



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110582303 A

(43)申请公布日 2019.12.17

(21)申请号 201880029617.2

(71)申请人 ADC治疗有限公司

(22)申请日 2018.04.20

地址 瑞士埃帕兰日

(30)优先权数据

申请人 免疫医疗有限公司

1706245.6 2017.04.20 GB

(72)发明人 帕特丘斯·亨德里克斯·科内利

1706246.4 2017.04.20 GB

斯·瓦·贝克尔

1706247.2 2017.04.20 GB

利萨·斯凯尔顿

1706248.0 2017.04.20 GB

弗朗西丝卡·扎马尔基

1706249.8 2017.04.20 GB

杰伊·马歇尔·法因戈尔德

1706250.6 2017.04.20 GB

延斯·维特纳 约翰·哈特利

1706251.4 2017.04.20 GB

(74)专利代理机构 上海弼兴律师事务所 31283

1706252.2 2017.04.20 GB

代理人 薛琦

1805189.6 2018.03.29 GB

(51)Int.Cl.

A61K 47/68(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 31/7068(2006.01)

2019.11.05

A61K 45/06(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

A61P 35/00(2006.01)

PCT/EP2018/060214 2018.04.20

A61P 35/02(2006.01)

(87)PCT国际申请的公布数据

权利要求书3页 说明书74页

W02018/193104 EN 2018.10.25

序列表71页 附图10页

(54)发明名称

使用抗CD25抗体-药物缀合物的组合疗法

(57)摘要

本公开涉及用于治疗病理病状例如癌症的组合疗法。具体地，本公开涉及包括用抗体药物缀合物(ADC)和第二药剂治疗的组合疗法。

1. 一种用于治疗个体的癌症的方法，所述方法包括向所述个体施用有效量的ADCX25和第二药剂。

2. 一种包含ADCX25的第一组合物，其用于在治疗个体的癌症的方法中使用，其中所述治疗包括将所述第一组合物与包含第二药剂的第二组合物组合施用。

3. 一种包含第二药剂的第一组合物，其用于在治疗个体的病症的方法中使用，其中所述治疗包括将所述第一组合物与包含ADCX25的第二组合物组合施用。

4. ADCX25在制备用于治疗个体的癌症的药物中的用途，其中所述药物包含ADCX25，并且其中所述治疗包括将所述药物与包含第二药剂的组合物组合施用。

5. PD1拮抗剂在制备用于治疗个体的癌症的药物中的用途，其中所述药物包含第二药剂，并且其中所述治疗包括将所述药物与包含ADCX25的组合物组合施用。

6. 一种试剂盒，其包括：

包含ADCX25的第一药物；

包含第二药剂的第二药物；以及任选地，

包装插页，其包括用于将所述第一药物与所述第二药物组合施用至个体以治疗癌症的说明书。

7. 一种试剂盒，其包括含有ADCX25的药物和包装插页，所述包装插页包括用于将所述药物与包含第二药剂的组合物组合施用至个体以治疗癌症的说明书。

8. 一种试剂盒，其包括含有第二药剂的药物和包装插页，所述包装插页包括用于将所述药物与包含ADCX25的组合物组合施用至个体以治疗癌症的说明书。

9. 一种包含ADCX25和第二药剂的药物组合物。

10. 一种治疗个体的癌症的方法，所述方法包括向所述个体施用有效量的根据权利要求9所述的组合物。

11. 根据权利要求9所述的组合物，其用于在治疗个体的癌症的方法中使用。

12. 根据权利要求9所述的组合物在制备用于治疗个体的癌症的药物中的用途。

13. 一种试剂盒，其包括根据权利要求9所述的组合物和用于将所述药物施用至个体以治疗癌症的一套说明书。

14. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述治疗包括在所述第二药剂之前、与所述第二药剂同时或在所述第二药剂之后施用ADCX25。

15. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述治疗还包括施用化学治疗剂。

16. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述个体是人类。

17. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述个体患有或已被确定患有癌症。

18. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述个体患有或已被确定患有特征在于存在包含CD25<sup>+ve</sup>和CD25<sup>-ve</sup>细胞的赘生物的癌症。

19. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述个体患有或已被确定患有特征在于存在包含CD25<sup>-ve</sup>赘生细胞或由CD25<sup>-ve</sup>赘生细胞组成的赘生物的癌症。

20. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述癌症或赘生物是实体瘤的全部或部分。

21. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述个体患有或已被确定患有癌症，所述癌症表达CD25或CD25+肿瘤相关的非肿瘤细胞，例如CD25+湿润T细胞。

22. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述个体患有或已被确定患有表达低水平的CD25的表面表达的癌症。

23. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述个体患有或已被确定患有表达第二靶蛋白的癌症。

24. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述治疗与单独使用ADCX25或所述第二药剂的治疗相比：

- a) 有效治疗更广泛范围的病症，
- b) 有效治疗抗药性、难治性或复发性病症，
- c) 反应率增加，和/或
- d) 持久性增加。

25. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述癌症选自包括以下的组：

霍奇金和非霍奇金淋巴瘤，包括弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、慢性淋巴细胞瘤(CL)、边缘区B细胞淋巴瘤(MZBL)；

白血病，例如毛细胞白血病(HCL)、毛细胞白血病变异体(HCL-v)、急性骨髓性白血病(AML)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)，例如费城染色体阳性ALL(Ph+ALL)或费城染色体阴性ALL(Ph-ALL)；

胰腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胃癌和食道癌、白血病和淋巴瘤、黑素瘤、非小细胞肺癌、卵巢癌、肝细胞癌、肾细胞癌和头颈癌。

26. 根据权利要求1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂是PD1拮抗剂。

27. 根据权利要求26所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述PD1拮抗剂选自派姆单抗、纳武单抗、MEDI0680、PDR001(spartalizumab)、卡瑞利珠单抗、AUNP12、皮地利珠单抗、Cemiplimab(REGN-2810)、AMP-224、BGB-A317(替雷利珠单抗)和BGB-108。

28. 根据权利要求1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂是布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂(BTKi)。

29. 根据权利要求28所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂(BTKi)选自依鲁替尼(Imbruvica)、阿卡替尼/ACP-196、ONO/GS-4059、司培替尼/AVL-292/CC-292、HM71224(坡塞替尼)和BGB-3111(泽布替尼)。

30. 根据权利要求1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂是PD-L1拮抗剂。

31. 根据权利要求30所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述PD-L1拮抗剂选自阿特珠单抗(Tecentriq)、BMS-936559/MDX-1105、德瓦鲁单抗/MEDI4736和MSB0010718C(阿维鲁单抗)。

32. 根据权利要求1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂是GITR(糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白)激动剂。

33. 根据权利要求32所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述GITR(糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白)激动剂选自MEDI1873、TRX518、GWN323、MK-1248、MK 4166、BMS-986156和INCAGN1876。

34. 根据权利要求1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂是OX40激动剂。

35. 根据权利要求34所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述OX40激动剂选自MEDI0562、MEDI6383、MOXR0916、RG7888、OX40mAb24、INCAGN1949、GSK3174998和PF-04518600。

36. 根据权利要求1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂是CTLA-4拮抗剂。

37. 根据权利要求36所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述CTLA-4拮抗剂选自伊匹单抗或替西木单抗。

38. 根据权利要求1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂为氟达拉滨。

39. 根据权利要求1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂为阿糖胞昔。

40. 根据权利要求1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂为低甲基化剂。

41. 根据权利要求40所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述低甲基化剂选自5-氮杂胞昔(阿扎胞昔)和5-氮杂-2'-脱氧胞昔(地西他滨)。

42. 根据权利要求40所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述低甲基化剂是地西他滨。

## 使用抗CD25抗体-药物缀合物的组合疗法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求全部于2017年4月20日提交的GB1706252.2、GB1706251.4、GB1706250.6、GB1706249.8、GB1706248.0、GB1706247.2、GB1706246.4、GB1706245.6以及于2017年3月29日提交的GB1805189.6的权益。

### 技术领域

[0003] 本公开涉及用于治疗病理病状例如癌症的组合疗法。具体地，本公开涉及包括用抗体药物缀合物(ADC)和第二药剂治疗的组合疗法。

### 背景技术

[0004] 抗体疗法

[0005] 已经建立抗体疗法以用于靶向治疗患有癌症、免疫学和血管生成病症的受试者(Carter, P. (2006) Nature Reviews Immunology 6:343-357)。使用抗体-药物缀合物(ADC)(即免疫缀合物)用于在癌症治疗中局部递送细胞毒性剂或细胞生长抑制剂(即用于杀死或抑制肿瘤细胞的药物)将药物部分靶向递送至肿瘤，并在所述肿瘤中进行细胞内积累，而全身施用这些未缀合的药物试剂可能造成对正常细胞而言不可接受水平的毒性(Xie等人(2006) Expert Opin. Biol. Ther. 6 (3) :281-291; Kovtun等人(2006) Cancer Res. 66 (6) :3214-321; Law等人(2006) Cancer Res. 66 (4) :2328-2337; Wu等人(2005) Nature Biotech. 23 (9) :1137-1145; Lambert J. (2005) Current Opin. in Pharmacol. 5:543-549; Hamann P. (2005) Expert Opin. Ther. Patents 15 (9) :1087-1103; Payne, G. (2003) Cancer Cell 13:207-212; Trail等人(2003) Cancer Immunol. Immunother. 52:328-337; Syrigos和Epenetos(1999) Anticancer Research 19:605-614)。

[0006] CD25

[0007] I型跨膜蛋白CD25存在于活化的T细胞和B细胞、一些胸腺细胞、髓样前体和少突胶质细胞上。在活化的T细胞上，它与β和γ亚基(CD122和CD132)形成异二聚体，因此包含IL-2的高亲和力受体。此配体代表了活化T细胞的存活因子，因为去除IL-2会导致这些细胞立即死亡。

[0008] 在B细胞的情况下，CD25在晚期原-B和前-B细胞的早期发育阶段中生理表达。因此，由B细胞分化的这一阶段引起的恶性肿瘤也可能表达CD25。肥大细胞病变对CD25也是呈阳性的，因此CD25被认为是确定全身性肥大细胞增多症的关键诊断标准。在霍奇金淋巴瘤中，据报告，CD25在结节性淋巴细胞为主型霍奇金淋巴瘤(NLPHL)的霍奇金/里德-斯特恩伯格细胞中未表达，而同一细胞类型在混合细胞类型的经典霍奇金淋巴瘤中以不同水平表达CD25。据报告，一般表达水平低于肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)，这可能导致在这些病例中表明CD25肿瘤细胞的问题(Levi等人, Merz等人, 1995)。

[0009] 还报告了若干种非霍奇金淋巴瘤的B细胞和T细胞衍生亚型的靶抗原表达，即B细胞慢性淋巴性白血病、毛细胞白血病、小细胞淋巴细胞淋巴瘤/慢性淋巴细胞白血病以及成

人T细胞白血病/淋巴瘤和间变性大细胞淋巴瘤。

[0010] CD25可能定位于膜上,在细胞质中观察到一些表达。还可以在细胞外部(例如血清中)观察到可溶性CD25。

[0011] 抗CD25 ADC的治疗用途

[0012] 已经建立了包含抗CD25抗体的抗体药物缀合物(抗CD25-ADC)在治疗例如癌症中的功效-参见例如WO2014/057119、WO2016/083468和WO2016/166341。

[0013] 继续研究以进一步改善抗CD25 ADC的功效、耐受性和临床效用。为此,本发明人已经鉴定了临幊上有利的组合疗法,其中抗CD25ADC与至少一种第二药剂组合施用。

## 发明内容

[0014] 本发明人已经确定,向个体施用ADC和第二药剂的组合产生意想不到的临床优势。

[0015] 因此,在一方面,本公开提供了一种用于治疗个体的病症的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的ADC和第二药剂。

[0016] 所述病症可以是增殖性疾病,例如癌症,例如霍奇金和非霍奇金淋巴瘤,包括弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、慢性淋巴性淋巴瘤(CLL)、边缘区B细胞淋巴瘤(MZBL)以及白血病,例如毛细胞白血病(HCL)、毛细胞白血病变异体(HCL-v)、急性骨髓性白血病(AML)和急性成淋巴细胞性白血病(ALL),例如费城染色体阳性ALL(Ph+ALL)或费城染色体阴性ALL(Ph-ALL)。

[0017] 增殖性疾病的特征可在于存在包含CD25+ve和CD25-ve细胞的赘生物。

[0018] 增殖性疾病的特征可在于存在由CD25-ve赘生细胞组成的赘生物,任选地其中CD25-ve赘生细胞与CD25+ve非赘生细胞(例如CD25+ve T细胞)相关。

[0019] 靶赘生物或赘生细胞可以是实体瘤的全部或部分。

[0020] “实体瘤”在本文中应理解为包括在本文中更详细地讨论的实体血液学癌症,例如淋巴瘤(霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤)。

[0021] 实体瘤可以是赘生物,包括非血液学癌症,包含CD25+ve赘生细胞或由CD25+ve赘生细胞组成。实体瘤可以是赘生物,包括非血液学癌症,其浸润有CD25+ve细胞,例如CD25+ve T细胞;这类实体瘤可能缺乏CD25的表达(即,包含CD25-ve赘生细胞或由CD25-ve赘生细胞组成)。

[0022] 例如,实体瘤可能是具有高水平的浸润性T细胞例如浸润性调控性T细胞(Treg; Mé nétrier-Caux,C.等人,Targ Oncol (2012) 7:15-28; Arce Vargas等人,2017,Immunity 46, 1-10; Tanaka,A.等人,Cell Res.2017年1月;27 (1) :109-118)的肿瘤。因此,实体瘤可以是胰腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胃癌和食道癌、白血病和淋巴瘤、黑素瘤、非小细胞肺癌、卵巢癌、肝细胞癌、肾细胞癌和头颈癌。

[0023] ADC可以是抗CD25-ADC,例如本文所述的ADCX25。

[0024] 第二药剂可以是布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂(BTKi)、PD1拮抗剂、PD-L1拮抗剂、GITR激动剂、OX40激动剂、CTLA-4拮抗剂、氟达拉滨或阿糖胞苷、或低甲基化药剂。

[0025] 个体可以是人类。个体可能患有癌症,或者可能已经确定患有癌症。个体可能具有或已经确定具有CD25+癌症或CD25+肿瘤相关的非肿瘤细胞,例如CD25+浸润性T细胞。

[0026] 个体可能患有或已经确定患有PD-L1+癌症。

[0027] 在所公开的方法中,ADC可以在第二药剂之前、与第二药剂同时或在第二药剂之后施用。所公开的方法可包括向个体施用另外的化学治疗剂。

[0028] -----

[0029] 在另一方面,本公开提供了一种包含ADC的第一组合物,其用于在治疗个体的病症的方法中使用,其中所述治疗包括将所述第一组合物与包含第二药剂的第二组合物组合施用。

[0030] 此方面还提供了一种包含第二药剂的第一组合物,其用于在治疗个体的病症的方法中使用,其中所述治疗包括将所述第一组合物与包含ADC的第二组合物组合施用。

[0031] 所述病症可以是增殖性疾病,例如癌症,例如霍奇金和非霍奇金淋巴瘤,包括弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、慢性淋巴性淋巴瘤(CLL)、边缘区B细胞淋巴瘤(MZBL)以及白血病,例如毛细胞白血病(HCL)、毛细胞白血病变异体(HCL-v)、急性骨髓性白血病(AML)和急性成淋巴细胞性白血病(ALL),例如费城染色体阳性ALL(Ph+ALL)或费城染色体阴性ALL(Ph-ALL)。

[0032] 增殖性疾病的特征可在于存在包含CD25+ve和CD25-ve细胞的赘生物。

[0033] 增殖性疾病的特征可在于存在由CD25-ve赘生细胞组成的赘生物,任选地其中CD25-ve赘生细胞与CD25+ve非赘生细胞(例如CD25+ve T细胞)相关。

[0034] 靶赘生物或赘生细胞可以是实体瘤的全部或部分。

[0035] “实体瘤”在本文中应理解为包括在本文中更详细地讨论的实体血液学癌症,例如淋巴瘤(霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤)。

[0036] 实体瘤可以是赘生物,包括非血液学癌症,包含CD25+ve赘生细胞或由CD25+ve赘生细胞组成。实体瘤可以是赘生物,包括非血液学癌症,其浸润有CD25+ve细胞,例如CD25+ve T细胞;这类实体瘤可能缺乏CD25的表达(即,包含CD25-ve赘生细胞或由CD25-ve赘生细胞组成)。

[0037] 例如,实体瘤可能是具有高水平的浸润性T细胞例如浸润性调控性T细胞(Treg;Ménétrier-Caux,C.等人,Targ Oncol (2012) 7:15-28;Arce Vargas等人,2017,Immunity 46,1-10;Tanaka,A.等人,Cell Res.2017年1月;27 (1) :109-118)的肿瘤。因此,实体瘤可以是胰腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胃癌和食道癌、白血病和淋巴瘤、黑素瘤、非小细胞肺癌、卵巢癌、肝细胞癌、肾细胞癌和头颈癌。

[0038] ADC可以是抗CD25-ADC,例如本文所述的ADCX25。

[0039] 第二药剂可以是布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂(BTKi)、PD1拮抗剂、PD-L1拮抗剂、GITR激动剂、OX40激动剂、CTLA-4拮抗剂、氟达拉滨或阿糖胞苷、或低甲基化药剂。

[0040] 个体可以是人类。个体可能患有癌症,或者可能已经确定患有癌症。个体可能具有或已经确定具有CD25+癌症或CD25+肿瘤相关的非肿瘤细胞,例如CD25+浸润性T细胞。

[0041] 个体可能患有或已经确定患有PD-L1+癌症。

[0042] 第一组合物可以在第二组合物之前、与第二组合物同时或在第二组合物之后施用。治疗可包括向个体施用另外的化学治疗剂。

[0043] -----

[0044] 在另一方面,本公开提供了ADC在制备用于治疗个体的病症的药物中的用途,其中所述药物包含ADC,并且其中所述治疗包括将所述药物与包含第二药剂的组合物组合施用。

[0045] 此方面还提供了第二药剂在制备用于治疗个体的病症的药物中的用途,其中所述药物包含第二药剂,并且其中所述治疗包括将所述药物与包含ADC的组合物组合施用。

[0046] 所述病症可以是增殖性疾病,例如癌症,例如霍奇金和非霍奇金淋巴瘤,包括弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、慢性淋巴性淋巴瘤(CLL)、边缘区B细胞淋巴瘤(MZBL)以及白血病,例如毛细胞白血病(HCL)、毛细胞白血病变异体(HCL-v)、急性骨髓性白血病(AML)和急性成淋巴细胞性白血病(ALL),例如费城染色体阳性ALL(Ph+ALL)或费城染色体阴性ALL(Ph-ALL)。

[0047] 增殖性疾病的特征可在于存在包含CD25+ve和CD25-ve细胞的赘生物。

[0048] 增殖性疾病的特征可在于存在由CD25-ve赘生细胞组成的赘生物,任选地其中CD25-ve赘生细胞与CD25+ve非赘生细胞(例如CD25+ve T细胞)相关。

[0049] 靶赘生物或赘生细胞可以是实体瘤的全部或部分。

[0050] “实体瘤”在本文中应理解为包括在本文中更详细地讨论的实体血液学癌症,例如淋巴瘤(霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤)。

[0051] 实体瘤可以是赘生物,包括非血液学癌症,包含CD25+ve赘生细胞或由CD25+ve赘生细胞组成。实体瘤可以是赘生物,包括非血液学癌症,其浸润有CD25+ve细胞,例如CD25+ve T细胞;这类实体瘤可能缺乏CD25的表达(即,包含CD25-ve赘生细胞或由CD25-ve赘生细胞组成)。

[0052] 例如,实体瘤可能是具有高水平的浸润性T细胞例如浸润性调控性T细胞(Treg; Mé nétrier-Caux,C.等人,Targ Oncol (2012) 7:15–28;Arce Vargas等人,2017,Immunity 46, 1–10; Tanaka,A.等人,Cell Res.2017年1月;27 (1) :109–118)的肿瘤。因此,实体瘤可以是胰腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胃癌和食道癌、白血病和淋巴瘤、黑素瘤、非小细胞肺癌、卵巢癌、肝细胞癌、肾细胞癌和头颈癌。

[0053] ADC可以是抗CD25-ADC,例如本文所述的ADCX25。

[0054] 第二药剂可以是布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂(BTKi)、PD1拮抗剂、PD-L1拮抗剂、GITR激动剂、OX40激动剂、CTLA-4拮抗剂、氟达拉滨或阿糖胞苷、或低甲基化药剂。

[0055] 个体可以是人类。个体可能患有癌症,或者可能已经确定患有癌症。个体可能具有或已经确定具有CD25+癌症或CD25+肿瘤相关的非肿瘤细胞,例如CD25+浸润性T细胞。

[0056] 个体可能患有或已经确定患有PD-L1+癌症。

[0057] 所述药物可以在组合物之前、与组合物同时或在组合物之后施用。治疗可包括向个体施用另外的化学治疗剂。

[0058] -----

[0059] 本公开的另一方面提供了一种试剂盒,其包括:

[0060] 包含ADC的第一药物;

[0061] 包含第二药剂的第二药物;以及任选地,

[0062] 包装插页,其包括用于将第一药物与第二药物组合施用至个体以治疗病症的说明书。

[0063] 此方面还提供了一种试剂盒,其包括含有ADC的药物和包装插页,所述包装插页包括用于将所述药物与包含第二药剂的组合物组合施用至个体以治疗病症的说明书。

[0064] 此方面还提供了一种试剂盒,其包括含有第二药剂的药物和包装插页,所述包装

插页包括用于将所述药物与包含ADC的组合物组合施用至个体以治疗病症的说明书。

[0065] 所述病症可以是增殖性疾病,例如癌症,例如霍奇金和非霍奇金淋巴瘤,包括弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、慢性淋巴性淋巴瘤(CLL)、边缘区B细胞淋巴瘤(MZBL)以及白血病,例如毛细胞白血病(HCL)、毛细胞白血病变异体(HCL-v)、急性骨髓性白血病(AML)和急性成淋巴细胞性白血病(ALL),例如费城染色体阳性ALL(Ph+ALL)或费城染色体阴性ALL(Ph-ALL)。

[0066] 增殖性疾病的特征可在于存在包含CD25+ve和CD25-ve细胞的赘生物。

[0067] 增殖性疾病的特征可在于存在由CD25-ve赘生细胞组成的赘生物,任选地其中CD25-ve赘生细胞与CD25+ve非赘生细胞(例如CD25+ve T细胞)相关。

[0068] 靶赘生物或赘生细胞可以是实体瘤的全部或部分。

[0069] “实体瘤”在本文中应理解为包括在本文中更详细地讨论的实体血液学癌症,例如淋巴瘤(霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤)。

[0070] 实体瘤可以是赘生物,包括非血液学癌症,包含CD25+ve赘生细胞或由CD25+ve赘生细胞组成。实体瘤可以是赘生物,包括非血液学癌症,其浸润有CD25+ve细胞,例如CD25+ve T细胞;这类实体瘤可能缺乏CD25的表达(即,包含CD25-ve赘生细胞或由CD25-ve赘生细胞组成)。

[0071] 例如,实体瘤可能是具有高水平的浸润性T细胞例如浸润性调控性T细胞(Treg; Mé nétrier-Caux,C.等人,Targ Oncol (2012) 7:15–28; Arce Vargas等人,2017,Immunity 46, 1–10; Tanaka,A.等人,Cell Res.2017年1月;27 (1) :109–118)的肿瘤。因此,实体瘤可以是胰腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胃癌和食道癌、白血病和淋巴瘤、黑素瘤、非小细胞肺癌、卵巢癌、肝细胞癌、肾细胞癌和头颈癌。

[0072] ADC可以是抗CD25-ADC,例如本文所述的ADCX25。

[0073] 第二药剂可以是布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂(BTKi)、PD1拮抗剂、PD-L1拮抗剂、GITR激动剂、OX40激动剂、CTLA-4拮抗剂、氟达拉滨或阿糖胞苷、或低甲基化药剂。

[0074] 个体可以是人类。个体可能患有癌症,或者可能已经确定患有癌症。个体可能具有或已经确定具有CD25+癌症或CD25+肿瘤相关的非肿瘤细胞,例如CD25+浸润性T细胞。

[0075] 个体可能患有或已经确定患有PD-L1+癌症。

[0076] 包含ADC的药物或组合物可以在包含第二药剂的药物或组合物之前、与包含第二药剂的药物或组合物同时、或在包含第二药剂的药物或组合物之后施用。治疗可包括向个体施用另外的化学治疗剂。

[0077] -----

[0078] 在又另一方面,本公开提供了一种包含ADC和第二药剂的组合物。

[0079] 本公开的此方面还提供了一种治疗个体的病症的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的包含ADC和第二药剂的所述组合物。

[0080] 本公开的此方面还提供了包含ADC和第二药剂的组合物,其用于在治疗个体病症的方法中使用。

[0081] 本公开的此方面还提供了包含ADC和第二药剂的组合物在制备用于治疗个体的病症的药物中的用途。

[0082] 本公开的此方面还提供了一种试剂盒,其包括含有ADC和第二药剂的组合物以及

用于将所述药物施用至个体以治疗病症的一套说明书。

[0083] 所述病症可以是增殖性疾病，例如癌症，例如霍奇金和非霍奇金淋巴瘤，包括弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、慢性淋巴性淋巴瘤(CLL)、边缘区B细胞淋巴瘤(MZBL)以及白血病，例如毛细胞白血病(HCL)、毛细胞白血病变异体(HCL-v)、急性骨髓性白血病(AML)和急性成淋巴细胞性白血病(ALL)，例如费城染色体阳性ALL(Ph+ALL)或费城染色体阴性ALL(Ph-ALL)。

[0084] 增殖性疾病的特征可在于存在包含CD25+ve和CD25-ve细胞的赘生物。

[0085] 增殖性疾病的特征可在于存在由CD25-ve赘生细胞组成的赘生物，任选地其中CD25-ve赘生细胞与CD25+ve非赘生细胞(例如CD25+ve T细胞)相关。

[0086] 靶赘生物或赘生细胞可以是实体瘤的全部或部分。

[0087] “实体瘤”在本文中应理解为包括在本文中更详细地讨论的实体血液学癌症，例如淋巴瘤(霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤)。

[0088] 实体瘤可以是赘生物，包括非血液学癌症，包含CD25+ve赘生细胞或由CD25+ve赘生细胞组成。实体瘤可以是赘生物，包括非血液学癌症，其浸润有CD25+ve细胞，例如CD25+ve T细胞；这类实体瘤可能缺乏CD25的表达(即，包含CD25-ve赘生细胞或由CD25-ve赘生细胞组成)。

[0089] 例如，实体瘤可能是具有高水平的浸润性T细胞例如浸润性调控性T细胞(Treg；Ménétrier-Caux,C.等人,Targ Oncol (2012) 7:15–28;Arce Vargas等人,2017,Immunity 46,1–10;Tanaka,A.,等人,Cell Res.2017年1月;27(1):109–118)的肿瘤。因此，实体瘤可以是胰腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胃癌和食道癌、白血病和淋巴瘤、黑素瘤、非小细胞肺癌、卵巢癌、肝细胞癌、肾细胞癌和头颈癌。

[0090] ADC可以是抗CD25-ADC，例如本文所述的ADCX25。

[0091] 第二药剂可以是布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂(BTKi)、PD1拮抗剂、PD-L1拮抗剂、GITR激动剂、OX40激动剂、CTLA-4拮抗剂、氟达拉滨或阿糖胞苷、或低甲基化药剂。

[0092] 个体可以是人类。个体可能患有癌症，或者可能已经确定患有癌症。个体可能具有或已经确定具有CD25+癌症或CD25+肿瘤相关的非肿瘤细胞，例如CD25+浸润性T细胞。

[0093] 个体可能患有或已经确定患有PD-L1+癌症。

[0094] 治疗可包括向个体施用另外的化学治疗剂。

[0095] -----

## 具体实施方式

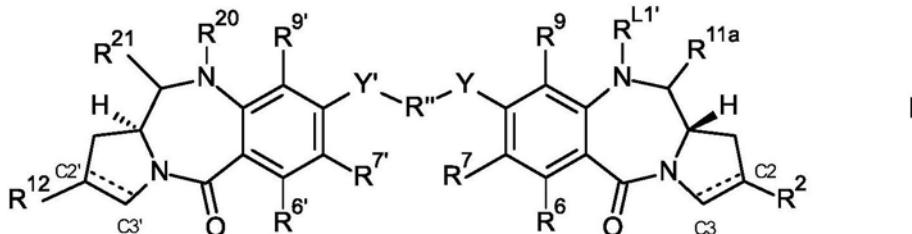
[0096] 抗体药物缀合物(ADC)

[0097] 本公开涉及改善的ADC和第二药剂的组合的功效。

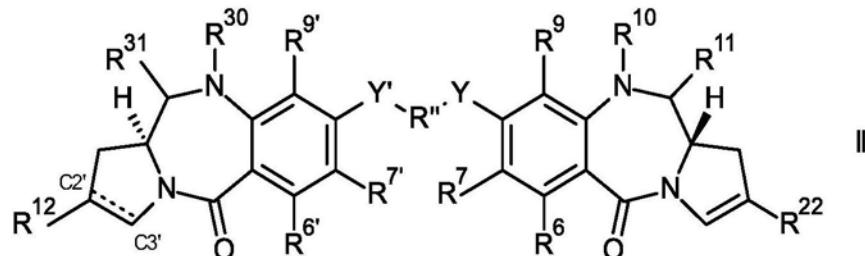
[0098] ADC可以将药物递送到靶位置。靶位置优选地是增殖细胞群。抗体是针对存在于增殖细胞群上的抗原的抗体。在一方面，抗原不存在或以与增殖细胞群(例如肿瘤细胞群)中存在的抗原的量相比降低的水平存在于非增殖细胞群中。

[0099] ADC可以包含可被裂解以便在靶标位置释放药物的接头。药物可以是选自RelA、RelB、RelC、RelD或RelE的化合物。因此，缀合物可用于将化合物RelA、RelB、RelC、RelD或RelE选择性地提供至靶位置。

- [0100] 接头可被存在于靶位置的酶裂解。
- [0101] 本公开特别涉及用W02014/057119中公开的并如本文所述的抗CD25 ADC进行的治疗。
- [0102] 抗-CD25 ADC
- [0103] 如本文所用，术语“CD25-ADC”是指其中抗体组分是抗CD25抗体的ADC。术语“PBD-ADC”是指其中药物组分是吡咯并苯并二氮杂草(PBD)弹头的ADC。术语“抗CD25-ADC”是指其中抗体组分是抗CD25抗体并且药物组分是PBD弹头的ADC。
- [0104] ADC可以包含式L-(D<sup>L</sup>)<sub>p</sub>的缀合物，其中D<sup>L</sup>为式I或II：



[0105]



- [0106] 其中：
- [0107] L是抗体(Ab)，其为与CD25结合的抗体；
- [0108] 当C2'与C3'之间存在双键时，R<sup>12</sup>选自由以下组成的组：
- [0109] (ia) C<sub>5-10</sub>芳基，其任选地被一个或多个选自包括以下的组的取代基取代：卤素、硝基、氰基、醚、羧基、酯、C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-7</sub>杂环基以及双-氧基-C<sub>1-3</sub>亚烷基；
- [0110] (ib) C<sub>1-5</sub>饱和的脂族烷基；
- [0111] (ic) C<sub>3-6</sub>饱和的环烷基；

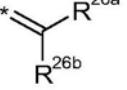
- [0112] (id) 其中R<sup>21</sup>、R<sup>22</sup>和R<sup>23</sup>中的每一个独立地选自H、C<sub>1-3</sub>饱和烷基、C<sub>2-3</sub>烯基、C<sub>2-3</sub>炔基和环丙基，其中所述R<sup>12</sup>基团中碳原子的总数不超过5；

- [0113] (ie) 其中R<sup>25a</sup>和R<sup>25b</sup>中的一个H并且另一个选自：苯基，所述苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代；吡啶基；以及苯硫基；以及

- [0114] (if) 其中R<sup>24</sup>选自：H；C<sub>1-3</sub>饱和烷基；C<sub>2-3</sub>烯基；C<sub>2-3</sub>炔基；环丙基；苯基，

所述苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代；吡啶基；以及苯硫基；

[0115] 当C2'与C3'之间存在单键时，

[0116] R<sup>12</sup>为  其中R<sup>26a</sup>和R<sup>26b</sup>独立地选自H、F、C<sub>1-4</sub>饱和烷基、C<sub>2-3</sub>烯基，所述烷基和

烯基任选地被选自C<sub>1-4</sub>烷基酰氨基和C<sub>1-4</sub>烷基酯的基团取代；或者，当R<sup>26a</sup>和R<sup>26b</sup>中的一个H时，另一个选自腈和C<sub>1-4</sub>烷基酯；

[0117] R<sup>6</sup>和R<sup>9</sup>独立地选自H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、硝基、Me<sub>3</sub>Sn以及卤素；

[0118] 其中R和R'独立地选自任选取代的C<sub>1-12</sub>烷基、C<sub>3-20</sub>杂环基以及C<sub>5-20</sub>芳基；

[0119] R<sup>7</sup>选自H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、硝基、Me<sub>3</sub>Sn以及卤素；

[0120] R''为C<sub>3-12</sub>亚烷基，所述链可被一个或多个杂原子，例如O、S、NR<sup>N2</sup>（其中R<sup>N2</sup>为H或C<sub>1-4</sub>烷基），和/或芳环，例如苯或吡啶中断；

[0121] Y和Y'选自O、S或NH；

[0122] R<sup>6'</sup>、R<sup>7'</sup>、R<sup>9'</sup>分别选自与R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>和R<sup>9</sup>相同的基团；

[0123] [式I]

[0124] R<sup>L1'</sup>是用于连接至抗体(Ab)的接头；

[0125] R<sup>11a</sup>选自OH、OR<sup>A</sup>（其中R<sup>A</sup>为C<sub>1-4</sub>烷基）和SO<sub>z</sub>M（其中z为2或3，并且M为单价药学上可接受的阳离子）；

[0126] R<sup>20</sup>和R<sup>21</sup>一起在它们所结合的氮和碳原子之间形成双键，或者；

[0127] R<sup>20</sup>选自H和R<sup>C</sup>，其中R<sup>C</sup>是封端基团；

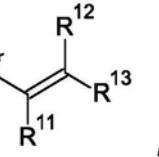
[0128] R<sup>21</sup>选自OH、OR<sup>A</sup>和SO<sub>z</sub>M；

[0129] 当C2与C3之间存在双键时，R<sup>2</sup>选自由以下组成的组：

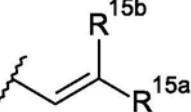
[0130] (ia) C<sub>5-10</sub>芳基，其任选地被一个或多个选自包括以下的组的取代基取代：卤素、硝基、氰基、醚、羧基、酯、C<sub>1-7</sub>烷基、C<sub>3-7</sub>杂环基以及双-氧基-C<sub>1-3</sub>亚烷基；

[0131] (ib) C<sub>1-5</sub>饱和的脂族烷基；

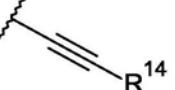
[0132] (ic) C<sub>3-6</sub>饱和的环烷基；

[0133] (id)  其中R<sup>11</sup>、R<sup>12</sup>和R<sup>13</sup>中的每一个独立地选自H、C<sub>1-3</sub>饱和烷基、C<sub>2-3</sub>烯

基、C<sub>2-3</sub>炔基和环丙基，其中所述R<sup>2</sup>基团中碳原子的总数不超过5；

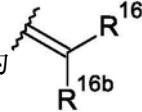
[0134] (ie)  其中R<sup>15a</sup>和R<sup>15b</sup>中的一个是H并且另一个选自：苯基，所述苯

