包含穩定劑。對於液蛋白製備，可藉由選擇緩衝pH鹽增強穩定性，且通常亦可使用胺基酸。其通常在液/空氣界面或液/固界面相互作用(伴隨封裝)，引起聚集，隨後吸附及解摺疊蛋白質。適合穩定劑包括(但不限於)：蔗糖、麥芽糖、山梨糖醇以及某些胺基酸，諸如組胺酸、甘胺酸、甲硫胺酸及精胺酸。

【0534】 本發明之醫藥組合物可含有以下賦形劑中之一者或任何組合：磷酸鈉、精胺酸、蔗糖、氯化鈉、緩血酸胺、甘露糖醇、苯甲醇、組

胺酸、蔗糖、聚山梨醇酯80、檸檬酸鈉、甘胺酸、聚山梨醇酯20、海藻糖、泊洛沙姆(Poloxamer) 188、甲硫胺酸、海藻糖、rh-玻尿酸酶(rhHyaluronidase)、丁二酸鈉、磷酸鉀、乙二胺四乙酸二鈉、氯化鈉、氯化鉀、麥芽糖、乙酸組胺酸、山梨糖醇、噴替酸、人類血清白蛋白、噴替酸。

【0535】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物可含有防腐劑。

【0536】 本發明之醫藥組合物通常以液體或凍乾形式存在。通常，產物可存在於小瓶(例如，玻璃瓶)中。可用於注射器、筆或自動注射器之產物可以預填充液體形式存在於此等容器/封閉系統中。

【0537】 在一些實例中，本文中所述之醫藥組合物包含脂質體，其含有特異性結合GARP-proTGFβ1複合物、LTBP1-proTGFβ1複合物、LTBP3-proTGFβ1複合物及LRRC33-proTGFβ1複合物的抗體，該脂質體可藉由任何適合方法，諸如Epstein等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688 (1985)；Hwang等人 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030 (1980)；及美國專利第4,485,045號及第4,544,545號中所述之方法製備。具有延長之循環時間的脂質體揭示於美國專利第5,013,556號中。特別適用之脂質體可藉由逆相蒸發法用包含磷脂醯膽鹼、膽固醇及PEG衍生化之磷脂醯乙醇胺(PEG-PE)的脂質組合物產生。脂質體經具有界定孔徑之過濾器擠出以產生具有所需直徑之脂質體。

【0538】 在一些實施例中，選擇具有靶向特性之脂質體以將醫藥組合物優先遞送或定位至某些組織或細胞類型。舉例而言，可採用具有靶向骨髓特性之某些奈米粒子類載劑，例如基於脂質之奈米粒子或脂質體。參見例如Sou (2012) 「Advanced drug carriers targeting bone marrow」,

ResearchGate公開案232725109。

【0539】 在一些實施例中，本發明之醫藥組成物可包含佐劑或可結合其使用。預期特定佐劑可增加個體對例如腫瘤抗原之免疫反應，且促進T效應功能、自單核球分化DC、經增強之抗原吸收及藉由APC之呈遞等。適合佐劑包括(但不限於)視黃酸類佐劑及其衍生物、水包油乳液類佐劑(諸如MF59)及其他含角鯊烯佐劑、Toll樣受體(TRL)配位體、α-生育酚(維生素E)及其衍生物。

【0540】 本文中所述之抗體亦可包覆於例如藉由凝聚技術或藉由界面聚合製備之微膠囊，例如分別在膠態藥物遞送系統(例如脂質體、白蛋白微粒、微乳液、奈米粒子及奈米膠囊)中或在巨乳液中之羥基甲基纖維素或明膠微膠囊及聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊。例示性技術先前已有描述，參見例如Remington, The Science and Practice of Pharmacy 第20版 Mack Publishing (2000)。

【0541】 在其他實施例中，本文中所述之醫藥組合物可以持續釋放形式調配。持續釋放製劑之適合實例包括含有抗體之固體疏水性聚合物之半滲透基質，該等基質呈成形製品形式，例如膜或微膠囊。持續釋放基質之實例包括聚酯、水凝膠(例如聚(2-羥乙基-甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇))、聚乳酸交酯(美國專利第3,773,919號)、L-麩胺酸與7乙基-L-麩胺酸酯之共聚物、不可降解之乙烯-乙酸乙烯酯、可降解之乳酸-乙醇酸共聚物(諸如LUPRON DEPOT™)(由乳酸-乙醇酸共聚物及乙酸亮丙立德(leuprolide acetate)構成之可注射微球體)、蔗糖乙酸酯異丁酸鹽及聚-D-(-)-3-羥基丁酸。

【0542】 用於活體內投藥之醫藥組合物必須為無菌的。此易於藉由

例如經由無菌過濾膜過濾來實現。治療抗體組合物一般置放於具有無菌接取口之容器中，例如具有可用皮下注射針頭刺穿之塞子的靜脈內溶液袋或小瓶。

【0543】本文中所述之醫藥組合物可呈單位劑型，諸如錠劑、丸劑、膠囊、散劑、顆粒、溶液或懸浮液或栓劑，以用於經口、非經腸或經直腸投與或藉由吸入或吹入投與。

【0544】適合表面活性劑尤其包括非離子劑，諸如聚氧化乙烯脫水山梨糖醇(例如Tween™ 20、40、60、80或85)及其他脫水山梨糖醇(例如Span™ 20、40、60、80或85)。具有表面活性劑之組合物宜將包含0.05%與5%之間的表面活性劑，且可在0.1%與2.5%之間。應瞭解必要時可添加其他成分，例如甘露糖醇，或其他醫藥學上可接受之媒劑。

【0545】適合的乳液可使用市售脂肪乳液，諸如Intralipid™、Liposyn™、Infonutrol™、Lipofundin™及Lipiphysan™製備。活性成分可溶解於預混乳液組合物中，或者其可溶解於油(例如大豆油、紅花油、棉籽油、芝麻油、玉米油或杏仁油)及在與磷脂(例如卵磷脂、大豆磷脂或大豆卵磷脂)及水混合時形成的乳液中。應瞭解，可添加其他成分，例如甘油或葡萄糖，以調節乳液張力。適合的乳液將通常含有至多20%油，例如5%與20%之間。

【0546】乳液組合物可為藉由混合本發明之抗體與Intralipid™或其組分(大豆油、卵磷脂、甘油及水)製備之彼等乳液組合物。

TGFβ1活性之抑制

【0547】本發明方法包括抑制一或多個生物系統中的TGFβ1生長因子活性之方法。此類方法可包括使一或多個生物系統與本發明之抗體及/

或組合物接觸。在一些情況下，此等方法包括調整生物系統中(例如細胞生態棲位或個體中)的游離生長因子)之量。根據此類方法之抗體及/或組合物可包括(但不限於)生物分子，其包括(但不限於)本文中所述之重組蛋白、蛋白質複合物及/或抗體或其抗原部分。

【0548】 在一些實施例中，本發明方法可用於降低或消除生長因子活性，在本文中稱為「抑制方法」。一些此類方法可包含在TGFβ複合物(例如，與GARP、LTBP1、LTBP3及/或LRRC33複合之TGFβ1)中保留成熟生長因子及/或促進生長因子重締合於TGFβ複合物中。在一些情況下，抑制方法可包含使用本文所揭示之抗體。根據一些抑制方法，提供一或多種抑制抗體。

【0549】 在一些實施例中，本發明之抗體、其抗原結合部分及組合物可用於抑制TGFβ1活化。在一些實施例中，本文提供一種用於抑制TGFβ1活化之方法，其包含將GARP-TGFβ1複合物、LTBP1-TGFβ1複合物、LTBP3-TGFβ1複合物及/或LRRC33-TGFβ1複合物暴露至本文中所述之抗體、其抗原結合部分或醫藥組合物。在一些實施例中，抗體、其抗原結合部分或醫藥組合物抑制成熟TGFβ1自GARP-TGFβ1複合物、LTBP1-TGFβ1複合物、LTBP3-TGFβ1複合物及/或LRRC33-TGFβ1複合物釋放。在一個實施例中，該方法活體外進行。在一些實施例中，該方法活體內進行。在一些實施例中，該方法離體進行。

【0550】 在一些實施例中，GARP-TGFβ1複合物或LRRC33-TGFβ1複合物存在於細胞之外表面處。

【0551】 在一些實施例中，表現GARP-TGFβ1複合物或LRRC33-TGFβ1複合物之細胞為纖維母細胞、肌纖維母細胞、巨噬細胞、T細胞、

單核球、樹突狀細胞、抗原呈遞細胞、嗜中性白血球、骨髓衍生之抑制細胞(MDSC)、淋巴球、肥大細胞或微神經膠質細胞。肌纖維母細胞可為癌症相關纖維母細胞(CAF)之纖維化相關纖維母細胞(FAF)。T細胞可為調節T細胞(例如，免疫抑制T細胞)。嗜中性白血球可為活化嗜中性白血球。巨噬細胞可為駐留巨噬細胞(例如庫弗肝細胞(liver kupffer cell))或浸潤巨噬細胞。巨噬細胞可為活化(例如，極化)巨噬細胞,包括促纖維變性及/或腫瘤相關巨噬細胞(TAM)，例如M2c亞型及M2d亞型巨噬細胞。在一些實施例中，巨噬細胞暴露於腫瘤衍生因子(例如，細胞介素、生長因子等)，其可進一步在巨噬細胞中誘導促癌表型。在一些實施例中，此類腫瘤衍生因子為CSF-1/M-CSF。

【0552】在一些實施例中，表現GARP-TGFβ1複合物或LRRC33-TGFβ1複合物之細胞為癌細胞，例如循環癌細胞及腫瘤細胞。

【0553】在一些實施例中，LTBP1-TGFβ1複合物或LTBP3-TGFβ1複合物結合至細胞外基質(亦即，ECM之組分)。在一些實施例中，細胞外基質包含原纖維蛋白及/或纖維結合蛋白。在一些實施例中，細胞外基質包含含有RGD基元之蛋白質。

【0554】LRRC33表現於選擇性細胞類型中，詳言之，髓系之彼等細胞類型，包括單核球及巨噬細胞。單核球來源於骨髓中之祖細胞，且在血流中循環且達至周邊組織。循環單核球可隨後轉移至組織中，在該等組織中，其變得暴露於局部環境(例如，組織特異性的、疾病相關的局部環境等)，該局部環境包括一組多種因子，諸如細胞介素及趨化細胞素，觸發單核球分化成巨噬細胞、樹突狀細胞等。此等細胞包括(例如)肺臟中之肺泡巨噬細胞、骨髓中之蝕骨細胞、CNS中之微神經膠質細胞、結締組織

中之組織細胞、肝臟中之庫弗細胞及棕色脂肪組織中之棕色脂肪組織巨噬細胞。在纖維變性組織中，浸潤骨髓細胞可包括纖維化相關巨噬細胞(FAM)，其通常為類M2巨噬細胞，以及MDSC。在實體腫瘤中，浸潤巨噬細胞可為腫瘤相關巨噬細胞(TAM)、腫瘤相關嗜中性白血球(TAN)及骨髓衍生之抑制細胞(MDSC)等。此類巨噬細胞可活化及/或與諸如癌瘤相關(或癌症相關)纖維母細胞(CAF)之活化纖維母細胞及/或基質締合。因此，本文中所述的抑制成熟TGFβ1自含LRRC33之複合物釋放的TGFβ1活化之抑制劑可靶向表現細胞表面上之LRRC33-proTGFβ1的此等細胞中之任一者。

【0555】 在一些實施例中，LRRC33-TGFβ1複合物存在於促纖維變性(類M2)巨噬細胞之外表面處。在一些實施例中，促纖維變性(類M2)巨噬細胞存在於纖維變性微環境中。在一些實施例中，相較於僅靶向LTBP1-TGFβ1及/或LTBP1-TGFβ1複合物，靶向促纖維變性(類M2)巨噬細胞之外表面處的LRRC33-TGFβ1複合物提供優良效應。在一些實施例中，類M2巨噬細胞進一步極化成具有差異表型之多種亞型，諸如類M2c及M2d TAM巨噬細胞。在一些實施例中，巨噬細胞可藉由腫瘤微環境中所存在之多種因子(例如，生長因子、趨化細胞素、細胞介素及ECM重塑分子)變得活化，其包括(但不限於) TGFβ1、CCL2 (MCP-1)、CCL22、SDF-1/CXCL12、M-CSF (CSF-1)、IL-6、IL-8、IL-10、IL-11、CXCR4、VEGF、PDGF、前列腺素調節劑(諸如花生四烯酸及環加氧酶-2(COX-2))、副甲狀腺激素相關蛋白(PTHrP)、RUNX2、HIF1α及金屬蛋白酶。暴露於此類因子中之一或多者可進一步使單核球/巨噬細胞衍生成促腫瘤表型。僅給出一個實例，已顯示腫瘤中之CCL2及VEGF共表現與

增加之TAM及診斷困難相關。反過來，此等活化腫瘤相關細胞亦可促進其他細胞募集及/或分化成促腫瘤細胞，例如CAF、TAN、MDSC及其類似者。基質細胞亦可對巨噬細胞活化起反應，且影響ECM重塑，且最終影響血管形成、侵襲及癌轉移。舉例而言，CCL2不僅充當單核球引誘物，且亦藉由上調活化內皮中所表現的作為ICAM-1之受體的MAC-1來促進細胞黏附。此會引起CCL2依賴性動脈生成及癌症進展。本文中所述之TGFβ1抑制劑可用於藉由干擾CCL2信號傳遞軸來抑制動脈生成之方法中。

【0556】 在一些實施例中，GARP-TGFβ1複合物、LTBP1-TGFβ1複合物、LTBP3-TGFβ1複合物及/或LRRC33-TGFβ1複合物結合至細胞外基質。在一些實施例中，細胞外基質包含原纖維蛋白。在一些實施例中，細胞外基質包含含有RGD基元之蛋白質。

【0557】 在一些實施例中，本文提供一種用於減少個體中之TGFβ1蛋白質活化之方法，其包含向個體投與本文中所述之抗體、其抗原結合部分或醫藥組合物，藉此減少個體中之TGFβ1蛋白質活化。在一些實施例中，個體患有或處於患有纖維化之風險下。在一些實施例中，個體患有或處於患有癌症之風險下。在一些實施例中，個體患有或處於患有癡呆之風險下。

【0558】 在一些實施例中，如本文所述之抗體或其抗原結合部分降低調節T細胞(Treg)之抑制活性。

用於量測TGFβ活化及/或抑制性效能的基於細胞之分析

【0559】 TGFβ之活化(及藉由TGFβ測試抑制劑，諸如抗體進行的其抑制)可藉由此項技術中已知的任何適合方法量測。舉例而言，TGFβ之經

整合素介導之活化可用於基於細胞之分析，諸如「CAGA12」螢光素酶分析中，其較詳細地描述於本文中。如所示，此類分析系統可包含以下組分：i)TGFβ之來源(重組、內源性或經轉染)；ii)活化因子，諸如整合素之來源(重組、內源性或經轉染)；及iii)對TGFβ活化起反應之報導體系統，諸如表現能夠對TGFβ起反應且將信號轉譯成可讀輸出(例如，CAGA12細胞中之螢光素酶活性或其他報導體細胞株)的TGFβ受體之細胞。在一些實施例中，報導體細胞株包含處於TGFβ反應性啟動子(例如，PAI-1啟動子)之控制下的報導體基因(例如，螢光素酶基因)。在一些實施例中，賦予敏感性之某些啟動子元件可併入至報導體系統中。在一些實施例中，此類啟動子元件為CAGA12元件。可用於分析中之報導體細胞株已描述於例如Abe等人 (1994) Anal Biochem. 216(2): 276-84中，其以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，自同一來源(例如，同一細胞)提供前述分析組分中之每一者。在一些實施例中，自同一來源提供前述分析組分中之兩者，且自不同來源提供第三分析組分。在一些實施例中，自不同來源提供所有三種分析組分。舉例而言，在一些實施例中，自同一來源(例如，同一經轉染之細胞株)為分析提供整合素及潛伏TGFβ複合物(proTGFβ及呈遞分子)。在一些實施例中，自獨立來源(例如，兩種不同細胞株，純化整合素及經轉染之細胞之組合)為分析提供整合素及TGF。當細胞用作分析組分中之一或多者之來源時，此類分析組分對細胞可為內源性的、穩定地表現於細胞中、經瞬時轉染或其任何組合。來自用於量測TGFβ活化的基於細胞之分析的一非限制性例示性實施例的結果抑制揭示於本文中，其證明抑制LTBP1-proTGFβ1複合物、LTBP3-proTGFβ1複合物、GARP-proTGFβ1複合物或LRRC33-proTGFβ1複合物(參見例如實例3)。

【0560】 熟習此項技術者可容易使此類分析適於各種適合組態。舉例而言，可考慮TGFβ之多種來源。在一些實施例中，TGFβ之來源為表現及沈積TGFβ之細胞(例如，初級細胞、繁殖細胞、永生化細胞或細胞株等)。在一些實施例中，TGFβ之來源為使用適合手段固定於分析系統中的純化及/或重組TGFβ。在一些實施例中，固定於分析系統中的TGFβ存在於分析盤上的細胞外基質(ECM)組合物中，其經或不經脫細胞化，模擬源於纖維母細胞之TGFβ。在一些實施例中，TGFβ存在於分析中所用的細胞之細胞表面上。另外，選定呈遞分子可包括於分析系統中，以提供適合的潛伏TGFβ複合物。一般熟習此項技術者可容易判定何種呈遞分子可存在或表現於某些細胞或細胞類型中。使用此類分析系統，在存在或不存在測試劑(諸如抗體)下的TGFβ活化之相對變化可容易量測，以評估測試劑對TGFβ活體外活化之影響。來自例示性基於細胞之分析的資料提供於以下實例章節中。

【0561】 此類基於細胞之分析可以多種方式加以修改或調整，其視所研究之TGFβ同工型、潛伏複合物(例如，呈遞分子)之類型及其類似者而定。在一些實施例中，已知的表現能夠活化TGFβ之整合素的細胞可用作分析中的整合素之來源。此類細胞通常包括LN229細胞。其他適合之細胞包括SW480/β6細胞(例如，純系1E7)。在一些實施例中，表現整合素之細胞可與編碼相關呈遞分子(諸如GARP、LRRC33、LTBP(例如，LTBP1或LTBP3)等)之質體及編碼相關TGFβ同工型之前形式(諸如proTGFβ1)之質體共轉染。轉染之後，培育細胞持續足夠時間以使得可表現經轉染之基因(例如，約24小時)，洗滌細胞，且與測試劑(例如，抗體)之連續稀釋液一起培育。隨後，將報導體細胞株(例如，CAGA12細胞)添加至分析系統

中，繼之以適當保溫時間以允許TGFβ信號傳遞。在培育時段(例如，約18至20小時)之後，隨後添加測試劑，使用適合手段(例如，對於表現螢光素酶之報導體細胞株，可使用Bright-Glo試劑(Promega))偵測信號/讀出(例如，螢光素酶活性)。在一些實施例中，可使用BioTek (Synergy H1)盤讀取器，在自動增益設置(autogain setting)下偵測螢光素酶螢光。

【0562】 資料證明，本發明之例示性抗體能夠選擇性地抑制TGFβ1之活化(參見例如實例3及表15)。

核酸

【0563】 在一些實施例中，本發明之抗體、其抗原結合部分及/或組合物可由核酸分子編碼。此類核酸分子包括(但不限於) DNA分子、RNA分子、聚核苷酸、寡核苷酸、mRNA分子、載體、質體及其類似者。在一些實施例中，本發明可包含經計劃或產生以表現編碼本發明之化合物及/或組合物之核酸分子的細胞。在一些情況下，本發明之核酸包括密碼子優化核酸。產生密碼子優化核酸之方法為此項技術中已知的，且可包括(但不限於)美國專利第5,786,464號及第6,114,148號中所述之方法，其中之每一者之內容以全文引用之方式併入本文中。

【0564】 藉由以下實例進一步說明本發明，該等實例並不意欲以任何方式限制。整個本申請案中所列舉之所有參考文獻、專利及公開專利申請案之全部內容以及圖式在此以引用之方式併入本文中。

供用於緩解與TGFβ相關適應症相關之疾病/病症中的套組

【0565】 本發明亦提供供用於緩解與TGFβ相關適應症相關之疾病/病症中的套組。此類套組可包括一或多個容器，其包含如本文所述之抗體或其抗原結合部分。

【0566】 在一些實施例中，套組可包含根據本文所述之任一方法的使用說明書。所包括之說明書可包含投與抗體或其抗原結合部分治療、延遲發作或緩解目標疾病，如本文中所述之彼等疾病的描述。套組可進一步包含基於鑑別個體是否患有目標疾病來選擇適用於治療之個體的描述。在再其他實施例中，說明書包含向處於目標疾病之風險下的個體投與抗體或其抗原結合部分的描述。

【0567】 與抗體或其抗原結合部分之使用相關的說明書通常包括關於預期治療之劑量、給藥時程及給藥途徑的資訊。容器可為單位劑量、散裝(例如，多劑量包裝)或次單位劑量。本發明套組中供應之說明書典型地為標籤或藥品說明書(例如，套組中包括之紙片)上之書面說明書，但機器可讀指令(例如，磁性或光學儲存盤上承載的指令)亦為可接受的。

【0568】 標籤或藥品說明書指示組合物用於治療、延遲發作及/或緩解與TGFβ相關適應症相關之疾病或病症。說明書可提供用於實踐本文所述之任一方法。

【0569】 本發明之套組呈適合包裝形式。適合的包裝包括(但不限於)小瓶、瓶子、罐、可撓性包裝(例如密封聚酯薄膜(Mylar)或塑膠袋)及其類似者。亦涵蓋用於與特定裝置，諸如吸入器、經鼻投與裝置(例如，霧化器)或輸注裝置(諸如小型泵)組合之包裝。套組可具有無菌進入孔(例如，容器可為靜脈內溶液袋或具有可由皮下注射針刺穿之塞子的小瓶)。容器亦可具有無菌進入孔(例如，容器可為靜脈內溶液袋或具有可藉由皮下注射針刺穿之塞子的小瓶)。組合物中之至少一種活性劑為如本文所述之抗體或其抗原結合部分。

【0570】 套組可視情況提供諸如緩衝劑之額外組分及說明性資訊。

通常，套組包含容器及在容器上或與容器相聯之標籤或藥品說明書。在一些實施例中，本發明提供包含上文所述的套組之內含物的製品。

【0571】 本發明進一步藉由以下實例說明，該等實例不應理解為具限制性。該等實例參照以下圖式：

實例

實例1：抗體篩選及選擇方法

【0572】 使用標準親和性最佳化方案對Ab3進行親和性最佳化。簡言之，對Ab3進行基於庫之抗體工程改造方法之多次連續循環，以達成親和性改良。在第一循環中，使抗體經歷輕鏈改組(Light Chain Shuffle；LCS)及H-CDR1及H-CDR2序列多樣化。將來自此循環之最佳純系移至親和性最佳化之下一循環，其中存在或不存在H-CDR1及H-CDR2序列多樣化的具有新型輕鏈之抗體經歷H-CDR3序列多樣化。在親和性最佳化之所有循環中，針對施加有親和性壓力之所有四種proTGFb1大型潛伏複合物，使用抗原滴定及冷抗原競爭策略對庫進行多個連續回合之選擇。

實例2.活體外結合概況

【0573】 Ab1、Ab2及Ab3之親和性係在人類proTGFβ1細胞上藉由Octet®分析量測，而活性係藉由測試人類proTGFβ1抑制之CAGA12報導體細胞量測。本文提供的用於量測抗體與複合物之親和性的方案概述於下表14中，且本發明之例示性抗體之親和性概況的彙匯清單提供於本文中之表6中。

【0574】 表14：用於進行Octet結合分析之方案

材料：
- 96孔黑聚丙烯培養盤
- Octet的經抗生蛋白鏈菌素塗佈之尖端
- 10×動力學緩衝液(1:10稀釋於PBS中)

1. 將所需量之抗生蛋白鏈菌素尖端浸泡於1×動力學緩衝液中，置放於機器中以加以平衡

2. 裝載樣本盤：
- 向各孔加200 µl緩衝液或抗體稀釋液
  a. 第1行 - 基線(緩衝液)
  b. 第2行- 經生物素標記之蛋白質(例如，sGARP-proTGFβ1或LTBP1-proTGFβ1)；稀釋至5 µg/mL
  c. 第3行-基線2 (緩衝液)
  d. 第4行- 針對Ab之抗體締合
  e. 第5行- 針對Ab之抗體締合
  f. 第6行- 解離Ab (緩衝液)
  g. 第7行- 解離Ab (緩衝液)

3. 在96孔培養盤中製得稀釋液
  a. 在列A中的300 µl之1×緩衝液中將兩種抗體稀釋至50 µg/mL
  b. 將200 µl緩衝液添加至各行之其餘者中
  c. 沿該行向下傳輸100 µl，製得3倍稀釋液

4. 將樣本置放於緊鄰尖端盤之機器中

5. 安裝軟體
  a. 指示緩衝液、裝載量、樣本(每所測試抗體一個分析)
  b. 針對時間之設定量指示方案之步驟(基線、裝載量、締合、解離)：
    - 基線：60秒
    - 裝載量：300秒
    - 基線2：60秒
    - 締合：300秒
    - 解離：600秒

6. 分析資料
  a. 自參考物孔減除基線
  b. 標準化設定至基線之最後五秒
  c. 對解離進行比對
  d. 對締合及解離進行分析(1:1結合模型，擬合曲線)
  e. 測定最佳R^2值；包括伴隨最佳R^2值之濃度
  f. 選擇整體擬合
  g. 藉由感測器類型設定樣本顏色
  h. 分析
  i. 儲存表格且輸出

亦藉由Meso-Scale Discovery (MSD)溶液平衡滴定(SET)量測Ab2、Ab3、Ab11、Ab12、Ab19、Ab20及Ab35、C1及C2之親和性。在室溫下

用20 nM相關單株抗體(捕捉抗體)之溶液塗佈標準MSD盤持續30分鐘或在4℃下塗佈隔夜。在單獨的無結合96孔培養盤上，隨後自μM至fM濃度滴定用作捕捉抗體之同一單株抗體，且與一設定濃度之經生物素標記之抗原在室溫下在不進行震盪下一起培育隔夜。在20至24小時之平衡之後，封閉捕捉抗體盤且在將經平衡之抗體-抗原樣本溶液添加至該盤之前洗滌持續恰好150秒。隨後在添加抗生蛋白鏈菌素-sulfotag第二試劑之前洗滌該盤持續3分鐘。洗滌培養盤之後在MSD讀數緩衝液中使用MESO® QuickPlex SQ 120讀取。如上文所述之藉由MSD-SET之親和性概況提供於本文中之表7中。

實例3：偵測活化重組潛伏TGFβ1之抑制的功能性分析

【0575】 TGFβ1活化之新穎之背景依賴性基於細胞之分析的研發描述於美國臨時專利申請案第62/538,476號中，其以全文引用的方式併入本文中。先前分析形式在由內源性呈遞分子呈遞的proTGFβ1之活化與由外源性LTBP呈遞的proTGFβ1之活化之間可能無法區分。藉由直接轉染表現整合素之細胞，美國臨時專利申請案第62/538,476號中所揭示及本文中使用之新穎分析在內源性呈遞子-proTGFβ1活性及外源性LTBP-proTGFβ1活性之間確立了窗口。當LTBP-proTGFβ1複合物包埋於細胞外基質中，分析盤塗層亦為分析之重要成分。使用塗佈有ECM蛋白，纖維結合蛋白之組織培養物盤使得LTBP分析較為穩健。

【0576】 為了測定本文中所述之同工型特異性抗體中之任一者是否為功能性的，研發出TGFβ1大型潛伏複合物(LLC)之αVβ整合素活化的基於細胞之分析，其對各已知的呈遞分子：LTBP1、LTBP3、GARP及LRRC33具有特異性。經由分析研發及最佳化之過程，測定出纖維結合蛋

白為經LTBP呈遞之TGFβ1 LLC之整合素依賴性活體外活化的關鍵ECM蛋白。

分析I. ECM中所沈積之潛伏TGFβ1的活化

【0577】 對於**圖1**及**圖2**中所描繪之分析，研發出以下方案。此分析對於藉由整合素細胞進行之細胞外基質(經LTBP呈遞)活化為最佳的。

【0578】 材料：

- MvLu1-CAGA12細胞(純系4A4)
- SW480/β6細胞(純系1E7) (αV次單元以較高量內源性表現；β6次單元穩定地過度表現)
- LN229細胞株(較高量之內源性αVβ8整合素)
- Costar白壁經TC處理之96孔分析盤#3903
- Greiner Bio-One高結合(High Binding)白色μclear 96孔分析盤#655094
- 人類纖維結合蛋白(Corning #354008)
- P200多注式吸液管
- 各具有無菌過濾尖端之P20、P200及P1000吸液管
- 無菌微量離心管及擱架
- 無菌試劑儲集器
- 0.4%錐蟲藍(trypan blue)
- 2 mL、5 mL、10 mL及25 mL無菌吸液管
- 經組織培養物處理之100mm或150mm盤
- 70%乙醇
- Opti-MEM還原型血清培養基(Life Tech #31985-070)

- Lipofectamine 3000(Life Tech #L3000015)
- Bright-Glo螢光素酶分析試劑(Promega #E2620)
- 0.25%胰蛋白酶 + 0.53mM EDTA
- proTGFβ1表現質體，人類
- LTBP1S表現質體，人類
- LTBP3表現質體，人類
- LRRC32 (GARP)表現質體，人類
- LRRC33表現質體，人類

【0579】 設備：

- BioTek Synergy H1盤讀取器
- TC罩
- 桌上型離心機
- CO_2培育箱，37℃，5% CO_2
- 37℃水/珠浴
- 平台震盪器
- 顯微鏡
- 血球計/countess

【0580】 定義：

- CAGA12 4A4細胞：MvLu1細胞(貂肺臟上皮細胞)之衍生物，其經CAGA12合成啟動子穩定地轉染，驅動螢光素酶基因表現
- DMEM-0.1%BSA：分析培養基；基礎培養基為DMEM (Gibco目錄號11995-065)，培養基亦含有稀釋至0.1% w/v之BSA、青黴素/鏈黴素及4 mM麩醯胺酸

• D10：DMEM 10% FBS、P/S、4 mM麩醯胺酸、1% NEAA、1× GlutaMAX (Gibco目錄號35050061)

• SW480/β6培養基：D10 + 1000μg/mL G-418

• CAGA12 (4A4) 培養基：D10 + 0.75μg/mL嘌呤黴素

【0581】 程序：

【0582】 在第0天，接種細胞用於轉染。用胰蛋白酶分離SW480/β6(純系1E7)細胞且集結(在200×g下自旋5分鐘)。將細胞集結粒再懸浮於D10培養基中，且對每ml之活細胞進行計數。以5.0 × 10^6個細胞/12 ml/100 mm組織培養盤來接種細胞。對於CAGA12細胞，以每T75燒瓶1.0百萬之密度對細胞進行繼代，以用於在第3天之分析。在37℃及5% CO_2下培育培養物。

【0583】 在第1天，轉染表現整合素之細胞。遵循用Lipofectamine® 3000試劑轉染的製造商方案。簡言之，將以下稀釋於OptiMEM™ I中，每孔125 μl：7.5 μg DNA (呈遞分子) + 7.5 μg DNA (proTGFβ1)、30 μl P3000且直至與OptiMEM I達125 μl。藉由用吸液管將DNA移在一起混合孔，隨後添加OptiMEM。添加P3000，且藉由吸液混合所有物。製得Lipofectamine3000之預混液，以添加至DNA混合物中：對於LTBP1分析：15 μl Lipofectamine3000，直至在OptiMEM I中達每孔125 μl；對於LTBP3分析：45 μl Lipofectamine3000，直至在OptiMEM I中達每孔125 μl。將經稀釋之Lipofectamine3000添加至DNA中，藉由吸液混合孔，且在室溫下培育15分鐘。在培育之後，藉由吸液混合溶液數次，且隨後每盤逐滴添加250 μl DNA:Lipofectamine3000 (2 × 125 μl)。輕輕地旋動各盤以加以混合，且將盤返回至組織培養恆溫箱持

續約24小時。

【0584】 在第1天至第2天，用人類纖維結合蛋白塗佈分析培養盤。具體言之，將凍乾纖維結合蛋白在超純蒸餾水(無菌)中稀釋至1 mg/ml。將1 mg/ml儲備溶液在PBS (無菌)中稀釋至19.2 μg/ml。將50微升/孔添加至分析盤(高結合)中，且在組織培養恆溫箱(37℃及5% CO_2)培育O/N。最終濃度為3.0 μg/cm^2。

【0585】 在第2天，塗鋪經轉染之細胞以供分析且添加抑制劑。首先，藉由將200微升/孔PBS添加至分析盤中已有的纖維結合蛋白溶液中來洗滌纖維結合蛋白塗層。用多注式吸液管手動地移除洗液。重複洗滌，總共洗滌兩次。在添加細胞之前，拿掉蓋子，使盤在室溫下乾燥。隨後藉由用胰蛋白酶分離來塗鋪細胞且集結(在200×g下自旋5分鐘)。將集結粒再懸浮於分析培養基中，且對每ml之活細胞進行計數。對於LTBP1分析，將細胞稀釋至0.10 × 10^6個細胞/毫升，且每孔接種50 μl (每孔5,000個細胞)。對於LTBP3分析，將細胞稀釋至0.05 × 10^6個細胞/毫升，且每孔接種50 μl (每孔2,500個細胞)。為了製備功能性抗體稀釋液，將抗體在媒劑中預稀釋至恆定操作濃度。將儲備抗體連續稀釋於媒劑(PBS為最佳的，避免檸檬酸鈉緩衝液)中。針對抗體之4×最終濃度，將連續稀釋液之各點稀釋於分析培養基中。每孔添加25 μl之4×抗體，且在37℃及5% CO_2下培育培養物持續約24小時。

【0586】 在第3天，添加TGFβ報導體細胞。用胰蛋白酶及集結粒(在200×g下自旋5分鐘)分離供分析用之CAGA12 (純系4A4)細胞。將集結粒再懸浮於分析培養基中，且對每ml之活細胞進行計數。將細胞稀釋至0.4 × 10^6個細胞/毫升，且每孔接種50 μl (每孔20,000個細胞)。將細胞返回至

培育箱。

【0587】 在第4天，讀取分析(添加抗體及/或報導體細胞之後16至20小時)。在讀取之前，使Bright-Glo試劑及測試盤達至室溫。使用TMLC_std方案設定BioTek Synergy H1上之讀取設置，此方法具有自動增益設置。選擇陽性對照孔以供自動調整(高)。每孔添加100 μL Bright-Glo試劑。在室溫下在震盪下培育2分鐘，保護盤避光。在BioTek Synergy H1上讀取盤。

【0588】 **圖1**描繪LN229分析中LTBP1-proTGFβ1活化之抑制。**圖2**描繪LN229細胞中LTBP3-proTGFβ1複合物活化之抑制。

分析II. 細胞表面上所呈遞之潛伏TGFβ1之活化

【0589】 對於**圖3**及**圖4**中所描繪之分析，研發出以下方案。此分析或「直接轉染」方案對於藉由整合素細胞進行的經細胞表面呈遞之TGFβ1(GARP或LRRC33呈遞子)活化為最佳的。

【0590】 材料：

- MvLu1-CAGA12細胞(純系4A4)
- SW480/β6細胞(純系1E7) (αV次單元以較高量內源性表現；β6次單元穩定地過度表現)
- LN229細胞株(較高量之內源性αVβ8整合素)
- Costar白壁經TC處理之96孔分析盤#3903
- Greiner Bio-One高結合(High Binding)白色μclear 96孔分析盤#655094
- 人類纖維結合蛋白(Corning #354008) P200多注式吸液管
- 各具有無菌過濾尖端之P20、P200及P1000吸液管

- 無菌微量離心管及擱架
- 無菌試劑儲集器
- 0.4%錐蟲藍
- 2 mL、5 mL、10 mL及25 mL無菌吸液管
- 經組織培養物處理之100mm或150mm盤
- 70%乙醇
- Opti-MEM還原型血清培養基(Life Tech #31985-070)
- Lipofectamine 3000 (Life Tech #L3000015)
- Bright-Glo螢光素酶分析試劑(Promega #E2620)
- 0.25%胰蛋白酶+ 0.53mM EDTA
- proTGFβ1表現質體，人類
- LTBP1S表現質體，人類
- LTBP3表現質體，人類
- LRRC32 (GARP)表現質體，人類
- LRRC33表現質體，人類

設備：

- BioTek Synergy H1盤讀取器
- 組織培養罩
- 桌上型離心機
- CO_2培育箱，37℃，5% CO_2
- 37℃水/珠浴
- 平台震盪器
- 顯微鏡

- 血球計/countess

【0591】 定義：

- CAGA12 4A4細胞：MvLu1細胞(貂肺臟上皮細胞)之衍生物，其經CAGA12合成啟動子穩定地轉染，驅動螢光素酶基因表現

- DMEM-0.1%BSA：分析培養基；基礎培養基為DMEM (Gibco目錄號11995-065)，培養基亦含有稀釋至0.1% w/v之BSA、青黴素/鏈黴素及4 mM麩醯胺酸

- D10：DMEM 10% FBS、P/S、4 mM麩醯胺酸、1% NEAA、1× GlutaMAX (Gibco目錄號35050061)

- SW480/β6培養基：D10 + 1000μg/mL G-418

- CAGA12 (4A4) 培養基：D10 + 0.75μg/mL嘌呤黴素

【0592】 方法：

【0593】 在第0天，接種表現整合素之細胞用於轉染。用胰蛋白酶分離細胞且集結(在200×g下自旋5分鐘)。將細胞集結粒再懸浮於D10培養基中，且對每ml之活細胞進行計數。將細胞稀釋至0.1 × 10^6個細胞/毫升，且在分析盤中每孔接種100 μl (每孔10,000個細胞)。對於CAGA12細胞，以每T75燒瓶1.5百萬之密度進行繼代，以用於在第2天之分析。在37℃及5% CO_2下培育培養物。

【0594】 在第1天，轉染細胞。遵循製造商方案用Lipofectamine 3000試劑轉染。簡言之，將以下稀釋於OptiMEM I中，每孔5 μl：0.1 μg DNA (呈遮分子)+ 0.1 μg DNA (proTGFβ1)、0.4 μl P3000及直至與OptiMEM I達5 μl。藉由用吸液管將DNA移在一起混合孔，隨後添加OptiMEM。添加P3000，且藉由吸液混合所有物。用Lipofectamine3000

製得預混液，以添加至DNA混合物中：0.2 µl Lipofectamine3000，直至在OptiMEM I中達每孔5 µl。將經稀釋之Lipofectamine3000添加至DNA中，藉由吸液混合孔，且在室溫下培育15分鐘。在培育之後，藉由吸液混合溶液數次，且隨後每孔添加10 µl DNA:Lipofectamine3000 (2 × 5 µl)。將盤返回至組織培養恆溫箱持續約24小時。

【0595】 在第2天，添加抗體及TGFβ報導體細胞。為了製備功能性抗體稀釋液，將儲備抗體連續稀釋於媒劑(PBS為最佳的)中。針對抗體之2×最終濃度，將各點稀釋於分析培養基中。製備抗體之後，藉由抽吸(真空抽吸器)用分析培養基洗滌細胞盤兩次，繼之以添加每孔100 µl分析培養基。第二次洗滌之後，用每孔50 µl之2×抗體替換分析培養基。將細胞盤返回至培育箱持續約15至20分鐘。

【0596】 為了製備CAGA12 (純系4A4)細胞以供分析，用胰蛋白酶分離細胞且集結(在200×g下自旋5分鐘)。將集結粒再懸浮於分析培養基中，且對每ml之活細胞進行計數。將細胞稀釋至0.3 × 10^6個細胞/毫升，且每孔接種50 µl (每孔15,000個細胞)。將細胞返回至培育箱。

【0597】 在第3天，在添加抗體及/或報導體細胞之後約16至20小時讀取分析。在讀取之前，使Bright-Glo試劑及測試盤達至室溫。BioTek Synergy H1上之讀取設置設定成使用TMLC_std方案，此方法具有自動增益設置。設定陽性對照孔以供自動調整(高)。每孔添加100 µL Bright-Glo試劑。在室溫下在震盪下培育2分鐘，保護盤避光。在BioTek Synergy H1上讀取盤。

【0598】 **圖3**描繪SW480β6分析中GARP-proTGFβ1活化之抑制。**圖4**顯示SW480β6分析中LRRC33-proTGFβ1活化之抑制。

【0599】 為了計算IC50值，針對僅用PBS(媒劑)處理之孔對原始螢光值進行標準化。使用PRISM®軟體標繪標準化值，且使用3點非線性回歸計算各值。

【0600】 **表15**顯示針對同工型特異性抗體之所計算之IC50值。由單一劑量反應實驗之雙孔對所報導之IC50值平均化；劑量反應曲線及IC50值代表多個獨立實驗。

表15：如藉由活體外效能分析所量測，同工型特異性抗體對proTGFβ1-呈遞分子複合物之IC50.

參考 Ab	IC50 (nM)			
	hLTBP1-proTGFβ1	hLTBP3-proTGFβ1	hGARP-proTGFβ1	hLRRC33-proTGFβ1
Ab3	24.29	10.42	0.981	0.8578
Ab11	2.954	1.562	0.7902	1.268
Ab12	3.794	1.555	1.077	2.434
Ab2	*3.394*	*0.8673*	*0.7758*	*1.375*
Ab19	1.656	1.599	1.34	0.4014
Ab20	1.851	1.184	0.3872	1.354
Ab35	6.246	2.707	3.715	5.37
Ab1	14.47	2.707	3.715	5.37

實例4. 急性腎纖維化之單側輸尿管阻塞(UUO)模型中抗proTGFβ1抗體對急性纖維化之抑制

【0601】 在急性腎纖維化之單側輸尿管阻塞(UUO)模型中測試抗TGFβ1抗體對急性纖維化之抑制。在此模型中，藉由在研究第0天在雄性小鼠中對左輸尿管進行永久手術結紮來誘發纖維化。經歷手術但並未使其輸尿管阻塞的假處理之小鼠作為健康對照包括在此等實驗中。

【0602】 藉由在研究第-1天及第4天腹膜內(i.p.)注射而向小鼠投與對照或測試抗體(Ab3、Ab2)。在研究結束時、在手術後第5天收集腎臟，且自此等組織收集RNA。之後針對一組纖維化相關基因藉由定量聚合酶

鏈反應(qPCR)評定纖維化誘導之程度，包括膠原蛋白I (*Col1a1*)、膠原蛋白III (*Col3a1*)、纖維結合蛋白1 (*Fn1*)、離胺醯氧化酶(*Lox*)、類離胺醯氧化酶2 (*Loxl2*)、平滑肌肌動蛋白(*Acta2*)、基質金屬蛋白酶(*Mmp2*)及整合素α11 (*Itga11*) (Rolfe, Irvine, Grobbelaar, & Linge, 2007)(Tamaki等人, 1994)(Bansal等人, 2017)(Leaf & Duffield, 2016)。

【0603】 Ab2或Ab3處理對膠原蛋白基因表現之影響

【0604】 *Col1a1*及*Col3a1*為纖維化之主要驅動子。如**圖5A**中所示，*Col1a1*在經阻塞腎臟中被誘導了10至40倍，且*Col3a1*上調5至25倍(P < 0.005，對假處理+IgG處理之小鼠與UUO + IgG組進行比較)。與UUO + IgG相比，用3、10或30毫克/公斤/週之Ab3處理之UUO小鼠顯示兩種膠原蛋白基因之表現均有所減少(P < 0.05)。用10毫克/公斤/週之Ab2進行之處理亦抑制UUO所致之纖維變性基因誘導(P < 0.005，與UUO + IgG相比)。來自3毫克/公斤/週Ab2組之樣本亦顯示*Col3a1*表現減少趨勢，但此作用並未達至統計顯著性。綜合而言，此等資料表明，伴隨Ab2或Ab3任一者之TGFβ1抑制有力地改善與UUO相關之膠原蛋白誘導。

【0605】 Ab2或Ab3處理對纖維結合蛋白及類離胺醯氧化酶2基因表現之影響

【0606】 *Fn1*及*Loxl2*編碼在纖維化中的細胞外基質之沈積及僵硬中起作用之蛋白。如**圖5B**中所示，來自UUO + IgG組之樣本中的兩種基因均有所上調(相對於假處理+IgG之P < 0.005)，但兩種基因之基因表現的增加倍數，且尤其對於*Loxl2*，要比膠原蛋白基因小。用3、10或30毫克/公斤/週之Ab3處理之樣本中，注意到*Fn1*及*Loxl2*減少之趨勢(相對於UUO + IgG)，但此處理作用僅對於*Loxl2*表現呈統計學上顯著的，且僅在

3毫克/公斤/週劑量下(10毫克/公斤/週劑量下之*Fn1*接近統計顯著性，伴隨P = 0.07)。然而，用10毫克/公斤/週Ab2進行之處理引起*Fn1*及*Loxl2*兩者之高度顯著抑制(P < 0.005對UUO + IgG)。較低的3毫克/公斤/週劑量之Ab2引起*Fn1*及(尤其)*Loxl2*兩者有所減少(P = 0.06)，但兩者中無一基因之抑制為統計學上顯著的。

【0607】 圖6彙匯在UUO模型中進行處理之後，基因表現之變化的統計顯著性(相對於UUO + IgG)。Ab3顯示在所測試之所有劑量下，*Col1a1*及*Col3a1*均有所減少。亦在*Itga11*及*Loxl2*中觀測到統計學上顯著之變化(相對於UUO + IgG，兩者量均有所減少)，但僅在3毫克/公斤/週劑量下。相比之下，除*Mmp2*之外的所檢查之所有基因均在用10毫克/公斤/週Ab2處理後顯示表現之統計學上顯著之變化(相對於UUO + IgG，所有量均有所減少)。*Col1a1*及*Lox*表現亦在3毫克/公斤/週劑量下有所減少。

實例5：奧爾波特症候群之基因模型中抗proTGFβ1抗體對TGFβ信號傳遞之抑制

【0608】 鼠類Col4a3-/-模型為已獲確立之常染色體隱性奧爾波特症候群之基因模型。奧爾波特小鼠缺乏功能性膠原蛋白4A3基因(Col4A3-/-)，且因此無法形成正常IV型膠原蛋白三聚體，該等三聚體需要α3、α4及α5鏈。Col4a3-/-小鼠在腎臟中罹患與人類患者中之腎纖維化相一致之纖維化，包括間質纖維化及腎小管萎縮，且Col4a3-/-小鼠在10及30週齡之間罹患末期腎病(ESRD)，其視小鼠之遺傳背景而定。Col4a3-/-小鼠中之腎臟病理學的結構性及功能性表現結合進展至ESRD使得Col4a3-/-小鼠成為理解腎纖維化之理想模型。先前報告指出TGFβ信號傳遞路徑在此過程中之重要性，且已報導用αvβ6整合素、已知TGFβ活化劑或TGFβ配位體

捕獲劑進行之處理會預防奧爾波特小鼠中出現腎纖維化及發炎(Hahm等人(2007) The American Journal of Pathology, 170(1): 110-125)。

【0609】 測試作為TGFβ1活化之同工型特異性抑制劑的Ab3及Ab2抑制或緩解如下奧爾波特小鼠中之腎纖維化的能力。

【0610】 將來自129/Sv遺傳背景之Col4a3+/-雄性與C57/Bl6遺傳背景之Col4a3+/-雌性雜交的F1代用於研究。此等小鼠達4至5週齡時通常會展現蛋白尿，且達14至15週齡時通常進展至ESRD，提供用於測試處理之功效之良好治療窗。

【0611】 已很好地證明，TGFβ受體活化會產生細胞內事件(包括Smad2/3之磷酸化)之下游信號級聯。因此，可在腎臟溶胞物樣本中藉由根據製造商說明書，量測如藉由ELISA (Cell Signaling Technologies)所分析之Smad2/3之相對磷酸化水準來評定Ab2抗體處理抑制TGFβ信號傳遞之能力。因此，在動物處死及組織收集之前48小時，用10 mg/kg Ab2腹膜內(i.p.)投配9週大Col4a3-/-小鼠。**圖7A**提供顯示磷酸化相對於總(磷酸化及未磷酸化) Smad2/3之相對比率的圖式。單一劑量之Ab2足以在來自9週大Col4a3-/-小鼠之全腎溶胞物中顯著抑制pSmad2/3信號傳遞，其證明此模型利用Ab2之高效靶結合。

【0612】 在一單獨研究中，在出生之後六週開始，用Ab2或Ab3處理Col4a3-/-小鼠。用5 mg/kg或1.5 mg/kg Ab3或用1.5 mg/kg Ab2每週腹膜內投配小鼠兩次持續六週之測試持續時間。在異型接合(Col4a3+/-；Het)及基因敲除(Col4a3-/-；KO)小鼠兩者中使用IgG作為陰性對照。進行抗體處理六週(出生後12週)之後，將動物處死，且收集腎臟用於分析。

【0613】 **圖7B**顯示由用Ab3或Ab2處理之動物的樣本製備之全腎溶

胞物中磷酸化相對於總Smad2/3之相對比率。用任一抗體進行之處理顯示相較於經IgG處理之Col4a3-/-小鼠，Smad2/3之相對磷酸化顯著減少。經處理之KO小鼠中之平均Smad比率與異型接合對照之平均Smad比率相等。

【0614】 為了評定TGFβ抑制之功能性作用，在腎纖維化之Col4a3-/-模型中進行第三研究。在此情況下，出生後六週開始，用5 mg/kg劑量之Ab3或Ab2腹膜內處理小鼠一週兩次，且持續進行直至14週齡時處死小鼠為止。藉由基因表現評定治療作用，其係藉由定量聚合酶鏈反應(qPCR)，使用由此研究中之小鼠之腎臟產生之cDNA評估。**圖7C**顯示編碼與纖維化通常相關之三種蛋白質，膠原蛋白1 (Col1a1)、膠原蛋白3 (Col3a1)及纖維結合蛋白1 (Fn1)的基因之表現。在來自用IgG對照抗體處理的動物之Col4a3-/-腎臟中，全部三種基因之表現相對於異型接合Col4a3+/-小鼠中之表現均明顯上調。用Ab2進行之處理顯著減少Col4a3-/-小鼠中的Col1a1及Col3a1之表現。Fn1之表現在經Ab2處理之Col4a3-/-小鼠中顯示相似傾向，但此作用並非呈統計學上顯著的($P < 0.09$)。

實例6：小鼠NASH之膽鹼缺乏高脂飲食(CDHFD)模型中抗proTGFβ1抗體對TGFβ信號傳遞之抑制

【0615】 膽鹼缺乏高脂飲食(CDHFD)為一種已獲確立的非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)之膳食模型。在此模型中，向雄性C57BL/6J小鼠進給膽鹼缺乏(0.1%甲硫胺酸)高脂飲食持續12週。CDHFD開始之後三至六週，α-sma蛋白(肝星狀細胞活化之標記物)之表現增加，且肝纖維化之罹患伴隨羥脯胺酸含量增加，伴隨肝內膠原蛋白合成及沈積上升((Matsumoto等人, Int J Exp Pathol. 2013年4月;94(2):93-103)。

【0616】 在如下處於CDHFD中之小鼠中測試Ab3及Ab2抑制及/或降低肝纖維化程度之能力。

【0617】 在研究持續期間使測試組中之動物處於CDHFD中。向小鼠之一單獨組投與普通飲食作為研究對照。在CDHFD開始後4週時開始，藉由腹膜內(i.p.)注射向小鼠投與抗體Ab3及Ab2。抗體測試濃度如下：15 mg/kg、5 mg/kg或1.5 mg/kg一週兩次(亦即，30、10或3毫克/公斤/週)持續8週之測試持續時間(亦即，第4週至第12週)。呈15 mg/kg每週兩次(30毫克/公斤/週)之IgG同型抗體用作陰性對照。投配8週之後，將動物處死且收集肝臟用於分析。

【0618】 亦進行血清量測以測定研究期間抗體暴露程度。在第6週、第8週及第10週投配Ab2之後72小時收集血清樣本。在第12週，向動物給與其最後一次Ab2注射，且在注射後6小時及處死時取得血清。**圖8A**顯示研究持續期間Ab2之血清量，其表明在整個研究中吾人具有可定量之Ab2暴露量。不管在整個8週投藥中抗藥物抗體之增加所引起之任何推測影響如何，Ab2在30及10毫克/公斤/週下之兩個最高測試劑量在整個研究中提供最佳覆蓋(van Brummelen等人 *TheOncologist*. 2016年7月;21:1-9)。

【0619】 TGFβ1受體的參與引起細胞內信號傳遞事件，包括Smad2及Smad3之磷酸化。因此，藉由ELISA (Cell Signaling Technologies)，根據製造商方案測試Ab3及Ab2抑制來自經CDHFD處理之小鼠的肝臟溶胞物中的Smad2/3之能力。如圖**8B**中所示，與IgG對照相比，Ab2顯著降低磷酸化Smad2/3之相對比率。**圖8C**展現Ab2之血清量及磷酸化Smad2/3之間的逆相關性。**圖8D**顯示相較於處於CDHFD中的經Ab3及IgG處理之小

鼠，Ab2顯著減少Smad2/3之磷酸化(參見例如1.5 mg/kg劑量)。

【0620】羥脯胺酸為原纖維膠原蛋白之標籤胺基酸且佔該蛋白之大約13.5%。肝臟中出現之纖維化具有形成於慢性肝炎、肝臟硬化、肝癌、肺纖維化及絲球體腎炎中之能力(Qui等人 2014 *Mol.Med. Reports* 2014 10;1157-1163)。羥脯胺酸充當纖維化之嚴重程度之重要診斷指示物。如**圖8E**中所示，當與投與IgG對照Ab之對照CDHFD動物相比時，經歷用Ab3及Ab2處理之動物展現出膠原蛋白沈積顯著減少，表明積極處理作用。

【0621】為了評定來自經CDHFD處理之小鼠的肝臟中的1型膠原蛋白沈積之水準，使用Leica Bond RX染色系統研發針對抗小鼠I型膠原蛋白抗體(兔多株；Abcam；ab21286)之免疫組織化學(IHC)方案。收集小鼠肝臟且固定在在室溫下10%中性緩衝福馬林(NBF)中持續24小時。隨後將經固定之肝臟修整成3至5 mm截面，且在針對石蠟浸潤及包埋進行處理前儲存在70%乙醇中。經石蠟包埋之肝臟以4 μm來剖切，且固定於IHC染色用載片上。在5 μg /mL最終濃度下使用1型膠原蛋白初級抗體以及匹配之同型初級對照(兔單株IgG；Cell Signaling Technologies；3900S)。用保溫在100℃下之pH 6檸檬酸鹽緩衝液進行抗原決定基修復持續20分鐘。在基於tris之緩衝液中洗滌載片，與過氧化物阻斷試劑一起培育，隨後在緩衝液中洗滌3次，且與蛋白質阻斷試劑一起培育20分鐘，之後進行30分鐘初級抗體培育。再次用緩衝液洗滌載片，之後與Leica HRP聚合物結合物一起培育8分鐘。隨後在緩衝液中洗滌載片2次，且在去離子(DI)水中洗滌1次，之後與Leica二胺基聯苯胺(DAB)色原體一起培育10分鐘。隨後用DI水洗滌載片3次，之後用蘇木精對比染色5分鐘。最後一次的洗滌步驟之

後，接著使經染色之IHC載玻片脫水，且使用二甲苯類封固劑蓋上載片。

【0622】 將經染色之載片送至HistoTox實驗室以供用Aperio AT2全載片掃描儀成像，且使用Visiopharm影像分析軟體分析膠原蛋白染色。藉由數位追蹤組織周邊選擇關注區(ROI)，標記各區域以供分析。展現摺疊或撕裂之組織區域自分析排除。使用基於強度之定限演算法來量測總膠原蛋白陽性面積，該演算法將影像之各像素分為高陽性、中等陽性、低陽性或陰性染色面積。總高、中等及低像素面積合計在一起為單一正值，且除以組織之總分析面積，得到膠原蛋白陽性面積在組織中之百分比。如**圖8F**中所示，相較於對照CDHFD動物，經歷用15 mg/kg Ab2處理之動物具有較少總膠原蛋白I陽性面積。在圖**8G**中，經Ab2處理之動物顯示其研究結束暴露量與其膠原蛋白IHC陽性面積之間的逆相關性；具有高暴露量之動物藉由IHC顯示少得多之膠原蛋白含量，表明肝臟中之纖維化程度較低。

實例7：肝纖維化之CCL_4模型中抗proTGFβ1抗體對TGFβ信號傳遞之抑制.

【0623】 小鼠之四氯化碳(CCl_4)處理為肝纖維化之經充分表徵之模型。在此模型中，用每克體重2.5 μl之20% CCl_4於玉米油中之溶液每週腹膜內(i.p.)投配Balb/C小鼠兩次。此CCl_4投配維持在整個研究持續期間(6週)。CCl_4投配兩週之後，開始用測試物投配。用15 mg/kg、5 mg/kg或1.5 mg/kg Ab2之每週兩次劑量或Ab3一週兩次(亦即，30、10或3毫克/公斤/週)腹膜內投配小鼠，其中每週兩次5 mg/kg(10毫克/公斤/週)劑量之泛TGFβ抗體1D11或每週兩次劑量之15 mg/kg (30毫克/公斤/週)之對照IgG抗體。CCl_4投配6週(抗體處理4週)之後，將小鼠處死且收集肝臟組織。

【0624】 使用羥脯胺酸分析(參見上文描述)來量測來自此研究之肝臟溶胞物中的纖維化。**圖9**顯示此分析之結果，其中用Ab3之所有劑量或用Ab2之高(15 mg/kg)劑量進行之處理顯示統計學上顯著之肝臟羥脯胺酸降低量。經Ab2之較低劑量(5或1.5 mg/kg)處理之小鼠顯示肝臟羥脯胺酸降低傾向，但歸因於此模型中之實驗變化，此等差異並非呈統計學上顯著的。兩種TGFβ1特異性抗體之治療作用與泛TGFβ抑制劑1D11之治療作用相似。

實例8.藉由HDX-MS測定Ab3及Ab2之結合區.