基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代；吡啶基；以及苯硫基；以及

[0135] (if)  其中R<sup>14</sup>选自：H；C<sub>1-3</sub>饱和烷基；C<sub>2-3</sub>烯基；C<sub>2-3</sub>炔基；环丙基；苯

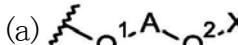
基，所述苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代；吡啶基；以及苯硫基；

[0136] 当C2与C3之间存在单键时,

[0137] R<sup>2</sup>为  其中R<sup>16a</sup>和R<sup>16b</sup>独立地选自H、F、C<sub>1-4</sub>饱和烷基、C<sub>2-3</sub>烯基,所述烷基和烯基任选地被选自C<sub>1-4</sub>烷基酰氨基和C<sub>1-4</sub>烷基酯的基团取代;或者,当R<sup>16a</sup>和R<sup>16b</sup>中的一个是H时,另一个选自腈和C<sub>1-4</sub>烷基酯;

[0138] [式II]

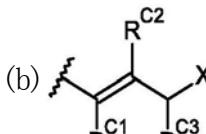
[0139] R<sup>22</sup>为式IIIa、式IIIb或式IIIc:

[0140] (a)  IIIa

[0141] 其中A是C<sub>5-7</sub>芳基,或者

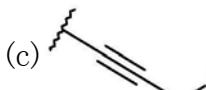
[0142] (i) Q<sup>1</sup>是单键,并且Q<sup>2</sup>选自单键和-Z-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>- ,其中Z选自单键、O、S和NH,n为1至3;或者

[0143] (ii) Q<sup>1</sup>是-CH=CH-,并且Q<sup>2</sup>是单键;

[0144] (b)  IIIb

[0145] 其中;

[0146] R<sup>C1</sup>、R<sup>C2</sup>和R<sup>C3</sup>独立地选自H和未取代的C<sub>1-2</sub>烷基;

[0147] (c)  IIIc

[0148] 其中Q选自O-R<sup>L2'</sup>、S-R<sup>L2'</sup> 和NR<sup>N</sup>-R<sup>L2'</sup>,其中R<sup>N</sup>选自H、甲基和乙基

[0149] X选自包括以下的组:O-R<sup>L2'</sup>、S-R<sup>L2'</sup>、CO<sub>2</sub>-R<sup>L2'</sup>、CO-R<sup>L2'</sup>、NH-C(=O)-R<sup>L2'</sup>、NHNH-R<sup>L2'</sup>、

CONHNH-R<sup>L2'</sup>、 NR<sup>N</sup>R<sup>L2'</sup> ,其中R<sup>N</sup>选自包括H和C<sub>1-4</sub>烷基的组;

[0150] R<sup>L2'</sup>是用于连接至抗体(Ab)的接头;

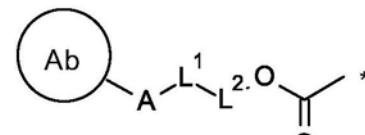
[0151] R<sup>10</sup>和R<sup>11</sup>一起在它们所结合的氮和碳原子之间形成双键,或者;

[0152] R<sup>10</sup>是H并且R<sup>11</sup>选自OH、OR<sup>A</sup>和SO<sub>2</sub>M;

[0153] R<sup>30</sup>和R<sup>31</sup>一起在它们所结合的氮和碳原子之间形成双键,或者;

[0154] R<sup>30</sup>是H并且R<sup>31</sup>选自OH、OR<sup>A</sup>和SO<sub>2</sub>M。

[0155] 在一些实施方案中,L-R<sup>L1'</sup>或L-R<sup>L2'</sup>是以下基团:

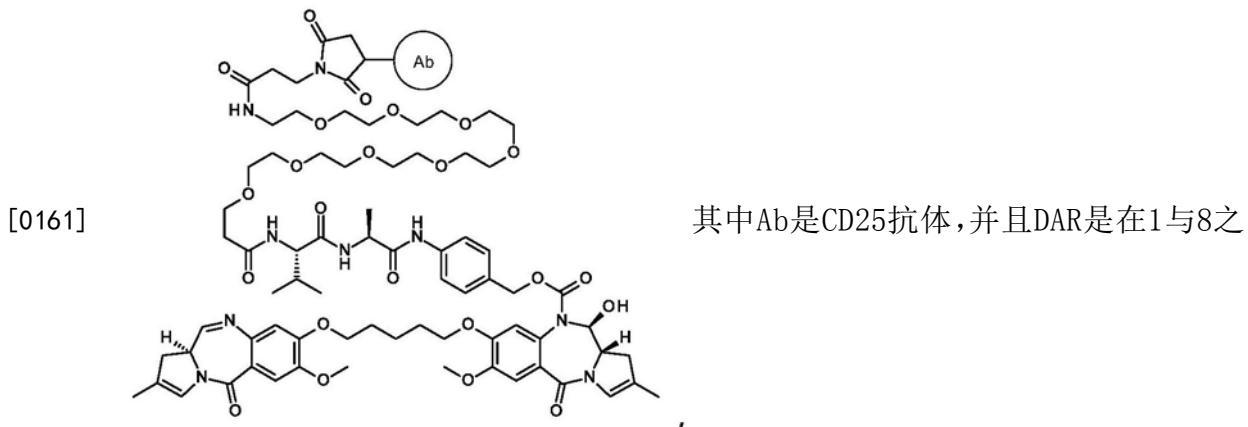
[0156] 

[0157] 其中星号表示与PBD的连接点,Ab是抗体,L<sup>1</sup>是可裂解的接头,A是将L<sup>1</sup>连接到抗体的连接基团,L<sup>2</sup>是共价键或与-OC(=O)-一起形成自杀式接头。

[0158] 在这些实施方案的一些实施方案中,L<sup>1</sup>是酶可裂解的。

[0159] 先前已经表明,此类ADC可用于治疗表达CD25的癌症(参见例如WO2014/057119,其以引用方式整体并入本文)。

[0160] 术语抗CD25-ADC可以包括WO 2014/057119中描述的任何实施方案。特别地,在优选实施方案中,ADC可以具有以下化学结构:



[0162] 抗体可包含VH结构域,所述VH结构域包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.3的VH CDR1、具有氨基酸序列SEQ ID NO.4的VH CDR2以及具有氨基酸序列SEQ ID NO.5的VH CDR3。

[0163] 在一些方面,抗CD25-ADC的抗体组分是包含以下的抗体:VH结构域,所述VH结构域包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.3的VH CDR1、具有氨基酸序列SEQ ID NO.4的VH CDR2以及具有氨基酸序列SEQ ID NO.5的VH CDR3。在一些实施方案中,抗体包含具有根据SEQ ID NO.1的序列的VH结构域。

[0164] 抗体可还包含:VL结构域,所述VL结构域包含具有氨基酸序列SEQ ID NO.6的VL CDR1、具有氨基酸序列SEQ ID NO.7的VL CDR2以及具有氨基酸序列SEQ ID NO.8的VL CDR3。在一些实施方案中,抗体还包含具有根据SEQ ID NO.2的序列的VL结构域。

[0165] 在一些实施方案中,抗体包含VH结构域和VL结构域,所述VH和VL结构域具有与SEQ ID NO.2配对的序列SEQ ID NO.1。

[0166] VH和VL结构域可配对以便形成结合CD25的抗体抗原结合位点。

[0167] 在优选实施方案中,抗体是完整抗体,其包含VH结构域和VL结构域,所述VH和VL结构域具有序列SEQ ID NO.1和SEQ ID NO.2。

[0168] 在一些实施方案中,抗体是完全人单克隆IgG1抗体,优选地IgG1,κ。

[0169] 在一些实施方案中,抗体是WO 2004/045512中描述的AB12抗体(Genmab A/S)。

[0170] 在一个方面,抗体是已经如下所述进行了修饰(或进一步修饰)的如本文所述的抗体。在一些实施方案中,抗体是本文公开的抗体的人源化、去免疫化或表面重构型式。

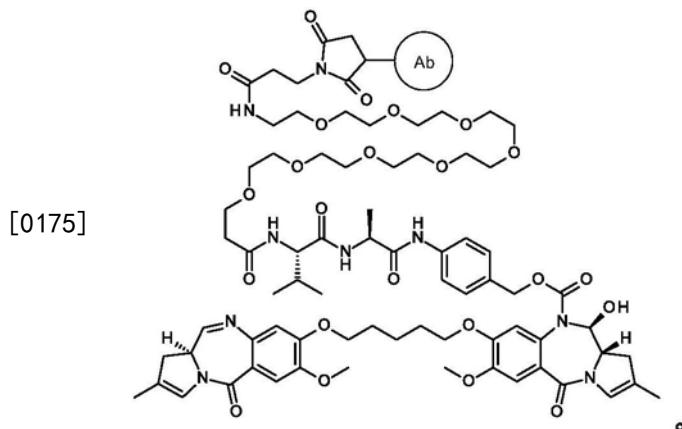
[0171] 用于本公开的各方面的最优选的抗CD25-ADC是如下文所述的ADCX25。

[0172] ADCX25

[0173] ADCX25是一种抗体药物缀合物,由通过可裂解接头连接到吡咯并苯并二氮杂草(PBD)弹头的抗人CD25的人抗体组成。ADCX25的作用机制取决于CD25结合。CD25特异性抗体

将抗体药物缀合物(ADC)靶向表达CD25的细胞。结合时,ADC内化并转运至溶酶体,在所述溶酶体中蛋白酶敏感性接头被切割并且游离PBD二聚体在靶细胞内释放。由于RNA聚合酶的直接抑制或相关转录因子的相互作用的抑制,因此释放的PBD二聚体以序列选择性方式抑制转录。PBD二聚体产生共价交联,其不会扭曲DNA双螺旋并且不被核苷酸切除修复因子识别,从而允许更长的有效期(Hartley 2011)。

[0174] 所述二聚体具有以下化学结构:



[0176] Ab表示抗体AB12(完全人单克隆IgG1,K抗体,分别具有VH和VL序列SEQ ID NO.1和SEQ ID NO.2,也称为HuMax-TAC)。如WO 2014/057119(Conj AB12-E)中所述合成,并且通常具有2.0+/-0.3的DAR(药物与抗体比率)。

[0177] CD25结合

[0178] 如本文所用,“第一靶蛋白”(FTP)优选地是CD25。

[0179] 如本文所用,“结合CD25”用于意指抗体以比非特异性配偶体诸如牛血清白蛋白(BSA,Genbank登录号CAA76847,版本号CAA76847.1GI:3336842,记录更新日期:2011年1月7日下午02:30)更高的亲和力结合CD25。在一些实施方案中,当在生理条件下测量时,抗体以比抗体对BSA的结合常数( $K_a$ )高至少2、3、4、5、10、20、50、100、200、500、1000、2000、5000、 $10^4$ 、 $10^5$ 或 $10^6$ 倍的结合常数结合CD25。本公开的抗体可以高亲和力结合CD25。例如,在一些实施方案中,抗体可以等于或小于约 $10^{-6}$ M,例如等于或小于 $1 \times 10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-10}$ 、 $10^{-11}$ 、 $10^{-12}$ 、 $10^{-13}$ 或 $10^{-14}$ 中的一个的 $K_D$ 结合CD25。

[0180] 在一些实施方案中,CD25多肽对应于Genbank登录号NP\_000408,版本号NP\_000408.1GI:4557667,记录更新日期:2012年9月09日下午04:59。在一个实施方案中,编码CD25多肽的核酸对应于Genbank登录号NM\_000417,版本号NM\_000417.2GI:269973860,记录更新日期:2012年9月09日下午04:59。在一些实施方案中,CD25多肽对应于Uniprot/Swiss-Prot登录号P01589。

[0181] 第二药剂

[0182] 最近开发的增强抗肿瘤免疫力的药剂正在迅速改变对广泛范围的癌症的治疗。然而,这些治疗在所有癌症类型中都无效,反应通常不持久,并且许多患者从治疗中受益很少或没有受益。肿瘤学领域的普遍假设是,仅免疫疗法与其他治疗方案的组合才能最终治愈癌症患者。

[0183] ADC对一系列癌症类型具有良好的耐受性和活性,并且可能是提高治疗的反应率和持久性的组合疗法的一种组分。本公开的目的是将ADC与第二药剂组合。

[0184] 如本文所述的第二药剂可以是免疫肿瘤学 (I0) 药物。

[0185] 免疫肿瘤学 (I0) 药物是一种依赖于人体免疫系统以帮助对抗癌症的癌症疗法,其已显示出增强的抗肿瘤反应持久性。存在不同类型的I0,包括但不限于PD1抑制剂、PD-L1抑制剂、CTLA4抑制剂、GITR激动剂和OX40激动剂。由于相当一部分患者不能通过单药免疫疗法治愈并最终复发,因此需要与替代性I0药物或不同治疗方式的组合治疗(参见KS Peggs等人2009,Clinical and Experimental Immunology,157:9-19[doi:10.1111/j.1365-2249.2009.03912.x];DM Pardoll 2012[doi:10.1038/nrc3239])。

[0186] 免疫原性细胞死亡 (ICD) 是一种特殊形式的细胞死亡,其可刺激针对死细胞抗原(由垂死细胞释放)的免疫反应,并且被认为是诱导适应性免疫反应并改善抗癌治疗的效果的最佳方法之一。此过程通常是次最佳的,需要组合策略来试图恢复细胞死亡的完全免疫原性以用于治疗目的。存在若干种可以诱导ICD的抗肿瘤生物剂,诸如各种蒽环类抗生素(包括阿霉素、表柔比星和伊达比星)、烷化剂(包括奥沙利铂和环磷酰胺)、拓扑异构酶II抑制剂米托蒽醌和蛋白酶体抑制剂硼替佐米。

[0187] 抗体-药物缀合物(包括具有PBD弹头的那些缀合物)可能特别适合作为组合配偶体,因为它们与常规化学疗法相比更具靶向性并且预期向浸润T细胞提供增加的抗原呈递,如对于基于奥利斯他汀的ADC所示。

[0188] 因此,将ADC与I0组合可以具有双重益处:一方面,ADC将直接杀死表达靶标的肿瘤,从而提供即时的抗肿瘤活性,另一方面,由ADC介导的细胞杀伤诱导的免疫原性细胞死亡可能会促进与I0作为单一药剂施用时相比,更强和更持久的适应性免疫反应。

[0189] 第二药剂可以是:

[0190] (a) 布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂(BTKi),例如依鲁替尼(Ibrutinib)(Imbruvica)、阿卡替尼(Acalabrutinib)/ACP-196、ONO/GS-4059、司培替尼(Spelbrutinib)/AVL-292/CC-292、HM71224(坡塞替尼(Poseltinib))或BGB-3111(泽布替尼(Zanubrutinib));

[0191] (b) PD1拮抗剂,例如派姆单抗、纳武单抗、MEDI0680、PDR001(spartalizumab)、卡瑞利珠单抗(Camrelizumab)、AUNP12、皮地利珠单抗(Pidilizumab)、Cemiplimab(REGN-2810)、AMP-224、BGB-A317(替雷利珠单抗(Tisleizumab))或BGB-108;

[0192] (c) PD-L1拮抗剂,例如阿特珠单抗(atezolizumab)(Tecentriq)、BMS-936559/MDX-1105、德瓦鲁单抗(durvalumab)/MEDI4736、或MSB0010718C(阿维鲁单抗(Avelumab));

[0193] (d) GITR(糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白)激动剂,例如MEDI1873、TRX518、GWN323、MK-1248、MK-4166、BMS-986156或INCAGN1876;

[0194] (e) OX40激动剂,例如MEDI0562、MEDI6383、MOXR0916、RG7888、OX40mAb24、INCAGN1949、GSK3174998或PF-04518600;

[0195] (f) CTLA-4拮抗剂,例如伊匹单抗(商品名Yervoy)或替西木单抗(Tremelimumab)(最初由Pfizer开发,现为Medimmune);

[0196] (g) 氟达拉滨或阿糖胞苷;或者

[0197] (h) 低甲基化剂,例如胞苷类似物-例如5-氮杂胞苷(阿扎胞苷)和5-氮杂-2'-脱氧胞苷(地西他滨)。

[0198] 下面更详细地描述这些类别的第二药剂中的每一种。

[0199] BTK抑制剂

[0200] BTK是B淋巴细胞发育、分化和信号传导必不可少的非受体酪氨酸激酶。抗原与B细胞抗原受体(BCR)的结合会触发信号传导,最终导致B细胞活化。在质膜上进行BCR接合和活化后,BTK在若干个位点使PLCG2磷酸化,从而通过钙动员点燃下游信号传导途径,然后活化蛋白激酶C(PKC)家族成员。PLCG2磷酸化与衔接蛋白B细胞连接蛋白BLNK紧密配合进行[Yang等人,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.94:604-609(1997);Rodriguez等人,J.Biol.Chem.276:47982-47992(2001)]。

[0201] BTK充当将各种信号传导蛋白聚集在一起的平台,并且参与了细胞因子受体信号传导途径。它作为Toll样受体(TLR)途径的组成部分,在先天免疫细胞的功能以及适应性免疫中起着重要作用。TLR途径用作检测病原体的主要监视系统,并且对于活化宿主防御系统至关重要[Horwood等人J.Immunol.176:3635-3641(2006)]。

[0202] BTK的另一个关键作用是调控脾B细胞中TLR9的活化。在TLR途径中,BTK诱导TIRAP的酪氨酸磷酸化,这导致TIRAP降解。

[0203] BTK在转录调控中也起着至关重要的作用,因为它参与了连接TLR8和TLR9的信号传导途径。因此,BTK活性诱导了NF- $\kappa$ B的活性,所述NF- $\kappa$ B本身参与调控数百种基因的表达。BTK的其他转录靶包括ARID3A、NFAT和GTF2I;BTK是形成功能性ARID3A DNA结合复合物所必需的;而BTK对GTF2I的瞬时磷酸化使其转位至细胞核,从而结合调控性增强元件以调节基因表达[Rajaiya,Mol.Cell.Biol.26:4758-4768(2006)]。

[0204] BTK在细胞凋亡的调控中具有双重作用。

[0205] “BTK抑制剂”意指抑制BTK活性的任何化学化合物或生物分子。例如,药剂以0.001  $\mu$ M至约2  $\mu$ M的IC50预防BTK激酶活性。

[0206] 可以基于制造商提供的方案,使用Btk(Invitrogen公司)和Z'-LYTE<sup>TM</sup>激酶测定试剂盒-Tyr1肽(Invitrogen公司)来测量BTK酶抑制活性,所述试剂盒含有以下试剂:Tyr-1肽,Thy-1磷酸肽、5x激酶缓冲液、ATP、显影试剂B、显影缓冲液和终止试剂。可以用二甲亚砜(DMSO)或DMSO稀释5  $\mu$ l/孔的BTK抑制剂溶液,然后将10  $\mu$ l/孔的底物/酶混合物溶液分配到96孔测定板上,并使反应在30℃下进行20分钟。底物/酶混合物溶液可通过用激酶缓冲液(DL-二硫苏糖醇(DTT,2.7mM),1.33x激酶缓冲液)稀释以提供4  $\mu$ M的Tyr-1肽的最终浓度和5nM的最终BTK浓度。然后可以添加5  $\mu$ l/孔的三磷酸腺苷(ATP,最终浓度=36  $\mu$ M),并且使反应在30℃下进行1小时。反应完成后,可添加10  $\mu$ l通过使用显影缓冲液将显影试剂B稀释至128x而提供的显影溶液,并使反应在30℃下再进行1小时。然后可以通过添加10  $\mu$ l的终止溶液来终止酶促反应。可以使用Fusion Universal Microplate Analyzer(PerkinElmer Inc.)荧光板读数器测量每个孔在445nm和520nm下的荧光强度。可以根据试剂盒随附的方案,使用445nm下的发射(香豆素发射)与520nm下的发射(荧光素发射)的比率来确定磷酸化百分比。

[0207] BTK抑制剂的抑制百分比(%)可以使用以下等式计算。

[0208] 磷酸化抑制百分比(%) = 1 - { (AC-AX) / (AC-AB) } x 100

[0209] AX:已添加BTK抑制剂时的磷酸化%

[0210] AB:在不添加ATP的情况下磷酸化%(空白)

[0211] AC:仅添加DMSO时的磷酸化%(对照)

[0212] BTK抑制剂的50%抑制值(IC50值)可以由基于每种浓度的BTK抑制剂的抑制%的

抑制曲线确定。

[0213] BTKi依鲁替尼(Imbruvica)是一种与布鲁顿酪氨酸激酶(BTK)共价结合的小分子药物，并且已被用于治疗B细胞癌，例如套细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病和非霍奇金淋巴瘤形式的瓦氏巨球蛋白血症(Waldenström's macroglobulinemia)。

[0214] 据报告，依鲁替尼减小了对趋化因子CXCL12和CXCL13的慢性淋巴细胞白血病(CLL)细胞趋化性，并在B细胞受体(BCR)刺激后抑制细胞粘附(S Ponader等人2011,doi:10.1182/blood-2011-10-386417.PMID 22180443)。此外，依鲁替尼通过靶向CXCR4/SDF1轴来下调CD20的表达(Pavlasova 2016,PMID27480113)。总之，这些数据与机械模型一致，因此依鲁替尼阻断BCR信号传导，其驱动B细胞凋亡和/或破坏细胞迁移以及对保护性肿瘤微环境的粘附。

[0215] 在对慢性淋巴细胞白血病(CLL)细胞的临床前研究中，据报告，依鲁替尼可促进细胞凋亡，抑制增殖并还防止CLL细胞响应于微环境提供的存活刺激(Pavlasova 2016)。这也导致恶性B细胞中的Mc11水平(抗凋亡蛋白)降低。用依鲁替尼处理活化的CLL细胞可抑制BTK酪氨酸磷酸化，并也有效地消除彼此激酶(包括ERK1/2、PI3K和NF- $\kappa$ B)活化的下游存活途径。此外，依鲁替尼在体外抑制CLL细胞的增殖，从而有效阻断了从微环境向外部CLL细胞提供的存活信号(包括可溶性因子(CD40L、BAFF、IL-6、IL-4和TNF- $\alpha$ )、纤连蛋白接合和基质细胞接触)。

[0216] 因此，将靶向第一靶蛋白(FTP)的ADC与BTKi组合是有利的，因为一方面，ADC将直接杀死FTP阳性肿瘤细胞，而另一方面，BTKi将与恶性B细胞相互作用，从而导致癌细胞增殖的抑制。在FTP(+)肿瘤细胞旁边，FTP(+)肿瘤细胞附近的FTP阴性肿瘤细胞将潜在地被在细胞杀死FTP(+)细胞后释放的PBD-二聚体的旁观者机制杀死。因此，ADC将直接杀死肿瘤细胞。

[0217] 此外，有迹象表明，BTKi降低了肿瘤细胞的移动性，并使这些细胞中的调控平衡更趋于凋亡。据信由BTKi诱导的这些改变将使肿瘤细胞更容易被直接和间接ADC药物杀死。

[0218] 为了证明ADC与BTKi协同作用，一组FTP(+)细胞系将用一系列浓度的ADC和BTKi二者共同处理。作为阴性对照，同一组细胞系将用一系列浓度的BTKi或用一系列浓度的ADC和媒介物共同处理。温育后，将测量两个参数：表面FTP的量(如通过流式细胞术测定)和组合的体外细胞毒性(如通过MTS测定法测定)。为了测定细胞毒性，通过每孔添加MTS并在37℃下温育4小时来测量细胞活力。与未处理的对照相比，计算细胞活力百分比。通过将细胞活力数据转化为受影响的分数并使用CalcuSyn分析程序计算组合指数来计算细胞毒性协同作用。

[0219] 适用作本公开中的第二药剂的BTKi包括：

[0220] (1) 9-(1-丙烯酰基-3-氮杂环丁烷基)-6-氨基-7-(4-苯氧基苯基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮，

[0221] (2) 6-氨基-9-{(3R)-1-[ (2E)-4-(二甲基氨基)-2-丁烯酰基]-3-吡咯烷基}-7-(4-苯氧基苯基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮，

[0222] (3) 9-[(1-丙烯酰基-4-哌啶基)甲基]-6-氨基-7-(4-苯氧基苯基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮，

[0223] (4) 6-氨基-9-{(3R)-1-(2-丁炔基)-3-吡咯烷基}-7-(4-苯氧基苯基)-7,9-二氢-

8H-嘌呤-8-酮、

[0224] (5) 6-氨基-9-{(3S)-1-[ (2E)-4-(二甲基氨基)-2-丁烯酰基]-3-吡咯烷基}-7-(4-苯氧基苯基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮，

[0225] (6) 6-氨基-7-[4-(3-氯苯氧基)苯基]-9-{(3R)-1-[ (2E)-4-(二甲基氨基)-2-丁烯酰基]-3-吡咯烷基}-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮，

[0226] (7) 6-氨基-9-[1-(2-丁炔基)-3-吡咯烷基]-7-(4-苯氧基苯基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮，以及

[0227] (8) 6-氨基-9-{1-[ (2E)-4-(二甲基氨基)-2-丁烯酰基]-3-吡咯烷基}-7-(4-苯氧基苯基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮。

[0228] 用作本公开中的第二药剂的优选BTK抑制剂包括(依鲁替尼是最优选的)：

[0229] a) 依鲁替尼(Imbruvica)

[0230] i.CAS编号→936563-96-1

[0231] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0232] ii.NCBI Pubchem参考→24821094

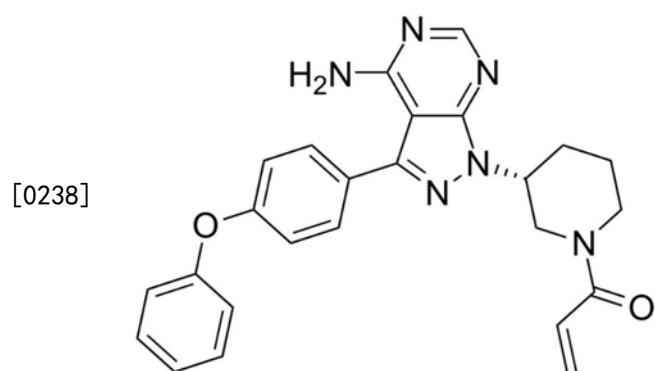
[0233] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

[0234] iii.IUPHAR/BPS参考→6912

[0235] (参见<http://www.guidetopharmacology.org/>)

[0236] iv.唯一标识码 (UNII)→1X700SD4VX

[0237] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



[0239] 式I,依鲁替尼:1-[ (3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮

[0240] b) 阿卡替尼/ACP-196

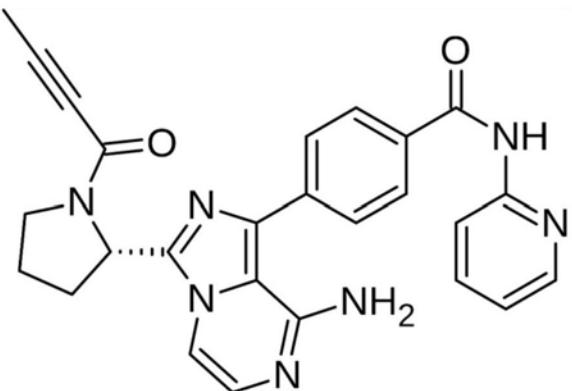
[0241] i.CAS编号→1420477-60-6

[0242] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0243] ii.Chemspider→36764951

[0244] (参见<https://chemspider.com/>)

[0245]



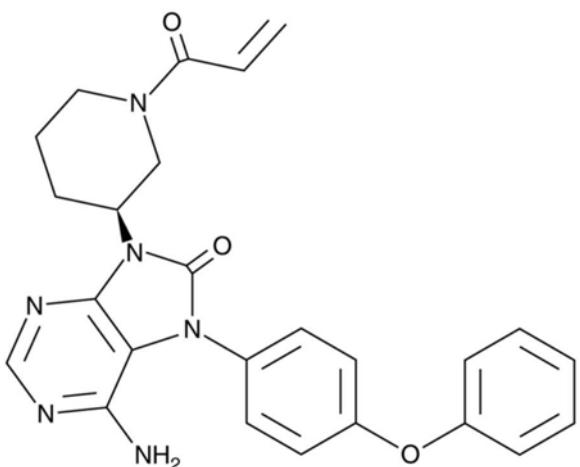
[0246] 式II,阿卡替尼:4-{(2S)-1-(2-丁炔基)-2-吡咯烷基}-N-(2-吡啶基)苯甲酰胺

[0247] c) ONO/GS-4059

[0248] i.CAS编号→1351635-67-0

[0249] (参见ht中:<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0250]



[0251] 式III,ONO/GS-4059:6-氨基-7,9-二氢-9-[{(3S)-1-(1-氧代-2-丙烯-1-基)-3-哌啶基}-7-(4-苯氧基苯基)-8H-嘌呤-8-酮

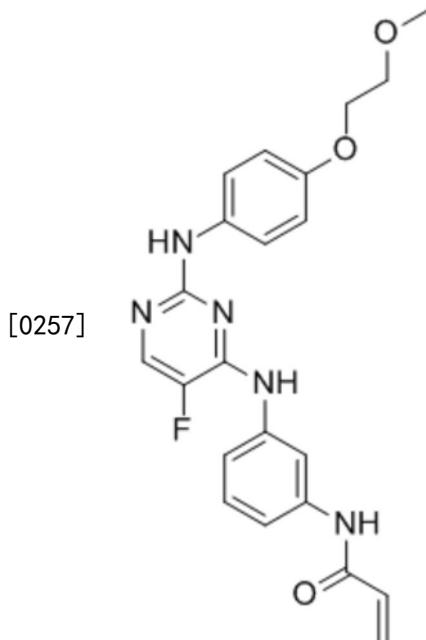
[0252] d) 司培替尼/AVL-292/CC-292

[0253] i.CAS编号→1202757-89-8

[0254] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0255] ii.PubChem ID→59174488

[0256] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

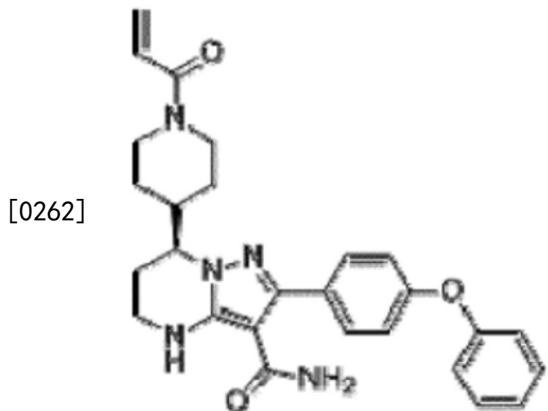


[0258] 式IV, 司培替尼:N-[3-({5-氟-2-[4-(2-甲氧基乙氧基)苯胺基]嘧啶-4-基}氨基)苯基]丙-2-烯酰胺

[0259] e) BGB-3111(泽布替尼)

[0260] i.CAS编号→1691249-45-2

[0261] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

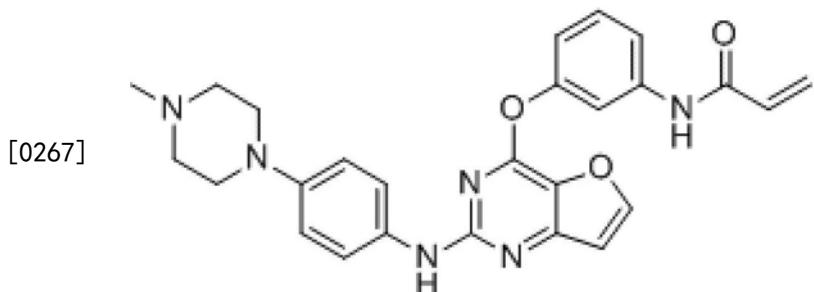


[0263] 式V, 泽布替尼:(7S)-4,5,6,7-tetrahydro-7-[1-(1-oxido-2-propenyl)-4-aminobutyl]-2-(4-苯氧基苯基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-甲酰胺

[0264] f) HM71224(坡塞替尼)

[0265] i.CAS编号→1353552-97-2

[0266] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)



[0268] 式VI, 坡塞替尼:N- (3-((2-((4-(4-甲基哌嗪-1-基) 苯基) 氨基) 呋喃并[3,2-d]密啶-4-基) 氧基) 苯基) 丙烯酰胺

[0269] -----

[0270] 在一些实施方案中,BTK多肽对应于Genbank登录号CAA41728,版本号CAA41728.1,记录更新日期:2011年2月2日上午10:07。在一个实施方案中,编码BTK多肽的核酸对应于Genbank登录号X58957,版本号X58957.1,记录更新日期:2011年2月2日上午10:07。在一些实施方案中,BTK多肽对应于Uniprot/Swiss-Prot登录号Q06187。

[0271] PD1拮抗剂

[0272] 程序性死亡受体I (PD1) 是一种免疫抑制性受体,其主要在活化的T细胞和B细胞上表达。已显示与其配体的相互作用在体外和体内均减弱T细胞反应。已显示PD1与其配体之一PD-L1之间的相互作用的阻断可增强肿瘤特异性CD8+T细胞免疫力,并且因此可能有助于免疫系统清除肿瘤细胞。

[0273] PD1 (由基因Pdcd1编码) 是与CD28和CTLA-4相关的免疫球蛋白超家族成员。已显示PD1在接合其配体 (PD-L1和/或PD-L2) 后负性调控抗原受体信号传导。已解决了鼠类PD1的结构以及小鼠PD1与人类PD-L1的共晶结构 (Zhang, X. 等人, (2004) *Immunity* 20:337-347; Lin等人, (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105:301 I-6)。PD1和类似家族成员是I型跨膜糖蛋白,其含有负责结合配体的Ig可变型 (V型) 结构域和负责结合信号传导分子的胞质尾区。PD1的胞质尾区含有两个基于酪氨酸的信号传导基序,即ITIM (基于免疫受体酪氨酸的抑制基序) 和ITSM (基于免疫受体酪氨酸的开关基序)。

[0274] 在人类中,已在通过免疫组织化学评估的许多原发性肿瘤活检物中发现了PD1 (在肿瘤浸润性淋巴细胞上) 和/或PD-L1 (在肿瘤细胞上) 的表达。这些组织包括肺癌、肝癌、卵巢癌、子宫颈癌、皮肤癌、结肠癌、神经胶质瘤、膀胱癌、乳腺癌、肾癌、食道癌、胃癌、口腔鳞状细胞癌、尿路上皮细胞癌和胰腺癌以及头颈部肿瘤 (Brown, J. A. 等人., (2003) *J Immunol.* 170:I257-I266; Dong H. 等人, (2002) *Nat. Med.* 8:793-800; Wintterle等人, (2003) *Cancer Res.* 63:7462-7467; Strome, S.E. 等人, (2003) *Cancer Res.* 63:6501-6505; Thompson, R.H. 等人, (2006) *Cancer Res.* 66:3381-5; Thompson等人, (2007) *Clin. Cancer Res.* 13:I757-61; Nomi, T. 等人, (2007) *Clin. Cancer Res.* 13:2151-7)。更引人注目的是,肿瘤细胞上的PD-配体表达与多种肿瘤类型的癌症患者的不良预后相关 (综述于Okazaki和Honjo, (2007) *Int. Immunol.* 19:813-824)。

[0275] 迄今为止,许多研究已表明PD1与其配体 (PD-L1和PD-L2) 的相互作用导致体外和体内淋巴细胞增殖的抑制。PD1/PD-L1相互作用的阻断可以导致肿瘤特异性T细胞免疫力增强,并且因此有助于免疫系统清除肿瘤细胞。为了解决这个问题,进行了许多研究。在侵袭

性胰腺癌的鼠类模型中(Nomi,T.等人(2007)Clin.Cancer Res.13:2151-2157),已证实了PD1/PD-L1阻断的治疗功效。施用针对PD1或PD-L1的抗体显著抑制了肿瘤生长。抗体阻断有效地促进肿瘤反应性CD8+T细胞浸润到肿瘤中,导致抗肿瘤效应物上调,所述效应物包括IFN $\gamma$ 、颗粒酶带穿孔素。此外,作者表明,PD1阻断可以与化学疗法有效组合,以产生协同效应。在另一项研究中,使用小鼠鳞状细胞癌模型,PD1或PD-L1的抗体阻断显著抑制了肿瘤生长(Tsushima,F.等人,(2006)Oral Oneal.42:268-274)。

[0276] “PD1拮抗剂”是指通过抑制PD1信号传导刺激免疫反应的任何化学化合物或生物分子。

[0277] 为了检查例如PD1活性的增强程度,用潜在的活化剂或抑制剂处理包含给定例如蛋白质、基因、细胞或生物体的样品或测定物,并将其与用无活性对照分子处理的对照样品进行比较。对照样品指定为相对活性值100%。当相对于对照的活性值为约90%或更少,通常为85%或更少,更通常为80%或更少,最通常为75%或更少,通常为70%或更少,更通常为65%或更少,最通常为60%或更少,通常为55%或更少,通常为50%或更少,更通常为45%或更少,最通常为40%或更少,优选为35%或更少,更优选为30%或更少,还更优选为25%或更少,并且最优选为少于20%时,实现抑制。当相对于对照的活性值为高约110%,通常为高至少120%,更通常为高至少140%,更通常为高至少160%,通常为高至少180%,更通常为高至少2倍,最通常为高至少2.5倍,通常为高至少5倍,更通常为高至少10倍,优选为高至少20倍,更优选为高至少40倍,并且最优选为高超过40倍时,实现活化。

[0278] 将靶向第一靶蛋白(FTP)的ADC与PD1抑制剂组合是有利的,因为一方面,ADC将直接杀死FTP阳性肿瘤细胞,而另一方面,PD1抑制剂将参与患者自身的免疫系统以消除癌细胞。在FTP(+)肿瘤细胞旁边,FTP(+)肿瘤细胞附近的FTP阴性肿瘤细胞将潜在地被在细胞杀死CD25(+)细胞后释放的PBD-二聚体的旁观者机制杀死。因此,ADC将直接杀死肿瘤细胞。

[0279] 由以PBD二聚体杀死的细胞得以释放肿瘤相关抗原将触发免疫系统,这将通过使用在来自许多不同肿瘤类型的大部分肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)上表达的程序性细胞死亡蛋白1(PD1)抑制剂进一步增强。通过减少肿瘤内TReg细胞的数量和/或抑制活性,阻断PD1途径可以增强针对从由ADC杀死的肿瘤释放的抗原的抗肿瘤免疫反应。

[0280] PD1的主要功能是在对感染进行抗炎反应时限制T细胞的活性并限制自身免疫力。当T细胞被活化时诱导PD1表达,并且其自身配体之一的结合抑制参与T细胞活化的激酶。因此,在肿瘤环境中,这可能转化为主要的免疫抗性,因为许多肿瘤被TReg细胞高度浸润,这可能进一步抑制效应子免疫反应。可以通过将PD1抑制剂与ADC组合使用来减轻这种抗性机制。

[0281] 适合用作本公开中的第二药剂的PD1拮抗剂包括:

[0282] a) PD1拮抗剂,其抑制PD1与其配体结合配偶体的结合。

[0283] b) PD1拮抗剂,其抑制PD1与PD-L1的结合。

[0284] c) PD1拮抗剂,其抑制PD-1与PDL2的结合。

[0285] d) PD1拮抗剂,其抑制PD-1与PDL1和PDL2的结合。

[0286] e) 部分(a)至(d)的作为抗体的PD1拮抗剂。

[0287] 适合用作本公开中的第二药剂的特定PD1拮抗剂包括:

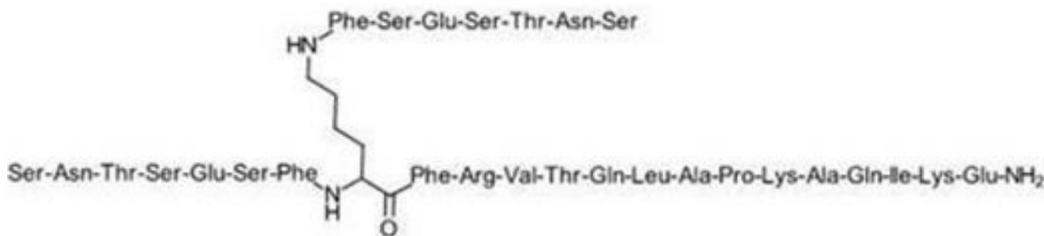
[0288] a) 派姆单抗(商标名Keytruda)

- [0289] i.CAS编号→1374853-91-4  
[0290] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)  
[0291] ii.NCBI Pubchem参考→254741536  
[0292] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)  
[0293] iii.DrugBank参考→DB09037  
[0294] (参见<https://www.drugbank.ca/>)  
[0295] iv.唯一标识码 (UNII)→DPT003T46P  
[0296] (参见 <http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)  
[0297] b) 纳武单抗(商标名Opdivo)  
[0298] i.CAS编号→946414-94-4  
[0299] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)  
[0300] ii.DrugBank参考→DB09035  
[0301] (参见<https://www.drugbank.ca/>)  
[0302] c) MEDI0680(以前为AMP-514)  
[0303] -如W02014/055648、W02015/042246、W02016/127052、W02017/004016、W02012/145493、US8609089、W02016/007235、W02016/011160; Int. J. Mol. Sci. 2016年7月; 17(7): 1151, doi:10.3390/ijms17071151; 以及Drug Discov Today, 2015年9月; 20(9): 1127-34. doi:10.1016/j.drudis.2015.07.003所述。  
[0304] -还参见临床试验NCT02271945和NCT02013804:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>  
[0305] d) PDR001(spartalizumab)  
[0306] i.CAS编号→1935694-88-4  
[0307] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)  
[0308] ii.唯一标识码 (UNII)→Q0G25L6Z8Z  
[0309] (参见 <http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)  
[0310] -如W02016/007235和W02016/011160所述  
[0311] -NCI汇总代码→C121625  
[0312] (参见<http://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/>)  
[0313] e) 卡瑞利珠单抗[INCSHR-1210](Incyte)  
[0314] i.CAS编号→1798286-48-2  
[0315] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)  
[0316] ii.唯一标识码 (UNII)→73096E137E  
[0317] (参见 <http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)  
[0318] f) AUNP12(肽)(Aurigene/PierreFabre)  
[0319] i. 在W02011/161699中公开为SEQ ID NO:49,也称为“化合物8”,参见W02011/161699的A2公布的第77页上的实施例2。

[0320] ii.CAS编号→1353563-85-5

[0321] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0322]



[0323] 或:  
SNTSESF-NH  
I  
SNTSESF**K**FRVTQLAPKAQ**I**KE-NH<sub>2</sub>

[0324] g) 皮地利珠单抗(CT-01 1)

[0325] i.CAS编号→1036730-42-3

[0326] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0327] ii.唯一标识码 (UNII)→B932PAQ1BQ

[0328] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[0329] h) Cemiplimab(以前为REGN-2810、SAR-439684)

[0330] i.CAS编号→1801342-60-8

[0331] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0332] ii.唯一标识码 (UNII)→6QLV057INT

[0333] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[0334] -如W02016/007235所述

[0335] -NCI汇总代码→C121540

[0336] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/>)

[0337] i) BGB-A317(替雷利珠单抗)

[0338] i.如US 9,834,606 B2所述

[0339] ii.参见临床试验NCT03209973 (<https://clinicaltrials.gov/>)

[0340] iii.NCI汇总代码C121775

[0341] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/>)

[0342] j) BGB-108

[0343] -参见W02016/000619和US8735553

[0344] k) AMP-224

[0345] 参见临床试验NCT02298946, <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

[0346] -----

[0347] 在一些实施方案中,PD1多肽对应于Genbank登录号AAC51773,版本号AAC51773.1,记录更新日期:2010年6月23日上午09:24。在一个实施方案中,编码PD1多肽的核酸对应于Genbank登录号U64863,版本号U64863.1,记录更新日期:2010年6月23日上午09:24。在一些实施方案中,PD1多肽对应于Uniprot/Swiss-Prot登录号Q15116。

[0348] PD-L1拮抗剂

[0349] “PD-L1拮抗剂”意指通过抑制PD-L1信号传导刺激免疫反应的任何化学化合物或生物分子。

[0350] 为了检查例如PD-L1活性的增强程度,用潜在的活化剂或抑制剂处理包含给定例如蛋白质、基因、细胞或生物体的样品或测定物,并将其与用无活性对照分子处理的对照样品进行比较。对照样品指定为相对活性值100%。当相对于对照的活性值为约90%或更少,通常为85%或更少,更通常为80%或更少,最通常为75%或更少,通常为70%或更少,更通常为65%或更少,最通常为60%或更少,通常为55%或更少,通常为50%或更少,更通常为45%或更少,最通常为40%或更少,优选为35%或更少,更优选为30%或更少,还更优选为25%或更少,并且最优选为少于20%时,实现抑制。当相对于对照的活性值为高约110%,通常为高至少120%,更通常为高至少140%,更通常为高至少160%,通常为高至少180%,更通常为高至少2倍,最通常为高至少2.5倍,通常为高至少5倍,更通常为高至少10倍,优选为高至少20倍,更优选为高至少40倍,并且最优选为高超过40倍时,实现活化。

[0351] 将靶向第一靶蛋白(FTP)阳性淋巴瘤和白血病的ADC与PD-L1抑制剂组合是有利的,因为一方面,ADC将直接杀死FTP阳性肿瘤细胞,而另一方面,PD-L1抑制剂将参与患者自身的免疫系统以消除癌细胞。

[0352] 在FTP(+)肿瘤细胞旁边,FTP(+)肿瘤细胞附近的靶标阴性肿瘤细胞可被在细胞杀死FTP(+)细胞后释放的PBD-二聚体的旁观者机制杀死。因此,ADC将直接杀死肿瘤细胞。由以PBD二聚体杀死的细胞得以释放肿瘤相关抗原将触发免疫系统,这将通过使用程序性细胞死亡蛋白1配体抑制剂(PD-L1,也称为B7-H1或CD274)进一步增强。

[0353] PD-L1通常在来自许多不同人类肿瘤的肿瘤细胞表面上调。干扰肿瘤上表达的PD1配体将避免肿瘤微环境中的免疫抑制,并且因此使用PDL1抑制剂阻断PD1途径可增强针对从由ADC杀死的肿瘤释放的抗原的抗肿瘤免疫反应。

[0354] 将靶向第一靶蛋白(FTP)的ADC与PD1抑制剂组合是有利的,因为一方面,ADC将直接杀死FTP阳性肿瘤细胞,而另一方面,PD1抑制剂将参与患者自身的免疫系统以消除癌细胞。在FTP(+)肿瘤细胞旁边,FTP(+)肿瘤细胞附近的FTP阴性肿瘤细胞可被在细胞杀死CD19(+)或CD22(+)细胞后释放的PBD-二聚体的旁观者机制杀死。因此,ADC将直接杀死肿瘤细胞。

[0355] 适合用作本公开中的第二药剂的PD-L1拮抗剂包括PD-L1拮抗剂,其:

[0356] (a) 为PD-L1结合拮抗剂;

[0357] (b) 抑制PD-L1与PD1的结合;

[0358] (c) 抑制PD-L1与B7-1的结合;

[0359] (d) 抑制PD-L1与PD1和B7-1二者的结合;

[0360] (e) 为抗PD-L1抗体。

[0361] 适合用作本公开中的第二药剂的特定PD-L1拮抗剂包括:

[0362] a) 阿特珠单抗(MPDL3280A,商标名Tecentriq)

[0363] i.CAS编号→1380723-44-3

[0364] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0365] ii.DrugBank参考→DB11595

[0366] (参见<https://www.dmgbank.ca/>)

- [0367] iii.唯一标识码 (UNII) → 52CMI0WC3Y
- [0368] (参见 <http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)
- [0369] b) BMS-936559/MDX-1105
- [0370] I.CAS编号→1422185-22-5
- [0371] (参见 <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- [0372] II.参见临床试验NCT02028403,<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>
- [0373] III.关于抗体序列,特别是关于以下抗体,参见W02007/005874:
- [0374] i.具有以下的抗体:
- [0375] a.VH CDR1=DYGFS
- [0376] b.VH CDR2=WITAYNGNTNYAQKLQG
- [0377] c.VH CDR3=DYFYGM DV
- [0378] d.VL CDR1=RASQSVSSYLV
- [0379] e.VL CDR2=DASN RAT
- [0380] f.VL CDR3=QQRSNWPRT
- [0381] ii.具有以下的抗体:
- [0382] a.VH CDR1=TYAIS
- [0383] b.VH CDR2=GIIPIFGKAHYAQKFQG
- [0384] c.VH CDR3=KFHFVSGSPFGMDV
- [0385] d.VL CDR1=RASQSVSSYLA
- [0386] e.VL CDR2=DASN RAT
- [0387] f.VL CDR3=QQRSNWPT
- [0388] iii.具有以下的抗体:
- [0389] a.VH CDR1=SYDVH
- [0390] b.VH CDR2=WLHADTGITKFSQKFQG
- [0391] c.VH CDR3=ERIQLWFDY
- [0392] d.VL CDR1=RASQGIISSWLA
- [0393] e.VL CDR2=AASSLQS
- [0394] f.VL CDR3=QQYNSYPYT
- [0395] c) 德瓦鲁单抗/MEDI4736
- [0396] i.CAS编号→1428935-60-7
- [0397] (参见 <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- [0398] ii.唯一标识码 (UNII) → 28X28X90KV
- [0399] (参见 <http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)
- [0400] iii.VH序列
- [0401] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFT  
ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGTLTVSS
- [0402] iv.VL序列

[0403] EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSG  
TDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSLPWTFGQGTKVEIK

[0404] d) 阿维鲁单抗/MSB0010718C

[0405] i. CAS编号→1537032-82-8

[0406] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0407] ii. 唯一标识码 (UNII) →KXG2PJ551I

[0408] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)

[0409] -----

[0410] 在一些实施方案中,PD-L1多肽对应于Genbank登录号AAF25807,版本号AAF25807.1,记录更新日期:2010年3月10日下午10:14。在一个实施方案中,编码PD1多肽的核酸对应于Genbank登录号AF177937,版本号AF177937.1,记录更新日期:2010年3月10日下午10:14。在一些实施方案中,PD1多肽对应于Uniprot/Swiss-Prot登录号Q9NZQ7。

[0411] GITR激动剂

[0412] 如本文所用,术语“糖皮质激素诱导的TNF受体”

[0413] (本文中缩写为“GITR”)也称为TNF受体超家族18(TNFRSF18、CD357)、TEASR和312C2,是指肿瘤坏死因子/神经生长因子受体家族的成员。GITR是241个氨基酸的I型跨膜蛋白,其特征在于细胞外结构域中的三个半胱氨酸假重复序列,并且特异地保护T细胞受体诱导的细胞凋亡,尽管它不保护细胞免于其他凋亡信号,包括Fas触发、地塞米松治疗或UV照射(Nocentini,G.等人(1997)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 94:6216-622)。

[0414] GITR活化增加对肿瘤和病毒感染的抗性,参与自身免疫/炎症过程并且调控白细胞外渗(Nocentini同上;Cuzzocrea等人(2004)J Leukoc.Biol.76:933-940;Shevach等人(2006)Nat.Rev.Immunol.6:613-618;Cuzzocrea等人(2006)J Immunol.I77:63I-64I;以及Cuzzocrea等人(2007)FASEB J 21:I17-I29)。在肿瘤小鼠模型中,激动剂GITR抗体DTA-1与拮抗剂CTLA-4抗体组合,并且在一些测试组小鼠中显示出晚期肿瘤完全肿瘤消退的协同结果(Ko等人(2005)J Exp.Med.7:885-891)。

[0415] 具有三种剪接变体的人GITR(hGITR)的核酸和氨基酸序列是已知的,并且可以在例如GenBank登录号gi:40354198、gi:23238190、gi:23238193和gi:23238196中找到。

[0416] “GITR激动剂”意指通过活化GITR信号传导刺激免疫反应的任何化学化合物或生物分子。还设想了GITR结合配偶体可溶性GITR-L蛋白。

[0417] 为了检查例如GITR活性的增强程度,用潜在的活化剂或抑制剂处理包含给定例如蛋白质、基因、细胞或生物体的样品或测定物,并将其与用无活性对照分子处理的对照样品进行比较。对照样品指定为相对活性值100%。当相对于对照的活性值为约90%或更少,通常为85%或更少,更通常为80%或更少,最通常为75%或更少,通常为70%或更少,更通常为65%或更少,最通常为60%或更少,通常为55%或更少,通常为50%或更少,更通常为45%或更少,最通常为40%或更少,优选为35%或更少,更优选为30%或更少,还更优选为25%或更少,并且最优选为少于20%时,实现抑制。当相对于对照的活性值为高约110%,通常为高至少120%,更通常为高至少140%,更通常为高至少160%,通常为高至少180%,更通常为高至少2倍,最通常为高至少2.5倍,通常为高至少5倍,更通常为高至少10倍,优选为

高至少20倍,更优选为高至少40倍,并且最优选为高超过40倍时,实现活化。

[0418] 将靶向第一靶蛋白(FTP)阳性淋巴瘤和白血病的ADC与GITR激动剂组合是有利的,因为一方面,ADC将直接杀死FTP阳性肿瘤细胞,而另一方面,GITR激动剂将参与患者自身的免疫系统以消除癌细胞。在FTP(+)肿瘤细胞旁边,FTP(+)肿瘤细胞附近的靶标阴性肿瘤细胞可被在细胞杀死FTP(+)细胞后释放的PBD-二聚体的旁观者机制杀死。因此,ADC将直接杀死肿瘤。由以PBD二聚体杀死的细胞得以释放肿瘤相关抗原将触发免疫系统,这将通过使用GITR激动剂进一步增强。

[0419] GITR(糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白)在活化的T细胞上瞬时表达,并在T-reg上以高水平组成型表达,活化后进一步诱导。GITR通过其配体GITRL的连接刺激效应子和调控性CD4+T细胞的增殖和功能。这促进T细胞存活,并分化成效应细胞,同时消除抑制作用。因此,用ADC靶向FTP(+)肿瘤导致抗原细胞死亡将是有益的,而GITR激动剂诱导更强的、持久的免疫反应。

[0420] 适合用作本公开中的第二药剂的特定GITR激动剂包括:

[0421] a) MEDI1873,由MedImmune开发的GITR配体融合蛋白

[0422] -参见W02016/196792,US20160304607

[0423] -NCI汇总代码→C124651

[0424] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser>)

[0425] -还参见临床试验NCT023126110:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

[0426] -参见Tigue NJ、Bamber L、Andrews J等人MEDI1873,a potent,stabilized hexameric agonist of human GITR with regulatory T-cell targeting potential.Oncology Immunology.2017;6(3):e1280645.doi:10.1080/2162402X.2017.1280645。

[0427] b) INCAGN1876,一种靶向糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白或GITR的激动剂抗体。在与路德维希癌症研究中心(Ludwig Cancer Research)合作期间发现。INCAGN1876正在与共同开发

[0428] -参见临床试验NCT02583165和NCT03277352:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

[0429] c) TRX518,一种由Leap Therapeutics开发的具有免疫调节活性的人源化无糖基化(Fc禁用) IgG1抗GITR mAb

[0430] ○关于序列58、60-63参见W02006/105021;以及关于序列1-7参见EP2175884:

[0431] ■包含以下序列的VL(CDR加下划线):

[0432] EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQNVTNAWYQQKPGQAPRLLIYSASYRYSGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNTDPLTFGGGTKEIK

[0433] ■包含以下序列的VH(CDR加下划线):

[0434] QVTLRESPGPALVKPTQTLTCTFSGFSLSTSGMGVGVWIRQPPGKALEWLAIWWDDDKYYNPSLKSRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDTATYYCARTRRYFPFAYWGQGTLTVS

[0435] QVTLRESPGPALVKPTQTLTCTFSGFSLSTSGMGVGVWIRQPPGKALEWLAIWWDDDKYYQPSLKSRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDTATYYCARTRRYFPFAYWGQGTLTVS

[0436] ○参见临床试验NCT01239134和NCT02628574:<https://clinicaltrials.gov/>

ct2/home

- [0437] ○NCI汇总代码→C95023
- [0438] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser>)
- [0439] d) GWN323,一种抗GITR激动性单克隆抗体,其活化多种类型的T细胞上可见的GITR。GWN323由Novartis开发
- [0440] -参见W02016/196792
- [0441] -NCI汇总代码→C128028
- [0442] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser>)
- [0443] -参见临床试验NCT02740270:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>
- [0444] e) MK-1248,一种人源化IgG4抗人糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体(GITR)激动性单克隆抗体(MoAb),其具有显著降低的效应子功能
- [0445] -参见临床试验NCT02553499:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>
- [0446] -MK-1248具有与MK4166相同的CDR(参见Sukumar等人,Cancer Res.2017)
- [0447] f) MK-4166,一种人源化IgG1抗人糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体(GITR)激动性单克隆抗体(MoAb),其具有潜在的免疫调节活性(参见Sukumar等人,Cancer Res.2017)。
- [0448] -参见临床试验NCT02132754:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>
- [0449] -参见Sukumar等人,(2017),Cancer Research.77.canres.1439.2016.10.1158/0008-5472.CAN-16-1439。
- [0450] -NCI汇总代码C116065
- [0451] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser>)
- [0452] g) BMS-986156,一种抗人糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体(GITR;肿瘤坏死因子超家族成员18;TNFRSF18;CD357)激动性单克隆抗体
- [0453] -参见临床试验NCT02598960:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>
- [0454] -NCI汇总代码C132267
- [0455] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser>)
- [0456] -----
- [0457] W02011/028683和W02006/105021中提供了激动剂抗GITR抗体的序列。
- [0458] -----
- [0459] 在一些实施方案中,GITR多肽对应于Genbank登录号AAD22635,版本号AAD22635.1,记录更新日期:2010年3月10日下午09:42。在一个实施方案中,编码GITR多肽的核酸对应于Genbank登录号AF125304,版本号AF125304.1,记录更新日期:2010年3月10日下午09:42。在一些实施方案中,GITR多肽对应于Uniprot/Swiss-Prot登录号Q9Y5U5。
- [0460] OX40激动剂
- [0461] OX40(CD134;TNFRSF4)是TNFR超家族的成员,并且在抗原特异性引发期间由CD4和CD8 T细胞表达。在TCR/CD3交联后,OX40表达很大程度上是瞬时的,并且存在炎性细胞因子。在不存在活化信号的情况下,相对较少的成熟T细胞亚群在生物学相关水平上表达OX40。产生最佳“杀伤”CD8 T细胞反应需要T细胞受体活化加共刺激,这可以通过使用OX40激动剂连接OX40来提供。这种活化机制增强T细胞分化和细胞溶解功能,从而导致抗肿瘤免

疫力增强。因此,用ADC靶向FTP(+)肿瘤导致抗原细胞死亡将是有益的,而OX40激动剂诱导更强的、持久的免疫反应。

[0462] OX40激动剂可选自由OX40激动剂抗体、OX40L激动剂片段、OX40寡聚体受体和OX40免疫粘附素组成的组。在一些实施方案中,OX40结合激动剂是三聚体OX40L-Fc蛋白。

[0463] 在一些实施方案中,OX40结合激动剂是包含OX40L的一个或多个细胞外结构域的OX40L激动剂片段。在一些实施方案中,OX40结合激动剂是结合人OX40的OX40激动剂抗体。在一些实施方案中,OX40激动剂抗体耗尽表达人OX40的细胞。在一些实施方案中,OX40激动剂抗体耗尽体外表达人OX40的细胞。在一些实施方案中,细胞是CD4+效应T细胞。在一些实施方案中,细胞是Treg细胞。在一些实施方案中,耗尽是通过ADCC和/或吞噬作用进行。在一些实施方案中,耗尽是通过ADCC进行。在一些实施方案中,OX40激动剂抗体以小于或等于约1nM的亲和力结合人OX40。在一些实施方案中,与用抗人OX40激动剂抗体治疗前的增殖

[0464] 和/或细胞因子产生相比,OX40激动剂抗体增加CD4+效应T细胞增殖和/或增加由CD4+效应T细胞进行的细胞因子产生。在一些实施方案中,细胞因子是 $\gamma$ 干扰素。在一些实施方案中,OX40激动剂抗体增加记忆T细胞增殖和/或增加由记忆细胞进行的细胞因子产生。在一些实施方案中,细胞因子是 $\gamma$ 干扰素。在一些实施方案中,OX40激动剂抗体抑制Treg功能。在一些实施方案中,OX40激动剂抗体抑制效应T细胞功能的Treg抑制。在一些实施方案中,效应T细胞功能是效应T细胞增殖和/或细胞因子产生。在一些实施方案中,效应T细胞是CD4+效应T细胞。在一些实施方案中,OX40激动剂抗体增加表达OX40的靶细胞中的OX40信号转导。在一些实施方案中,通过监测NFkB下游信号传导来检测OX40信号转导。

[0465] “OX40激动剂”意指通过活化OX40信号传导来刺激免疫反应的任何化学化合物或生物分子。

[0466] 为了检查例如OX40活性的增强程度,用潜在的活化剂或抑制剂处理包含给定例如蛋白质、基因、细胞或生物体的样品或测定物,并将其与用无活性对照分子处理的对照样品进行比较。对照样品指定为相对活性值100%。当相对于对照的活性值为约90%或更少,通常为85%或更少,更通常为80%或更少,最通常为75%或更少,通常为70%或更少,更通常为65%或更少,最通常为60%或更少,通常为55%或更少,通常为50%或更少,更通常为45%或更少,最通常为40%或更少,优选为35%或更少,更优选为30%或更少,还更优选为25%或更少,并且最优选为少于20%时,实现抑制。当相对于对照的活性值为高约110%,通常为高至少120%,更通常为高至少140%,更通常为高至少160%,通常为高至少180%,更通常为高至少2倍,最通常为高至少2.5倍,通常为高至少5倍,更通常为高至少10倍,优选为高至少20倍,更优选为高至少40倍,并且最优选为高超过40倍时,实现活化。

[0467] 将靶向第一靶蛋白(FTP)阳性淋巴瘤和白血病的ADC与OX40激动剂组合是有利的,因为一方面,ADC将直接杀死FTP阳性肿瘤细胞,而另一方面,OX40激动剂将参与患者自身的免疫系统以消除癌细胞。在FTP(+)肿瘤细胞旁边,FTP(+)肿瘤细胞附近的靶标阴性肿瘤细胞可被在细胞杀死FTP(+)细胞后释放的PBD-二聚体的旁观者机制杀死。因此,ADC将直接杀死肿瘤。由以PBD二聚体杀死的细胞得以释放肿瘤相关抗原将触发免疫系统,这将通过使用OX40激动剂进一步增强。

[0468] 适合用作本公开中的第二药剂的特定OX40激动剂包括:

[0469] a) MEDI0562(也称为Tavolixizumab、Tavolimab)

- [0470] i .CAS编号→1635395-25-3
- [0471] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- [0472] ii. 唯一标识码 (UNII) →4LU9B48U4D
- [0473] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)
- [0474] -参见临床试验NCT02318394:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>
- [0475] -如W02015/095423、W02015/153514、W02016/073380和W02016/081384中所述
- [0476] -NCI汇总代码→C120041
- [0477] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/>)
- [0478] -重链序列：
- [0479] QVQLQESGPLVKPSQTLSTCAVYGGSFSSGYWNWIRKHPKGLEYIGYISYNGITYHNPSLKSRTI  
NRDTSKNQYSLQLNSVPEDTAVYYCARYKYDYDGGHAMDYWGQGTLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAL  
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVTPSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS  
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY  
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIASKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY  
PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
- [0480] -轻链序列：
- [0481] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSKLHSGVPSRFSGSGSG  
TDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSALPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREA  
KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTSKADYEHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC
- [0482] b) MEDI6383 (Efizonerimod alfa)
- [0483] i .CAS编号→1635395-27-5
- [0484] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- [0485] ii. 唯一标识码 (UNII) →1MH7C2X8KE
- [0486] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)
- [0487] -参见临床试验NCT02221960:<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>
- [0488] -如W02015/095423、W02016/081384和W02016/189124中所述
- [0489] -NCI汇总代码→C118282
- [0490] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/>)
- [0491] -氨基酸序列(来自W02016/189124的序列号17)：
- [0492] ESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNA  
KTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS  
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL  
SLSLGKDQDKIEALSSKVQQLERSIGLKDLAMADLEQKVLEMEASTQVSHRYPRIQSIVQFTEYKKEKGFIITSQK  
EDEIMKVQNNSVIINCDFYLISLKGYFSQEVNISLHYQKDEEPLFQLKKVRSVNSLMVASLTYKDKVYLNVTTDNT  
SLDDFHVNNGGELILIHQNPGEFCVL
- [0493] c) MOXR0916 (也称为RG7888、Pogalizumab),一种人源化抗OX40单克隆抗体
- [0494] i .CAS编号→1638935-72-4

- [0495] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- [0496] ii. 唯一标识码 (UNII) → C78148TF1D
- [0497] (参见 <http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)
- [0498] iii. NCI 汇总代码 → C121376
- [0499] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/>)
- [0500] d) OX40mAb24 (9B12)
- [0501] i. OX40mAb24 是 9B12 的人源化版本。9B12 是针对人 OX40 (CD134) 细胞外结构域的鼠类 IgG1、抗 OX40 mAb (Weinberg, A.D. 等人 J Immunother 29, 575–585 (2006))。
- [0502] ii. 对于 OX40mAb24 VH 序列, 参见 WO2016/057667 序列号 59, 对于 VL 序列, 参见 序列号 29 (序列号 32 是替代性 VL) :
- [0503] VH 序列
- [0504] QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCAVYGGSFSSGYWNWIRKHPKGLEYIGYISYNGITYHNPSLKSRTI  
NRDTSKNQYSLQLNSVTPEDTAVYYCARYKYDYDGGHAMDYWGQGTLTVSS
- [0505] VL 序列
- [0506] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSKLHSGVPSRFSGS  
GSGT  
DYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSALPWTFGQGTKVEIK
- [0507] e) INCAGN1949
- [0508] i. 参见 Gonzalez 等人 2016, DOI: 10.1158/1538-7445.AM2016-3204
- [0509] ii. 参见临床试验 NCT02923349: <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>
- [0510] iii. 抗体序列公开在 WO2016/179517 A1 中:
- [0511] i. 特别是, 包含以下序列的抗体:
- [0512] VH CDR1 → GSAMH
- [0513] VH CDR2 → RIRSKANSYATAYAASVKG
- [0514] VH CDR3 → GIYDSSGYDY
- [0515] VL CDR1 → RSSQSLLHSNGNYLD
- [0516] VL CDR2 → LGSNRAS
- [0517] VL CDR3 → MQALQTPLT
- [0518] ii. 例如, 包含以下序列的抗体:
- [0519] VH →
- [0520] EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSGSAMHWVRQASGKGLEWVGRIRSKANSYATAYAASVKG  
FTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTSGIYDSSGYDYWGQGTLTVSS
- [0521] VL → DIVMTQSPLSLPVTPGEPASICRSSQSLLHSNGNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGV  
DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLTFGGGTKEIK
- [0522] g) GSK3174998, 一种人源化 IgG1 激动性抗 OX40 单克隆抗体 (mAb)
- [0523] - 参见临床试验 NCT02528357: <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>
- [0524] h) PF-04518600 (PF-8600), 一种靶向 OX40 蛋白的研究性完全人单克隆抗体 (mAb)
- [0525] - 参见专利 WO 2017/130076 A1
- [0526] - 参见临床试验 NCT02315066: <https://clinicaltrials.gov/ct2/home> - NCI

thesaurus code→C121927

[0527] (参见<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/>)

[0528] -----

[0529] 在一些实施方案中,OX40多肽对应于Genbank登录号CAA53576,版本号CAA53576.1,记录更新日期:2011年2月2日上午10:10。在一个实施方案中,编码OX40多肽的核酸对应于Genbank登录号X75962,版本号X75962.1,记录更新日期:2011年2月2日上午10:10。在一些实施方案中,OX40多肽对应于Uniprot/Swiss-Prot登录号P43489。

[0530] CTLA拮抗剂

[0531] CTLA4 (CD152) 在活化的T细胞上表达,并作为共抑制剂以在CD28介导的T细胞活化后保持T细胞反应受抑制。据信CTLA4在TCR接合后调控幼稚和记忆T细胞早期活化的幅度,并且是影响抗肿瘤免疫力和自身免疫力的中枢抑制途径的一部分。CTLA4仅在T细胞上表达,并且其配体CD80 (B7.1) 和CD86 (B7.2) 的表达主要局限于抗原呈递细胞、T细胞和其他免疫介导细胞。据报告阻断CTLA4信号传导途径的拮抗性抗CTLA4抗体可增强T细胞活化。一种此类抗体伊匹单抗在2011年被FDA批准用于治疗转移性黑素瘤。另一种抗CTLA4抗体替西木单抗在III期试验中测试以用于治疗晚期黑色素瘤,但与当时的标准治疗(替莫唑胺或达卡巴嗪)相比,没有显著增加患者的总体存活率。

[0532] “CTLA4激动剂”意指通过抑制CTLA4信号传导刺激免疫反应的任何化学化合物或生物分子。

[0533] 为了检查例如CTLA4活性的增强程度,用潜在的活化剂或抑制剂处理包含给定例如蛋白质、基因、细胞或生物体的样品或测定物,并将其与用无活性对照分子处理的对照样品进行比较。对照样品指定为相对活性值100%。当相对于对照的活性值为约90%或更少,通常为85%或更少,更通常为80%或更少,最通常为75%或更少,通常为70%或更少,更通常为65%或更少,最通常为60%或更少,通常为55%或更少,通常为50%或更少,更通常为45%或更少,最通常为40%或更少,优选为35%或更少,更优选为30%或更少,还更优选为25%或更少,并且最优选为少于20%时,实现抑制。当相对于对照的活性值为高约110%,通常为高至少120%,更通常为高至少140%,更通常为高至少160%,通常为高至少180%,更通常为高至少2倍,最通常为高至少2.5倍,通常为高至少5倍,更通常为高至少10倍,优选为高至少20倍,更优选为高至少40倍,并且最优选为高超过40倍时,实现活化。

[0534] 将靶向第一靶蛋白(FTP)阳性淋巴瘤和白血病的ADC与CTLA4抑制剂组合是有利的,因为一方面,ADC将直接杀死FTP阳性肿瘤细胞,而另一方面,CTLA4抑制剂将参与患者自身的免疫系统以消除癌细胞。在FTP (+) 肿瘤细胞旁边,FTP (+) 肿瘤细胞附近的靶标阴性肿瘤细胞可被在细胞杀死FTP (+) 细胞后释放的PBD-二聚体的旁观者机制杀死。因此,ADC将直接杀死肿瘤。由以PBD二聚体杀死的细胞得以释放肿瘤相关抗原将触发免疫系统,这将通过使用在许多不同肿瘤类型的大部分肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)上表达的CTLA4抑制剂进一步增强。

[0535] CTLA4 (CD152) 的主要功能是调控T细胞活化早期阶段的幅度,并且因此其抵消T细胞共刺激受体CD28在肿瘤微环境中的活性。因此,阻断CTLA4途径可以增强效应CD4+T细胞活性的增强,同时其抑制TReg细胞依赖性免疫抑制。因此,用ADC靶向FTP (+) 肿瘤导致抗原细胞死亡将是有益的,而CTLA4阻断诱导更强的免疫、持久的反应。