【0625】 氫/氘交換質譜(HDX-MS)為用於探究溶液中之蛋白質構形的最常使用之技術。HDX-MS方法描述於例如Wei等人, Drug Discov Today. 2014年1月; 19(1): 95-102；Engen JR. Anal Chem. 2009年10月1日;81(19):7870-5中，其以全文引用的方式併入本文中。簡言之，HDX-MS依賴於蛋白質主鏈醯胺氫與溶液中之氘交換。涉及弱氫鍵或位於蛋白質表面處之主鏈醯胺氫可快速交換，而埋於內部之氫或涉及穩定氫鍵之氫則較為緩慢地交換。基於可例如藉由質譜分析偵測到的氫(1 Da)與氘(2 Da)之間的質量差，可隨時間推移監測H-D交換，因此，藉由量測主鏈醯胺氫之HDX速率，吾人可獲得關於蛋白質動力學、構形及蛋白質-蛋白質相互作用，諸如抗體-抗原結合之資訊。

【0626】 為了出於抗原決定基定位之目的獲得深入理解，進行HDX-MS以測定涉及Ab3-抗原結合的proTGFβ1之結合區(例如，proTGFβ複合物中Ab3結合之處)。在HDX-MS中，經抗體緊密結合之抗原的區域歸因於蛋白質-蛋白質相互作用受保護而避開質子交換，而暴露於溶劑之區域可容易經歷質子交換。基於此，鑑別出抗原中之結合區，其受抗體之

特異性結合保護。

【0627】 藉由HDX-MS使用其中前域之位置4處之半胱胺酸殘基已經絲胺酸殘基取代的經修飾之proTGFβ1複合物(proTGFβ1 C4S)(描述於WO 2014/182676中)來評定Ab3結合。已知來自proTGFβ1均二聚體之半胱胺酸參與形成與呈遞分子，諸如LTBP、GARP及LRRC33之共價鍵。在實驗中使用proTGFβ1與Ab3 Fab之1:3莫耳比。結果彙匯在**圖10A**中。如所示，在proTGFβ1中存在至少三個其中結合至Ab3 Fab後H/D交換顯著受保護的區域(圖**10A**中之經標記之1區、2區及3區)，其表明此等區域或其部分可表示Ab3與proTGFβ1之一或多個結合區。1區(SQGEVPPGPLPEAVLALYNST；SEQ ID NO: 258)在proTGFβ1中所分解之所有胃蛋白酶肽中引起最高H/D交換，且定位在proTGFβ1之前域中的潛伏套索上。顯示顯著H/D交換保護之其他兩個區為2區(LREAVPE；SEQ ID NO: 259)及3區(YHANFCLG；SEQ ID NO: 260)，且分別定位於前域中之α3螺旋及proTGFβ1之生長因子之一部分上。比較全部三種proTGFβ同工型的1區及2區之胺基酸序列比對顯示此等區域中有顯著序列差異性(參見**圖10B**)，且因此提供相對於其他同工型，Ab3對proTGFβ1之特異性的結構性論點。

【0628】 為了在Ab2對proTGFβ1之結合機制中獲得其他結構性深入見解，吾人使用proTGFβ1與Ab2 Fab之1:3莫耳比對proTGFβ1 C4S及Ab2 Fab進行HDX-MS(參見**圖10C**)。如**圖10C**中所示，proTGFβ1中存在顯示顯著H/D交換保護之至少三個區域，其表明此等區域或其部分可表示proTGFβ1中Ab2之一或多個結合區。1區(SPPSQGEVPPGPLPEAVLALYNST；SEQ ID NO: 261)在proTGFβ1中

所分解之所有胃蛋白酶肽中顯示最高H/D交換，且定位在proTGFβ1之前域中的潛伏套索上。2區(LREAVPE；SEQ ID NO: 259)及3區(WKWIHEPKGYHANFCLG；SEQ ID NO: 262)分別定位於前域中之α3螺旋及proTGFβ1之生長因子之一部分上。比較所有proTGFβ同工型-1、proTGFβ同工型-2及proTGFβ同工型-3的1區與2區之胺基酸序列比對顯示此等區域中有序列差異性(參見**圖10D**)，且可提供相對於其他同工型，Ab2對proTGFβ1之特異性的結構性論點。

實例9：藉由X射線晶體學測定針對Ab2之proTGFβ1結合區

【0629】藉由解析人類proTGFβ1:Ab2-Fab:AbX-Fab之三元複合物的晶體結構來進一步闡明proTGFβ1中的Ab2之抗原決定基。在此研究中，使用不可裂解之人類proTGFβ1 C4S/R249A變異體，其基於人類proTGFβ1 (Uniprot ID P01137)之全長序列跨越殘基30至390。將用於本文之其餘部分的編號系統將在移除proTGFβ同工型之信號序列之後，將位置1表示為第一胺基酸殘基。C4S突變使得proTGFβ1不能夠共價交聯至任何已知呈遞分子，例如LTBP及GARP，而R249A使得proTGFβ1對前體蛋白質轉化酶/弗林蛋白酶裂解具有抗性，由此維持proTGFβ1呈其未裂解前體蛋白質形式。在經基夫鹼(kifunensine)處理之expi293哺乳動物表現系統中proTGFβ1 C4S/R249A與經C端6× His加標籤之Ab2-Fab共表現以減少N-連接糖基化事件。proTGFβ1 C4S/R249A:Ab2-Fab經親和性純化，用內切糖苷酶H處理且藉由凝膠過濾純化。proTGFβ1 C4S/R249A:Ab2-Fab複合物隨後與AbX-Fab一起培育以產生三元複合物。此情形下之AbX Fab用作輔助蛋白，其充當結晶伴隨蛋白以增加獲得蛋白質晶體之機率。

【0630】在室溫下以沉滴式進行結晶實驗。使用18%聚乙二醇

6000、0.2 M $MgCl_2$、0.1 M乙酸鈉緩衝液，pH 5.0獲得適用於X射線分析之晶體(參見**圖11A**)。藉由浸泡在補充有25%甘油之母液中對晶體進行低溫保護且速凍於液氮中。使用Dectris Eiger 16M偵測器在美國阿貢國家實驗室(Argonne National Laboratory ；ANL)在先進光子源(Advanced Photon Source；APS)下在SER-CAT光束線22-ID下收集X射線繞射資料。用X射線偵測器軟體(X-ray Detector Software；XDS)在具有含有二分之一之2:2:2複合物的不對稱單元的空間群C2221中處理繞射影像。藉由分子替代物使用Phaser解析三元複合物之結構。使用相同人類生殖系IGKV1-39/IGHV3-23 (PDB ID 5I19)之Fab結構對Ab2-Fab進行建模。使用人類生殖系IGHV1/IGKV3-11 (PDB ID 5I16)之Fab結構對AbX-Fab進行建模。使用先前報導之proTGFβ1 (PDB ID 5VQP)之晶體結構對proTGFβ1單體之核進行建模。用Coot人工重建該結構，且使用Refmac5優化至3.4 Å之最終解析度，其中$R_{工作}$值及$R_{自由}$值分別為21%及29%。

【0631】 在本發明結晶形式中，proTGFβ1以處於晶體學二折軸線上之均二聚體存在，以使得不對稱單元含有一種proTGFβ1單體及兩種Fab，而整個複合物具有2:2:2化學計量(**圖11B**)。Ab2-Fab及AbX-Fab不競爭結合proTGFβ1。與此事實一致，其在proTGFβ1上的結合抗原決定基在空間上相距較遠。Ab2-Fab結合藉由潛伏套索中的proTGFβ1之富脯胺酸環中的殘基35至43所形成的線性抗原決定基。proTGFβ1之Pro40及Pro41對於結合尤為重要，因為其參與在Ab2-Fab之H-CDR3及H-CDR1中分別與Trp104及Tyr59的 π 堆疊相互作用。生長因子殘基(R274、K280、H283)與Ab2 Fab之重(S101、G102 H103)鏈殘基及輕(Y49)鏈殘基亦存在相關相互作用。最後，在整個TGFβ家族中的潛伏套索中之抗原決定基區

域之序列比對顯示顯著差異性，其提供相對於TGFβ家族中之其他相關成員(例如，TGFβ2、TGFβ3)的Ab2之異常特異性。proTGFβ1與Ab2-Fab之間的相互作用的抗原決定基及互補位列舉在**表16**中。

【0632】 表16. proTGFβ1與Ab2-Fab之間的相互作用的抗原決定基及互補位。字母*h*及*l*分別表示重鏈及輕鏈。

proTGFβ1 (抗原決定基)	**Ab2 (互補位)**
S35	D31*h*
G37	D31*h*、A33*h*
E38	S54*h*
V39	G102*h*
P40	W104*h*、Y59*h*
P41	W104*h*、Y59*h*
G42	T91*l*、Y92*l*、Y32*l*
P43	Y92*l*、Y32*l*
R274	Y49*l*
K280	S101*h*、H103*h*
H283	G102*h*

實例10.相較於ALK5激酶抑制劑LY2109761及泛TGFβ抗體，Ab3及Ab2展現減小之毒性

【0633】 為了評估相較於小分子TGF-β I型受體(ALK5)激酶抑制劑LY2109761及泛TGFβ抗體(hIgG4；中和所有三種TGFβ生長因子)，Ab3及Ab2之潛在活體內毒性，在大鼠中進行毒性研究。選擇大鼠作為此毒理學研究之物種係基於前述報告稱，相較於小鼠，大鼠對TGFβ抑制較敏感。大鼠中觀測到之相似毒性亦已在其他哺乳動物物種，諸如狗、非人類靈長類動物以及人類中觀測到。

【0634】 簡言之，用呈3 mg/kg (第1組，n=5)、10 mg/kg (第1組，n=5)、30 mg/kg (第1組，n=5)或100 mg/kg (第1組，n=5)之Ab3；呈10 mg/kg (第1組，n=5)、30 mg/kg (第1組，n=5)或100 mg/kg (第1組，

n=5)之Ab2； 呈3 mg/kg (第1組 ，n=5)、10 mg/kg (第1組 ，n=5)、30 mg/kg (第1組，n=5)或100 mg/kg (第1組，n=5)之泛-TGFβ抗體；呈200 mg/kg (第1組 ，n=5)或300 mg/kg (第1組 ，n=5)之LY2109761； 或PBS (pH 7.4)媒劑對照(第1組，n=5)來投與雌性費雪(Fischer) 344大鼠(**圖12A及圖12B**)或史泊格多利(Sprague Dawley；SD)大鼠。

【0635】 在10 mL/kg之體積下靜脈內投配接受泛TGFβ抗體之動物一次(在第1天)，且在第8天處死且進行屍體剖檢。在10 mL/kg之體積下每週一次投配接受Ab3或Ab2任一者之動物持續4週。藉由經口管飼每日一次投配接受LY2109761之動物持續五或七天。處死動物且進行屍體剖檢。

【0636】 如**圖12A及表17**中所示，投與泛TGFβ抗體之動物展現與投與LY2109761之動物中所述之毒性相似的毒性，如PCT/US2018/012601中所述，其以全文引用之方式併入本文中。具體言之，投與≥ 3 mg/kg之泛TGFβ抗體的動物展現與投與LY2109761之動物中所述之心臟瓣膜結果(例如瓣膜病)相似的結果。投與≥ 30 mg/kg之泛TGFβ抗體的動物展現與投與LY2109761之動物中所述之心房結果相似的心房結果。投與100 mg/kg之泛TGFβ抗體的動物展現與投與LY2109761之動物中所述之心肌結果相似的心肌結果，且投與30 mg/kg之泛TGFβ抗體的動物出現心肌出血。投與100 mg/kg之泛TGFβ抗體的一隻動物在冠狀動脈中出現中度壁內壞死及出血，其與輕度血管周混合發炎細胞浸潤物相關。投與泛TGFβ抗體及LY2109761之動物中的骨發現由肉眼可見的異常形狀之胸骨以及胸骨之終板及股骨及脛骨之生長板中的肥大區厚度出現微觀增加組成。如**圖12C**中所示的伴隨LY2109761及泛TGFβ的不同大鼠品系(SD大鼠)中之後續研究亦證明相似毒性。

表17.接受泛TGFβ抗體之動物中的微觀心臟結果

		泛TGFβ抗體			
劑量(毫克/公斤/天)		0	3	30	100
心臟					
心臟瓣膜					
瓣膜病					
	微小	0	2	0	0
	輕度	0	2	4	5
	中度	0	0	1	0
心房					
浸潤，混合細胞					
	微小	0	0	1	2
	輕度	0	0	1	1
內皮增生					
	微小	0	0	3	1
出血					
	微小	0	0	1	0
心肌					
退化/壞死					
	輕度	0	0	0	2
出血					
	微小	0	0	2	1
	輕度	0	0	1	1
浸潤，混合細胞，心底					
	輕度	0	0	0	1
冠狀動脈					
壞死，伴隨出血					
	中度	0	0	0	1
浸潤，混合細胞，血管周					
	輕度	0	0	0	1

【0637】然而，不同於經泛TGFβ抗體或LY2109761處理之動物，投與Ab3或Ab2持續4週之動物在任一大鼠品系中未顯示可觀測到之測試物相關毒性，且Ab3及Ab2兩者之NOAEL為100 mg/kg週劑量，其為所測試之最高劑量(**圖12B**及**圖12D**)。

【0638】 總體而言，歷經*4週*時段用所測試之所有劑量(10 mg/kg、30 mg/kg或100 mg/kg)下的Ab3或Ab2處理之動物，在以下參數中之任一者方面相對於背景未展現毒性作用：心肌退化或壞死；心房出血；心肌出血；瓣膜出血；瓣膜內皮增生；瓣膜基質增生；心臟瓣膜中混合發炎細胞浸潤物；礦化；冠狀動脈中出現壞死，伴隨出血；主動脈根部壞死，伴隨發炎；心肌細胞中壞死或發炎細胞浸潤物；及瓣膜病。Ab3 (費雪大鼠及SD大鼠中)及Ab2 (SD大鼠中)之NOAEL為100 mg/kg之週劑量，其為所測試之最高劑量。因此，用TGFβ1活化之同工型特異性抑制劑進行之處理出人意料地產生相較於泛TGFβ抑制，明顯改善之安全概況，例如降低之死亡率、降低之心臟毒性及減少之骨結果。

實例11：TGFβ1、TGFβ2及TGFβ3之相對表現之生物信息學分析

【0639】 為了評估癌性腫瘤中TGFβ同工型之表現，檢查來自公開可用資料集之基因表現(RNAseq)資料。使用公開可用線上介面工具(Firebrowse)以檢查癌症基因組圖譜(TCGA)中的TGFβ同工型之表現，首先檢查正常及癌組織中之編碼TGFβ同工型之RNA的差異表現。選擇存在正常組織比較物的TCGA資料庫中的所有腫瘤RNAseq資料集，且檢查TGFB1、TGFB2及TGFB3基因之表現(**圖13A**)。來自Firebrowse介面之資料表示為百萬中每千鹼基讀數(RPKM)之log2。

【0640】 此等資料表明，在大多數腫瘤類型(灰色)中，TGFB1為最充分表現之TGFβ同工型之轉錄物，伴隨相對於TGFB2呈0至2，且TGFB3呈2至4，log2(RPKM)值一般在4至6範圍內。亦請注意，在若干腫瘤類型中，TGFB1及TGFB3兩者表現之平均量相對於正常比較物樣本(黑色)有所升高，其表明此等TGFβ同工型表現之增加可能與癌細胞相關。此係因為

TGFβ信號傳遞在癌症微環境中抑制宿主免疫系統之潛在作用，吾人感興趣地注意到，TGFB1轉錄物在批准抗PD1或抗PDL1療法之癌症類型中升高，此等適應症在**圖13A**上以灰色標記。

【0641】 應注意，儘管RPKM ＞ 1一般被視為與生物學相關基因表現相關的最小值(Hebenstreit等人, 2011；Wagner等人, 2013)，然而對於後續分析，使用＞ 10或＞ 30之較嚴格RPKM (或相關量度FPKM(參見Conesa等人，2016))截止值以避免假陽性。出於比較，所有三個彼等臨限值均指示在**圖13A**上。

【0642】 **圖13A**中之大四分位距指示個別患者中TGFβ同工型表現的顯著變化。為了鑑別其中患者群之至少一子組患有對TGFβ1同工型有不同表現的腫瘤，分析來自TCGA資料集中之個別腫瘤樣本的RNAseq資料，計算百萬中每千鹼基片段之數目(FPKM)。RPKM與FPKM大致相等，但FPKM對同一轉錄物之相對端處的重複計數讀數進行校正(Conesa等人，2016)。若轉錄物FPKM值> 30，則腫瘤樣本評估為對TGFβ1、TGFβ2或TGFβ3表現呈陽性，且計算表現各TGFβ同工型之各癌症類型之患者的百分率(表示為%)(**圖13B**)。

【0643】 如**圖13B**中所示，TGCA資料集中之大部分腫瘤類型顯示較大百分比之呈TGFβ1陽性之個別樣本，其中一些癌症類型，包括急性骨髓白血病、彌漫性大B細胞淋巴瘤及頭頸部鱗狀細胞癌在超過80%的所有腫瘤樣本中表現TGFβ1。**與圖13A**中之資料一致，較少癌症類型對TGFβ2或TGFβ3呈陽性，但若干癌症顯示呈TGFβ3陽性之相同或更高百分比之腫瘤樣本，包括乳房侵襲性癌、間皮瘤及肉瘤。此等資料表明，可針對TGFβ同工型表現對癌症類型分級，且此類分級可適用於鑑別作為用TGFβ

同工型特異性抑制劑進行之處理的候選者的患者。

【0644】 為了進一步研究此假設，在熱圖(**圖13C**)中標繪來自一小類個別腫瘤樣本之log2(FPKM) RNAseq資料，設定顏色臨限值以反映FPKM > 30為評估為TGFβ同工型陽性之最小轉錄量。

【0645】 各樣本在熱圖表示為單列，且藉由TGFβ1表現量(頂部處為最高表現量)排列樣本。與**圖13B**中之分析一致，各癌症類型中有大量樣本對TGFB1表現呈陽性。然而，此圖示亦強調以下事實，多種腫瘤僅表現TGFB1轉錄物，尤其在食道癌、膀胱尿道上皮癌、肺腺癌及皮膚黑素瘤癌症類型中。引起關注地是，此類TGFB1偏斜並非所有癌症之特徵，因為來自乳房侵襲性癌之樣本顯示呈TGFB3陽性之樣本數目要比TGFB1陽性多得多。然而，此分析指示β1同工型占主要，且在大部分情況下，為來自大量癌症患者之腫瘤中所存在之唯一TGFβ家族成員。結合資料表明，TGFβ信號傳遞在癌症微環境中的免疫抑制中起重要作用，此等結果亦指出TGFβ1特異性抑制在此等腫瘤之治療中的實用性。

【0646】 為了鑑別其中測試TGFβ1特異性抑制作為癌症療法之功效的小鼠模型，分析來自小鼠同基因型腫瘤模型中所用的多種細胞株的RNAseq資料中之TGFβ同工型表現。對於此分析，生成兩個資料圖示。首先，類似於圖3中之資料，吾人生成源自各細胞株之腫瘤的log2(FPKM)值之熱圖(**圖13D**，左)。由於此分析用於鑑別呈TGFB2及TGFB3陰性的表現高TGFB1之同基因型模型，因此吾人主要關心避免假陰性，且吾人設定「陽性」臨限值呈FPKM >1，遠低於**圖13B**及**圖13C**中圖示之臨限值。

【0647】 如**圖13D (左)**中之資料圖示清楚可見，多種同基因型腫瘤，包括MC-38、4T-1及EMT6通常表現顯著量之TGFβ1及TGFβ3兩者。

相比之下，A20及EL4模型幾乎完全表現TGFβ1，且S91及P815腫瘤顯示對TGFB1表現之強烈偏向。

【0648】 為了進一步評估TGFB1對比TGFB2及/或TGFB3之差異表現，計算最小ΔTGFB1，其定義為$log2(FPKM_{TGFB1})$ - $log2(FPKM_{TGFB2})$或$log2(FPKM_{TGFB1})$ - $log2(FPKM_{TGFB3})$之較小值。各模型之最小ΔTGFB1顯示為**圖13D(右)**中之熱圖，且強調來自**圖13D(左)**之結論，來自A20、EL4、S91及/或P815細胞株之同基因型腫瘤可表示其中測試TGFβ1特異性抑制劑之功效的極佳模型。

實例12. Ab3及Ab2與抗PD-1抗體組合對MBT2同基因型膀胱癌小鼠模型中之腫瘤進展的影響

【0649】 為了評估Ab3及Ab2與抗PD-1抗體之組合對減弱膀胱癌腫瘤進展之作用，使用MBT2同基因型膀胱癌小鼠模型。此為極具侵襲性且快速增長之腫瘤模型，且極難以用藥物治療解決腫瘤進展。

【0650】 腫瘤細胞培養

【0651】 MBT-2為源自雌性C3H/He小鼠中可移植的經N-[4-(5-硝基-2-呋喃基)-2-噻唑基]甲醯胺誘發之膀胱癌的低分化鼠類膀胱癌細胞株。在37℃下在5% CO_2氛圍下將細胞培養於具有10%胎牛血清及100 μg /ml鏈黴素洛斯維·帕克紀念研究所(RPMI)-1600培養基中。每隔一天替換培養基，且當細胞匯合達至90%時，進行繼代培養。藉由胰蛋白酶消化自亞匯合培養物收集細胞，且在無血清培養基中洗滌。藉由錐蟲藍排除法測定具有>90%細胞存活率之單細胞懸浮液。在注入之前將細胞再懸浮於磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中。

【0652】 活體內植入及腫瘤生長

【0653】 在對數期生長期間收集用於植入的MBT2細胞且將其再懸浮於磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中。在腫瘤植入當天，用5 × 10^5個細胞(0.1 mL細胞懸浮液)皮下注射各測試小鼠之側腹，且監測腫瘤生長。當腫瘤達至40至80 mm^3之間的平均值時，將小鼠隨機分為15組。使用測徑規以二維量測腫瘤，且使用下式計算體積：

【0654】 腫瘤體積(mm^3) = $w^2 \times l / 2$

【0655】 其中w =腫瘤寬度且l =腫瘤長度，以mm為單位。腫瘤重量可用1 mg等效於1 mm^3腫瘤體積的假設估算。

【0656】 **處理**

【0657】 簡言之，在第1天用呈10 mg/kg，投藥體積為10 mL/kg之Ab3；呈30 mg/kg，投藥體積為10 mL/kg之Ab3；呈3 mg/kg，投藥體積為10 mL/kg之Ab2；或呈10 mg/kg，投藥體積為10 mL/kg之Ab2一週一次腹膜內(i.p.)投與帶有皮下MBT2腫瘤(40至80 mm^3)的小鼠(n=15)持續29天。在10 mg/kg下，以10 mL/kg之投藥體積一週兩次腹膜內投與大鼠抗小鼠PD-1抗體(RMP1 -14-rIgG2a，BioXCel)持續29天。

【0658】 第1組僅接受抗PD-1抗體。第2組接受Ab3 (10 mg/kg)與抗PD-1抗體的組合。第3組接受Ab3 (30mg/kg)與抗PD-1抗體之組合。第4組接受Ab2 (3 mg/kg)與抗PD-1抗體之組合。第5組接受Ab2 (10 mg/kg)與抗PD-1抗體之組合。用同型對照進行之處理用作對照組(資料未示)。

【0659】 **指標及腫瘤生長延遲(TGD)分析**

【0660】 使用測徑規每週量測腫瘤兩次，且當其腫瘤達至1,200 mm^3之指標體積時，將各動物安樂死。針對腫瘤體積指標退出研究的小鼠記錄為出於腫瘤進展(TP)安樂死，記錄下安樂死日期。

【0661】 處理所致之部分反應(PR)定義為針對研究過程中之三次連續量測，腫瘤體積為其第1天體積之50%或更小，且對於此等三次量測中之一或多者等於或大於13.5 mm^3。在完全反應(CR)中，針對研究過程中之三次連續量測，腫瘤體積低於13.5 mm^3。10 mg/kg下之抗PD1/Ab3在研究結束時具有0次PR及4次CR。30 mg/kg下之抗PD1/Ab3在研究結束時具有1次PR及1次CR。3 mg/kg下之抗PD1/Ab2具有1次CR且在10 mg/kg下無其他反應。腫瘤生長延遲百分比(TGD%)定義為與未處理對照相比，處理組中達至指標之中值時間的增量，表示為達至對照之指標之中值時間(TTE)的百分比：

T=處理組之中值TTE

C=對照之中值TTE

TGD% = ((T-C)/C)*100

【0662】 抗PD1/Ab2 TGD%在3 mg/kg下為11.4且在10 mg/kg下為13.6。抗PD1/Ab3 TGD%在10 mg/kg下為191且在30 mg/kg下為196。

【0663】 如**圖14**中所示，相較於單獨PD-1，10 mg/kg及30 mg/kg劑量下之Ab3與抗PD-1組合之投藥，及3 mg/kg及10 mg/kg劑量下之Ab2與抗PD-1組合之投藥延遲了腫瘤生長。如**圖14**中所示，用單獨PD-1處理之大多數小鼠在約第8天及第20天之間達至1024 mm^3之腫瘤體積(如由虛線指示)，而用10mg/kg下之Ab3、30 mg/kg下之Ab3、3mg/kg下之Ab2或10 mg/kg下之Ab2處理之小鼠耗時至多約28天才達至1024 mm^3之腫瘤體積。

【0664】 **圖15**為顯示經30 mg/kg或10 mg/kg下之Ab3或3 mg/kg或10 mg/kg下之Ab2與抗PD1組合投與的小鼠中在第15天之中值腫瘤體積

(mm^3)之圖式。如圖**15**中所示，用10 mg/kg下之Ab3、30 mg/kg下之Ab3或10 mg/kg下之Ab2處理的小鼠在第15天的中值腫瘤體積為約700 mm^3或更小，而用3 mg/kg下之Ab2或單獨PD-1處理的小鼠中在第15天之中值腫瘤體積為1000 mm^3或更大。

實例13. Ab3及Ab2與抗PD-1抗體組合對CloudmanS91黑素瘤癌症小鼠模型中之腫瘤進展的影響

【0665】 為了評估Ab3及Ab2與抗PD-1抗體組合降低黑素瘤腫瘤進展之影響，使用CloudmanS91小鼠黑素瘤模型。

【0666】 **腫瘤細胞培養**

【0667】 純系M3[CloudmanS91黑素瘤] (ATCC® CCL-53.1™)細胞係由美國典型培養物保藏中心(ATCC)獲得，且作為凱恩改進型漢姆氏F12培養基中的指數生長懸浮培養物維持在CR Discovery Services，該培養基補充有2.5%胎牛血清、15%馬血清、2 mM麩醯胺酸、100單位/mL青黴素G鈉、100 μg/mL鏈黴素硫酸酯及25 μg/mL慶大黴素。使腫瘤細胞在37℃下在5% CO_2及95%空氣之氛圍中的含濕氣培育箱中之組織培養瓶中生長。

【0668】 **活體內植入及腫瘤生長**

【0669】 在腫瘤植入當天，用於50%基質膠中的5 × 10^6個CloudmanS91細胞皮下注射各雌性DBA/2測試小鼠之側腹，且監測腫瘤生長。當腫瘤達至125至175 mm^3之體積時，將小鼠隨機分為具有相同平均腫瘤體積之12組，且開始投藥。使用測徑規以二維量測腫瘤，且使用下式計算體積：

$$\text{腫瘤體積}(mm^3) = w^2 \times l / 2$$

其中w =腫瘤寬度且l =腫瘤長度，以mm為單位。腫瘤重量可用1 mg等效於1 mm^3腫瘤體積的假設估算。

【0670】 **處理**

【0671】 簡言之，在第1天用呈10 mg/kg，投藥體積為10 mL/kg之Ab3；呈30 mg/kg，投藥體積為10 mL/kg之Ab3；呈10 mg/kg，投藥體積為10 mL/kg之Ab2；或呈30 mg/kg，投藥體積為10 mL/kg之Ab2一週一次腹膜內(i.p.)投與帶有皮下CloudmanS91腫瘤(125至175 mm^3)的小鼠(n=12)持續60天。在10 mg/kg下，以10 mL/kg之投藥體積一週兩次腹膜內投與大鼠抗小鼠PD-1抗體(RMP1 -14-rIgG2a，BioXCel)持續60天。

【0672】 第1組僅接受抗PD-1抗體。第2組接受Ab3 (10 mg/kg)與抗PD-1抗體的組合。第3組接受Ab3 (30mg/kg)與抗PD-1抗體之組合。第4組接受Ab2 (10 mg/kg)與抗PD-1抗體之組合。第5組接受Ab2 (30mg/kg)與抗PD-1抗體之組合。使用未處理對照，資料未示。

【0673】 **指標及腫瘤生長延遲(TGD)分析**

【0674】 使用測徑規每週量測腫瘤兩次，且當腫瘤達至2,000 mm^3之指標體積時或在研究(第60天)結束時(無論哪個較早發生)，將各動物安樂死。針對腫瘤體積指標退出研究的小鼠記錄為出於腫瘤進展(TP)安樂死，記錄下安樂死日期。根據WO 2018/129329中所述之方法計算供分析用之各小鼠之達至指標之時間(TTE)。

【0675】 **圖16**顯示用Ab3或Ab2與抗PD-1抗體組合處理後的中值腫瘤進展。如**圖16**中所示，10 mg/kg及30 mg/kg下之Ab3或Ab2與抗PD1組合之投藥延遲了腫瘤生長。**圖17A**及**圖17B**提供經CD8+細胞標記物染色之CloudmanS91腫瘤模型之代表性免疫組織化學切片 。**圖18A**及**圖18B**提供

經巨噬細胞標記物，F4/80染色之CloudmanS91腫瘤之代表性免疫組織化學切片。如**圖17B**及**圖18B**中所示，用抗PD-1抑制劑及同工型特異性TGFb1抑制劑進行之處理在S91腫瘤中增加了CD8+ T細胞浸潤及巨噬細胞浸潤。

實例14：pH對Ab2結合至proTGFb1 C4S之影響

【0676】利用FortéBio Octet Red384來測試Ab2 (人類IgG4)之pH敏感性，且參考抗體用作對照(「R1」) (人類IgG4)，其亦為呈pH不敏感(非pH依賴性)物質之結合潛伏複合物的TGFβ1之同工型選擇性抑制劑。相對於經感測器固定之人類proTGFβ1 C4S測試抗體，該人類proTGFβ1 C4S在前域中含有突變以在不存在與呈遞分子之二硫鍵下促進proTGFβ1表現。對於此實驗，利用聚苯乙烯96孔黑色半區培養盤(Greiner Bio-One)及胺反應性第二代(AR2G)生物感測器(FortéBio)。

【0677】根據製造商說明書，利用胺反應性第二代(AR2G)試劑套組(FortéBio部件號18-5095)來評定Ab2及R1結合至人類proTGFβ1 C4S之pH敏感性。首先使AR2G生物感測器脫機在水中水合至少10分鐘，之後開始實驗。開始實驗後，在水中平衡AR2G尖端持續1分鐘。隨後，將尖端移至活化溶液中持續5分鐘。活化溶液由18份水、1份400 mM 1-乙基-3-[3-二甲胺基丙基]碳化二亞胺鹽酸鹽(EDC)及1份200 mM N-羥基磺基丁二醯亞胺(s-NHS)組成。在即將用於實驗中之前製備活化溶液。尖端活化之後，用人類proTGFβ1 C4S於10 mM乙酸鈉緩衝液(pH 5)中之10 μg/mL溶液裝載尖端持續3分鐘。裝載之後，在乙醇胺(pH 8.5)中淬滅尖端持續15分鐘。隨後尖端呈基線/在1×增強型動力學緩衝液中經20分鐘培育封閉。1×增強型動力學緩衝液(1×EKB)為添加有2% BSA (Sigma A3059-

100G)、0.5 M NaCl (Fisher S671-10)及0.09% tween-20 (P7949-500M)之1×動力學緩衝液(用PBS自10×稀釋之FortéBio部件號18-1105)。隨後使尖端在Ab2或R1於1×EKB (pH 7.3)中之10 μg/mL溶液中締合10分鐘，之後進行最後10分鐘解離步驟。在pH 7及pH 5下之1×EKB中進行解離。

【0678】 **圖19**顯示Ab2及R1在不同pH下之結合動力學。R1在pH 7或pH 5下顯示最小解離(分別呈K_{dis} = $4.38e^{-3}$及K_{dis} = $3.69e^{-3}$)。Ab2在pH 7下顯示一定解離(K_{dis} = $2.78e^{-3}$)。然而，Ab2在pH 5下顯示顯著解離(K_{dis} = $5.61e^{-3}$)，表明Ab2為pH敏感的。

【0679】 上文個別章節中提及的本發明之多種特徵及實施例視需要在細節上作必要修改後適用於其他章節。因此，一個章節中所規定之特徵可視需要與其他章節中所規定之特徵組合。

實施例

1. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之分離單株抗體或其抗原結合片段，其中抗體或片段包含H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3、L-CDR1、L-CDR2及L-CDR3，其中：

i) H-CDR1具有由FTF(X_1)(X_2)(X_3)AM(X_4)表示之胺基酸序列，其中X_1為A或S；X_2為N、D、S或A；X_3為Y或F； 及/或X_4為S、T或V (SEQ ID NO: 252)；

ii) H-CDR2具有由(X_1)IS(X_2)(X_3)(X_4)(X_5)(X_6)(X_7)Y(X_8)ADSVKG表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為S或A；X_2為G或S；X_3為S、T或F；X_4為G或A；X_5為G、A、F或S；X_6為A、H、T、S或V；X_7為T或I；及/或X_8為Y或F (SEQ ID NO: 253)；

iii) H-CDR3具有由A(X_1)VSS(X_2)(X_3)WD(X_4)D(X_5)表示之胺基酸序

列，其中視情況地，X_1為R或T；X_2為G或Y；X_3為H或L；X_4為F、Y或L；及/或X_5為Y或E (SEQ ID NO: 254)；

iv) L-CDR1具有由(X_1)ASQ(X_2)IS(X_3)(X_4)LN表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為R或Q；X_2為S或D；X_3為S或N；及/或X_4為F、Y或S (SEQ ID NO: 255)；

v) L-CDR2具有由(X_1)AS(X_2)L(X_3)(X_4)表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為D或A；X_2為S或N；X_3為Q或E；及/或X_4為S或T (SEQ ID NO: 256)；及，

vi) L-CDR3具有由QQ(X_1)(X_2)(X_3)(X_4)P(X_5)T表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為S、A、T或V；X_2為F、Y或P；X_3為S、N、T或D；X_4為A、L、V或P；及/或X_5為F或L (SEQ ID NO: 257)。

2. 根據實施例1之分離單株抗體或其抗原結合片段，其中：

i) H-CDR1包含在位置X_2之D；

ii) H-CDR2包含在位置X_3之S；

iii) H-CDR3包含在位置X_2之G，在位置X_3之H；

iv) L-CDR2緊接在Y之後；及，

vi) L-CDR3包含在位置X_1之T及在位置X_2之Y。

3. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之分離單株抗體或其抗原結合片段，其中抗體或片段包含H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3、L-CDR1、L-CDR2及L-CDR3，其中：

i) H-CDR1具有由FTF(X_1)D(X_3)AM(X_4)表示之胺基酸序列，其中X_1為A或S；X_3為Y或F；及/或X_4為S、T或V (SEQ ID NO: 276)；

ii) H-CDR2具有由(X_1)IS(X_2)S(X_4)(X_5)(X_6)(X_7)Y(X_8)ADSVKG表示

之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為S或A；X_2為G或S；X_4為G或A；X_5為G、A、F或S；X_6為A、H、T、S或V；X_7為T或I；　　及/或X_8為Y或F (SEQ ID NO: 277)；

iii) H-CDR3具有由A(X_1)VSSGHWD(X_4)D(X_5)表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為R或T；X_4為F、Y或L；及/或X_5為Y或E (SEQ ID NO: 278)；

iv) L-CDR1具有由(X_1)ASQ(X_2)IS(X_3)(X_4)LN表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為R或Q；X_2為S或D；X_3為S或N；及/或X_4為F、Y或S (SEQ ID NO: 255)；

v) L-CDR2具有由Y(X_1)AS(X_2)L(X_3)(X_4)表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為D或A；X_2為S或N；X_3為Q或E；及/或X_4為S或T (SEQ ID NO: 279)；及，

vi) L-CDR3具有由QQTY(X_3)(X_4)P(X_5)T表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_3為S、N、T或D；X_4為A、L、V或P；及/或X_5為F或L (SEQ ID NO: 280)。

4. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 2中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 4中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 6中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 8中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 10中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 12中所示之胺基酸序列的L-CDR3；

視情況地，其中各CDR與相應CDR具有至少85%序列一致性。

5. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 108中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 121中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 110中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 136中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 12中所示之胺基酸序列的L-CDR3；

視情況地，其中各CDR與相應CDR具有至少85%序列一致性。

6. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之分離單株抗體或其抗原結合片段，其中抗體或片段包含與SEQ ID NO: 13具有至少95%一致性之可變重鏈序列及與SEQ ID NO: 15具有至少95%一致性之可變輕鏈序列。

7. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之分離單株抗體或其抗原結合片段，其中抗體或片段包含與SEQ ID NO: 13具有至少90%一致性之可變重鏈序列及與SEQ ID NO: 15具有至少90%一致性之可變輕鏈序列，

其中：

i)可變重鏈包含如SEQ ID NO: 13中所示之胺基酸殘基D31、A33、S54、Y59、S101、G102、H103及W104，及；

ii) 可變輕鏈包含如SEQ ID NO: 15中所示之胺基酸殘基Y32、Y49、T91及Y92。

8. 根據實施例7之抗體或片段，其中可變重鏈序列與SEQ ID NO: 13具有至少95%一致性，且可變輕鏈序列與SEQ ID NO: 15具有至少95%一致性。

9. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中抗體包含包括如

SEQ ID NO: 17中所示之胺基酸序列的重鏈及包含如SEQ ID NO: 19中所示之胺基酸序列的輕鏈。

10. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 108中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 109中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 110中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 112中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 113中所示之胺基酸序列的L-CDR3；

視情況地，其中各CDR與相應CDR具有至少85%序列一致性。

11. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含與SEQ ID NO: 210具有至少95%一致性之可變重鏈序列及與SEQ ID NO: 211具有至少95%一致性之可變輕鏈序列。

12. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 114中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 115中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 110中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 112中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 113中所示之胺基酸序列的L-CDR3；

視情況地，其中各CDR與相應CDR具有至少85%序列一致性。

13. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含與SEQ ID NO: 212具有至少95%一致性之可變重鏈序列及與SEQ ID NO: 211具有至少95%一致性之可變輕鏈序列。

14. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 120中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 121中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 110中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 112中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 113中所示之胺基酸序列的L-CDR3；

視情況地，其中各CDR與相應CDR具有至少85%序列一致性。

15. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含與SEQ ID NO: 214具有至少95%一致性之可變重鏈序列及與SEQ ID NO: 211具有至少95%一致性之可變輕鏈序列。

16. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 126中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 127中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 110中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 129中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 130中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 131中所示之胺基酸序列的L-CDR3；

視情況地，其中各CDR與相應CDR具有至少85%序列一致性。

17. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含與SEQ ID NO: 216具有至少95%一致性之可變重鏈序列及與SEQ ID NO: 217具有至少95%一致性之可變輕鏈序列。

18. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 126中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 127中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 110中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 136中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 12中所示之胺基酸序列的L-CDR3；

視情況地，其中各CDR與相應CDR具有至少85%序列一致性。

19. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含與SEQ ID NO: 216具有至少95%一致性之可變重鏈序列及與SEQ ID NO: 15具有至少95%一致性之可變輕鏈序列。

20. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 114中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 115中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 110中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 136中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 12中所示之胺基酸序列的L-CDR3；

視情況地，其中各CDR與相應CDR具有至少85%序列一致性。

21. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含與SEQ ID NO: 212具有至少95%一致性之可變重鏈序列及與SEQ ID NO: 15具有至少95%一致性之可變輕鏈序列。

22. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 108中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 145中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 110中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 148中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 149中所示之胺基酸序列的L-CDR3；

視情況地，其中各CDR與相應CDR具有至少85%序列一致性。

23. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含與SEQ ID NO: 222具有至少95%一致性之可變重鏈序列及與SEQ ID NO: 223具有至少95%一致性之可變輕鏈序列。

24. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 150中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 151中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 110中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 148中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 149中所示之胺基酸序列的L-CDR3；

視情況地，其中各CDR與相應CDR具有至少85%序列一致性。

25. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含與SEQ ID NO: 224具有至少95%一致性之可變重鏈序列及與SEQ ID NO: 223具有至少95%一致性之可變輕鏈序列。

26. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 114中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 115中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 110中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 136中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 12中所示之胺基酸序列的L-CDR3；

視情況地，其中各CDR與相應CDR具有至少85%序列一致性。

27. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含與SEQ ID NO: 226具有至少95%一致性之可變重鏈序列及與SEQ ID NO: 15具有至少95%一致性之可變輕鏈序列。

28. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 168中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 115中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 110中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 136中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 12中所示之胺基酸序列的L-CDR3；

視情況地，其中各CDR與相應CDR具有至少85%序列一致性。

29. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含與SEQ ID NO: 228具有至少95%一致性之可變重鏈序列及與SEQ ID NO: 15具有至少95%一致性之可變輕鏈序列。

30. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 120中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 121中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 110中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 136中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 12中所示之胺基酸序列的L-CDR3；

視情況地，其中各CDR與相應CDR具有至少85%序列一致性。

31. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含與SEQ ID NO: 230具有至少95%一致性之可變重鏈序列及與SEQ ID NO: 15具有至少95%一致性之可變輕鏈序列。

32. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 114中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 121中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 182中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 136中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 12中所示之胺基酸序列的L-CDR3；

視情況地，其中各CDR與相應CDR具有至少85%序列一致性。

33. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含與SEQ ID NO: 232具有至少95%一致性之可變重鏈序列及與SEQ ID NO: 15具有至少95%一致性之可變輕鏈序列。

34. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 120中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 121中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 188中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 136中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 12中所示之胺基酸序列的L-CDR3；

視情況地，其中各CDR與相應CDR具有至少85%序列一致性。

35. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含與SEQ ID NO: 234具有至少95%一致性之可變重鏈序列及與SEQ ID NO: 15具有至少95%一致性之可變輕鏈序列。

36. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 150中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 193中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 194中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 136中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 12中所示之胺基酸序列的L-CDR3；

視情況地，其中各CDR與相應CDR具有至少85%序列一致性。

37. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含與SEQ ID NO: 236具有至少95%一致性之可變重鏈序列及與SEQ ID NO: 15具有至少95%一致性之可變輕鏈序列。

38. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 126中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 127中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 200中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 112中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 113中所示之胺基酸序列的L-CDR3；

視情況地，其中各CDR與相應CDR具有至少85%序列一致性。

39. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含如SEQ ID NO: 238中所示之可變重鏈序列及如SEQ ID NO: 211中所示之可變輕鏈序列。

40. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 126中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 127中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 206中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列的L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 112中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 113中所示之胺基酸序列的L-CDR3。

41. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含具有SEQ ID NO: 240中所示之序列的可變重鏈序列及具有SEQ ID NO: 211中所示之序列的可變輕鏈序列。

42. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含與SEQ ID NO: 216具有至少95%一致性之可變重鏈序列及與SEQ ID NO: 243具有至少95%一致性之可變輕鏈序列。

43. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之分離單株抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含以下CDR中之兩者或更多者：

i) 包含如SEQ ID NO: 250中所示之胺基酸序列，視情況伴隨1個胺基酸變化之H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 251中所示之胺基酸序列，視情況伴隨1個胺基酸變化之H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 110中所示之胺基酸序列，視情況伴隨1個胺基酸變化之H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列，視情況伴隨1個胺基酸變化之L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 136中所示之胺基酸序列，視情況伴隨1個胺

基酸變化之L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 12中所示之胺基酸序列，視情況伴隨1個胺基酸變化之L-CDR3,

其限制條件為抗體包含至少一個CDR，其選自由上文所列之H-CDR1、H-CDR2、L-CDR2及L-CDR3組成之群。

44. 一種特異性結合proTGFβ1複合物之分離單株抗體或其抗原結合片段，其中抗體包含：

i) 包含如SEQ ID NO: 250中所示之胺基酸序列，視情況伴隨1或2個胺基酸變化之H-CDR1；

ii) 包含如SEQ ID NO: 251中所示之胺基酸序列，視情況伴隨1個胺基酸變化之H-CDR2；

iii) 包含如SEQ ID NO: 110中所示之胺基酸序列，視情況伴隨1個胺基酸變化之H-CDR3；

iv) 包含如SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列，視情況伴隨1個胺基酸變化之L-CDR1；

v) 包含如SEQ ID NO: 136中所示之胺基酸序列，視情況伴隨1個胺基酸變化之L-CDR2；及，

vi) 包含如SEQ ID NO: 12中所示之胺基酸序列，視情況伴隨1或2個胺基酸變化之L-CDR3。

45. 一種特異性結合proTGFβ1複合物且抑制TGFβ1活化之分離單株抗體或其抗原結合片段，其中如藉由溶液平衡滴定所量測，抗體或片段以≤ 1 nM之KD結合hLTBP1-proTGFβ1及hLTBP3-proTGFβ1複合物中之每一者，且以> 1 nM之KD結合hGARP-proTGFβ1及hLRRC33-proTGFβ1複

合物中之每一者。

46. 一種特異性結合proTGFβ1複合物且抑制TGFβ1活化之分離單株抗體或其抗原結合片段，其中如藉由溶液平衡滴定所量測，抗體或片段以≤ 1 nM之KD結合hLTBP1-proTGFβ1及hLTBP3-proTGFβ1複合物中之每一者，且其中對hLTBP1-proTGFβ1及hLTBP3-proTGFβ1複合物之平均親和性比對hGARP-proTGFβ1及hLRRC33-proTGFβ1複合物之平均親和性大至少五倍。

47. 一種以≤ 10 nM (較佳≤ 5 nM)之KD特異性結合hLTBP1-proTGFβ1、hLTBP3-proTGFβ1、hGARP-proTGFβ1及hLRRC33-proTGFβ1複合物中之每一者的分離單株抗體或其抗原結合片段；且其中抗體在基質締合之複合物(例如，hLTBP1-proTGFβ1及/或hLTBP3-proTGFβ1)中之至少一者與細胞締合之複合物(例如，hGARP-proTGFβ1及/或hLRRC33-proTGFβ1)中之至少一者之間的相對親和性方面具有大於五倍基質/LTBP偏向。

48. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中抗體或片段結合proTGFβ1之前域之至少一部分。

49. 如實施例48之抗體或片段，其中前域之該部分包含潛伏套索之一或多個胺基酸殘基。

50. 如前述實施例中任一項之抗體或片段，其中抗體或片段結合組合抗原決定基，其包含(前域內)潛伏套索之一或多個胺基酸殘基及proTGFβ1之生長因子域之一或多個胺基酸殘基。

51. 根據前述實施例中任一項之抗體或其抗原結合片段，其中抗體接觸proTGFβ1複合物上之以下胺基酸殘基：S35、G37、E38、V39、P40、

P41、G42、P43、R274、K280及H283，如SEQ ID NO: 24中所示。

52. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中如藉由基於細胞之效能分析所量測，抗體或片段以≤ 10 nM之對hLTBP1-TGFβ1複合物及hLTBP3-TGFβ1複合物之IC_{50}，抑制成熟生長因子自以下proTGFβ1複合物中之每一者釋放。

53. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中如藉由基於細胞之效能分析所量測，抗體或片段以≤ 5 nM之對hLTBP1-TGFβ1複合物及hLTBP3-TGFβ1複合物之IC_{50}，抑制成熟生長因子自以下proTGFβ1複合物中之每一者釋放。

54. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中對GARP-proTGFβ1複合物之所量測之KD值比對人類LRRC33-proTGFβ1、人類LTBP1-proTGFβ1及人類LTBP3-proTGFβ1複合物之所量測之K_D值大約5至20倍。

55. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中對人類GARP-proTGFβ1複合物之所量測之KD值為1 nM或更大，而對於其他三種複合物(人類LRRC33-proTGFβ1、人類LTBP1-proTGFβ1及人類LTBP3-proTGFβ1)中之每一者之所量測之KD值處於次奈莫耳範圍(約0.1至0.9 nM)內。

56. 如前述實施例中任一項之抗體或片段，其中抗體抑制成熟TGFβ1生長因子自proTGFβ1複合物中之每一者而非自proTGFβ2或proTGFβ3複合物釋放。

57. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中抗體或片段為人類IgG1或IgG4亞型。

58. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中抗體或片段包含Ser至Pro突變，其產生類IgG1鉸鏈。

59. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中抗體或片段包含包括如SEQ ID NO: 54中所示之胺基酸序列的鉸鏈區。

60. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中抗體或片段與鼠類對應物交叉反應。

61. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中抗體或片段與人類、食蟹獼猴、小鼠及大鼠對應物交叉反應。

62. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中抗體或片段與以下proTGFβ1複合物中之每一者之人類及小鼠形式交叉反應。

a) LTBP1-proTGFβ1複合物；

b) LTBP3-proTGFβ1複合物；

c) GARP-proTGFβ1複合物；及，

d) LRRC33-proTGFβ1複合物。

63. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中抗體或片段為pH敏感之抗體，其特徵在於如藉由生物層干涉術所量測，抗體或片段在pH 5下對抗原之親和性比在pH 7下低。

64. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中抗體或片段特異性結合proTGFβ1 C4S蛋白且在pH 5下，如藉由適合親和性分析(例如，生物層干涉術及/或表面電漿子共振)所量測，K_{dis} (亦稱為K_{off})≥ 5×10^{-3} s^{-1} (例如，≥ 5.1×10^{-3}、≥ 5.2×10^{-3}、≥ 5.3×10^{-3}、≥ 5.4×10^{-3}、≥ 5.5×10^{-3}、≥ 5.6×10^{-3}、≥ 5.7×10^{-3}、≥ 5.8×10^{-3}、≥ 5.9×10^{-3}或≥ 6.0×10^{-3})。

65. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中抗體或片段特異性結合GARP-TGFβ1複合物、LTBP1-TGFβ1複合物、LTBP3-TGFβ1複合物及LRRC33-TGFβ1複合物且在pH 5下，如藉由適合親和性分析(例如，生物層干涉術及/或表面電漿子共振)所量測，K_{dis} (亦稱為K_{off})≥ 5×10^{-3} s^{-1} (例如，≥ 5.1×10^{-3}、≥ 5.2×10^{-3}、≥ 5.3×10^{-3}、≥ 5.4×10^{-3}、≥ 5.5×10^{-3}、≥ 5.6×10^{-3}、≥ 5.7×10^{-3}、≥ 5.8×10^{-3}、≥ 5.9×10^{-3}或≥ 6.0×10^{-3})。

66. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中抗體或片段在pH 5下之$K_{dis} \geq 5.6 \times 10^{-3}$。

67. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中如藉由適合親和性分析(例如，生物層干涉術及/或表面電漿子共振)所量測，抗體或片段之pH 5 K_{dis}:pH 7 K_{dis}比率(亦即，pH 5下之K_{dis}:pH 7下之K_{dis}) ≥ 1.5 (例如，≥ 1.6、≥ 1.7、≥ 1.8、≥ 1.9或≥ 2.0)。

68. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中如藉由生物層干涉術所量測，抗體或片段之K_{dis}比率≥ 2.0。

69. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其中當向患者每週投配一次持續至少4週時，抗體或片段之最大耐受劑量(MTD)為> 100 mg/kg。

70. 一種組合物，其包含根據前述實施例中任一項之抗體或片段及醫藥學上可接受之賦形劑。

71. 一種包含如實施例66之組合物之容納構件，其中視情況地，該容納構件為小瓶或注射器，其中視情況地，該容納構件含有單一劑量單元或多個劑量單元。

72. 一種套組，其包含如實施例70或71之組合物。

73. 一種根據前述實施例中任一項之抗體或片段在製造用於治療個體中之TGFβ1相關病症之藥劑中的用途。

74. 根據前述實施例中任一項之抗體或片段，其用於治療個體中之TGFβ1相關病症。

75. 根據實施例69所使用之抗體或片段，其中TGFβ1相關病症為纖維變性病症或癌症。

76. 根據實施例75所使用之抗體或片段，其中纖維變性病症為器官纖維化，其中視情況地，器官纖維化係選自由以下組成之群：腎纖維化、肝纖維化、肺纖維化、心臟纖維化、胰臟纖維化、皮膚纖維化、硬皮病、肌肉纖維化、子宮纖維化及子宮內膜異位，且其中進一步視情況地，器官纖維化為晚期器官纖維化。

77. 根據實施例73所使用之抗體或片段，其用於治療涉及細胞外基質之調節異常的疾病或病症。

78. 根據實施例73所使用之抗體或片段，其中疾病或病症包含纖維變性病症、涉及內皮-間葉轉化(EndMT)之疾病、涉及上皮-間葉轉化(EMT)之疾病或涉及蛋白酶之疾病。

79. 根據實施例76所使用之抗體或片段，其中個體患有非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)或非酒精性脂肪肝病(NAFLD)。

80. 根據實施例76所使用之抗體或片段，其中肺纖維化為特發性肺纖維化(IPF)。

81. 根據實施例76所使用之抗體或片段，其中個體患有慢性腎病(CKD)。

82. 根據實施例74所使用之抗體或片段，其中TGFβ1相關病症為包含

慢性發炎之纖維變性病症，其中視情況地，該病症為肌肉萎縮症、多發性硬化(MS)或囊腫性纖維化(CF)。

83. 根據實施例82所使用之抗體或片段，其中肌肉萎縮症為杜氏肌營養不良(DMD)。

84. 根據實施例82所使用之抗體或片段，其中MS包含血管周纖維化。

85. 根據實施例73所使用之抗體或片段，其中TGFβ1相關病症為骨髓增生性病症。

86. 根據實施例85所使用之抗體或片段，其中骨髓增生性病症為骨髓纖維化。

87. 根據實施例73所使用之抗體或片段，其中TGFβ1相關病症為癌症。

88. 根據實施例87所使用之抗體或片段，其中癌症之特徵在於後天抗性或先天性抗性。

89. 根據實施例87及88中任一項所使用之抗體或片段，其中癌症包含實體腫瘤。

90. 根據實施例89所使用之抗體或片段，其中實體腫瘤對癌症療法反應不佳，其中視情況地，癌症療法為檢查點抑制劑療法。

91. 根據實施例89至90所使用之抗體或片段，其中腫瘤之特徵在於免疫排除。

92. 根據實施例89至91所使用之抗體或片段，其中腫瘤包含巨噬細胞浸潤。

93. 根據實施例89至92所使用之抗體或片段，其中腫瘤包含富含CAF

之基質。

94. 根據實施例87至93所使用之抗體或片段，其中個體接受或為接受選自由化學療法、放射療法、CAR-T、癌症疫苗、檢查點抑制劑療法組成之群的癌症療法之候選者。

95. 根據實施例87至94所使用之抗體或片段，其中個體並非經歷腫瘤之手術切除的候選者。

96. 根據實施例1至69中任一項所使用之抗體或片段，其供用於增強人類個體之宿主免疫力，

其中個體患有癌症，及

其中免疫反應包含抗癌免疫力。

97. 根據實施例96所使用之抗體或片段，其中增強宿主免疫力包括自腫瘤減少免疫排除或促進免疫細胞浸潤於腫瘤中。

98. 根據實施例96及97所使用之抗體或片段，其中個體接受或為接受經工程改造之免疫細胞療法的候選者。

99. 根據實施例96至98中任一項所使用之抗體或片段，其中個體接受或為接受癌症疫苗之候選者。

100. 根據實施例85至99中任一項所使用之抗體或片段，其中個體接受或為接受免疫檢查點抑制劑療法之候選者，其中視情況地，個體對免疫檢查點抑制劑療法反應不佳。

101. 根據實施例73至100中任一項所使用之抗體或片段，其中個體用第二療法進一步治療，其中視情況地，第二療法包含TGFβ3抑制劑。

102. 根據實施例101所使用之抗體或片段，其中向個體同時、連續或分開投與抗體或片段及TGFβ3抑制劑。

103. 根據實施例102所使用之抗體或片段，其中抗體或片段及TGFβ3抑制劑調配於單一調配物中或單獨調配物中。

104. 根據實施例73至103所使用之抗體或片段，其中個體患有TGFβ1陽性及TGFβ3陽性癌症或纖維變性組織。

105. 根據實施例103或104中任一項所使用之抗體或片段，其中個體呈或已測定為對TGFβ1抑制劑療法有部分反應。

106. 根據實施例73至105中任一項所使用之抗體或片段，其中單獨或與一或多種額外療法組合之抗體或片段阻斷巨噬細胞締合之TGFb1之活化。

107. 根據實施例75至79中任一項所使用之抗體或片段，其中單獨或與一或多種額外療法組合之抗體或片段阻斷肝星狀細胞活化。

108. 根據實施例75或79中任一項所使用之抗體或片段，其中單獨或與一或多種額外療法組合之抗體或片段減少肝臟表面結節(LSN)及/或肝臟僵硬。

109. 根據實施例75或79中任一項所使用之抗體或片段，其中如藉由MRI-PDFF所量測，單獨或與一或多種額外療法組合之抗體或片段減少肝脂肪。

110. 根據實施例109中任一項所使用之抗體或片段，其中相較於治療之前之肝脂肪，肝脂肪減少至少20%，例如≥ 20%、≥ 25%、≥ 30%、≥ 35%、≥ 40%、≥ 45%或≥ 50%。