- [0536] 适合用作本公开中的第二药剂的特定CTLA4拮抗剂包括:
- [0537] a) 伊匹单抗
- [0538] i.CAS编号→477202-00-9  
(参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- [0540] ii.唯一标识码 (UNII)→6T8C155666  
(参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)
- [0542] b) 替西木单抗
- [0543] i.CAS编号→745013-59-6  
(参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- [0545] ii.唯一标识码 (UNII)→QEN1X95CIX  
(参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)
- [0547] iii.VH序列
- [0548] GVVQPGRLSRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKN  
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPRGATLYYYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG  
CLVKDYFPEPVTVWSNNGALTSGVH[SEQ ID NO.1]
- [0549] iv.VL序列
- [0550] PSSLSASVGDRVITICRASQSINSYLDWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGTDFTLTI  
SSLQPEDFATYYCQQYYSTPFTFGPGTKVEIKRTVAAPSFIGPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKV[SEQ  
ID NO.2]
- [0551] -----

[0552] 在一些实施方案中,CTLA多肽对应于Genbank登录号AAL07473,版本号AAL07473.1,记录更新日期:2010年3月11日上午01:28。在一个实施方案中,编码CTLA4多肽的核酸对应于Genbank登录号AF414120,版本号AF414120.1,记录更新日期:2010年3月11日上午01:28。在一些实施方案中,OX40多肽对应于Uniprot/Swiss-Prot登录号P16410。

[0553] 氟达拉滨和阿糖胞苷

[0554] 具有不同作用机制的药剂的组合是用于对抗癌症的既定治疗原则。当显示协同作用时和/或当观察到降低的毒性时,这可以是增加抗肿瘤活性的方法。抗体-药物缀合物(包括具有PBD弹头的那些)可能特别适合作为组合配偶体,因为与常规化疗相比,它们更具靶向性。由于PBD二聚体以共价方式交联DNA,所以将它们与通过不同机制干扰DNA合成的其他药剂组合可以提供益处。这种潜在组合的实例是氟达拉滨和阿糖胞苷。

[0555] 氟达拉滨

[0556] 氟达拉滨或磷酸氟达拉滨(Fludara)是一种用于治疗血液系统恶性肿瘤,诸如白血病和淋巴瘤的化学治疗药。它是一种嘌呤类似物,通过干扰核糖核苷酸还原酶(RNAR)和DNA聚合酶来干扰DNA。它对分裂细胞和静息细胞都有活性。氟达拉滨还显示出抑制ERCC1转录,并且这可以解释氟达拉滨与PBD二聚体SJG136(SG2000)之间观察到的针对慢性淋巴细胞白血病细胞的协同作用。CLAG/CLAG-M-克拉屈滨是另一种抑制RNAR的嘌呤类似物。

[0557] 将靶向第一靶蛋白(FTP)阳性淋巴瘤和白血病的ADC与氟达拉滨组合是有利的,因

为一方面,ADC将通过依赖于DNA交联的机制直接杀死FTP阳性肿瘤细胞,从而导致细胞凋亡,而另一方面,氟达拉滨将抑制细胞RNA和DNA聚合酶,同时还抑制解析由PBD二聚体诱导的DNA交联所需的DNA修复酶。

[0558] 为了证明ADC与氟达拉滨协同作用,一组FTP(+)细胞系将用一系列浓度的ADC和氟达拉滨二者共同处理。作为阴性对照,同一组细胞系将用一系列浓度的氟达拉滨和非靶向对照ADC或用一系列浓度的ADC和媒介物共同处理。温育后,将测量两个参数:表面FTP的量(如通过流式细胞术测定)和组合的体外细胞毒性(如通过CellTiter-Glo®或MTS测定法测定)。通过将细胞活力数据转化为受影响的分数并使用CalcuSyn分析程序计算组合指数来计算细胞毒性协同作用。

[0559] CAS编号→21679-14-1

[0560] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)

[0561] ii.NCBI Pubchem参考→657237

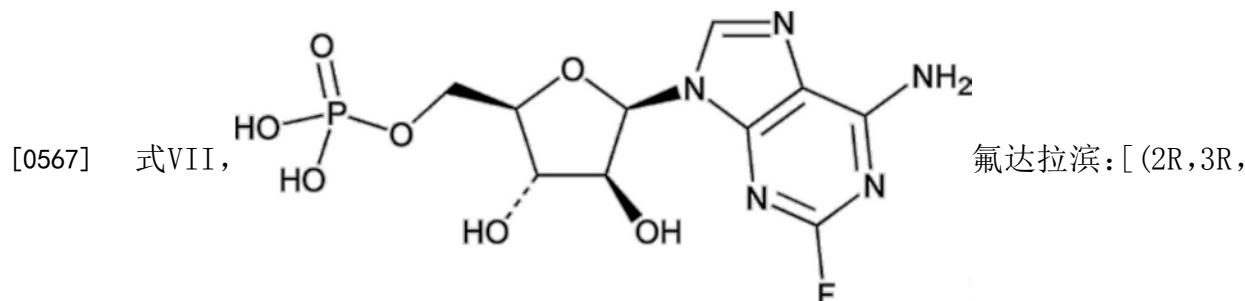
[0562] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

[0563] iii.IUPHAR/BPS参考→4802

[0564] (参见<http://www.guidetopharmacology.org/>)

[0565] iv.唯一标识码 (UNII) →1X9VK901SC

[0566] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



4S,5R)-5-(6-氨基-2-氟-嘌呤-9-基)-3,4-二羟基-氧杂环戊烷-2-基]甲氧基磷酸

[0568] 阿糖胞苷

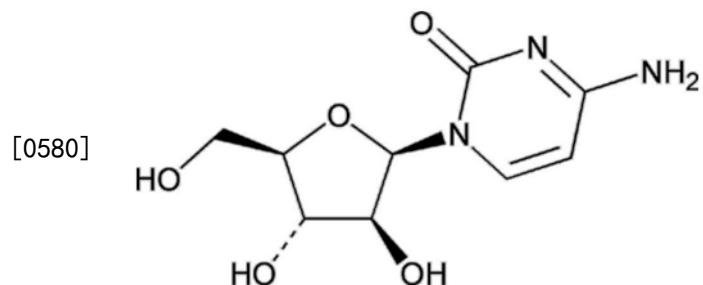
[0569] 阿糖胞苷或胞嘧啶阿拉伯糖苷(Cytosar-U或Depocyt)是一种用于治疗血液系统恶性肿瘤,诸如急性髓性白血病(AML)和非霍奇金淋巴瘤的抗代谢化学治疗药。它也被称为ara-C(阿拉伯呋喃糖基胞苷)。它通过干扰DNA合成来杀死癌细胞。它被活跃地代谢为胞嘧啶阿拉伯糖苷三磷酸,其在细胞周期保持在S期(DNA合成)时会损害DNA。因此,需要DNA复制进行有丝分裂的快速分裂的细胞受到的影响最大。胞嘧啶阿拉伯糖苷还抑制DNA合成所需的DNA和RNA聚合酶和核苷酸还原酶。

[0570] 将靶向第一靶蛋白(FTP)阳性淋巴瘤和白血病的ADC与阿糖胞苷组合是有利的,因为一方面,ADC将通过依赖于DNA交联的机制直接杀死FTP阳性肿瘤细胞,从而导致细胞凋亡,而另一方面,阿糖胞苷会抑制细胞RNA和DNA聚合酶,同时也抑制DNA合成。

[0571] 为了证明ADC与阿糖胞苷协同作用,一组FTP(+)细胞系将用一系列浓度的ADC和阿糖胞苷共同处理。作为阴性对照,同一组细胞系将用一系列浓度的阿糖胞苷和非靶向对照ADC或用一系列浓度的ADC和媒介物共同处理。温育后,将测量两个参数:表面FTP的量(如通

过流式细胞术测定)和组合的体外细胞毒性(如通过CellTiter-Glo®或MTS测定法测定)。通过将细胞活力数据转化为受影响的部分并使用CalcuSyn分析程序计算组合指数来计算细胞毒性协同作用(参见实施例4)。

- [0572] CAS编号→147-94-4
- [0573] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- [0574] ii.NCBI Pubchem参考→6253
- [0575] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)
- [0576] iii.IUPHAR/BPS参考→4827
- [0577] (参见<http://www.guidetopharmacology.org/>)
- [0578] iv.唯一标识码 (UNII) →04079A1RDZ
- [0579] (参见 <http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



[0581] 式VIII,阿糖胞苷:4-氨基-1-[ (2R,3S,4R,5R)-3,4-二羟基-5-(羟甲基) 氧杂环戊烷-2-基] 嘧啶-2-酮

#### 低甲基化剂

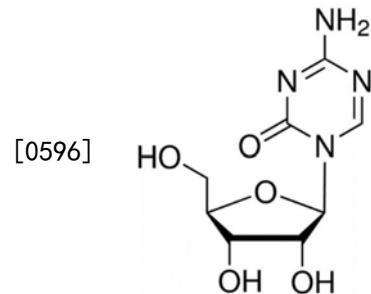
[0583] 术语“低甲基化剂”是指一类干扰DNA甲基化的化合物,所述DNA甲基化是将甲基添加到胞嘧啶嘧啶环的5-位置或腺嘌呤嘌呤环的6位置上的氮中。DNA甲基化稳定地改变细胞中的基因表达模式,即降低基因表达(即对于维生素D受体而言)。低甲基化剂是能够抑制甲基化从而导致先前高度甲基化的沉默基因表达的化合物。胞苷类似物诸如5-氮杂胞苷(阿扎胞苷)和5-氮杂-2'-脱氧胞苷(地西他滨)是最常用的低甲基化剂。这些化合物通过与催化甲基化反应的酶(即DNA甲基转移酶)结合来起作用。

[0584] 为了检查低甲基化程度,用潜在的活化剂或抑制剂处理包含给定例如蛋白质、基因、细胞或生物体的样品或测定物,并将其与用无活性对照分子处理的对照样品进行比较。对照样品指定为相对活性值100%。当相对于对照的活性值为约90%或更少,通常为85%或更少,更通常为80%或更少,最通常为75%或更少,通常为70%或更少,更通常为65%或更少,最通常为60%或更少,通常为55%或更少,通常为50%或更少,更通常为45%或更少,最通常为40%或更少,优选为35%或更少,更优选为30%或更少,还更优选为25%或更少,并且最优选为少于20%时,实现抑制。当相对于对照的活性值为高约110%,通常为高至少120%,更通常为高至少140%,更通常为高至少160%,通常为高至少180%,更通常为高至少2倍,最通常为高至少2.5倍,通常为高至少5倍,更通常为高至少10倍,优选为高至少20倍,更优选为高至少40倍,并且最优选为高超过40倍时,实现活化。

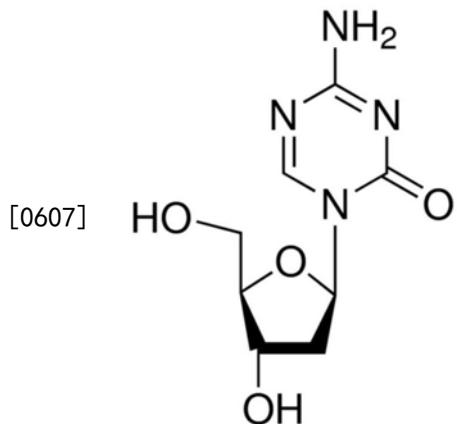
[0585] 将靶向第一靶蛋白(FTP)阳性淋巴瘤和白血病的ADC与低甲基化剂组合是有利的,

因为一方面,ADC将直接杀死FTP阳性肿瘤细胞,另一方面,低甲基化剂将干扰DNA甲基化。此干扰是通过在该序列中引起去甲基化进行,这不利地影响细胞调控蛋白能够结合DNA/RNA底物的方式。此活性与ADC协同作用,因为PBD二聚体以共价方式交联DNA,因此将它们与通过不同机制干扰DNA合成的其他药剂组合提供了益处。

- [0586] 适合用作本公开中的第二药剂的特定低甲基化剂包括:
- [0587] a) 5-氮杂胞苷(阿扎胞苷)
- [0588] i.CAS编号→320-67-2
- [0589] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- [0590] ii.NCBI Pubchem参考→9444
- [0591] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)
- [0592] iii.IUPHAR/BPS参考→6796
- [0593] (参见<http://www.guidetopharmacology.org/>)
- [0594] iv.唯一标识码(UNII)→M801H13NRU
- [0595] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



- [0597] 式IX,5-氮杂胞苷:4-氨基-1-β-D-呋喃核糖基-1,3,5-三嗪-2(1H)-酮
- [0598] b) 5-氮杂-2'-脱氧胞苷(地西他滨)
- [0599] i.CAS编号→2353-33-5
- [0600] (参见<http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs>)
- [0601] ii.NCBI Pubchem参考→451668
- [0602] (参见<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)
- [0603] iii.IUPHAR/BPS参考→6805
- [0604] (参见<http://www.guidetopharmacology.org/>)
- [0605] iv.唯一标识码(UNII)→776B62CQ27
- [0606] (参见<http://www.fda.gov/ForIndustry/DataStandards/SubstanceRegistrationSystem-UniqueIngredientIdentifierUNII/default.htm>)



[0608] 式X,b) 5-氨基-2'-脱氧胞昔:4-氨基-1-(2-脱氧-β-D-赤-戊呋喃糖基)-1,3,5-三嗪-2(1H)-酮

[0609] 所述组合的有利性质

[0610] ADC和第二药剂在单独用作单一药剂时已经证明具有临床效用-例如,在癌症的治疗中。然而,如本文所述,预期ADC和第二药剂的组合与单独使用ADC或第二药剂进行的治疗相比提供以下一个或多个优点:

[0611] 1)有效治疗更广泛范围的癌症;

[0612] 2)有效治疗抗药性或难治性形式的病症诸如癌症以及患有在缓解期后复发的病症诸如癌症的个体;

[0613] 3)增加治疗反应率;和/或

[0614] 4)增加治疗持久性。

[0615] 如本文所用,有效治疗更广泛范围的癌症意味着在用组合治疗后,在更大范围的公认癌症类型中观察到完全反应。也就是说,从先前未报告完全响应于单独ADC或第二药剂的癌症类型中可以看到完全反应。

[0616] 如本文所用,对抗药性、难治性或复发形式的有效治疗意味着在用组合治疗后,在对用单独ADC或第二药剂进行的治疗部分或完全抵抗或难治的个体(例如,单独使用任一种药剂治疗后均未显示反应或仅显示部分反应的个体或患有复发性病症的个体)中观察到完全反应。在一些实施方案中,用ADC/第二药剂组合治疗后,在至少10%对用单独ADC或第二药剂进行的治疗部分或完全抗药或难治的个体中观察到完全反应。在一些实施方案中,用ADC/第二药剂组合治疗后,在至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%对用单独ADC或第二药剂进行的治疗部分或完全抗药或难治的个体中观察到完全反应。

[0617] 如本文所用,增加的治疗反应率意味着在用组合治疗后,在比单独用ADC或第二药剂进行治疗后观察到的更大比例的个体中观察到完全反应。在一些实施方案中,用ADC/第二药剂组合治疗后,在至少10%治疗个体中观察到完全反应。在一些实施方案中,用ADC/第二药剂组合治疗后,在至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%治疗个体中观察到完全反应。

[0618] 如本文所用,增加的治疗持久性意味着用组合治疗的个体中的完全反应的平均持续时间长于单独用ADC或第二药剂治疗后达到完全反应的个体中的平均持续时间。在一些实施方案中,用ADC/第二药剂组合治疗后完全反应的平均持续时间为至少6个月。在一些实

施方案中,用ADC/第二药剂组合治疗后完全反应的平均持续时间为至少12个月、至少18个月、至少24个月、至少3年、至少4年、至少5年、至少6年、至少7年、至少8年、至少9年、至少10年、至少15年、或至少20年。

[0619] ‘完全反应’在本文中用于意指个体中不存在疾病的任何临床证据。可以使用本领域中的适当方法(例如CT或PET扫描)或在适当情况下使用活检来评估证据。实现完全反应所需的剂量数目可以是一、二、三、四、五、十个或更多个。在一些实施方案中,个体在施用第一剂量后不超过一年达到完全反应,例如在施用第一剂量后不超过6个月、不超过3个月、不超过一个月、不超过两星期、或不超过一星期。

[0620] 治疗的病症

[0621] 本文所述的组合疗法包括具有抗癌活性的效用的那些疗法。具体地,在某些方面,疗法包括通过接头与PBD药物部分(即毒素)缀合(即共价连接)的抗体。当药物不与抗体缀合时,PBD药物具有细胞毒性作用。因此,通过与抗体缀合来调节PBD药物部分的生物活性。本公开的抗体-药物缀合物(ADC)选择性地将有效剂量的细胞毒性剂递送至肿瘤组织,由此可实现更大的选择性,即更低的有效剂量。

[0622] 因此,在一个方面,本公开提供组合疗法,其包括施用结合用于治疗的第一靶蛋白的ADC,其中所述方法包括基于靶蛋白的表达选择受试者。

[0623] 在一方面,本公开提供一种组合疗法,其具有指定所述疗法适合用于被确定为适合此类用途的受试者的标签。标签可以指定所述疗法适合用于具有第一靶蛋白表达,例如第一靶蛋白的过表达的受试者。标签可以指定受试者患有特定类型的癌症。

[0624] 第一靶蛋白优选地为CD25。癌症可以是淋巴瘤,例如AML。标签可以指定受试者患有CD25+淋巴瘤。

[0625] 在另一方面,还提供了如本文所述的用于治疗增殖性疾病的组合疗法。本公开的另一方面提供了缀合物化合物在制造用于治疗增殖性疾病的药物中的用途。

[0626] 本领域普通技术人员能够容易地确定候选组合疗法是否治疗任何特定细胞类型的增殖性病状。例如,下文描述了可方便地用来评估由特定化合物提供的活性的测定。

[0627] 本文描述的组合疗法可用于治疗增殖性疾病。术语“增殖性疾病”涉及过度或异常细胞的不需要的或不受控制的细胞增殖,这是不期望的,诸如赘生物或增生性生长(无论是在体外或体内)。

[0628] 增殖性病状的实例包括但不限于良性、恶化前和恶性细胞增殖,包括但不限于赘生物和肿瘤(例如组织细胞瘤、神经胶质瘤、星形细胞瘤、骨瘤)、癌症(例如肺癌、小细胞肺癌、胃肠癌、肠癌、结肠癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肝癌、肾癌、膀胱癌、胰腺癌、脑癌、肉瘤、骨肉瘤、卡波西肉瘤、黑素瘤)、淋巴瘤、白血病、牛皮癣、骨病、纤维增殖性病症(例如结缔组织的纤维增殖性病症)、以及动脉粥样硬化。特别感兴趣的癌症包括但不限于白血病和卵巢癌。

[0629] 可治疗任何类型的细胞,包括但不限于肺、胃肠道(包括例如肠、结肠)、乳房(乳腺)、卵巢、前列腺、肝脏(肝)、肾脏(肾)、膀胱、胰腺、大脑和皮肤。

[0630] 特别感兴趣的增殖性病状包括但不限于霍奇金和非霍奇金淋巴瘤,包括弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、慢性淋巴性淋巴瘤(CLL)、边缘区B细胞淋巴瘤(MZBL)以及白血病,例如毛细胞白血病(HCL)、毛细胞白血病变异体

(HCL-v)、急性骨髓性白血病(AML)和急性成淋巴细胞性白血病(ALL),例如费城染色体阳性ALL(Ph+ALL)或费城染色体阴性ALL(Ph-ALL)[Fielding A., Haematologica. 2010年1月;95(1):8-12]。

[0631] 增殖性疾病的特征可在于存在包含CD25<sup>+</sup>ve和CD25<sup>-</sup>ve细胞的赘生物。

[0632] 增殖性疾病的特征可在于存在由CD25<sup>-</sup>ve赘生细胞组成的赘生物,任选地其中CD25<sup>-</sup>ve赘生细胞与CD25<sup>+</sup>ve非赘生细胞(例如CD25<sup>+</sup>ve T细胞)相关。

[0633] 靶赘生物或赘生细胞可以是实体瘤的全部或部分。

[0634] “实体瘤”在本文中应理解为包括在本文中更详细地讨论的实体血液学癌症,例如淋巴瘤(霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤)。

[0635] 实体瘤可以是赘生物,包括非血液学癌症,包含CD25<sup>+</sup>ve赘生细胞或由CD25<sup>+</sup>ve赘生细胞组成。实体瘤可以是赘生物,包括非血液学癌症,其浸润有CD25<sup>+</sup>ve细胞,例如CD25<sup>+</sup>ve T细胞;这类实体瘤可能缺乏CD25的表达(即,包含CD25<sup>-</sup>ve赘生细胞或由CD25<sup>-</sup>ve赘生细胞组成)。

[0636] 例如,实体瘤可能是具有高水平的浸润性T细胞例如浸润性调控性T细胞(Treg; Mé nétrier-Caux, C.等人,Targ Oncol (2012) 7:15-28; Arce Vargas等人,2017, Immunity 46, 1-10; Tanaka, A.等人,Cell Res. 2017年1月;27 (1):109-118)的肿瘤。因此,实体瘤可以是胰腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胃癌和食道癌、白血病和淋巴瘤、黑素瘤、非小细胞肺癌、卵巢癌、肝细胞癌、肾细胞癌和头颈癌。

[0637] 预期本公开的组合疗法可用于治疗各种疾病或病症,例如特征在于肿瘤抗原过表达的疾病或病症。示例性病状或过度增殖性病症包括良性或恶性肿瘤、白血病、血液病以及淋巴恶性肿瘤。其他病状或过度增殖性病症包括神经元病症、神经胶质病症、星形细胞病症、下丘脑病症、腺病症、巨噬细胞病症、上皮病症、间质病症、囊胚腔病症、炎性病症、血管生成和免疫学病症,包括自身免疫性病症和移植物抗宿主病(GVHD)。

[0638] 通常,待治疗的疾病或病症是过度增殖性疾病,诸如癌症。本文待治疗的癌症的实例包括但不限于癌瘤、淋巴瘤、胚细胞瘤、肉瘤和白血病或淋巴恶性肿瘤。此类癌症的更具体实例包括鳞状细胞癌(例如上皮鳞状细胞癌)、肺癌(包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞状细胞癌)、腹膜癌、肝细胞癌、胃癌(包括胃肠癌)、胰腺癌、成胶质细胞瘤、子宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌、肛门癌、阴茎癌以及头颈癌。

[0639] 组合疗法可用于治疗的自身免疫疾病包括风湿性病症(例如类风湿性关节炎、肖格伦综合征(Sjögren's syndrome)、硬皮病、狼疮(诸如SLE和狼疮性肾炎)、多肌炎/皮肌炎、冷沉球蛋白血症、抗磷脂抗体综合征和牛皮癣性关节炎)、骨关节炎、自身免疫性肠胃及肝脏病症(例如炎性肠病(例如溃疡性结肠炎和克罗恩氏病)、自身免疫性胃炎和恶性贫血、自身免疫性肝炎、原发性胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎和乳糜泻)、血管炎(例如ANCA相关血管炎,包括丘-斯血管炎(Churg-Strauss vasculitis)、韦格纳肉芽肿病和多动脉炎(polyarteritis))、自身免疫性神经系统病症(例如,多发性硬化、视性眼阵挛-肌阵挛综合征(opsoclonus myoclonus syndrome)、重症肌无力、视神经脊髓炎、帕金森病、阿尔茨海默病和自身免疫性多发性神经病)、肾脏病症(例如肾小球性肾炎、古德帕斯丘综合征(Goodpasture's syndrome)和贝尔热病(Berger's disease))、自身免疫性皮肤病症(例

如,牛皮癣、风疹、荨麻疹、寻常性天疱疮、大疱性类天疱疮和皮肤红斑狼疮)、血液系统病症(例如,血小板减少性紫癜、血栓性血小板减少性紫癜、输血后紫癜和自身免疫性溶血性贫血)、动脉粥样硬化、葡萄膜炎、自身免疫性听觉疾病(例如,内耳疾病和听力丧失)、白塞氏病(Behcet's disease)、雷诺氏综合征(Raynaud's syndrome)、器官移植、移植物抗宿主病(GVHD)以及自身免疫性内分泌失调(例如,糖尿病相关自身免疫性疾病诸如胰岛素依赖型糖尿病(IDDM)、爱迪生病(Addison's disease)以及自身免疫性甲状腺病(例如格雷夫斯病(Graves' disease)和甲状腺炎))。更优选的此类疾病包括例如类风湿性关节炎、溃疡性结肠炎、ANCA相关血管炎、狼疮、多发性硬化、肖格伦综合征、格雷夫斯病、IDDM、恶性贫血、甲状腺炎和肾小球肾炎。

[0640] 在某些方面,所述受试者患有选自以下的增殖性病症:具有混合细胞性类型的(经典)霍奇金淋巴瘤(霍奇金/里德-斯特恩伯格细胞(Reed-Stemberg-Cell):CD25+/-)、或非霍奇金淋巴瘤,包括B细胞慢性淋巴性白血病、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、慢性淋巴性淋巴瘤(CLL)、边缘区B细胞淋巴瘤(MZBL)以及白血病,例如毛细胞白血病(HCL)、毛细胞白血病变异体(HCL-v)、急性骨髓性白血病(AML)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL),例如费城染色体阳性ALL(Ph+ALL)或费城染色体阴性ALL(Ph-ALL)[Fielding A., Haematologica. 2010年1月;95(1):8-12]、小细胞淋巴细胞性淋巴瘤、成人T细胞白血病/淋巴瘤或间变性大细胞淋巴瘤。

[0641] 在一些方面,受试者患有特征在于存在包含CD25+ve和CD25-ve细胞的赘生物的增殖性疾病。

[0642] 增殖性疾病的特征可在于存在由CD25-ve赘生细胞组成的赘生物,任选地其中CD25-ve赘生细胞与CD25+ve非赘生细胞(例如CD25+ve T细胞)相关。

[0643] 靶赘生物或赘生细胞可以是实体瘤的全部或部分。

[0644] 实体瘤可以是赘生物,包括非血液学癌症,包含CD25+ve赘生细胞或由CD25+ve赘生细胞组成。实体瘤可以是赘生物,包括非血液学癌症,其浸润有CD25+ve细胞,例如CD25+ve T细胞;这类实体瘤可能缺乏CD25的表达(即,包含CD25-ve赘生细胞或由CD25-ve赘生细胞组成)。

[0645] 例如,实体瘤可能是具有高水平的浸润性T细胞例如浸润性调控性T细胞(Treg;Ménétrier-Caux,C.等人,Targ Oncol (2012) 7:15-28;Arce Vargas等人,2017,Immunity 46,1-10;Tanaka,A.等人,Cell Res. 2017年1月;27(1):109-118)的肿瘤。因此,实体瘤可以是胰腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胃癌和食道癌、白血病和淋巴瘤、黑素瘤、非小细胞肺癌、卵巢癌、肝细胞癌、肾细胞癌和头颈癌。

[0646] 经典霍奇金淋巴瘤包括结节性硬化、淋巴细胞为主、淋巴细胞消减型和混合细胞性亚型。霍奇金淋巴瘤亚型可能尚未定义。在某些方面,根据文中方法测试的患者患有结节性硬化和混合细胞性亚型的霍奇金淋巴瘤。

[0647] 在某些方面,所述受试者患有弥漫性大B细胞淋巴瘤或外周T细胞淋巴瘤,包括间变性大细胞淋巴瘤和血管免疫母细胞T细胞淋巴瘤亚型。

[0648] 患者选择

[0649] 在某些方面,在施用治疗之前,选择适合于用组合治疗进行治疗的个体。

[0650] 如本文所用,被认为适合于治疗的个体是预期受益于所述治疗或对所述治疗有反

应的那些个体。个体可能患有或疑似患有癌症或具有患癌症的风险。个体可能已经诊断为癌症。具体地，个体可能患有或疑似患有淋巴瘤或具有患淋巴瘤的风险。在一些情况下，个体可能患有或疑似患有实体癌或具有患实体癌的风险，所述实体癌具有表达第一靶蛋白的肿瘤相关性非肿瘤细胞，例如表达第一靶蛋白的浸润T-细胞。

[0651] 在一些方面，基于第一靶蛋白的表达量或模式选择个体。在一些方面，基于细胞表面的第一靶蛋白的表达进行选择。因此，在一些情况下，基于他们患有、或疑似患有癌症、具有患癌症的风险、或已经诊断为特征在于存在包含具有低水平的第一靶蛋白（例如CD25）的表面表达的细胞的赘生物的增殖性疾病来选择个体。赘生物可由具有低水平的第一靶蛋白（例如CD25）的表面表达的细胞组成。在一些情况下，低水平的表面表达意指每个赘生细胞结合的抗FTP抗体的平均数量小于20000，例如小于10000、小于5000、小于2000、小于1000、小于500、小于400、小于300、小于200或小于100。在一些情况下，使用实施例9中所述的测定法测量每个细胞结合的抗体的平均数量。

[0652] 在一些方面，基于他们具有包括CD25+ve和CD25-ve细胞的赘生物来选择个体。赘生物可由CD25-ve赘生细胞组成，任选地其中CD25-ve赘生细胞与CD25+ve非赘生细胞诸如CD25+ve T细胞相关。赘生物或赘生细胞可以是实体瘤的全部或部分。实体瘤可以部分或全部是CD25-ve，并且可以浸润有CD25+ve细胞诸如CD25+ve T细胞。

[0653] 在某些方面，靶标是第二靶蛋白。在一些方面，基于细胞表面的第二靶蛋白的表达进行选择。

[0654] 在一些方面，基于细胞表面的第一靶蛋白和第二靶蛋白的水平进行选择。

[0655] 在一些情况下，确定靶标在特定感兴趣组织中的表达。例如，在淋巴组织或肿瘤组织的样品中。在一些情况下，确定靶标的系统性表达。例如，在循环流体样品，例如血液、血浆、血清或淋巴液中。

[0656] 在一些方面，由于样品中存在靶标表达，选择适合于治疗的个体。在那些情况下，无靶标表达的个体可能被认为不适合于治疗。

[0657] 在其他方面，靶标表达水平用于选择适合于治疗的个体。当靶标表达水平高于阈值水平时，确定个体适合于治疗。

[0658] 在一些方面中，样品细胞中第一靶蛋白和/或第二靶蛋白的存在表明所述个体适合于用包含ADC和第二药剂的组合进行治疗。在其他方面，第一靶蛋白和/或第二靶蛋白表达的量必须高于阈值水平以表明个体适合于治疗。在一些方面，与对照相比样品中第一靶蛋白和/或第二靶蛋白定位发生改变的观察结果表明此个体适合于治疗。

[0659] 在一些方面，如果从淋巴结或额外节点位点获得的细胞与针对第一靶蛋白和/或第二靶蛋白的抗体反应，如通过IHC确定，则表明个体适合于治疗。

[0660] 在一些方面，如果样品中所有细胞的至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或更多细胞表达第一靶蛋白，则确定患者适合于治疗。在本文公开的一些方面，如果样品中至少10%的细胞表达第一靶蛋白，则确定患者适合于治疗。

[0661] 在一些方面，如果样品中所有细胞的至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或更多细胞表达第二靶蛋白，则确定患者适合于治疗。在本文公开的一些方面，如果样品中至少10%的细胞表达第二

靶蛋白，则确定患者适合于治疗。

[0662] 第一靶蛋白优选地为CD25。

[0663] 第二靶蛋白可以是BTK、PD1、PDL1、GITR、OX40或CTLA。第二靶蛋白优选地为PD-L1。

[0664] 样品

[0665] 样品可包括或可源自：一定量的血液；一定量来自个体血液的血清，其可包括去除纤维蛋白凝块和血细胞后获得的血液的流体部分；一定量的胰液；组织样品或活检物；或从所述个体分离的细胞。

[0666] 可从任何组织或体液获得样品。在某些方面，样品可包括或可源自来自所述个体的组织样品、活检物、切除或分离细胞。

[0667] 在某些方面，样品是组织样品。样品可以是肿瘤组织的样品，例如癌性肿瘤组织。可以通过肿瘤活检获得样品。在一些方面，样品是淋巴组织样品，例如淋巴样病变样品或淋巴结活检物。在某些情况下，样品是皮肤活检物。

[0668] 在一些方面，样品取自体液，更优选地为循环通过身体的体液。因此，样品可以是血液样品或淋巴样品。在某些情况下，样品是尿液样品或唾液样品。

[0669] 在某些情况下，样品是血液样品或血液源性样品。血液源性样品可以是个体血液的选定部分，例如包含选定细胞的级分或血浆或血清级分。

[0670] 包含选定细胞的级分可包含感兴趣的细胞类型，其可包括白细胞(WBC)，特别是外周血单核细胞(PBC)和/或粒细胞、和/或红细胞(RBC)。因此，根据本公开的方法可以涉及检测血液、白细胞、外周血单核细胞、粒细胞和/或红细胞中的第一靶多肽或核酸。

[0671] 样品可以是新鲜的或存档的。例如，存档组织可以来自个体的第一次诊断，或者是复发时的活检物。在某些方面，样品是新鲜的活检物。

[0672] 第一靶多肽优选地为CD25。

[0673] 个体身份

[0674] 个体可以是动物、哺乳动物、胎盘哺乳动物、有袋目哺乳动物（例如，袋鼠、袋熊）、单孔目动物（例如，鸭嘴兽）、啮齿目动物（例如，豚鼠、仓鼠、大鼠、小鼠）、鼠类（例如，小鼠）、兔类动物（例如，兔）、禽类（例如，鸟）、犬科动物（例如，狗）、猫科动物（例如，猫）、马科动物（例如，马）、猪（porcine）（例如，猪（pig））、绵羊（例如，羊）、牛（例如，奶牛）、灵长目动物、类人猿（例如，猴或猿猴）、猴（例如，猕猴、狒狒）、猿（例如，大猩猩、黑猩猩、猩猩、长臂猿）或人类。

[0675] 此外，个体可以是它的任何发育形式，例如胎儿。在一个优选的实施方案中，个体是人类。术语“受试者”、“患者”和“个体”在本文中可互换使用。

[0676] 在本文公开的一些方面，个体患有或疑似患有癌症或已经被鉴定为患有癌症的风险。在本文公开的一些方面，个体已经诊断为癌症。个体可能已被诊断为（经典）霍奇金淋巴瘤（包括结节性硬化、淋巴细胞为主、淋巴细胞或混合细胞性类型，或未明确类型）、弥漫性大B细胞淋巴瘤（DLBCL）或外周T细胞淋巴瘤（PTCL）（包括亚型ALCL：间变性大细胞淋巴瘤或AITL：血管免疫母细胞T细胞淋巴瘤）。在一些情况下，个体已被诊断为结节性硬化或混合细胞性经典霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤或血管免疫母细胞T细胞淋巴瘤。

[0677] 在一些情况下，个体患有或疑似患有增殖性疾病，其特征在于存在包含CD25+ve和CD25-ve细胞的赘生物。赘生物可由CD25-ve赘生细胞组成，任选地其中CD25-ve赘生细胞与

CD25+ve非赘生细胞诸如CD25+ve T细胞相关。赘生物或赘生细胞可以是实体瘤的全部或部分。实体瘤可以是赘生物,包括非血液学癌症,其包含CD25+ve赘生细胞或由CD25+ve赘生细胞组成。实体瘤可以是赘生物,包括非血液学癌症,其浸润有CD25+ve细胞,例如CD25+ve T细胞;此类实体瘤可能缺乏CD25的表达(即,包含CD25-ve赘生细胞或由CD25-ve赘生细胞组成)。

[0678] 在一些情况下,个体患有或疑似患有具有高水平的浸润性T细胞例如浸润性调控性T细胞(Treg;Ménétrier-Caux,C.等人,Targ Oncol (2012) 7:15-28;Arce Vargas等人,2017,Immunity 46,1-10;Tanaka,A.等人,Cell Res.2017年1月;27 (1) :109-118)的实体瘤。肿瘤中的一些或全部赘生细胞可能是CD25-ve。实体瘤可以是胰腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胃癌和食道癌、白血病和淋巴瘤、黑素瘤、非小细胞肺癌、卵巢癌、肝细胞癌、肾细胞癌和头颈癌。

[0679] 在一些情况下,个体已被诊断为(经典)霍奇金淋巴瘤(混合细胞性类型)、或非霍奇金淋巴瘤(包括B细胞慢性淋巴性白血病、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤(FI)、套细胞淋巴瘤(MCL)、慢性淋巴性淋巴瘤(CLL)、边缘区B细胞淋巴瘤(MZBL)以及白血病,例如毛细胞白血病(HCL)、毛细胞白血病变异体(HCL-v)、急性骨髓性白血病(AML)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL),例如费城染色体阳性ALL(Ph+ALL)或费城染色体阴性ALL(Ph-ALL)[Fielding A.,Haematologica.2010年1月;95 (1) :8-12]、小细胞淋巴细胞性淋巴瘤、成人T细胞白血病/淋巴瘤和间变性大细胞淋巴瘤。

[0680] 在一些情况下,个体已被诊断为皮肤T细胞淋巴瘤、蕈样真菌病、Sezary综合征、全身性肥大细胞增多症、B细胞淋巴瘤、非造血性肿瘤、外周T细胞淋巴瘤和组织细胞性增殖。

[0681] 在一些情况下,个体患有、或疑似患有、或已诊断为增殖性疾病,其特征在于存在包含具有低水平的第一靶蛋白(例如CD25)的表面表达的细胞的赘生物。赘生物可由具有低水平的第一靶蛋白(例如CD25)的表面表达的细胞组成。在一些情况下,低水平的表面表达意指每个赘生细胞结合的抗FTP抗体的平均数量小于20000,例如小于10000、小于5000、小于2000、小于1000、小于500、小于400、小于300、小于200或小于100。在一些情况下,使用实施例9中所述的测定法测量每个细胞结合的抗体的平均数量。

[0682] 在一些情况下,个体已诊断为增殖性疾病,其特征在于存在包含CD25+ve和CD25-ve细胞的赘生物。赘生物可由CD25-ve赘生细胞组成,任选地其中CD25-ve赘生细胞与CD25+ve非赘生细胞诸如CD25+ve T细胞相关。赘生物或赘生细胞可以是实体瘤的全部或部分。实体瘤可以是赘生物,包括非血液学癌症,其包含CD25+ve赘生细胞或由CD25+ve赘生细胞组成。实体瘤可以是赘生物,包括非血液学癌症,其浸润有CD25+ve细胞,例如CD25+ve T细胞;此类实体瘤可能缺乏CD25的表达(即,包含CD25-ve赘生细胞或由CD25-ve赘生细胞组成)。

[0683] 在一些情况下,个体已诊断为具有高水平的浸润性T细胞例如浸润性调控性T细胞(Treg;Ménétrier-Caux,C.等人,Targ Oncol (2012) 7:15-28;Arce Vargas等人,2017,Immunity 46,1-10;Tanaka,A.等人,Cell Res.2017年1月;27 (1) :109-118)的实体瘤。肿瘤中的一些或全部赘生细胞可能是CD25-ve。实体瘤可以是胰腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胃癌和食道癌、白血病和淋巴瘤、黑素瘤、非小细胞肺癌、卵巢癌、肝细胞癌、肾细胞癌和头颈癌。

[0684] 在一些情况下,个体已经诊断为含有表达CD25+的浸润T细胞的实体癌。

[0685] 个体可能正在经历或已经历针对此癌症的治疗性治疗。受试者先前可能接受过或

未接受过ADCX25。在一些情况下,癌症是淋巴瘤,包括霍奇金或非霍奇金淋巴瘤。

[0686] 对照

[0687] 在一些方面,将个体中的靶表达与对照中的靶表达进行比较。对照可用于支持染色的有效性,并可用于鉴定实验性人为因素。

[0688] 在一些情况下,对照可以是参考样品或参考数据集。参考可以是先前从具有已知适合度的个体获得的样品。参考可以是由分析参考样品获得的数据集。

[0689] 对照可以是已知靶分子存在或以高水平表达的阳性对照,或已知靶分子不存在或以低水平表达的阴性对照。

[0690] 对照可以是来自已知受益于治疗的个体的组织样品。组织可以具有与正测试样品相同的类型。例如,可以将来自个体的肿瘤组织样品与来自已知适合于治疗的个体(例如先前已对治疗有反应的个体)的肿瘤组织的对照样品进行比较。

[0691] 在一些情况下,对照可以是从与测试样品相同的个体获得的样品,但是来自已知为健康的组织。因此,可以将来自个体的癌组织样品与非癌组织样品进行比较。

[0692] 在一些情况下,对照是细胞培养物样品。

[0693] 在一些情况下,在与抗体温育之前分析测试样品以确定该样品固有的背景染色水平。

[0694] 在某些情况下,使用同种型对照。同种型对照使用与靶特异性抗体相同类别的抗体,但不与样品发生免疫反应。此类对照可用于区分靶特异性抗体的非特异性相互作用。

[0695] 所述方法可包括血液病理学家对形态学和免疫组织化学的解释,以确保对测试结果的准确解释。所述方法可以涉及确认表达模式与预期模式相关。例如,在分析第一靶蛋白和/或第二靶蛋白表达的量的情况下,此方法可以涉及确认在测试样品中表达被观察为具有细胞质成分的膜染色。此方法可以涉及确认靶信号与噪声的比率高于阈值水平,从而允许在特定和非特定背景信号之间进行清楚的区分。

[0696] 第一靶蛋白优选地为CD25。

[0697] 第二靶蛋白可以是BTK、PD1、PDL1、GITR、OX40或CTLA。第二靶蛋白优选地为PD-L1。

[0698] 治疗方法

[0699] 如本文在治疗病状的上下文中所用的术语“治疗”一般涉及治疗和疗法,不论人类还是动物(例如在兽医应用中),其中获得一些所需的治疗效果,例如,抑制病状的进展,并且包括降低进展速率、终止进展速率、消退病状、改善病状和治愈病状。还包括作为预防性措施的治疗(即预防、防止)。

[0700] 如本文所用的术语“治疗有效量”或“有效量”涉及当根据需要的治疗方案施用时,有效产生与合理的益处/风险比相匹配的一些所需治疗效果的活性化合物,或包含活性化合物的材料、组合物或剂型的量。

[0701] 相似地,如本文所用的术语“预防性地有效量”涉及当根据需要的治疗方案施用时,有效产生与合理的益处/风险比相匹配的一些所需预防效果的活性化合物,或包含活性化合物的材料、组合物或剂型的量。

[0702] 本文公开了治疗方法。还提供了一种治疗方法,其包括向需要治疗的受试者施用治疗有效量的ADC和第二药剂。术语“治疗有效量”是足以对受试者显示益处的量。这样的益处可以是至少改善至少一种症状。施用的实际量以及施用的速率和时程将取决于待治疗对

象的特性和严重性。治疗处方例如对剂量的决定是在全科医生和其他医生的责任范围内。可测试受试者以根据本文公开的方法确定他们接受治疗的资格。治疗方法可包括使用本文公开的方法确定受试者是否有资格接受治疗的步骤。

[0703] ADC可包含抗CD25抗体。抗CD25抗体可以是HuMax-TAC<sup>TM</sup>。ADC可包含作为PBD二聚体的药物。ADC可以是抗CD25-ADC，特别是ADCX25。ADC可以是WO2014/057119中公开的ADC。

[0704] 第二药剂可以是：

[0705] (a) 布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂(BTKi)，例如依鲁替尼(Imbruvica)、阿卡替尼/ACP-196、ONO/GS-4059、司培替尼/AVL-292/CC-292、HM71224(坡塞替尼)或BGB-3111(泽布替尼)；

[0706] (b) PD1拮抗剂，例如派姆单抗、纳武单抗、MEDI0680、PDR001(spartalizumab)、卡瑞利珠单抗、AUNP12、皮地利珠单抗、Cemiplimab(REGN-2810)、AMP-224、BGB-A317(替雷利珠单抗)或BGB-108；

[0707] (c) PD-L1拮抗剂，例如阿特珠单抗(Tecentriq)、BMS-936559/MDX-1105、德瓦鲁单抗/MEDI4736、或MSB0010718C(阿维鲁单抗)；

[0708] (d) GITR(糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白)激动剂，例如MEDI1873、TRX518、GWN323、MK-1248、MK-4166、BMS-986156或INCAGN1876；

[0709] (e) OX40激动剂，例如MEDI0562、MEDI6383、MOXR0916、RG7888、OX40mAb24、INCAGN1949、GSK3174998或PF-04518600；

[0710] (f) CTLA-4拮抗剂，例如伊匹单抗(商品名Yervoy)或替西木单抗(最初由Pfizer开发，现为Medimmune)；

[0711] (g) 氟达拉滨或阿糖胞苷；或者

[0712] (h) 低甲基化剂，例如胞苷类似物-例如5-氮杂胞苷(阿扎胞苷)和5-氮杂-2'-脱氧胞苷(地西他滨)。

[0713] 治疗可以包括根据待治疗的病状同时或依次施用单独地或与其他治疗进一步组合的ADC/第二药剂组合。治疗和疗法的实例包括但不限于化学疗法(施用活性剂，包括例如药物，诸如化学治疗剂)；手术；以及放射疗法。

[0714] 不考虑作用机理，“化学治疗剂”是适用于治疗癌症的化学化合物。化学治疗剂的类别包括但不限于：烷化剂、抗代谢物、纺锤体毒物植物生物碱、细胞毒素/抗肿瘤抗生素、拓扑异构酶抑制剂、抗体、光敏剂以及激酶抑制剂。化学治疗剂包括在“靶向治疗”和常规化学疗法中使用的化合物。

[0715] 化学治疗剂的实例包括：来那度胺(REVLIMID<sup>®</sup>, Celgene)、伏立诺他(ZOLINZA<sup>®</sup>, Merck)、帕比司他(FARYDAK<sup>®</sup>, Novartis)、莫西司他(Mocetinostat)(MGCD0103)、依维莫司(ZORTRESS<sup>®</sup>、CERTICAN<sup>®</sup> , Novartis)、苯达莫司汀(TREAKISYM<sup>®</sup>、RIBOMUSTIN<sup>®</sup> 、 LEVACT<sup>®</sup> 、 TREANDA<sup>®</sup> , Mundipharma International)、厄洛替尼(TARCEVA<sup>®</sup>, Genentech/OSI Pharm.)、多西他赛(TAXOTERE<sup>®</sup>, Sanofi-Aventis)、5-FU(氟尿嘧啶、5-氟尿嘧啶,CAS号51-21-8)、吉西他滨(GEMZAR<sup>®</sup>, Lilly)、PD-0325901(CAS号391210-10-9,Pfizer)、顺铂(顺式二胺、二

氯铂(II),CAS号15663-27-1)、卡铂(CAS号41575-94-4)、紫杉醇(TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、曲妥单抗(HERCEPTIN®, Genentech)、替莫唑胺(4-甲基-5-氧代-2,3,4,6,8-五氮杂双环[4.3.0]壬-2,7,9-三烯-9-甲酰胺,CAS号85622-93-1,TEMODAR®, TEMODAL®, Schering Plough)、他莫昔芬((Z)-2-[4-(1,2-二苯基丁-1-烯基)苯氧基]-N,N-二甲基乙胺,NOLVADEX®、ISTUBAL®、VALODEX®)和多柔比星(ADRIAMYCIN®)、Akti-1/2、HPPD以及雷帕霉素。

[0716] 化学治疗剂的更多实例包括:奥沙利铂(ELOXATIN®, Sanofi)、硼替佐米(VELCADE®, Millennium Pharm.)、索坦(SUNITINIB®, SU11248, Pfizer)、来曲唑(FEMARA®, Novartis)、甲磺酸伊马替尼(GLEEVEC®, Novartis)、XL-518(Mek抑制剂,Exelixis,W02007/044515)、ARRY-886(Mek抑制剂,AZD6244,Array BioPharma,AstraZeneca)、SF-1126(PI3K抑制剂,Semafore Pharmaceuticals)、BEZ-235(PI3K抑制剂,Novartis)、XL-147(PI3K抑制剂,Exelixis)、PTK787/ZK 222584(Novartis)、氟维司群(FASLODEX®, AstraZeneca)、甲酰四氢叶酸(亚叶酸)、雷帕霉素(西罗莫司,RAPAMUNE®, Wyeth)、拉帕替尼(TYKERB®, GSK572016,Glaxo Smith Kline)、洛那法尼(SARASAR™, SCH 66336, Schering Plough)、索拉非尼(NEXAVAR®, BAY43-9006, Bayer Labs)、吉非替尼(IRESSA®, AstraZeneca)、伊立替康(CAMPTOSAR®, CPT-11,Pfizer)、替吡法尼(ZARNESTRA™, Johnson&Johnson)、ABRAXANE™(无聚氧乙烯蓖麻油)、紫杉醇的白蛋白工程化纳米颗粒制剂(American Pharmaceutical Partners,Schaumberg, IL)、凡德他尼(rINN,ZD6474,ZACTIMA®, AstraZeneca)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、AG1478、AG1571(SU 5271; Sugen)、替西罗莫司(TORISEL®, Wyeth)、帕唑帕尼(GlaxoSmithKline)、坎磷酰胺(canfosfamide)(TELCYTA®, Telik)、噻替哌和环磷酰胺(CYTOXAN®、NEOSAR®);烷基磺酸酯,诸如白消安、英丙舒凡和哌泊舒凡;氮杂环丙烷,诸如苯佐替哌(benzodopa)、卡波醌、美妥替派(meturedopa)和乌瑞替哌(uredopa);乙烯亚胺和甲基密胺,包括六甲蜜胺、三亚乙基蜜胺、三亚乙基磷酰胺、三亚乙基硫代磷酰胺和三羟甲基密胺;多聚乙酰(acetogenin)(尤其是布拉它辛(bullatacin)和布拉它辛酮(bullatacinone));喜树碱(包括合成类似物拓扑替康);苔藓抑素;卡利他汀(callystatin);CC-1065(包括其阿多来新、卡折来新和比折来新合成类似物);念珠藻素(cryptophycin)(尤其是念珠藻素1和念珠藻素8);尾海兔素;多卡霉素(duocarmycin)(包括合成类似物KW-2189和CB1-TM1);艾榴塞洛素(eleutherobin);水鬼蕉碱(pancratistatin);萨科迪汀(sarcodictyin);海绵抑素(spongistatin);氮芥,诸如苯丁酸氮芥、萘氮芥、氯磷酰胺、雌莫司汀、异环磷酰胺、氮芥(mechlorethamine)、盐酸氮芥、美法仑、新恩比兴、苯芥胆甾醇、泼尼莫司汀、曲洛磷胺、乌拉莫司汀;亚硝基脲,诸如卡莫司汀、氯脲霉素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀和雷莫司汀(ranimustine);抗生素,诸如烯二炔抗生素(例如加利车霉素、加利车霉素 $\gamma$  1 I、加利车霉素 $\omega$  I I (Angew

Chem. Int'l. Ed. Engl. (1994) 33: 183-186); 达内霉素、达内霉素A; 二膦酸盐, 诸如氯膦酸盐; 埃斯佩拉霉素(esperamicin); 以及新制癌菌素发色团和相关色素蛋白烯二炔抗生素发色团)、阿克拉霉素(aclacinomycin)、放线菌素、安曲霉素(authramycin)、重氮丝氨酸、博莱霉素、放线菌素C、卡拉比星(carabacin)、洋红霉素、嗜癌菌素、色霉素(chromomycinis)、放线菌素D、道诺霉素、地托比星、6-重氮基-5-氧代-L-正亮氨酸、吗啉代-多柔比星、氰基吗啉代-多柔比星、2-吡咯啉并-多柔比星和脱氧多柔比星)、表柔比星、依索比星、伊达比星、奈莫柔比星、麻西罗霉素、丝裂霉素(诸如丝裂霉素C)、霉酚酸、诺加霉素、橄榄霉素、培洛霉素、泊非霉素、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑菌素、链脲菌素、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁(zinostatin)、佐柔比星; 抗代谢物, 诸如甲氨蝶呤和5-氟尿嘧啶(5-FU); 叶酸类似物, 诸如二甲叶酸、甲氨蝶呤、蝶罗呤、三甲曲沙; 嘌呤类似物, 诸如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤; 嘧啶类似物, 诸如安西他滨、阿扎胞苷、6-氮杂尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、二脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨、氟尿苷; 雄激素, 诸如卡普睾酮、屈他雄酮丙酸酯、环硫雄醇、美雄烷、睾内酯; 抗肾上腺素类(anti-adrenal), 诸如氨鲁米特、米托坦、曲洛司坦; 叶酸补充剂, 诸如亚叶酸(folinic acid); 醋葡醛内酯; 醛磷酰胺糖苷; 氨基乙酰丙酸; 恩尿嘧啶; 安吖啶; 贝拉布昔(bestrabucil); 比生群; 依达曲沙; 地佛法明(defofamine); 秋水仙胺; 地吖醒; 依氟鸟氨酸; 依利醋铵(elliptinium acetate); 埃博霉素; 依托格鲁; 硝酸镓; 羟基脲; 香菇多糖(lentinan); 氯尼达明(lonidainine); 类美登醇(maytansinoid), 诸如美登素和安丝菌素; 米托胍腙; 米托蒽醌; 莫皮达明(mopidanmol); 根瘤菌剂(nitroerine); 喷司他丁; 苯来美特(phemamet); 吡柔比星; 洛索蒽醌; 鬼臼酸; 2-乙基酰肼; 甲基苄肼; PSK®多糖复合物(JHS Natural Products, Eugene, OR); 雷佐生; 根霉素; 西佐喃(sizofiran); 锌螺胺; 细交链孢菌酮酸(tenuazonic acid); 三亚胺醌; 2,2',2"-三氯三乙胺; 单端孢霉烯类(尤其是T-2毒素、疣孢菌素A(verrucarin A)、杆孢菌素A和蛇形菌素(anguidine)); 乌拉坦(urethan); 长春地辛; 达卡巴嗪; 甘露醇氮芥; 二溴甘露醇; 二溴卫矛醇; 味泊溴烷; 加西托辛(gacytosine); 阿拉伯糖昔("Ara-C"); 环磷酰胺; 噻替哌; 6-硫鸟嘌呤; 硫基嘌呤; 甲氨蝶呤; 铂类似物, 诸如顺铂和卡铂; 长春花碱; 依托泊苷(VP-16); 异环磷酰胺; 米托蒽醌; 长春新碱; 长春瑞滨(NAVELBINE®); 诺消灵(novantrone); 替尼泊昔; 依达曲沙; 道诺霉素; 氨基蝶呤; 卡培他滨(XELODA®, Roche); 伊班膦酸盐; CPT-11; 拓扑异构酶抑制剂RFS 2000; 二氟甲基鸟氨酸(DMFO); 类维生素A, 诸如维甲酸; 以及前述任一者的药学上可接受的盐、酸和衍生物。可以使用药剂的组合, 例如CHP(多柔比星、泼尼松、环磷酰胺)或CHOP(多柔比星、泼尼松、环磷酰胺、长春新碱)。

[0717] 在“化学治疗剂”的定义中还包括: (i) 抗激素剂, 其用来调节或抑制对肿瘤的激素作用诸如抗雌激素和选择性雌激素受体调节剂(SERM), 包括例如他莫昔芬(包括NOLVADEX®; 枸橼酸他莫昔芬)、雷洛昔芬(raloxifene)、屈洛昔芬、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬、雷洛昔芬(keoxifene)、LY117018、奥那司酮和FARESTON®(枸橼酸托瑞米芬); (ii) 芳香酶抑制剂, 其抑制酶芳香酶(所述芳香酶调节肾上腺中雌激素的产生), 例如像4(5)-咪唑、氨鲁米特、MEGASE®(醋酸甲地孕酮)、AROMASIN®(依西美坦; Pfizer)、福美坦、法倔唑、RIVISOR®(伏氯唑)、FEMARA®(来曲唑; Novartis) 和

ARIMIDEX®(阿纳托唑;AstraZeneca);(iii)抗雄激素诸如氟他胺、尼鲁米特、比卡鲁胺、亮丙瑞林和戈舍瑞林;以及曲沙他滨(1,3-二氧戊环核苷酸胞嘧啶类似物);(iv)蛋白激酶抑制剂诸如MEK抑制剂(WO 2007/044515);(v)脂质激酶抑制剂;(vi)反义寡核苷酸,尤其是抑制涉及异常细胞增殖的信号通路中的基因表达的那些反义寡核苷酸,例如,PKC- $\alpha$ 、Raf和H-Ras,诸如奥利默森(GENASENSE®,Genta公司);(vii)核糖酶诸如VEGF表达抑制剂(例如,ANGIOZYME®)和HER2表达抑制剂;(viii)疫苗,诸如基因治疗疫苗,例如ALLOVECTIN®、LEUVECTIN®和VAXID®; PROLEUKIN®rIL-2;拓扑异构酶1抑制剂诸如LURTOTECAN®; ABARELIX®rmRH;(ix)抗血管生成剂诸如贝伐珠单抗(AVASTIN®,Genentech);以及任何前述项的药学上可接受的盐、酸和衍生物。

[0718] 在“化学治疗剂”的定义中还包括治疗性抗体,诸如阿仑单抗(Campath)、贝伐单抗(AVASTIN®,Genentech);西妥昔单抗(ERBITUX®,Imclone);帕尼单抗(VECTIBIX®,Amgen)、利妥昔单抗(RITUXAN®,Genentech/Biogen Idec)、奥法木单抗(ARZERRA®,GSK)、帕妥珠单抗(PERJETA™,OMNITARG™,2C4,Genentech)、曲妥单抗(HERCEPTIN®,Genentech)、托西莫单抗(Bexxar,Corixia)、MDX-060(Medarex)以及抗体药物缀合物、吉妥珠单抗、奥佐米星(MYLOTARG®,Wyeth)。

[0719] 与本公开的缀合物组合的具有作为化学治疗剂的治疗潜力的人源化单克隆抗体包括:阿仑珠单抗、阿泊珠单抗、阿塞珠单抗、那他珠单抗、巴品珠单抗、贝伐珠单抗、莫比伐单抗、莫坎妥珠单抗、西利珠单抗、赛妥珠单抗、西弗斯妥单抗(cidfusituzumab)、西地珠单抗(cidtuzumab)、达利珠单抗、依库珠单抗、依法珠单抗、依帕珠单抗、厄利珠单抗、非维珠单抗、芳妥珠单抗、吉妥珠单抗奥唑米星、奥英妥珠单抗、伊匹单抗、拉贝珠单抗、林妥珠单抗、马妥珠单抗、美泊利单抗、莫维珠单抗、莫妥维珠单抗(motovizumab)、那他珠单抗、尼妥珠单抗、诺洛维珠单抗(nolovizumab)、努马维珠单抗(numavizumab)、奥瑞珠单抗、奥马珠单抗、帕利珠单抗、帕考珠单抗、帕氟珠单抗(pecfusituzumab)、帕妥珠单抗(pectuzumab)、帕妥珠单抗、培克珠单抗、ralivizumab、雷珠单抗、热利维珠单抗(reslivizumab)、瑞利珠单抗、热西维珠单抗(resyvizumab)、罗维珠单抗、卢利珠单抗、西罗珠单抗、西利珠单抗、索土珠单抗、替他珠单抗、他度珠单抗、他利珠单抗、特非珠单抗、托珠单抗、托利珠单抗、曲妥珠单抗、西莫白介素单抗、图库斯珠单抗(tucusituzumab)、乌吗维珠单抗(umavizumab)、乌珠单抗和维西珠单抗。

[0720] 根据本公开的组合物优选地为药物组合物。根据本公开的并根据本公开使用的药物组合物,除活性成分(即缀合物化合物)之外,还可以包含药学上可接受的赋形剂、载体、缓冲剂、稳定剂或本领域技术人员熟知的其他材料。所述物质应为无毒的并且应不干扰活性成分的功效。载体或其他材料的确切性质将取决于施用途径,所述施用途径可以是口服、或通过注射,例如皮肤、皮下、或静脉内注射。

[0721] 用于口服施用的药物组合物可以是片剂、胶囊剂、粉剂或液体形式。片剂可以包含固体载体或佐剂。液体药物组合物通常包含液体载体诸如水、石油、动物油或植物油、矿物油或合成油。可包含生理盐水溶液、葡萄糖或其他糖溶液或二醇类诸如乙二醇、丙二醇或聚乙二醇。胶囊剂可以包含固体载体诸如明胶。

[0722] 对于静脉内、皮肤或皮下注射、或在痛苦部位处的注射,活性成分将具有肠胃外可接受的水性溶液的形式,所述水性溶液是无热原的并具有适宜的pH、等渗性和稳定性。本领域的相关技术人员使用例如等渗媒介物诸如氯化钠注射液、林格氏注射液、乳酸林格氏注射液完全能够制备合适的溶液。根据需要,可以包含防腐剂、稳定剂、缓冲剂、抗氧化剂和/或其他添加剂。

[0723] 剂量

[0724] 本领域的技术人员应认识到,ADC和/或第二药剂以及包含这些活性成分的组合物的适当剂量可在各个受试者之间不同。确定最佳剂量一般将涉及在治疗益处的水平与任何风险或有害副作用之间进行平衡。所选剂量水平将取决于各种因素,包括但不限于具体化合物的活性、施用途径、施用时间、化合物的排泄速率、治疗持续时间、组合使用的其他药物、化合物和/或材料,病状的严重性以及受试者的种族、性别、年龄、体重、病状、一般健康状况和以前病史。化合物的量和施用途径将最终由医师、兽医或临床医生酌定,但是总体上将剂量选择成在作用部位获得局部浓度,其实现所需效果而不导致大致上有害或有毒的副作用。

[0725] 在某些方面,ADC的剂量通过在从受试者获得的样品中观察到的第一靶蛋白的表达来确定。因此,样品中第一靶蛋白的表达水平或定位可指示需要更高或更低剂量的ADC。例如,第一靶蛋白的高表达水平可以指示更高剂量的ADC将是合适的。在一些情况下,第一靶蛋白的高表达水平可以指示除了ADC之外还需要施用另一种药剂。例如,将ADC与化学治疗剂一起施用。第一靶蛋白的高表达水平可指示更具攻击性的治疗。

[0726] 在某些方面,剂量水平由获自受试者的样品中贅生细胞上第一靶蛋白的表达确定。例如,当靶贅生物由表达第一靶蛋白的贅生细胞组成或包含其时。

[0727] 在某些方面,剂量水平由第一靶蛋白在与靶贅生物相关的细胞上的表达确定。例如,靶贅生物可以是由表达第一靶蛋白的贅生细胞组成或包括其的实体瘤。例如,靶贅生物可以是由不表达第一靶蛋白的贅生细胞组成或包括其的实体瘤。表达第一靶蛋白的细胞可以是浸润实体瘤的非贅生细胞,例如浸润T细胞。

[0728] 在某些方面,第二药剂的剂量通过在从受试者获得的样品中观察到的第二靶蛋白的表达来确定。因此,样品中第二靶蛋白的表达水平或定位可指示需要更高或更低剂量的第二药剂。例如,第二靶蛋白的高表达水平可指示更高剂量的第二药剂将是合适的。在一些情况下,第二靶蛋白的高表达水平可指示除了第二药剂之外还需要施用另一种药剂。例如,将第二药剂与化学治疗剂一起施用。第二靶蛋白的高表达水平可指示更具攻击性的治疗。

[0729] 施用可在整个治疗过程中以一次剂量、连续或间歇地(例如在适当的时间间隔下,以分剂量)实现。确定最有效施用方式和剂量的方法为本领域技术人员熟知并且将随着用于治疗的制剂、治疗目的、所治疗的靶细胞和所治疗的受试者而变化。单次或多次施用可根据由治疗医师、兽医或临床医生选择的剂量水平和模式来执行。

[0730] 一般来讲,每种活性化合物的合适剂量范围为约100ng至约25mg(更通常地为约1 $\mu$ g至约10mg)/千克受试者体重/天。当活性化合物为盐、酯、酰胺、前药等时,施用量基于母体化合物来计算,因此待使用的实际重量成比例增加。

[0731] 在一个实施方案中,根据以下剂量方案将每种活性化合物施用至人类受试者:约100mg,每日3次。

[0732] 在一个实施方案中,根据以下剂量方案将每种活性化合物施用至人类受试者:约150mg,每日2次。

[0733] 在一个实施方案中,根据以下剂量方案将每种活性化合物施用至人类受试者:约200mg,每日2次。

[0734] 然而,在一个实施方案中,根据以下剂量方案将每种缀合物化合物施用至人类受试者:约50或约75mg,每日3次或4次。

[0735] 在一个实施方案中,根据以下剂量方案将每种缀合物化合物施用至人类受试者:约100或约125mg,每日2次。

[0736] 对于ADC,在其为具有PBD的ADC时,上文描述的剂量可以适用于缀合物(包括PBD部分和与抗体的接头)或适用于有效量的提供的PBD化合物,例如在切割接头后可释放的化合物的量。

[0737] 第一靶蛋白优选地为CD25。ADC可包含抗CD25抗体。抗CD25抗体可以是HuMax-TAC<sup>TM</sup>。ADC可包含作为PBD二聚体的药物。ADC可以是抗CD25-ADC,并且特别地优选地是ADCX25。ADC可以是W02014/057119中公开的ADC。

[0738] 第二靶蛋白可以是BTK、PD1、PDL1、GITR、OX40或CTLA。第二靶蛋白优选地为PD-L1。第二药剂可以是:

[0739] (a) 布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂(BTKi),例如依鲁替尼(Imbruvica)、阿卡替尼/ACP-196、ONO/GS-4059、司培替尼/AVL-292/CC-292、HM71224(坡塞替尼)或BGB-3111(泽布替尼);

[0740] (b) PD1拮抗剂,例如派姆单抗、纳武单抗、MEDI0680、PDR001(spartalizumab)、卡瑞利珠单抗、AUNP12、皮地利珠单抗、Cemiplimab(REGN-2810)、AMP-224、BGB-A317(替雷利珠单抗)或BGB-108;

[0741] (c) PD-L1拮抗剂,例如阿特珠单抗(Tecentriq)、BMS-936559/MDX-1105、德瓦鲁单抗/MEDI4736、或MSB0010718C(阿维鲁单抗);

[0742] (d) GITR(糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白)激动剂,例如MEDI1873、TRX518、GWN323、MK-1248、MK-4166、BMS-986156或INCAGN1876;

[0743] (e) OX40激动剂,例如MEDI0562、MEDI6383、MOXR0916、RG7888、OX40mAb24、INCAGN1949、GSK3174998或PF-04518600;

[0744] (f) CTLA-4拮抗剂,例如伊匹单抗(商品名Yervoy)或替西木单抗(最初由Pfizer开发,现为Medimmune);

[0745] (g) 氟达拉滨或阿糖胞苷;或者

[0746] (h) 低甲基化剂,例如胞苷类似物-例如5-氮杂胞苷(阿扎胞苷)和5-氮杂-2'-脱氧胞苷(地西他滨)。

[0747] 抗体

[0748] 术语“抗体”在本文中以最广泛的意义使用并且具体地涵盖单克隆抗体、多克隆抗体、二聚体、多聚体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)、完整抗体(也称为“全长”抗体)和抗体片段,只要它们显示所期望的生物活性,例如结合第一靶蛋白的能力(Miller等人(2003)Jour.of Immunology 170:4854-4861)。抗体可以是鼠类、人类、人源化、嵌合的或源自其他物种,例如兔、山羊、绵羊、马或骆驼。

[0749] 抗体是由免疫系统生成的能够识别并结合特异性抗原的蛋白质。(Janeway, C.、Travers, P.、Walport, M.、Shlomchik (2001) Immuno Biology, 第5版, Garland Publishing, New York)。靶抗原通常具有由在多种抗体上的互补决定区(CDR)所识别的许多结合位点,也被称为表位。特异性地结合于不同表位的每种抗体具有不同的结构。因此,一种抗原可以具有多于一种的对应抗体。抗体可包括全长免疫球蛋白分子或全长免疫球蛋白分子的免疫活性部分,即一种包含免疫特异性地结合感兴趣的靶的抗原或其部分的抗原结合位点的分子,此类靶包括但不限于癌细胞或产生与自身免疫疾病相关的自身免疫抗体的细胞。免疫球蛋白可以是任何类型(例如IgG、IgE、IgM、IgD和IgA)、类别(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类或同种异型(例如人类G1m1、G1m2、G1m3、非G1m1[即,除G1m1以外的任何同种异型]、G1m17、G2m23、G3m21、G3m28、G3m11、G3m5、G3m13、G3m14、G3m10、G3m15、G3m16、G3m6、G3m24、G3m26、G3m27、A2m1、A2m2、Km1、Km2和Km3)的免疫球蛋白分子。免疫球蛋白可以源自任何物种,包括人类、鼠类或兔起源。

[0750] “抗体片段”包含全长抗体的一部分,通常为其抗原结合区或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>和scFv片段;双抗体;线性抗体;由Fab表达文库产生的片段、抗独特型(抗-Id)抗体、CDR(互补决定区)以及以上任一者的免疫特异性地结合于癌细胞抗原、病毒抗原或微生物抗原的表位结合片段、单链抗体分子;以及形成自抗体片段的多特异性抗体。

[0751] 如在本文中所使用的,术语“单克隆抗体”是指获自基本上同质性的抗体的群体的抗体,即,除了可少量存在的可以天然发生的突变以外,构成群体的单独抗体是相同的。单克隆抗体是高度特异性的,是针对单一的抗原位点。此外,与包括针对不同决定子(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相比,每种单克隆抗体是针对在抗原上的单一决定子。除特异性外,单克隆抗体的优势还在于,其合成不会受到其他抗体的污染。修饰语“单克隆”表明,抗体的特性是获自抗体的基本同质群体,而不应当被解释为需要通过任何特定方法来生产抗体。例如,根据本公开使用的单克隆抗体可以通过首先由Kohler等人(1975) Nature 256:495描述的杂交瘤方法来制备,或可以通过重组DNA方法来制备(参见,US 4816567)。单克隆抗体也可以使用Clackson等人(1991) Nature, 352:624-628; Marks等人(1991) J.Mol.Biol., 222:581-597中描述的技术从噬菌体抗体文库中分离,或者从携带完全人免疫球蛋白系统的转基因小鼠(Lonberg (2008) Curr.Opinion 20 (4): 450-459)中分离。

[0752] 本文中的单克隆抗体特别包括“嵌合”抗体,其中一部分的重链和/或轻链与源自特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,同时所述链的其余部分与在源自另一物种或属于另一抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源;以及此类抗体的片段,只要它们显示所期望的生物活性(US 4816567;以及Morrison等人(1984) Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 81:6851-6855)。嵌合抗体包括“灵长类化”抗体,其包含源自非人灵长类动物(例如旧大陆猴或猿)的可变结构域抗原结合序列和人恒定区序列。

[0753] 本文中的“完整抗体”是这样一种抗体,其包含VL和VH结构域,以及轻链恒定结构域(CL)和重链恒定结构域CH1、CH2和CH3。恒定结构域可以是天然序列恒定结构域(例如人天然序列恒定结构域)或其氨基酸序列变体。完整抗体可以具有一种或多种“效应子功能”,其是指可归因于抗体的Fc区(天然序列Fc区或氨基酸序列变体Fc区)的那些生物活性。抗体效应子功能的实例包括C1q结合;补体依赖性细胞毒性;Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导

的细胞毒性(ADCC)；吞噬作用；以及细胞表面受体(诸如B细胞受体和BCR)的下调。

[0754] 根据它们的重链的恒定结构域的氨基酸序列，完整抗体可以被指定为不同的“类别”。存在五种主要类别的完整抗体：IgA、IgD、IgE、IgG和IgM，并且这些类别中的若干个可进一步分成“亚类”(同种型)，例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA和IgA2。对应于不同类别的抗体的重链恒定结构域分别被称为 $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 、和 $\mu$ 。不同类别的免疫球蛋白的亚基结构和三维构型是熟知的。