111. 根據實施例75至79中任一項所使用之抗體或片段，其中相較於治療之前的ALT及/或GGT，單獨或與一或多種額外療法組合之抗體或片段使血清ALT及/或GGT降低至少20%，例如≥ 20%、≥ 25%、≥ 30%、≥

35%、≥ 40%、≥ 45%或≥ 50%。

112. 根據實施例75至79中任一項所使用之抗體或片段，其中單獨或與一或多種額外療法組合之抗體或片段減少膽汁酸合成。

113. 根據實施例75至79中任一項所使用之抗體或片段，其中單獨或與一或多種額外療法組合之抗體或片段使肝內三酸甘油酯含量降至≤5.5%。

114. 根據實施例73至113中任一項所使用之抗體或片段，其中抗體或片段具有至少3倍、6倍且更佳10倍治療窗。

115. 根據實施例73至114中任一項所使用之抗體或片段，其中當每週一次向患者投與時，抗體或片段在0.1 mg/kg至約30 mg/kg下為治療有效的。

116. 根據實施例115所使用之抗體或片段，其中當每週一次向患者投與時，抗體或片段在3 mg/kg至約30 mg/kg下為治療有效的。

117. 一種用於治療患有TGFβ1相關之疾病或病狀的個體之方法，其包含以下步驟：

i) 選擇診斷患有TGFb1相關之疾病或病狀的患者；及，

ii) 以有效治療該疾病或病狀之量向患者投與根據實施例1至65中任一項之抗體或片段。

118. 如實施例117之方法，其中TGFb1相關之疾病或病狀為纖維化(例如，器官纖維化)。

119. 如實施例118之方法，其中纖維化為肝纖維化、肺纖維化、腎纖維化或心臟纖維化。

120. 如實施例117至119任一項之方法，其中選擇步驟(i)包含偵測免

疫細胞或其一或多個標記物。

121. 如技術方案117至120中任一項之方法，其中免疫細胞標記物係選自由以下組成之群：CD8、CD3、CD4、CD11b、CD163、CD68、CD14、CD34、CD25、CD47。

122. 如技術方案117或121之方法，其中免疫細胞係選自由以下組成之群：細胞毒性T淋巴球、調節T細胞、MDSC、腫瘤相關巨噬細胞、NK細胞、樹突狀細胞及嗜中性白血球。

123. 如實施例117至119中任一項之方法，其中選擇步驟(i)包含偵測纖維化標記物(例如，PAI-1、ACTA2、CCL2、Col1a1、Col3a1、FN-1、CTGF及/或TGFβ1)。

124. 如實施例117至119中任一項之方法，其中選擇步驟(i)包含偵測肌纖維母細胞或其一或多個標記物。

125. 如實施例117至124中任一項之方法，其中選擇步驟(i)包含偵測肝脂肪變性、肝三酸甘油酯、免疫細胞及/或肌纖維母細胞。

126. 如實施例117至125中任一項之方法，其中偵測包含活檢分析、血清標記物分析及/或活體內成像。

127. 如實施例126之方法，其中活體內成像包含超音波、超音波彈性成像、CT掃描、MRI、PET-SPECT及/或光學螢光/生物發光。

128. 如實施例126之方法，其中活體內成像包含FibroScan (TE)、pSWE、2D-3D SWE及/或MRE。

129. 如實施例126之方法，其中活體內成像包含超音波檢查術、CAP、MRI-PDFF及/或MRS。

130. 如實施例126至129中任一項之方法，其中活體內成像包含直接

或間接標記免疫細胞或結合免疫細胞之細胞表面標記物之抗體。

131. 如實施例126至129中任一項之方法，其中活體內成像包含使用追蹤劑。

132. 如技術方案131之方法，其中追蹤劑為放射性同位素。

133. 如技術方案132之方法，其中放射性同位素為發射正電子同位素。

134. 如技術方案133之方法，其中放射性同位素係選自由以下組成之群：^{18}F、^{11}C、^{13}N、^{15}O、^{68}Ga、^{177}Lu、^{18}F及^{89}Zr。

135. 如技術方案126至134中任一項之方法，其中活體內成像包含在免疫-PET中使用標記抗體。

136. 如實施例117至135中任一項之方法，其中治療減少患病組織中之三酸甘油酯、脂肪變性、肝臟表面結節、發炎及/或巨噬細胞。

137. 如實施例117至136中任一項之方法，其中治療將肝內三酸甘油酯含量降至≤ 5.5%。

138. 如實施例117至137中任一項之方法，其中治療減少患病組織中的MDSC。

139. 如實施例117至138中任一項之方法，其中治療減少患病組織中的巨噬細胞。

140. 如實施例117至139中任一項之方法，其中治療阻斷巨噬細胞締合之TGFb1的活化。

141. 如實施例117至140中任一項之方法，其中治療阻斷肝星狀細胞活化。

142. 如實施例117至141中任一項之方法，其中治療減少肝臟表面結

節(LSN)及/或肝臟僵硬。

143. 如實施例117至142中任一項之方法，其中如藉由MRI-PDFF所量測，治療減少肝脂肪。

144. 如實施例177至143中任一項之方法，其中相較於治療之前之肝脂肪，肝脂肪減少至少20%，例如≥ 20%、≥ 25%、≥ 30%、≥ 35%、≥ 40%、≥ 45%或≥ 50%。

145. 如實施例117至144中任一項之方法，其中相較於治療之前的ALT及/或GGT，治療使血清ALT及/或GGT降低至少20%，例如≥ 20%、≥ 25%、≥ 30%、≥ 35%、≥ 40%、≥ 45%或≥ 50%。

146. 如實施例117至145中任一項之方法，其中治療減少膽汁酸合成。

147. 如實施例117至146中任一項之方法，其中治療將肝內三酸甘油酯含量降至≤ 5.5%。

148. 如實施例117至147中任一項之方法，其中有效量為0.1 mg/kg至30 mg/kg，視情況地，為3 mg/kg至30 mg/kg。

149. 如實施例126至148中任一項之方法，其中進行活體內成像以監測個體中對TGFβ1抑制療法之治療反應。

150. 一種治療癌症之方法，該方法包含以下步驟：

i) 選擇診斷患有包含實體腫瘤之癌症的患者，其中實體腫瘤為或疑似為免疫排除腫瘤；

ii) 以有效治療癌症之量向患者投與根據實施例1至65中任一項之抗體或片段，

其中患者已接受或為接受選自由以下組成之群的癌症療法之候選

者：免疫檢查點抑制療法、化學療法、放射療法、經工程改造之免疫細胞療法及癌症疫苗療法。

151. 如技術方案150之方法，其中免疫檢查點抑制劑為PD-1抑制劑或PD-L1抑制劑。

152. 如技術方案151之方法，其中選擇步驟(i)包含偵測免疫細胞或其一或多個標記物。

153. 如技術方案152之方法，其中偵測包含活檢分析、血清標記物分析及/或活體內成像。

154. 如技術方案152或153之方法，其中免疫細胞係選自由以下組成之群：細胞毒性T淋巴球、調節T細胞、MDSC、腫瘤相關巨噬細胞、NK細胞、樹突狀細胞及嗜中性白血球。

155. 如請求項153至154中任一項之方法，其中免疫細胞標記物係選自由以下組成之群：CD8、CD3、CD4、CD11b、CD163、CD68、CD14、CD34、CD25、CD47。

156. 如技術方案153之方法，其中活體內成像包含T細胞追蹤。

157. 如技術方案153或156之方法，其中活體內成像包含使用PET-SPECT、MRI及/或光學螢光/生物發光。

158. 如技術方案156或157之方法，其中活體內成像包含直接或間接標記免疫細胞或結合免疫細胞之細胞表面標記物之抗體。

159. 如實施例153至158中任一項之方法，其中活體內成像包含使用追蹤劑。

160. 如技術方案159之方法，其中追蹤劑為放射性同位素。

161. 如技術方案160之方法，其中放射性同位素為發射正電子同位

素。

162. 如技術方案161之方法，其中放射性同位素係選自由以下組成之群：^{18}F、^{11}C、^{13}N、^{15}O、^{68}Ga、^{177}Lu、^{18}F及^{89}Zr。

163. 如技術方案153至162中任一項之方法，其中活體內成像包含在免疫-PET中使用標記抗體。

164. 如技術方案153至163中任一項之方法，其中進行活體內成像以監測個體中對TGFβ1抑制療法之治療反應。

165. 如技術方案164之方法，其中治療反應包含將免疫排除腫瘤轉化成發炎腫瘤。

熟習此項技術者將認識到，或使用至多常規實驗即能夠確定本文所述之本發明之特定實施例的許多等效方案。此類等效方案意欲由以下申請專利範圍涵蓋。

【序列表】

<110> 美商供石公司

<120> TGFβ1抑制劑及其用途

<130> 127036-02320

<140>
<141>

<150> 62/757,917
<151> 2018-11-09

<150> 62/722,081
<151> 2018-08-23

<150> 62/696,774
<151> 2018-07-11

<160> 295

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<400> 1
000

<210> 2
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 2
Gly Phe Thr Phe Ala Asp Tyr Ala Met
1 5

<210> 3

<400> 3
000

<210> 4
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 4
Ile Ser Gly Ser Gly Ala Ala
1 5

<210> 5

<400> 5
000

<210> 6
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 6
Cys Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 7

<400> 7
000

<210> 8
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 8
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 9

<400> 9
000

<210> 10
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 10
Ala Ala Ser
1

<210> 11

<400> 11
000

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<220>
<221> source
<223> /標註=「參見所申請之說明書以獲得取代及較佳實施例之詳細描述」

<400> 12
Gln Gln Thr Tyr Thr Val Pro Leu Thr
1 5

<210> 13

<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 13
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ala Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ala Ala Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 14

<400> 14
000

<210> 15
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 15
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Thr Val Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 16

<400> 16
000

<210> 17
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 17

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ala Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ala Ala Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445

<210> 18

<400> 18
000

<210> 19
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 19
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Thr Val Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 20

<400> 20
000

<210> 21

<400> 21
000

<210> 22

<400> 22

000

<210> 23

<400> 23
000

<210> 24
<211> 361
<212> PRT
<213> 智人

<400> 24
Leu Ser Thr Cys Lys Thr Ile Asp Met Glu Leu Val Lys Arg Lys Arg
1 5 10 15

Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Ala Ser
20 25 30

Pro Pro Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro Glu Ala Val
35 40 45

Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Arg Val Ala Gly Glu Ser Ala
50 55 60

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Ala Asp Tyr Tyr Ala Lys Glu Val Thr
65 70 75 80

Arg Val Leu Met Val Glu Thr His Asn Glu Ile Tyr Asp Lys Phe Lys
85 90 95

Gln Ser Thr His Ser Ile Tyr Met Phe Phe Asn Thr Ser Glu Leu Arg
100 105 110

Glu Ala Val Pro Glu Pro Val Leu Leu Ser Arg Ala Glu Leu Arg Leu
115 120 125

Leu Arg Leu Lys Leu Lys Val Glu Gln His Val Glu Leu Tyr Gln Lys

Tyr Ser Asn Asn Ser Trp Arg Tyr Leu Ser Asn Arg Leu Leu Ala Pro
145 150 155 160

Ser Asp Ser Pro Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Gly Val Val Arg
165 170 175

Gln Trp Leu Ser Arg Gly Gly Glu Ile Glu Gly Phe Arg Leu Ser Ala
180 185 190

His Cys Ser Cys Asp Ser Arg Asp Asn Thr Leu Gln Val Asp Ile Asn
195 200 205

Gly Phe Thr Thr Gly Arg Arg Gly Asp Leu Ala Thr Ile His Gly Met
210 215 220

Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Met Ala Thr Pro Leu Glu Arg Ala Gln
225 230 235 240

His Leu Gln Ser Ser Arg His Arg Arg Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys
245 250 255

Phe Ser Ser Thr Glu Lys Asn Cys Cys Val Arg Gln Leu Tyr Ile Asp
260 265 270

Phe Arg Lys Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr
275 280 285

His Ala Asn Phe Cys Leu Gly Pro Cys Pro Tyr Ile Trp Ser Leu Asp
290 295 300

Thr Gln Tyr Ser Lys Val Leu Ala Leu Tyr Asn Gln His Asn Pro Gly
305 310 315 320

Ala Ser Ala Ala Pro Cys Cys Val Pro Gln Ala Leu Glu Pro Leu Pro
325 330 335

Ile Val Tyr Tyr Val Gly Arg Lys Pro Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn

340 345 350

Met Ile Val Arg Ser Cys Lys Cys Ser
355 360

<210> 25
<211> 361
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 25
Leu Ser Thr Ser Lys Thr Ile Asp Met Glu Leu Val Lys Arg Lys Arg
1 5 10 15

Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Ala Ser
20 25 30

Pro Pro Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro Glu Ala Val
35 40 45

Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Arg Val Ala Gly Glu Ser Ala
50 55 60

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Ala Asp Tyr Tyr Ala Lys Glu Val Thr
65 70 75 80

Arg Val Leu Met Val Glu Thr His Asn Glu Ile Tyr Asp Lys Phe Lys
85 90 95

Gln Ser Thr His Ser Ile Tyr Met Phe Phe Asn Thr Ser Glu Leu Arg
100 105 110

Glu Ala Val Pro Glu Pro Val Leu Leu Ser Arg Ala Glu Leu Arg Leu
115 120 125

Leu Arg Leu Lys Leu Lys Val Glu Gln His Val Glu Leu Tyr Gln Lys

130 135 140

Tyr Ser Asn Asn Ser Trp Arg Tyr Leu Ser Asn Arg Leu Leu Ala Pro
145 150 155 160

Ser Asp Ser Pro Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Gly Val Val Arg
165 170 175

Gln Trp Leu Ser Arg Gly Gly Glu Ile Glu Gly Phe Arg Leu Ser Ala
180 185 190

His Cys Ser Cys Asp Ser Arg Asp Asn Thr Leu Gln Val Asp Ile Asn
195 200 205

Gly Phe Thr Thr Gly Arg Arg Gly Asp Leu Ala Thr Ile His Gly Met
210 215 220

Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Met Ala Thr Pro Leu Glu Arg Ala Gln
225 230 235 240

His Leu Gln Ser Ser Arg His Arg Arg Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys
245 250 255

Phe Ser Ser Thr Glu Lys Asn Cys Cys Val Arg Gln Leu Tyr Ile Asp
260 265 270

Phe Arg Lys Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr
275 280 285

His Ala Asn Phe Cys Leu Gly Pro Cys Pro Tyr Ile Trp Ser Leu Asp
290 295 300

Thr Gln Tyr Ser Lys Val Leu Ala Leu Tyr Asn Gln His Asn Pro Gly
305 310 315 320

Ala Ser Ala Ala Pro Cys Cys Val Pro Gln Ala Leu Glu Pro Leu Pro
325 330 335

Ile Val Tyr Tyr Val Gly Arg Lys Pro Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn
340 345 350

Met Ile Val Arg Ser Cys Lys Cys Ser
355 360

<210> 26
<211> 360
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 26
Leu Ser Thr Cys Lys Thr Ile Asp Met Glu Leu Val Lys Arg Lys Arg
1 5 10 15

Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Ala Ser
20 25 30

Pro Pro Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro Glu Ala Val
35 40 45

Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Arg Val Ala Gly Glu Ser Ala
50 55 60

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Ala Asp Tyr Tyr Ala Lys Glu Val Thr
65 70 75 80

Arg Val Leu Met Val Glu Thr His Asn Glu Ile Tyr Asp Lys Phe Lys
85 90 95

Gln Ser Thr His Ser Ile Tyr Met Phe Phe Asn Thr Ser Glu Leu Arg
100 105 110

Glu Ala Val Pro Glu Pro Val Leu Leu Ser Arg Ala Glu Leu Arg Leu
115 120 125

Leu Arg Leu Lys Leu Lys Val Glu Gln His Val Glu Leu Tyr Gln Lys
130 135 140

Tyr Ser Asn Asn Ser Trp Arg Tyr Leu Ser Asn Arg Leu Leu Ala Pro
145 150 155 160

Ser Asp Ser Pro Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Gly Val Val Arg
165 170 175

Gln Trp Leu Ser Arg Gly Gly Glu Ile Glu Gly Phe Arg Leu Ser Ala
180 185 190

His Cys Ser Cys Asp Ser Arg Asp Asn Thr Leu Gln Val Asp Ile Asn
195 200 205

Gly Phe Thr Thr Gly Arg Arg Gly Asp Leu Ala Thr Ile His Gly Met
210 215 220

Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Met Ala Thr Pro Leu Glu Arg Ala Gln
225 230 235 240

His Leu Gln Ser Ser Arg His Gly Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys Phe
245 250 255

Ser Ser Thr Glu Lys Asn Cys Cys Val Arg Gln Leu Tyr Ile Asp Phe
260 265 270

Arg Lys Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr His
275 280 285

Ala Asn Phe Cys Leu Gly Pro Cys Pro Tyr Ile Trp Ser Leu Asp Thr
290 295 300

Gln Tyr Ser Lys Val Leu Ala Leu Tyr Asn Gln His Asn Pro Gly Ala
305 310 315 320

Ser Ala Ala Pro Cys Cys Val Pro Gln Ala Leu Glu Pro Leu Pro Ile

325 330 335

Val Tyr Tyr Val Gly Arg Lys Pro Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn Met
340 345 350

Ile Val Arg Ser Cys Lys Cys Ser
355 360

<210> 27
<211> 360
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 27
Leu Ser Thr Ser Lys Thr Ile Asp Met Glu Leu Val Lys Arg Lys Arg
1 5 10 15

Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Ala Ser
20 25 30

Pro Pro Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro Glu Ala Val
35 40 45

Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Arg Val Ala Gly Glu Ser Ala
50 55 60

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Ala Asp Tyr Tyr Ala Lys Glu Val Thr
65 70 75 80

Arg Val Leu Met Val Glu Thr His Asn Glu Ile Tyr Asp Lys Phe Lys
85 90 95

Gln Ser Thr His Ser Ile Tyr Met Phe Phe Asn Thr Ser Glu Leu Arg
100 105 110

Glu Ala Val Pro Glu Pro Val Leu Leu Ser Arg Ala Glu Leu Arg Leu

115 120 125

Leu Arg Leu Lys Leu Lys Val Glu Gln His Val Glu Leu Tyr Gln Lys
130 135 140

Tyr Ser Asn Asn Ser Trp Arg Tyr Leu Ser Asn Arg Leu Leu Ala Pro
145 150 155 160

Ser Asp Ser Pro Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Gly Val Val Arg
165 170 175

Gln Trp Leu Ser Arg Gly Gly Glu Ile Glu Gly Phe Arg Leu Ser Ala
180 185 190

His Cys Ser Cys Asp Ser Arg Asp Asn Thr Leu Gln Val Asp Ile Asn
195 200 205

Gly Phe Thr Thr Gly Arg Arg Gly Asp Leu Ala Thr Ile His Gly Met
210 215 220

Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Met Ala Thr Pro Leu Glu Arg Ala Gln
225 230 235 240

His Leu Gln Ser Ser Arg His Gly Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys Phe
245 250 255

Ser Ser Thr Glu Lys Asn Cys Cys Val Arg Gln Leu Tyr Ile Asp Phe
260 265 270

Arg Lys Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr His
275 280 285

Ala Asn Phe Cys Leu Gly Pro Cys Pro Tyr Ile Trp Ser Leu Asp Thr
290 295 300

Gln Tyr Ser Lys Val Leu Ala Leu Tyr Asn Gln His Asn Pro Gly Ala
305 310 315 320

Ser Ala Ala Pro Cys Cys Val Pro Gln Ala Leu Glu Pro Leu Pro Ile
325 330 335

Val Tyr Tyr Val Gly Arg Lys Pro Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn Met
340 345 350

Ile Val Arg Ser Cys Lys Cys Ser
355 360

<210> 28
<211> 395
<212> PRT
<213> 智人

<400> 28
Ser Leu Ser Thr Cys Ser Thr Leu Asp Met Asp Gln Phe Met Arg Lys
1 5 10 15

Arg Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Lys Leu Thr
20 25 30

Ser Pro Pro Glu Asp Tyr Pro Glu Pro Glu Glu Val Pro Pro Glu Val
35 40 45

Ile Ser Ile Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Leu Leu Gln Glu Lys Ala Ser
50 55 60

Arg Arg Ala Ala Ala Cys Glu Arg Glu Arg Ser Asp Glu Glu Tyr Tyr
65 70 75 80

Ala Lys Glu Val Tyr Lys Ile Asp Met Pro Pro Phe Phe Pro Ser Glu
85 90 95

Asn Ala Ile Pro Pro Thr Phe Tyr Arg Pro Tyr Phe Arg Ile Val Arg
100 105 110

Phe Asp Val Ser Ala Met Glu Lys Asn Ala Ser Asn Leu Val Lys Ala
115 120 125

Glu Phe Arg Val Phe Arg Leu Gln Asn Pro Lys Ala Arg Val Pro Glu
130 135 140

Gln Arg Ile Glu Leu Tyr Gln Ile Leu Lys Ser Lys Asp Leu Thr Ser
145 150 155 160

Pro Thr Gln Arg Tyr Ile Asp Ser Lys Val Val Lys Thr Arg Ala Glu
165 170 175

Gly Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Asp Ala Val His Glu Trp Leu
180 185 190

His His Lys Asp Arg Asn Leu Gly Phe Lys Ile Ser Leu His Cys Pro
195 200 205

Cys Cys Thr Phe Val Pro Ser Asn Asn Tyr Ile Ile Pro Asn Lys Ser
210 215 220

Glu Glu Leu Glu Ala Arg Phe Ala Gly Ile Asp Gly Thr Ser Thr Tyr
225 230 235 240

Thr Ser Gly Asp Gln Lys Thr Ile Lys Ser Thr Arg Lys Lys Asn Ser
245 250 255

Gly Lys Thr Pro His Leu Leu Leu Met Leu Leu Pro Ser Tyr Arg Leu
260 265 270

Glu Ser Gln Gln Thr Asn Arg Arg Lys Lys Arg Ala Leu Asp Ala Ala
275 280 285

Tyr Cys Phe Arg Asn Val Gln Asp Asn Cys Cys Leu Arg Pro Leu Tyr
290 295 300

Ile Asp Phe Lys Arg Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys
305 310 315 320

Gly Tyr Asn Ala Asn Phe Cys Ala Gly Ala Cys Pro Tyr Leu Trp Ser

325 330 335

Ser Asp Thr Gln His Ser Arg Val Leu Ser Leu Tyr Asn Thr Ile Asn
340 345 350

Pro Glu Ala Ser Ala Ser Pro Cys Cys Val Ser Gln Asp Leu Glu Pro
355 360 365

Leu Thr Ile Leu Tyr Tyr Ile Gly Lys Thr Pro Lys Ile Glu Gln Leu
370 375 380

Ser Asn Met Ile Val Lys Ser Cys Lys Cys Ser
385 390 395

<210> 29
<211> 395
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 29
Ser Leu Ser Thr Ser Ser Thr Leu Asp Met Asp Gln Phe Met Arg Lys
1 5 10 15

Arg Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Lys Leu Thr
20 25 30

Ser Pro Pro Glu Asp Tyr Pro Glu Pro Glu Glu Val Pro Pro Glu Val
35 40 45

Ile Ser Ile Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Leu Leu Gln Glu Lys Ala Ser
50 55 60

Arg Arg Ala Ala Ala Cys Glu Arg Glu Arg Ser Asp Glu Glu Tyr Tyr
65 70 75 80

Ala Lys Glu Val Tyr Lys Ile Asp Met Pro Pro Phe Phe Pro Ser Glu

85 90 95

Asn Ala Ile Pro Pro Thr Phe Tyr Arg Pro Tyr Phe Arg Ile Val Arg
100 105 110

Phe Asp Val Ser Ala Met Glu Lys Asn Ala Ser Asn Leu Val Lys Ala
115 120 125

Glu Phe Arg Val Phe Arg Leu Gln Asn Pro Lys Ala Arg Val Pro Glu
130 135 140

Gln Arg Ile Glu Leu Tyr Gln Ile Leu Lys Ser Lys Asp Leu Thr Ser
145 150 155 160

Pro Thr Gln Arg Tyr Ile Asp Ser Lys Val Val Lys Thr Arg Ala Glu
165 170 175

Gly Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Asp Ala Val His Glu Trp Leu
180 185 190

His His Lys Asp Arg Asn Leu Gly Phe Lys Ile Ser Leu His Cys Pro
195 200 205

Cys Cys Thr Phe Val Pro Ser Asn Asn Tyr Ile Ile Pro Asn Lys Ser
210 215 220

Glu Glu Leu Glu Ala Arg Phe Ala Gly Ile Asp Gly Thr Ser Thr Tyr
225 230 235 240

Thr Ser Gly Asp Gln Lys Thr Ile Lys Ser Thr Arg Lys Lys Asn Ser
245 250 255

Gly Lys Thr Pro His Leu Leu Leu Met Leu Leu Pro Ser Tyr Arg Leu
260 265 270

Glu Ser Gln Gln Thr Asn Arg Arg Lys Lys Arg Ala Leu Asp Ala Ala
275 280 285

Tyr Cys Phe Arg Asn Val Gln Asp Asn Cys Cys Leu Arg Pro Leu Tyr
290 295 300

Ile Asp Phe Lys Arg Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys
305 310 315 320

Gly Tyr Asn Ala Asn Phe Cys Ala Gly Ala Cys Pro Tyr Leu Trp Ser
325 330 335

Ser Asp Thr Gln His Ser Arg Val Leu Ser Leu Tyr Asn Thr Ile Asn
340 345 350

Pro Glu Ala Ser Ala Ser Pro Cys Cys Val Ser Gln Asp Leu Glu Pro
355 360 365

Leu Thr Ile Leu Tyr Tyr Ile Gly Lys Thr Pro Lys Ile Glu Gln Leu
370 375 380

Ser Asn Met Ile Val Lys Ser Cys Lys Cys Ser
385 390 395

<210> 30
<211> 394
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 30
Ser Leu Ser Thr Ser Ser Thr Leu Asp Met Asp Gln Phe Met Arg Lys
1 5 10 15

Arg Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Lys Leu Thr
20 25 30

Ser Pro Pro Glu Asp Tyr Pro Glu Pro Glu Glu Val Pro Pro Glu Val
35 40 45

Ile Ser Ile Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Leu Leu Gln Glu Lys Ala Ser
50 55 60

Arg Arg Ala Ala Ala Cys Glu Arg Glu Arg Ser Asp Glu Glu Tyr Tyr
65 70 75 80

Ala Lys Glu Val Tyr Lys Ile Asp Met Pro Pro Phe Phe Pro Ser Glu
85 90 95

Asn Ala Ile Pro Pro Thr Phe Tyr Arg Pro Tyr Phe Arg Ile Val Arg
100 105 110

Phe Asp Val Ser Ala Met Glu Lys Asn Ala Ser Asn Leu Val Lys Ala
115 120 125

Glu Phe Arg Val Phe Arg Leu Gln Asn Pro Lys Ala Arg Val Pro Glu
130 135 140

Gln Arg Ile Glu Leu Tyr Gln Ile Leu Lys Ser Lys Asp Leu Thr Ser
145 150 155 160

Pro Thr Gln Arg Tyr Ile Asp Ser Lys Val Val Lys Thr Arg Ala Glu
165 170 175

Gly Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Asp Ala Val His Glu Trp Leu
180 185 190

His His Lys Asp Arg Asn Leu Gly Phe Lys Ile Ser Leu His Cys Pro
195 200 205

Cys Cys Thr Phe Val Pro Ser Asn Asn Tyr Ile Ile Pro Asn Lys Ser
210 215 220

Glu Glu Leu Glu Ala Arg Phe Ala Gly Ile Asp Gly Thr Ser Thr Tyr
225 230 235 240

Thr Ser Gly Asp Gln Lys Thr Ile Lys Ser Thr Arg Lys Lys Asn Ser

245 250 255

Gly Lys Thr Pro His Leu Leu Leu Met Leu Leu Pro Ser Tyr Arg Leu
260 265 270

Glu Ser Gln Gln Thr Asn Arg Arg Lys Gly Ala Leu Asp Ala Ala Tyr
275 280 285

Cys Phe Arg Asn Val Gln Asp Asn Cys Cys Leu Arg Pro Leu Tyr Ile
290 295 300

Asp Phe Lys Arg Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys Gly
305 310 315 320

Tyr Asn Ala Asn Phe Cys Ala Gly Ala Cys Pro Tyr Leu Trp Ser Ser
325 330 335

Asp Thr Gln His Ser Arg Val Leu Ser Leu Tyr Asn Thr Ile Asn Pro
340 345 350

Glu Ala Ser Ala Ser Pro Cys Cys Val Ser Gln Asp Leu Glu Pro Leu
355 360 365

Thr Ile Leu Tyr Tyr Ile Gly Lys Thr Pro Lys Ile Glu Gln Leu Ser
370 375 380

Asn Met Ile Val Lys Ser Cys Lys Cys Ser
385 390

<210> 31
<211> 394
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 31
Ser Leu Ser Thr Cys Ser Thr Leu Asp Met Asp Gln Phe Met Arg Lys

1 5 10 15

Arg Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Lys Leu Thr
20 25 30

Ser Pro Pro Glu Asp Tyr Pro Glu Pro Glu Glu Val Pro Pro Glu Val
35 40 45

Ile Ser Ile Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Leu Leu Gln Glu Lys Ala Ser
50 55 60

Arg Arg Ala Ala Ala Cys Glu Arg Glu Arg Ser Asp Glu Glu Tyr Tyr
65 70 75 80

Ala Lys Glu Val Tyr Lys Ile Asp Met Pro Pro Phe Phe Pro Ser Glu
85 90 95

Asn Ala Ile Pro Pro Thr Phe Tyr Arg Pro Tyr Phe Arg Ile Val Arg
100 105 110

Phe Asp Val Ser Ala Met Glu Lys Asn Ala Ser Asn Leu Val Lys Ala
115 120 125

Glu Phe Arg Val Phe Arg Leu Gln Asn Pro Lys Ala Arg Val Pro Glu
130 135 140

Gln Arg Ile Glu Leu Tyr Gln Ile Leu Lys Ser Lys Asp Leu Thr Ser
145 150 155 160

Pro Thr Gln Arg Tyr Ile Asp Ser Lys Val Val Lys Thr Arg Ala Glu
165 170 175

Gly Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Asp Ala Val His Glu Trp Leu
180 185 190

His His Lys Asp Arg Asn Leu Gly Phe Lys Ile Ser Leu His Cys Pro
195 200 205

Cys Cys Thr Phe Val Pro Ser Asn Asn Tyr Ile Ile Pro Asn Lys Ser
210 215 220

Glu Glu Leu Glu Ala Arg Phe Ala Gly Ile Asp Gly Thr Ser Thr Tyr
225 230 235 240

Thr Ser Gly Asp Gln Lys Thr Ile Lys Ser Thr Arg Lys Lys Asn Ser
245 250 255

Gly Lys Thr Pro His Leu Leu Leu Met Leu Leu Pro Ser Tyr Arg Leu
260 265 270

Glu Ser Gln Gln Thr Asn Arg Arg Lys Gly Ala Leu Asp Ala Ala Tyr
275 280 285

Cys Phe Arg Asn Val Gln Asp Asn Cys Cys Leu Arg Pro Leu Tyr Ile
290 295 300

Asp Phe Lys Arg Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys Gly
305 310 315 320

Tyr Asn Ala Asn Phe Cys Ala Gly Ala Cys Pro Tyr Leu Trp Ser Ser
325 330 335

Asp Thr Gln His Ser Arg Val Leu Ser Leu Tyr Asn Thr Ile Asn Pro
340 345 350

Glu Ala Ser Ala Ser Pro Cys Cys Val Ser Gln Asp Leu Glu Pro Leu
355 360 365

Thr Ile Leu Tyr Tyr Ile Gly Lys Thr Pro Lys Ile Glu Gln Leu Ser
370 375 380

Asn Met Ile Val Lys Ser Cys Lys Cys Ser
385 390

<210> 32

<211> 392
<212> PRT
<213> 智人

<400> 32

Ser Leu Ser Leu Ser Thr Cys Thr Thr Leu Asp Phe Gly His Ile Lys
1 5 10 15

Lys Lys Arg Val Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg
20 25 30

Leu Thr Ser Pro Pro Glu Pro Thr Val Met Thr His Val Pro Tyr Gln
35 40 45

Val Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Glu Leu Leu Glu Glu Met His
50 55 60

Gly Glu Arg Glu Glu Gly Cys Thr Gln Glu Asn Thr Glu Ser Glu Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Lys Glu Ile His Lys Phe Asp Met Ile Gln Gly Leu Ala Glu
85 90 95

His Asn Glu Leu Ala Val Cys Pro Lys Gly Ile Thr Ser Lys Val Phe
100 105 110

Arg Phe Asn Val Ser Ser Val Glu Lys Asn Arg Thr Asn Leu Phe Arg
115 120 125

Ala Glu Phe Arg Val Leu Arg Val Pro Asn Pro Ser Ser Lys Arg Asn
130 135 140

Glu Gln Arg Ile Glu Leu Phe Gln Ile Leu Arg Pro Asp Glu His Ile
145 150 155 160

Ala Lys Gln Arg Tyr Ile Gly Gly Lys Asn Leu Pro Thr Arg Gly Thr
165 170 175

Ala Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Asp Thr Val Arg Glu Trp Leu

180 185 190

Leu Arg Arg Glu Ser Asn Leu Gly Leu Glu Ile Ser Ile His Cys Pro
195 200 205

Cys His Thr Phe Gln Pro Asn Gly Asp Ile Leu Glu Asn Ile His Glu
210 215 220

Val Met Glu Ile Lys Phe Lys Gly Val Asp Asn Glu Asp Asp His Gly
225 230 235 240

Arg Gly Asp Leu Gly Arg Leu Lys Lys Gln Lys Asp His His Asn Pro
245 250 255

His Leu Ile Leu Met Met Ile Pro Pro His Arg Leu Asp Asn Pro Gly
260 265 270

Gln Gly Gly Gln Arg Lys Lys Arg Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys Phe
275 280 285

Arg Asn Leu Glu Glu Asn Cys Cys Val Arg Pro Leu Tyr Ile Asp Phe
290 295 300

Arg Gln Asp Leu Gly Trp Lys Trp Val His Glu Pro Lys Gly Tyr Tyr
305 310 315 320

Ala Asn Phe Cys Ser Gly Pro Cys Pro Tyr Leu Arg Ser Ala Asp Thr
325 330 335

Thr His Ser Thr Val Leu Gly Leu Tyr Asn Thr Leu Asn Pro Glu Ala
340 345 350

Ser Ala Ser Pro Cys Cys Val Pro Gln Asp Leu Glu Pro Leu Thr Ile
355 360 365

Leu Tyr Tyr Val Gly Arg Thr Pro Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn Met
370 375 380

Val Val Lys Ser Cys Lys Cys Ser
385 390

<210> 33
<211> 392
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 33
Ser Leu Ser Leu Ser Thr Ser Thr Thr Leu Asp Phe Gly His Ile Lys
1 5 10 15

Lys Lys Arg Val Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg
20 25 30

Leu Thr Ser Pro Pro Glu Pro Thr Val Met Thr His Val Pro Tyr Gln
35 40 45

Val Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Glu Leu Leu Glu Glu Met His
50 55 60

Gly Glu Arg Glu Glu Gly Cys Thr Gln Glu Asn Thr Glu Ser Glu Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Lys Glu Ile His Lys Phe Asp Met Ile Gln Gly Leu Ala Glu
85 90 95

His Asn Glu Leu Ala Val Cys Pro Lys Gly Ile Thr Ser Lys Val Phe
100 105 110

Arg Phe Asn Val Ser Ser Val Glu Lys Asn Arg Thr Asn Leu Phe Arg
115 120 125

Ala Glu Phe Arg Val Leu Arg Val Pro Asn Pro Ser Ser Lys Arg Asn
130 135 140

Glu Gln Arg Ile Glu Leu Phe Gln Ile Leu Arg Pro Asp Glu His Ile
145 150 155 160

Ala Lys Gln Arg Tyr Ile Gly Gly Lys Asn Leu Pro Thr Arg Gly Thr
165 170 175

Ala Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Asp Thr Val Arg Glu Trp Leu
180 185 190

Leu Arg Arg Glu Ser Asn Leu Gly Leu Glu Ile Ser Ile His Cys Pro
195 200 205

Cys His Thr Phe Gln Pro Asn Gly Asp Ile Leu Glu Asn Ile His Glu
210 215 220

Val Met Glu Ile Lys Phe Lys Gly Val Asp Asn Glu Asp Asp His Gly
225 230 235 240

Arg Gly Asp Leu Gly Arg Leu Lys Lys Gln Lys Asp His His Asn Pro
245 250 255

His Leu Ile Leu Met Met Ile Pro Pro His Arg Leu Asp Asn Pro Gly
260 265 270

Gln Gly Gly Gln Arg Lys Lys Arg Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys Phe
275 280 285

Arg Asn Leu Glu Glu Asn Cys Cys Val Arg Pro Leu Tyr Ile Asp Phe
290 295 300

Arg Gln Asp Leu Gly Trp Lys Trp Val His Glu Pro Lys Gly Tyr Tyr
305 310 315 320

Ala Asn Phe Cys Ser Gly Pro Cys Pro Tyr Leu Arg Ser Ala Asp Thr
325 330 335

Thr His Ser Thr Val Leu Gly Leu Tyr Asn Thr Leu Asn Pro Glu Ala

340 345 350

Ser Ala Ser Pro Cys Cys Val Pro Gln Asp Leu Glu Pro Leu Thr Ile
355 360 365

Leu Tyr Tyr Val Gly Arg Thr Pro Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn Met
370 375 380

Val Val Lys Ser Cys Lys Cys Ser
385 390

<210> 34
<211> 391
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 34
Ser Leu Ser Leu Ser Thr Ser Thr Thr Leu Asp Phe Gly His Ile Lys
1 5 10 15

Lys Lys Arg Val Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg
20 25 30

Leu Thr Ser Pro Pro Glu Pro Thr Val Met Thr His Val Pro Tyr Gln
35 40 45

Val Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Glu Leu Leu Glu Glu Met His
50 55 60

Gly Glu Arg Glu Glu Gly Cys Thr Gln Glu Asn Thr Glu Ser Glu Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Lys Glu Ile His Lys Phe Asp Met Ile Gln Gly Leu Ala Glu
85 90 95

His Asn Glu Leu Ala Val Cys Pro Lys Gly Ile Thr Ser Lys Val Phe

100 105 110

Arg Phe Asn Val Ser Ser Val Glu Lys Asn Arg Thr Asn Leu Phe Arg
115 120 125

Ala Glu Phe Arg Val Leu Arg Val Pro Asn Pro Ser Ser Lys Arg Asn
130 135 140

Glu Gln Arg Ile Glu Leu Phe Gln Ile Leu Arg Pro Asp Glu His Ile
145 150 155 160

Ala Lys Gln Arg Tyr Ile Gly Gly Lys Asn Leu Pro Thr Arg Gly Thr
165 170 175

Ala Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Asp Thr Val Arg Glu Trp Leu
180 185 190

Leu Arg Arg Glu Ser Asn Leu Gly Leu Glu Ile Ser Ile His Cys Pro
195 200 205

Cys His Thr Phe Gln Pro Asn Gly Asp Ile Leu Glu Asn Ile His Glu
210 215 220

Val Met Glu Ile Lys Phe Lys Gly Val Asp Asn Glu Asp Asp His Gly
225 230 235 240

Arg Gly Asp Leu Gly Arg Leu Lys Lys Gln Lys Asp His His Asn Pro
245 250 255

His Leu Ile Leu Met Met Ile Pro Pro His Arg Leu Asp Asn Pro Gly
260 265 270

Gln Gly Gly Gln Arg Lys Gly Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys Phe Arg
275 280 285

Asn Leu Glu Glu Asn Cys Cys Val Arg Pro Leu Tyr Ile Asp Phe Arg
290 295 300

Gln Asp Leu Gly Trp Lys Trp Val His Glu Pro Lys Gly Tyr Tyr Ala
305 310 315 320

Asn Phe Cys Ser Gly Pro Cys Pro Tyr Leu Arg Ser Ala Asp Thr Thr
325 330 335

His Ser Thr Val Leu Gly Leu Tyr Asn Thr Leu Asn Pro Glu Ala Ser
340 345 350

Ala Ser Pro Cys Cys Val Pro Gln Asp Leu Glu Pro Leu Thr Ile Leu
355 360 365

Tyr Tyr Val Gly Arg Thr Pro Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn Met Val
370 375 380

Val Lys Ser Cys Lys Cys Ser
385 390

<210> 35
<211> 391
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 35
Ser Leu Ser Leu Ser Thr Cys Thr Thr Leu Asp Phe Gly His Ile Lys
1 5 10 15

Lys Lys Arg Val Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg
20 25 30

Leu Thr Ser Pro Pro Glu Pro Thr Val Met Thr His Val Pro Tyr Gln
35 40 45

Val Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Glu Leu Leu Glu Glu Met His
50 55 60

Gly Glu Arg Glu Glu Gly Cys Thr Gln Glu Asn Thr Glu Ser Glu Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Lys Glu Ile His Lys Phe Asp Met Ile Gln Gly Leu Ala Glu
85 90 95

His Asn Glu Leu Ala Val Cys Pro Lys Gly Ile Thr Ser Lys Val Phe
100 105 110

Arg Phe Asn Val Ser Ser Val Glu Lys Asn Arg Thr Asn Leu Phe Arg
115 120 125

Ala Glu Phe Arg Val Leu Arg Val Pro Asn Pro Ser Ser Lys Arg Asn
130 135 140

Glu Gln Arg Ile Glu Leu Phe Gln Ile Leu Arg Pro Asp Glu His Ile
145 150 155 160

Ala Lys Gln Arg Tyr Ile Gly Gly Lys Asn Leu Pro Thr Arg Gly Thr
165 170 175

Ala Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Asp Thr Val Arg Glu Trp Leu
180 185 190

Leu Arg Arg Glu Ser Asn Leu Gly Leu Glu Ile Ser Ile His Cys Pro
195 200 205

Cys His Thr Phe Gln Pro Asn Gly Asp Ile Leu Glu Asn Ile His Glu
210 215 220

Val Met Glu Ile Lys Phe Lys Gly Val Asp Asn Glu Asp Asp His Gly
225 230 235 240

Arg Gly Asp Leu Gly Arg Leu Lys Lys Gln Lys Asp His His Asn Pro
245 250 255

His Leu Ile Leu Met Met Ile Pro Pro His Arg Leu Asp Asn Pro Gly

260 265 270

Gln Gly Gly Gln Arg Lys Gly Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys Phe Arg
275 280 285

Asn Leu Glu Glu Asn Cys Cys Val Arg Pro Leu Tyr Ile Asp Phe Arg
290 295 300

Gln Asp Leu Gly Trp Lys Trp Val His Glu Pro Lys Gly Tyr Tyr Ala
305 310 315 320

Asn Phe Cys Ser Gly Pro Cys Pro Tyr Leu Arg Ser Ala Asp Thr Thr
325 330 335

His Ser Thr Val Leu Gly Leu Tyr Asn Thr Leu Asn Pro Glu Ala Ser
340 345 350

Ala Ser Pro Cys Cys Val Pro Gln Asp Leu Glu Pro Leu Thr Ile Leu
355 360 365

Tyr Tyr Val Gly Arg Thr Pro Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn Met Val
370 375 380

Val Lys Ser Cys Lys Cys Ser
385 390

<210> 36
<211> 361
<212> PRT
<213> 小鼠屬

<400> 36
Leu Ser Thr Cys Lys Thr Ile Asp Met Glu Leu Val Lys Arg Lys Arg
1 5 10 15

Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Ala Ser
20 25 30

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

35 40 45

Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Arg Val Ala Gly Glu Ser Ala
50 55 60

Asp Pro Glu Pro Glu Pro Glu Ala Asp Tyr Tyr Ala Lys Glu Val Thr
65 70 75 80

Arg Val Leu Met Val Asp Arg Asn Asn Ala Ile Tyr Glu Lys Thr Lys
85 90 95

Asp Ile Ser His Ser Ile Tyr Met Phe Phe Asn Thr Ser Asp Ile Arg
100 105 110

Glu Ala Val Pro Glu Pro Pro Leu Leu Ser Arg Ala Glu Leu Arg Leu
115 120 125

Gln Arg Leu Lys Ser Ser Val Glu Gln His Val Glu Leu Tyr Gln Lys
130 135 140

Tyr Ser Asn Asn Ser Trp Arg Tyr Leu Gly Asn Arg Leu Leu Thr Pro
145 150 155 160

Thr Asp Thr Pro Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Gly Val Val Arg
165 170 175

Gln Trp Leu Asn Gln Gly Asp Gly Ile Gln Gly Phe Arg Phe Ser Ala
180 185 190

His Cys Ser Cys Asp Ser Lys Asp Asn Lys Leu His Val Glu Ile Asn
195 200 205

Gly Ile Ser Pro Lys Arg Arg Gly Asp Leu Gly Thr Ile His Asp Met
210 215 220

Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Met Ala Thr Pro Leu Glu Arg Ala Gln
225 230 235 240

His Leu His Ser Ser Arg His Arg Arg Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys
245 250 255

Phe Ser Ser Thr Glu Lys Asn Cys Cys Val Arg Gln Leu Tyr Ile Asp
260 265 270

Phe Arg Lys Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr
275 280 285

His Ala Asn Phe Cys Leu Gly Pro Cys Pro Tyr Ile Trp Ser Leu Asp
290 295 300

Thr Gln Tyr Ser Lys Val Leu Ala Leu Tyr Asn Gln His Asn Pro Gly
305 310 315 320

Ala Ser Ala Ser Pro Cys Cys Val Pro Gln Ala Leu Glu Pro Leu Pro
325 330 335

Ile Val Tyr Tyr Val Gly Arg Lys Pro Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn
340 345 350

Met Ile Val Arg Ser Cys Lys Cys Ser
355 360

<210> 37
<211> 361
<212> PRT
<213> 獼猴屬

<400> 37
Leu Ser Thr Cys Lys Thr Ile Asp Met Glu Leu Val Lys Arg Lys Arg
1 5 10 15

Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Ala Ser
20 25 30

Pro Pro Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro Glu Ala Val
35 40 45

Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Arg Val Ala Gly Glu Ser Ala
50 55 60

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Ala Asp Tyr Tyr Ala Lys Glu Val Thr
65 70 75 80

Arg Val Leu Met Val Glu Thr His Asn Glu Ile Tyr Asp Lys Phe Lys
85 90 95

Gln Ser Thr His Ser Ile Tyr Met Phe Phe Asn Thr Ser Glu Leu Arg
100 105 110

Glu Ala Val Pro Glu Pro Val Leu Leu Ser Arg Ala Glu Leu Arg Leu
115 120 125

Leu Arg Leu Lys Leu Lys Val Glu Gln His Val Glu Leu Tyr Gln Lys
130 135 140

Tyr Ser Asn Asn Ser Trp Arg Tyr Leu Ser Asn Arg Leu Leu Ala Pro
145 150 155 160

Ser Asp Ser Pro Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Gly Val Val Arg
165 170 175

Gln Trp Leu Ser Arg Gly Gly Glu Ile Glu Gly Phe Arg Leu Ser Ala
180 185 190

His Cys Ser Cys Asp Ser Lys Asp Asn Thr Leu Gln Val Asp Ile Asn
195 200 205

Gly Phe Thr Thr Gly Arg Arg Gly Asp Leu Ala Thr Ile His Gly Met
210 215 220

Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Met Ala Thr Pro Leu Glu Arg Ala Gln
225 230 235 240

His Leu Gln Ser Ser Arg His Arg Arg Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys

245 250 255

Phe Ser Ser Thr Glu Lys Asn Cys Cys Val Arg Gln Leu Tyr Ile Asp
260 265 270

Phe Arg Lys Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr
275 280 285

His Ala Asn Phe Cys Leu Gly Pro Cys Pro Tyr Ile Trp Ser Leu Asp
290 295 300

Thr Gln Tyr Ser Lys Val Leu Ala Leu Tyr Asn Gln His Asn Pro Gly
305 310 315 320

Ala Ser Ala Ala Pro Cys Cys Val Pro Gln Ala Leu Glu Pro Leu Pro
325 330 335

Ile Val Tyr Tyr Val Gly Arg Lys Pro Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn
340 345 350

Met Ile Val Arg Ser Cys Lys Cys Ser
355 360

<210> 38
<211> 249
<212> PRT
<213> 小鼠屬

<400> 38
Leu Ser Thr Ser Lys Thr Ile Asp Met Glu Leu Val Lys Arg Lys Arg
1 5 10 15

Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Ala Ser
20 25 30

Pro Pro Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro Glu Ala Val
35 40 45

Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Arg Val Ala Gly Glu Ser Ala

50 55 60

Asp Pro Glu Pro Glu Pro Glu Ala Asp Tyr Tyr Ala Lys Glu Val Thr
65 70 75 80

Arg Val Leu Met Val Asp Arg Asn Asn Ala Ile Tyr Glu Lys Thr Lys
85 90 95

Asp Ile Ser His Ser Ile Tyr Met Phe Phe Asn Thr Ser Asp Ile Arg
100 105 110

Glu Ala Val Pro Glu Pro Pro Leu Leu Ser Arg Ala Glu Leu Arg Leu
115 120 125

Gln Arg Leu Lys Ser Ser Val Glu Gln His Val Glu Leu Tyr Gln Lys
130 135 140

Tyr Ser Asn Asn Ser Trp Arg Tyr Leu Gly Asn Arg Leu Leu Thr Pro
145 150 155 160

Thr Asp Thr Pro Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Gly Val Val Arg
165 170 175

Gln Trp Leu Asn Gln Gly Asp Gly Ile Gln Gly Phe Arg Phe Ser Ala
180 185 190

His Cys Ser Cys Asp Ser Lys Asp Asn Lys Leu His Val Glu Ile Asn
195 200 205

Gly Ile Ser Pro Lys Arg Arg Gly Asp Leu Gly Thr Ile His Asp Met
210 215 220

Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Met Ala Thr Pro Leu Glu Arg Ala Gln
225 230 235 240

His Leu His Ser Ser Arg His Arg Arg
245

<210> 39
<211> 249
<212> PRT
<213> 獼猴屬

<400> 39

Leu Ser Thr Ser Lys Thr Ile Asp Met Glu Leu Val Lys Arg Lys Arg
1 5 10 15

Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Ala Ser
20 25 30

Pro Pro Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro Glu Ala Val
35 40 45

Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Arg Val Ala Gly Glu Ser Ala
50 55 60

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Ala Asp Tyr Tyr Ala Lys Glu Val Thr
65 70 75 80

Arg Val Leu Met Val Glu Thr His Asn Glu Ile Tyr Asp Lys Phe Lys
85 90 95

Gln Ser Thr His Ser Ile Tyr Met Phe Phe Asn Thr Ser Glu Leu Arg
100 105 110

Glu Ala Val Pro Glu Pro Val Leu Leu Ser Arg Ala Glu Leu Arg Leu
115 120 125

Leu Arg Leu Lys Leu Lys Val Glu Gln His Val Glu Leu Tyr Gln Lys
130 135 140

Tyr Ser Asn Asn Ser Trp Arg Tyr Leu Ser Asn Arg Leu Leu Ala Pro
145 150 155 160

Ser Asp Ser Pro Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Gly Val Val Arg
165 170 175

Gln Trp Leu Ser Arg Gly Gly Glu Ile Glu Gly Phe Arg Leu Ser Ala
180 185 190

His Cys Ser Cys Asp Ser Lys Asp Asn Thr Leu Gln Val Asp Ile Asn
195 200 205

Gly Phe Thr Thr Gly Arg Arg Gly Asp Leu Ala Thr Ile His Gly Met
210 215 220

Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Met Ala Thr Pro Leu Glu Arg Ala Gln
225 230 235 240

His Leu Gln Ser Ser Arg His Arg Arg
245

<210> 40
<211> 360
<212> PRT
<213> 小鼠屬

<400> 40
Leu Ser Thr Ser Lys Thr Ile Asp Met Glu Leu Val Lys Arg Lys Arg
1 5 10 15

Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Ala Ser
20 25 30

Pro Pro Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro Glu Ala Val
35 40 45

Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Arg Val Ala Gly Glu Ser Ala
50 55 60

Asp Pro Glu Pro Glu Pro Glu Ala Asp Tyr Tyr Ala Lys Glu Val Thr
65 70 75 80

Arg Val Leu Met Val Asp Arg Asn Asn Ala Ile Tyr Glu Lys Thr Lys
85 90 95

Asp Ile Ser His Ser Ile Tyr Met Phe Phe Asn Thr Ser Asp Ile Arg
100 105 110

Glu Ala Val Pro Glu Pro Pro Leu Leu Ser Arg Ala Glu Leu Arg Leu
115 120 125

Gln Arg Leu Lys Ser Ser Val Glu Gln His Val Glu Leu Tyr Gln Lys
130 135 140

Tyr Ser Asn Asn Ser Trp Arg Tyr Leu Gly Asn Arg Leu Leu Thr Pro
145 150 155 160

Thr Asp Thr Pro Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Gly Val Val Arg
165 170 175

Gln Trp Leu Asn Gln Gly Asp Gly Ile Gln Gly Phe Arg Phe Ser Ala
180 185 190

His Cys Ser Cys Asp Ser Lys Asp Asn Lys Leu His Val Glu Ile Asn
195 200 205

Gly Ile Ser Pro Lys Arg Arg Gly Asp Leu Gly Thr Ile His Asp Met
210 215 220

Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Met Ala Thr Pro Leu Glu Arg Ala Gln
225 230 235 240

His Leu His Ser Ser Arg His Gly Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys Phe
245 250 255

Ser Ser Thr Glu Lys Asn Cys Cys Val Arg Gln Leu Tyr Ile Asp Phe
260 265 270

Arg Lys Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr His
275 280 285

Ala Asn Phe Cys Leu Gly Pro Cys Pro Tyr Ile Trp Ser Leu Asp Thr

290 295 300

Gln Tyr Ser Lys Val Leu Ala Leu Tyr Asn Gln His Asn Pro Gly Ala
305 310 315 320

Ser Ala Ser Pro Cys Cys Val Pro Gln Ala Leu Glu Pro Leu Pro Ile
325 330 335

Val Tyr Tyr Val Gly Arg Lys Pro Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn Met
340 345 350

Ile Val Arg Ser Cys Lys Cys Ser
355 360

<210> 41
<211> 361
<212> PRT
<213> 小鼠屬

<400> 41

Leu Ser Thr Ser Lys Thr Ile Asp Met Glu Leu Val Lys Arg Lys Arg
1 5 10 15

Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Ala Ser
20 25 30

Pro Pro Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro Glu Ala Val
35 40 45

Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Arg Val Ala Gly Glu Ser Ala
50 55 60

Asp Pro Glu Pro Glu Pro Glu Ala Asp Tyr Tyr Ala Lys Glu Val Thr
65 70 75 80

Arg Val Leu Met Val Asp Arg Asn Asn Ala Ile Tyr Glu Lys Thr Lys
85 90 95

Asp Ile Ser His Ser Ile Tyr Met Phe Phe Asn Thr Ser Asp Ile Arg

100 105 110

Glu Ala Val Pro Glu Pro Pro Leu Leu Ser Arg Ala Glu Leu Arg Leu
115 120 125

Gln Arg Leu Lys Ser Ser Val Glu Gln His Val Glu Leu Tyr Gln Lys
130 135 140

Tyr Ser Asn Asn Ser Trp Arg Tyr Leu Gly Asn Arg Leu Leu Thr Pro
145 150 155 160

Thr Asp Thr Pro Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Gly Val Val Arg
165 170 175

Gln Trp Leu Asn Gln Gly Asp Gly Ile Gln Gly Phe Arg Phe Ser Ala
180 185 190

His Cys Ser Cys Asp Ser Lys Asp Asn Lys Leu His Val Glu Ile Asn
195 200 205

Gly Ile Ser Pro Lys Arg Arg Gly Asp Leu Gly Thr Ile His Asp Met
210 215 220

Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Met Ala Thr Pro Leu Glu Arg Ala Gln
225 230 235 240

His Leu His Ser Ser Arg His Arg Arg Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys
245 250 255

Phe Ser Ser Thr Glu Lys Asn Cys Cys Val Arg Gln Leu Tyr Ile Asp
260 265 270

Phe Arg Lys Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr
275 280 285

His Ala Asn Phe Cys Leu Gly Pro Cys Pro Tyr Ile Trp Ser Leu Asp
290 295 300

Thr Gln Tyr Ser Lys Val Leu Ala Leu Tyr Asn Gln His Asn Pro Gly
305 310 315 320

Ala Ser Ala Ser Pro Cys Cys Val Pro Gln Ala Leu Glu Pro Leu Pro
325 330 335

Ile Val Tyr Tyr Val Gly Arg Lys Pro Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn
340 345 350

Met Ile Val Arg Ser Cys Lys Cys Ser
355 360

<210> 42
<211> 361
<212> PRT
<213> 獼猴屬

<400> 42
Leu Ser Thr Ser Lys Thr Ile Asp Met Glu Leu Val Lys Arg Lys Arg
1 5 10 15

Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Ala Ser
20 25 30

Pro Pro Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro Glu Ala Val
35 40 45

Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Arg Val Ala Gly Glu Ser Ala
50 55 60

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Ala Asp Tyr Tyr Ala Lys Glu Val Thr
65 70 75 80

Arg Val Leu Met Val Glu Thr His Asn Glu Ile Tyr Asp Lys Phe Lys
85 90 95

Gln Ser Thr His Ser Ile Tyr Met Phe Phe Asn Thr Ser Glu Leu Arg
100 105 110

Glu Ala Val Pro Glu Pro Val Leu Leu Ser Arg Ala Glu Leu Arg Leu
115 120 125

Leu Arg Leu Lys Leu Lys Val Glu Gln His Val Glu Leu Tyr Gln Lys
130 135 140

Tyr Ser Asn Asn Ser Trp Arg Tyr Leu Ser Asn Arg Leu Leu Ala Pro
145 150 155 160

Ser Asp Ser Pro Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Gly Val Val Arg
165 170 175

Gln Trp Leu Ser Arg Gly Gly Glu Ile Glu Gly Phe Arg Leu Ser Ala
180 185 190

His Cys Ser Cys Asp Ser Lys Asp Asn Thr Leu Gln Val Asp Ile Asn
195 200 205

Gly Phe Thr Thr Gly Arg Arg Gly Asp Leu Ala Thr Ile His Gly Met
210 215 220

Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Met Ala Thr Pro Leu Glu Arg Ala Gln
225 230 235 240

His Leu Gln Ser Ser Arg His Arg Arg Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys
245 250 255

Phe Ser Ser Thr Glu Lys Asn Cys Cys Val Arg Gln Leu Tyr Ile Asp
260 265 270

Phe Arg Lys Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr
275 280 285

His Ala Asn Phe Cys Leu Gly Pro Cys Pro Tyr Ile Trp Ser Leu Asp
290 295 300

Thr Gln Tyr Ser Lys Val Leu Ala Leu Tyr Asn Gln His Asn Pro Gly

305 310 315 320

Ala Ser Ala Ala Pro Cys Cys Val Pro Gln Ala Leu Glu Pro Leu Pro
325 330 335

Ile Val Tyr Tyr Val Gly Arg Lys Pro Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn
340 345 350

Met Ile Val Arg Ser Cys Lys Cys Ser
355 360

<210> 43
<211> 360
<212> PRT
<213> 獼猴屬

<400> 43
Leu Ser Thr Ser Lys Thr Ile Asp Met Glu Leu Val Lys Arg Lys Arg
1 5 10 15

Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Ala Ser
20 25 30

Pro Pro Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro Glu Ala Val
35 40 45

Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Arg Val Ala Gly Glu Ser Ala
50 55 60

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Ala Asp Tyr Tyr Ala Lys Glu Val Thr
65 70 75 80

Arg Val Leu Met Val Glu Thr His Asn Glu Ile Tyr Asp Lys Phe Lys
85 90 95

Gln Ser Thr His Ser Ile Tyr Met Phe Phe Asn Thr Ser Glu Leu Arg
100 105 110

Glu Ala Val Pro Glu Pro Val Leu Leu Ser Arg Ala Glu Leu Arg Leu

115 120 125

Leu Arg Leu Lys Leu Lys Val Glu Gln His Val Glu Leu Tyr Gln Lys
130 135 140

Tyr Ser Asn Asn Ser Trp Arg Tyr Leu Ser Asn Arg Leu Leu Ala Pro
145 150 155 160

Ser Asp Ser Pro Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Gly Val Val Arg
165 170 175

Gln Trp Leu Ser Arg Gly Gly Glu Ile Glu Gly Phe Arg Leu Ser Ala
180 185 190

His Cys Ser Cys Asp Ser Lys Asp Asn Thr Leu Gln Val Asp Ile Asn
195 200 205

Gly Phe Thr Thr Gly Arg Arg Gly Asp Leu Ala Thr Ile His Gly Met
210 215 220

Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Met Ala Thr Pro Leu Glu Arg Ala Gln
225 230 235 240

His Leu Gln Ser Ser Arg His Gly Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys Phe
245 250 255

Ser Ser Thr Glu Lys Asn Cys Cys Val Arg Gln Leu Tyr Ile Asp Phe
260 265 270

Arg Lys Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr His
275 280 285

Ala Asn Phe Cys Leu Gly Pro Cys Pro Tyr Ile Trp Ser Leu Asp Thr
290 295 300

Gln Tyr Ser Lys Val Leu Ala Leu Tyr Asn Gln His Asn Pro Gly Ala
305 310 315 320

Ser Ala Ala Pro Cys Cys Val Pro Gln Ala Leu Glu Pro Leu Pro Ile
325 330 335

Val Tyr Tyr Val Gly Arg Lys Pro Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn Met
340 345 350

Ile Val Arg Ser Cys Lys Cys Ser
355 360

<210> 44
<211> 1260
<212> PRT
<213> 獼猴屬

<400> 44
Gly Pro Ala Gly Glu Arg Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Leu Ala Arg
1 5 10 15

Glu Arg Phe Lys Val Val Phe Ala Pro Val Ile Cys Lys Arg Thr Cys
20 25 30

Leu Lys Gly Gln Cys Arg Asp Ser Cys Gln Gln Gly Ser Asn Met Thr
35 40 45

Leu Ile Gly Glu Asn Gly His Ser Thr Asp Thr Leu Thr Gly Ser Gly
50 55 60

Phe Arg Val Val Val Cys Pro Leu Pro Cys Met Asn Gly Gly Gln Cys
65 70 75 80

Ser Ser Arg Asn Gln Cys Leu Cys Pro Pro Asp Phe Thr Gly Arg Phe
85 90 95

Cys Gln Val Pro Ala Gly Gly Ala Gly Gly Gly Thr Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Pro Gly Leu Ser Arg Ala Gly Ala Leu Ser Thr Gly Ala Leu Pro Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Glu Gly Asp Ser Val Ala Ser Lys His Ala Ile Tyr Ala
130 135 140

Val Gln Val Ile Ala Asp Pro Pro Gly Pro Gly Glu Gly Pro Pro Ala
145 150 155 160

Gln His Ala Ala Phe Leu Val Pro Leu Gly Pro Gly Gln Ile Ser Ala
165 170 175

Glu Val Gln Ala Pro Pro Pro Val Val Asn Val Arg Val His His Pro
180 185 190

Pro Glu Ala Ser Val Gln Val His Arg Ile Glu Ser Ser Asn Ala Glu
195 200 205

Gly Ala Ala Pro Ser Gln His Leu Leu Pro His Pro Lys Pro Ser His
210 215 220

Pro Arg Pro Pro Thr Gln Lys Pro Leu Gly Arg Cys Phe Gln Asp Thr
225 230 235 240

Leu Pro Lys Gln Pro Cys Gly Ser Asn Pro Leu Pro Gly Leu Thr Lys
245 250 255

Gln Glu Asp Cys Cys Gly Ser Ile Gly Thr Ala Trp Gly Gln Ser Lys
260 265 270

Cys His Lys Cys Pro Gln Leu Gln Tyr Thr Gly Val Gln Lys Pro Gly
275 280 285

Pro Val Arg Gly Glu Val Gly Ala Asp Cys Pro Gln Gly Tyr Lys Arg
290 295 300

Leu Asn Ser Thr His Cys Gln Asp Ile Asn Glu Cys Ala Met Pro Gly
305 310 315 320

Val Cys Arg His Gly Asp Cys Leu Asn Asn Pro Gly Ser Tyr Arg Cys

325 330 335

Val Cys Pro Pro Gly His Ser Leu Gly Pro Ser Arg Thr Gln Cys Ile
340 345 350

Ala Asp Lys Pro Glu Glu Lys Ser Leu Cys Phe Arg Leu Val Ser Pro
355 360 365

Glu His Gln Cys Gln His Pro Leu Thr Thr Arg Leu Thr Arg Gln Leu
370 375 380

Cys Cys Cys Ser Val Gly Lys Ala Trp Gly Ala Arg Cys Gln Arg Cys
385 390 395 400

Pro Ala Asp Gly Thr Ala Ala Phe Lys Glu Ile Cys Pro Ala Gly Lys
405 410 415

Gly Tyr His Ile Leu Thr Ser His Gln Thr Leu Thr Ile Gln Gly Glu
420 425 430

Ser Asp Phe Ser Leu Phe Leu His Pro Asp Gly Pro Pro Lys Pro Gln
435 440 445

Gln Leu Pro Glu Ser Pro Ser Gln Ala Pro Pro Pro Glu Asp Thr Glu
450 455 460

Glu Glu Arg Gly Val Thr Thr Asp Ser Pro Val Ser Glu Glu Arg Ser
465 470 475 480

Val Gln Gln Ser His Pro Thr Ala Thr Thr Ser Pro Ala Arg Pro Tyr
485 490 495

Pro Glu Leu Ile Ser Arg Pro Ser Pro Pro Thr Met Arg Trp Phe Leu
500 505 510

Pro Asp Leu Pro Pro Ser Arg Ser Ala Val Glu Ile Ala Pro Thr Gln
515 520 525

Val Thr Glu Thr Asp Glu Cys Arg Leu Asn Gln Asn Ile Cys Gly His
530 535 540

Gly Glu Cys Val Pro Gly Pro Pro Asp Tyr Ser Cys His Cys Asn Pro
545 550 555 560

Gly Tyr Arg Ser His Pro Gln His Arg Tyr Cys Val Asp Val Asn Glu
565 570 575

Cys Glu Ala Glu Pro Cys Gly Pro Gly Arg Gly Ile Cys Met Asn Thr
580 585 590

Gly Gly Ser Tyr Asn Cys His Cys Asn Arg Gly Tyr Arg Leu His Val
595 600 605

Gly Ala Gly Gly Arg Ser Cys Val Asp Leu Asn Glu Cys Ala Lys Pro
610 615 620

His Leu Cys Gly Asp Gly Gly Phe Cys Ile Asn Phe Pro Gly His Tyr
625 630 635 640

Lys Cys Asn Cys Tyr Pro Gly Tyr Arg Leu Lys Ala Ser Arg Pro Pro
645 650 655

Val Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Arg Asp Pro Ser Ser Cys Pro Asp
660 665 670

Gly Lys Cys Glu Asn Lys Pro Gly Ser Phe Lys Cys Ile Ala Cys Gln
675 680 685

Pro Gly Tyr Arg Ser Gln Gly Gly Gly Ala Cys Arg Asp Val Asn Glu
690 695 700

Cys Ala Glu Gly Ser Pro Cys Ser Pro Gly Trp Cys Glu Asn Leu Pro
705 710 715 720

Gly Ser Phe Arg Cys Thr Cys Ala Gln Gly Tyr Ala Pro Ala Pro Asp

725 730 735

Gly Arg Ser Cys Val Asp Val Asp Glu Cys Glu Ala Gly Asp Val Cys
740 745 750

Asp Asn Gly Ile Cys Thr Asn Thr Pro Gly Ser Phe Gln Cys Gln Cys
755 760 765

Leu Ser Gly Tyr His Leu Ser Arg Asp Arg Ser His Cys Glu Asp Ile
770 775 780

Asp Glu Cys Asp Phe Pro Ala Ala Cys Ile Gly Gly Asp Cys Ile Asn
785 790 795 800

Thr Asn Gly Ser Tyr Arg Cys Leu Cys Pro Gln Gly His Arg Leu Val
805 810 815

Gly Gly Arg Lys Cys Gln Asp Ile Asp Glu Cys Thr Gln Asp Pro Gly
820 825 830

Leu Cys Leu Pro His Gly Ala Cys Lys Asn Leu Gln Gly Ser Tyr Val
835 840 845

Cys Val Cys Asp Glu Gly Phe Thr Pro Thr Gln Asp Gln His Gly Cys
850 855 860

Glu Glu Val Glu Gln Pro His His Lys Lys Glu Cys Tyr Leu Asn Phe
865 870 875 880

Asp Asp Thr Val Phe Cys Asp Ser Val Leu Ala Thr Asn Val Thr Gln
885 890 895

Gln Glu Cys Cys Cys Ser Leu Gly Ala Gly Trp Gly Asp His Cys Glu
900 905 910

Ile Tyr Pro Cys Pro Val Tyr Ser Ser Ala Glu Phe His Ser Leu Cys
915 920 925

Pro Asp Gly Lys Gly Tyr Thr Gln Asp Asn Asn Ile Val Asn Tyr Gly
930 935 940

Ile Pro Ala His Arg Asp Ile Asp Glu Cys Met Leu Phe Gly Ala Glu
945 950 955 960

Ile Cys Lys Glu Gly Lys Cys Val Asn Thr Gln Pro Gly Tyr Glu Cys
965 970 975

Tyr Cys Lys Gln Gly Phe Tyr Tyr Asp Gly Asn Leu Leu Glu Cys Val
980 985 990

Asp Val Asp Glu Cys Leu Asp Glu Ser Asn Cys Arg Asn Gly Val Cys
995 1000 1005

Glu Asn Thr Arg Gly Gly Tyr Arg Cys Ala Cys Thr Pro Pro Ala
1010 1015 1020

Glu Tyr Ser Pro Ala Gln Arg Gln Cys Leu Ser Pro Glu Glu Met
1025 1030 1035

Asp Val Asp Glu Cys Gln Asp Pro Ala Ala Cys Arg Pro Gly Arg
1040 1045 1050

Cys Val Asn Leu Pro Gly Ser Tyr Arg Cys Glu Cys Arg Pro Pro
1055 1060 1065

Trp Val Pro Gly Pro Ser Gly Arg Asp Cys Gln Leu Pro Glu Ser
1070 1075 1080

Pro Ala Glu Arg Ala Pro Glu Arg Arg Asp Val Cys Trp Ser Gln
1085 1090 1095

Arg Gly Glu Asp Gly Met Cys Ala Gly Pro Gln Ala Gly Pro Ala
1100 1105 1110

Leu Thr Phe Asp Asp Cys Cys Cys Arg Gln Gly Arg Gly Trp Gly

1115 1120 1125

Ala Gln Cys Arg Pro Cys Pro Pro Arg Gly Ala Gly Ser Gln Cys
1130 1135 1140

Pro Thr Ser Gln Ser Glu Ser Asn Ser Phe Trp Asp Thr Ser Pro
1145 1150 1155

Leu Leu Leu Gly Lys Pro Arg Arg Asp Glu Asp Ser Ser Glu Glu
1160 1165 1170

Asp Ser Asp Glu Cys Arg Cys Val Ser Gly Arg Cys Val Pro Arg
1175 1180 1185

Pro Gly Gly Ala Val Cys Glu Cys Pro Gly Gly Phe Gln Leu Asp
1190 1195 1200

Ala Ser Arg Ala Arg Cys Val Asp Ile Asp Glu Cys Arg Glu Leu
1205 1210 1215

Asn Gln Arg Gly Leu Leu Cys Lys Ser Glu Arg Cys Val Asn Thr
1220 1225 1230

Ser Gly Ser Phe Arg Cys Val Cys Lys Ala Gly Phe Ala Arg Ser
1235 1240 1245

Arg Pro His Gly Ala Cys Val Pro Gln Arg Arg Arg
1250 1255 1260

<210> 45
<211> 1228
<212> PRT
<213> 小鼠屬

<400> 45
Gly Pro Ala Gly Glu Arg Gly Thr Gly Gly Gly Gly Ala Leu Ala Arg
1 5 10 15

Glu Arg Phe Lys Val Val Phe Ala Pro Val Ile Cys Lys Arg Thr Cys

20 25 30

Leu Lys Gly Gln Cys Arg Asp Ser Cys Gln Gln Gly Ser Asn Met Thr
35 40 45

Leu Ile Gly Glu Asn Gly His Ser Thr Asp Thr Leu Thr Gly Ser Ala
50 55 60

Phe Arg Val Val Val Cys Pro Leu Pro Cys Met Asn Gly Gly Gln Cys
65 70 75 80

Ser Ser Arg Asn Gln Cys Leu Cys Pro Pro Asp Phe Thr Gly Arg Phe
85 90 95

Cys Gln Val Pro Ala Ala Gly Thr Gly Ala Gly Thr Gly Ser Ser Gly
100 105 110

Pro Gly Leu Ala Arg Thr Gly Ala Met Ser Thr Gly Pro Leu Pro Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Glu Gly Glu Ser Val Ala Ser Lys His Ala Ile Tyr Ala
130 135 140

Val Gln Val Ile Ala Asp Pro Pro Gly Pro Gly Glu Gly Pro Pro Ala
145 150 155 160

Gln His Ala Ala Phe Leu Val Pro Leu Gly Pro Gly Gln Ile Ser Ala
165 170 175

Glu Val Gln Ala Pro Pro Pro Val Val Asn Val Arg Val His His Pro
180 185 190

Pro Glu Ala Ser Val Gln Val His Arg Ile Glu Gly Pro Asn Ala Glu
195 200 205

Gly Pro Ala Ser Ser Gln His Leu Leu Pro His Pro Lys Pro Pro His
210 215 220

Pro Arg Pro Pro Thr Gln Lys Pro Leu Gly Arg Cys Phe Gln Asp Thr
225 230 235 240

Leu Pro Lys Gln Pro Cys Gly Ser Asn Pro Leu Pro Gly Leu Thr Lys
245 250 255

Gln Glu Asp Cys Cys Gly Ser Ile Gly Thr Ala Trp Gly Gln Ser Lys
260 265 270

Cys His Lys Cys Pro Gln Leu Gln Tyr Thr Gly Val Gln Lys Pro Val
275 280 285

Pro Val Arg Gly Glu Val Gly Ala Asp Cys Pro Gln Gly Tyr Lys Arg
290 295 300

Leu Asn Ser Thr His Cys Gln Asp Ile Asn Glu Cys Ala Met Pro Gly
305 310 315 320

Asn Val Cys His Gly Asp Cys Leu Asn Asn Pro Gly Ser Tyr Arg Cys
325 330 335

Val Cys Pro Pro Gly His Ser Leu Gly Pro Leu Ala Ala Gln Cys Ile
340 345 350

Ala Asp Lys Pro Glu Glu Lys Ser Leu Cys Phe Arg Leu Val Ser Thr
355 360 365

Glu His Gln Cys Gln His Pro Leu Thr Thr Arg Leu Thr Arg Gln Leu
370 375 380

Cys Cys Cys Ser Val Gly Lys Ala Trp Gly Ala Arg Cys Gln Arg Cys
385 390 395 400

Pro Ala Asp Gly Thr Ala Ala Phe Lys Glu Ile Cys Pro Gly Lys Gly
405 410 415

Tyr His Ile Leu Thr Ser His Gln Thr Leu Thr Ile Gln Gly Glu Ser

420 425 430

Asp Phe Ser Leu Phe Leu His Pro Asp Gly Pro Pro Lys Pro Gln Gln
435 440 445

Leu Pro Glu Ser Pro Ser Arg Ala Pro Pro Leu Glu Asp Thr Glu Glu
450 455 460

Glu Arg Gly Val Thr Met Asp Pro Pro Val Ser Glu Glu Arg Ser Val
465 470 475 480

Gln Gln Ser His Pro Thr Thr Thr Thr Ser Pro Pro Arg Pro Tyr Pro
485 490 495

Glu Leu Ile Ser Arg Pro Ser Pro Pro Thr Phe His Arg Phe Leu Pro
500 505 510

Asp Leu Pro Pro Ser Arg Ser Ala Val Glu Ile Ala Pro Thr Gln Val
515 520 525

Thr Glu Thr Asp Glu Cys Arg Leu Asn Gln Asn Ile Cys Gly His Gly
530 535 540

Gln Cys Val Pro Gly Pro Ser Asp Tyr Ser Cys His Cys Asn Ala Gly
545 550 555 560

Tyr Arg Ser His Pro Gln His Arg Tyr Cys Val Asp Val Asn Glu Cys
565 570 575

Glu Ala Glu Pro Cys Gly Pro Gly Lys Gly Ile Cys Met Asn Thr Gly
580 585 590

Gly Ser Tyr Asn Cys His Cys Asn Arg Gly Tyr Arg Leu His Val Gly
595 600 605

Ala Gly Gly Arg Ser Cys Val Asp Leu Asn Glu Cys Ala Lys Pro His
610 615 620

Leu Cys Gly Asp Gly Gly Phe Cys Ile Asn Phe Pro Gly His Tyr Lys
625 630 635 640

Cys Asn Cys Tyr Pro Gly Tyr Arg Leu Lys Ala Ser Arg Pro Pro Ile
645 650 655

Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Arg Asp Pro Ser Thr Cys Pro Asp Gly
660 665 670

Lys Cys Glu Asn Lys Pro Gly Ser Phe Lys Cys Ile Ala Cys Gln Pro
675 680 685

Gly Tyr Arg Ser Gln Gly Gly Gly Ala Cys Arg Asp Val Asn Glu Cys
690 695 700

Ser Glu Gly Thr Pro Cys Ser Pro Gly Trp Cys Glu Asn Leu Pro Gly
705 710 715 720

Ser Tyr Arg Cys Thr Cys Ala Gln Tyr Glu Pro Ala Gln Asp Gly Leu
725 730 735

Ser Cys Ile Asp Val Asp Glu Cys Glu Ala Gly Lys Val Cys Gln Asp
740 745 750

Gly Ile Cys Thr Asn Thr Pro Gly Ser Phe Gln Cys Gln Cys Leu Ser
755 760 765

Gly Tyr His Leu Ser Arg Asp Arg Ser Arg Cys Glu Asp Ile Asp Glu
770 775 780

Cys Asp Phe Pro Ala Ala Cys Ile Gly Gly Asp Cys Ile Asn Thr Asn
785 790 795 800

Gly Ser Tyr Arg Cys Leu Cys Pro Leu Gly His Arg Leu Val Gly Gly
805 810 815

Arg Lys Cys Lys Lys Asp Ile Asp Glu Cys Ser Gln Asp Pro Gly Leu

820 825 830

Cys Leu Pro His Ala Cys Glu Asn Leu Gln Gly Ser Tyr Val Cys Val
835 840 845

Cys Asp Glu Gly Phe Thr Leu Thr Gln Asp Gln His Gly Cys Glu Glu
850 855 860

Val Glu Gln Pro His His Lys Lys Glu Cys Tyr Leu Asn Phe Asp Asp
865 870 875 880

Thr Val Phe Cys Asp Ser Val Leu Ala Thr Asn Val Thr Gln Gln Glu
885 890 895

Cys Cys Cys Ser Leu Gly Ala Gly Trp Gly Asp His Cys Glu Ile Tyr
900 905 910

Pro Cys Pro Val Tyr Ser Ser Ala Glu Phe His Ser Leu Val Pro Asp
915 920 925

Gly Lys Arg Leu His Ser Gly Gln Gln His Cys Glu Leu Cys Ile Pro
930 935 940

Ala His Arg Asp Ile Asp Glu Cys Ile Leu Phe Gly Ala Glu Ile Cys
945 950 955 960

Lys Glu Gly Lys Cys Val Asn Thr Gln Pro Gly Tyr Glu Cys Tyr Cys
965 970 975

Lys Gln Gly Phe Tyr Tyr Asp Gly Asn Leu Leu Glu Cys Val Asp Val
980 985 990

Asp Glu Cys Leu Asp Glu Ser Asn Cys Arg Asn Gly Val Cys Glu Asn
995 1000 1005

Thr Arg Gly Gly Tyr Arg Cys Ala Cys Thr Pro Pro Ala Glu Tyr
1010 1015 1020

Ser Pro Ala Gln Ala Gln Cys Leu Ile Pro Glu Arg Trp Ser Thr
1025 1030 1035

Pro Gln Arg Asp Val Lys Cys Ala Gly Ala Ser Glu Glu Arg Thr
1040 1045 1050

Ala Cys Val Trp Gly Pro Trp Ala Gly Pro Ala Leu Thr Phe Asp
1055 1060 1065

Asp Cys Cys Cys Arg Gln Pro Arg Leu Gly Thr Gln Cys Arg Pro
1070 1075 1080

Cys Pro Pro Arg Gly Thr Gly Ser Gln Cys Pro Thr Ser Gln Ser
1085 1090 1095

Glu Ser Asn Ser Phe Trp Asp Thr Ser Pro Leu Leu Leu Gly Lys
1100 1105 1110

Ser Pro Arg Asp Glu Asp Ser Ser Glu Glu Asp Ser Asp Glu Cys
1115 1120 1125

Arg Cys Val Ser Gly Arg Cys Val Pro Arg Pro Gly Gly Ala Val
1130 1135 1140

Cys Glu Cys Pro Gly Gly Phe Gln Leu Asp Ala Ser Arg Ala Arg
1145 1150 1155

Cys Val Asp Ile Asp Glu Cys Arg Glu Leu Asn Gln Arg Gly Leu
1160 1165 1170

Leu Cys Lys Ser Glu Arg Cys Val Asn Thr Ser Gly Ser Phe Arg
1175 1180 1185

Cys Val Cys Lys Ala Gly Phe Thr Arg Ser Arg Pro His Gly Pro
1190 1195 1200

Ala Cys Leu Ser Ala Ala Ala Asp Asp Ala Ala Ile Ala His Thr

1205 1210 1215

Ser Val Ile Asp His Arg Gly Tyr Phe His
1220 1225

<210> 46
<211> 1373
<212> PRT
<213> 獼猴屬

<400> 46

Asn His Thr Gly Arg Ile Lys Val Val Phe Thr Pro Ser Ile Cys Lys
1 5 10 15

Val Thr Cys Thr Lys Gly Ser Cys Gln Asn Ser Cys Glu Lys Gly Asn
20 25 30

Thr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Asn Gly His Ala Ala Asp Thr Leu Thr
35 40 45

Ala Thr Asn Phe Arg Val Val Leu Cys His Leu Pro Cys Met Asn Gly
50 55 60

Gly Gln Cys Ser Ser Arg Asp Lys Cys Gln Cys Pro Pro Asn Phe Thr
65 70 75 80

Gly Lys Leu Cys Gln Ile Pro Val His Gly Ala Ser Val Pro Lys Leu
85 90 95

Tyr Gln His Ser Gln Gln Pro Gly Lys Ala Leu Gly Thr His Val Ile
100 105 110

His Ser Thr His Thr Leu Pro Leu Thr Val Thr Ser Gln Gln Gly Val
115 120 125

Lys Val Lys Phe Pro Pro Asn Ile Val Asn Ile His Val Lys His Pro
130 135 140

Pro Glu Ala Ser Val Gln Ile His Gln Val Ser Arg Ile Asp Gly Pro

145 150 155 160

Thr Gly Gln Lys Thr Lys Glu Ala Gln Pro Gly Gln Ser Gln Val Ser
165 170 175

Tyr Gln Gly Leu Pro Val Gln Lys Thr Gln Thr Ile His Ser Thr Tyr
180 185 190

Ser His Gln Gln Val Ile Pro His Val Tyr Pro Val Ala Ala Lys Thr
195 200 205

Gln Leu Gly Arg Cys Phe Gln Glu Thr Ile Gly Ser Gln Cys Gly Lys
210 215 220

Ala Leu Pro Gly Leu Ser Lys Gln Glu Asp Cys Cys Gly Thr Val Gly
225 230 235 240

Thr Ser Trp Gly Phe Asn Lys Cys Gln Lys Cys Pro Lys Lys Pro Ser
245 250 255

Tyr His Gly Tyr Asn Gln Met Met Glu Cys Leu Pro Gly Tyr Lys Arg
260 265 270

Val Asn Asn Thr Phe Cys Gln Asp Ile Asn Glu Cys Gln Leu Gln Gly
275 280 285

Val Cys Pro Asn Gly Glu Cys Leu Asn Thr Met Gly Ser Tyr Arg Cys
290 295 300

Thr Cys Lys Ile Gly Phe Gly Pro Asp Pro Thr Phe Ser Ser Cys Val
305 310 315 320

Pro Asp Pro Pro Val Ile Ser Glu Glu Lys Gly Pro Cys Tyr Arg Leu
325 330 335

Val Ser Ser Gly Arg Gln Cys Met His Pro Leu Ser Val His Leu Thr
340 345 350

Lys Gln Leu Cys Cys Cys Ser Val Gly Lys Ala Trp Gly Pro His Cys
355 360 365

Glu Lys Cys Pro Leu Pro Gly Thr Ala Ala Phe Lys Glu Ile Cys Pro
370 375 380

Gly Gly Met Gly Tyr Thr Val Ser Gly Val His Arg Arg Arg Pro Ile
385 390 395 400

His His His Val Gly Lys Gly Pro Val Phe Val Lys Pro Lys Asn Thr
405 410 415

Gln Pro Val Ala Lys Ser Thr His Pro Pro Pro Leu Pro Ala Lys Glu
420 425 430

Glu Pro Val Glu Ala Leu Thr Phe Ser Arg Glu His Gly Pro Gly Val
435 440 445

Ala Glu Pro Glu Val Ala Thr Ala Pro Pro Glu Lys Glu Ile Pro Ser
450 455 460

Leu Asp Gln Glu Lys Thr Lys Leu Glu Pro Gly Gln Pro Gln Leu Ser
465 470 475 480

Pro Gly Ile Ser Thr Ile His Leu His Pro Gln Phe Pro Val Val Ile
485 490 495

Glu Lys Thr Ser Pro Pro Val Pro Val Glu Val Ala Pro Glu Ala Ser
500 505 510

Thr Ser Ser Ala Ser Gln Val Ile Ala Pro Thr Gln Val Thr Glu Ile
515 520 525

Asn Glu Cys Thr Val Asn Pro Asp Ile Cys Gly Ala Gly His Cys Ile
530 535 540

Asn Leu Pro Val Arg Tyr Thr Cys Ile Cys Tyr Glu Gly Tyr Lys Phe

545 550 555 560

Ser Glu Gln Gln Arg Lys Cys Val Asp Ile Asp Glu Cys Thr Gln Val
565 570 575

Gln His Leu Cys Ser Gln Gly Arg Cys Glu Asn Thr Glu Gly Ser Phe
580 585 590

Leu Cys Ile Cys Pro Ala Gly Phe Met Ala Ser Glu Glu Gly Thr Asn
595 600 605

Cys Ile Asp Val Asp Glu Cys Leu Arg Pro Asp Val Cys Gly Glu Gly
610 615 620

His Cys Val Asn Thr Val Gly Ala Phe Arg Cys Glu Tyr Cys Asp Ser
625 630 635 640

Gly Tyr Arg Met Thr Gln Arg Gly Arg Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys
645 650 655

Leu Asn Pro Ser Thr Cys Pro Asp Glu Gln Cys Val Asn Ser Pro Gly
660 665 670

Ser Tyr Gln Cys Val Pro Cys Thr Glu Gly Phe Arg Gly Trp Asn Gly
675 680 685

Gln Cys Leu Asp Val Asp Glu Cys Leu Glu Pro Asn Val Cys Thr Asn
690 695 700

Gly Asp Cys Ser Asn Leu Glu Gly Ser Tyr Met Cys Ser Cys His Lys
705 710 715 720

Gly Tyr Thr Arg Thr Pro Asp His Lys His Cys Lys Asp Ile Asp Glu
725 730 735

Cys Gln Gln Gly Asn Leu Cys Val Asn Gly Gln Cys Lys Asn Thr Glu
740 745 750

Gly Ser Phe Arg Cys Thr Cys Gly Gln Gly Tyr Gln Leu Ser Ala Ala
755 760 765

Lys Asp Gln Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Gln His His His Leu Cys
770 775 780

Ala His Gly Gln Cys Arg Asn Thr Glu Gly Ser Phe Gln Cys Val Cys
785 790 795 800

Asp Gln Gly Tyr Arg Ala Ser Gly Leu Gly Asp His Cys Glu Asp Ile
805 810 815

Asn Glu Cys Leu Glu Asp Lys Ser Val Cys Gln Arg Gly Asp Cys Ile
820 825 830

Asn Thr Ala Gly Ser Tyr Asp Cys Thr Cys Pro Asp Gly Phe Gln Leu
835 840 845

Asp Asp Asn Lys Thr Cys Gln Asp Ile Asn Glu Cys Glu His Pro Gly
850 855 860

Leu Cys Gly Pro Gln Gly Glu Cys Leu Asn Thr Glu Gly Ser Phe His
865 870 875 880

Cys Val Cys Gln Gln Gly Phe Ser Ile Ser Ala Asp Gly Arg Thr Cys
885 890 895

Glu Asp Ile Asp Glu Cys Val Asn Asn Thr Val Cys Asp Ser His Gly
900 905 910

Phe Cys Asp Asn Thr Ala Gly Ser Phe Arg Cys Leu Cys Tyr Gln Gly
915 920 925

Phe Gln Ala Pro Gln Asp Gly Gln Gly Cys Val Asp Val Asn Glu Cys
930 935 940

Glu Leu Leu Ser Gly Val Cys Gly Glu Ala Phe Cys Glu Asn Val Glu

945 950 955 960

Gly Ser Phe Leu Cys Val Cys Ala Asp Glu Asn Gln Glu Tyr Ser Pro
965 970 975

Met Thr Gly Gln Cys Arg Ser Arg Thr Ser Thr Asp Leu Asp Val Glu
980 985 990

Gln Pro Lys Glu Glu Lys Lys Glu Cys Tyr Tyr Asn Leu Asn Asp Ala
995 1000 1005

Ser Leu Cys Asp Asn Val Leu Ala Pro Asn Val Thr Lys Gln Glu
1010 1015 1020

Cys Cys Cys Thr Ser Gly Ala Gly Trp Gly Asp Asn Cys Glu Ile
1025 1030 1035

Phe Pro Cys Pro Val Leu Gly Thr Ala Glu Phe Thr Glu Met Cys
1040 1045 1050

Pro Lys Gly Lys Gly Phe Val Pro Ala Gly Glu Ser Ser Ser Glu
1055 1060 1065

Ala Gly Gly Glu Asn Tyr Lys Asp Ala Asp Glu Cys Leu Leu Phe
1070 1075 1080

Gly Gln Glu Ile Cys Lys Asn Gly Phe Cys Leu Asn Thr Arg Pro
1085 1090 1095

Gly Tyr Glu Cys Tyr Cys Lys Gln Gly Thr Tyr Tyr Asp Pro Val
1100 1105 1110

Lys Leu Gln Cys Phe Asp Met Asp Glu Cys Gln Asp Pro Ser Ser
1115 1120 1125

Cys Ile Asp Gly Gln Cys Val Asn Thr Glu Gly Ser Tyr Asn Cys
1130 1135 1140

Phe Cys Thr His Pro Met Val Leu Asp Ala Ser Glu Lys Arg Cys
1145 1150 1155

Ile Arg Pro Ala Glu Ser Asn Glu Gln Ile Glu Glu Thr Asp Val
1160 1165 1170

Tyr Gln Asp Leu Cys Trp Glu His Leu Ser Asp Glu Tyr Val Cys
1175 1180 1185

Ser Arg Pro Leu Val Gly Lys Gln Thr Thr Tyr Thr Glu Cys Cys
1190 1195 1200

Cys Leu Tyr Gly Glu Ala Trp Gly Met Gln Cys Ala Leu Cys Pro
1205 1210 1215

Met Lys Asp Ser Asp Asp Tyr Ala Gln Leu Cys Asn Ile Pro Val
1220 1225 1230

Thr Gly Arg Arg Gln Pro Tyr Gly Arg Asp Ala Leu Val Asp Phe
1235 1240 1245

Ser Glu Gln Tyr Ala Pro Glu Ala Asp Pro Tyr Phe Ile Gln Asp
1250 1255 1260

Arg Phe Leu Asn Ser Phe Glu Glu Leu Gln Ala Glu Glu Cys Gly
1265 1270 1275

Ile Leu Asn Gly Cys Glu Asn Gly Arg Cys Val Arg Val Gln Glu
1280 1285 1290

Gly Tyr Thr Cys Asp Cys Phe Asp Gly Tyr His Leu Asp Thr Ala
1295 1300 1305

Lys Met Thr Cys Val Asp Val Asn Glu Cys Asp Glu Leu Asn Asn
1310 1315 1320

Arg Met Ser Leu Cys Lys Asn Ala Lys Cys Ile Asn Thr Glu Gly

1325 1330 1335

Ser Tyr Lys Cys Leu Cys Leu Pro Gly Tyr Val Pro Ser Asp Lys
1340 1345 1350

Pro Asn Tyr Cys Thr Pro Leu Asn Thr Ala Leu Asn Leu Glu Lys
1355 1360 1365

Asp Ser Asp Leu Glu
1370

<210> 47
<211> 1374
<212> PRT
<213> 小鼠屬

<400> 47
Asn His Thr Gly Arg Ile Lys Val Val Phe Thr Pro Ser Ile Cys Lys
1 5 10 15

Val Thr Cys Thr Lys Gly Asn Cys Gln Asn Ser Cys Gln Lys Gly Asn
20 25 30

Thr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Asn Gly His Ala Ala Asp Thr Leu Thr
35 40 45

Ala Thr Asn Phe Arg Val Val Ile Cys His Leu Pro Cys Met Asn Gly
50 55 60

Gly Gln Cys Ser Ser Arg Asp Lys Cys Gln Cys Pro Pro Asn Phe Thr
65 70 75 80

Gly Lys Leu Cys Gln Ile Pro Val Leu Gly Ala Ser Met Pro Lys Leu
85 90 95

Tyr Gln His Ala Gln Gln Gln Gly Lys Ala Leu Gly Ser His Val Ile
100 105 110

His Ser Thr His Thr Leu Pro Leu Thr Met Thr Ser Gln Gln Gly Val

115 120 125

Lys Val Lys Phe Pro Pro Asn Ile Val Asn Ile His Val Lys His Pro
130 135 140

Pro Glu Ala Ser Val Gln Ile His Gln Val Ser Arg Ile Asp Ser Pro
145 150 155 160

Gly Gly Gln Lys Val Lys Glu Ala Gln Pro Gly Gln Ser Gln Val Ser
165 170 175

Tyr Gln Gly Leu Pro Val Gln Lys Thr Gln Thr Val His Ser Thr Tyr
180 185 190

Ser His Gln Gln Leu Ile Pro His Val Tyr Pro Val Ala Ala Lys Thr
195 200 205

Gln Leu Gly Arg Cys Phe Gln Glu Thr Ile Gly Ser Gln Cys Gly Lys
210 215 220

Ala Leu Pro Gly Leu Ser Lys Gln Glu Asp Cys Cys Gly Thr Val Gly
225 230 235 240

Thr Ser Trp Gly Phe Asn Lys Cys Gln Lys Cys Pro Lys Lys Gln Ser
245 250 255

Tyr His Gly Tyr Thr Gln Met Met Glu Cys Leu Gln Gly Tyr Lys Arg
260 265 270

Val Asn Asn Thr Phe Cys Gln Asp Ile Asn Glu Cys Gln Leu Gln Gly
275 280 285

Val Cys Pro Asn Gly Glu Cys Leu Asn Thr Met Gly Ser Tyr Arg Cys
290 295 300

Ser Cys Lys Met Gly Phe Gly Pro Asp Pro Thr Phe Ser Ser Cys Val
305 310 315 320

Pro Asp Pro Pro Val Ile Ser Glu Glu Lys Gly Pro Cys Tyr Arg Leu
325 330 335

Val Ser Pro Gly Arg His Cys Met His Pro Leu Ser Val His Leu Thr
340 345 350

Lys Gln Ile Cys Cys Cys Ser Val Gly Lys Ala Trp Gly Pro His Cys
355 360 365

Glu Lys Cys Pro Leu Pro Gly Thr Ala Ala Phe Lys Glu Ile Cys Pro
370 375 380

Gly Gly Met Gly Tyr Thr Val Ser Gly Val His Arg Arg Arg Pro Ile
385 390 395 400

His Gln His Ile Gly Lys Glu Ala Val Tyr Val Lys Pro Lys Asn Thr
405 410 415

Gln Pro Val Ala Lys Ser Thr His Pro Pro Pro Leu Pro Ala Lys Glu
420 425 430

Glu Pro Val Glu Ala Leu Thr Ser Ser Trp Glu His Gly Pro Arg Gly
435 440 445

Ala Glu Pro Glu Val Val Thr Ala Pro Pro Glu Lys Glu Ile Pro Ser
450 455 460

Leu Asp Gln Glu Lys Thr Arg Leu Glu Pro Gly Gln Pro Gln Leu Ser
465 470 475 480

Pro Gly Val Ser Thr Ile His Leu His Pro Gln Phe Pro Val Val Val
485 490 495

Glu Lys Thr Ser Pro Pro Val Pro Val Glu Val Ala Pro Glu Ala Ser
500 505 510

Thr Ser Ser Ala Ser Gln Val Ile Ala Pro Thr Gln Val Thr Glu Ile

515 520 525

Asn Glu Cys Thr Val Asn Pro Asp Ile Cys Gly Ala Gly His Cys Ile
530 535 540

Asn Leu Pro Val Arg Tyr Thr Cys Ile Cys Tyr Glu Gly Tyr Lys Phe
545 550 555 560

Ser Glu Gln Leu Arg Lys Cys Val Asp Ile Asp Glu Cys Ala Gln Val
565 570 575

Arg His Leu Cys Ser Gln Gly Arg Cys Glu Asn Thr Glu Gly Ser Phe
580 585 590

Leu Cys Val Cys Pro Ala Gly Phe Met Ala Ser Glu Glu Gly Thr Asn
595 600 605

Cys Ile Asp Val Asp Glu Cys Leu Arg Pro Asp Met Cys Arg Asp Gly
610 615 620

Arg Cys Ile Asn Thr Ala Gly Ala Phe Arg Cys Glu Tyr Cys Asp Ser
625 630 635 640

Gly Tyr Arg Met Ser Arg Arg Gly Tyr Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys
645 650 655

Leu Lys Pro Ser Thr Cys Pro Glu Glu Gln Cys Val Asn Thr Pro Gly
660 665 670

Ser Tyr Gln Cys Val Pro Cys Thr Glu Gly Phe Arg Gly Trp Asn Gly
675 680 685

Gln Cys Leu Asp Val Asp Glu Cys Leu Gln Pro Lys Val Cys Thr Asn
690 695 700

Gly Ser Cys Thr Asn Leu Glu Gly Ser Tyr Met Cys Ser Cys His Arg
705 710 715 720

Gly Tyr Ser Pro Thr Pro Asp His Arg His Cys Gln Asp Ile Asp Glu
725 730 735

Cys Gln Gln Gly Asn Leu Cys Met Asn Gly Gln Cys Arg Asn Thr Asp
740 745 750

Gly Ser Phe Arg Cys Thr Cys Gly Gln Gly Tyr Gln Leu Ser Ala Ala
755 760 765

Lys Asp Gln Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Glu His His His Leu Cys
770 775 780

Ser His Gly Gln Cys Arg Asn Thr Glu Gly Ser Phe Gln Cys Val Cys
785 790 795 800

Asn Gln Gly Tyr Arg Ala Ser Val Leu Gly Asp His Cys Glu Asp Ile
805 810 815

Asn Glu Cys Leu Glu Asp Ser Ser Val Cys Gln Gly Gly Asp Cys Ile
820 825 830

Asn Thr Ala Gly Ser Tyr Asp Cys Thr Cys Pro Asp Gly Phe Gln Leu
835 840 845

Asn Asp Asn Lys Gly Cys Gln Asp Ile Asn Glu Cys Ala Gln Pro Gly
850 855 860

Leu Cys Gly Ser His Gly Glu Cys Leu Asn Thr Gln Gly Ser Phe His
865 870 875 880

Cys Val Cys Glu Gln Gly Phe Ser Ile Ser Ala Asp Gly Arg Thr Cys
885 890 895

Glu Asp Ile Asp Glu Cys Val Asn Asn Thr Val Cys Asp Ser His Gly
900 905 910

Phe Cys Asp Asn Thr Ala Gly Ser Phe Arg Cys Leu Cys Tyr Gln Gly

915 920 925

Phe Gln Ala Pro Gln Asp Gly Gln Gly Cys Val Asp Val Asn Glu Cys
930 935 940

Glu Leu Leu Ser Gly Val Cys Gly Glu Ala Phe Cys Glu Asn Val Glu
945 950 955 960

Gly Ser Phe Leu Cys Val Cys Ala Asp Glu Asn Gln Glu Tyr Ser Pro
965 970 975

Met Thr Gly Gln Cys Arg Ser Arg Val Thr Glu Asp Ser Gly Val Asp
980 985 990

Arg Gln Pro Arg Glu Glu Lys Lys Glu Cys Tyr Tyr Asn Leu Asn Asp
995 1000 1005

Ala Ser Leu Cys Asp Asn Val Leu Ala Pro Asn Val Thr Lys Gln
1010 1015 1020

Glu Cys Cys Cys Thr Ser Gly Ala Gly Trp Gly Asp Asn Cys Glu
1025 1030 1035

Ile Phe Pro Cys Pro Val Gln Gly Thr Ala Glu Phe Thr Glu Met
1040 1045 1050

Cys Pro Arg Gly Lys Gly Leu Val Pro Ala Gly Glu Ser Ser Tyr
1055 1060 1065

Asp Thr Gly Gly Glu Asn Tyr Lys Asp Ala Asp Glu Cys Leu Leu
1070 1075 1080

Phe Gly Glu Glu Ile Cys Lys Asn Gly Tyr Cys Leu Asn Thr Gln
1085 1090 1095

Pro Gly Tyr Glu Cys Tyr Cys Lys Gln Gly Thr Tyr Tyr Asp Pro
1100 1105 1110

Val Lys Leu Gln Cys Phe Asp Met Asp Glu Cys Gln Asp Pro Asn
1115 1120 1125

Ser Cys Ile Asp Gly Gln Cys Val Asn Thr Glu Gly Ser Tyr Asn
1130 1135 1140

Cys Phe Cys Thr His Pro Met Val Leu Asp Ala Ser Glu Lys Arg
1145 1150 1155

Cys Val Gln Pro Thr Glu Ser Asn Glu Gln Ile Glu Glu Thr Asp
1160 1165 1170

Val Tyr Gln Asp Leu Cys Trp Glu His Leu Ser Glu Glu Tyr Val
1175 1180 1185

Cys Ser Arg Pro Leu Val Gly Lys Gln Thr Thr Tyr Thr Glu Cys
1190 1195 1200

Cys Cys Leu Tyr Gly Glu Ala Trp Gly Met Gln Cys Ala Leu Cys
1205 1210 1215

Pro Met Lys Asp Ser Asp Asp Tyr Ala Gln Leu Cys Asn Ile Pro
1220 1225 1230

Val Thr Gly Arg Arg Arg Pro Tyr Gly Arg Asp Ala Leu Val Asp
1235 1240 1245

Phe Ser Glu Gln Tyr Gly Pro Glu Thr Asp Pro Tyr Phe Ile Gln
1250 1255 1260

Asp Arg Phe Leu Asn Ser Phe Glu Glu Leu Gln Ala Glu Glu Cys
1265 1270 1275

Gly Ile Leu Asn Gly Cys Glu Asn Gly Arg Cys Val Arg Val Gln
1280 1285 1290

Glu Gly Tyr Thr Cys Asp Cys Phe Asp Gly Tyr His Leu Asp Met

1295 1300 1305

Ala Lys Met Thr Cys Val Asp Val Asn Glu Cys Ser Glu Leu Asn
1310 1315 1320

Asn Arg Met Ser Leu Cys Lys Asn Ala Lys Cys Ile Asn Thr Glu
1325 1330 1335

Gly Ser Tyr Lys Cys Leu Cys Leu Pro Gly Tyr Ile Pro Ser Asp
1340 1345 1350

Lys Pro Asn Tyr Cys Thr Pro Leu Asn Ser Ala Leu Asn Leu Asp
1355 1360 1365

Lys Glu Ser Asp Leu Glu
1370

<210> 48
<211> 646
<212> PRT
<213> 小鼠屬

<400> 48
Ile Ser Gln Arg Arg Glu Gln Val Pro Cys Arg Thr Val Asn Lys Glu
1 5 10 15

Ala Leu Cys His Gly Leu Gly Leu Leu Gln Val Pro Ser Val Leu Ser
20 25 30

Leu Asp Ile Gln Ala Leu Tyr Leu Ser Gly Asn Gln Leu Gln Ser Ile
35 40 45

Leu Val Ser Pro Leu Gly Phe Tyr Thr Ala Leu Arg His Leu Asp Leu
50 55 60

Ser Asp Asn Gln Ile Ser Phe Leu Gln Ala Gly Val Phe Gln Ala Leu
65 70 75 80

Pro Tyr Leu Glu His Leu Asn Leu Ala His Asn Arg Leu Ala Thr Gly

85 90 95

Met Ala Leu Asn Ser Gly Gly Leu Gly Arg Leu Pro Leu Leu Val Ser
100 105 110

Leu Asp Leu Ser Gly Asn Ser Leu His Gly Asn Leu Val Glu Arg Leu
115 120 125

Leu Gly Glu Thr Pro Arg Leu Arg Thr Leu Ser Leu Ala Glu Asn Ser
130 135 140

Leu Thr Arg Leu Ala Arg His Thr Phe Trp Gly Met Pro Ala Val Glu
145 150 155 160

Gln Leu Asp Leu His Ser Asn Val Leu Met Asp Ile Glu Asp Gly Ala
165 170 175

Phe Glu Ala Leu Pro His Leu Thr His Leu Asn Leu Ser Arg Asn Ser
180 185 190

Leu Thr Cys Ile Ser Asp Phe Ser Leu Gln Gln Leu Gln Val Leu Asp
195 200 205

Leu Ser Cys Asn Ser Ile Glu Ala Phe Gln Thr Ala Pro Glu Pro Gln
210 215 220

Ala Gln Phe Gln Leu Ala Trp Leu Asp Leu Arg Glu Asn Lys Leu Leu
225 230 235 240

His Phe Pro Asp Leu Ala Val Phe Pro Arg Leu Ile Tyr Leu Asn Val
245 250 255

Ser Asn Asn Leu Ile Gln Leu Pro Ala Gly Leu Pro Arg Gly Ser Glu
260 265 270

Asp Leu His Ala Pro Ser Glu Gly Trp Ser Ala Ser Pro Leu Ser Asn
275 280 285

Pro Ser Arg Asn Ala Ser Thr His Pro Leu Ser Gln Leu Leu Asn Leu
290 295 300

Asp Leu Ser Tyr Asn Glu Ile Glu Leu Val Pro Ala Ser Phe Leu Glu
305 310 315 320

His Leu Thr Ser Leu Arg Phe Leu Asn Leu Ser Arg Asn Cys Leu Arg
325 330 335

Ser Phe Glu Ala Arg Gln Val Asp Ser Leu Pro Cys Leu Val Leu Leu
340 345 350

Asp Leu Ser His Asn Val Leu Glu Ala Leu Glu Leu Gly Thr Lys Val
355 360 365

Leu Gly Ser Leu Gln Thr Leu Leu Leu Gln Asp Asn Ala Leu Gln Glu
370 375 380

Leu Pro Pro Tyr Thr Phe Ala Ser Leu Ala Ser Leu Gln Arg Leu Asn
385 390 395 400

Leu Gln Gly Asn Gln Val Ser Pro Cys Gly Gly Pro Ala Glu Pro Gly
405 410 415

Pro Pro Gly Cys Val Asp Phe Ser Gly Ile Pro Thr Leu His Val Leu
420 425 430

Asn Met Ala Gly Asn Ser Met Gly Met Leu Arg Ala Gly Ser Phe Leu
435 440 445

His Thr Pro Leu Thr Glu Leu Asp Leu Ser Thr Asn Pro Gly Leu Asp
450 455 460

Val Ala Thr Gly Ala Leu Val Gly Leu Glu Ala Ser Leu Glu Val Leu
465 470 475 480

Glu Leu Gln Gly Asn Gly Leu Thr Val Leu Arg Val Asp Leu Pro Cys

485 490 495

Phe Leu Arg Leu Lys Arg Leu Asn Leu Ala Glu Asn Gln Leu Ser His
500 505 510

Leu Pro Ala Trp Thr Arg Ala Val Ser Leu Glu Val Leu Asp Leu Arg
515 520 525

Asn Asn Ser Phe Ser Leu Leu Pro Gly Asn Ala Met Gly Gly Leu Glu
530 535 540

Thr Ser Leu Arg Arg Leu Tyr Leu Gln Gly Asn Pro Leu Ser Cys Cys
545 550 555 560

Gly Asn Gly Trp Leu Ala Ala Gln Leu His Gln Gly Arg Val Asp Val
565 570 575

Asp Ala Thr Gln Asp Leu Ile Cys Arg Phe Gly Ser Gln Glu Glu Leu
580 585 590

Ser Leu Ser Leu Val Arg Pro Glu Asp Cys Glu Lys Gly Gly Leu Lys
595 600 605

Asn Val Asn Leu Ile Leu Leu Leu Ser Phe Thr Leu Val Ser Ala Ile
610 615 620

Val Leu Thr Thr Leu Ala Thr Ile Cys Phe Leu Arg Arg Gln Lys Leu
625 630 635 640

Ser Gln Gln Tyr Lys Ala
645

<210> 49
<211> 611
<212> PRT
<213> 小鼠屬

<400> 49
Ile Ser Gln Arg Arg Glu Gln Val Pro Cys Arg Thr Val Asn Lys Glu

1 5 10 15

Ala Leu Cys His Gly Leu Gly Leu Leu Gln Val Pro Ser Val Leu Ser
20 25 30

Leu Asp Ile Gln Ala Leu Tyr Leu Ser Gly Asn Gln Leu Gln Ser Ile
35 40 45

Leu Val Ser Pro Leu Gly Phe Tyr Thr Ala Leu Arg His Leu Asp Leu
50 55 60

Ser Asp Asn Gln Ile Ser Phe Leu Gln Ala Gly Val Phe Gln Ala Leu
65 70 75 80

Pro Tyr Leu Glu His Leu Asn Leu Ala His Asn Arg Leu Ala Thr Gly
85 90 95

Met Ala Leu Asn Ser Gly Gly Leu Gly Arg Leu Pro Leu Leu Val Ser
100 105 110

Leu Asp Leu Ser Gly Asn Ser Leu His Gly Asn Leu Val Glu Arg Leu
115 120 125

Leu Gly Glu Thr Pro Arg Leu Arg Thr Leu Ser Leu Ala Glu Asn Ser
130 135 140

Leu Thr Arg Leu Ala Arg His Thr Phe Trp Gly Met Pro Ala Val Glu
145 150 155 160

Gln Leu Asp Leu His Ser Asn Val Leu Met Asp Ile Glu Asp Gly Ala
165 170 175

Phe Glu Ala Leu Pro His Leu Thr His Leu Asn Leu Ser Arg Asn Ser
180 185 190

Leu Thr Cys Ile Ser Asp Phe Ser Leu Gln Gln Leu Gln Val Leu Asp

Leu Ser Cys Asn Ser Ile Glu Ala Phe Gln Thr Ala Pro Glu Pro Gln
210 215 220

Ala Gln Phe Gln Leu Ala Trp Leu Asp Leu Arg Glu Asn Lys Leu Leu
225 230 235 240

His Phe Pro Asp Leu Ala Val Phe Pro Arg Leu Ile Tyr Leu Asn Val
245 250 255

Ser Asn Asn Leu Ile Gln Leu Pro Ala Gly Leu Pro Arg Gly Ser Glu
260 265 270

Asp Leu His Ala Pro Ser Glu Gly Trp Ser Ala Ser Pro Leu Ser Asn
275 280 285

Pro Ser Arg Asn Ala Ser Thr His Pro Leu Ser Gln Leu Leu Asn Leu
290 295 300

Asp Leu Ser Tyr Asn Glu Ile Glu Leu Val Pro Ala Ser Phe Leu Glu
305 310 315 320

His Leu Thr Ser Leu Arg Phe Leu Asn Leu Ser Arg Asn Cys Leu Arg
325 330 335

Ser Phe Glu Ala Arg Gln Val Asp Ser Leu Pro Cys Leu Val Leu Leu
340 345 350

Asp Leu Ser His Asn Val Leu Glu Ala Leu Glu Leu Gly Thr Lys Val
355 360 365

Leu Gly Ser Leu Gln Thr Leu Leu Leu Gln Asp Asn Ala Leu Gln Glu
370 375 380

Leu Pro Pro Tyr Thr Phe Ala Ser Leu Ala Ser Leu Gln Arg Leu Asn
385 390 395 400

Leu Gln Gly Asn Gln Val Ser Pro Cys Gly Gly Pro Ala Glu Pro Gly

405 410 415

Pro Pro Gly Cys Val Asp Phe Ser Gly Ile Pro Thr Leu His Val Leu
420 425 430

Asn Met Ala Gly Asn Ser Met Gly Met Leu Arg Ala Gly Ser Phe Leu
435 440 445

His Thr Pro Leu Thr Glu Leu Asp Leu Ser Thr Asn Pro Gly Leu Asp
450 455 460

Val Ala Thr Gly Ala Leu Val Gly Leu Glu Ala Ser Leu Glu Val Leu
465 470 475 480

Glu Leu Gln Gly Asn Gly Leu Thr Val Leu Arg Val Asp Leu Pro Cys
485 490 495

Phe Leu Arg Leu Lys Arg Leu Asn Leu Ala Glu Asn Gln Leu Ser His
500 505 510

Leu Pro Ala Trp Thr Arg Ala Val Ser Leu Glu Val Leu Asp Leu Arg
515 520 525

Asn Asn Ser Phe Ser Leu Leu Pro Gly Asn Ala Met Gly Gly Leu Glu
530 535 540

Thr Ser Leu Arg Arg Leu Tyr Leu Gln Gly Asn Pro Leu Ser Cys Cys
545 550 555 560

Gly Asn Gly Trp Leu Ala Ala Gln Leu His Gln Gly Arg Val Asp Val
565 570 575

Asp Ala Thr Gln Asp Leu Ile Cys Arg Phe Gly Ser Gln Glu Glu Leu
580 585 590

Ser Leu Ser Leu Val Arg Pro Glu Asp Cys Glu Lys Gly Gly Leu Lys
595 600 605

Asn Val Asn
610

<210> 50
<211> 1375
<212> PRT
<213> 未知體

<220>
<221> source
<223> /標註=「未知體之描述：LTBP1S序列」

<400> 50

Asn	His	Thr	Gly	Arg	Ile	Lys	Val	Val	Phe	Thr	Pro	Ser	Ile	Cys	Lys
1				5				10					15		