[0755] 抗CD25抗体是本领域已知的，并且可用于本文公开的方法。这些抗体包括抗体4C9(可从Ventana Medical Systems, Inc.获得)。其他合适的抗体包括WO 2004/045512(Genmab A/S)中描述的抗体AB12、IL2R.1(可从Life Technologies获得，目录号MA5-12680)和RFT5(在US6383487中描述)。其他合适的抗体包括B489(143-13)(可从Life Technologies获得，目录号MA1-91221)、SP176(可从Novus获得，目录号NBP2-21755)、1B5D12(可从Novus获得，目录号NBP2-37349)、2R12(可从Novus获得，目录号NBP2-21755)或BC96(可从BioLegend获得，目录号V T-072)和M-A251(可从BioLegend获得，目录号IV A053)。其他合适的抗CD25抗体是达利珠单抗(Zenapax<sup>TM</sup>)和巴利昔单抗(Simulect<sup>TM</sup>)，这两种抗体均已批准用于临床。

[0756] 抗PD-L1抗体是本领域已知的，并且可用于本文公开的方法。这些抗体包括阿特珠单抗(MPDL3280；CAS号1380723-44-3)、阿维鲁单抗(MSB0010718C；CAS号1537032-82-8)和德瓦鲁单抗b(CAS号1428935-60-7)。

## 附图说明

[0757] 现在将参考附图讨论说明本公开的原理的实施方案和实验，其中：

[0758] 图1.序列

[0759] 图2.用替代品ADCx25、抗PD1治疗或对照ADC单次治疗后的体内肿瘤体积(根据实施例4)

[0760] 图3.显示低剂量替代品ADCx25与抗PD1治疗之间的协同作用的体内肿瘤体积(根据实施例4)

[0761] 图4.单独的阿糖胞苷(左图)或与ADCx25的组合(右图)针对Karpas299细胞系的体外细胞毒性数据。

[0762] 图5.单独的阿糖胞苷(左图)或与ADCx25的组合(右图)针对KG-1细胞系的体外细胞毒性数据。

[0763] 图6.在与或不与阿糖胞苷一起温育的Karpas299细胞系(左图)和KG-1细胞系(右图)上的表面CD25水平。

[0764] 图7.单独的地西他滨(左图)或ADCx25与地西他滨的组合(右图)的体外细胞毒性。

[0765] 图8.细胞(未处理或与30mM地西他滨一起温育后)上CD25的细胞表面水平

[0766] 图9.ADCx25与阿糖胞苷的组合(9A)或与地西他滨的组合(9B)针对Karpas299细胞的体外细胞毒性。

[0767] 图10.ADCx25与阿糖胞苷的组合(9A)或与地西他滨的组合(9B)针对KG-1细胞的体外细胞毒性。

[0768] 本公开包括所描述的方面和优选特征的组合，除了这种组合明显是不允许的或者

明确避免的情况。

[0769] 本文所用的章节标题仅出于组织目的，并且不应解释为限制所描述的主题。

[0770] 现将参考附图，通过举例的方式说明本公开的多个方面和实施方案。其他方面和实施方案对于本领域技术人员而言将是明显的。本文提及的所有文献均以引用的方式并入本文。

[0771] 贯穿本说明书(包括所附权利要求书)，除非上下文另有要求，否则词语“包含(comprise)”和变型诸如“包含(comprises)”或“包含(comprising)”应理解为暗示包括所述的整数或步骤或者整数或步骤的组，但不排除任何其他整数或步骤或者整数或步骤的组。

[0772] 必须注意，除非本文另外清楚指示，否则如本说明书和所附权利要求书中所用，单数形式“一个/种(a/an)”和“所述(the)”包括多个提及物。范围可在本文中表达为从“约”一个特定值起和/或至“约”另一个特定值。当表达这类范围时，另一个实施方案包括从所述一个特定值和/或至所述另一个特定值。类似地，在通过使用先行词“约”将值表达为近似值时，应理解特定值形成另一个实施方案。

[0773] 一些实施方案

[0774] 以下段落描述了本公开的一些具体实施方案：

[0775] 1. 一种用于治疗个体的癌症的方法，所述方法包括向所述个体施用有效量的ADCX25和第二药剂。

[0776] 2. 一种包含ADCX25的第一组合物，其用于在治疗个体的癌症的方法中使用，其中所述治疗包括将所述第一组合物与包含第二药剂的第二组合物组合施用。

[0777] 3. 一种包含第二药剂的第一组合物，其用于在治疗个体的病症的方法中使用，其中所述治疗包括将所述第一组合物与包含ADCX25的第二组合物组合施用。

[0778] 4. ADCX25在制备用于治疗个体的癌症的药物中的用途，其中所述药物包含ADCX25，并且其中所述治疗包括将所述药物与包含第二药剂的组合物组合施用。

[0779] 5. PD1拮抗剂在制备用于治疗个体的癌症的药物中的用途，其中所述药物包含第二药剂，并且其中所述治疗包括将所述药物与包含ADCX25的组合物组合施用。

[0780] 6. 一种试剂盒，其包括：

[0781] 包含ADCX25的第一药物；

[0782] 包含第二药剂的第二药物；以及任选地，

[0783] 包装插页，其包括用于将所述第一药物与所述第二药物组合施用至个体以治疗癌症的说明书。

[0784] 7. 一种试剂盒，其包括含有ADCX25的药物和包装插页，所述包装插页包括用于将所述药物与包含第二药剂的组合物组合施用至个体以治疗癌症的说明书。

[0785] 8. 一种试剂盒，其包括含有第二药剂的药物和包装插页，所述包装插页包括用于将所述药物与包含ADCX25的组合物组合施用至个体以治疗癌症的说明书。

[0786] 9. 一种包含ADCX25和第二药剂的药物组合物。

[0787] 10. 一种治疗个体的癌症的方法，所述方法包括向所述个体施用有效量的根据段落9所述的组合物。

[0788] 11. 根据段落9所述的组合物，其用于在治疗个体的癌症的方法中使用。

- [0789] 12. 根据段落9所述的组合物在制备用于治疗个体的癌症的药物中的用途。
- [0790] 13. 一种试剂盒, 其包括根据段落9所述的组合物和用于将所述药物施用至个体以治疗癌症的一套说明书。
- [0791] 14. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒, 其中所述治疗包括在所述第二药剂之前、与所述第二药剂同时或在所述第二药剂之后施用ADCX25。
- [0792] 15. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒, 其中所述治疗还包括施用化学治疗剂。
- [0793] 16. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒, 其中所述个体是人类。
- [0794] 17. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒, 其中所述个体患有或已被确定患有癌症。
- [0795] 18. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒, 其中所述个体患有或已被确定患有特征在于存在包含CD25+ve和CD25-ve细胞的赘生物的癌症。
- [0796] 19. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒, 其中所述个体患有或已被确定患有特征在于存在包含AXL-ve赘生细胞或由CD25-ve赘生细胞组成的赘生物的癌症。
- [0797] 20. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒, 其中所述癌症或赘生物是实体瘤的全部或部分。
- [0798] 21. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒, 其中所述个体患有或已被确定患有癌症, 所述癌症表达CD25或CD25+肿瘤相关的非肿瘤细胞, 例如CD25+湿润T细胞。
- [0799] 22. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒, 其中所述个体患有或已被确定患有表达低水平的CD25的表面表达的癌症。
- [0800] 23. 根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒, 其中所述个体患有或已被确定患有表达第二靶蛋白的癌症。
- [0801] 24. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒, 其中所述治疗与单独使用ADCX25或所述第二药剂的治疗相比:
- [0802] a) 有效治疗更广泛范围的病症,
- [0803] b) 有效治疗抗药性、难治性或复发性病症,
- [0804] c) 反应率增加, 和/或
- [0805] d) 持久性增加。
- [0806] 25. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒, 其中所述癌症选自包括以下的组:
- [0807] 霍奇金和非霍奇金淋巴瘤, 包括弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、慢性淋巴细胞瘤(CLL)、边缘区B细胞淋巴瘤(MZBL);
- [0808] 白血病, 例如毛细胞白血病(HCL)、毛细胞白血病变异体(HCL-v)、急性骨髓性白血病(AML)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL), 例如费城染色体阳性ALL(Ph+ALL)或费城染色体阴性ALL(Ph-ALL);
- [0809] 胰腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胃癌和食道癌、白血病和淋巴瘤、黑素瘤、非小细胞

肺癌、卵巢癌、肝细胞癌、肾细胞癌和头颈癌。

[0810] 26. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂是布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂(BTKi)。

[0811] 27. 根据段落26所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂(BTKi)选自依鲁替尼(Imbruvica)、阿卡替尼/ACP-196、ONO/GS-4059、司培替尼/AVL-292/CC-292、HM71224(坡塞替尼)和BGB-3111(泽布替尼)。

[0812] 28. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂是PD1拮抗剂。

[0813] 29. 根据段落28所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述PD1拮抗剂选自派姆单抗、纳武单抗、MEDI0680、PDR001(spartalizumab)、卡瑞利珠单抗、AUNP12、皮地利珠单抗、Cemiplimab(REGN-2810)、AMP-224、BGB-A317(替雷利珠单抗)和BGB-108。

[0814] 30. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂是PD-L1拮抗剂。

[0815] 31. 根据段落30所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述PD-L1拮抗剂选自阿特珠单抗(Tecentriq)、BMS-936559/MDX-1105、德瓦鲁单抗/MEDI4736和MSB0010718C(阿维鲁单抗)。

[0816] 32. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂是GITR(糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白)激动剂。

[0817] 33. 根据段落32所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述GITR(糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白)激动剂选自MEDI1873、TRX518、GWN323、MK-1248、MK 4166、BMS-986156和INCAGN1876。

[0818] 34. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂是OX40激动剂。

[0819] 35. 根据段落34所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述OX40激动剂选自MEDI0562、MEDI6383、MOXR0916、RG7888、OX40mAb24、INCAGN1949、GSK3174998和PF-04518600。

[0820] 36. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂是CTLA-4拮抗剂。

[0821] 37. 根据段落36所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述CTLA-4拮抗剂选自伊匹单抗或替西木单抗。

[0822] 38. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂为氟达拉滨。

[0823] 39. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂为阿糖胞苷。

[0824] 40. 根据段落1至25中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂为低甲基化剂。

[0825] 41. 根据段落40所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述低甲基化剂选自5-氮杂胞苷(阿扎胞苷)和5-氮杂-2'-脱氧胞苷(地西他滨)。

[0826] 42. 根据段落40所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述低甲基化剂是地西

他滨。

[0827] 发明陈述

[0828] 1. 一种用于治疗个体的病症的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的ADC和第二药剂。

[0829] 2. 一种包含ADC的第一组合物,其用于在治疗个体的病症的方法中使用,其中所述治疗包括将所述第一组合物与包含第二药剂的第二组合物组合施用。

[0830] 3. 一种包含第二药剂的第一组合物,其用于在治疗个体的病症的方法中使用,其中所述治疗包括将所述第一组合物与包含ADC的第二组合物组合施用。

[0831] 4. ADC在制备用于治疗个体的病症的药物中的用途,其中所述药物包含ADC,并且其中所述治疗包括将所述药物与包含第二药剂的组合物组合施用。

[0832] 5. 第二药剂在制备用于治疗个体的病症的药物中的用途,其中所述药物包含第二药剂,并且其中所述治疗包括将所述药物与包含ADC的组合物组合施用。

[0833] 6. 一种试剂盒,其包括:

[0834] 包含ADC的第一药物;

[0835] 包含第二药剂的第二药物;以及任选地,

[0836] 包装插页,其包括用于将第一药物与第二药物组合施用至个体以治疗病症的说明书。

[0837] 7. 一种试剂盒,其包括含有ADC的药物和包装插页,所述包装插页包括用于将所述药物与包含第二药剂的组合物组合施用至个体以治疗病症的说明书。

[0838] 8. 一种试剂盒,其包括含有第二药剂的药物和包装插页,所述包装插页包括用于将所述药物与包含ADC的组合物组合施用至个体以治疗病症的说明书。

[0839] 9. 一种包含ADC和第二药剂的药物组合物。

[0840] 10. 一种治疗个体的病症的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的根据段落9所述的组合物。

[0841] 11. 根据段落9所述的组合物,其用于在治疗个体的病症的方法中使用。

[0842] 12. 根据段落9所述的组合物在制备用于治疗个体的病症的药物中的用途。

[0843] 13. 一种试剂盒,其包括根据段落9所述的组合物和用于将所述药物施用至个体以治疗病症的一套说明书。

[0844] 14. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述治疗包括在所述第二药剂之前、与所述第二药剂同时或在所述第二药剂之后施用ADC。

[0845] 15. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述治疗还包括施用化学治疗剂。

[0846] 16. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述个体是人类。

[0847] 17. 根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述个体患有病症或已被确定患有病症。

[0848] 18. 根据段落17所述的组合物、方法、用途或试剂盒,其中所述个体患有或已被确定患有癌症,所述癌症表达第一靶蛋白(FTP)或FTP+肿瘤相关的非肿瘤细胞,例如FTP+浸润T细胞。

[0849] 19. 根据任何以上段落所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述个体患有或已被确定患有表达第二靶蛋白 (STP) 的癌症。

[0850] 20. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述治疗与单独使用所述ADC或所述第二药剂治疗相比：

[0851] a) 有效治疗更广泛范围的病症，

[0852] b) 有效治疗抗药性、难治性或复发性病症，

[0853] c) 反应率增加，和/或

[0854] d) 持久性增加。

[0855] 21. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述ADC是抗-CD25 ADC。

[0856] 22. 根据段落21所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述抗-CD25 ADC是ADCX25。

[0857] 23. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述FTP为CD25。

[0858] 24. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中

[0859] 所述病症是一种增殖性疾病。

[0860] 25. 根据段落24所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述病症是癌症。

[0861] 26. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述个体患有或已被确定患有特征在于存在包含CD25+ve 和CD25-ve 细胞的赘生物的病症。

[0862] 27. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述个体患有或已被确定患有特征在于存在包含CD25-ve 赘生细胞或由CD25-ve 赘生细胞组成的赘生物的病症。

[0863] 28. 根据段落26或27中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述赘生物是实体瘤的全部或部分。

[0864] 29. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述病症选自包括以下的组：

[0865] 霍奇金和非霍奇金淋巴瘤，包括弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL)、滤泡性淋巴瘤 (FL)、套细胞淋巴瘤 (MCL)、慢性淋巴细胞淋巴瘤 (CLL)、边缘区B细胞淋巴瘤 (MZBL)；

[0866] 白血病，例如毛细胞白血病 (HCL)、毛细胞白血病变异体 (HCL-v)、急性骨髓性白血病 (AML) 和急性成淋巴细胞性白血病 (ALL)，例如费城染色体阳性ALL (Ph+ALL) 或费城染色体阴性ALL (Ph-ALL)；

[0867] 胰腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、胃癌和食道癌、白血病和淋巴瘤、黑素瘤、非小细胞肺癌、卵巢癌、肝细胞癌、肾细胞癌和头颈癌。

[0868] 30. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂是布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂 (BTKi)。

[0869] 31. 根据段落30所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂 (BTKi) 选自依鲁替尼 (Imbruvica)、阿卡替尼/ACP-196、ONO/GS-4059、司培替尼/AVL-292/CC-292、HM71224 (坡塞替尼) 和BGB-3111 (泽布替尼)。

[0870] 32. 根据段落1至29中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药

剂是PD1拮抗剂。

[0871] 33. 根据段落32所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述PD1拮抗剂选自派姆单抗、纳武单抗、MEDI0680、PDR001 (spartalizumab)、卡瑞利珠单抗、AUNP12、皮地利珠单抗、Cemiplimab (REGN-2810)、AMP-224、BGB-A317 (替雷利珠单抗) 和BGB-108。

[0872] 34. 根据段落1至29中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂是PD-L1拮抗剂。

[0873] 35. 根据段落34所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述PD-L1拮抗剂选自阿特珠单抗 (Tecentriq)、BMS-936559/MDX-1105、德瓦鲁单抗/MEDI4736和MSB0010718C (阿维鲁单抗)。

[0874] 36. 根据段落1至29中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂是GITR (糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白) 激动剂。

[0875] 37. 根据段落36所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述GITR (糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白) 激动剂选自MEDI1873、TRX518、GWN323、MK-1248、MK 4166、BMS-986156 和INCAGN1876。

[0876] 38. 根据段落1至29中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂是OX40激动剂。

[0877] 39. 根据段落38所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述OX40激动剂选自MEDI0562、MEDI6383、MOXR0916、RG7888、OX40mAb24、INCAGN1949、GSK3174998和PF-04518600。

[0878] 40. 根据段落1至29中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂是CTLA-4拮抗剂。

[0879] 41. 根据段落40所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述CTLA-4拮抗剂选自伊匹单抗或替西木单抗。

[0880] 42. 根据段落1至29中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂为氟达拉滨或阿糖胞苷。

[0881] 43. 根据段落1至29中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述第二药剂为低甲基化剂。

[0882] 44. 根据段落43所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述低甲基化剂选自5-氮杂胞苷 (阿扎胞苷) 和5-氮杂-2'-脱氧胞苷 (地西他滨)。

[0883] 45. 根据以上段落中任一项所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述STP是BTK、PD1、PDL1、GITR、OX40或CTLA。

[0884] 46. 根据段落33所述的组合物、方法、用途或试剂盒，其中所述STP是PD-L1。

[0885] 实施例

[0886] 在以下实施例中：

[0887] -FTP优选地是CD25。

[0888] -适用于实施例中的表达CD25的细胞系包括L540、Karpas299、Sudh11、HDLM-2细胞。

[0889] -疾病A-弥漫性大B细胞淋巴瘤/DLBC是一种从淋巴系统的B细胞发展的侵袭性类型的非霍奇金淋巴瘤。其构成了非霍奇金淋巴瘤的最大亚组。

[0890] -疾病B-套细胞淋巴瘤/MCL是一种最常见地影响60岁以上的男性的罕见B细胞NHL。所述疾病可能具有侵袭性(快速增长),但在某些患者中也可能表现得更加惰性(缓慢增长)。MCL占所有NHL的约5%。

[0891] -疾病C-滤泡性淋巴瘤/FL是一种相当惰性的NHL,其具有长存活时间,但很难实现治愈;它也可以转变为更具侵袭性的淋巴瘤。

[0892] 实施例1

[0893] 为了表明PBD-ADC可以诱导ICD并因此可以是与免疫肿瘤学(Io)药物的合适的组合剂,将表达第一靶蛋白(FTP)的细胞系与依托泊昔(阴性对照)和奥沙利铂(阳性对照)、 $1\mu\text{g/mL}$  ADC、 $1\mu\text{g/mL}$  抗FTP(ADC中的抗体)和 $1\mu\text{g/mL}$  B12-SG3249(非结合对照ADC,具有与ADC相同的PBD有效载荷)一起温育0、6、24和48小时。

[0894] 温育后,将通过流式细胞术测量AnnexinV-/PI+(早期凋亡细胞)的量连同表面钙网蛋白和HSP-70的上调。将通过IRE1磷酸化、ATF4和JNK磷酸化的RNA印迹分析来测量ER应激。

[0895] 实施例2

[0896] 在一个单独实验中,将表达FTP的细胞系与依托泊昔(阴性对照)和奥沙利铂(阳性对照)、 $1\mu\text{g/mL}$  ADC(具有PBD二聚体弹头的靶向FTP的ADC)、 $1\mu\text{g/mL}$  抗FTP(ADC中的抗体)和 $1\mu\text{g/mL}$  B12-SG3249(非结合对照ADC,具有与ADC相同的PBD有效载荷)一起温育0、6、24和48小时。

[0897] 温育后,洗涤细胞,并再进料人类树突细胞(DC)24小时。随后通过增加CD86在DC群体上的表面表达(通过流式细胞术测定)并通过测量DC介导的IL-8和MIP2释放来测量DC的活化。

[0898] 实施例3

[0899] 本研究的目的是初步评估该组合的安全性、耐受性、药理学和临床活性

[0900] 已选择以下癌症类型进行研究:疾病A、疾病B和疾病C

[0901] 两种药物都存在作为单一药剂的疗效的证据:

[0902] ●ADC(参见,例如W02014/057119、W02016/083468和W02016/166341)

[0903] ●第二药剂(参见KS Peggs等人2009,Clinical and Experimental Immunology, 157:9-19[doi:10.1111/j.1365-2249.2009.03912.x])

[0904] 本研究的主要目的是探讨这些药剂是否可以安全组合,并且如果可以,将确定适于进一步研究的剂量和方案。所述研究还将评估每种组合是否诱导肿瘤的药理学变化,这将表明潜在的临床益处。

[0905] 此外,它将提供以下初步证据,与使用单一药剂ADC或第二药剂的治疗的公布数据相比,组合可增加反应率和反应持久性。

[0906] 每个疾病组可以包括先前用第二药剂治疗的患者的子组,以探索组合疗法是否可以克服对第二药剂治疗的抗药性。对于每种疾病,不意图应用特定的分子选择,因为目前可获得的数据通常不支持在批准的分子诊断测试的基础上排除患者。

[0907] ADC起始剂量的基本原理

[0908] 已经为ADC建立的RDE(每三周以 $\mu\text{g/kg}$ 施用一次)将用于本研究中的所有患者。为了确保患者安全,将使用低于RDE的起始剂量;起始剂量水平将是研究ADC1中仍可证明患者

益处的水平,这表明参加此类剂量水平的患者将通过参与该研究而获得至少一些益处。

[0909] 第二药剂起始剂量的基本原理

[0910] 已经为第二药剂建立的RDE(每三周以 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 施用一次)将用于本研究中的所有患者。为确保患者安全,将使用低于RDE的起始剂量;起始剂量水平将是研究SA1中仍可证明患者益处的水平,这表明参加此类剂量水平的患者将通过参与该研究而获得至少一些益处。

[0911] 目的和相关终点

<b>目的</b>	<b>终点</b>
<b>主要目的</b> 为了表征 ADC 与第二药剂组合的安全性和耐受性,并确定用于未来研究的推荐剂量和方案	治疗紧急 AE 和 SAE 的频率和严重程度 基线和基线后实验室参数与生命体征之间的变化 第一轮治疗期间剂量限制毒性(DLT)的发生率(仅限剂量递增) 剂量中断频率和剂量减少
<b>次要目的</b> 为了评估 ADC 与第二药剂组合的临床活性 为了表征两种化合物 ADC 和第二药剂各自的药代动力学(PK)曲线 对 ADC 的免疫原性和 ADA 的证据	ORR、DOR、PFS、OS 每种化合物的 AUC 和 Cmax 用 ADC 治疗之前、期间和之后的抗药物抗体(ADA)
<b>探索目的</b>	
为了检查 PK 曲线与安全性/耐受性和功效的潜在相关性 为了表征肿瘤中免疫浸润的变化 为了表征血浆中细胞因子循环水平的变化和循环免疫细胞中活化标记的变化	每种化合物的 AUC 和/或 Cmax 或化合物测量值与任何安全性或功效变量之间的相关系数 治疗前和治疗中的肿瘤活检物的免疫组织化学, 血浆或血清中免疫相关细胞因子的测量(例如通过 ELISA); 循环免疫细胞中活化标记的染色水平(例如 FACS)

[0914] 研究设计

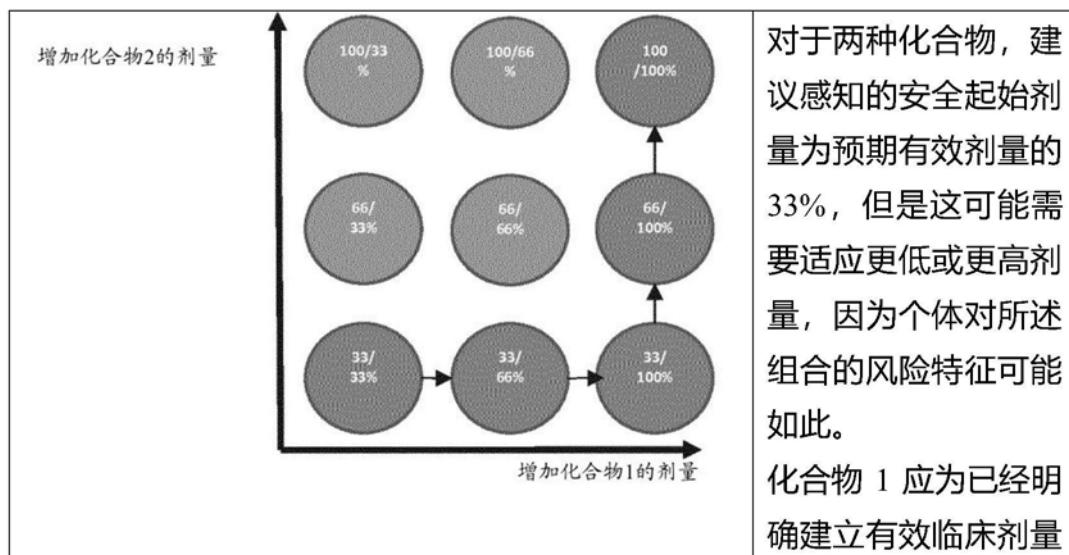
[0915] 此Ib期、多中心、开放性研究用于表征患有疾病A、疾病B和疾病C的患者中ADC与第二药剂组合的安全性、耐受性、药代动力学(PK)、药效动力学(PD)和抗肿瘤活性。

[0916] 此研究包括剂量递增部分,然后是剂量扩展部分。

[0917] 对于ADC和第二药剂,剂量递增将从降低的起始剂量(与其各自推荐的2期或许可

剂量水平相比)开始,以保证患者安全。每种化合物的起始剂量为RDE的33% (或50%)。随后,首先将第二药剂的剂量递增,直至达到RDE或许可剂量,或者出于耐受性原因必要时使用较低剂量。然后,将ADC的剂量递增,直到达到组合治疗的RDE。这在下图中可视化:

[0918]



[0919]

的化合物(100%),并且因此通过首先递增此化合物的剂量,试图在试验患者中快速达到此有效临床剂量。

[0920] 如果确定剂量组合是安全的,则可以在另外的患者中测试以确认该剂量水平的安全性和耐受性。可以进一步调整每种化合物的剂量,和/或可以修改方案。

[0921] 组合的剂量递增将基于在第一个(或前两个,TBC)治疗周期中观察到的任何剂量限制毒性(Dose Limiting Toxicity,DLT)通过贝叶斯逻辑回归模型(Bayesian Logistic Regression Model,BLRM)来指导。使用BLRM是一种明确建立的方法,其用于估计癌症患者的最大耐受剂量(MTD)/推荐的扩展剂量(recommended dose for expansion,RDE)。自适应BLRM将通过控制过量用药的剂量递增(Escalation With Overdose Control,EWOC)原则来指导,以控制研究中未来患者的DLT风险。使用贝叶斯响应自适应模型用于小型数据集已被FDA和EMEA(“小群体临床试验指南(Guideline on clinical trials in small populations)”,2007年2月1日)接受,并得到众多出版物的认可(Babb等人1998,Neuenschwander等人2008)。

[0922] 新剂量组合由研究人员和赞助商研究人员在剂量递增安全回访(DESC)中基于患者耐受性和安全性信息(包括DLT风险的BLRM总结,如果适用)与决定时可获得的PK、PD和初步活动信息的审查来决定。

[0923] 一旦确定了组合的MTD/RDE,可以启动研究的扩展部分以进一步评估安全性、耐受性和初步功效。

[0924] ■对于与I0的组合,肿瘤中免疫浸润的变化也将在目标疾病适应症的联合治疗后进行表征。

[0925] 鉴于本研究中药剂的可用的先前临床经验,预期在大多数情况下,可以在不测试大量剂量水平或方案的情况下鉴定组合剂量。为了评估组合的药效动力学活性,将要求患者在基线时进行肿瘤活检,并在约两个治疗周期后再次进行肿瘤活检。

[0926] ■对于I0组合:免疫细胞(包括淋巴细胞和巨噬细胞)的肿瘤浸润的变化程度将有助于决定任何潜在的益处。

[0927] 剂量递增部分

[0928] 在此研究的剂量递增部分期间,患者将用静脉内施用的固定剂量的ADC治疗,并且增加第二药剂的剂量直至达到第二药剂的RDE。随后,增加ADC的剂量(在不同的组中),同时使第二药剂的剂量保持恒定。

[0929] 将在每个递增群组中治疗2至约3或4名患有疾病A、疾病B或疾病C的患者,直至确定MTD/RDE的确定。

[0930] 在第二名患者参加剂量水平1之前将进行24小时观察。每个剂量水平的DLT观察期为1个周期(3周)或2个周期(6周),如由有关当局对于I0治疗强制要求的,此后将对下一群组确定是否递增到下一剂量水平、保持在当前剂量水平或递减到先前剂量水平。将不从剂量水平1递减。不允许患者内的剂量递增。

[0931] 除非2名或更多名患者在任何给定剂量水平的第一个周期内具有完整的DLT信息,否则不允许剂量递增。剂量递增将通过使用目标DLT率为30%且等效间隔为20%至35%的mCRM以及控制过量用药的剂量递增(EWOC)且无剂量跳跃来确定。

[0932] 患者将被分配到主动登记的群组中。在完成一个治疗周期后,将在每种组合中进行剂量递增。将密切监测所有登记患者的安全性评估,包括不良事件(AE)和实验室价值,以便鉴定任何DLT。将定义单个MTD/RDE;将不会建立疾病特异性MTD/RDE。

[0933] 在剂量递增指导委员会(DESC)的监督下,将为DE实施mCRM。在审查所有可用的安全数据后,DESC将确认每个递增剂量水平。来自该剂量水平和先前剂量水平的患者的PK数据也可以为决策提供信息。在基于新出现的PK、PD、毒性或反应数据确定MTD之前,DESC可以停止剂量递增。

[0934] 如果研究中至少1名患者达到部分反应或更好,或者如果DESC认为有必要进一步评估PK或PD数据以确定RDE,则可以在任何剂量水平包括其他患者以进一步评估安全性和耐受性。

[0935] 在连续对3个群组(或至少6个患者)分配相同剂量水平后,将停止剂量递增。如果未达到MTD,则将确定推荐的扩展剂量(RDE)。在确定MTD/RDE之前,至少6名患者必须用此组合治疗。

[0936] 希望在剂量递增期间从患者获得成对的肿瘤活检物。对这些活检物的分析将有助于更好地理解组合的剂量与药效动力学活性之间的关系。

[0937] 由剂量递增指导委员会进行安全监督

[0938] 由ADC治疗和研究人员组成的DESC将在DE期间持续审查患者安全性,以确定mCRM规定的剂量递增方案是否需要修改。除安全性观察外,PK和/或PD数据也可以为决策提供信息。在ADC治疗与研究人员协商后,可以分配中等剂量。DESC可继续在第2部分中提供监督。

不会使用正式的数据安全监控委员会(DSMB)。

[0939] 剂量扩展部分

[0940] 一旦设定MTD/RDE,就可以开始剂量扩展部分。扩展部分的主要目的是进一步评估在MTD/RDE下的研究治疗的安全性和耐受性,并相对于历史单一药剂疗效数据,获得对组合疗效的初步了解。

[0941] 一个重要的探索目的是评估肿瘤中的免疫浸润响应于治疗的变化。这将在从患者收集的成对肿瘤活检物中,在以MTD/RDE下治疗的患者中的最少10对可评估活检物(活检标本必须包含足够用于分析的肿瘤)中进行评估。如果这不可行,可以停止收集这些活检物。计划在每个研究组中治疗最少10至20名患者,

[0942] 将开放若干个不同的研究组,每种疾病一个研究组。在剂量扩展中可以运行总共九个研究组。如果对任何这些组的登记不可行,那么可以在满足10至20个患者目标之前,关闭此组的登记。

[0943] 在每个治疗组中,将允许治疗最多约6名接受过先前单次施用(即未组合)第二药剂治疗并且进展的患者。如果组合显示有克服对单次施用第二药剂的先前治疗的抗药性的希望,则可以增加此数量。

[0944] 患者群体

[0945] 本研究将在患有如上所述的晚期疾病A、疾病B或疾病C的成年患者中进行。研究者或指定人员必须确保只有符合以下所有纳入标准并且没有排除标准的患者才能在本研究中接受治疗。

[0946] 纳入标准

[0947] 有资格纳入本研究的患者必须满足以下所有标准:

[0948] 1. 必须在任何程序之前获得书面知情同意书

[0949] 2. 年龄18岁。

[0950] 3. 患有晚期/转移性癌症、患有通过RECIST版本1.1确定的可测量的疾病的患者,其尽管已经进行标准治疗但仍有进展或对标准治疗不耐受,或者不存在标准治疗。患者必须符合以下组中的一个:

[0951] ● 疾病A

[0952] ● 疾病B

[0953] ● 疾病C

[0954] 4. ECOG体力状态0-1(或2TBC)

[0955] 5. TBC:患者必须有适合进行活检的疾病部位,并根据治疗机构的指南成为肿瘤活检的候选者。患者必须愿意在基线时进行新的肿瘤活检,并在本研究的治疗期间再次进行。

[0956] 6. 允许先前使用第二药剂或相关化合物(即相同的MOA)进行治疗

[0957] 排除标准

[0958] 符合本研究资格的患者不得满足以下任何标准:

[0959] 1. 对其他mAb(适用时,或对与ADC相同的骨架mAb或对相同的IgG mAb)有严重超敏反应的病史

[0960] 2. 人类血清ADA对与ADC中一样的mAb骨架呈阳性的既知病史

[0961] 3. 仅中枢神经系统(CNS)疾病(适用时)

- [0962] 4. 有症状的CNS转移或软脑膜病的证据(脑MRI或以前记录的脑脊液(CSF)细胞学)
- [0963] ➤以前治疗的无症状的CNS转移是允许的,前提是最后一次治疗(全身性抗癌治疗和/或局部放射治疗)在给药第1天前 $\geq 8$ 周完成,除了允许递减使用低剂量类固醇除外)
- [0964] ➤患有离散硬脑膜转移的患者符合资格。
- [0965] 5. 具有超出如下定义的范围实验室值的患者:
- [0966] ●血清肌酐 $\leq 1.5 \times$  ULN。如果血清肌酐 $> 1.5$ ,则肌酐清除率(使用Cockcroft-Gault公式计算或测量)必须 $> 60 \text{ mL/min}/1.73\text{m}^2$ 才能使患者符合条件
- [0967] ●总胆红素 $> 1.5 \times$  ULN,除了吉尔伯特综合征患者,其在总胆红素 $> 3.0 \times$  ULN或直接胆红素 $> 1.5 \times$  ULN时被排除
- [0968] ●丙氨酸氨基转移酶(ALT) $> 3 \times$  ULN,除了患有肝脏肿瘤的患者,其在ALT $> 5 \times$  ULN时被排除
- [0969] ●天冬氨酸氨基转移酶(AST) $> 3 \times$  ULN,除了患有肝脏肿瘤的患者,其在AST $> 5 \times$  ULN时被排除
- [0970] ●绝对中性粒细胞计数 $< 1.0 \times 10^9/\text{L}$
- [0971] ●血小板计数 $< 75 \times 10^9/\text{L}$
- [0972] ●血红蛋白(Hgb) $< 8 \text{ g/dL}$
- [0973] ●钾、镁、钙或磷酸盐异常 $>$ CTCAE 1级,尽管有适当的替代疗法
- [0974] 6. 心脏功能受损或临幊上显著的心臟病,包括以下任一种:
- [0975] ●临幊上显著和/或不受控制的心臟病,例如需要治疗的充血性心力衰竭(NYHA III级或IV级)或由收缩血压(SBP)160mm Hg和/或舒张血压(DBP)100mm Hg定义的不受控制的高血压,不管是否服用抗高血压药物。
- [0976] ●先天性长QT综合征,使用Fridericia校正进行筛查ECG时,对于女性,QTcF $> 470$ 毫秒,或对于男性 $> 450$ 毫秒
- [0977] ●急性心肌梗死或不稳定型心绞痛 $< 3$ 个月(研究开始前数月)
- [0978] ●临幊上显著的瓣膜病,记录到心脏功能受损
- [0979] ●有症状的心包炎
- [0980] ●心肌病的病史或持续记录
- [0981] ●通过超声心动图(ECHO)或多门控采集(MUGA)扫描确定,左心室射血分数(LVEF) $< 40\%$
- [0982] ●任何临幊上显著的心律失常的病史或存在,例如心室、室上性、节律性心律失常或传导异常(TBC合格者:.....需要心脏起搏器或不用药物控制)
- [0983] ●存在不稳定的心房颤动(心室反应率 $> 100 \text{ bpm}$ )。
- [0984] ➤注意:如果患者不符合其他心脏排除标准,可以登记患有稳定的心房颤动的患者。
- [0985] ●完全性左束支传导阻滞(LBBB),双分支传导阻滞
- [0986] ●任何临幊上显著的ST段和/或T波异常
- [0987] 7. 由于先前的IO治疗导致治疗中断的毒性。如果这些毒性不会导致先前治疗的中断,则不排除药物相关的皮疹的或对内分泌病采用替代疗法进行充分治疗的患者。