Val	Thr	Cys	Thr	Lys	Gly	Ser	Cys	Gln	Asn	Ser	Cys	Glu	Lys	Gly	Asn
			20				25					30			

Thr	Thr	Thr	Leu	Ile	Ser	Glu	Asn	Gly	His	Ala	Ala	Asp	Thr	Leu	Thr
		35				40					45				

Ala	Thr	Asn	Phe	Arg	Val	Val	Ile	Cys	His	Leu	Pro	Cys	Met	Asn	Gly
	50					55					60				

Gly	Gln	Cys	Ser	Ser	Arg	Asp	Lys	Cys	Gln	Cys	Pro	Pro	Asn	Phe	Thr
65					70					75					80

Gly	Lys	Leu	Cys	Gln	Ile	Pro	Val	His	Gly	Ala	Ser	Val	Pro	Lys	Leu
				85				90					95		

Tyr	Gln	His	Ser	Gln	Gln	Pro	Gly	Lys	Ala	Leu	Gly	Thr	His	Val	Ile
			100					105					110		

His	Ser	Thr	His	Thr	Leu	Pro	Leu	Thr	Val	Thr	Ser	Gln	Gln	Gly	Val
		115					120					125			

Lys	Val	Lys	Phe	Pro	Pro	Asn	Ile	Val	Asn	Ile	His	Val	Lys	His	Pro
	130					135					140				

Pro Glu Ala Ser Val Gln Ile His Gln Val Ser Arg Ile Asp Gly Pro
145 150 155 160

Thr Gly Gln Lys Thr Lys Glu Ala Gln Pro Gly Gln Ser Gln Val Ser
165 170 175

Tyr Gln Gly Leu Pro Val Gln Lys Thr Gln Thr Ile His Ser Thr Tyr
180 185 190

Ser His Gln Gln Val Ile Pro His Val Tyr Pro Val Ala Ala Lys Thr
195 200 205

Gln Leu Gly Arg Cys Phe Gln Glu Thr Ile Gly Ser Gln Cys Gly Lys
210 215 220

Ala Leu Pro Gly Leu Ser Lys Gln Glu Asp Cys Cys Gly Thr Val Gly
225 230 235 240

Thr Ser Trp Gly Phe Asn Lys Cys Gln Lys Cys Pro Lys Lys Pro Ser
245 250 255

Tyr His Gly Tyr Asn Gln Met Met Glu Cys Leu Pro Gly Tyr Lys Arg
260 265 270

Val Asn Asn Thr Phe Cys Gln Asp Ile Asn Glu Cys Gln Leu Gln Gly
275 280 285

Val Cys Pro Asn Gly Glu Cys Leu Asn Thr Met Gly Ser Tyr Arg Cys
290 295 300

Thr Cys Lys Ile Gly Phe Gly Pro Asp Pro Thr Phe Ser Ser Cys Val
305 310 315 320

Pro Asp Pro Pro Val Ile Ser Glu Glu Lys Gly Pro Cys Tyr Arg Leu
325 330 335

Val Ser Ser Gly Arg Gln Cys Met His Pro Leu Ser Val His Leu Thr

340 345 350

Lys Gln Leu Cys Cys Cys Ser Val Gly Lys Ala Trp Gly Pro His Cys
355 360 365

Glu Lys Cys Pro Leu Pro Gly Thr Ala Ala Phe Lys Glu Ile Cys Pro
370 375 380

Gly Gly Met Gly Tyr Thr Val Ser Gly Val His Arg Arg Arg Pro Ile
385 390 395 400

His His His Val Gly Lys Gly Pro Val Phe Val Lys Pro Lys Asn Thr
405 410 415

Gln Pro Val Ala Lys Ser Thr His Pro Pro Pro Leu Pro Ala Lys Glu
420 425 430

Glu Pro Val Glu Ala Leu Thr Phe Ser Arg Glu His Gly Pro Gly Val
435 440 445

Ala Glu Pro Glu Val Ala Thr Ala Pro Pro Glu Lys Glu Ile Pro Ser
450 455 460

Leu Asp Gln Glu Lys Thr Lys Leu Glu Pro Gly Gln Pro Gln Leu Ser
465 470 475 480

Pro Gly Ile Ser Thr Ile His Leu His Pro Gln Phe Pro Val Val Ile
485 490 495

Glu Lys Thr Ser Pro Pro Val Pro Val Glu Val Ala Pro Glu Ala Ser
500 505 510

Thr Ser Ser Ala Ser Gln Val Ile Ala Pro Thr Gln Val Thr Glu Ile
515 520 525

Asn Glu Cys Thr Val Asn Pro Asp Ile Cys Gly Ala Gly His Cys Ile
530 535 540

Asn Leu Pro Val Arg Tyr Thr Cys Ile Cys Tyr Glu Gly Tyr Arg Phe
545 550 555 560

Ser Glu Gln Gln Arg Lys Cys Val Asp Ile Asp Glu Cys Thr Gln Val
565 570 575

Gln His Leu Cys Ser Gln Gly Arg Cys Glu Asn Thr Glu Gly Ser Phe
580 585 590

Leu Cys Ile Cys Pro Ala Gly Phe Met Ala Ser Glu Glu Gly Thr Asn
595 600 605

Cys Ile Asp Val Asp Glu Cys Leu Arg Pro Asp Val Cys Gly Glu Gly
610 615 620

His Cys Val Asn Thr Val Gly Ala Phe Arg Cys Glu Tyr Cys Asp Ser
625 630 635 640

Gly Tyr Arg Met Thr Gln Arg Gly Arg Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys
645 650 655

Leu Asn Pro Ser Thr Cys Pro Asp Glu Gln Cys Val Asn Ser Pro Gly
660 665 670

Ser Tyr Gln Cys Val Pro Cys Thr Glu Gly Phe Arg Gly Trp Asn Gly
675 680 685

Gln Cys Leu Asp Val Asp Glu Cys Leu Glu Pro Asn Val Cys Ala Asn
690 695 700

Gly Asp Cys Ser Asn Leu Glu Gly Ser Tyr Met Cys Ser Cys His Lys
705 710 715 720

Gly Tyr Thr Arg Thr Pro Asp His Lys His Cys Arg Asp Ile Asp Glu
725 730 735

Cys Gln Gln Gly Asn Leu Cys Val Asn Gly Gln Cys Lys Asn Thr Glu

740 745 750

Gly Ser Phe Arg Cys Thr Cys Gly Gln Gly Tyr Gln Leu Ser Ala Ala
755 760 765

Lys Asp Gln Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Gln His Arg His Leu Cys
770 775 780

Ala His Gly Gln Cys Arg Asn Thr Glu Gly Ser Phe Gln Cys Val Cys
785 790 795 800

Asp Gln Gly Tyr Arg Ala Ser Gly Leu Gly Asp His Cys Glu Asp Ile
805 810 815

Asn Glu Cys Leu Glu Asp Lys Ser Val Cys Gln Arg Gly Asp Cys Ile
820 825 830

Asn Thr Ala Gly Ser Tyr Asp Cys Thr Cys Pro Asp Gly Phe Gln Leu
835 840 845

Asp Asp Asn Lys Thr Cys Gln Asp Ile Asn Glu Cys Glu His Pro Gly
850 855 860

Leu Cys Gly Pro Gln Gly Glu Cys Leu Asn Thr Glu Gly Ser Phe His
865 870 875 880

Cys Val Cys Gln Gln Gly Phe Ser Ile Ser Ala Asp Gly Arg Thr Cys
885 890 895

Glu Asp Ile Asp Glu Cys Val Asn Asn Thr Val Cys Asp Ser His Gly
900 905 910

Phe Cys Asp Asn Thr Ala Gly Ser Phe Arg Cys Leu Cys Tyr Gln Gly
915 920 925

Phe Gln Ala Pro Gln Asp Gly Gln Gly Cys Val Asp Val Asn Glu Cys
930 935 940

Glu Leu Leu Ser Gly Val Cys Gly Glu Ala Phe Cys Glu Asn Val Glu
945 950 955 960

Gly Ser Phe Leu Cys Val Cys Ala Asp Glu Asn Gln Glu Tyr Ser Pro
965 970 975

Met Thr Gly Gln Cys Arg Ser Arg Thr Ser Thr Asp Leu Asp Val Asp
980 985 990

Val Asp Gln Pro Lys Glu Glu Lys Lys Glu Cys Tyr Tyr Asn Leu Asn
995 1000 1005

Asp Ala Ser Leu Cys Asp Asn Val Leu Ala Pro Asn Val Thr Lys
1010 1015 1020

Gln Glu Cys Cys Cys Thr Ser Gly Val Gly Trp Gly Asp Asn Cys
1025 1030 1035

Glu Ile Phe Pro Cys Pro Val Leu Gly Thr Ala Glu Phe Thr Glu
1040 1045 1050

Met Cys Pro Lys Gly Lys Gly Phe Val Pro Ala Gly Glu Ser Ser
1055 1060 1065

Ser Glu Ala Gly Gly Glu Asn Tyr Lys Asp Ala Asp Glu Cys Leu
1070 1075 1080

Leu Phe Gly Gln Glu Ile Cys Lys Asn Gly Phe Cys Leu Asn Thr
1085 1090 1095

Arg Pro Gly Tyr Glu Cys Tyr Cys Lys Gln Gly Thr Tyr Tyr Asp
1100 1105 1110

Pro Val Lys Leu Gln Cys Phe Asp Met Asp Glu Cys Gln Asp Pro
1115 1120 1125

Ser Ser Cys Ile Asp Gly Gln Cys Val Asn Thr Glu Gly Ser Tyr

1130 1135 1140

Asn Cys Phe Cys Thr His Pro Met Val Leu Asp Ala Ser Glu Lys
1145 1150 1155

Arg Cys Ile Arg Pro Ala Glu Ser Asn Glu Gln Ile Glu Glu Thr
1160 1165 1170

Asp Val Tyr Gln Asp Leu Cys Trp Glu His Leu Ser Asp Glu Tyr
1175 1180 1185

Val Cys Ser Arg Pro Leu Val Gly Lys Gln Thr Thr Tyr Thr Glu
1190 1195 1200

Cys Cys Cys Leu Tyr Gly Glu Ala Trp Gly Met Gln Cys Ala Leu
1205 1210 1215

Cys Pro Leu Lys Asp Ser Asp Asp Tyr Ala Gln Leu Cys Asn Ile
1220 1225 1230

Pro Val Thr Gly Arg Arg Gln Pro Tyr Gly Arg Asp Ala Leu Val
1235 1240 1245

Asp Phe Ser Glu Gln Tyr Thr Pro Glu Ala Asp Pro Tyr Phe Ile
1250 1255 1260

Gln Asp Arg Phe Leu Asn Ser Phe Glu Glu Leu Gln Ala Glu Glu
1265 1270 1275

Cys Gly Ile Leu Asn Gly Cys Glu Asn Gly Arg Cys Val Arg Val
1280 1285 1290

Gln Glu Gly Tyr Thr Cys Asp Cys Phe Asp Gly Tyr His Leu Asp
1295 1300 1305

Thr Ala Lys Met Thr Cys Val Asp Val Asn Glu Cys Asp Glu Leu
1310 1315 1320

Asn Asn Arg Met Ser Leu Cys Lys Asn Ala Lys Cys Ile Asn Thr
1325 1330 1335

Asp Gly Ser Tyr Lys Cys Leu Cys Leu Pro Gly Tyr Val Pro Ser
1340 1345 1350

Asp Lys Pro Asn Tyr Cys Thr Pro Leu Asn Thr Ala Leu Asn Leu
1355 1360 1365

Glu Lys Asp Ser Asp Leu Glu
1370 1375

<210> 51
<211> 1260
<212> PRT
<213> 未知體

<220>
<221> source
<223> /標註=「未知體之描述：LTBP3序列」

<400> 51
Gly Pro Ala Gly Glu Arg Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Leu Ala Arg
1 5 10 15

Glu Arg Phe Lys Val Val Phe Ala Pro Val Ile Cys Lys Arg Thr Cys
20 25 30

Leu Lys Gly Gln Cys Arg Asp Ser Cys Gln Gln Gly Ser Asn Met Thr
35 40 45

Leu Ile Gly Glu Asn Gly His Ser Thr Asp Thr Leu Thr Gly Ser Gly
50 55 60

Phe Arg Val Val Val Cys Pro Leu Pro Cys Met Asn Gly Gly Gln Cys
65 70 75 80

Ser Ser Arg Asn Gln Cys Leu Cys Pro Pro Asp Phe Thr Gly Arg Phe
85 90 95

Cys Gln Val Pro Ala Gly Gly Ala Gly Gly Gly Thr Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Pro Gly Leu Ser Arg Thr Gly Ala Leu Ser Thr Gly Ala Leu Pro Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Glu Gly Asp Ser Val Ala Ser Lys His Ala Ile Tyr Ala
130 135 140

Val Gln Val Ile Ala Asp Pro Pro Gly Pro Gly Glu Gly Pro Pro Ala
145 150 155 160

Gln His Ala Ala Phe Leu Val Pro Leu Gly Pro Gly Gln Ile Ser Ala
165 170 175

Glu Val Gln Ala Pro Pro Pro Val Val Asn Val Arg Val His His Pro
180 185 190

Pro Glu Ala Ser Val Gln Val His Arg Ile Glu Ser Ser Asn Ala Glu
195 200 205

Ser Ala Ala Pro Ser Gln His Leu Leu Pro His Pro Lys Pro Ser His
210 215 220

Pro Arg Pro Pro Thr Gln Lys Pro Leu Gly Arg Cys Phe Gln Asp Thr
225 230 235 240

Leu Pro Lys Gln Pro Cys Gly Ser Asn Pro Leu Pro Gly Leu Thr Lys
245 250 255

Gln Glu Asp Cys Cys Gly Ser Ile Gly Thr Ala Trp Gly Gln Ser Lys
260 265 270

Cys His Lys Cys Pro Gln Leu Gln Tyr Thr Gly Val Gln Lys Pro Gly
275 280 285

Pro Val Arg Gly Glu Val Gly Ala Asp Cys Pro Gln Gly Tyr Lys Arg

290 295 300

Leu Asn Ser Thr His Cys Gln Asp Ile Asn Glu Cys Ala Met Pro Gly
305 310 315 320

Val Cys Arg His Gly Asp Cys Leu Asn Asn Pro Gly Ser Tyr Arg Cys
325 330 335

Val Cys Pro Pro Gly His Ser Leu Gly Pro Ser Arg Thr Gln Cys Ile
340 345 350

Ala Asp Lys Pro Glu Glu Lys Ser Leu Cys Phe Arg Leu Val Ser Pro
355 360 365

Glu His Gln Cys Gln His Pro Leu Thr Thr Arg Leu Thr Arg Gln Leu
370 375 380

Cys Cys Cys Ser Val Gly Lys Ala Trp Gly Ala Arg Cys Gln Arg Cys
385 390 395 400

Pro Thr Asp Gly Thr Ala Ala Phe Lys Glu Ile Cys Pro Ala Gly Lys
405 410 415

Gly Tyr His Ile Leu Thr Ser His Gln Thr Leu Thr Ile Gln Gly Glu
420 425 430

Ser Asp Phe Ser Leu Phe Leu His Pro Asp Gly Pro Pro Lys Pro Gln
435 440 445

Gln Leu Pro Glu Ser Pro Ser Gln Ala Pro Pro Pro Glu Asp Thr Glu
450 455 460

Glu Glu Arg Gly Val Thr Thr Asp Ser Pro Val Ser Glu Glu Arg Ser
465 470 475 480

Val Gln Gln Ser His Pro Thr Ala Thr Thr Thr Pro Ala Arg Pro Tyr
485 490 495

Pro Glu Leu Ile Ser Arg Pro Ser Pro Pro Thr Met Arg Trp Phe Leu
500 505 510

Pro Asp Leu Pro Pro Ser Arg Ser Ala Val Glu Ile Ala Pro Thr Gln
515 520 525

Val Thr Glu Thr Asp Glu Cys Arg Leu Asn Gln Asn Ile Cys Gly His
530 535 540

Gly Glu Cys Val Pro Gly Pro Pro Asp Tyr Ser Cys His Cys Asn Pro
545 550 555 560

Gly Tyr Arg Ser His Pro Gln His Arg Tyr Cys Val Asp Val Asn Glu
565 570 575

Cys Glu Ala Glu Pro Cys Gly Pro Gly Arg Gly Ile Cys Met Asn Thr
580 585 590

Gly Gly Ser Tyr Asn Cys His Cys Asn Arg Gly Tyr Arg Leu His Val
595 600 605

Gly Ala Gly Gly Arg Ser Cys Val Asp Leu Asn Glu Cys Ala Lys Pro
610 615 620

His Leu Cys Gly Asp Gly Gly Phe Cys Ile Asn Phe Pro Gly His Tyr
625 630 635 640

Lys Cys Asn Cys Tyr Pro Gly Tyr Arg Leu Lys Ala Ser Arg Pro Pro
645 650 655

Val Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Arg Asp Pro Ser Ser Cys Pro Asp
660 665 670

Gly Lys Cys Glu Asn Lys Pro Gly Ser Phe Lys Cys Ile Ala Cys Gln
675 680 685

Pro Gly Tyr Arg Ser Gln Gly Gly Gly Ala Cys Arg Asp Val Asn Glu

690 695 700

Cys Ala Glu Gly Ser Pro Cys Ser Pro Gly Trp Cys Glu Asn Leu Pro
705 710 715 720

Gly Ser Phe Arg Cys Thr Cys Ala Gln Gly Tyr Ala Pro Ala Pro Asp
725 730 735

Gly Arg Ser Cys Leu Asp Val Asp Glu Cys Glu Ala Gly Asp Val Cys
740 745 750

Asp Asn Gly Ile Cys Ser Asn Thr Pro Gly Ser Phe Gln Cys Gln Cys
755 760 765

Leu Ser Gly Tyr His Leu Ser Arg Asp Arg Ser His Cys Glu Asp Ile
770 775 780

Asp Glu Cys Asp Phe Pro Ala Ala Cys Ile Gly Gly Asp Cys Ile Asn
785 790 795 800

Thr Asn Gly Ser Tyr Arg Cys Leu Cys Pro Gln Gly His Arg Leu Val
805 810 815

Gly Gly Arg Lys Cys Gln Asp Ile Asp Glu Cys Ser Gln Asp Pro Ser
820 825 830

Leu Cys Leu Pro His Gly Ala Cys Lys Asn Leu Gln Gly Ser Tyr Val
835 840 845

Cys Val Cys Asp Glu Gly Phe Thr Pro Thr Gln Asp Gln His Gly Cys
850 855 860

Glu Glu Val Glu Gln Pro His His Lys Lys Glu Cys Tyr Leu Asn Phe
865 870 875 880

Asp Asp Thr Val Phe Cys Asp Ser Val Leu Ala Thr Asn Val Thr Gln
885 890 895

Gln Glu Cys Cys Cys Ser Leu Gly Ala Gly Trp Gly Asp His Cys Glu
900 905 910

Ile Tyr Pro Cys Pro Val Tyr Ser Ser Ala Glu Phe His Ser Leu Cys
915 920 925

Pro Asp Gly Lys Gly Tyr Thr Gln Asp Asn Asn Ile Val Asn Tyr Gly
930 935 940

Ile Pro Ala His Arg Asp Ile Asp Glu Cys Met Leu Phe Gly Ser Glu
945 950 955 960

Ile Cys Lys Glu Gly Lys Cys Val Asn Thr Gln Pro Gly Tyr Glu Cys
965 970 975

Tyr Cys Lys Gln Gly Phe Tyr Tyr Asp Gly Asn Leu Leu Glu Cys Val
980 985 990

Asp Val Asp Glu Cys Leu Asp Glu Ser Asn Cys Arg Asn Gly Val Cys
995 1000 1005

Glu Asn Thr Arg Gly Gly Tyr Arg Cys Ala Cys Thr Pro Pro Ala
1010 1015 1020

Glu Tyr Ser Pro Ala Gln Arg Gln Cys Leu Ser Pro Glu Glu Met
1025 1030 1035

Asp Val Asp Glu Cys Gln Asp Pro Ala Ala Cys Arg Pro Gly Arg
1040 1045 1050

Cys Val Asn Leu Pro Gly Ser Tyr Arg Cys Glu Cys Arg Pro Pro
1055 1060 1065

Trp Val Pro Gly Pro Ser Gly Arg Asp Cys Gln Leu Pro Glu Ser
1070 1075 1080

Pro Ala Glu Arg Ala Pro Glu Arg Arg Asp Val Cys Trp Ser Gln

1085 1090 1095

Arg Gly Glu Asp Gly Met Cys Ala Gly Pro Leu Ala Gly Pro Ala
1100 1105 1110

Leu Thr Phe Asp Asp Cys Cys Cys Arg Gln Gly Arg Gly Trp Gly
1115 1120 1125

Ala Gln Cys Arg Pro Cys Pro Pro Arg Gly Ala Gly Ser His Cys
1130 1135 1140

Pro Thr Ser Gln Ser Glu Ser Asn Ser Phe Trp Asp Thr Ser Pro
1145 1150 1155

Leu Leu Leu Gly Lys Pro Pro Arg Asp Glu Asp Ser Ser Glu Glu
1160 1165 1170

Asp Ser Asp Glu Cys Arg Cys Val Ser Gly Arg Cys Val Pro Arg
1175 1180 1185

Pro Gly Gly Ala Val Cys Glu Cys Pro Gly Gly Phe Gln Leu Asp
1190 1195 1200

Ala Ser Arg Ala Arg Cys Val Asp Ile Asp Glu Cys Arg Glu Leu
1205 1210 1215

Asn Gln Arg Gly Leu Leu Cys Lys Ser Glu Arg Cys Val Asn Thr
1220 1225 1230

Ser Gly Ser Phe Arg Cys Val Cys Lys Ala Gly Phe Ala Arg Ser
1235 1240 1245

Arg Pro His Gly Ala Cys Val Pro Gln Arg Arg Arg
1250 1255 1260

<210> 52
<211> 645
<212> PRT

<213> 未知體

<220>
<221> source
<223> /標註=「未知體之描述：GARP序列」

<400> 52

Ala Gln His Gln Asp Lys Val Pro Cys Lys Met Val Asp Lys Lys Val
1 5 10 15

Ser Cys Gln Val Leu Gly Leu Leu Gln Val Pro Ser Val Leu Pro Pro
20 25 30

Asp Thr Glu Thr Leu Asp Leu Ser Gly Asn Gln Leu Arg Ser Ile Leu
35 40 45

Ala Ser Pro Leu Gly Phe Tyr Thr Ala Leu Arg His Leu Asp Leu Ser
50 55 60

Thr Asn Glu Ile Ser Phe Leu Gln Pro Gly Ala Phe Gln Ala Leu Thr
65 70 75 80

His Leu Glu His Leu Ser Leu Ala His Asn Arg Leu Ala Met Ala Thr
85 90 95

Ala Leu Ser Ala Gly Gly Leu Gly Pro Leu Pro Arg Val Thr Ser Leu
100 105 110

Asp Leu Ser Gly Asn Ser Leu Tyr Ser Gly Leu Leu Glu Arg Leu Leu
115 120 125

Gly Glu Ala Pro Ser Leu His Thr Leu Ser Leu Ala Glu Asn Ser Leu
130 135 140

Thr Arg Leu Thr Arg His Thr Phe Arg Asp Met Pro Ala Leu Glu Gln
145 150 155 160

Leu Asp Leu His Ser Asn Val Leu Met Asp Ile Glu Asp Gly Ala Phe
165 170 175

Glu Gly Leu Pro Arg Leu Thr His Leu Asn Leu Ser Arg Asn Ser Leu
180 185 190

Thr Cys Ile Ser Asp Phe Ser Leu Gln Gln Leu Arg Val Leu Asp Leu
195 200 205

Ser Cys Asn Ser Ile Glu Ala Phe Gln Thr Ala Ser Gln Pro Gln Ala
210 215 220

Glu Phe Gln Leu Thr Trp Leu Asp Leu Arg Glu Asn Lys Leu Leu His
225 230 235 240

Phe Pro Asp Leu Ala Ala Leu Pro Arg Leu Ile Tyr Leu Asn Leu Ser
245 250 255

Asn Asn Leu Ile Arg Leu Pro Thr Gly Pro Pro Gln Asp Ser Lys Gly
260 265 270

Ile His Ala Pro Ser Glu Gly Trp Ser Ala Leu Pro Leu Ser Ala Pro
275 280 285

Ser Gly Asn Ala Ser Gly Arg Pro Leu Ser Gln Leu Leu Asn Leu Asp
290 295 300

Leu Ser Tyr Asn Glu Ile Glu Leu Ile Pro Asp Ser Phe Leu Glu His
305 310 315 320

Leu Thr Ser Leu Cys Phe Leu Asn Leu Ser Arg Asn Cys Leu Arg Thr
325 330 335

Phe Glu Ala Arg Arg Leu Gly Ser Leu Pro Cys Leu Met Leu Leu Asp
340 345 350

Leu Ser His Asn Ala Leu Glu Thr Leu Glu Leu Gly Ala Arg Ala Leu
355 360 365

Gly Ser Leu Arg Thr Leu Leu Leu Gln Gly Asn Ala Leu Arg Asp Leu

370 375 380

Pro Pro Tyr Thr Phe Ala Asn Leu Ala Ser Leu Gln Arg Leu Asn Leu
385 390 395 400

Gln Gly Asn Arg Val Ser Pro Cys Gly Gly Pro Asp Glu Pro Gly Pro
405 410 415

Ser Gly Cys Val Ala Phe Ser Gly Ile Thr Ser Leu Arg Ser Leu Ser
420 425 430

Leu Val Asp Asn Glu Ile Glu Leu Leu Arg Ala Gly Ala Phe Leu His
435 440 445

Thr Pro Leu Thr Glu Leu Asp Leu Ser Ser Asn Pro Gly Leu Glu Val
450 455 460

Ala Thr Gly Ala Leu Gly Gly Leu Glu Ala Ser Leu Glu Val Leu Ala
465 470 475 480

Leu Gln Gly Asn Gly Leu Met Val Leu Gln Val Asp Leu Pro Cys Phe
485 490 495

Ile Cys Leu Lys Arg Leu Asn Leu Ala Glu Asn Arg Leu Ser His Leu
500 505 510

Pro Ala Trp Thr Gln Ala Val Ser Leu Glu Val Leu Asp Leu Arg Asn
515 520 525

Asn Ser Phe Ser Leu Leu Pro Gly Ser Ala Met Gly Gly Leu Glu Thr
530 535 540

Ser Leu Arg Arg Leu Tyr Leu Gln Gly Asn Pro Leu Ser Cys Cys Gly
545 550 555 560

Asn Gly Trp Leu Ala Ala Gln Leu His Gln Gly Arg Val Asp Val Asp
565 570 575

Ala Thr Gln Asp Leu Ile Cys Arg Phe Ser Ser Gln Glu Glu Val Ser
580 585 590

Leu Ser His Val Arg Pro Glu Asp Cys Glu Lys Gly Gly Leu Lys Asn
595 600 605

Ile Asn Leu Ile Ile Ile Leu Thr Phe Ile Leu Val Ser Ala Ile Leu
610 615 620

Leu Thr Thr Leu Ala Ala Cys Cys Cys Val Arg Arg Gln Lys Phe Asn
625 630 635 640

Gln Gln Tyr Lys Ala
645

<210> 53
<211> 610
<212> PRT
<213> 未知體

<220>
<221> source
<223> /標註=「未知體之描述：sGARP序列」

<400> 53
Ala Gln His Gln Asp Lys Val Pro Cys Lys Met Val Asp Lys Lys Val
1 5 10 15

Ser Cys Gln Val Leu Gly Leu Leu Gln Val Pro Ser Val Leu Pro Pro
20 25 30

Asp Thr Glu Thr Leu Asp Leu Ser Gly Asn Gln Leu Arg Ser Ile Leu
35 40 45

Ala Ser Pro Leu Gly Phe Tyr Thr Ala Leu Arg His Leu Asp Leu Ser
50 55 60

Thr Asn Glu Ile Ser Phe Leu Gln Pro Gly Ala Phe Gln Ala Leu Thr
65 70 75 80

His Leu Glu His Leu Ser Leu Ala His Asn Arg Leu Ala Met Ala Thr
85 90 95

Ala Leu Ser Ala Gly Gly Leu Gly Pro Leu Pro Arg Val Thr Ser Leu
100 105 110

Asp Leu Ser Gly Asn Ser Leu Tyr Ser Gly Leu Leu Glu Arg Leu Leu
115 120 125

Gly Glu Ala Pro Ser Leu His Thr Leu Ser Leu Ala Glu Asn Ser Leu
130 135 140

Thr Arg Leu Thr Arg His Thr Phe Arg Asp Met Pro Ala Leu Glu Gln
145 150 155 160

Leu Asp Leu His Ser Asn Val Leu Met Asp Ile Glu Asp Gly Ala Phe
165 170 175

Glu Gly Leu Pro Arg Leu Thr His Leu Asn Leu Ser Arg Asn Ser Leu
180 185 190

Thr Cys Ile Ser Asp Phe Ser Leu Gln Gln Leu Arg Val Leu Asp Leu
195 200 205

Ser Cys Asn Ser Ile Glu Ala Phe Gln Thr Ala Ser Gln Pro Gln Ala
210 215 220

Glu Phe Gln Leu Thr Trp Leu Asp Leu Arg Glu Asn Lys Leu Leu His
225 230 235 240

Phe Pro Asp Leu Ala Ala Leu Pro Arg Leu Ile Tyr Leu Asn Leu Ser
245 250 255

Asn Asn Leu Ile Arg Leu Pro Thr Gly Pro Pro Gln Asp Ser Lys Gly
260 265 270

Ile His Ala Pro Ser Glu Gly Trp Ser Ala Leu Pro Leu Ser Ala Pro

275 280 285

Ser Gly Asn Ala Ser Gly Arg Pro Leu Ser Gln Leu Leu Asn Leu Asp
290 295 300

Leu Ser Tyr Asn Glu Ile Glu Leu Ile Pro Asp Ser Phe Leu Glu His
305 310 315 320

Leu Thr Ser Leu Cys Phe Leu Asn Leu Ser Arg Asn Cys Leu Arg Thr
325 330 335

Phe Glu Ala Arg Arg Leu Gly Ser Leu Pro Cys Leu Met Leu Leu Asp
340 345 350

Leu Ser His Asn Ala Leu Glu Thr Leu Glu Leu Gly Ala Arg Ala Leu
355 360 365

Gly Ser Leu Arg Thr Leu Leu Leu Gln Gly Asn Ala Leu Arg Asp Leu
370 375 380

Pro Pro Tyr Thr Phe Ala Asn Leu Ala Ser Leu Gln Arg Leu Asn Leu
385 390 395 400

Gln Gly Asn Arg Val Ser Pro Cys Gly Gly Pro Asp Glu Pro Gly Pro
405 410 415

Ser Gly Cys Val Ala Phe Ser Gly Ile Thr Ser Leu Arg Ser Leu Ser
420 425 430

Leu Val Asp Asn Glu Ile Glu Leu Leu Arg Ala Gly Ala Phe Leu His
435 440 445

Thr Pro Leu Thr Glu Leu Asp Leu Ser Ser Asn Pro Gly Leu Glu Val
450 455 460

Ala Thr Gly Ala Leu Gly Gly Leu Glu Ala Ser Leu Glu Val Leu Ala
465 470 475 480

Leu Gln Gly Asn Gly Leu Met Val Leu Gln Val Asp Leu Pro Cys Phe
485 490 495

Ile Cys Leu Lys Arg Leu Asn Leu Ala Glu Asn Arg Leu Ser His Leu
500 505 510

Pro Ala Trp Thr Gln Ala Val Ser Leu Glu Val Leu Asp Leu Arg Asn
515 520 525

Asn Ser Phe Ser Leu Leu Pro Gly Ser Ala Met Gly Gly Leu Glu Thr
530 535 540

Ser Leu Arg Arg Leu Tyr Leu Gln Gly Asn Pro Leu Ser Cys Cys Gly
545 550 560

Asn Gly Trp Leu Ala Ala Gln Leu His Gln Gly Arg Val Asp Val Asp
565 570 575

Ala Thr Gln Asp Leu Ile Cys Arg Phe Ser Ser Gln Glu Glu Val Ser
580 585 590

Leu Ser His Val Arg Pro Glu Asp Cys Glu Lys Gly Gly Leu Lys Asn
595 600 605

Ile Asn
610

<210> 54
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 54
Cys Pro Pro Cys Pro
1 5

<210> 55
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 55
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
1 5 10

<210> 56
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 56
Ala Ser Thr Lys Gly Pro
1 5

<210> 57
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 57
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
1 5 10

<210> 58
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source

<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 58
Thr Val Ala Ala Pro
1 5

<210> 59
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 59
Ala Lys Thr Thr Pro Lys Leu Glu Glu Gly Glu Phe Ser Glu Ala Arg
1 5 10 15

<210> 60
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 60
Ala Lys Thr Thr Pro Lys Leu Glu Glu Gly Glu Phe Ser Glu Ala Arg
1 5 10 15

Val

<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 61
Ala Lys Thr Thr Pro Lys Leu Gly Gly

1 5

<210> 62
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 62
Ser Ala Lys Thr Thr Pro Lys Leu Gly Gly
1 5 10

<210> 63
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 63
Ser Ala Lys Thr Thr Pro
1 5

<210> 64
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 64
Arg Ala Asp Ala Ala Pro
1 5

<210> 65
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 65
Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
1 5

<210> 66
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 66
Arg Ala Asp Ala Ala Ala Ala Gly Gly Pro Gly Ser
1 5 10

<210> 67
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 67
Arg Ala Asp Ala Ala Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 68
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 68
Ser Ala Lys Thr Thr Pro Lys Leu Glu Glu Gly Glu Phe Ser Glu Ala
1 5 10 15

Arg Val

<210> 69
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 69
Ala Asp Ala Ala Pro
1 5

<210> 70
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 70
Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
1 5 10

<210> 71
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 71
Gln Pro Lys Ala Ala Pro
1 5

<210> 72
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 72
Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro
1 5 10

<210> 73
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 73
Ala Lys Thr Thr Pro Pro
1 5

<210> 74
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 74
Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Thr Pro Leu Ala Pro
1 5 10

<210> 75
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source

<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 75
Ala Lys Thr Thr Ala Pro
1 5

<210> 76
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 76
Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro
1 5 10

<210> 77
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 77
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 78
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 78
Gly Glu Asn Lys Val Glu Tyr Ala Pro Ala Leu Met Ala Leu Ser
1 5 10 15

<210> 79

<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 79
Gly Pro Ala Lys Glu Leu Thr Pro Leu Lys Glu Ala Lys Val Ser
1 5 10 15

<210> 80
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 80
Gly His Glu Ala Ala Ala Val Met Gln Val Gln Tyr Pro Ala Ser
1 5 10 15

<210> 81
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 81
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Thr Val Ala Ala
1 5 10 15

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
20

<210> 82
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 82
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ala Ser Thr
1 5 10 15

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
20 25

<210> 83
<211> 692
<212> PRT
<213> 智人

<400> 83
Met Glu Leu Leu Pro Leu Trp Leu Cys Leu Gly Phe His Phe Leu Thr
1 5 10 15

Val Gly Trp Arg Asn Arg Ser Gly Thr Ala Thr Ala Ala Ser Gln Gly
20 25 30

Val Cys Lys Leu Val Gly Gly Ala Ala Asp Cys Arg Gly Gln Ser Leu
35 40 45

Ala Ser Val Pro Ser Ser Leu Pro Pro His Ala Arg Met Leu Thr Leu
50 55 60

Asp Ala Asn Pro Leu Lys Thr Leu Trp Asn His Ser Leu Gln Pro Tyr
65 70 75 80

Pro Leu Leu Glu Ser Leu Ser Leu His Ser Cys His Leu Glu Arg Ile
85 90 95

Ser Arg Gly Ala Phe Gln Glu Gln Gly His Leu Arg Ser Leu Val Leu
100 105 110

Gly Asp Asn Cys Leu Ser Glu Asn Tyr Glu Glu Thr Ala Ala Ala Leu
115 120 125

His Ala Leu Pro Gly Leu Arg Arg Leu Asp Leu Ser Gly Asn Ala Leu
130 135 140

Thr Glu Asp Met Ala Ala Leu Met Leu Gln Asn Leu Ser Ser Leu Arg
145 150 155 160

Ser Val Ser Leu Ala Gly Asn Thr Ile Met Arg Leu Asp Asp Ser Val
165 170 175

Phe Glu Gly Leu Glu Arg Leu Arg Glu Leu Asp Leu Gln Arg Asn Tyr
180 185 190

Ile Phe Glu Ile Glu Gly Gly Ala Phe Asp Gly Leu Ala Glu Leu Arg
195 200 205

His Leu Asn Leu Ala Phe Asn Asn Leu Pro Cys Ile Val Asp Phe Gly
210 215 220

Leu Thr Arg Leu Arg Val Leu Asn Val Ser Tyr Asn Val Leu Glu Trp
225 230 235 240

Phe Leu Ala Thr Gly Gly Glu Ala Ala Phe Glu Leu Glu Thr Leu Asp
245 250 255

Leu Ser His Asn Gln Leu Leu Phe Phe Pro Leu Leu Pro Gln Tyr Ser
260 265 270

Lys Leu Arg Thr Leu Leu Leu Arg Asp Asn Asn Met Gly Phe Tyr Arg
275 280 285

Asp Leu Tyr Asn Thr Ser Ser Pro Arg Glu Met Val Ala Gln Phe Leu
290 295 300

Leu Val Asp Gly Asn Val Thr Asn Ile Thr Thr Val Ser Leu Trp Glu
305 310 315 320

Glu Phe Ser Ser Ser Asp Leu Ala Asp Leu Arg Phe Leu Asp Met Ser

325 330 335

Gln Asn Gln Phe Gln Tyr Leu Pro Asp Gly Phe Leu Arg Lys Met Pro
340 345 350

Ser Leu Ser His Leu Asn Leu His Gln Asn Cys Leu Met Thr Leu His
355 360 365

Ile Arg Glu His Glu Pro Pro Gly Ala Leu Thr Glu Leu Asp Leu Ser
370 375 380

His Asn Gln Leu Ser Glu Leu His Leu Ala Pro Gly Leu Ala Ser Cys
385 390 395 400

Leu Gly Ser Leu Arg Leu Phe Asn Leu Ser Ser Asn Gln Leu Leu Gly
405 410 415

Val Pro Pro Gly Leu Phe Ala Asn Ala Arg Asn Ile Thr Thr Leu Asp
420 425 430

Met Ser His Asn Gln Ile Ser Leu Cys Pro Leu Pro Ala Ala Ser Asp
435 440 445

Arg Val Gly Pro Pro Ser Cys Val Asp Phe Arg Asn Met Ala Ser Leu
450 455 460

Arg Ser Leu Ser Leu Glu Gly Cys Gly Leu Gly Ala Leu Pro Asp Cys
465 470 475 480

Pro Phe Gln Gly Thr Ser Leu Thr Tyr Leu Asp Leu Ser Ser Asn Trp
485 490 495

Gly Val Leu Asn Gly Ser Leu Ala Pro Leu Gln Asp Val Ala Pro Met
500 505 510

Leu Gln Val Leu Ser Leu Arg Asn Met Gly Leu His Ser Ser Phe Met
515 520 525

Ala Leu Asp Phe Ser Gly Phe Gly Asn Leu Arg Asp Leu Asp Leu Ser
530 535 540

Gly Asn Cys Leu Thr Thr Phe Pro Arg Phe Gly Gly Ser Leu Ala Leu
545 550 555 560

Glu Thr Leu Asp Leu Arg Arg Asn Ser Leu Thr Ala Leu Pro Gln Lys
565 570 575

Ala Val Ser Glu Gln Leu Ser Arg Gly Leu Arg Thr Ile Tyr Leu Ser
580 585 590

Gln Asn Pro Tyr Asp Cys Cys Gly Val Asp Gly Trp Gly Ala Leu Gln
595 600 605

His Gly Gln Thr Val Ala Asp Trp Ala Met Val Thr Cys Asn Leu Ser
610 615 620

Ser Lys Ile Ile Arg Val Thr Glu Leu Pro Gly Gly Val Pro Arg Asp
625 630 635 640

Cys Lys Trp Glu Arg Leu Asp Leu Gly Leu Leu Tyr Leu Val Leu Ile
645 650 655

Leu Pro Ser Cys Leu Thr Leu Leu Val Ala Cys Thr Val Ile Val Leu
660 665 670

Thr Phe Lys Lys Pro Leu Leu Gln Val Ile Lys Ser Arg Cys His Trp
675 680 685

Ser Ser Val Tyr
690

<210> 84
<211> 660
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 84

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Ser Gly Val Leu Gly Trp Arg Asn Arg Ser Gly Thr Ala Thr Ala
20 25 30

Ala Ser Gln Gly Val Cys Lys Leu Val Gly Gly Ala Ala Asp Cys Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Leu Ala Ser Val Pro Ser Ser Leu Pro Pro His Ala Arg
50 55 60

Met Leu Thr Leu Asp Ala Asn Pro Leu Lys Thr Leu Trp Asn His Ser
65 70 75 80

Leu Gln Pro Tyr Pro Leu Leu Glu Ser Leu Ser Leu His Ser Cys His
85 90 95

Leu Glu Arg Ile Ser Arg Gly Ala Phe Gln Glu Gln Gly His Leu Arg
100 105 110

Ser Leu Val Leu Gly Asp Asn Cys Leu Ser Glu Asn Tyr Glu Glu Thr
115 120 125

Ala Ala Ala Leu His Ala Leu Pro Gly Leu Arg Arg Leu Asp Leu Ser
130 135 140

Gly Asn Ala Leu Thr Glu Asp Met Ala Ala Leu Met Leu Gln Asn Leu
145 150 155 160

Ser Ser Leu Arg Ser Val Ser Leu Ala Gly Asn Thr Ile Met Arg Leu
165 170 175

Asp Asp Ser Val Phe Glu Gly Leu Glu Arg Leu Arg Glu Leu Asp Leu

180 185 190

Gln Arg Asn Tyr Ile Phe Glu Ile Glu Gly Gly Ala Phe Asp Gly Leu
195 200 205

Ala Glu Leu Arg His Leu Asn Leu Ala Phe Asn Asn Leu Pro Cys Ile
210 215 220

Val Asp Phe Gly Leu Thr Arg Leu Arg Val Leu Asn Val Ser Tyr Asn
225 230 235 240

Val Leu Glu Trp Phe Leu Ala Thr Gly Gly Glu Ala Ala Phe Glu Leu
245 250 255

Glu Thr Leu Asp Leu Ser His Asn Gln Leu Leu Phe Phe Pro Leu Leu
260 265 270

Pro Gln Tyr Ser Lys Leu Arg Thr Leu Leu Leu Arg Asp Asn Asn Met
275 280 285

Gly Phe Tyr Arg Asp Leu Tyr Asn Thr Ser Ser Pro Arg Glu Met Val
290 295 300

Ala Gln Phe Leu Leu Val Asp Gly Asn Val Thr Asn Ile Thr Thr Val
305 310 315 320

Ser Leu Trp Glu Glu Phe Ser Ser Ser Asp Leu Ala Asp Leu Arg Phe
325 330 335

Leu Asp Met Ser Gln Asn Gln Phe Gln Tyr Leu Pro Asp Gly Phe Leu
340 345 350

Arg Lys Met Pro Ser Leu Ser His Leu Asn Leu His Gln Asn Cys Leu
355 360 365

Met Thr Leu His Ile Arg Glu His Glu Pro Pro Gly Ala Leu Thr Glu
370 375 380

Leu Asp Leu Ser His Asn Gln Leu Ser Glu Leu His Leu Ala Pro Gly
385 390 395 400

Leu Ala Ser Cys Leu Gly Ser Leu Arg Leu Phe Asn Leu Ser Ser Asn
405 410 415

Gln Leu Leu Gly Val Pro Pro Gly Leu Phe Ala Asn Ala Arg Asn Ile
420 425 430

Thr Thr Leu Asp Met Ser His Asn Gln Ile Ser Leu Cys Pro Leu Pro
435 440 445

Ala Ala Ser Asp Arg Val Gly Pro Pro Ser Cys Val Asp Phe Arg Asn
450 455 460

Met Ala Ser Leu Arg Ser Leu Ser Leu Glu Gly Cys Gly Leu Gly Ala
465 470 475 480

Leu Pro Asp Cys Pro Phe Gln Gly Thr Ser Leu Thr Tyr Leu Asp Leu
485 490 495

Ser Ser Asn Trp Gly Val Leu Asn Gly Ser Leu Ala Pro Leu Gln Asp
500 505 510

Val Ala Pro Met Leu Gln Val Leu Ser Leu Arg Asn Met Gly Leu His
515 520 525

Ser Ser Phe Met Ala Leu Asp Phe Ser Gly Phe Gly Asn Leu Arg Asp
530 535 540

Leu Asp Leu Ser Gly Asn Cys Leu Thr Thr Phe Pro Arg Phe Gly Gly
545 550 555 560

Ser Leu Ala Leu Glu Thr Leu Asp Leu Arg Arg Asn Ser Leu Thr Ala
565 570 575

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

580 585 590

Ile Tyr Leu Ser Gln Asn Pro Tyr Asp Cys Cys Gly Val Asp Gly Trp
595 600 605

Gly Ala Leu Gln His Gly Gln Thr Val Ala Asp Trp Ala Met Val Thr
610 615 620

Cys Asn Leu Ser Ser Lys Ile Ile Arg Val Thr Glu Leu Pro Gly Gly
625 630 635 640

Val Pro Arg Asp Cys Lys Trp Glu Arg Leu Asp Leu Gly Leu His His
645 650 655

His His His His
660

<210> 85

<400> 85
000

<210> 86

<400> 86
000

<210> 87

<400> 87
000

<210> 88

<400> 88
000

<210> 89

<400> 89

000

<210> 90

<400> 90
000

<210> 91

<400> 91
000

<210> 92

<400> 92
000

<210> 93

<400> 93
000

<210> 94

<400> 94
000

<210> 95

<400> 95
000

<210> 96

<400> 96
000

<210> 97

<400> 97
000

<210> 98

<400> 98
000

<210> 99

<400> 99
000

<210> 100

<400> 100
000

<210> 101
<211> 689
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 101
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Ser Gly Val Leu Gly Trp Arg Asn Arg Ser Gly Thr Ala Thr Ala
20 25 30

Ala Ser Gln Gly Val Cys Lys Leu Val Gly Gly Ala Ala Asp Cys Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Leu Ala Ser Val Pro Ser Ser Leu Pro Pro His Ala Arg
50 55 60

Met Leu Thr Leu Asp Ala Asn Pro Leu Lys Thr Leu Trp Asn His Ser
65 70 75 80

Leu Gln Pro Tyr Pro Leu Leu Glu Ser Leu Ser Leu His Ser Cys His

85 90 95

Leu Glu Arg Ile Ser Arg Gly Ala Phe Gln Glu Gln Gly His Leu Arg
100 105 110

Ser Leu Val Leu Gly Asp Asn Cys Leu Ser Glu Asn Tyr Glu Glu Thr
115 120 125

Ala Ala Ala Leu His Ala Leu Pro Gly Leu Arg Arg Leu Asp Leu Ser
130 135 140

Gly Asn Ala Leu Thr Glu Asp Met Ala Ala Leu Met Leu Gln Asn Leu
145 150 155 160

Ser Ser Leu Arg Ser Val Ser Leu Ala Gly Asn Thr Ile Met Arg Leu
165 170 175

Asp Asp Ser Val Phe Glu Gly Leu Glu Arg Leu Arg Glu Leu Asp Leu
180 185 190

Gln Arg Asn Tyr Ile Phe Glu Ile Glu Gly Gly Ala Phe Asp Gly Leu
195 200 205

Ala Glu Leu Arg His Leu Asn Leu Ala Phe Asn Asn Leu Pro Cys Ile
210 215 220

Val Asp Phe Gly Leu Thr Arg Leu Arg Val Leu Asn Val Ser Tyr Asn
225 230 235 240

Val Leu Glu Trp Phe Leu Ala Thr Gly Gly Glu Ala Ala Phe Glu Leu
245 250 255

Glu Thr Leu Asp Leu Ser His Asn Gln Leu Leu Phe Phe Pro Leu Leu
260 265 270

Pro Gln Tyr Ser Lys Leu Arg Thr Leu Leu Leu Arg Asp Asn Asn Met
275 280 285

Gly Phe Tyr Arg Asp Leu Tyr Asn Thr Ser Ser Pro Arg Glu Met Val
290 295 300

Ala Gln Phe Leu Leu Val Asp Gly Asn Val Thr Asn Ile Thr Thr Val
305 310 315 320

Ser Leu Trp Glu Glu Phe Ser Ser Ser Asp Leu Ala Asp Leu Arg Phe
325 330 335

Leu Asp Met Ser Gln Asn Gln Phe Gln Tyr Leu Pro Asp Gly Phe Leu
340 345 350

Arg Lys Met Pro Ser Leu Ser His Leu Asn Leu His Gln Asn Cys Leu
355 360 365

Met Thr Leu His Ile Arg Glu His Glu Pro Pro Gly Ala Leu Thr Glu
370 375 380

Leu Asp Leu Ser His Asn Gln Leu Ser Glu Leu His Leu Ala Pro Gly
385 390 395 400

Leu Ala Ser Cys Leu Gly Ser Leu Arg Leu Phe Asn Leu Ser Ser Asn
405 410 415

Gln Leu Leu Gly Val Pro Pro Gly Leu Phe Ala Asn Ala Arg Asn Ile
420 425 430

Thr Thr Leu Asp Met Ser His Asn Gln Ile Ser Leu Cys Pro Leu Pro
435 440 445

Ala Ala Ser Asp Arg Val Gly Pro Pro Ser Cys Val Asp Phe Arg Asn
450 455 460

Met Ala Ser Leu Arg Ser Leu Ser Leu Glu Gly Cys Gly Leu Gly Ala
465 470 475 480

Leu Pro Asp Cys Pro Phe Gln Gly Thr Ser Leu Thr Tyr Leu Asp Leu

485 490 495

Ser Ser Asn Trp Gly Val Leu Asn Gly Ser Leu Ala Pro Leu Gln Asp
500 505 510

Val Ala Pro Met Leu Gln Val Leu Ser Leu Arg Asn Met Gly Leu His
515 520 525

Ser Ser Phe Met Ala Leu Asp Phe Ser Gly Phe Gly Asn Leu Arg Asp
530 535 540

Leu Asp Leu Ser Gly Asn Cys Leu Thr Thr Phe Pro Arg Phe Gly Gly
545 550 555 560

Ser Leu Ala Leu Glu Thr Leu Asp Leu Arg Arg Asn Ser Leu Thr Ala
565 570 575

Leu Pro Gln Lys Ala Val Ser Glu Gln Leu Ser Arg Gly Leu Arg Thr
580 585 590

Ile Tyr Leu Ser Gln Asn Pro Tyr Asp Cys Cys Gly Val Asp Gly Trp
595 600 605

Gly Ala Leu Gln His Gly Gln Thr Val Ala Asp Trp Ala Met Val Thr
610 615 620

Cys Asn Leu Ser Ser Lys Ile Ile Arg Val Thr Glu Leu Pro Gly Gly
625 630 635 640

Val Pro Arg Asp Cys Lys Trp Glu Arg Leu Asp Leu Gly Leu Leu Ile
645 650 655

Ile Ile Leu Thr Phe Ile Leu Val Ser Ala Ile Leu Leu Thr Thr Leu
660 665 670

Ala Ala Cys Cys Cys Val Arg Arg Gln Lys Phe Asn Gln Gln Tyr Lys
675 680 685

Ala

<210> 102

<400> 102
000

<210> 103

<400> 103
000

<210> 104

<400> 104
000

<210> 105

<400> 105
000

<210> 106

<400> 106
000

<210> 107

<400> 107
000

<210> 108
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 108
Phe Thr Phe Ala Asp Tyr Ala Met Thr
1 5

<210> 109
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 109
Ala Ile Ser Gly Thr Gly Ala His Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 110
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<220>
<221> source
<223> /標註=「參見所申請之說明書以獲得取代及較佳實施例之詳細描述」

<400> 110
Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 111
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<220>
<221> source
<223> /標註=「參見所申請之說明書以獲得取代及較佳實施例之詳細描述」

<400> 111
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 112
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 112
Asp Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 113
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 113
Gln Gln Ser Tyr Ser Ala Pro Phe Thr
1 5

<210> 114
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 114
Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Ala Met Val
1 5

<210> 115
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 115
Ala Ile Ser Gly Ser Gly Phe Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 116

<400> 116
000

<210> 117

<400> 117
000

<210> 118

<400> 118
000

<210> 119
<400> 119
000

<210> 120
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source

<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 120
Phe Thr Phe Ser Ser Phe Ala Met Thr
1 5

<210> 121
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 121
Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ala Ala Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 122

<400> 122
000

<210> 123

<400> 123
000

<210> 124

<400> 124
000

<210> 125

<400> 125
000

<210> 126

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 126
Phe Thr Phe Arg Asn Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 127
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 127
Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 128

<400> 128
000

<210> 129
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 129
Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Ser Leu Asn
1 5 10

<210> 130
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 130
Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr
1 5

<210> 131
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 131
Gln Gln Ala Pro Asn Leu Pro Phe Thr
1 5

<210> 132

<400> 132
000

<210> 133

<400> 133
000

<210> 134

<400> 134
000

<210> 135

<400> 135

000

<210> 136
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<220>
<221> source
<223> /標註=「參見所申請之說明書以獲得取代及較佳實施例之詳細描述」

<400> 136
Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser
1 5

<210> 137

<400> 137
000

<210> 138

<400> 138
000

<210> 139

<400> 139
000

<210> 140

<400> 140
000

<210> 141

<400> 141
000

<210> 142

<400> 142
000

<210> 143

<400> 143
000

<210> 144

<400> 144
000

<210> 145
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 145
Ala Ile Ser Ser Phe Ala Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 146

<400> 146
000

<210> 147

<400> 147
000

<210> 148

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 148
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 149
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 149
Gln Gln Val Tyr Asp Pro Pro Leu Thr
1 5

<210> 150
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 150
Phe Thr Phe Ser Ala Tyr Ala Met Thr
1 5

<210> 151
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 151
Ala Ile Ser Gly Thr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 152

<400> 152
000

<210> 153

<400> 153
000

<210> 154

<400> 154
000

<210> 155

<400> 155
000

<210> 156

<400> 156
000

<210> 157

<400> 157
000

<210> 158

<400> 158
000

<210> 159

<400> 159
000

<210> 160

<400> 160
000

<210> 161

<400> 161
000

<210> 162

<400> 162
000

<210> 163

<400> 163
000

<210> 164

<400> 164
000

<210> 165

<400> 165
000

<210> 166

<400> 166
000

<210> 167

<400> 167
000

<210> 168
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 168
Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 169

<400> 169
000

<210> 170

<400> 170
000

<210> 171

<400> 171
000

<210> 172

<400> 172
000

<210> 173

<400> 173
000

<210> 174

<400> 174
000

<210> 175

<400> 175
000

<210> 176

<400> 176
000

<210> 177

<400> 177
000

<210> 178

<400> 178
000

<210> 179

<400> 179
000

<210> 180

<400> 180
000

<210> 181

<400> 181
000

<210> 182
<211> 12
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 182
Ala Thr Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 183

<400> 183
000

<210> 184

<400> 184
000

<210> 185

<400> 185
000

<210> 186

<400> 186
000

<210> 187

<400> 187
000

<210> 188
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 188
Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Glu
1 5 10

<210> 189

<400> 189
000

<210> 190

<400> 190
000

<210> 191

<400> 191
000

<210> 192

<400> 192
000

<210> 193
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 193
Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Val Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 194
<211> 12
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 194
Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Tyr Asp Tyr
1 5 10

<210> 195

<400> 195
000

<210> 196

<400> 196
000

<210> 197

<400> 197
000

<210> 198

<400> 198
000

<210> 199

<400> 199
000

<210> 200
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 200
Ala Arg Val Ser Ser Tyr Leu Trp Asp Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 201

<400> 201
000

<210> 202

<400> 202
000

<210> 203

<400> 203
000

<210> 204

<400> 204
000

<210> 205

<400> 205
000

<210> 206
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<400> 206
Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 207

<400> 207
000

<210> 208

<400> 208
000

<210> 209

<400> 209
000

<210> 210
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 210

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5				10					15		

Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ala	Asp	Tyr
		20					25					30			

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

Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Thr	Gly	Ala	His	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				

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

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

Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 211
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 211
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ala Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 212
<211> 119
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 212
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Phe Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 213

<400> 213
000

<210> 214
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 214
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ala Ala Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 215
<400> 215
000

<210> 216
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source

<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 216
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 217
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 217
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Ser

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Pro Asn Leu Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 218

<400> 218
000

<210> 219

<400> 219
000

<210> 220

<400> 220
000

<210> 221

<400> 221
000

<210> 222
<211> 119
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 222
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ala Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Ser Phe Ala Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 223
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 223
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Tyr Asp Pro Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 224
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 224
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ala Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Thr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

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

Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 225

<400> 225
000

<210> 226
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 226
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Phe Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 227

<400> 227
000

<210> 228
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 228
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Phe Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 229

<400> 229
000

<210> 230
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 230
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ala Ala Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 231

<400> 231
000

<210> 232
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 232
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ala Ala Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Thr Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 233

<400> 233
000

<210> 234
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 234
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ala Ala Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Glu Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 235
<400> 235
000

<210> 236
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 236
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ala Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Val Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 237

<400> 237
000

<210> 238
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 238
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Val Ser Ser Tyr Leu Trp Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 239

<400> 239
000

<210> 240
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 240
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 241

<400> 241
000

<210> 242

<400> 242
000

<210> 243
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成多肽」

<400> 243

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Phe
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Phe Asn Pro Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 244

<400> 244
000

<210> 245

<400> 245
000

<210> 246

<400> 246
000

<210> 247

<400> 247
000

<210> 248

<400> 248
000

<210> 249

<400> 249
000

<210> 250
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<220>
<221> source

<223> /標註=「參見所申請之說明書以獲得取代及較佳實施例之詳細描述」

<400> 250
Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Ala Met Thr
1 5

<210> 251
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<220>
<221> source
<223> /標註=「參見所申請之說明書以獲得取代及較佳實施例之詳細描述」

<400> 251
Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ala Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 252
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<220>
<221> VARIANT
<222> (4)..(4)
<223> /置換=「Ser」

<220>
<221> VARIANT
<222> (5)..(5)
<223> /置換=「Asp」或「Ser」或「Ala」

<220>

<221> VARIANT
<222> (6)..(6)
<223> /置換=「Phe」

<220>
<221> VARIANT
<222> (9)..(9)
<223> /置換=「Thr」或「Val」

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(9)
<223> /標註=「序列中所給出之變異體殘基相對於變異體位置之註解中之殘基不具有優先性」

<400> 252
Phe Thr Phe Ala Asn Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 253
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<220>
<221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> /置換=「Ala」

<220>
<221> VARIANT
<222> (4)..(4)
<223> /置換=「Ser」

<220>
<221> VARIANT
<222> (5)..(5)
<223> /置換=「Thr」或「Phe」

<220>
<221> VARIANT
<222> (6)..(6)
<223> /置換=「Ala」

<220>

<221> VARIANT
<222> (7)..(7)
<223> /置換=「Ala」或「Phe」或「Ser」

<220>
<221> VARIANT
<222> (8)..(8)
<223> /置換=「His」或「Thr」或「Ser」或「Val」

<220>
<221> VARIANT
<222> (9)..(9)
<223> /置換=「Ile」

<220>
<221> VARIANT
<222> (11)..(11)
<223> /置換=「Phe」

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(17)
<223> /標註=「序列中所給出之變異體殘基相對於變異體位置之註解中之殘基不具有優先性」

<400> 253
Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 254
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<220>
<221> VARIANT
<222> (2)..(2)
<223> /置換=「Thr」

<220>
<221> VARIANT

<222> (6)..(6)
<223> /置換=「Tyr」

<220>
<221> VARIANT
<222> (7)..(7)
<223> /置換=「Leu」

<220>
<221> VARIANT
<222> (10)..(10)
<223> /置換=「Tyr」或「Leu」

<220>
<221> VARIANT
<222> (12)..(12)
<223> /置換=「Glu」

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(12)
<223> /標註=「序列中所給出之變異體殘基相對於變異體位置之註解中之殘基不具有優先性」

<400> 254
Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 255
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<220>
<221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> /置換=「Gln」

<220>
<221> VARIANT
<222> (5)..(5)
<223> /置換=「Asp」

<220>
<221> VARIANT

<222> (8)..(8)
<223> /置換=「Asn」

<220>
<221> VARIANT
<222> (9)..(9)
<223> /置換=「Tyr」或「Ser」

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(11)
<223> /標註=「序列中所給出之變異體殘基相對於變異體位置之註解中之殘基不具有優先性」

<400> 255
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Phe Leu Asn
1 5 10

<210> 256
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<220>
<221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> /置換=「Ala」

<220>
<221> VARIANT
<222> (4)..(4)
<223> /置換=「Asn」

<220>
<221> VARIANT
<222> (6)..(6)
<223> /置換=「Glu」

<220>
<221> VARIANT
<222> (7)..(7)
<223> /置換=「Thr」

<220>
<221> SITE

<222> (1)..(7)
<223> /標註=「序列中所給出之變異體殘基相對於變異體位置之註解中之殘基不具有優先性」

<400> 256
Asp Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 257
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<220>
<221> VARIANT
<222> (3)..(3)
<223> /置換=「Ala」或「Thr」或「Val」

<220>
<221> VARIANT
<222> (4)..(4)
<223> /置換=「Tyr」或「Pro」

<220>
<221> VARIANT
<222> (5)..(5)
<223> /置換=「Asn」或「Thr」或「Asp」

<220>
<221> VARIANT
<222> (6)..(6)
<223> /置換=「Leu」或「Val」或「Pro」

<220>
<221> VARIANT
<222> (8)..(8)
<223> /置換=「Leu」

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(9)
<223> /標註=「序列中所給出之變異體殘基相對於變異體位置之註解中之殘基不具有優先性」

<400> 257
Gln Gln Ser Phe Ser Ala Pro Phe Thr

1 5

<210> 258
<211> 21
<212> PRT
<213> 智人

<400> 258
Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro Glu Ala Val Leu Ala
1 5 10 15

Leu Tyr Asn Ser Thr
20

<210> 259
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 259
Leu Arg Glu Ala Val Pro Glu
1 5

<210> 260
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 260
Tyr His Ala Asn Phe Cys Leu Gly
1 5

<210> 261
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人

<400> 261
Ser Pro Pro Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro Glu Ala
1 5 10 15

Val Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr
20

<210> 262
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 262
Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr His Ala Asn Phe Cys Leu
1 5 10 15
Gly

<210> 263
<211> 249
<212> PRT
<213> 智人

<400> 263
Leu Ser Thr Cys Lys Thr Ile Asp Met Glu Leu Val Lys Arg Lys Arg
1 5 10 15

Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Ala Ser
20 25 30

Pro Pro Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro Glu Ala Val
35 40 45

Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Arg Val Ala Gly Glu Ser Ala
50 55 60

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Ala Asp Tyr Tyr Ala Lys Glu Val Thr
65 70 75 80

Arg Val Leu Met Val Glu Thr His Asn Glu Ile Tyr Asp Lys Phe Lys
85 90 95

Gln Ser Thr His Ser Ile Tyr Met Phe Phe Asn Thr Ser Glu Leu Arg
100 105 110

Glu Ala Val Pro Glu Pro Val Leu Leu Ser Arg Ala Glu Leu Arg Leu

115 120 125

Leu Arg Leu Lys Leu Lys Val Glu Gln His Val Glu Leu Tyr Gln Lys
130 135 140

Tyr Ser Asn Asn Ser Trp Arg Tyr Leu Ser Asn Arg Leu Leu Ala Pro
145 150 155 160

Ser Asp Ser Pro Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Gly Val Val Arg
165 170 175

Gln Trp Leu Ser Arg Gly Gly Glu Ile Glu Gly Phe Arg Leu Ser Ala
180 185 190

His Cys Ser Cys Asp Ser Arg Asp Asn Thr Leu Gln Val Asp Ile Asn
195 200 205

Gly Phe Thr Thr Gly Arg Arg Gly Asp Leu Ala Thr Ile His Gly Met
210 215 220

Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Met Ala Thr Pro Leu Glu Arg Ala Gln
225 230 235 240

His Leu Gln Ser Ser Arg His Arg Arg
245

<210> 264
<211> 45
<212> PRT
<213> 智人

<400> 264
Leu Ser Thr Cys Lys Thr Ile Asp Met Glu Leu Val Lys Arg Lys Arg
1 5 10 15

Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Ala Ser
20 25 30

Pro Pro Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro

35 40 45

<210> 265
<211> 112
<212> PRT
<213> 智人

<400> 265
Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys Phe Ser Ser Thr Glu Lys Asn Cys Cys
1 5 10 15

Val Arg Gln Leu Tyr Ile Asp Phe Arg Lys Asp Leu Gly Trp Lys Trp
20 25 30

Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr His Ala Asn Phe Cys Leu Gly Pro Cys
35 40 45

Pro Tyr Ile Trp Ser Leu Asp Thr Gln Tyr Ser Lys Val Leu Ala Leu
50 55 60

Tyr Asn Gln His Asn Pro Gly Ala Ser Ala Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Gln Ala Leu Glu Pro Leu Pro Ile Val Tyr Tyr Val Gly Arg Lys Pro
85 90 95

Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn Met Ile Val Arg Ser Cys Lys Cys Ser
100 105 110

<210> 266
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 266
Arg His Arg Arg
1

<210> 267
<211> 204
<212> PRT

<213> 智人

<400> 267

Glu Ala Val Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Arg Val Ala Gly
1 5 10 15

Glu Ser Ala Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Ala Asp Tyr Tyr Ala Lys
20 25 30

Glu Val Thr Arg Val Leu Met Val Glu Thr His Asn Glu Ile Tyr Asp
35 40 45

Lys Phe Lys Gln Ser Thr His Ser Ile Tyr Met Phe Phe Asn Thr Ser
50 55 60

Glu Leu Arg Glu Ala Val Pro Glu Pro Val Leu Leu Ser Arg Ala Glu
65 70 75 80

Leu Arg Leu Leu Arg Leu Lys Leu Lys Val Glu Gln His Val Glu Leu
85 90 95

Tyr Gln Lys Tyr Ser Asn Asn Ser Trp Arg Tyr Leu Ser Asn Arg Leu
100 105 110

Leu Ala Pro Ser Asp Ser Pro Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Gly
115 120 125

Val Val Arg Gln Trp Leu Ser Arg Gly Gly Glu Ile Glu Gly Phe Arg
130 135 140

Leu Ser Ala His Cys Ser Cys Asp Ser Arg Asp Asn Thr Leu Gln Val
145 150 155 160

Asp Ile Asn Gly Phe Thr Thr Gly Arg Arg Gly Asp Leu Ala Thr Ile
165 170 175

His Gly Met Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Met Ala Thr Pro Leu Glu
180 185 190

Arg Ala Gln His Leu Gln Ser Ser Arg His Arg Arg
195 200

<210> 268
<211> 29
<212> PRT
<213> 智人

<400> 268
Cys Val Arg Gln Leu Tyr Ile Asp Phe Arg Lys Asp Leu Gly Trp Lys
1 5 10 15

Trp Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr His Ala Asn Phe Cys
20 25

<210> 269
<211> 35
<212> PRT
<213> 智人

<400> 269
Cys Val Pro Gln Ala Leu Glu Pro Leu Pro Ile Val Tyr Tyr Val Gly
1 5 10 15

Arg Lys Pro Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn Met Ile Val Arg Ser Cys
20 25 30

Lys Cys Ser
35

<210> 270
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<400> 270
Leu Ala Ser Pro Pro Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu
1 5 10 15

<210> 271
<211> 27
<212> PRT

<213> 智人

<400> 271
Leu Ala Ser Pro Pro Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro
1 5 10 15

Glu Ala Val Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg
20 25

<210> 272
<211> 29
<212> PRT
<213> 智人

<400> 272
Leu Ser Thr Cys Lys Thr Ile Asp Met Glu Leu Val Lys Arg Lys Arg
1 5 10 15

Ile Glu Ala Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg
20 25

<210> 273
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 273
Ala Val Leu Ala Leu Tyr Asn Ser Thr Arg
1 5 10

<210> 274
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人

<400> 274
Asn Gly Phe Thr Thr Gly Arg Arg Gly Asp Leu Ala Thr Ile His Gly
1 5 10 15

Met Asn Arg Pro
20

<210> 275

<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 275
Cys Ser Cys Asp Ser Arg Asp Asn Thr Leu Gln Val Asp
1 5 10

<210> 276
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<220>
<221> VARIANT
<222> (4)..(4)
<223> /置換=「Ser」

<220>
<221> VARIANT
<222> (6)..(6)
<223> /置換=「Phe」

<220>
<221> VARIANT
<222> (9)..(9)
<223> /置換=「Thr」或「Val」

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(9)
<223> /標註=「序列中所給出之變異體殘基相對於變異體位置之註解中之殘基不具有優先性」

<400> 276
Phe Thr Phe Ala Asp Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 277
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<220>
<221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> /置換=「Ala」

<220>
<221> VARIANT
<222> (4)..(4)
<223> /置換=「Ser」

<220>
<221> VARIANT
<222> (6)..(6)
<223> /置換=「Ala」

<220>
<221> VARIANT
<222> (7)..(7)
<223> /置換=「Ala」或「Phe」或「Ser」

<220>
<221> VARIANT
<222> (8)..(8)
<223> /置換=「His」或「Thr」或「Ser」或「Val」

<220>
<221> VARIANT
<222> (9)..(9)
<223> /置換=「Ile」

<220>
<221> VARIANT
<222> (11)..(11)
<223> /置換=「Phe」

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(17)
<223> /標註=「序列中所給出之變異體殘基相對於變異體位置之註解中之殘基不具有優先性」

<400> 277
Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 278
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<220>
<221> VARIANT
<222> (2)..(2)
<223> /置換=「Thr」

<220>
<221> VARIANT
<222> (10)..(10)
<223> /置換=「Tyr」或「Leu」

<220>
<221> VARIANT
<222> (12)..(12)
<223> /置換=「Glu」

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(12)
<223> /標註=「序列中所給出之變異體殘基相對於變異體位置之註解中之殘基不具有優先性」

<400> 278
Ala Arg Val Ser Ser Gly His Trp Asp Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 279
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<220>
<221> VARIANT

<222> (2)..(2)
<223> /置換=「Ala」

<220>
<221> VARIANT
<222> (5)..(5)
<223> /置換=「Asn」

<220>
<221> VARIANT
<222> (7)..(7)
<223> /置換=「Glu」

<220>
<221> VARIANT
<222> (8)..(8)
<223> /置換=「Thr」

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(8)
<223> /標註=「序列中所給出之變異體殘基相對於變異體位置之註解中之殘基不具有優先性」

<400> 279
Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 280
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成肽」

<220>
<221> VARIANT
<222> (5)..(5)
<223> /置換=「Asn」或「Thr」或「Asp」

<220>
<221> VARIANT
<222> (6)..(6)
<223> /置換=「Leu」或「Val」或「Pro」

<220>
<221> VARIANT
<222> (8)..(8)

<223> /置換=「Leu」

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(9)
<223> /標註=「序列中所給出之變異體殘基相對於變異體位置之註解中之殘基不具有優先性」

<400> 280
Gln Gln Thr Tyr Ser Ala Pro Phe Thr
1 5

<210> 281
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人

<400> 281
Glu Asp Tyr Pro Glu Pro Glu Glu Val Pro Pro Glu Val Ile Ser Ile
1 5 10 15

Tyr Asn Ser Thr
20

<210> 282
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 282
Met Glu Lys Asn
1

<210> 283
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 283
Tyr Asn Ala Asn Phe Cys Ala Gly
1 5

<210> 284
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人

<400> 284
Glu Pro Thr Val Met Thr His Val Pro Tyr Gln Val Leu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

Asn Ser Thr

<210> 285
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 285
Val Glu Lys Asn
1

<210> 286
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 286
Tyr Tyr Ala Asn Phe Cys Ser Gly
1 5

<210> 287
<211> 23
<212> PRT
<213> 智人

<400> 287
Ser Pro Pro Glu Asp Tyr Pro Glu Pro Glu Glu Val Pro Pro Glu Val
1 5 10 15

Ile Ser Ile Tyr Asn Ser Thr
20

<210> 288
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 288

Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr Asn Ala Asn Phe Cys Ala
1 5 10 15

Gly

<210> 289
<211> 22
<212> PRT
<213> 智人

<400> 289
Ser Pro Pro Glu Pro Thr Val Met Thr His Val Pro Tyr Gln Val Leu
1 5 10 15

Ala Leu Tyr Asn Ser Thr
20

<210> 290
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 290
Trp Lys Trp Val His Glu Pro Lys Gly Tyr Tyr Ala Asn Phe Cys Ser
1 5 10 15

Gly

<210> 291
<211> 23
<212> PRT
<213> 智人

<400> 291
Lys Leu Arg Leu Ala Ser Pro Pro Ser Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly
1 5 10 15

Pro Leu Pro Glu Ala Val Leu
20

<210> 292
<211> 22
<212> PRT
<213> 智人

<400> 292
Lys Leu Lys Leu Thr Ser Pro Pro Glu Asp Tyr Pro Glu Pro Glu Glu
1 5 10 15

Val Pro Pro Glu Val Ile
20

<210> 293
<211> 21
<212> PRT
<213> 智人

<400> 293
Lys Leu Arg Leu Thr Ser Pro Pro Glu Pro Thr Val Met Thr His Val
1 5 10 15

Pro Tyr Gln Val Leu
20

<210> 294
<211> 6
<212> PRT
<213> 未知體

<220>
<221> source
<223> /標註=「未知體之描述：TGFβ序列」

<400> 294
Leu Ser Lys Leu Arg Leu
1 5

<210> 295
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /標註=「人工序列之描述：合成6xHis標籤」

<400> 295
His His His His His His
1 5

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種分離之單株抗體或其抗原結合片段，其特異性結合proTGFβ1(前體TGFβ1)複合物，其中該抗體或該抗原結合片段包含H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3、L-CDR1、L-CDR2及L-CDR3，其中：

i) 該H-CDR1具有由FTF(X_1)(X_2)(X_3)AM(X_4)表示之胺基酸序列，其中X_1為A或S；X_2為N、D、S或A；X_3為Y或F； 及/或X_4為S、T或V (SEQ ID NO: 252)；

ii) 該H-CDR2具有由(X_1)IS(X_2)(X_3)(X_4)(X_5)(X_6)(X_7)Y(X_8)ADSVKG表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為S或A；X_2為G或S；X_3為S、T或F；X_4為G或A；X_5為G、A、F或S；X_6為A、H、T、S或V；X_7為T或I；及/或X_8為Y或F (SEQ ID NO: 253)；

iii) 該H-CDR3具有由A(X_1)VSS(X_2)(X_3)WD(X_4)D(X_5)表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為R或T；X_2為G或Y；X_3為H或L；X_4為F、Y或L；及/或X_5為Y或E (SEQ ID NO: 254)；

iv) 該L-CDR1具有由(X_1)ASQ(X_2)IS(X_3)(X_4)LN表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為R或Q；X_2為S或D；X_3為S或N； 及/或X_4為Y或S (SEQ ID NO: 255)；

v) 該L-CDR2具有由(X_1)AS(X_2)L(X_3)(X_4)表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為D或A；X_2為S或N；X_3為Q或E； 及/或X_4為S或T (SEQ ID NO: 256)；及，

vi) 該L-CDR3具有由QQ(X_1)(X_2)(X_3)(X_4)P(X_5)T表示之胺基酸序列，其中視情況地，X_1為S、A、T或V；X_2為F、Y或P；X_3為S、N、T或

D；X_4為A、L、V或P；及/或X_5為F或L (SEQ ID NO: 257)。

【第2項】

如請求項1之分離之單株抗體或其抗原結合片段，其中：

i) 該H-CDR1包含在位置X_2之D；

ii) 該H-CDR2包含在位置X_3之S；

iii) 該H-CDR3包含在位置X_2之G，在位置X_3之H；

iv) 該L-CDR2緊接在Y之後；及，

vi) 該L-CDR3包含在位置X_1之T及在位置X_2之Y。

【第3項】

如前述請求項中任一項之分離之單株抗體或其抗原結合片段，其中由該抗體或該其抗原結合片段接觸以下胺基酸殘基：S35、G37、E38、V39、P40、P41、G42、P43、R274、K280及H283，如SEQ ID NO: 24中所示。

【第4項】

如前述請求項中任一項之分離之單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含：

vii) 包含如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 108中所示之胺基酸序列的H-CDR1；

viii) 包含如SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 121中所示之胺基酸序列的H-CDR2；

ix) 包含如SEQ ID NO: 6或SEQ ID NO: 110中所示之胺基酸序列的H-CDR3；

x) 包含如SEQ ID NO: 8或SEQ ID NO: 111中所示之胺基酸序列的

L-CDR1；

xi) 包含如SEQ ID NO: 10或SEQ ID NO: 136中所示之胺基酸序列的L-CDR2；及，

xii) 包含如SEQ ID NO: 12中所示之胺基酸序列的L-CDR3。

【第5項】

一種分離之單株抗體或其抗原結合片段，其特異性結合proTGFβ1複合物，其中該分離之單株抗體或該其抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 13中所示之胺基酸序列具有至少95%一致性之重鏈可變域；及與SEQ ID NO: 15中所示之胺基酸序列具有至少95%一致性之輕鏈可變域。

【第6項】

如請求項5之分離之單株抗體或其抗原結合片段，其中：

i)該重鏈可變域包含如SEQ ID NO: 13中所示之胺基酸殘基D31、A33、S54、Y59、S101、G102、H103及W104，及

ii)該輕鏈可變域包含如SEQ ID NO: 15中所示之胺基酸殘基Y32、Y49、T91及Y92。

【第7項】

如前述請求項中任一項之分離之單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體為人類IgG4或IgG1亞型(subtype)。

【第8項】

如前述請求項中任一項之分離之單株抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或該抗原結合片段抑制各proTGFβ1複合物釋放成熟TGFβ1生長因子，但不會抑制proTGFβ2或proTGFβ3複合物釋放成熟TGFβ1生長因子。

【第9項】

如前述請求項中任一項之分離之單株抗體或其抗原結合片段，其中如基於細胞之效能分析法所量測，該抗體或該抗原結合片段以≤ 5 nM之IC_{50}抑制以下各proTGFβ1複合物釋放成熟生長因子：

a) 人類LTBP1-proTGFβ1複合物；

b) 人類LTBP3-proTGFβ1複合物；

c) 人類GARP-proTGFβ1複合物；及，

d) 人類LRRC33-proTGFβ1複合物。

【第10項】

一種組合物，其包含如前述請求項中任一項之分離之單株抗體或抗原結合片段及醫藥學上可接受之賦形劑。

【第11項】

一種如請求項1至9中任一項之分離之單株抗體或其抗原結合片段之用途，其係用於製造供治療TGFβ1相關適應症之藥劑。

【第12項】

如請求項1至9中任一項之分離之單株抗體或其抗原結合片段或如請求項10之組合物，其用於治療個體之TGFβ1相關適應症。

【第13項】

如請求項11所使用之分離之單株抗體或其抗原結合片段，其中該TGFβ1相關適應症為纖維變性病症或癌症。

【第14項】

如請求項13所使用之分離之單株抗體或其抗原結合片段，其中該纖維變性病症為器官纖維化，其中視情況地該器官纖維化係選自由以下組成之群：腎纖維化、肝纖維化、肺纖維化、心臟纖維化、胰臟纖維化、皮膚

纖維化、硬皮病、肌肉纖維化、子宮纖維化及子宮內膜異位，且其中進一步視情況地該器官纖維化為晚期器官纖維化。

【第15項】

如請求項14所使用之分離之單株抗體或其抗原結合片段，其中該肺纖維化為特發性肺纖維化(IPF)。

【第16項】

如請求項14所使用之分離之單株抗體或其抗原結合片段，其中該個體患有慢性腎病(CKD)。

【第17項】

如請求項14所使用之分離之單株抗體或其抗原結合片段，其中該個體患有非酒精性脂肪變性肝炎(steatohepatitis)(NASH)或非酒精性脂肪肝病(NAFLD)。

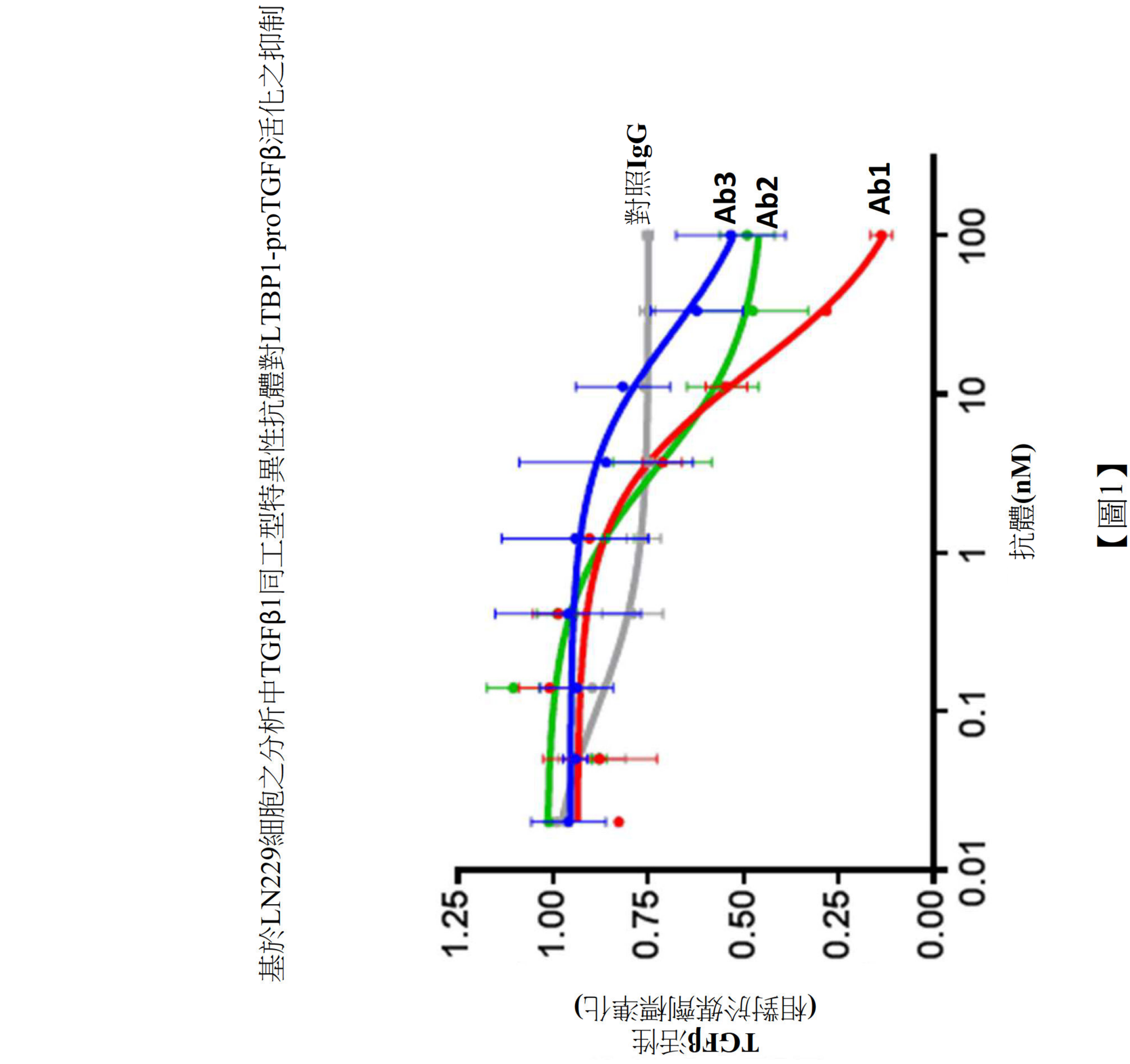
【第18項】

如請求項13所使用之分離之單株抗體或其抗原結合片段，其中該TGFβ1相關適應症為包含慢性發炎之纖維變性病症，其中視情況地該病症為肌肉萎縮症、多發性硬化(MS)或囊腫性纖維化(CF)。

【第19項】

如請求項13至18中任一項所使用之分離之單株抗體或其抗原結合片段，其中該個體用第二療法進一步治療，其中視情況地該第二療法包含TGFβ3抑制劑。

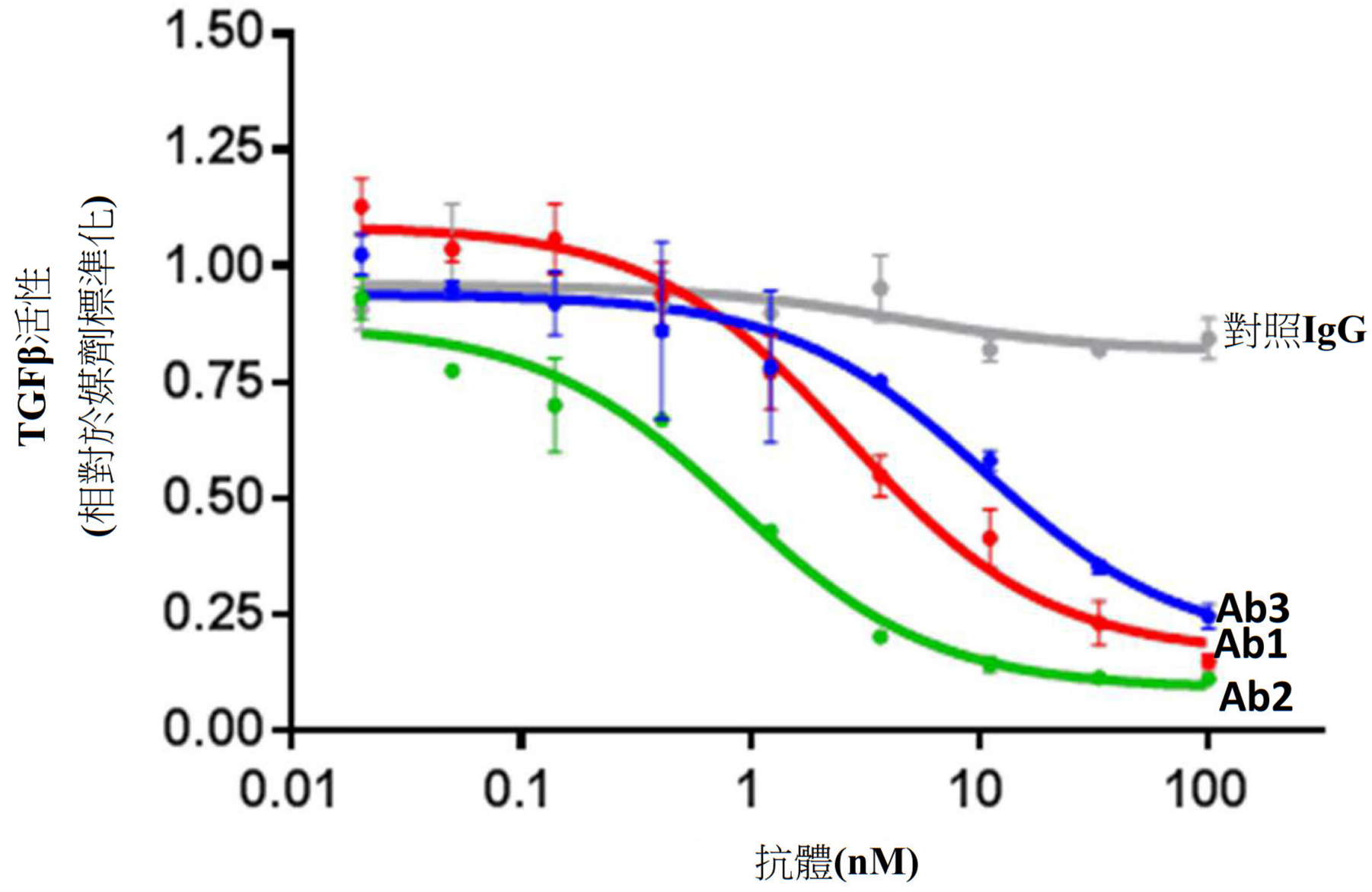
【發明圖式】



【圖1】

基於LN229細胞之分析中TGFβ1同工型特異性抗體對LTBP1-proTGFβ活化之抑制

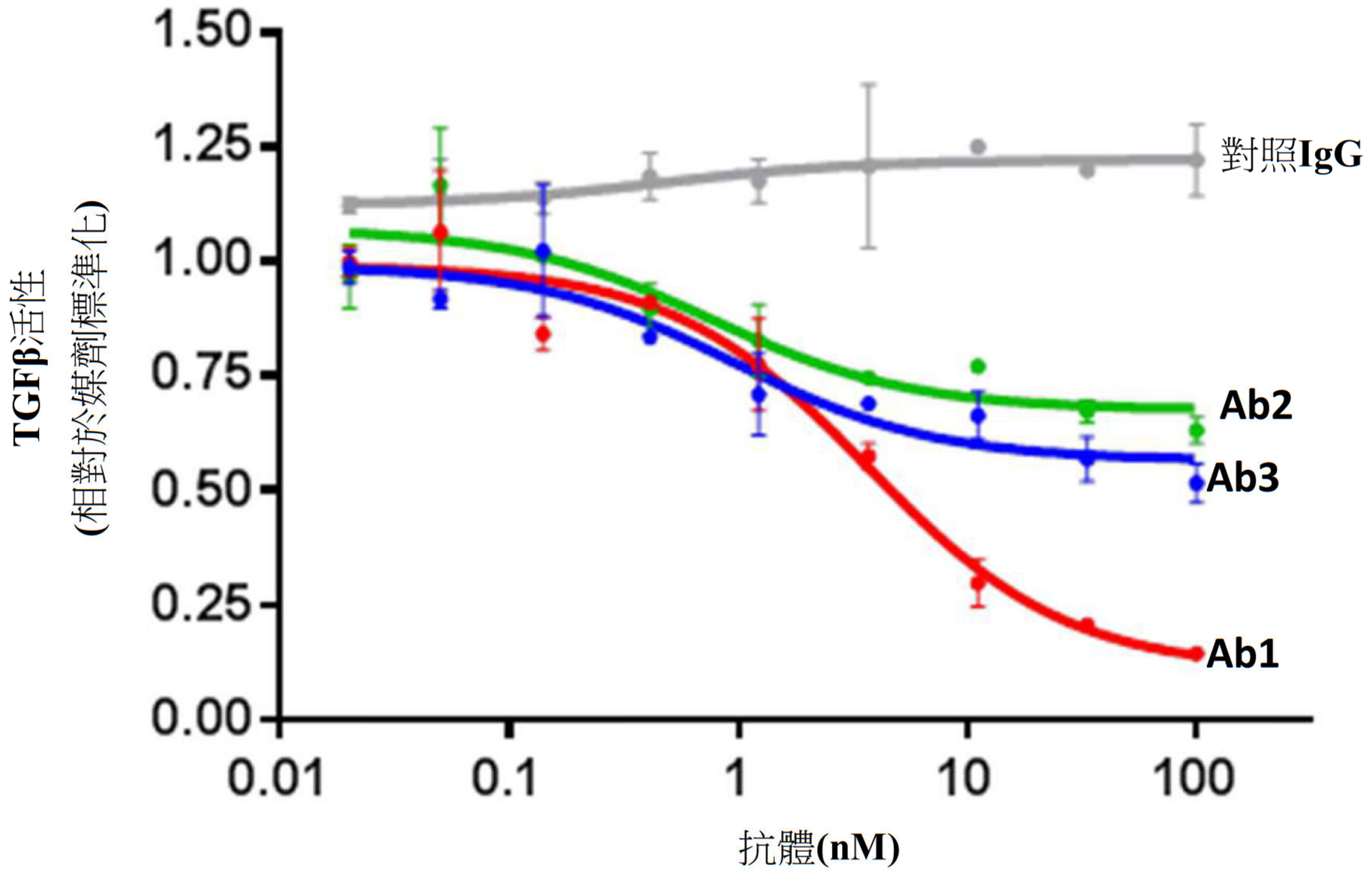
基於LN229細胞之分析中TGFβ1同工型特異性抗體對LTBP3-proTGFβ1活化之抑制