[0988] 8. 患有活动性、已知或疑似自身免疫疾病的患者。允许登记患有白癜风、I型糖尿病、由于自身免疫性疾病仅需要激素替代而导致的残留甲状腺功能减退症、不需要全身治疗的牛皮癣、或者预期在不存在外部触发的情况下不会复发的病状的受试者，只要可以避免触发。

[0989] 9. 人类免疫缺陷病毒 (HIV) 或活动性乙型肝炎 (HBV) 或丙型肝炎 (HCV) 病毒感染

[0990] ➤ 测试不能强制合格。如果患者处于患有未确诊的HCV的风险(例如注射吸毒史)，应考虑HCV的测试。

[0991] 10. 恶性疾病，除了在本研究中治疗的疾病之外。这种排除的例外情况包括以下：在研究治疗前2年内治愈并且未复发的恶性肿瘤；完全切除的基底细胞和鳞状细胞皮肤癌；任何被认为是无痛的并且从不需要治疗的恶性肿瘤；以及完全切除的任何类型的原位癌。

[0992] 11. 在第一剂量的研究治疗的2周内进行全身性抗癌治疗。对于具有重大延迟毒性的细胞毒性剂，例如丝裂霉素C和亚硝基脲，清除期被指定为4周。对于接受抗癌免疫疗法诸如CTLA-4拮抗剂的患者，清除期被指定为6周。

[0993] 12. 活动性腹泻CTCAE 2级或与慢性腹泻相关的疾病(诸如肠易激综合征、炎性肠病)

[0994] 13. 存在2:由于先前的癌症治疗导致的CTCAE 2级毒性(除了脱发、外周神经病和耳毒性，其在 $>=$ CTCAE 3级时被排除)。

[0995] 14. 需要全身性抗生素治疗的活动性感染。

[0996] 15. 上消化道的活动性溃疡或胃肠道出血

[0997] 16. 活动性出血素因或口服抗维生素K药物(除了低剂量华法林和阿司匹林或同等药，只要INR $<=$ 2.0)

[0998] 17. 活动性自身免疫疾病、被认为是自身免疫来源的运动神经病以及其他CNS自身免疫疾病

[0999] 18. 需要伴随免疫抑制剂或长期使用肾上腺皮质激素治疗的患者，除了：

[1000] ● 在肾上腺皮质功能不全的情况下替代给药类固醇

[1001] ● 允许局部、吸入、鼻腔和眼用类固醇

[1002] 19. 在开始研究治疗的4周内使用任何针对传染病(例如流感、水痘、肺炎球菌)的活疫苗(注意，在整个研究期间不允许使用活疫苗)

[1003] 20. 研究药物开始前 $<2$ 周使用造血集落刺激生长因子(例如G-CSF、GM-CSF、M-CSF)。允许红细胞刺激剂，只要在第一剂量的研究治疗之前至少2周开始。

[1004] 21. 在第一剂量的研究治疗的2周内进行大手术(注意，纵隔镜检查、插入中心静脉进入装置或插入饲管不被认为是大手术)。

[1005] 22. 在第一剂量的研究药物的2周内进行放射治疗，除了对有限区域进行姑息性放射治疗，例如用于治疗骨痛或局部疼痛的肿块。为了评估对治疗的反应，患者必须患有尚未被照射的其余可测量疾病。

[1006] 23. 在第一剂量的研究治疗的2周内参与介入性研究性研究。

[1007] 24. 在研究者的判断中，由于安全考虑、对临床研究程序的顺应性或对研究结果的解释，任何医学病症都将阻止患者参与临床研究。

[1008] 25. 性欲旺盛的男性，除非他们在服用药物时并在停止研究治疗后持续90天在性

交期间使用安全套，并且在此期间不应该生育孩子。切除输精管的男性也需要使用避孕套，以防止通过精液递送药物。

[1009] 26. 怀孕或哺乳期妇女，其中怀孕被定义为女性受孕后直至妊娠终止的状态，其通过阳性hCG实验室试验确认。在罕见的内分泌分泌瘤的情况下，hCG水平可能高于正常限值但患者没有怀孕。在这些情况下，应该重复血清hCG测试（具有未上升结果）和阴道/盆腔超声以排除怀孕。在确认结果并与医疗代表讨论后，这些患者可以进入研究。

[1010] 27. 具有生育潜力的妇女，定义为所有生理上能够怀孕的妇女，除非她们在研究治疗期间和最后任一剂量的研究治疗后持续90天使用高效避孕方法。高效避孕方法包括：

[1011] ●完全禁欲（当这符合患者的优选和惯常的生活方式时）。定期禁欲（例如，日历、排卵、症状体温、排卵后方法）和戒断是不可接受的避孕方法

[1012] ●在进行研究治疗前至少6周，女性绝育（进行外科双侧卵巢切除术，不管是否采用子宫切除术）、全子宫切除术或输卵管结扎术。仅在卵巢切除术的情况下，仅在通过随访激素水平评估确认了女性的生殖状态时

[1013] ●男性绝育（筛查前至少6个月）。对于研究中的女性患者，输精管切除的男性伴侣应是该患者的唯一伴侣。

[1014] ●使用口服（雌激素和黄体酮）、注射或植入的组合激素避孕方法或放置宫内节育器（IUD）或宫内节育系统（IUS）或具有相当疗效的其他形式的激素避孕（失败率<1%），例如激素阴道环或透皮激素避孕。

[1015] ➤ 在使用口服避孕的情况下，女性应在进行研究治疗前最少3个月内服用同一种药丸。

[1016] ➤ 如果女性患有12个月的自然（自发性）闭经且具有适当的临床特征（例如适合年龄的血管舒缩症状的病史）或至少6周前进行过外科双侧卵巢切除术（不管是否采用子宫切除术）或输卵管结扎，则认为女性是绝经后的并且不具有生育潜力。仅在卵巢切除术的情况下，仅当通过随访激素水平评估确认女性的生殖状态时，才认为她不具有生育潜力。

[1017] 剂量限制性毒性和剂量修改指南

[1018] 剂量限制性毒性（DLT）被定义为在21天DLT评估期间发生的根据研究者判断被认为至少可能与ADC相关的任何以下事件。与主要疾病或另一种病因明确且直接相关的毒性不包括在此定义中。

[1019] DLT定义

[1020] 血液学DLT被定义为：

[1021] ■3级或4级发热性中性粒细胞减少症或中性粒细胞减少性感染

[1022] ■4级中性粒细胞减少症持续>7天

[1023] ■4级血小板减少症

[1024] ■3级血小板减少症伴有临幊上显著出血，或需要血小板输注的3级血小板减少症

[1025] ■需要输血的3级贫血

[1026] ■4级贫血

[1027] 非血液学DLT被定义为：

[1028] ■4级非血液学毒性

- [1029] ■3级非血液学毒性持续>3天,尽管存在最佳的支持治疗或医疗干预
- [1030] ■一例Hy's定律(ALT和/或AST>3x ULN和胆红素>2x ULN,并且初期未发现胆汁淤积(血清碱性磷酸酶(ALP)活性<2x ULN),并且没有其他原因可以解释增加的转氨酶和血清总胆红素组合,诸如病毒性甲型肝炎、乙型肝炎或丙型肝炎、既往或急性肝病、或其他能够引起所观察到的损伤的药物)
- [1031] ■3级或更高级的超敏反应/输注相关反应(无论是否术前用药)。3级超敏反应/输注相关反应,其在发病后8小时内消退,适当的临床管理不符合DLT的条件。
- [1032] ■LVEF从基线降低至<40%或>20%
- [1033] ■4级肿瘤溶解综合征(3级TLS不会构成DLT,除非其导致不可逆的终末器官损害)
- [1034] 以下条件不被视为非血液学DLT:
- [1035] ●3级疲劳持续≤7天
- [1036] ●在没有术前用药时的3级腹泻、恶心或呕吐,其对治疗有反应并且3级事件在3天内至少改善1级或者7天内达到≤1级。
- [1037] ●AST或ALT升高≥5x ULN但≤8x ULN,未发生胆红素同时升高,在发病后5天内降级至≤2级。
- [1038] ●如果没有胰腺炎的临床体征或症状,3级血清脂肪酶或血清淀粉酶持续≤7天
- [1039] 经历通过适当医学管理消退或稳定的DLT的患者可以在与赞助商协商后由研究人员自行决定继续治疗。
- [1040] 剂量修改
- [1041] 特定毒性管理指南详见下表。对于表中未指定的事件的管理,以下内容可作为研究人员的指导:

<b>AE 等级</b>	<b>ADC 管理指南</b>
<b>1</b>	无需调整剂量。
<b>2</b>	<u>第一次出现:</u> 考虑保持一种或两种药物,直至改善至≤1级或基线。可以跳过多达1个剂量的一种或两种药物以允许改善。如果在从一种或两种药物的计划(但错过)的最后一个剂量的21天内发生改善至≤1级或基线,则在随后的治疗周期中以原始指定剂量水平继续使用一种

[1043]	<p>或两种药物。</p> <p>如果在从计划(但错过)的最后一个剂量的 21 天内未发生改善至≤1 级或基线，则永久停用一种或两种药物。</p> <p><u>第二次出现：</u></p> <p>保持一种或两种药物，直至改善至≤1 级或基线。可以跳过多达 1 个剂量的一种或两种药物以允许消退。如果在从计划(但错过)的最后一个剂量的 21 天内发生改善至≤1 级或基线，则在随后的治疗周期中以低于原始指定剂量的 1 个剂量水平继续使用一种或两种药物。如果在从计划(但错过)的最后一个剂量的 21 天内未发生改善至≤1 级或基线，则永久停用一种或两种药物。</p> <p><u>第三次出现：</u></p> <p>永久停用一种或两种药物。</p>
3	<p><u>第一次出现：</u></p> <p>保持一种或两种药物，直至改善至≤1 级或基线。可以跳过多达 1 个剂量的一种或两种药物以允许改善，然后在随后的治疗周期中以低于原始指定剂量的 1 个剂量水平继续使用。</p> <p><u>第二次出现：</u></p> <p>永久停用一种或两种药物。</p>
4	<p>永久停用一种或两种药物。</p>

[1044] 实施例4

[1045] 替代品-301使用小鼠结肠癌MC38细胞在免疫活性的同系小鼠模型中进行的体内功效研究。

[1046] 引言

[1047] MC38是在临床前用于免疫治疗类型研究的小鼠结肠癌衍生的模型，已知所述模型已浸润Treg和Teff细胞。

[1048] 在Arce Vargas等人, 2017, *Immunity* 46, 1-10, 2017年4月18日 (<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2017.03.013>) 中，使用Fc增强版本的PC61(针对小鼠CD25的大鼠抗体)显示了MC38模型中肿瘤浸润Treg细胞的选择性清除，描述了与PD1的协同作用。将野生型PC61与PBD二聚体SG3249缀合，并命名为替代品-ADCx25。在MC38同系小鼠模型中，研究了替代品-ADCx25作为单一疗法或与抗PD1(抗PD1、克隆RPM1-14、BioXcell cat# BE0146)组合的功效。

[1049] 研究设计

[1050] 在第1天将替代品-ADCx25以单剂量(0.1、0.5和1mg/kg)单独施用或与抗PD1抗体组合施用(按标准给药方案给药，即在第2、5和8天为5mg/kg)。作为对照，在第1天将同型对照ADC(B12-SG3249)以单剂量(1mg/kg)单独施用或与抗PD1抗体组合施用(按标准给药方案

给药),而抗PD1抗体按标准给药方案单独施用。

[1051] 结果

[1052] 在MC38同系模型中,替代品-ADCx25本身具有强大的剂量依赖性抗肿瘤活性。同型对照ADC在1mg/kg下具有比替代品-ADCx25显著更低的活性。(图2)。当将低单剂量的替代品-ADCx25与抗PD1抗体组合时,可以观察到强烈的协同作用(图3)。在本发明模型中,较高剂量的替代品-ADCx25的高疗效阻止了对较高剂量下的协同作用的评估。

[1053] 实施例5

[1054] 为了证明ADCx25与阿糖胞昔协同作用,将一组CD25 (+) 细胞系(包括但不限于Karpas和SUDHL1)用一系列浓度的ADCx25和阿糖胞昔共同处理。作为阴性对照,将同一组细胞系用一系列浓度的阿糖胞昔和非靶向的对照ADC或用一系列浓度的ADC和媒介物共同处理。

[1055] 温育后,测量两个参数:表面CD25的量(如通过流式细胞术测定)和组合的体外细胞毒性(如通过CellTiter-Glo®或MTS测定法测定)。通过将细胞活力数据转化为受影响的分数并使用CalcuSyn分析程序计算组合指数(表1)来计算细胞毒性协同作用。

[1056]

CI值		协同作用/拮抗作用
<0.1	++++	非常强烈的协同作用
0.1-0.3	+++	强烈的协同作用
0.3-0.7	++	协同作用
0.7-0.85	+	中度的协同作用
0.85-0.9		轻度的协同作用
0.9-1.1		几乎加成作用
1.1-1.2	-	轻度的拮抗作用
1.2-1.45	--	中度的拮抗作用
1.45-3.3	---	拮抗作用
3.3-10	----	强烈的拮抗作用
>10	-----	非常强烈的拮抗作用

[1057] 表1

[1058] 图4示出单独的阿糖胞昔(左图)或与ADCx25的组合(右图)针对Karpas299细胞系的体外细胞毒性数据。Calcsyn分析(表2)显示出明显的协同作用,尤其是在较高浓度的ADC下。

<b>实验值的 CI</b>			
<b>ADCx25 (ng/ml)</b>	<b>地西他滨(nm)</b>	<b>Fa</b>	<b>CI</b>
0.1	30	0.016	2.846
0.4	30	0.019	4.966
1.2	30	0.156	0.928
3.7	30	0.358	0.747
11.1	30	0.662	0.522
33.3	30	0.821	0.589
100	30	0.836	1.563
0.1	100	0.145	0.505
0.4	100	0.172	0.580
1.2	100	0.313	0.433
3.7	100	0.437	0.568
11.1	100	0.669	0.522
33.3	100	0.823	0.587
100	100	0.832	1.622

[1060] 表2

[1061] 图5示出单独的阿糖胞昔(左图)或与ADCx25的组合(右图)针对KG-1细胞系的体外细胞毒性数据。Calucusyn分析(表3)显示出明显的协同作用,尤其是对于10nM阿糖胞昔。

<b>实验值的 CI</b>			
<b>ADCx25 (ng/ml)</b>	<b>地西他滨(nm)</b>	<b>Fa</b>	<b>CI</b>
0.005	1	0.078	1.296
0.05	1	0.022	15.593
0.5	1	0.120	3.690
5	1	0.393	1.596
50	1	0.883	0.136
0.05	10	0.044	27.002
0.5	10	0.205	4.241
5	10	0.597	0.747
50	10	0.906	0.131

[1063] 表3

[1064] KG-1表达低水平的CD25。图6显示,阿糖胞昔和ADCx25针对KG-1细胞系的协同作用可以通过表面CD25的增加来解释,因为将CD25(+)KG-1细胞与阿糖胞昔一起温育导致表面CD25水平增加了两倍(如通过FACS分析测定)。在将富含CD25的Karpas299细胞系与阿糖胞昔一起温育时,未观察到表面CD25的增加。

[1065] 实施例6

[1066] 为了证明ADCx25与地西他滨协同作用,将一组CD25(+)细胞系用一系列浓度的ADCx25和地西他滨共同处理。作为阴性对照,将同一组细胞系用一系列浓度的地西他滨或用一系列浓度的ADCx25和媒介物共同处理。

[1067] 温育后,测量两个参数:表面CD25的量(如通过流式细胞术测定)和组合的体外细

胞毒性(如通过MTS测定法测定)。为了测定细胞毒性,通过每孔添加MTS并在37℃下温育4小时来测量细胞活力。与未处理的对照相比,计算细胞活力百分比。通过将细胞活力数据转化为受影响的分数并使用CalcuSyn分析程序计算组合指数(表3)来计算细胞毒性协同作用。

[1068]

CI值		协同作用/拮抗作用
<0.1	+++++	非常强烈的协同作用
0.1–0.3	++++	强烈的协同作用
0.3–0.7	+++	协同作用
0.7–0.85	++	中度的协同作用
0.85–0.9	+	轻度的协同作用
0.9–1.1		几乎加成作用
1.1–1.2	-	轻度的拮抗作用
1.2–1.45	--	中度的拮抗作用
1.45–3.3	---	拮抗作用
3.3–10	----	强烈的拮抗作用
>10	-----	非常强烈的拮抗作用

[1069]

表3

[1070] 图7示出单独的地西他滨或与ADCx25的组合的CalcuSyn分析的针对Karpas299细胞系的体外细胞毒性数据。表4显示出明显的协同作用,尤其是在低浓度的ADC下。在30nM地西他滨存在下,细胞上CD25的量没有差异(见图8)。

[1071]

实验值的 CI			
ADCx25 (ng/ml)	地西他滨(nM)	Fa	CI
0.1	30	0.183	0.265
0.4	30	0.171	0.514
1.2	30	0.264	0.426
3.7	30	0.377	0.658
11.1	30	0.645	0.559
33.3	30	0.712	1.182
100	30	0.836	1.560
0.1	100	0.311	0.095
0.4	100	0.290	0.207
1.2	100	0.374	0.2472
3.7	100	0.468	0.433

[1072]

11.1	100	0.682	0.463
33.3	100	0.731	1.062
100	100	0.824	1.718

[1073]

表4

[1074]

实施例7

[1075] 为了评估在CD25高表达细胞系Karpas299中ADCx25与第二药剂阿糖胞昔和地西他滨之间的细胞毒性协同作用,将 $1 \times 10^4$ 个Karpas299细胞以50μl接种到具有30或100nM阿糖

胞昔/地西他滨的96孔平底板的每孔中。24小时后,在单独的板中制备一系列的ADCx25连续稀释液,并将50 $\mu$ l ADC连同未处理的对照添加到Karpas 299细胞中并温育96小时,以允许至少3倍细胞倍增。

[1076] 120小时后,向每个孔中添加20 $\mu$ l MTS,并在正常细胞培养条件下温育2-3小时。使用读板仪在492nm下测量OD,并且与未处理的对照细胞相比,计算生长%。

[1077] 使用GraphPad Prism,使用S形4PL对生长曲线绘图,X是对数(浓度)等式。确定IC50值(抑制50%生长的药物剂量)。将细胞存活百分比转化为受影响的分数(Fa)并使用CalcuSyn v2.11计算每个剂量的组合指数(CI)。

[1078] 结果显示在图9A(阿糖胞昔)和9B(地西他滨)中,其中\*表示中度的协同作用,而\*\*表示强烈的协同作用,如由CalcuSyn确定。

[1079] 实施例8

[1080] 为了评估在CD25低表达细胞系KG-1中ADCx25与第二药剂阿糖胞昔和地西他滨之间的细胞毒性协同作用,遵循实施例7的方案,使用KG-1细胞代替实施例7的Karpas299细胞。

[1081] 结果显示在图10A(阿糖胞昔)和10B(地西他滨)中,其中\*表示中度的协同作用,而\*\*表示强烈的协同作用,如由CalcuSyn确定。

[1082] 实施例9

[1083] 测量CD25-mRNA的表达水平

[1084] 将Karpas-299、EOL-1或KG-1细胞与30nM阿糖胞昔一起温育24小时,之后分离和逆转录mRNA。通过TaqMan qRT-PCR检测cDNA的IL2Ra (CD25)。使用参考基因ab1-1,使用ddCT方法计算与未处理对照相比的表达平均倍数变化。在相同条件下,还在Karpas-299(高CD25表达)和KG-1细胞(低CD25表达)中进行了3-4天的测量表达变化的时间进程,仅延长与阿糖胞昔的温育时间。

[1085] 结果:发现在72小时的测定内,与30nM阿糖胞昔一起温育对Karpas299细胞中的CD25 mRNA表达的影响很小。相反,与阿糖胞昔一起温育24小时后,KG-1细胞的CD25mRNA表达增加2倍,温育48小时后,CD25表达增加至4倍,然后在温育96小时后逐渐回落至增加3倍。

[1086] 测量CD25-表面蛋白的表达水平

[1087] 30nM阿糖胞昔处理24小时后,收集Karpas-299和KG-1细胞,然后封闭并用直接标记的抗CD25-PE mAb染色1小时。然后洗涤细胞,并在Fortessa X20流式细胞仪上运行。使用来自BD的直接标记的单克隆小鼠抗人CD25-PE Ab(目录号555432),使用来自BD的QuantiBRITE-PE参考珠粒计算每个细胞结合的CD25抗体的平均数量。

[1088] 结果:发现在24小时的测定内,与30nM阿糖胞昔一起温育对Karpas299细胞中的CD25表面蛋白表达的影响很小,未处理和处理过的Karpas299细胞每个细胞结合平均约60000个抗体。相反,发现与30nM阿糖胞昔一起温育的KG-1细胞具有显著增加的CD25表面表达水平,未处理的KG-1细胞每个细胞结合平均约200个抗体,相比之下,处理过的KG-1细胞每个细胞结合平均约400个抗体。

[1089] 实施例10:ADCxCD25与免疫肿瘤学(I/O)第二药剂PD1拮抗剂、PDL1拮抗剂、CTLA4拮抗剂、OX40激动剂和GITR激动剂各自之间的针对CD25+ve赘生细胞的协同作用

[1090] PD1拮抗剂

[1091] 为了测试针对CD25的基于PBD的ADC与PD1拮抗剂组合是否显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试此组合(对于CD25,潜在合适的模型包括YAC1、MC38、B16F10、CT26)。出于此目的,将与小鼠CD25交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与PD1拮抗剂一起施用至用表达CD25的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠。ADC在PD1拮抗剂之前、与PD1拮抗剂同时或在PD1拮抗剂之后施用,如由实验者所决定。

[1092] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而PD1拮抗剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或PD1拮抗剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1093] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或PD1拮抗剂治疗的小鼠。

[1094] PDL1拮抗剂

[1095] 为了测试针对CD25的基于PBD的ADC与PDL1拮抗剂组合是否显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试所述组合。出于此目的,将与小鼠CD25交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与PDL1拮抗剂一起施用至用表达CD25的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠。ADC在PDL1拮抗剂之前、与PDL1拮抗剂同时或在PDL1拮抗剂之后施用,如由实验者所决定。

[1096] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而PDL1拮抗剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或PDL1拮抗剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1097] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或PDL1拮抗剂治疗的小鼠。

[1098] CTLA4拮抗剂

[1099] 为了测试针对CD25的基于PBD的ADC与CTLA4拮抗剂组合是否显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试所述组合。出于此目的,将与小鼠CD25交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与CTLA4拮抗剂一起施用至用表达CD25的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠。ADC在CTLA4拮抗剂之前、与CTLA4拮抗剂同时或在CTLA4拮抗剂之后施用,如由实验者所决定。

[1100] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而CTLA4拮抗剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或CTLA4拮抗剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1101] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或CTLA4拮抗剂治疗的小鼠。

[1102] OX40激动剂

[1103] 为了测试针对CD25的基于PBD的ADC与OX40激动剂组合是否显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试所述组合。出于此目的,将与小鼠CD25交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与OX40激动剂一起施用至用表达CD25的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠。ADC在OX40激动剂之前、与OX40激动剂同时或在OX40激动剂之后施用,如由实验者所决定。

[1104] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而OX40激动剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或OX40激动剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1105] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或OX40激动剂治疗的小鼠。

[1106] GITR激动剂

[1107] 为了测试针对CD25的基于PBD的ADC与GITR激动剂组合是否显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试此组合。出于此目的,将与小鼠CD25交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与GITR激动剂一起施用至用表达CD25的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠。ADC在GITR激动剂之前、与GITR激动剂同时或在GITR激动剂之后施用,如由实验者所决定。

[1108] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而GITR激动剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或GITR激动剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1109] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或GITR激动剂治疗的小鼠。

[1110] 实施例11:ADCxCD25与免疫组织学(I/O)第二药剂PD1拮抗剂、PDL1拮抗剂、CTLA4拮抗剂、OX40激动剂和GITR激动剂各自之间的针对CD25-ve赘生细胞的协同作用

[1111] CD25还在免疫细胞上表达,所述免疫细胞浸润局部肿瘤环境并且可对针对肿瘤的先天性免疫反应具有抑制性影响。此类细胞的实例是T细胞,例如调控性T细胞。ADCxCD25可用于靶向这些免疫细胞,它们会杀死免疫抑制细胞,从而增强免疫反应。

[1112] 除了这种‘释放免疫抑制’效应外,ADCxCD25杀死免疫细胞将释放局部PBD弹头,其将通过旁观者杀死来杀死邻近的赘生细胞。

[1113] 因此,通过这两种机制,可以通过靶向局部肿瘤环境中的免疫细胞来杀死不表达CD25的肿瘤。此外,由邻近免疫细胞释放的PBD杀死的CD25-ve肿瘤细胞将诱导额外的免疫原性细胞死亡,从而进一步增强抗肿瘤免疫反应。

[1114] PD1拮抗剂

[1115] 为了测试针对CD25的基于PBD的ADC与PD1拮抗剂组合是否对不表达CD25的肿瘤显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试所述组合。出于此目的,与小鼠CD25交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与PD1拮抗剂一起施用至用已知具有高水平浸润淋巴细胞的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠,例如但不限于MC38和CT26。ADC在PD1拮抗剂之前、与PD1拮抗剂同时或在PD1拮抗剂之后施用,如由实验者所决定。

[1116] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而PD1拮抗剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或PD1拮抗剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1117] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或PD拮抗剂治疗的小鼠

[1118] PD-L1拮抗剂

[1119] 为了测试针对CD25的基于PBD的ADC与PDL1拮抗剂组合是否对不表达CD25的肿瘤显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试所述组合。出于此目的,与小鼠CD25交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与PDL1拮抗剂一起施用至用已知具有高水平浸润淋巴细胞的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠,例如但不限于MC38和CT26。ADC在PDL1拮抗剂之前、与PDL1拮抗剂同时或在PDL1拮抗剂之后施用,如由实验者所决定。

[1120] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而PDL1拮抗剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或PDL1拮抗剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1121] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或PDL1拮抗剂治疗的小鼠。

[1122] CTLA4拮抗剂

[1123] 为了测试针对CD25的基于PBD的ADC与CTLA4拮抗剂组合是否对不表达CD25的肿瘤显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试所述组合。出于此目的,与小鼠CD25交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与CTLA4拮抗剂一起施用至用已知具有高水平浸润淋巴细胞的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠,例如但不限于MC38和CT26。ADC在CTLA4拮抗剂之前、与CTLA4拮抗剂同时或在CTLA4拮抗剂之后施用,如由实验者所决定。

[1124] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而CTLA4拮抗剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或CTLA4拮抗剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1125] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或CTLA4拮抗剂治疗的小鼠。

[1126] OX40激动剂

[1127] 为了测试针对CD25的基于PBD的ADC与OX40激动剂组合是否对不表达CD25的肿瘤显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试所述组合。出于此目的,与小鼠CD25交叉反应的抗体与PBD弹头缀合,并将此ADC与OX40激动剂一起施用至用已知具有高水平浸润淋巴细胞的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠,例如但不限于MC38和CT26。ADC在OX40激动剂之前、与OX40激动剂同时或在OX40激动剂之后施用,如由实验者所决定。

[1128] 通常,ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药,而OX40激动剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或OX40激动剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重,长达60天,并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1129] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或OX40激动剂治疗的小鼠。

[1130] GITR激动剂

[1131] 为了测试针对CD25的基于PBD的ADC与GITR激动剂组合是否对不表达CD25的肿瘤显示出加成或协同作用,在免疫活性小鼠的同系肿瘤模型体内测试所述组合。出于此目的,

与小鼠CD25交叉反应的抗体与PBD弹头缀合，并将此ADC与GITR激动剂一起施用至用已知具有高水平浸润淋巴细胞的小鼠肿瘤细胞系移植的小鼠，例如但不限于MC38和CT26。ADC在GITR激动剂之前、与GITR激动剂同时或在GITR激动剂之后施用，如由实验者所决定。

[1132] 通常，ADC以0.1至1mg/kg之间的单剂量给药，而GITR激动剂以1至10mg/kg之间的剂量给药Q3d×3。对照组包括单独的ADC或GITR激动剂。随后对所有组测量肿瘤体积和体重，长达60天，并且在每组中测定部分响应(PR)、完全响应(CR)无肿瘤存活(TFS)小鼠的数量。

[1133] 进行统计学分析(通常是对数秩检验)以确定用所述组合治疗的小鼠是否优于用单独的ADC或GITR激动剂治疗的小鼠。

## SEQUENCE LISTING

<110> ADC治疗有限公司

免疫医疗有限公司

<120> 使用抗CD25抗体-药物缀合物的组合疗法

<130> P19113399WP

<150> GB 1706252.2

<151> 2017-04-20

<150> GB 1706251.4

<151> 2017-04-20

<150> GB 1706250.8

<151> 2017-04-20

<150> GB 1706249.8

<151> 2017-04-20

<150> GB 1706248.0

<151> 2017-04-20

<150> GB 1706247.2

<151> 2017-04-20

<150> GB 1706246.4

<151> 2017-04-20

<150> GB 1706245.6

<151> 2017-04-20

<150> GB 1805189.6

<151> 2018-03-18

<160> 701

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> AB12 VH

<400> 1

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 Tyr

20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro 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 His Pro Ile Tyr Tyr Thr Asp Asp Thr Met Asp Tyr Trp  
       100                   105                   110  
 Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
       115                   120  
 <210> 2  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> AB12 VL  
 <400> 2  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
   1              5                    10                    15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr  
       20                    25                    30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
       35                    40                    45  
 Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
       50                    55                    60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
       65                    70                    75                    80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser 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  
       115  
 <210> 3  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> VH CDR1

<400> 3

Arg Tyr Ile Ile Asn

1 5

<210> 4

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH CDR2

<400> 4

Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Val Glu Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 5

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH CDR3

<400> 5

Lys Asp Trp Phe Asp Tyr

1 5

<210> 6

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL CDR1

<400> 6

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL CDR2

<400> 7

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1	5
<210>	8
<211>	9
<212>	PRT
<213>	Artificial Sequence
<220>	
<223>	VL CDR3
<400>	8
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr	
1	5
<210>	9
<400>	9
000	
<210>	10
<400>	10
000	
<210>	11
<400>	11
000	
<210>	12
<400>	12
000	
<210>	13
<400>	13
000	
<210>	14
<400>	14
000	
<210>	15
<400>	15
000	
<210>	16
<400>	16
000	
<210>	17
<400>	17
000	
<210>	18
<400>	18

000  
<210> 19  
<400> 19  
000  
<210> 20  
<400> 20  
000  
<210> 21  
<400> 21  
000  
<210> 22  
<400> 22  
000  
<210> 23  
<400> 23  
000  
<210> 24  
<400> 24  
000  
<210> 25  
<400> 25  
000  
<210> 26  
<400> 26  
000  
<210> 27  
<400> 27  
000  
<210> 28  
<400> 28  
000  
<210> 29  
<400> 29  
000  
<210> 30  
<400> 30  
000  
<210> 31  
<400> 31

000  
<210> 32  
<400> 32  
000  
<210> 33  
<400> 33  
000  
<210> 34  
<400> 34  
000  
<210> 35  
<400> 35  
000  
<210> 36  
<400> 36  
000  
<210> 37  
<400> 37  
000  
<210> 38  
<400> 38  
000  
<210> 39  
<400> 39  
000  
<210> 40  
<400> 40  
000  
<210> 41  
<400> 41  
000  
<210> 42  
<400> 42  
000  
<210> 43  
<400> 43  
000  
<210> 44  
<400> 44

000  
<210> 45  
<400> 45  
000  
<210> 46  
<400> 46  
000  
<210> 47  
<400> 47  
000  
<210> 48  
<400> 48  
000  
<210> 49  
<400> 49  
000  
<210> 50  
<400> 50  
000  
<210> 51  
<400> 51  
000  
<210> 52  
<400> 52  
000  
<210> 53  
<400> 53  
000  
<210> 54  
<400> 54  
000  
<210> 55  
<400> 55  
000  
<210> 56  
<400> 56  
000  
<210> 57  
<400> 57

000  
<210> 58  
<400> 58  
000  
<210> 59  
<400> 59  
000  
<210> 60  
<400> 60  
000  
<210> 61  
<400> 61  
000  
<210> 62  
<400> 62  
000  
<210> 63  
<400> 63  
000  
<210> 64  
<400> 64  
000  
<210> 65  
<400> 65  
000  
<210> 66  
<400> 66  
000  
<210> 67  
<400> 67  
000  
<210> 68  
<400> 68  
000  
<210> 69  
<400> 69  
000  
<210> 70  
<400> 70

000  
<210> 71  
<400> 71  
000  
<210> 72  
<400> 72  
000  
<210> 73  
<400> 73  
000  
<210> 74  
<400> 74  
000  
<210> 75  
<400> 75  
000  
<210> 76  
<400> 76  
000  
<210> 77  
<400> 77  
000  
<210> 78  
<400> 78  
000  
<210> 79  
<400> 79  
000  
<210> 80  
<400> 80  
000  
<210> 81  
<400> 81  
000  
<210> 82  
<400> 82  
000  
<210> 83  
<400> 83

000  
<210> 84  
<400> 84  
000  
<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  
<400> 101  
000  
<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  
<400> 108  
000  
<210> 109  
<400> 109

000  
<210> 110  
<400> 110  
000  
<210> 111  
<400> 111  
000  
<210> 112  
<400> 112  
000  
<210> 113  
<400> 113  
000  
<210> 114  
<400> 114  
000  
<210> 115  
<400> 115  
000  
<210> 116  
<400> 116  
000  
<210> 117  
<400> 117  
000  
<210> 118  
<400> 118  
000  
<210> 119  
<400> 119  
000  
<210> 120  
<400> 120  
000  
<210> 121  
<400> 121  
000  
<210> 122  
<400> 122

000  
<210> 123  
<400> 123  
000  
<210> 124  
<400> 124  
000  
<210> 125  
<400> 125  
000  
<210> 126  
<400> 126  
000  
<210> 127  
<400> 127  
000  
<210> 128  
<400> 128  
000  
<210> 129  
<400> 129  
000  
<210> 130  
<400> 130  
000  
<210> 131  
<400> 131  
000  
<210> 132  
<400> 132  
000  
<210> 133  
<400> 133  
000  
<210> 134  
<400> 134  
000  
<210> 135  
<400> 135

000  
<210> 136  
<400> 136  
000  
<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  
<400> 145  
000  
<210> 146  
<400> 146  
000  
<210> 147  
<400> 147  
000  
<210> 148  
<400> 148

000  
<210> 149  
<400> 149  
000  
<210> 150  
<400> 150  
000  
<210> 151  
<400> 151  
000  
<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  
<400> 168  
000  
<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

<400> 182

000

<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  
<400> 188  
000  
<210> 189  
<400> 189  
000  
<210> 190  
<400> 190  
000  
<210> 191  
<400> 191  
000  
<210> 192  
<400> 192  
000  
<210> 193  
<400> 193  
000  
<210> 194  
<400> 194  
000  
<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  
<400> 200