【圖2】

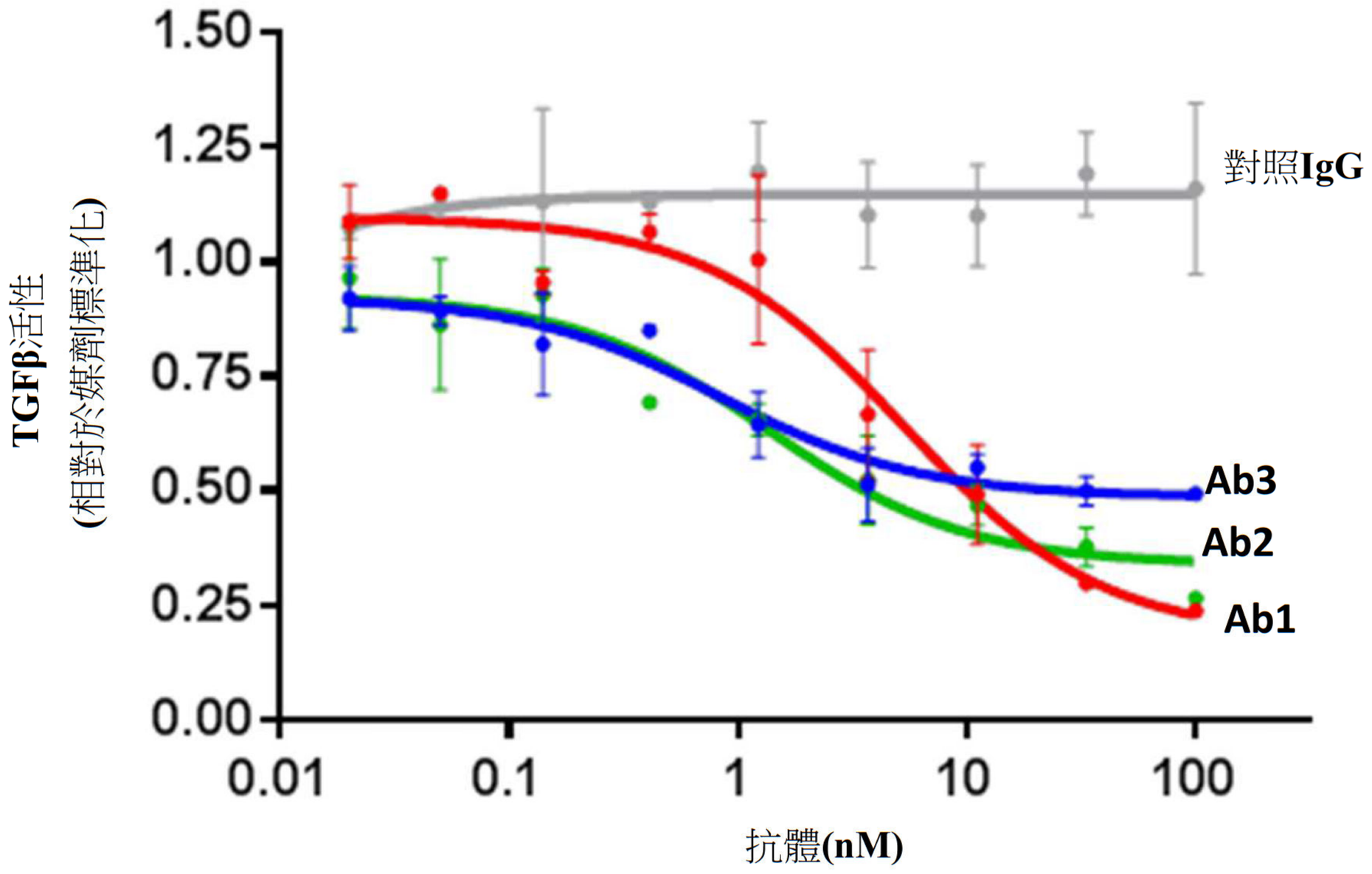
202019957

基於SW480β6細胞之分析中TGFβ1同工型特異性抗體對GARP-proTGFβ1活化之抑制



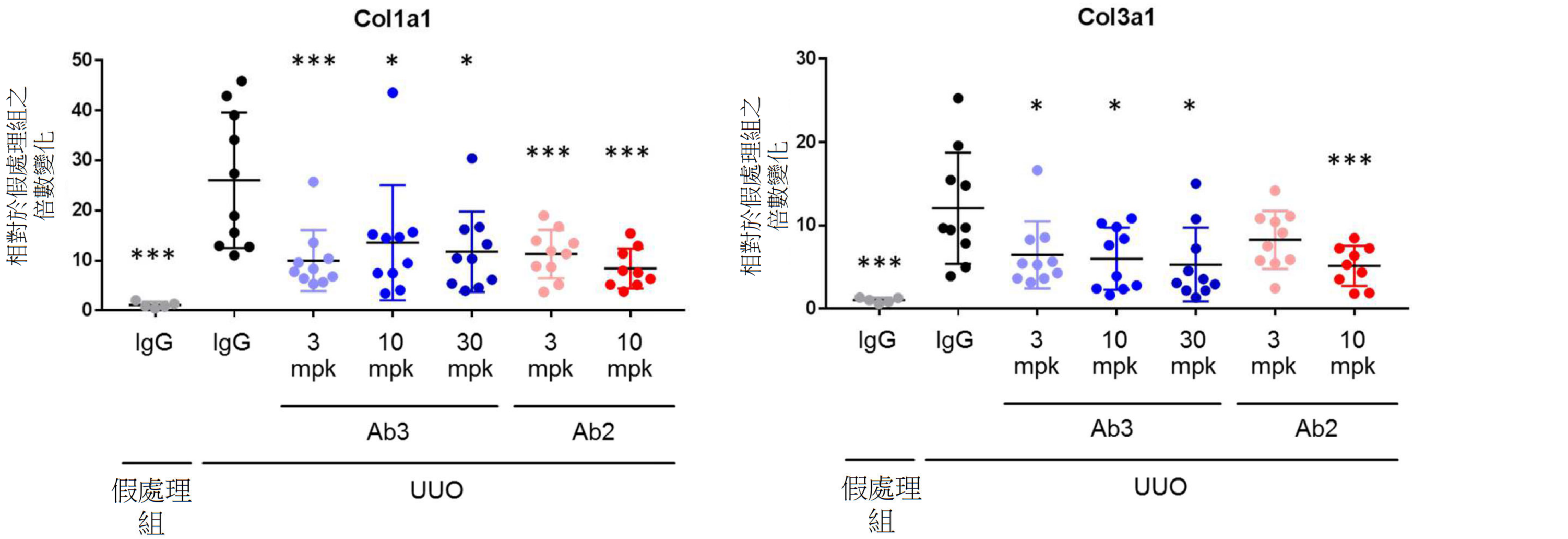
【圖3】

基於SW480β6細胞之分析中TGFβ1同工型特異性抗體對LRRC33-proTGFβ1活化之抑制



【圖4】

UUO小鼠模型中TGFβ1同工型特異性抗體對膠原蛋白基因表現之抑制



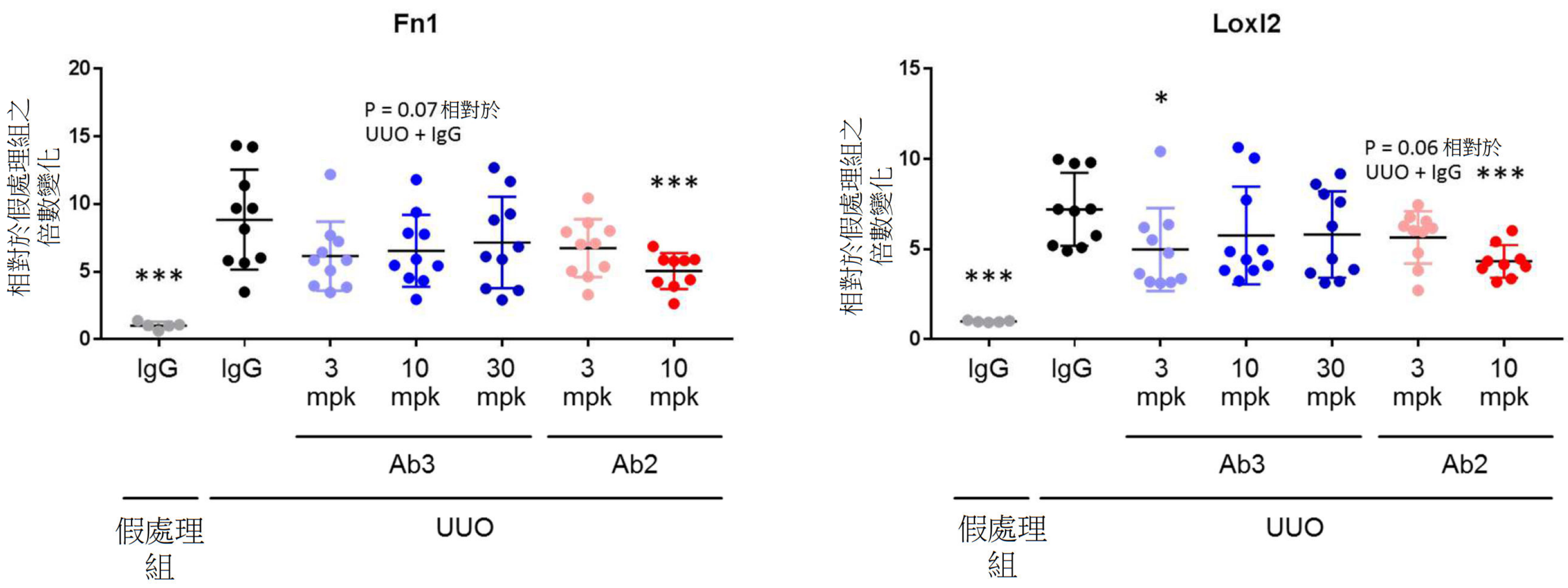
* P<0.05 相對於UUO + IgG

** P<0.01 相對於UUO + IgG

*** P<0.005 相對於UUO + IgG

【圖5A】

UUO小鼠模型中TGFβ1同工型特異性抗體對纖維結合蛋白及Loxl2基因表現之抑制

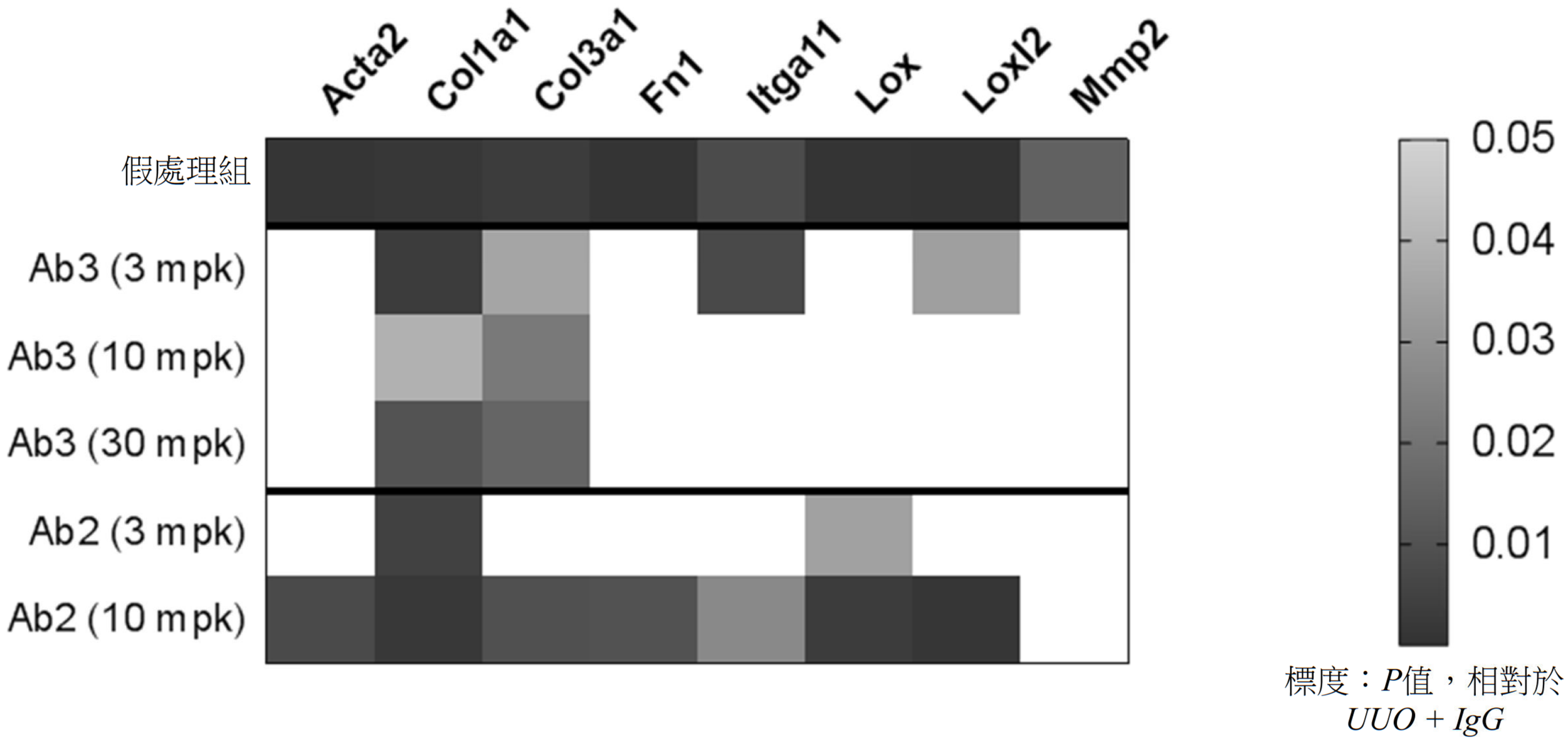


* P<0.05 相對於UUO + IgG
** P<0.01 相對於UUO + IgG
*** P<0.005 相對於UUO + IgG

【圖5B】

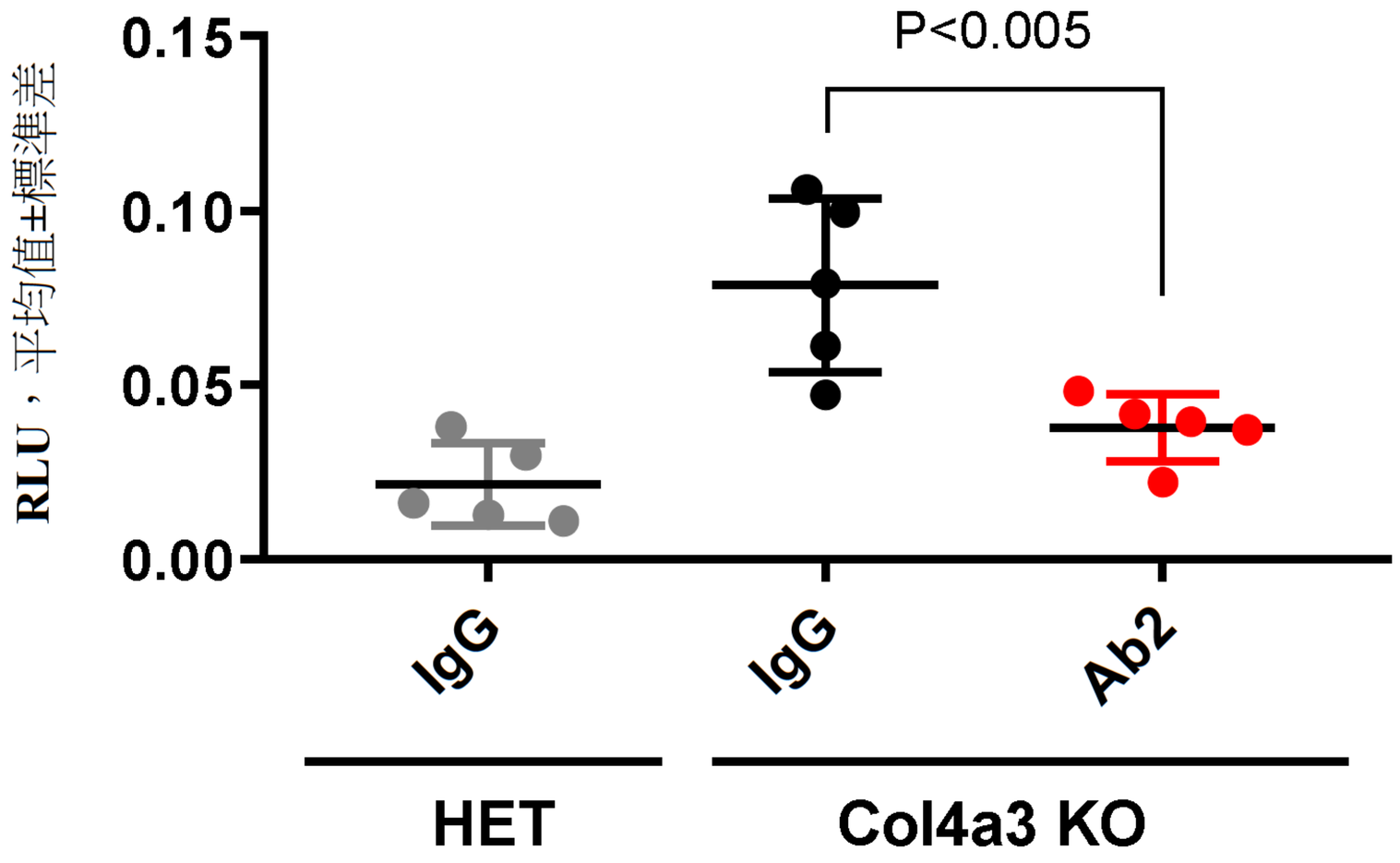
202019957

UUO小鼠模型中相對於單獨IgG之基因表現變化的統計顯著性



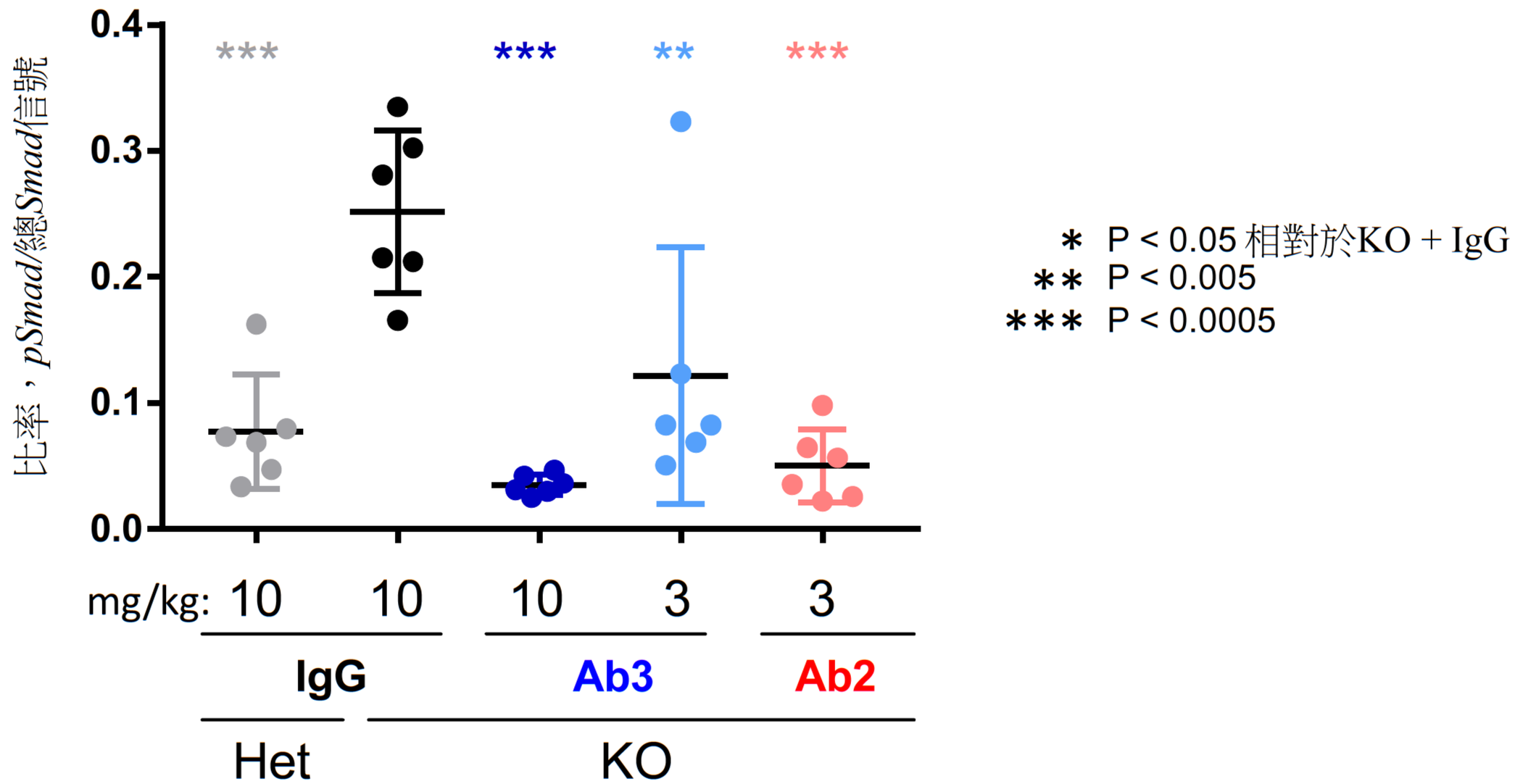
【圖6】

Ab2之單一劑量(10 mg/kg，投藥後48小時)抑制來自9週大Col4a3 KO小鼠之腎臟中的pSmad2/3



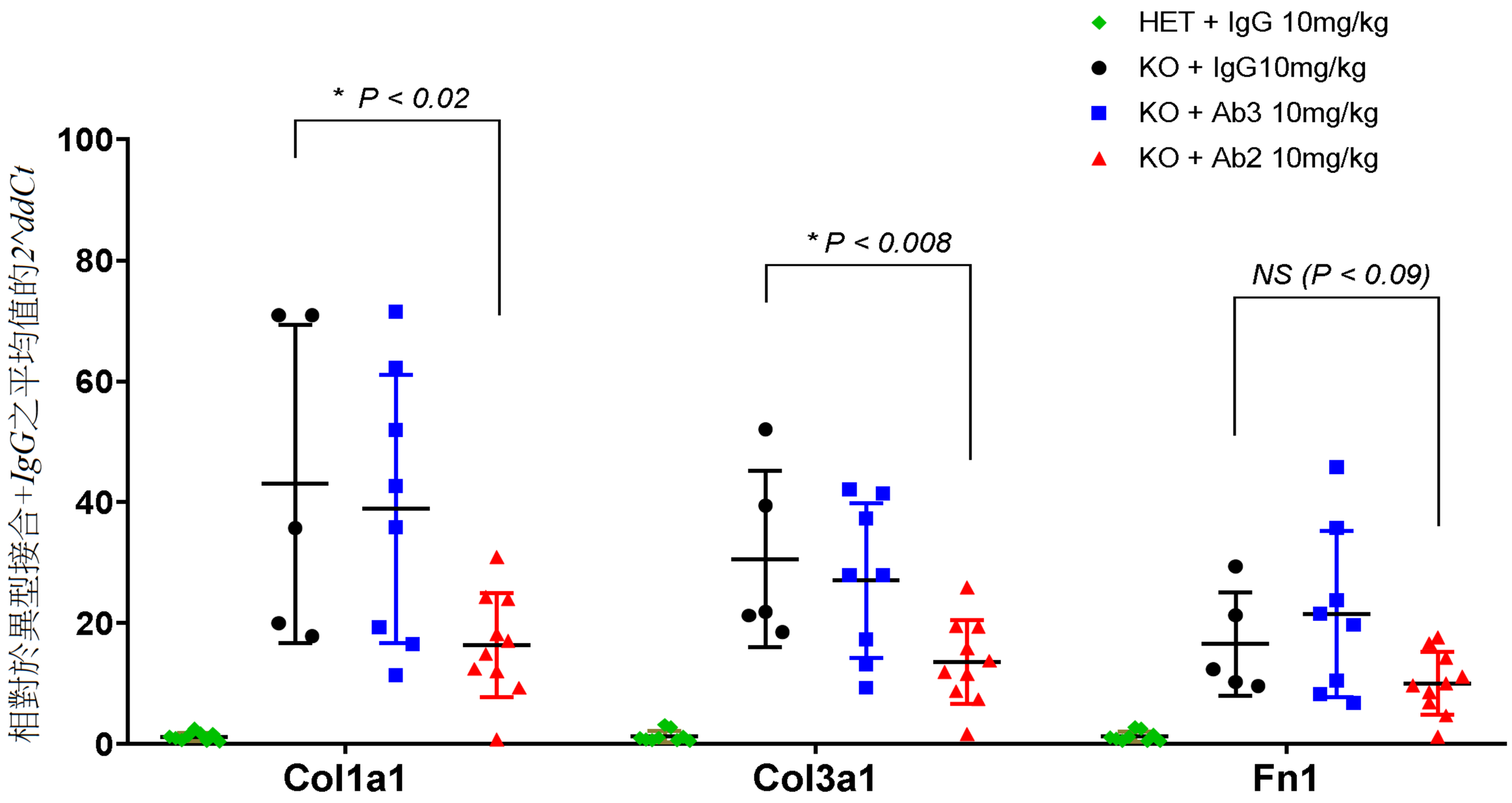
【圖7A】

TGFβ1同工型特異性抗體對奧爾波特症候群之
遺傳模型中之pSmad2/3的影響



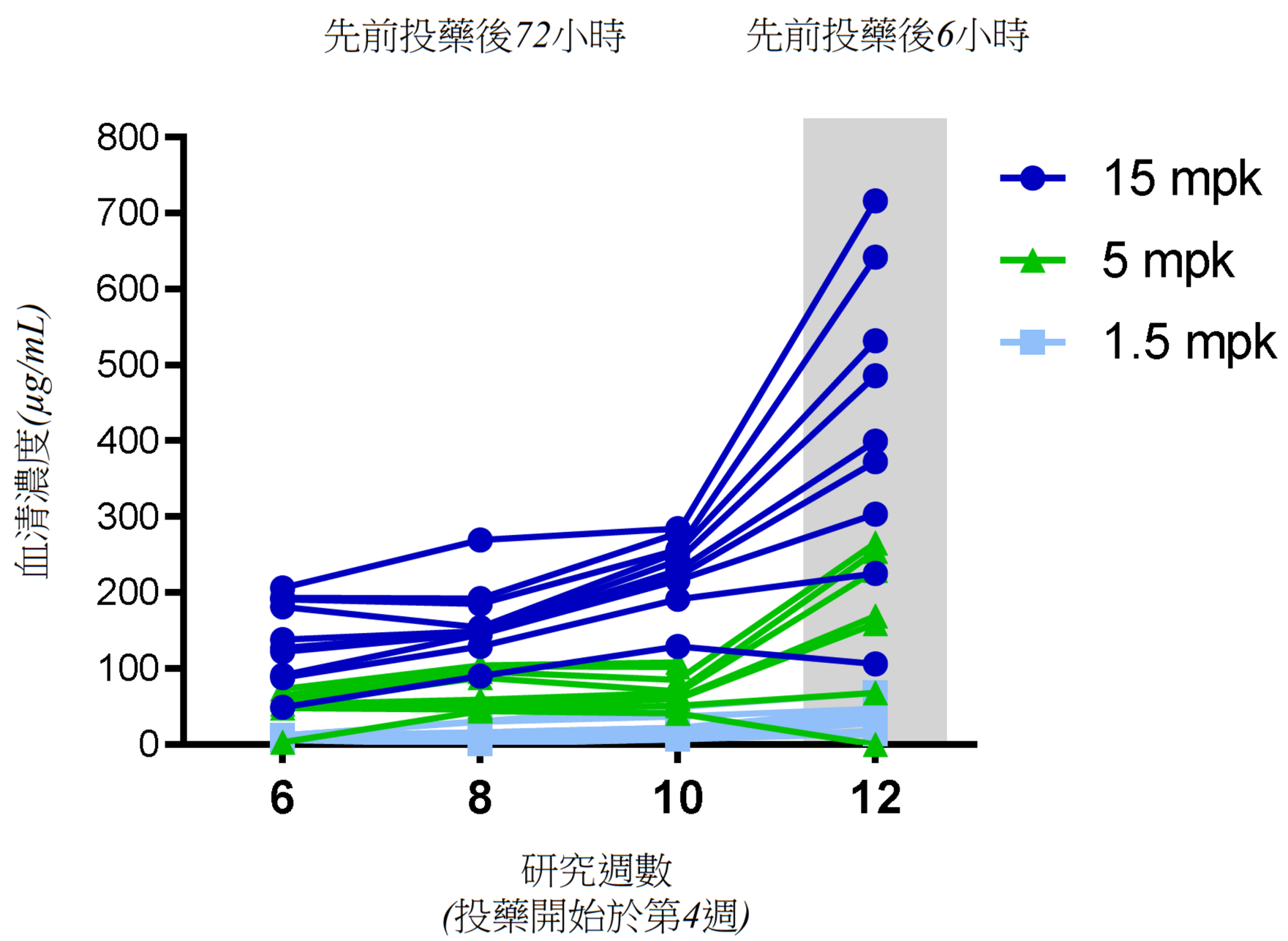
【圖7B】

TGFβ1同工型特異性抗體對奧爾波特症候群之遺傳模型中之纖維變性基因表現的影響



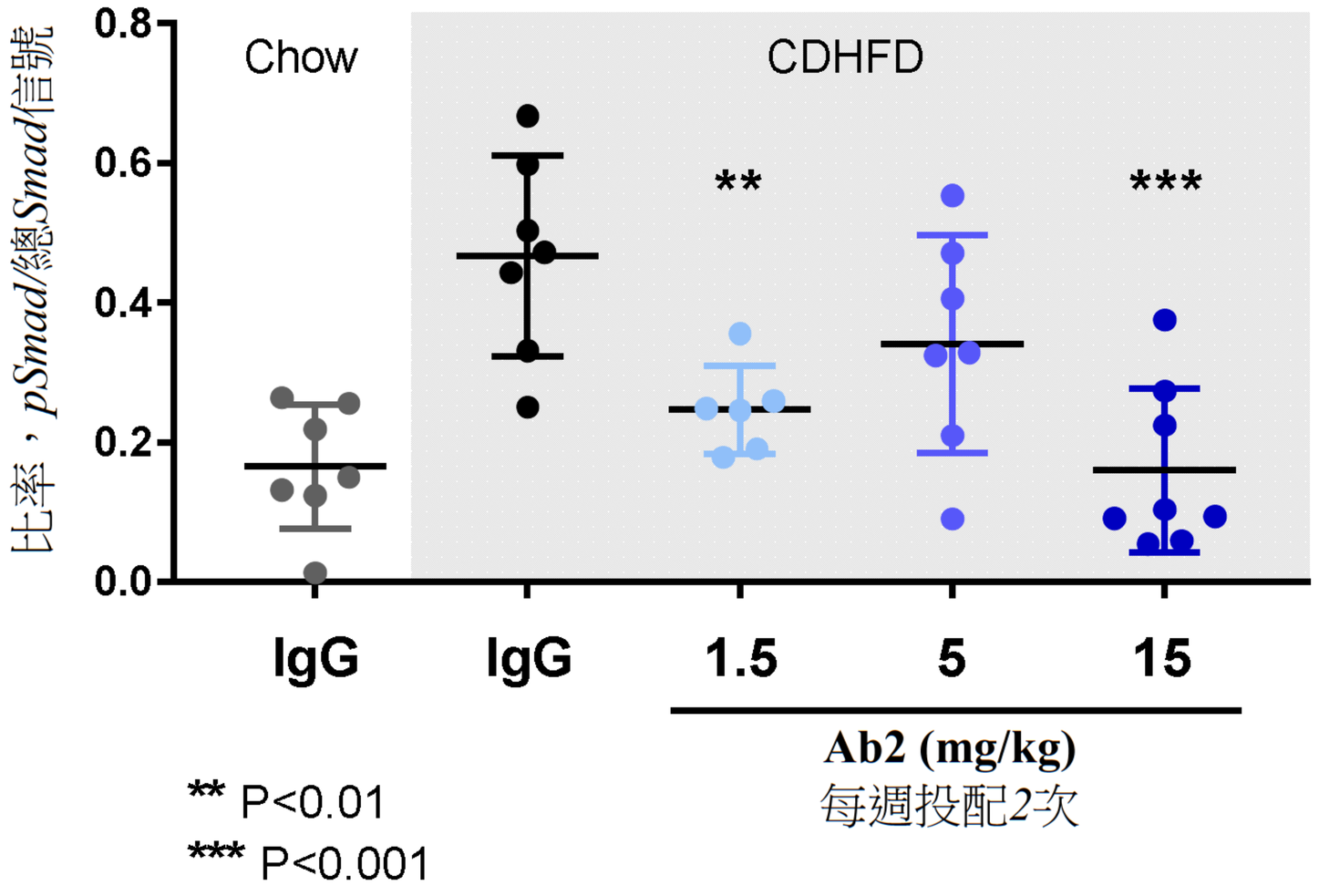
【圖7C】

小鼠*NASH*之*CDHFD*模型中的*Ab2*血清暴露量



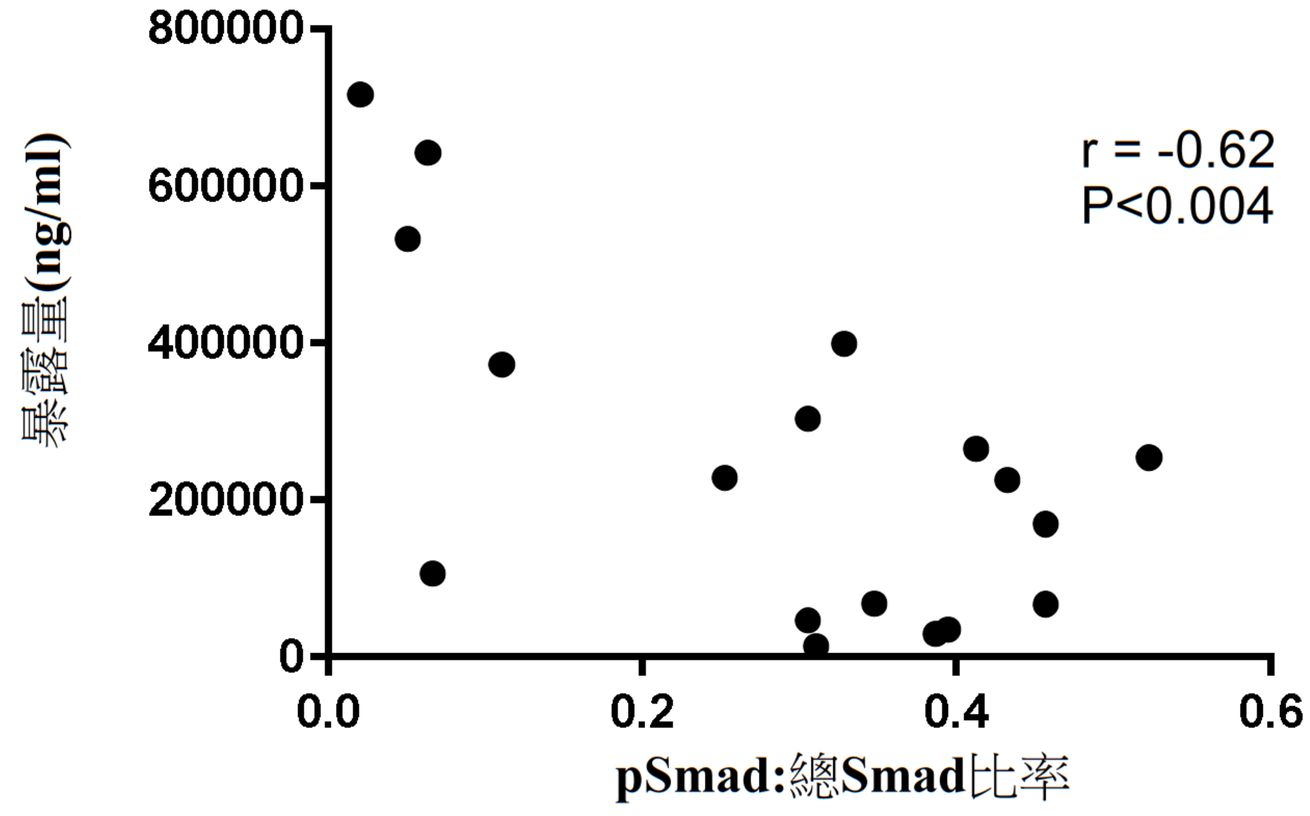
【圖8A】

*Ab2*抑制來自經*CDHFD*處理之小鼠之肝臟組織中的*Smad2/3*磷酸化



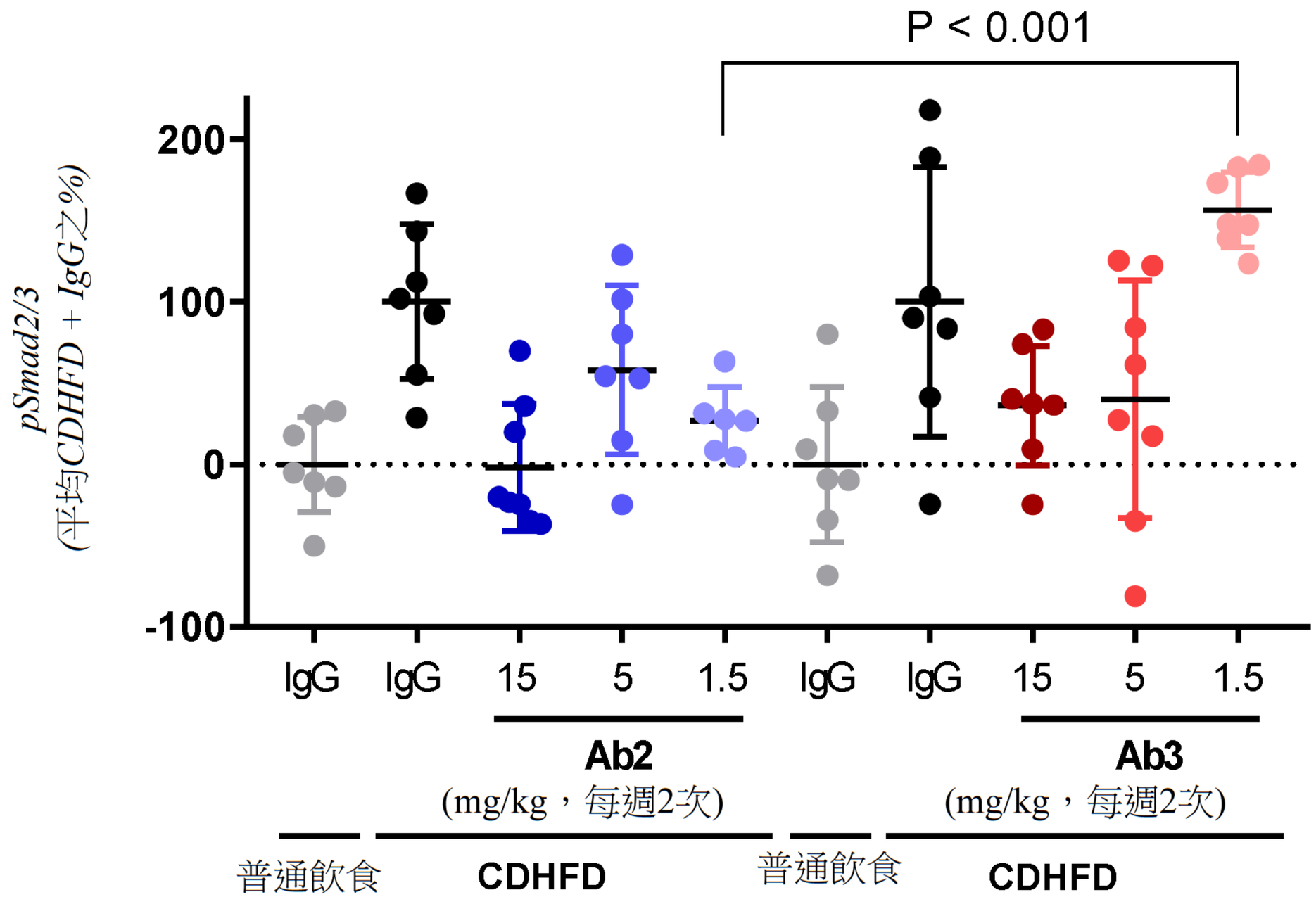
【圖8B】

經*Ab2*投配之*CDHFD*小鼠中的肝臟*pSmad*與指標暴露量的相關性



【圖8C】

TGFb1抑制對來自CDHFD小鼠模型之肝臟中之pSMAD的影響



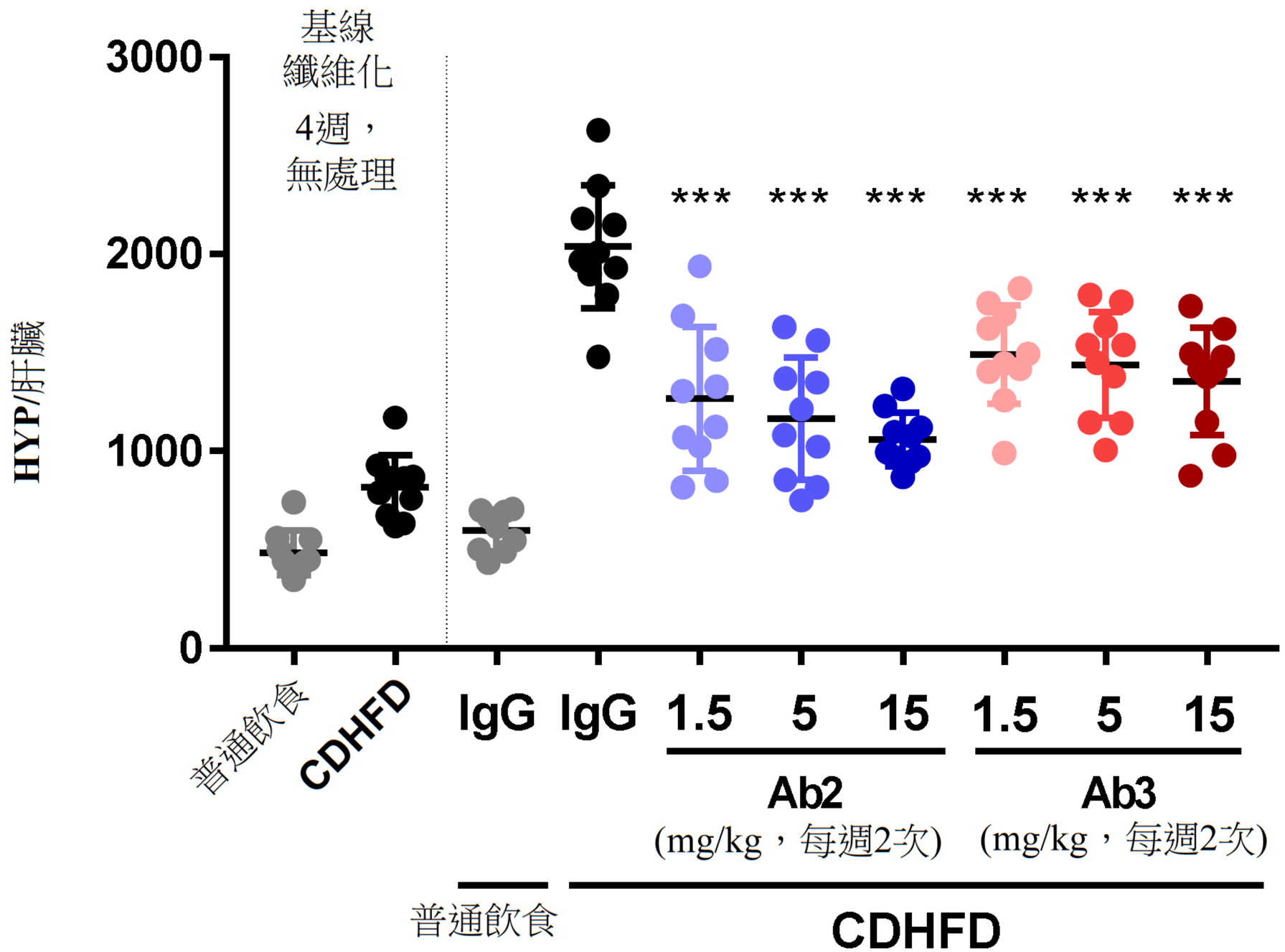
為了允許直接比較來自Ab2與Ab3樣本之資料，
藉由以下方程式標準化資料：

$$\frac{\text{樣本} - \text{平均}_{\text{普通飲食+IgG}}}{\text{平均}_{\text{CDHFD+IgG}} - \text{平均}_{\text{普通飲食+IgG}}} * 100$$

【圖8D】

TGFβ1抑制對小鼠CDHFD模型中之肝纖維化之影響

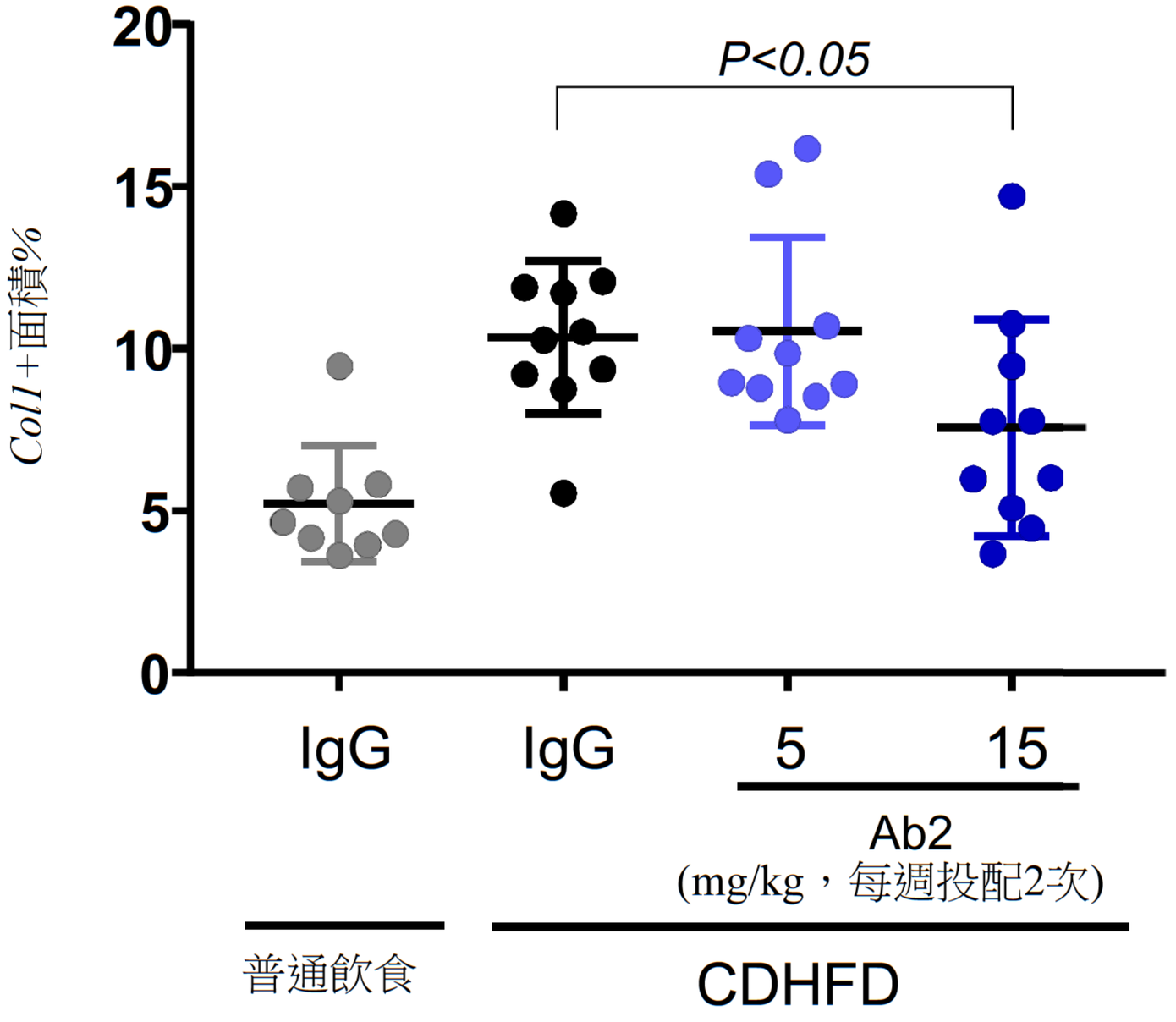
羥脯胺酸染色-肝臟組織



*** P<0.0001 相對於CDHFD + IgG

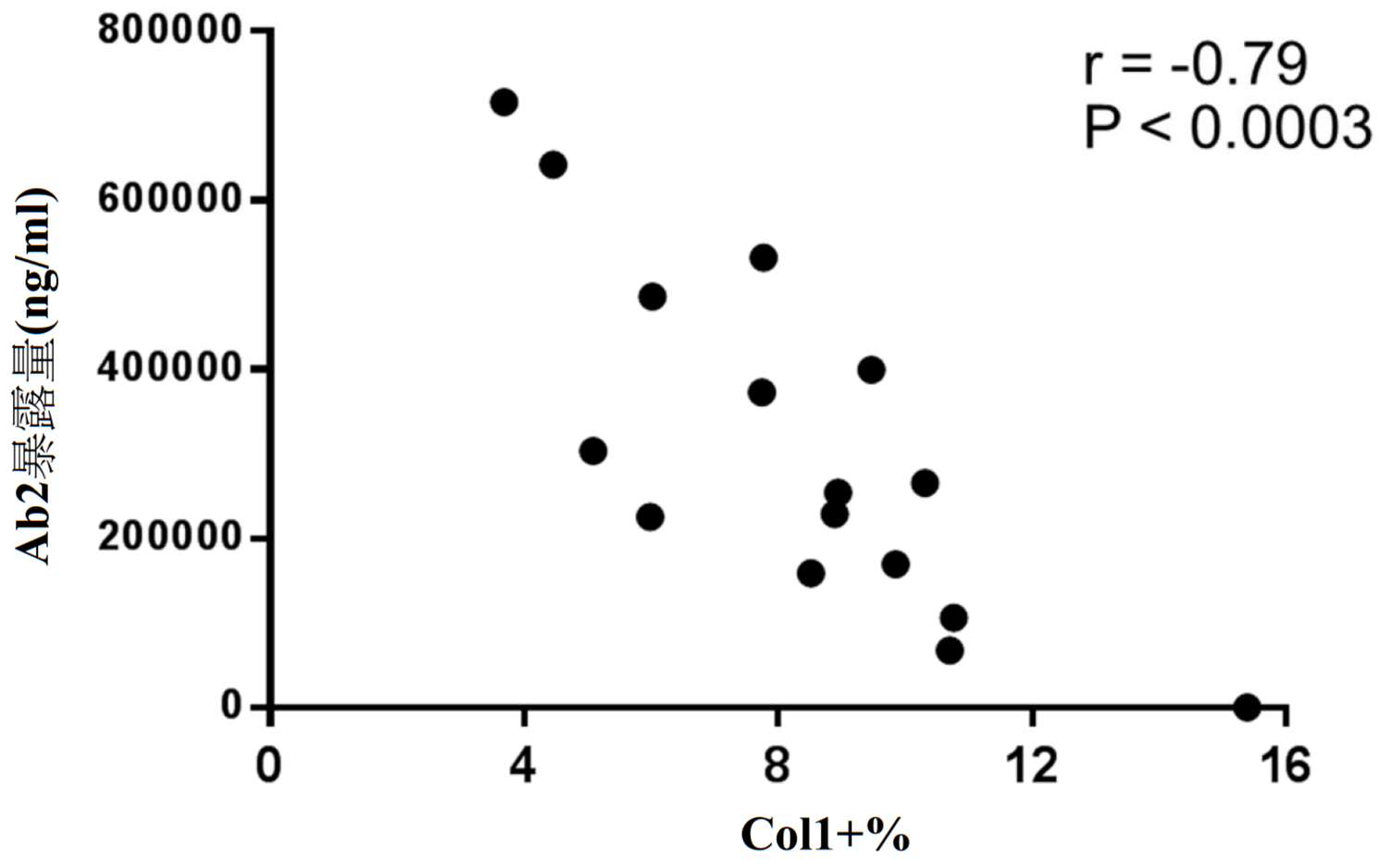
【圖8E】

來自經Ab2處理之小鼠的肝臟切片 中的α-Col1 IHC定量

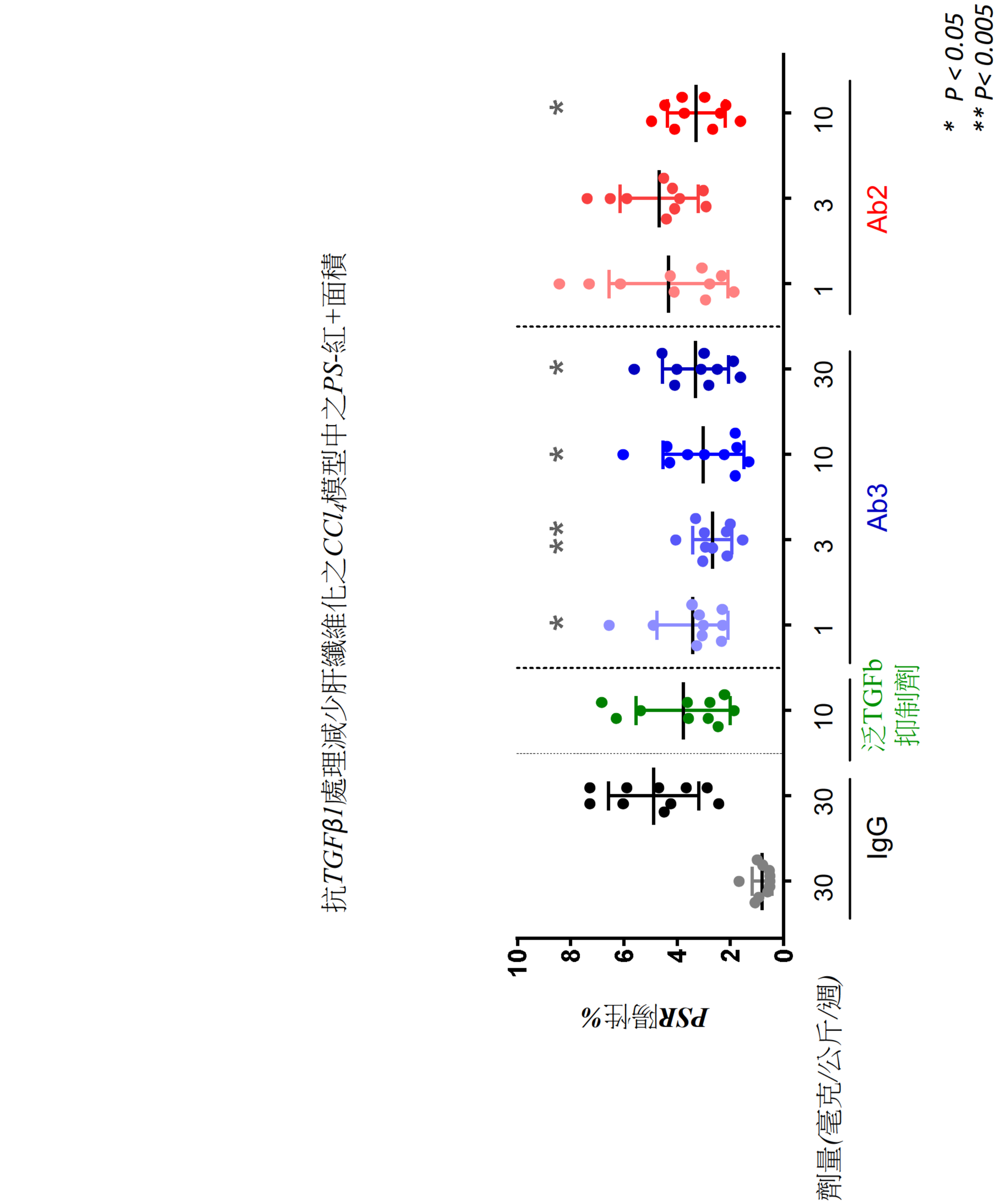


【圖8F】

肝臟組織中Ab2血清暴露量與Col1+面積之相關性

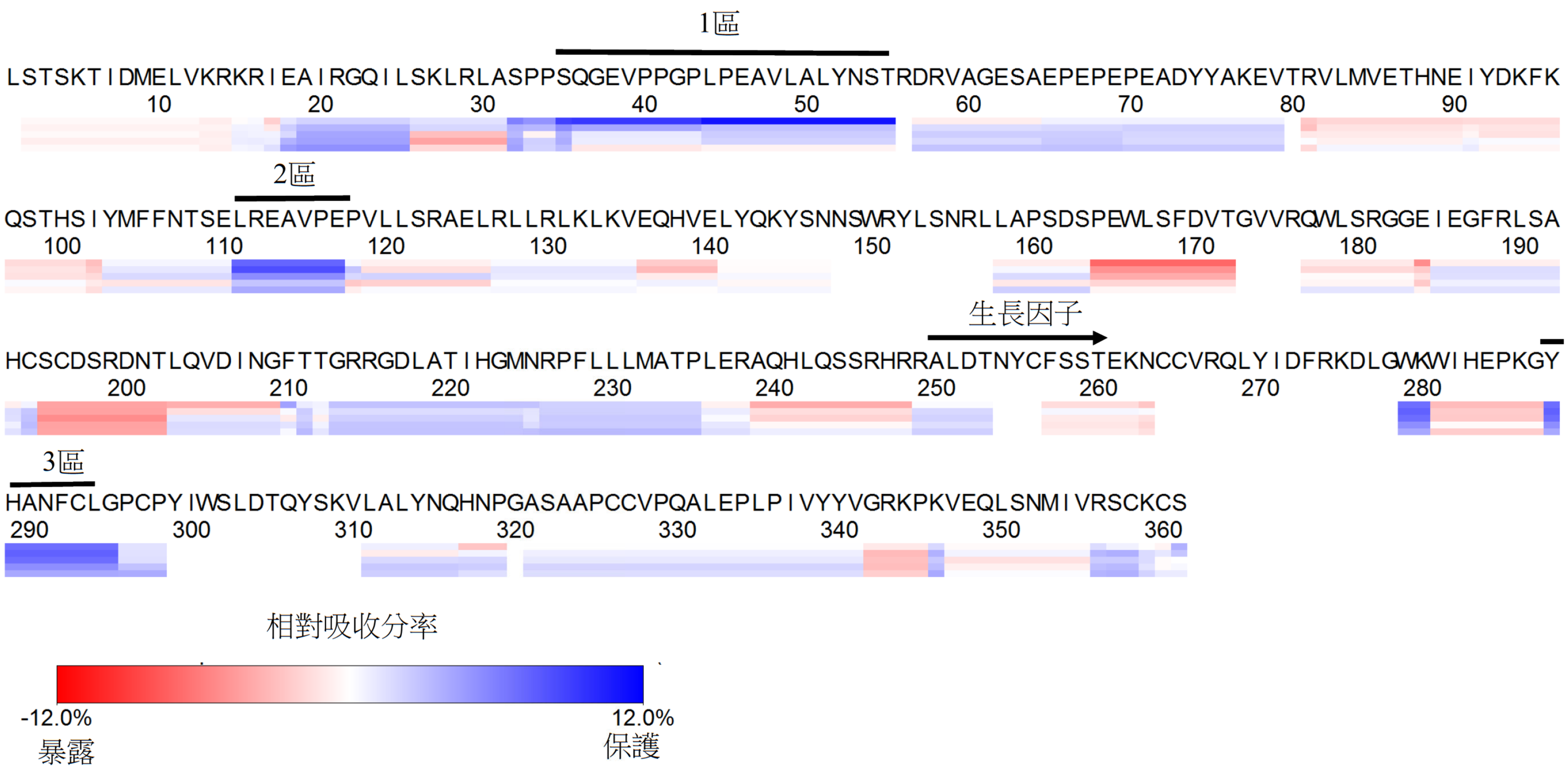


【圖8G】


抗TGFβ1處理減少肝纖維化之CCl4模型中之PS-紅+面積
PSR陽性%
劑量(毫克/公斤/週)
IgG
泛TGFb
抑制劑
Ab3
Ab2
1
3
10
30
0
2
4
6
8
10
* P < 0.05
** P< 0.005

【圖9】

Ab3 Fab-proTGFβ1 C4S複合物之HDX-MS熱圖

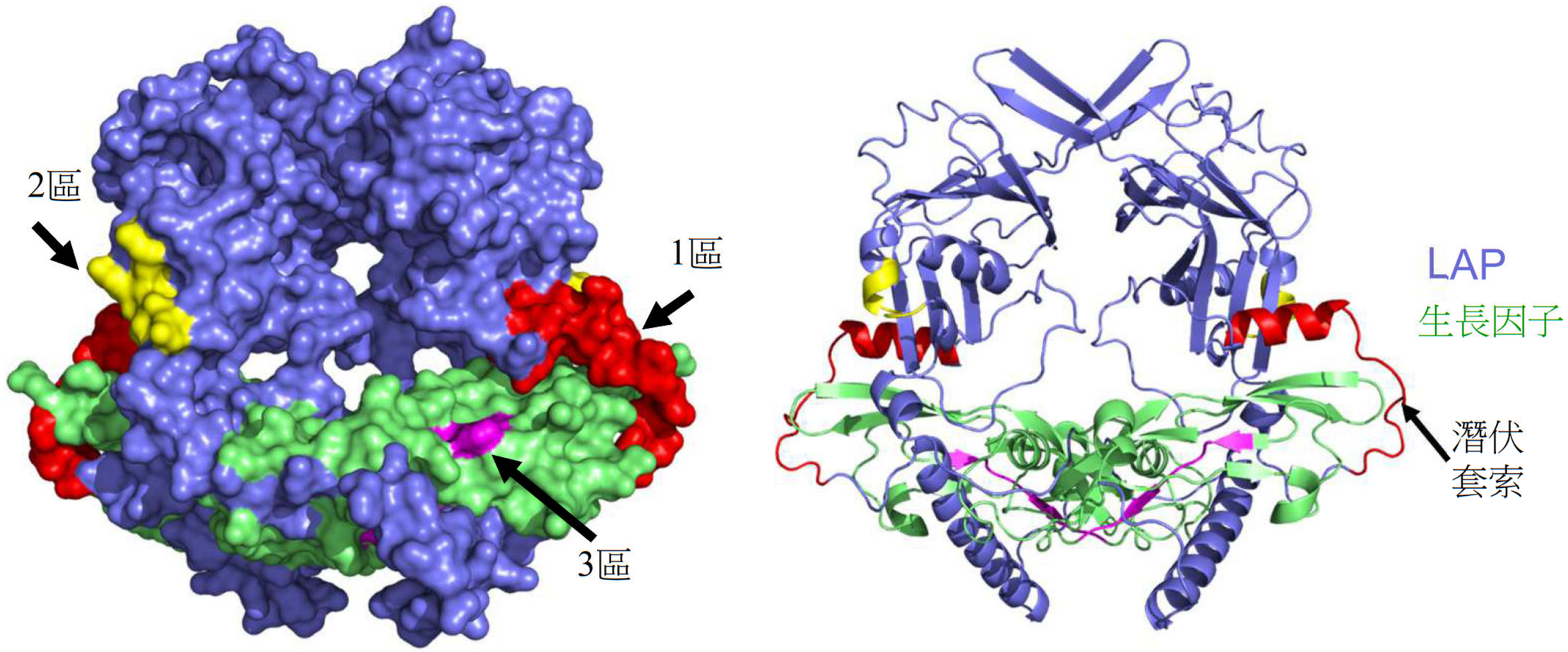


[ProTGFβ1 C4S] - [ProTGFβ1 C4S + Ab3 Fab (1:3)]

Ab3在潛伏套索中以及ProTGFβ1之生長因子區中顯示H/DX保護

【圖10A】

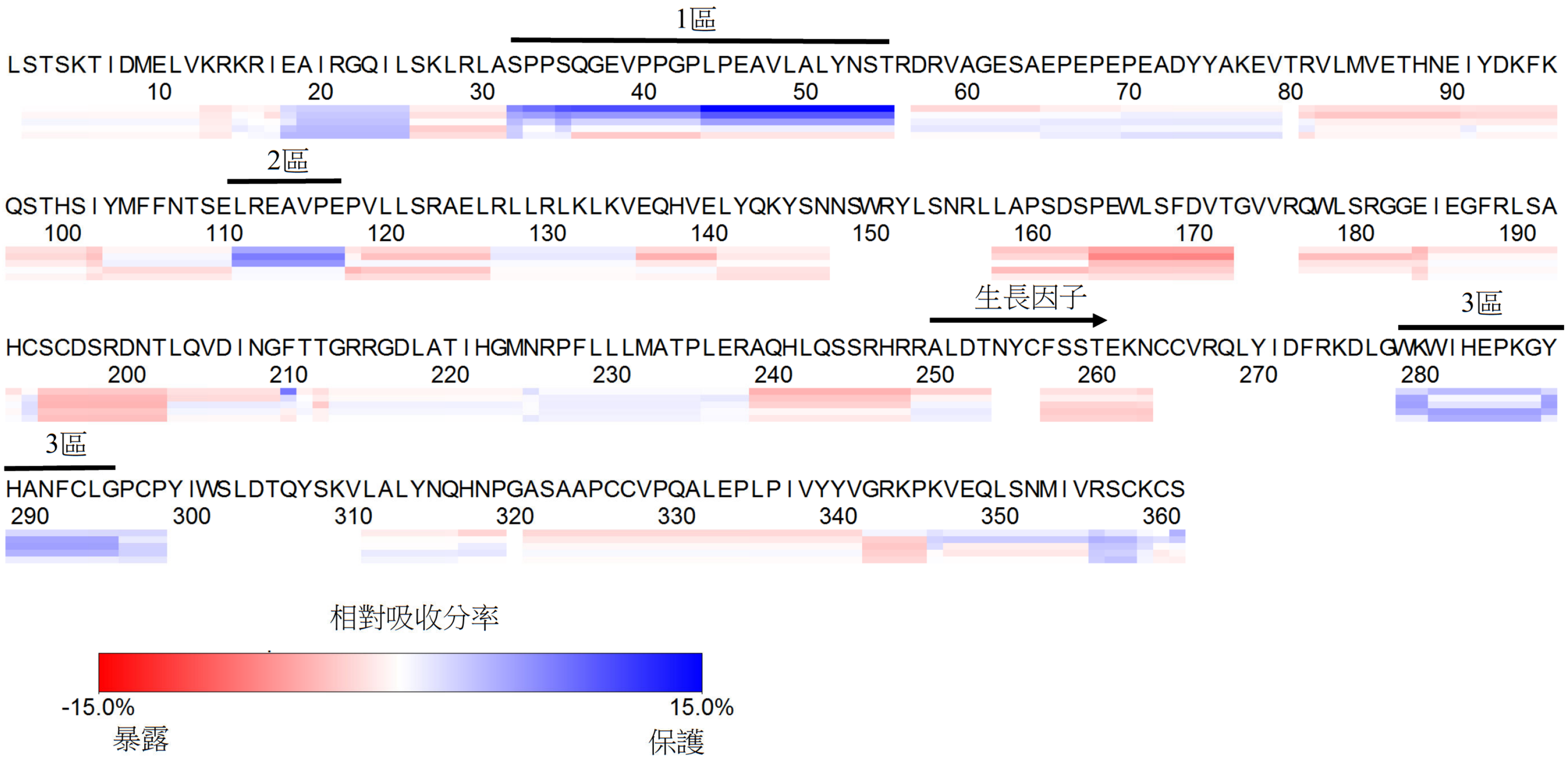
Ab3之受保護區在潛伏套索中顯示高序列差異性



	1區	2區	3區
TGFB1_人類	...SQGEVPPGPLPEAVLALYNST...	...LREAVPE...	...YHANFCLG...
TGFB2_人類	...EDY-PEPEEVPPEVISIYNST...	...ME---KN...	...YNANFCAG...
TGFB3_人類	...EPT-V-MTHVPYQVLALYNST...	...VE---KN...	...YYANFCSG...

【圖10B】

Ab2 Fab-proTGFβ1 C4S複合物之HDX-MS熱圖

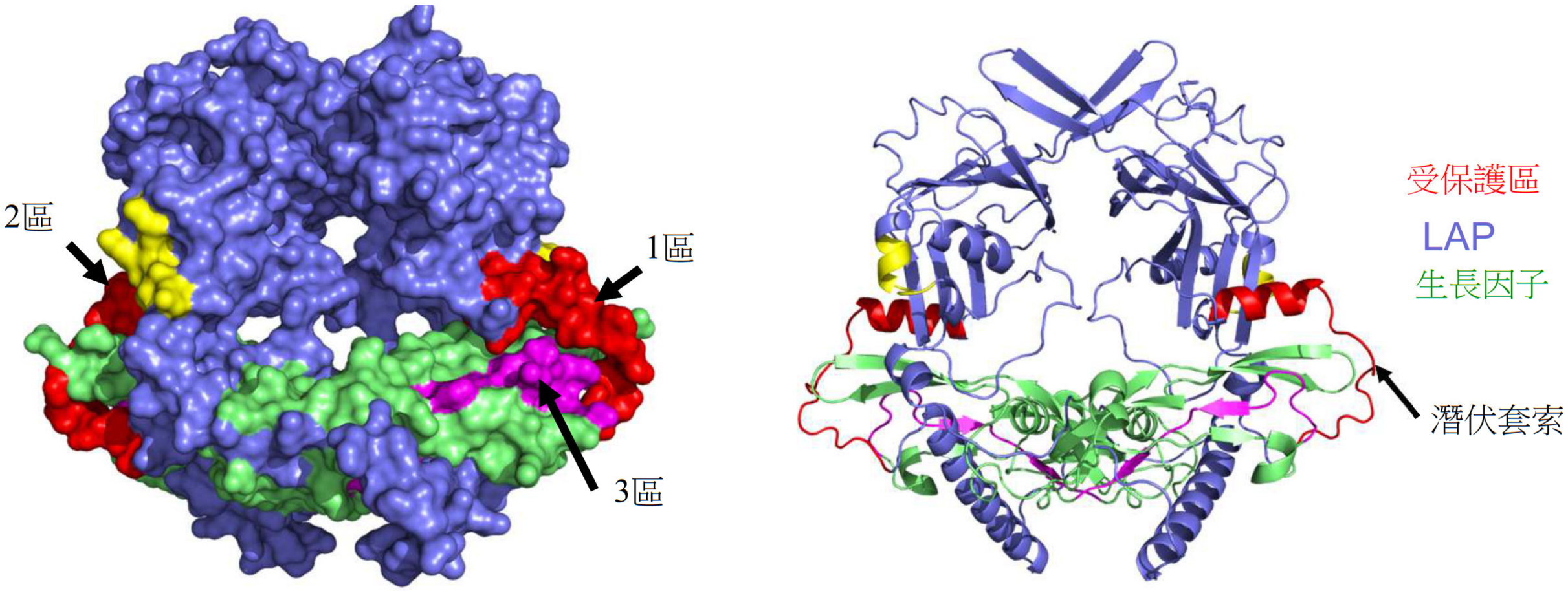


[ProTGFβ1 C4S] - [ProTGFβ1 C4S + Ab2 Fab (1:3)]

Ab2在ProTGFβ1之潛伏套索中顯示H/DX保護

【圖10C】

Ab2之受保護區顯示高序列差異性

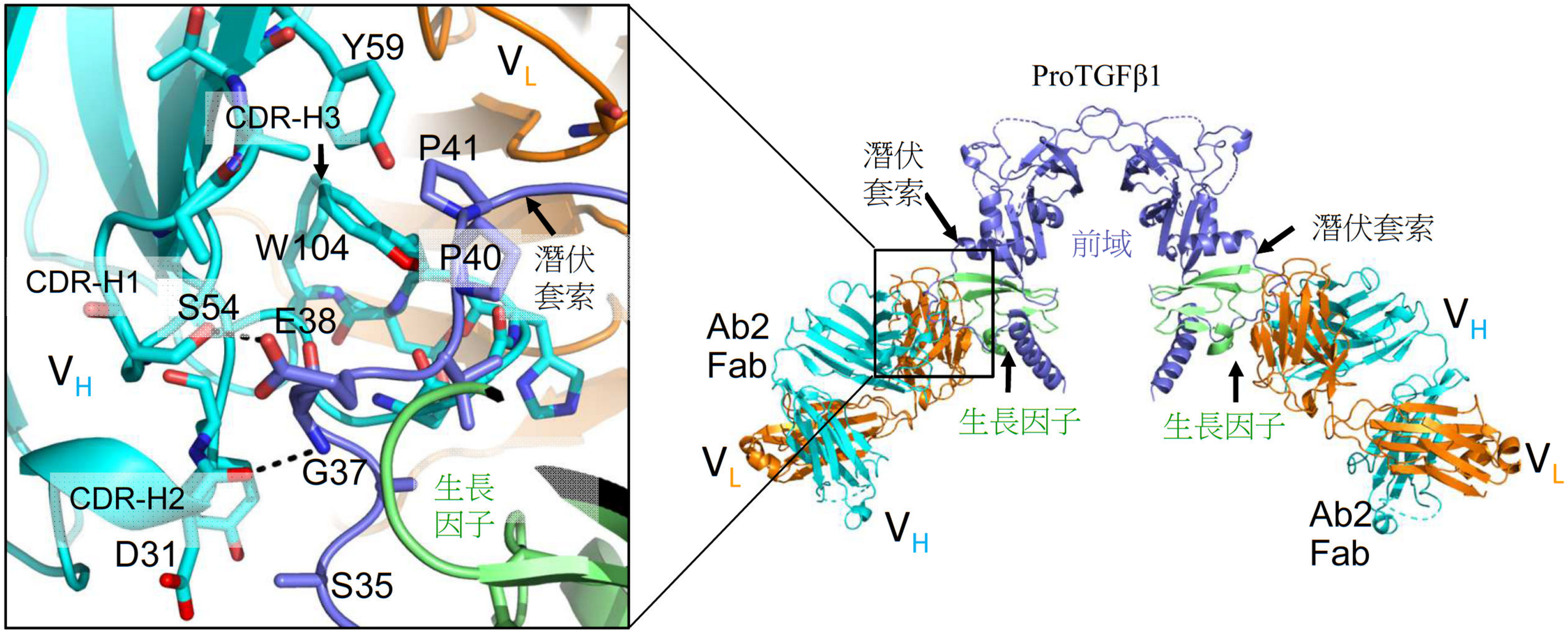


	1區	2區	3區
TGFB1_人類	...SPPSQGEVPPGPLPEAVLALYNST...	...LREAVPE...	...WKWIHEPKGYHANFCLG...
TGFB2_人類	...SPPEDY-PEPEEVPPEVISIYNST...	...ME---KN...	...WKWIHEPKGYNANFCAG...
TGFB3_人類	...SPPEPT-V-MTHVPYQVLALYNST...	...VE---KN...	...WKWvHEPKGYYANFCSG...

【圖10D】

Ab2-Fab/ProTGFβ之複合物之結晶結構

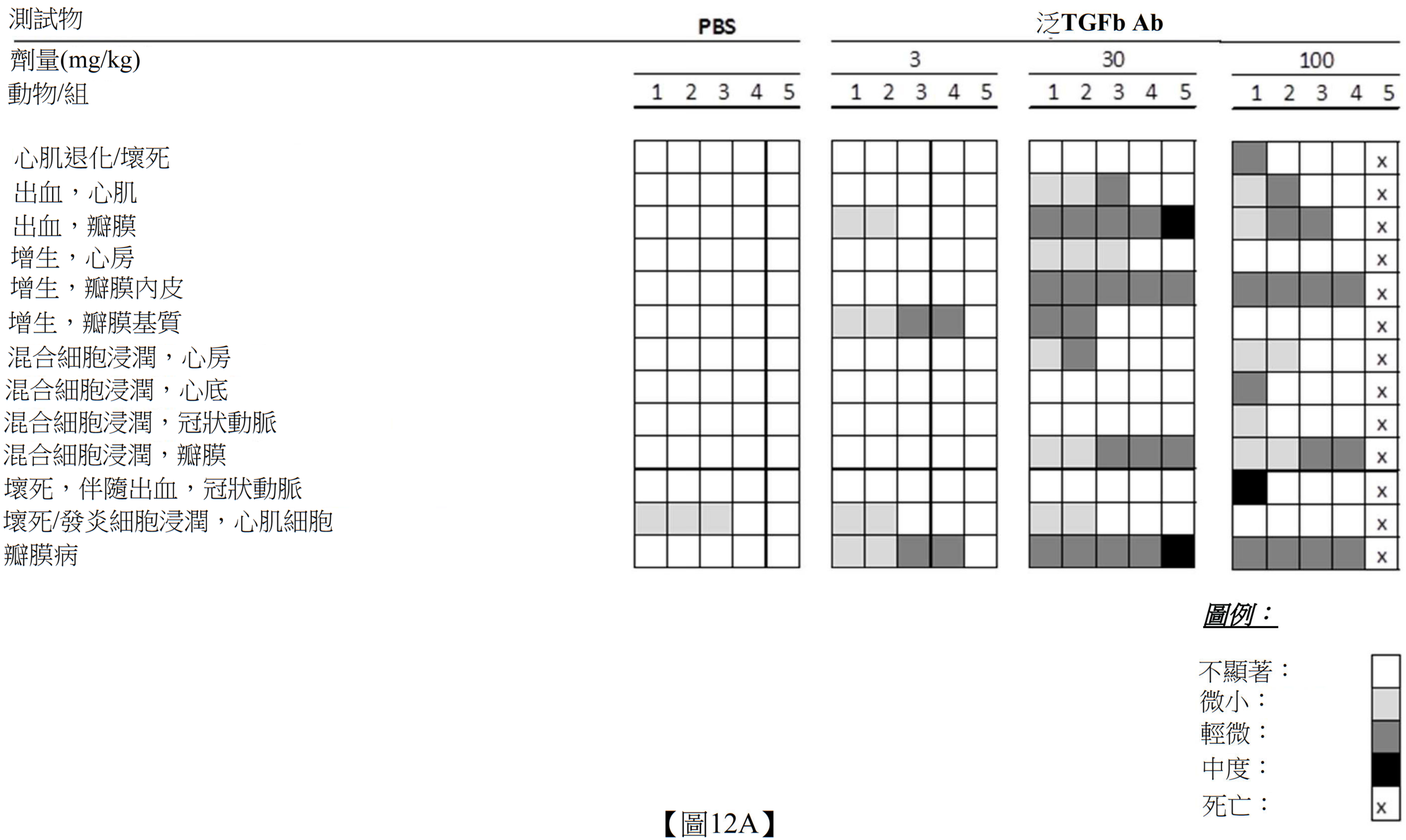
proTGFβ1_人類 ^{27}KLRLASPPSQGEVPPGPLPEAVL^{49}
proTGFβ2_人類 ^{27}KLKLTSPPEDY-PEPEEVPPEVI^{48}
proTGFβ3_人類 ^{27}KLRLTSPPEPT-V-MTHVPYQVL^{47}



【圖11】

來自在費雪_344大鼠中進行之1週安全性研究的泛TGFβ抗體資料

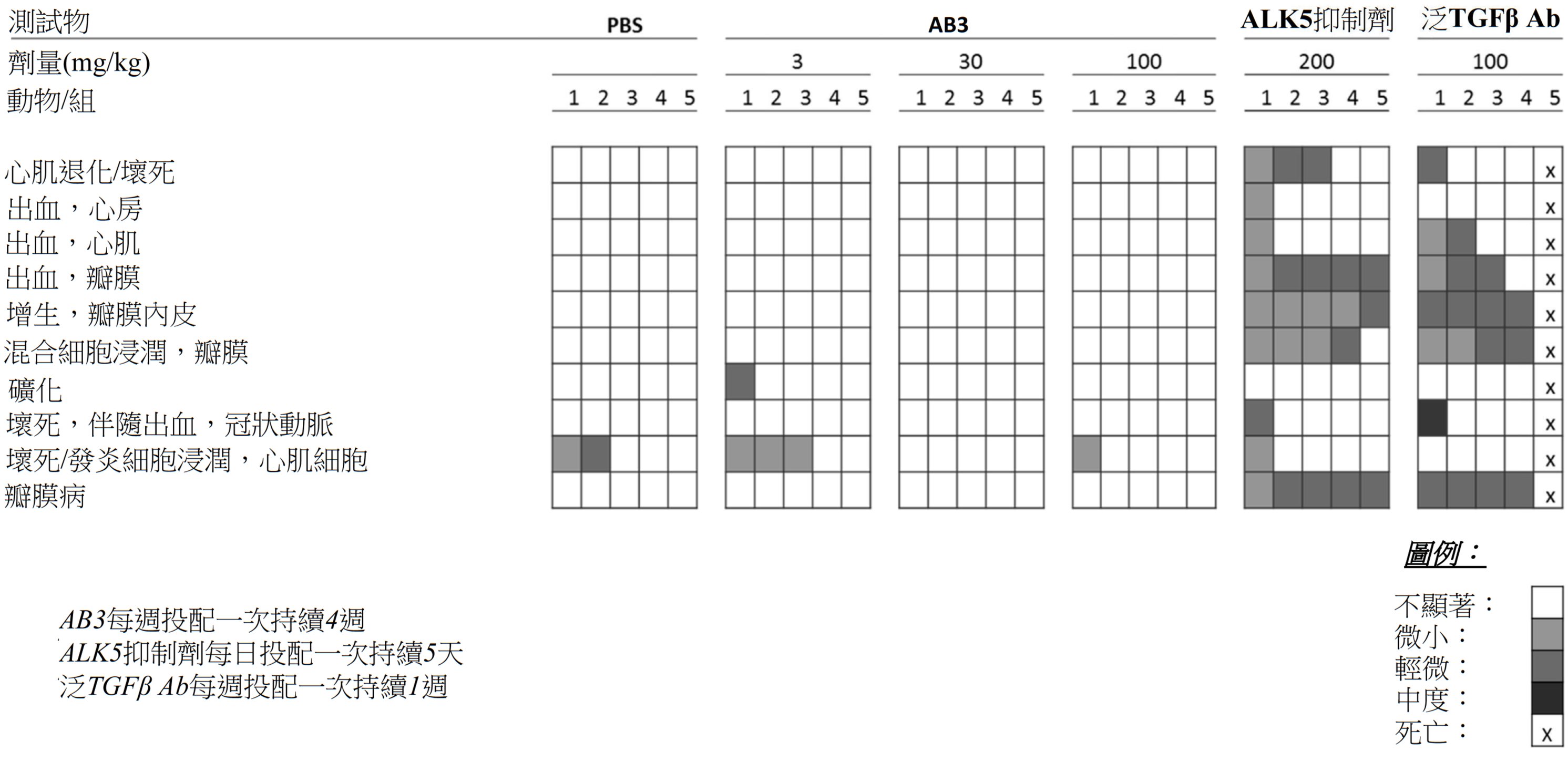
心臟實例，微觀結果



【圖12A】

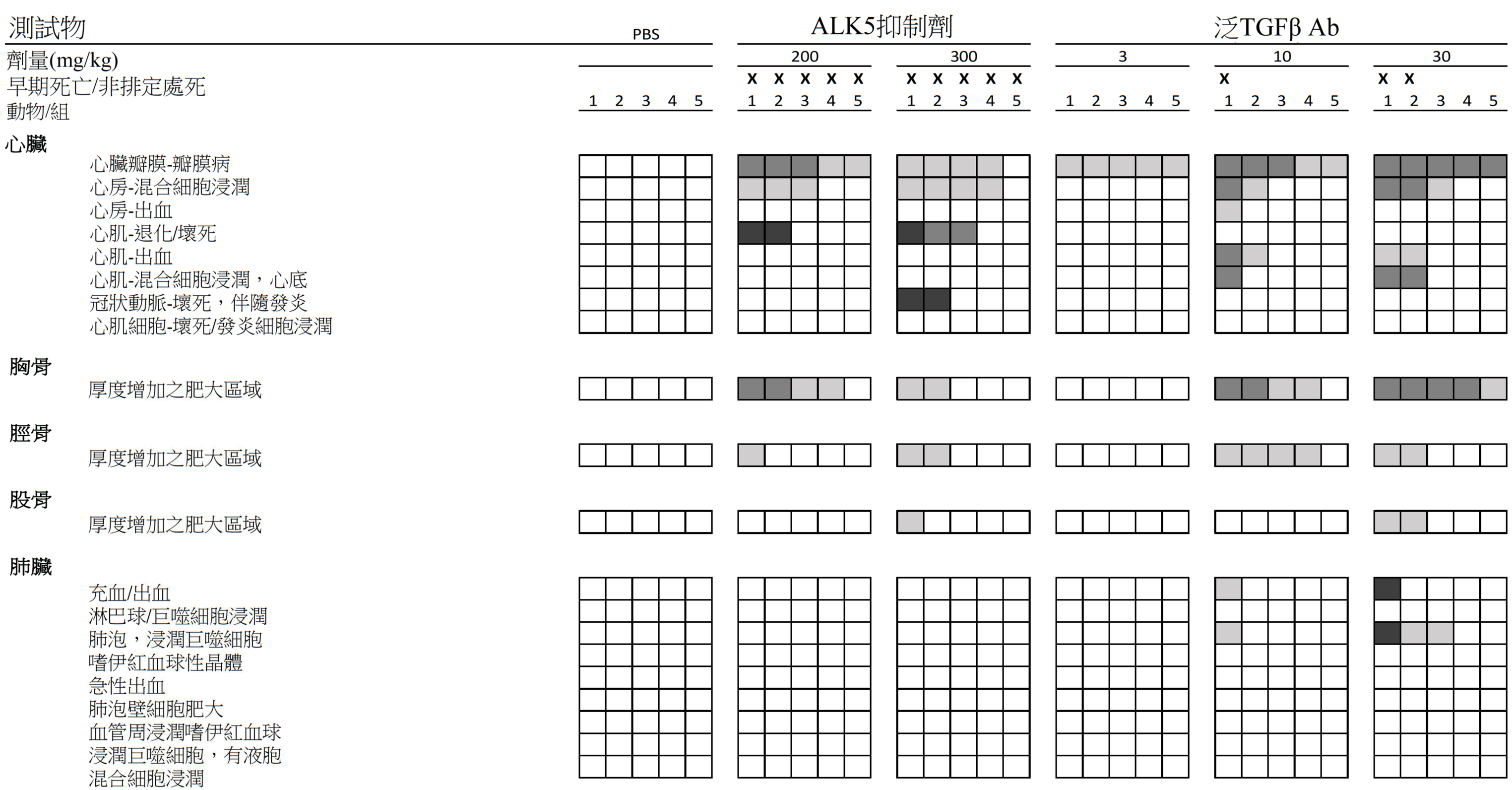
來自在費雪_344大鼠中進行之4週大鼠毒理學安全性研究的TGFβ抗體(Ab3)資料

心臟病理學，微觀結果



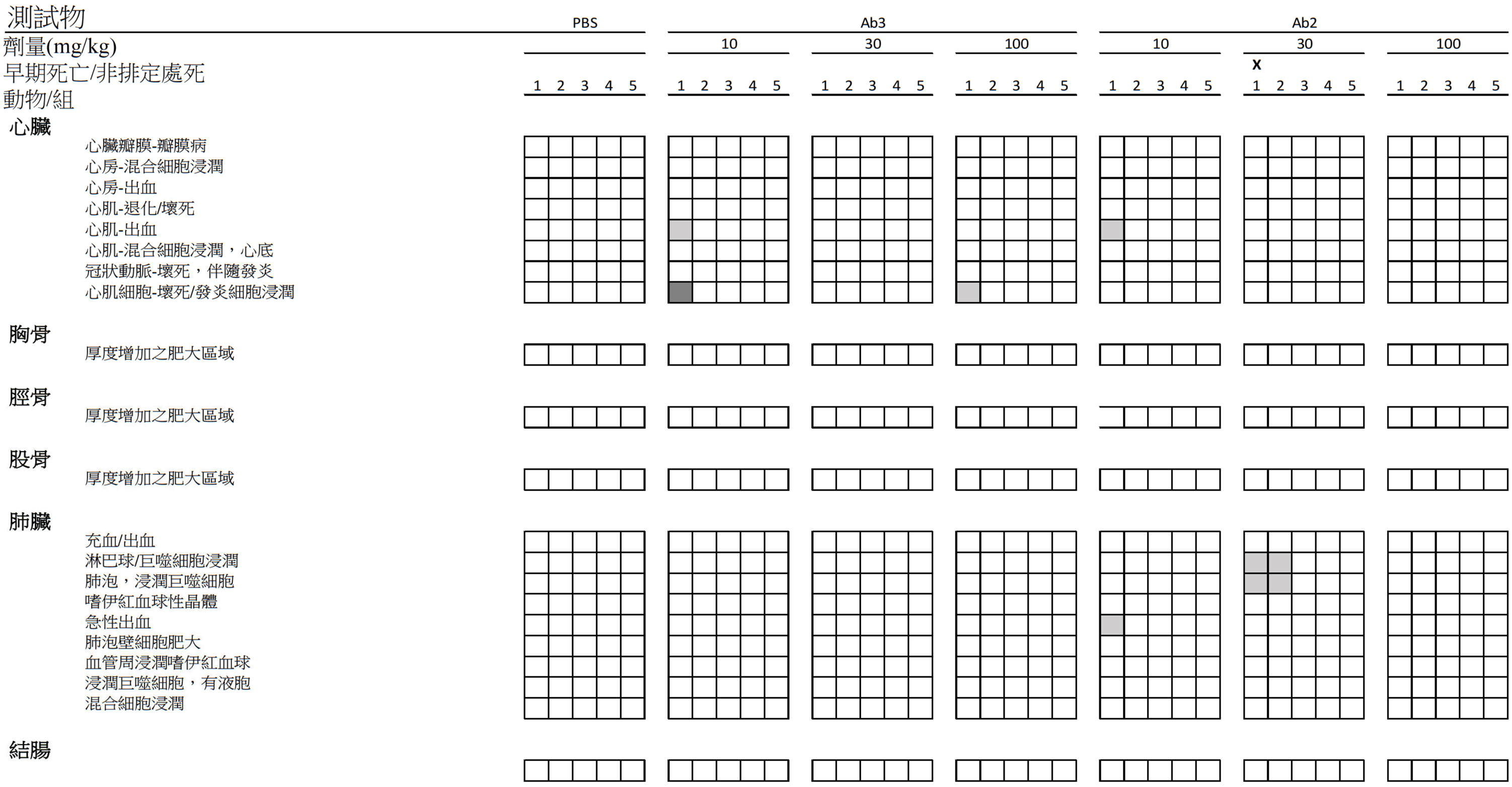
【圖12B】

來自在史泊格多利大鼠中進行之4週大鼠毒理學安全性研究的資料



【圖12C】

來自在史泊格多利大鼠中進行之4週大鼠毒理學安全性研究的資料



抗體之投配呈每週一次× 4；靜脈內
在28天之後評估II期動物

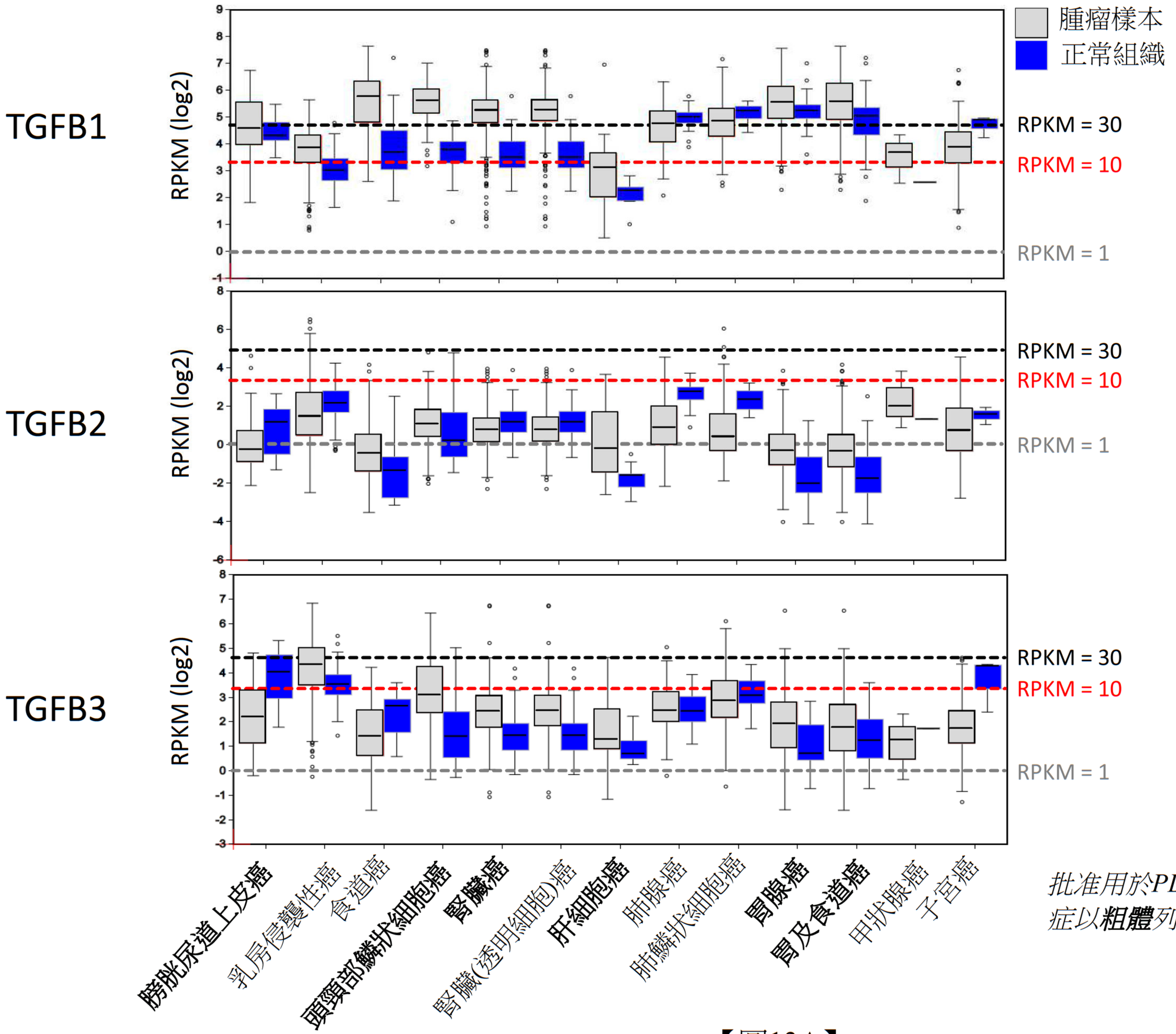
「在II期之第8天，發現一隻投與30毫克/公斤/劑[Ab2]之動物在給藥後立即死亡。此死亡與投配程序相關且並非測試物相關的。在II期之持續時間期間未出現其他死亡。」

圖例：

不顯著：
微小：
輕微：
中度：

【圖12D】

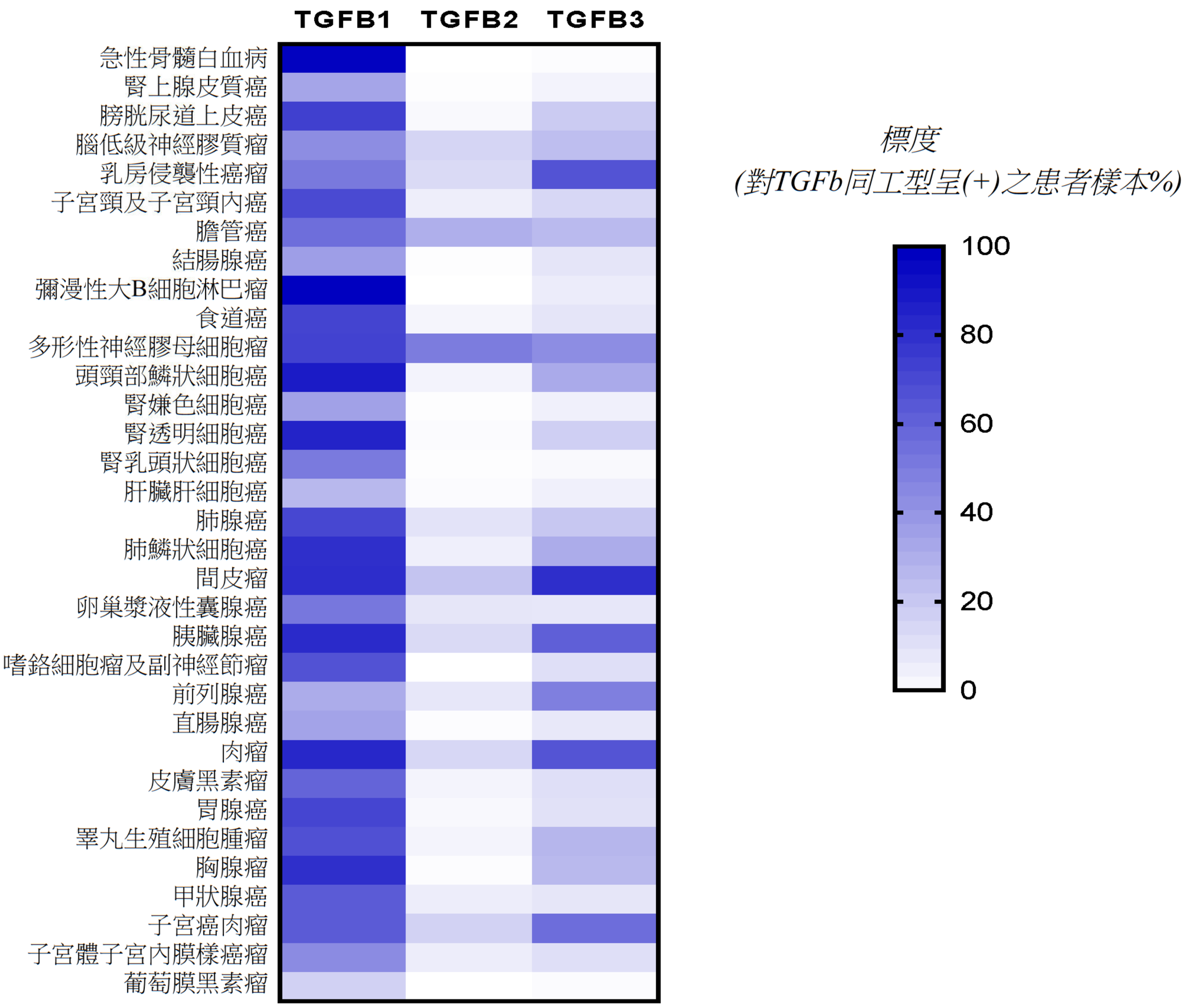
相對於正常比較物之TGFβ同工型表現(根據人類癌症類型)



*批准用於PD1/PDL1療法之適應症以**粗體**列舉*

【圖13A】

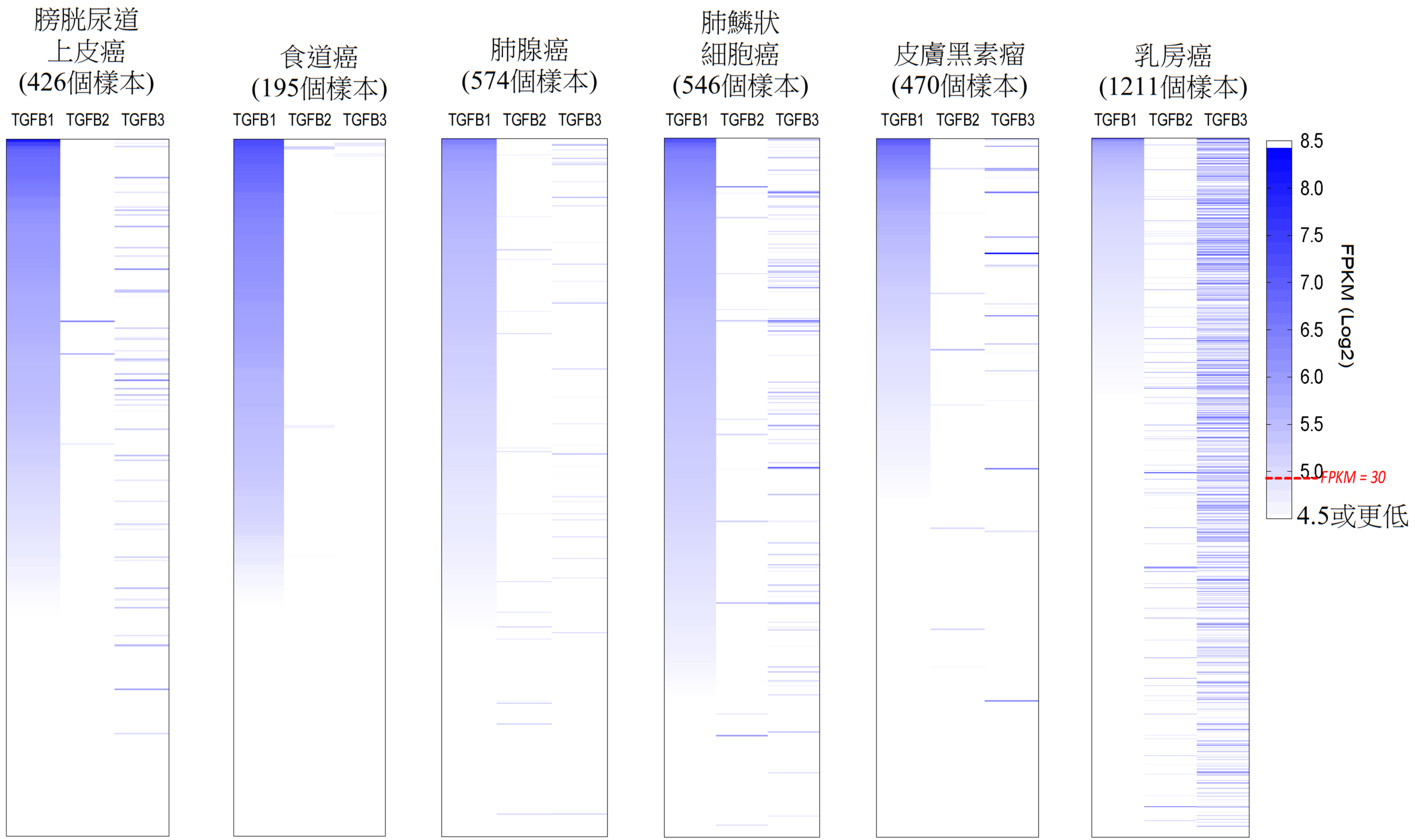
表現TGFβ同工型之腫瘤的百分比，根據人類癌症類型



【圖13B】

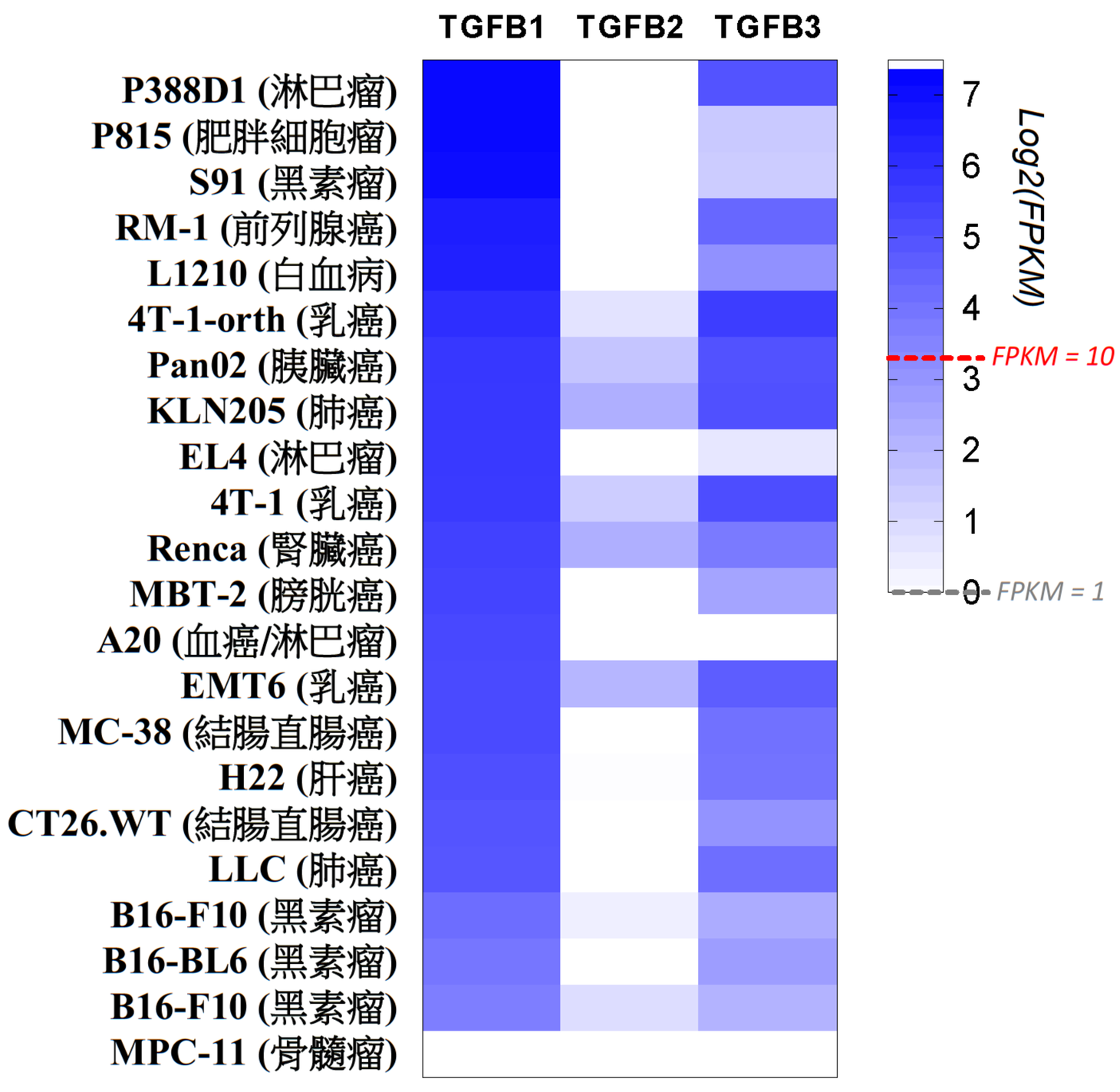
C222534DA.pdf
108124511
表單編號 A0202
第 28頁，共 35頁(發明圖式)

個別腫瘤樣本中之TGFβ同工型表現，根據人類癌症類型



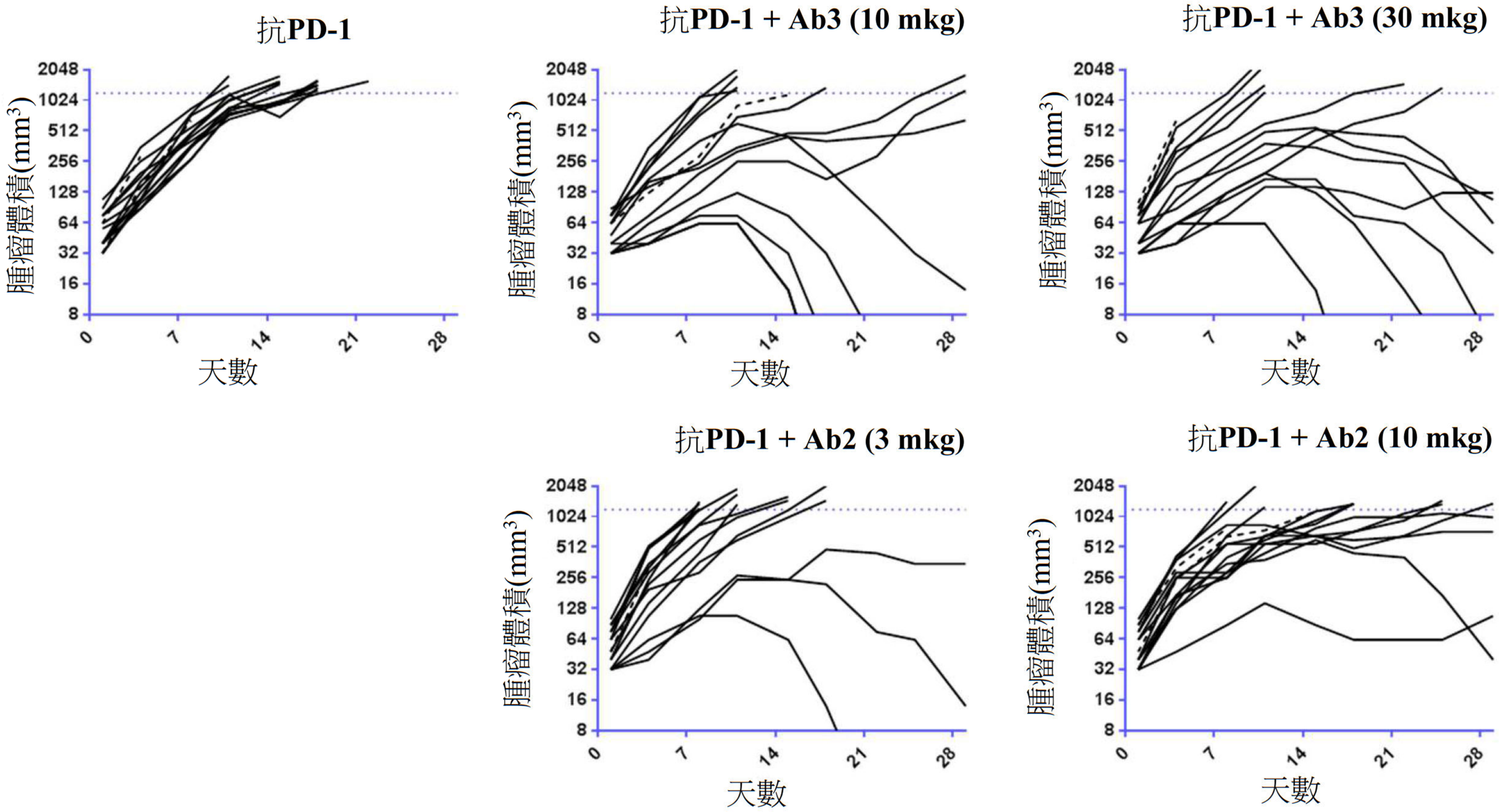
【圖13C】

小鼠同基因型癌症細胞模型株系中之TGFβ同工型表現

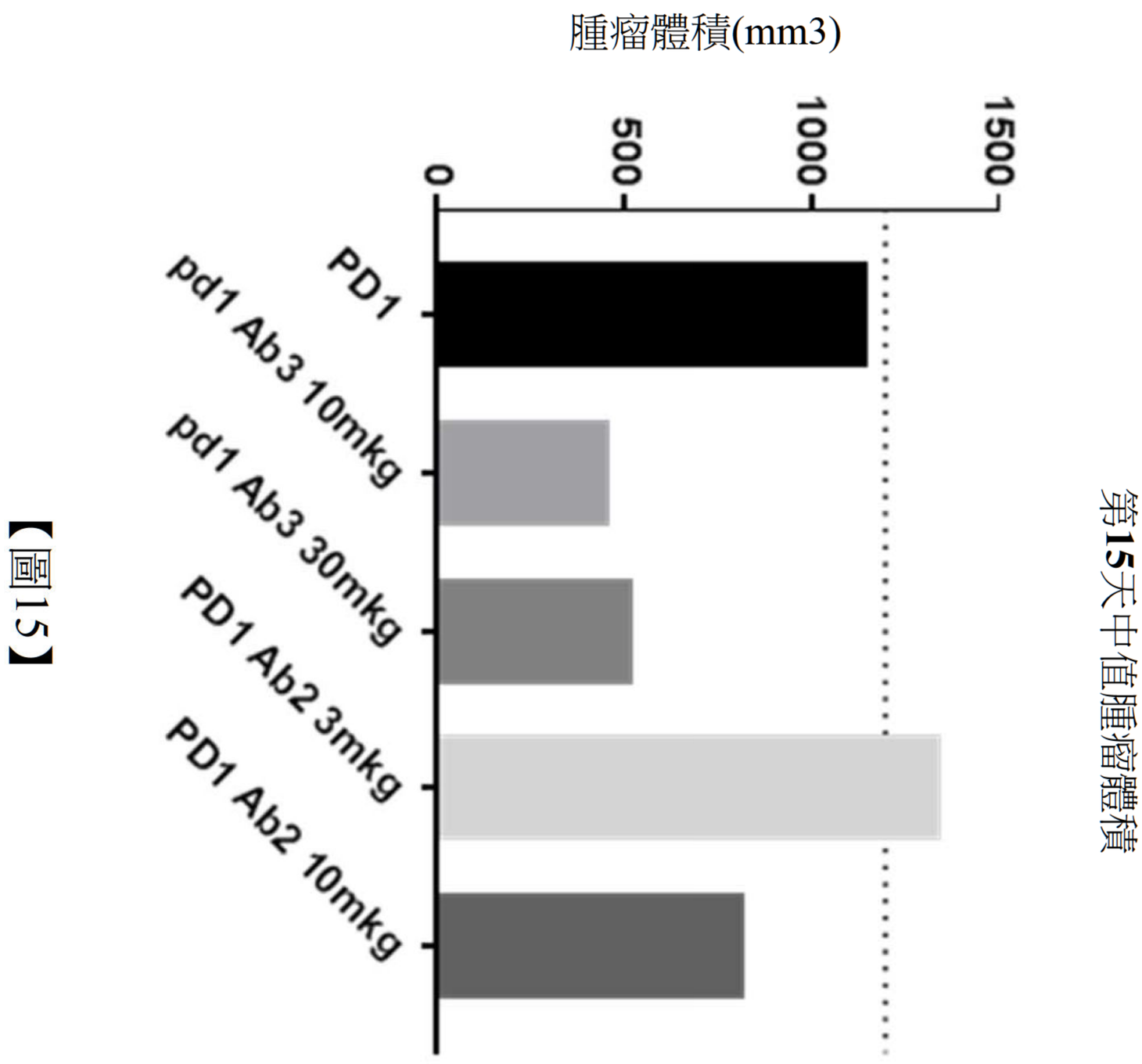


【圖13D】

經TGFβ1同工型特異性抗體與抗PD1抗體之組合處理的小鼠中的MBT2腫瘤生長之抑制



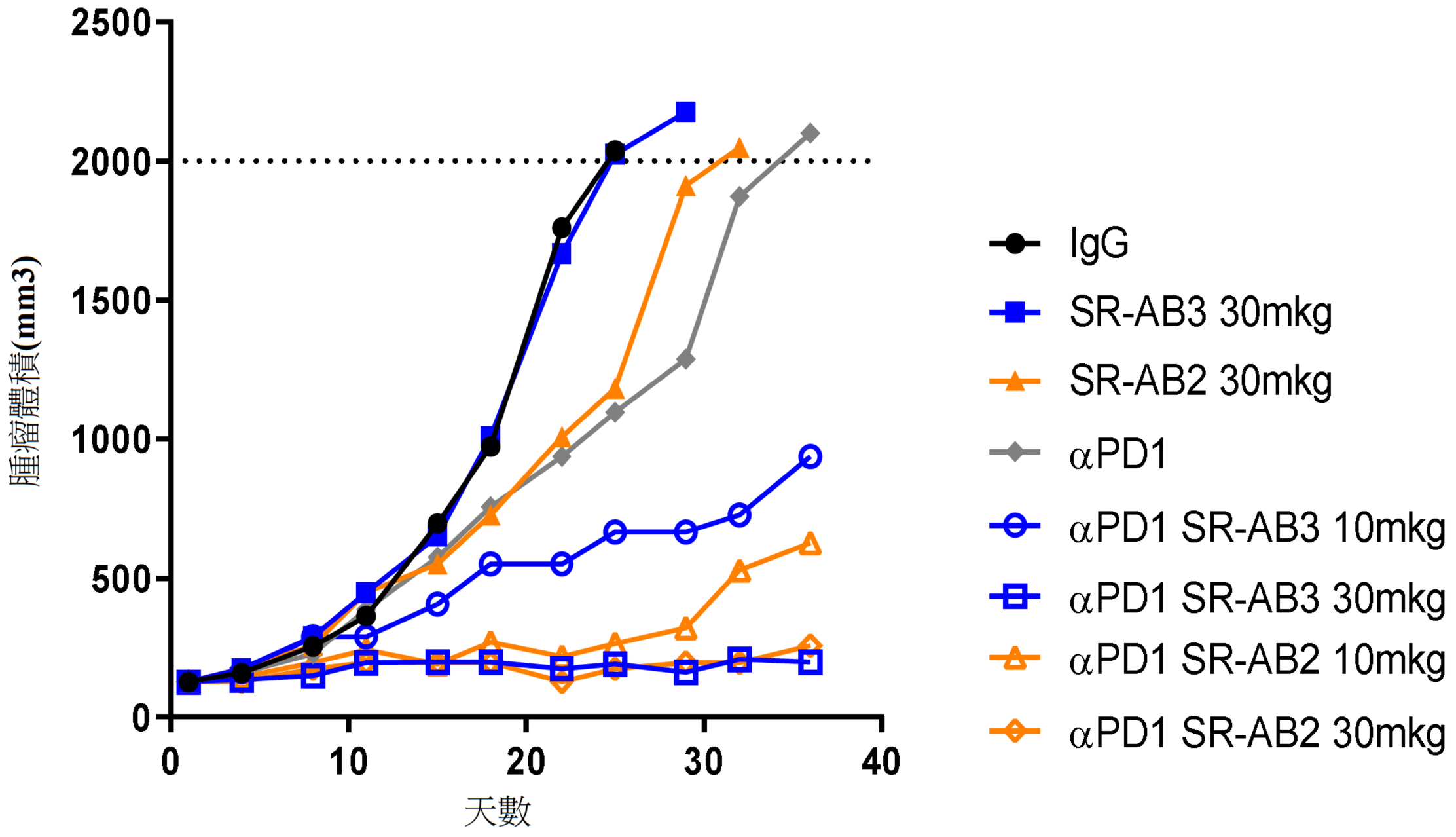
【圖14】



【圖15】

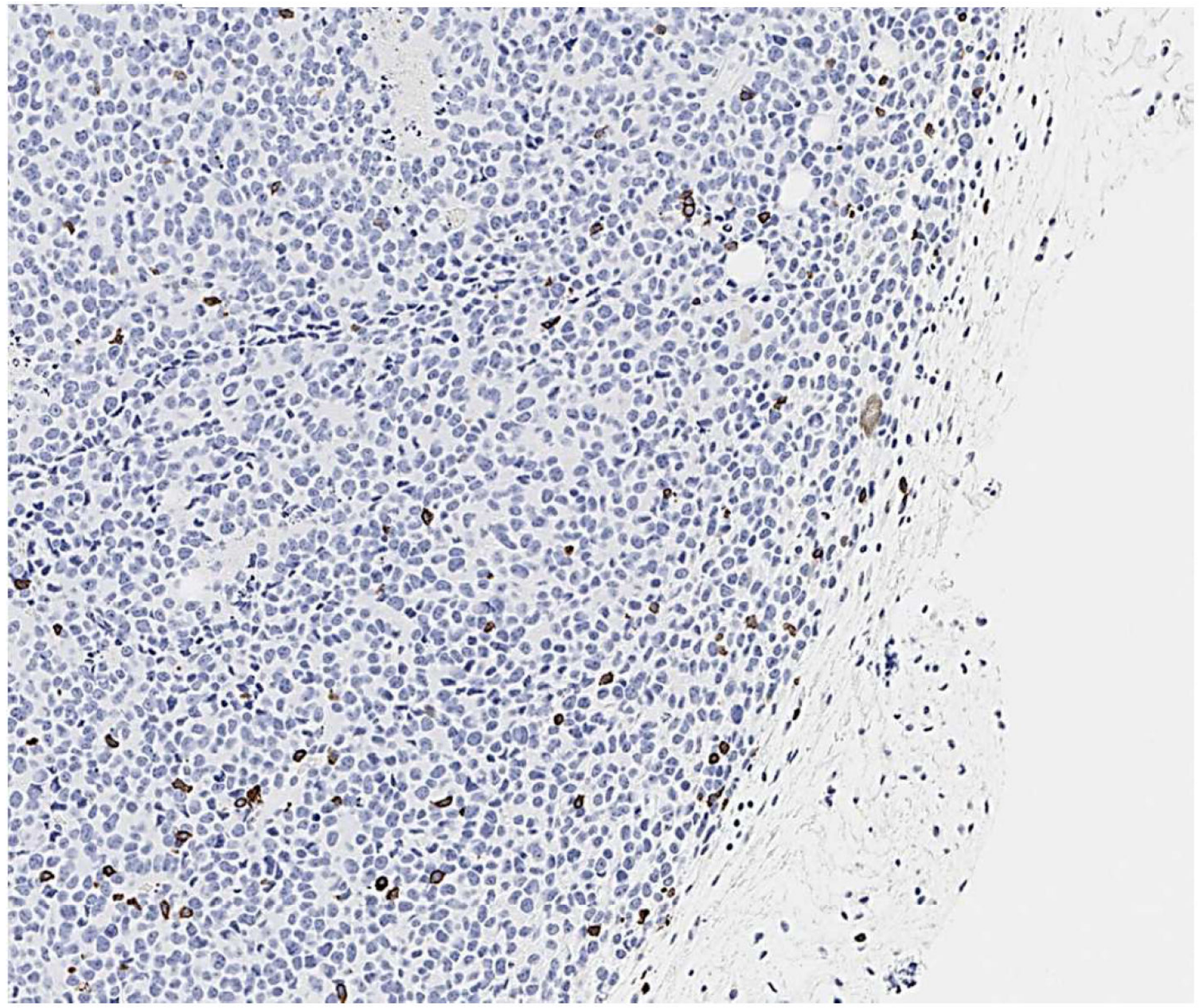
第15天中值腫瘤體積

在非背景依賴性TGFβ1抑制劑及抗PD-1之情況下觀測到的對S91腫瘤生長之組合影響



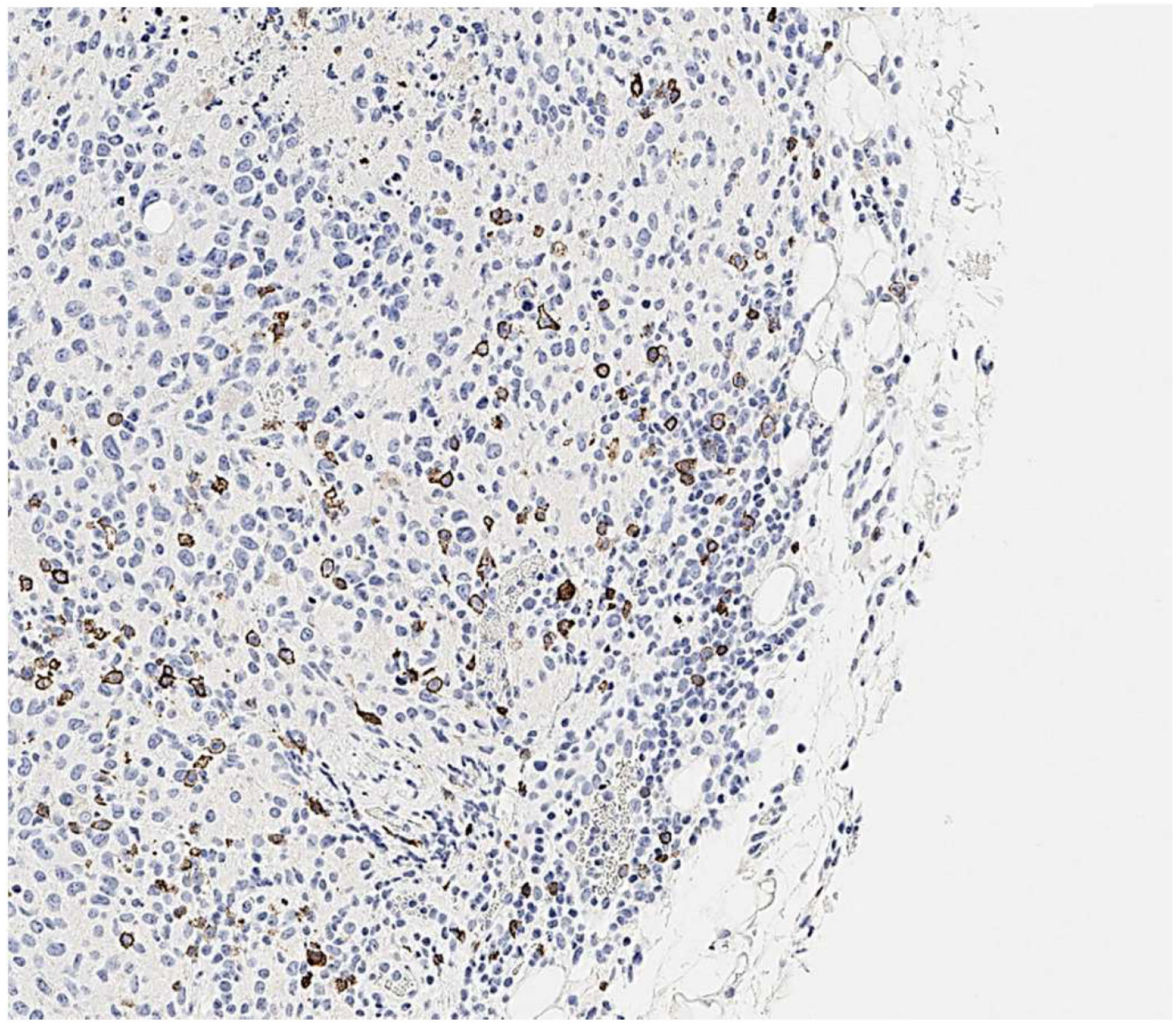
【圖16】

對TGFβ1活化之抑制觸發CD8+ T細胞浸潤於S91腫瘤中



用抗PD-1處理；用CD8+標記物染色

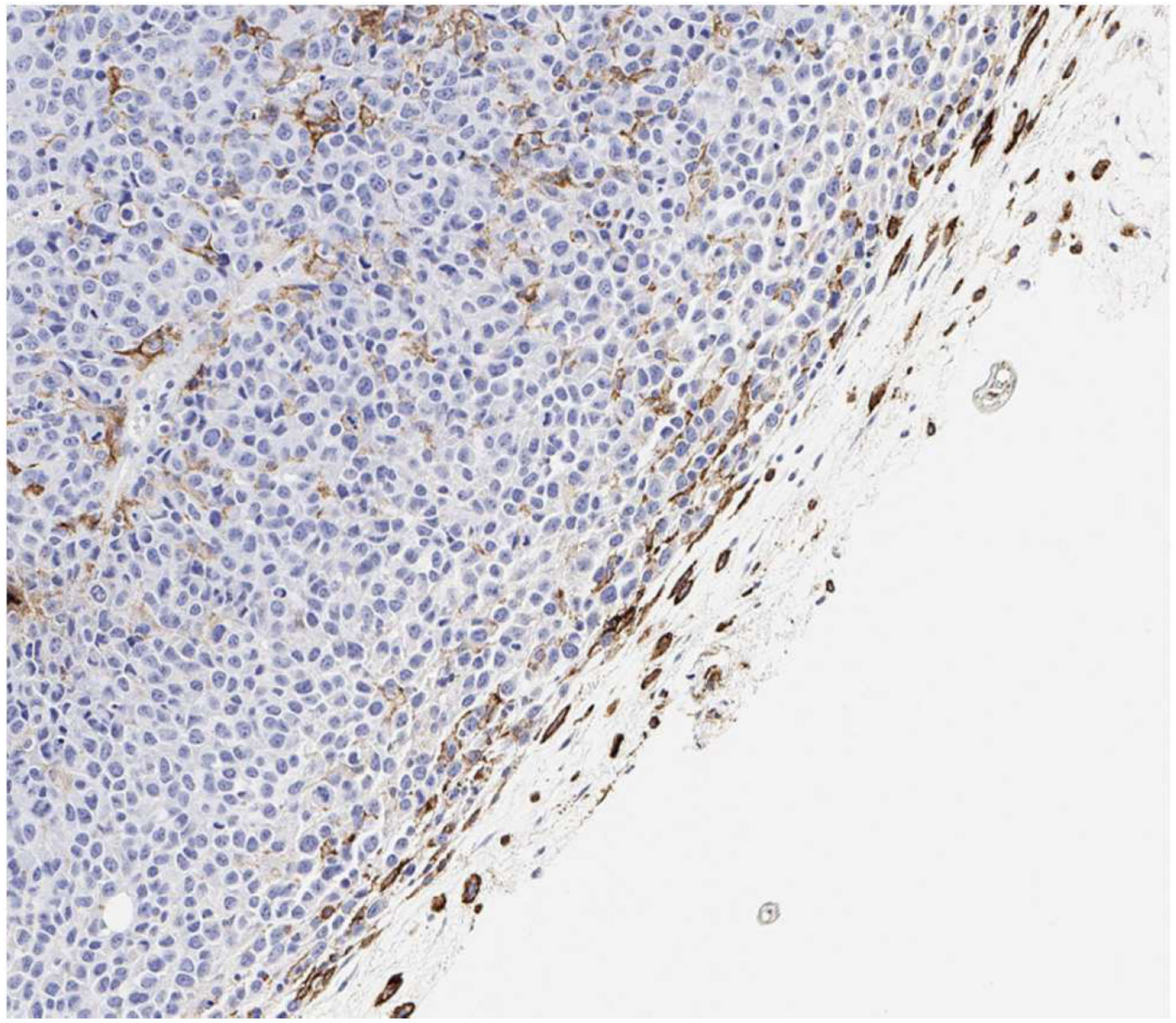
【圖17A】



用抗PD-1 +非背景依賴性TGFβ1抑制劑處理；
用CD8+標記物染色

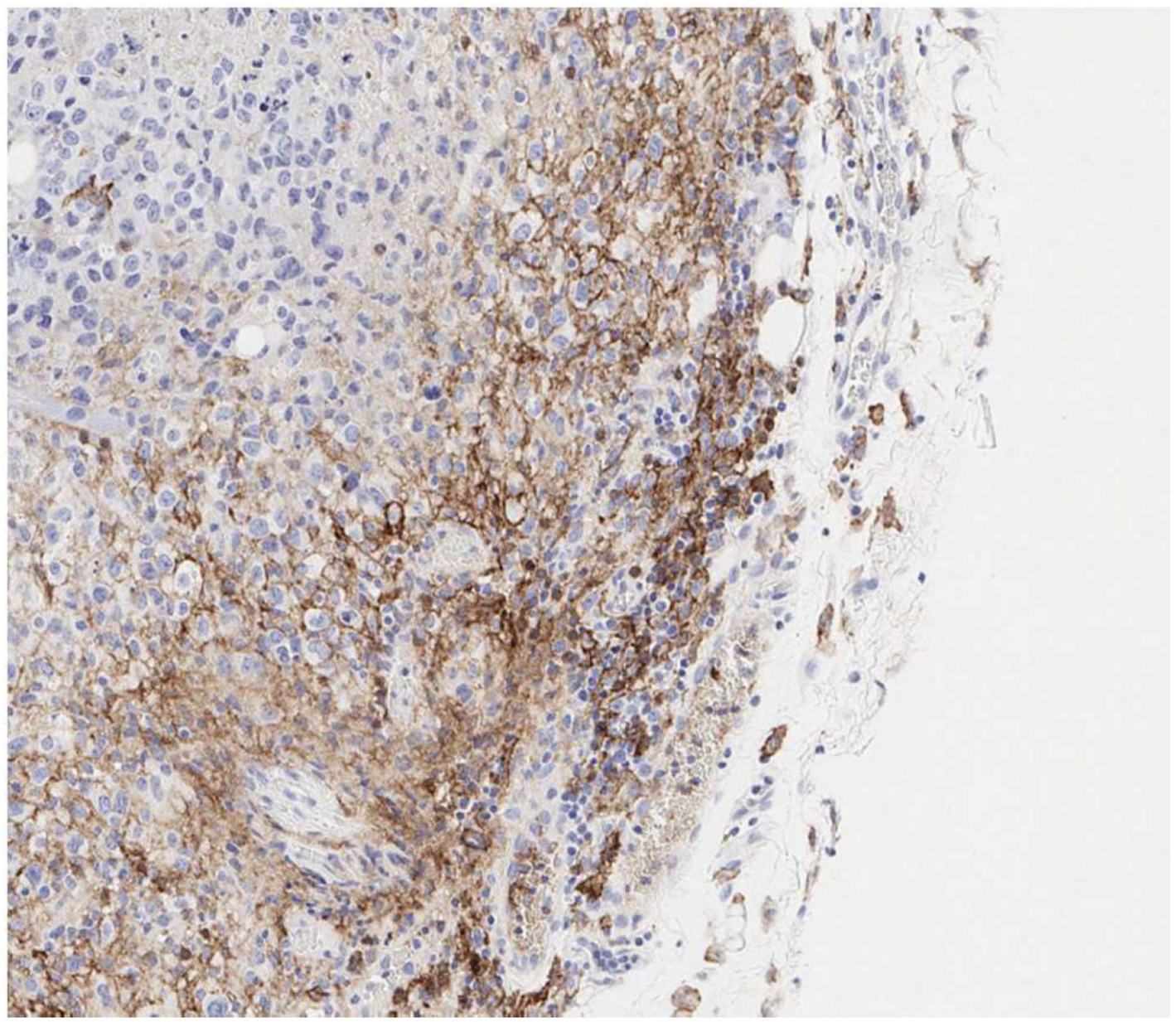
【圖17B】

在組合處理之後觀測到巨噬細胞浸潤於S91腫瘤中



用抗PD-1處理；用巨噬細胞標記物(F4/80)染色

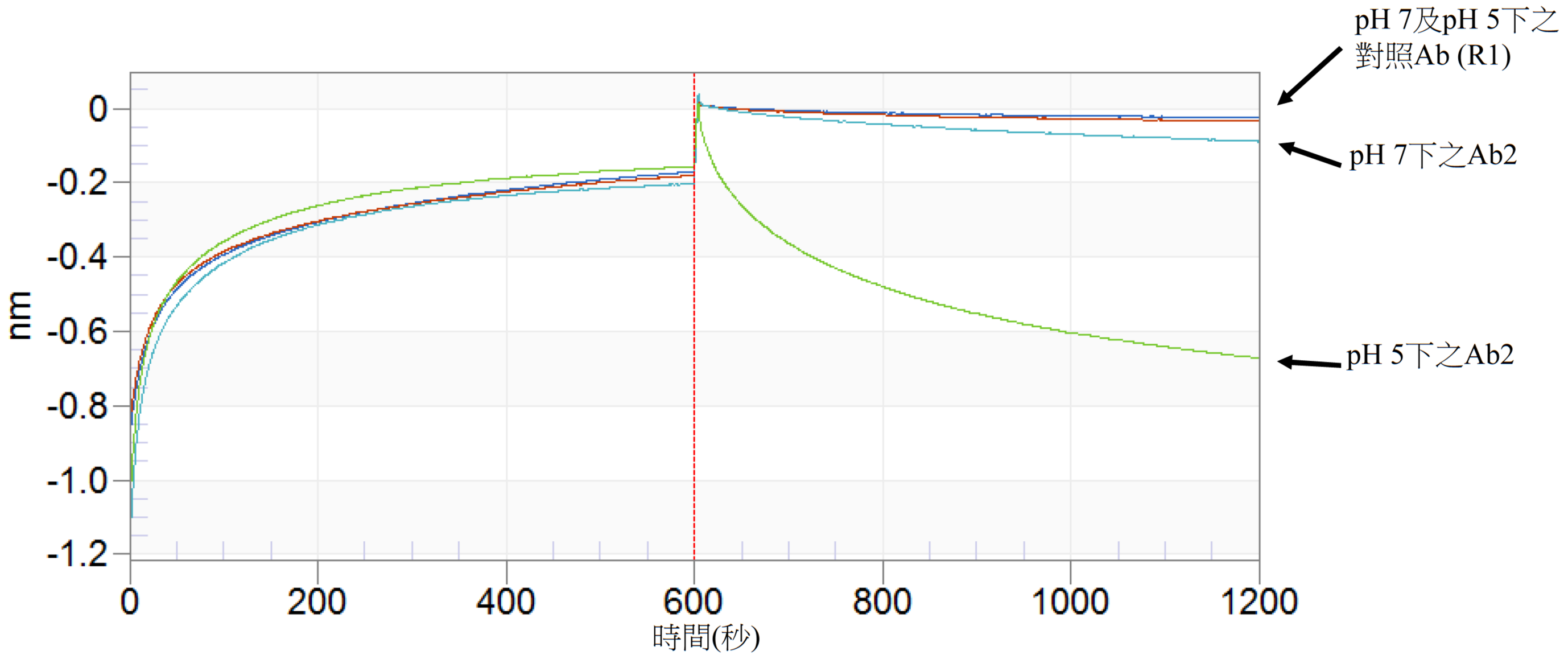
【圖18A】



用抗PD-1 +非背景依賴性TGFβ1抑制劑處理；
用巨噬細胞標記物(F4/80)染色

【圖18B】

pH對Ab2結合至proTGFb1 C4S之影響



	Ab2	對照Ab
Kdis pH 5 / Kdis pH 7	5.61e-3 / 2.78e-3 = 2.02	3.69e-3 / 4.38e-3 = 0.84

【圖19】