000  
<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  
<400> 206  
000  
<210> 207  
<400> 207  
000  
<210> 208  
<400> 208  
000  
<210> 209  
<400> 209  
000  
<210> 210  
<400> 210  
000  
<210> 211  
<400> 211  
000  
<210> 212  
<400> 212  
000  
<210> 213  
<400> 213

000

<210> 214

<400> 214

000

<210> 215

<400> 215

000

<210> 216

<400> 216

000

<210> 217

<400> 217

000

<210> 218

<400> 218

000

<210> 219

<400> 219

000

<210> 220

<400> 220

000

<210> 221

<400> 221

000

<210> 222

<400> 222

000

<210> 223

<400> 223

000

<210> 224

<400> 224

000

<210> 225

<400> 225

000

<210> 226

<400> 226

000  
<210> 227  
<400> 227

000  
<210> 228  
<400> 228

000  
<210> 229  
<400> 229

000  
<210> 230  
<400> 230

000  
<210> 231  
<400> 231

000  
<210> 232  
<400> 232

000  
<210> 233  
<400> 233

000  
<210> 234  
<400> 234

000  
<210> 235  
<400> 235

000  
<210> 236  
<400> 236

000  
<210> 237  
<400> 237

000  
<210> 238  
<400> 238

000  
<210> 239  
<400> 239

000  
<210> 240  
<400> 240  
000  
<210> 241  
<400> 241  
000  
<210> 242  
<400> 242  
000  
<210> 243  
<400> 243  
000  
<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  
<400> 250  
000  
<210> 251  
<400> 251  
000  
<210> 252  
<400> 252

000

<210> 253

<400> 253

000

<210> 254

<400> 254

000

<210> 255

<400> 255

000

<210> 256

<400> 256

000

<210> 257

<400> 257

000

<210> 258

<400> 258

000

<210> 259

<400> 259

000

<210> 260

<400> 260

000

<210> 261

<400> 261

000

<210> 262

<400> 262

000

<210> 263

<400> 263

000

<210> 264

<400> 264

000

<210> 265

<400> 265

000  
<210> 266  
<400> 266  
000  
<210> 267  
<400> 267  
000  
<210> 268  
<400> 268  
000  
<210> 269  
<400> 269  
000  
<210> 270  
<400> 270  
000  
<210> 271  
<400> 271  
000  
<210> 272  
<400> 272  
000  
<210> 273  
<400> 273  
000  
<210> 274  
<400> 274  
000  
<210> 275  
<400> 275  
000  
<210> 276  
<400> 276  
000  
<210> 277  
<400> 277  
000  
<210> 278  
<400> 278

000  
<210> 279  
<400> 279  
000  
<210> 280  
<400> 280  
000  
<210> 281  
<400> 281  
000  
<210> 282  
<400> 282  
000  
<210> 283  
<400> 283  
000  
<210> 284  
<400> 284  
000  
<210> 285  
<400> 285  
000  
<210> 286  
<400> 286  
000  
<210> 287  
<400> 287  
000  
<210> 288  
<400> 288  
000  
<210> 289  
<400> 289  
000  
<210> 290  
<400> 290  
000  
<210> 291  
<400> 291

000  
<210> 292  
<400> 292  
000  
<210> 293  
<400> 293  
000  
<210> 294  
<400> 294  
000  
<210> 295  
<400> 295  
000  
<210> 296  
<400> 296  
000  
<210> 297  
<400> 297  
000  
<210> 298  
<400> 298  
000  
<210> 299  
<400> 299  
000  
<210> 300  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> AUNP12肽  
<400> 300  
Phe Ser Glu Ser Thr Asn Ser  
1 5  
<210> 301  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220>

<223> AUNP12肽  
<400> 301  
Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe  
1 5  
<210> 302  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> AUNP12肽  
<400> 302  
Phe Arg Val Thr Gln Leu Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu  
1 5 10  
<210> 303  
<211> 22  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> AUNP12肽  
<400> 303  
Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Lys Phe Arg Val Thr Gln Leu Ala Pro  
1 5 10 15  
Lys Ala Gln Ile Lys Glu  
20  
<210> 304  
<400> 304  
000  
<210> 305  
<400> 305  
000  
<210> 306  
<400> 306  
000  
<210> 307  
<400> 307  
000  
<210> 308  
<400> 308  
000

<210> 309

<400> 309

000

<210> 310

<400> 310

000

<210> 311

<400> 311

000

<210> 312

<400> 312

000

<210> 313

<400> 313

000

<210> 314

<400> 314

000

<210> 315

<400> 315

000

<210> 316

<400> 316

000

<210> 317

<400> 317

000

<210> 318

<400> 318

000

<210> 319

<400> 319

000

<210> 320

<400> 320

000

<210> 321

<400> 321

000

<210> 322

<400> 322

000

<210> 323

<400> 323

000

<210> 324

<400> 324

000

<210> 325

<400> 325

000

<210> 326

<400> 326

000

<210> 327

<400> 327

000

<210> 328

<400> 328

000

<210> 329

<400> 329

000

<210> 330

<400> 330

000

<210> 331

<400> 331

000

<210> 332

<400> 332

000

<210> 333

<400> 333

000

<210> 334

<400> 334

000

<210> 335

<400> 335

000

<210> 336

<400> 336

000

<210> 337

<400> 337

000

<210> 338

<400> 338

000

<210> 339

<400> 339

000

<210> 340

<400> 340

000

<210> 341

<400> 341

000

<210> 342

<400> 342

000

<210> 343

<400> 343

000

<210> 344

<400> 344

000

<210> 345

<400> 345

000

<210> 346

<400> 346

000

<210> 347

<400> 347

000

<210> 348

<400> 348

000

<210> 349

<400> 349

000

<210> 350

<400> 350

000

<210> 351

<400> 351

000

<210> 352

<400> 352

000

<210> 353

<400> 353

000

<210> 354

<400> 354

000

<210> 355

<400> 355

000

<210> 356

<400> 356

000

<210> 357

<400> 357

000

<210> 358

<400> 358

000

<210> 359

<400> 359

000

<210> 360

<400> 360

000

<210> 361

<400> 361

000

<210> 362

<400> 362

000

<210> 363

<400> 363

000

<210> 364

<400> 364

000

<210> 365

<400> 365

000

<210> 366

<400> 366

000

<210> 367

<400> 367

000

<210> 368

<400> 368

000

<210> 369

<400> 369

000

<210> 370

<400> 370

000

<210> 371

<400> 371

000

<210> 372

<400> 372

000

<210> 373

<400> 373

000

<210> 374

<400> 374

000

<210> 375

<400> 375

000

<210> 376

<400> 376

000

<210> 377

<400> 377

000

<210> 378

<400> 378

000

<210> 379

<400> 379

000

<210> 380

<400> 380

000

<210> 381

<400> 381

000

<210> 382

<400> 382

000

<210> 383

<400> 383

000

<210> 384

<400> 384

000

<210> 385

<400> 385

000

<210> 386

<400> 386

000

<210> 387

<400> 387

000

<210> 388

<400> 388

000

<210> 389

<400> 389

000

<210> 390

<400> 390

000

<210> 391

<400> 391

000

<210> 392

<400> 392

000

<210> 393

<400> 393

000

<210> 394

<400> 394

000

<210> 395

<400> 395

000

<210> 396

<400> 396

000

<210> 397

<400> 397

000

<210> 398

<400> 398

000

<210> 399

<400> 399

000

<210> 400

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BMS-936559/MDX-1105抗体1 VH CDR1

<400> 400

Asp Tyr Gly Phe Ser

1 5

<210> 401

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BMS-936559/MDX-1105抗体1 VH CDR2

<400> 401

Trp Ile Thr Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 402

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BMS-936559/MDX-1105抗体1 VH CDR3

<400> 402

Asp Tyr Phe Tyr Gly Met Asp Val

1 5

<210> 403

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BMS-936559/MDX-1105抗体1 VL CDR1

<400> 403

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Val

1 5 10

<210> 404

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BMS-936559/MDX-1105抗体1 VL CDR2

<400> 404

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 405

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BMS-936559/MDX-1105抗体1 VL CDR3

<400> 405

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Arg Thr

1 5

<210> 406

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BMS-936559/MDX-1105抗体2 VH CDR1

<400> 406

Thr Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 407

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BMS-936559/MDX-1105抗体2 VH CDR2

<400> 407

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Lys Ala His Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 408

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BMS-936559/MDX-1105抗体2 VH CDR3

<400> 408

Lys Phe His Phe Val Ser Gly Ser Pro Phe Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 409

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BMS-936559/MDX-1105抗体2 VL CDR1

<400> 409

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 410

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BMS-936559/MDX-1105抗体2 VL CDR2

<400> 410

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 411

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BMS-936559/MDX-1105抗体2 VL CDR3

<400> 411

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Thr

1 5

<210> 412

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BMS-936559/MDX-1105抗体3 VH CDR1

<400> 412

Ser Tyr Asp Val His

1 5

<210> 413

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BMS-936559/MDX-1105抗体3 VH CDR2

<400> 413

Trp Leu His Ala Asp Thr Gly Ile Thr Lys Phe Ser Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 414

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BMS-936559/MDX-1105抗体3 VH CDR3

<400> 414

Glu Arg Ile Gln Leu Trp Phe Asp Tyr

1 5

<210> 415

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BMS-936559/MDX-1105抗体3 VL CDR1

<400> 415

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 416

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BMS-936559/MDX-1105抗体3 VL CDR2

<400> 416

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 417  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> BMS-936559/MDX-1105抗体3 VL CDR3  
<400> 417  
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr  
1 5  
<210> 418  
<211> 121  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> 德瓦鲁单抗/MEDI4736 VH序列  
<400> 418  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr  
20 25 30  
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser 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 Glu Gly Gly Trp Phe Gly Glu Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110  
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120  
<210> 419  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> 德瓦鲁单抗/MEDI4736 VL序列  
<400> 419

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Ser Ser  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Leu Pro  
 85 90 95  
 Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105  
 <210> 420  
 <400> 420  
 000  
 <210> 421  
 <400> 421  
 000  
 <210> 422  
 <400> 422  
 000  
 <210> 423  
 <400> 423  
 000  
 <210> 424  
 <400> 424  
 000  
 <210> 425  
 <400> 425  
 000  
 <210> 426  
 <400> 426  
 000  
 <210> 427  
 <400> 427  
 000  
 <210> 428

<400> 428

000

<210> 429

<400> 429

000

<210> 430

<400> 430

000

<210> 431

<400> 431

000

<210> 432

<400> 432

000

<210> 433

<400> 433

000

<210> 434

<400> 434

000

<210> 435

<400> 435

000

<210> 436

<400> 436

000

<210> 437

<400> 437

000

<210> 438

<400> 438

000

<210> 439

<400> 439

000

<210> 440

<400> 440

000

<210> 441

<400> 441

000

<210> 442

<400> 442

000

<210> 443

<400> 443

000

<210> 444

<400> 444

000

<210> 445

<400> 445

000

<210> 446

<400> 446

000

<210> 447

<400> 447

000

<210> 448

<400> 448

000

<210> 449

<400> 449

000

<210> 450

<400> 450

000

<210> 451

<400> 451

000

<210> 452

<400> 452

000

<210> 453

<400> 453

000

<210> 454

<400> 454

000

<210> 455

<400> 455

000

<210> 456

<400> 456

000

<210> 457

<400> 457

000

<210> 458

<400> 458

000

<210> 459

<400> 459

000

<210> 460

<400> 460

000

<210> 461

<400> 461

000

<210> 462

<400> 462

000

<210> 463

<400> 463

000

<210> 464

<400> 464

000

<210> 465

<400> 465

000

<210> 466

<400> 466

000

<210> 467

<400> 467

000

<210> 468

<400> 468

000

<210> 469

<400> 469

000

<210> 470

<400> 470

000

<210> 471

<400> 471

000

<210> 472

<400> 472

000

<210> 473

<400> 473

000

<210> 474

<400> 474

000

<210> 475

<400> 475

000

<210> 476

<400> 476

000

<210> 477

<400> 477

000

<210> 478

<400> 478

000

<210> 479

<400> 479

000

<210> 480

<400> 480

000

<210> 481

<400> 481

000

<210> 482

<400> 482

000

<210> 483

<400> 483

000

<210> 484

<400> 484

000

<210> 485

<400> 485

000

<210> 486

<400> 486

000

<210> 487

<400> 487

000

<210> 488

<400> 488

000

<210> 489

<400> 489

000

<210> 490

<400> 490

000

<210> 491

<400> 491

000

<210> 492

<400> 492

000

<210> 493

<400> 493  
000  
<210> 494  
<400> 494  
000  
<210> 495  
<400> 495  
000  
<210> 496  
<400> 496  
000  
<210> 497  
<400> 497  
000  
<210> 498  
<400> 498  
000  
<210> 499  
<400> 499  
000  
<210> 500  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> TRX518 VL序列  
<400> 500  
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
1 5 10 15  
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn  
20 25 30  
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
35 40 45  
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Asp Pro Leu  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
                  100                 105  
 <210> 501  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> TRX518 VH序列  
 <400> 501

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln  
  1                 5                 10                 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser  
  20                 25                 30

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

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser  
  50                 55                 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val  
  65                 70                 75                 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr  
  85                 90                 95

Cys Ala Arg Thr Arg Arg Tyr Phe Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
  100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser  
                  115

<210> 502  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> TRX518 VH序列  
 <400> 502

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln  
  1                 5                 10                 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser  
  20                 25                 30

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

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Gln Pro Ser

50	55	60
Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val		
65	70	75
Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr		80
85	90	95
Cys Ala Arg Thr Arg Arg Tyr Phe Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly		
100	105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser		
115		
<210> 503		
<400> 503		
000		
<210> 504		
<400> 504		
000		
<210> 505		
<400> 505		
000		
<210> 506		
<400> 506		
000		
<210> 507		
<400> 507		
000		
<210> 508		
<400> 508		
000		
<210> 509		
<400> 509		
000		
<210> 510		
<400> 510		
000		
<210> 511		
<400> 511		
000		
<210> 512		
<400> 512		
000		

<210> 513

<400> 513

000

<210> 514

<400> 514

000

<210> 515

<400> 515

000

<210> 516

<400> 516

000

<210> 517

<400> 517

000

<210> 518

<400> 518

000

<210> 519

<400> 519

000

<210> 520

<400> 520

000

<210> 521

<400> 521

000

<210> 522

<400> 522

000

<210> 523

<400> 523

000

<210> 524

<400> 524

000

<210> 525

<400> 525

000

<210> 526

<400> 526

000

<210> 527

<400> 527

000

<210> 528

<400> 528

000

<210> 529

<400> 529

000

<210> 530

<400> 530

000

<210> 531

<400> 531

000

<210> 532

<400> 532

000

<210> 533

<400> 533

000

<210> 534

<400> 534

000

<210> 535

<400> 535

000

<210> 536

<400> 536

000

<210> 537

<400> 537

000

<210> 538

<400> 538

000

<210> 539

<400> 539

000

<210> 540

<400> 540

000

<210> 541

<400> 541

000

<210> 542

<400> 542

000

<210> 543

<400> 543

000

<210> 544

<400> 544

000

<210> 545

<400> 545

000

<210> 546

<400> 546

000

<210> 547

<400> 547

000

<210> 548

<400> 548

000

<210> 549

<400> 549

000

<210> 550

<400> 550

000

<210> 551

<400> 551

000

<210> 552

<400> 552

000

<210> 553

<400> 553

000

<210> 554

<400> 554

000

<210> 555

<400> 555

000

<210> 556

<400> 556

000

<210> 557

<400> 557

000

<210> 558

<400> 558

000

<210> 559

<400> 559

000

<210> 560

<400> 560

000

<210> 561

<400> 561

000

<210> 562

<400> 562

000

<210> 563

<400> 563

000

<210> 564

<400> 564

000

<210> 565

<400> 565

000

<210> 566

<400> 566

000

<210> 567

<400> 567

000

<210> 568

<400> 568

000

<210> 569

<400> 569

000

<210> 570

<400> 570

000

<210> 571

<400> 571

000

<210> 572

<400> 572

000

<210> 573

<400> 573

000

<210> 574

<400> 574

000

<210> 575

<400> 575

000

<210> 576

<400> 576

000

<210> 577

<400> 577

000

<210> 578

<400> 578

000

<210> 579

<400> 579

000

<210> 580

<400> 580

000

<210> 581

<400> 581

000

<210> 582

<400> 582

000

<210> 583

<400> 583

000

<210> 584

<400> 584

000

<210> 585

<400> 585

000

<210> 586

<400> 586

000

<210> 587

<400> 587

000

<210> 588

<400> 588

000

<210> 589

<400> 589

000

<210> 590

<400> 590

000

<210> 591  
<400> 591  
000  
<210> 592  
<400> 592  
000  
<210> 593  
<400> 593  
000  
<210> 594  
<400> 594  
000  
<210> 595  
<400> 595  
000  
<210> 596  
<400> 596  
000  
<210> 597  
<400> 597  
000  
<210> 598  
<400> 598  
000  
<210> 599  
<400> 599  
000  
<210> 600  
<211> 450  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> MEDI0562重链序列  
<400> 600  
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln  
1 5 10 15  
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Ser Gly  
20 25 30  
Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Lys His Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser  
                  355                 360                 365  
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
                  370                 375                 380  
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
                  385                 390                 395                 400  
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
                  405                 410                 415  
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
                  420                 425                 430  
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
                  435                 440                 445  
 Pro Gly  
                  450  
 <210> 601  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> MEDI0562轻链序列  
 <400> 601  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
  1              5                 10                 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr  
                  20                 25                 30  
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
                  35                 40                 45  
 Tyr Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
                  50                 55                 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
  65              70                 75                 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Trp  
                  85                 90                 95  
 Thr Phe Gly Gln 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> 602  
 <211> 402  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> MEDI6383  
 <400> 602  
 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe  
 1 5 10 15  
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr  
 20 25 30  
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val  
 35 40 45  
 Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val  
 50 55 60  
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser  
 65 70 75 80  
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu  
 85 90 95  
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser  
 100 105 110  
 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro  
 115 120 125  
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln  
 130 135 140  
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala  
 145 150 155 160  
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr  
 165 170 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu  
                  180                     185                     190  
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser  
                  195                     200                     205  
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser  
                  210                     215                     220  
 Leu Ser Leu Gly Lys Asp Gln Asp Lys Ile Glu Ala Leu Ser Ser Lys  
                  225                     230                     235                     240  
 Val Gln Gln Leu Glu Arg Ser Ile Gly Leu Lys Asp Leu Ala Met Ala  
                  245                     250                     255  
 Asp Leu Glu Gln Lys Val Leu Glu Met Glu Ala Ser Thr Gln Val Ser  
                  260                     265                     270  
 His Arg Tyr Pro Arg Ile Gln Ser Ile Lys Val Gln Phe Thr Glu Tyr  
                  275                     280                     285  
 Lys Lys Glu Lys Gly Phe Ile Leu Thr Ser Gln Lys Glu Asp Glu Ile  
                  290                     295                     300  
 Met Lys Val Gln Asn Asn Ser Val Ile Ile Asn Cys Asp Gly Phe Tyr  
                  305                     310                     315                     320  
 Leu Ile Ser Leu Lys Gly Tyr Phe Ser Gln Glu Val Asn Ile Ser Leu  
                  325                     330                     335  
 His Tyr Gln Lys Asp Glu Glu Pro Leu Phe Gln Leu Lys Lys Val Arg  
                  340                     345                     350  
 Ser Val Asn Ser Leu Met Val Ala Ser Leu Thr Tyr Lys Asp Lys Val  
                  355                     360                     365  
 Tyr Leu Asn Val Thr Thr Asp Asn Thr Ser Leu Asp Asp Phe His Val  
                  370                     375                     380  
 Asn Gly Gly Glu Leu Ile Leu Ile His Gln Asn Pro Gly Glu Phe Cys  
                  385                     390                     395                     400  
 Val Leu  
 <210> 603  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> 0x40mAb24 VH序列  
 <400> 603  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln  
     1                 5                     10                     15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Ser Gly

20	25	30
Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Lys His Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile		
35	40	45
Gly Tyr Ile Ser Tyr Asn Gly Ile Thr Tyr His Asn Pro Ser Leu Lys		
50	55	60
Ser Arg Ile Thr Ile Asn Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Tyr Ser Leu		
65	70	75
Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala		
85	90	95
Arg Tyr Lys Tyr Asp Tyr Asp Gly Gly His Ala Met Asp Tyr Trp Gly		
100	105	110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
115	120	
<210> 604		
<211> 107		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> OX40mAb24 VL序列		
<400> 604		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10
15		
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr		
20	25	30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
35	40	45
Tyr Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65	70	75
80		
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Trp		
85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100	105	
<210> 605		
<211> 5		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		

<223> INCAGN1949抗体a VH CDR1

<400> 605

Gly Ser Ala Met His

1 5

<210> 606

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> INCAGN1949抗体a VH CDR2

<400> 606

Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 607

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> INCAGN1949抗体a VH CDR3

<400> 607

Gly Ile Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Asp Tyr

1 5 10

<210> 608

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> INCAGN1949抗体a VL CDR1

<400> 608

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

1 5 10 15

<210> 609

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> INCAGN1949抗体a VL CDR2

<400> 609

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser

1 5

<210> 610

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> INCAGN1949抗体a VL CDR3

<400> 610

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 611

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> INCAGN1949抗体b VH序列

<400> 611

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Thr Ser Gly Ile Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 612

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> INCAGN1949抗体b VL序列

<400> 612

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85 90 95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 613

<400> 613

000

<210> 614

<400> 614

000

<210> 615

<400> 615

000

<210> 616

<400> 616

000

<210> 617

<400> 617

000

<210> 618

<400> 618

000

<210> 619

<400> 619

000

<210> 620

<400> 620

000  
<210> 621  
<400> 621

000  
<210> 622  
<400> 622

000  
<210> 623  
<400> 623

000  
<210> 624  
<400> 624

000  
<210> 625  
<400> 625

000  
<210> 626  
<400> 626

000  
<210> 627  
<400> 627

000  
<210> 628  
<400> 628

000  
<210> 629  
<400> 629

000  
<210> 630  
<400> 630

000  
<210> 631  
<400> 631

000  
<210> 632  
<400> 632

000  
<210> 633  
<400> 633

000

<210> 634

<400> 634

000

<210> 635

<400> 635

000

<210> 636

<400> 636

000

<210> 637

<400> 637

000

<210> 638

<400> 638

000

<210> 639

<400> 639

000

<210> 640

<400> 640

000

<210> 641

<400> 641

000

<210> 642

<400> 642

000

<210> 643

<400> 643

000

<210> 644

<400> 644

000

<210> 645

<400> 645

000

<210> 646

<400> 646

000

<210> 647

<400> 647

000

<210> 648

<400> 648

000

<210> 649

<400> 649

000

<210> 650

<400> 650

000

<210> 651

<400> 651

000

<210> 652

<400> 652

000

<210> 653

<400> 653

000

<210> 654

<400> 654

000

<210> 655

<400> 655

000

<210> 656

<400> 656

000

<210> 657

<400> 657

000

<210> 658

<400> 658

000

<210> 659

<400> 659

000  
<210> 660  
<400> 660  
000  
<210> 661  
<400> 661  
000  
<210> 662  
<400> 662  
000  
<210> 663  
<400> 663  
000  
<210> 664  
<400> 664  
000  
<210> 665  
<400> 665  
000  
<210> 666  
<400> 666  
000  
<210> 667  
<400> 667  
000  
<210> 668  
<400> 668  
000  
<210> 669  
<400> 669  
000  
<210> 670  
<400> 670  
000  
<210> 671  
<400> 671  
000  
<210> 672  
<400> 672

000

<210> 673

<400> 673

000

<210> 674

<400> 674

000

<210> 675

<400> 675

000

<210> 676

<400> 676

000

<210> 677

<400> 677

000

<210> 678

<400> 678

000

<210> 679

<400> 679

000

<210> 680

<400> 680

000

<210> 681

<400> 681

000

<210> 682

<400> 682

000

<210> 683

<400> 683

000

<210> 684

<400> 684

000

<210> 685

<400> 685

000  
<210> 686  
<400> 686  
000  
<210> 687  
<400> 687  
000  
<210> 688  
<400> 688  
000  
<210> 689  
<400> 689  
000  
<210> 690  
<400> 690  
000  
<210> 691  
<400> 691  
000  
<210> 692  
<400> 692  
000  
<210> 693  
<400> 693  
000  
<210> 694  
<400> 694  
000  
<210> 695  
<400> 695  
000  
<210> 696  
<400> 696  
000  
<210> 697  
<400> 697  
000  
<210> 698  
<400> 698

000  
 <210> 699  
 <400> 699  
 000  
 <210> 700  
 <211> 167  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> 替西木单抗VH序列  
 <400> 700

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

<210> 701  
 <211> 139  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> 替西木单抗VL序列

<400> 701  
Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys  
1 5 10 15  
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr Leu Asp Trp Tyr Gln Gln Lys  
20 25 30  
Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln  
35 40 45  
Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
50 55 60  
Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr  
65 70 75 80  
Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys  
85 90 95  
Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro  
100 105 110  
Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu  
115 120 125  
Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val  
130 135

## 序列

**SEQ ID NO. 1 (AB12 VH):**

QVQLVQSGAEVKPGSSVKVSCKASGGTFSRYIINWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGVEN  
YAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARKDWFDYWGQGTLTVSSAS  
TKGPSVFPLA

**SEQ ID NO. 2 (AB12 VL):**

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA  
WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPD  
RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGGT  
KVEIKRTVAAPSVFIFP

**SEQ ID NO. 3 (VH CDR1):**

RYIIN

**SEQ ID NO. 4 (VH CDR2):**

RIIPILGVENYAQKFQG

**SEQ ID NO. 5 (VH CDR3):**

KDWFDY

**SEQ ID NO. 6 (VL CDR1):**

RASQSVSSYLA

**SEQ ID NO. 7 (VL CDR2):**

GASSRAT

**SEQ ID NO. 8 (VL CDR3):**

QQYGSSPLT

图1

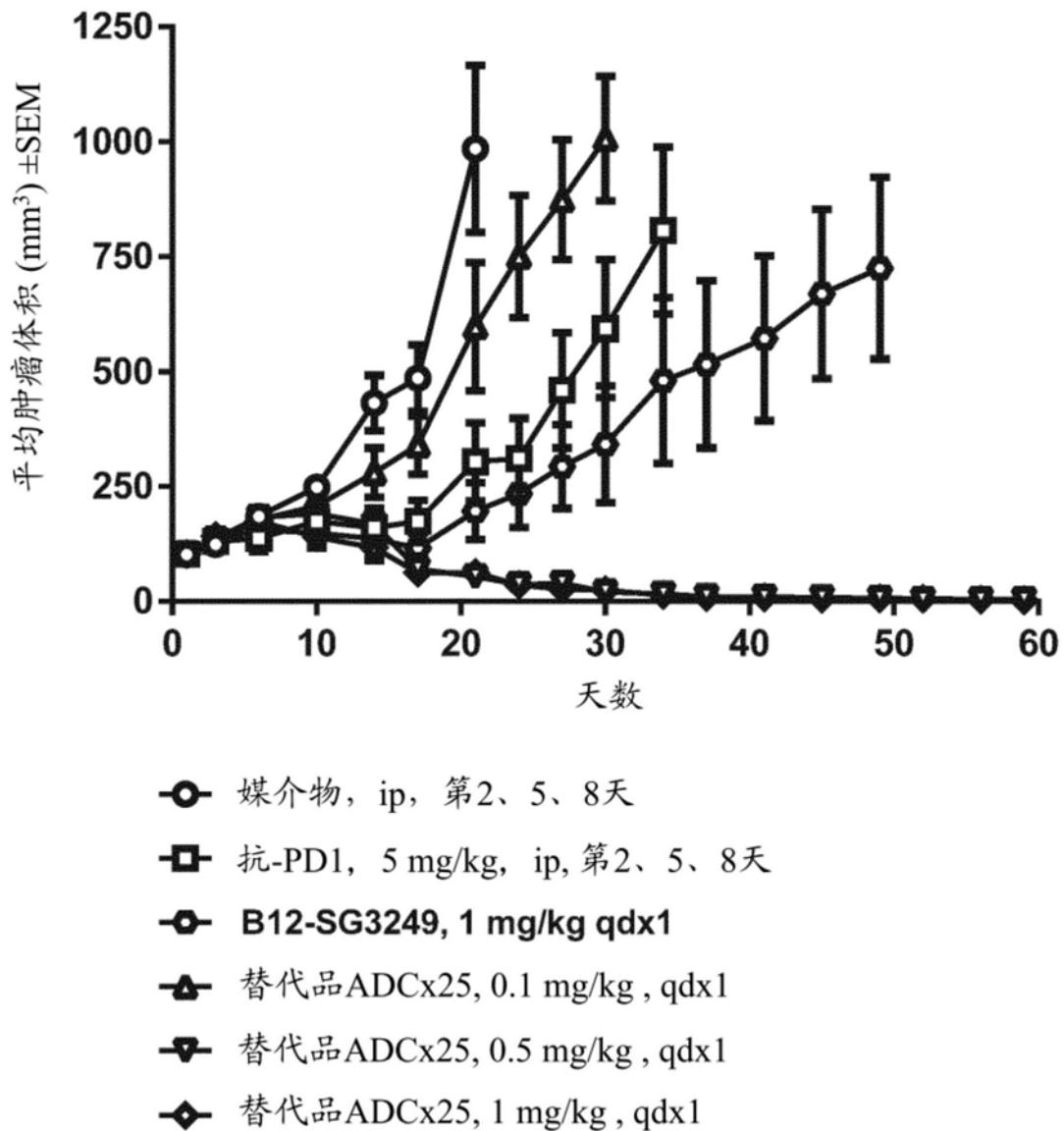


图2

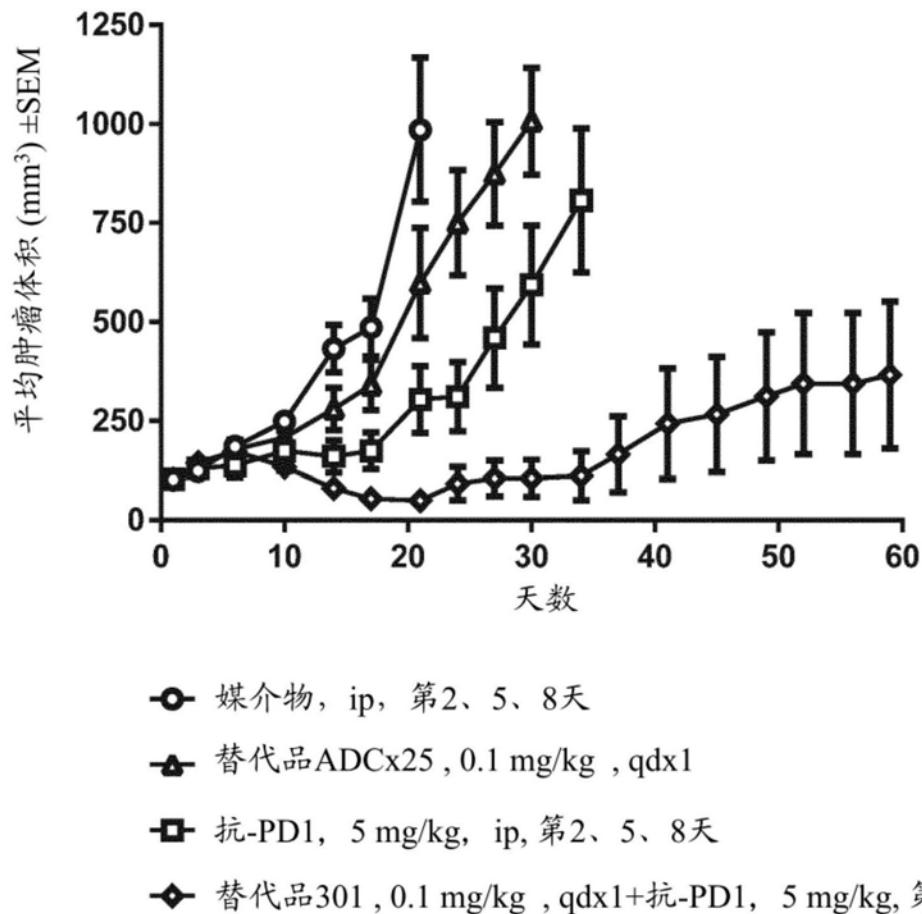


图3

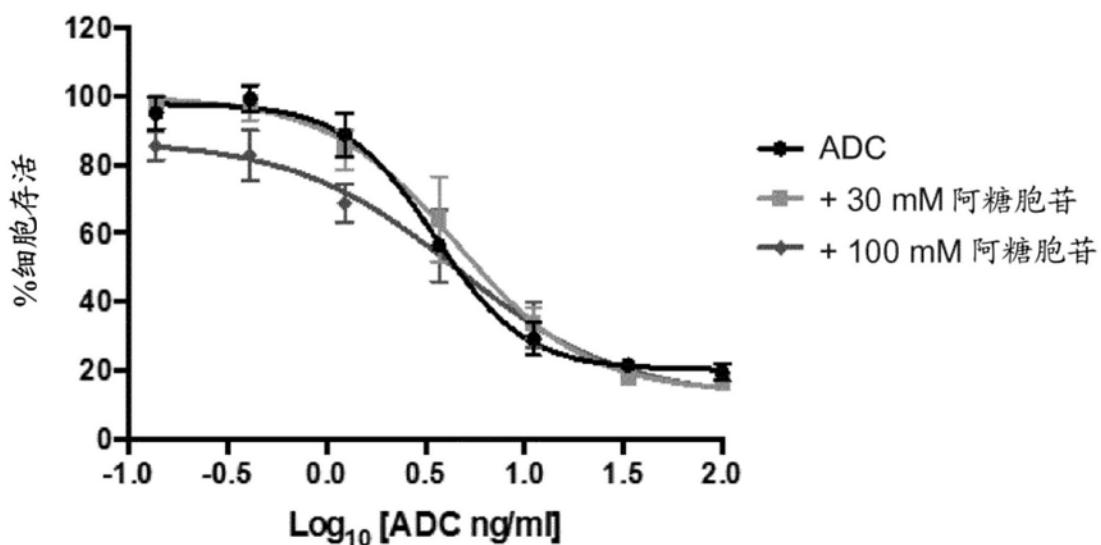
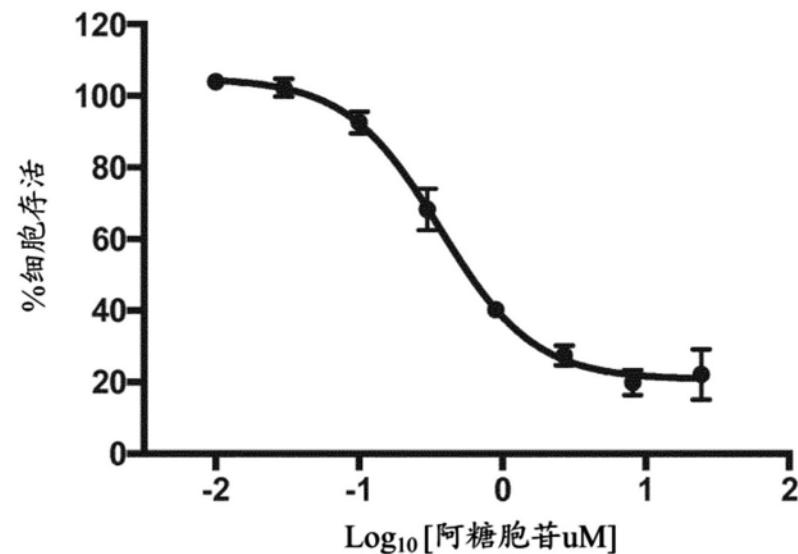


图4

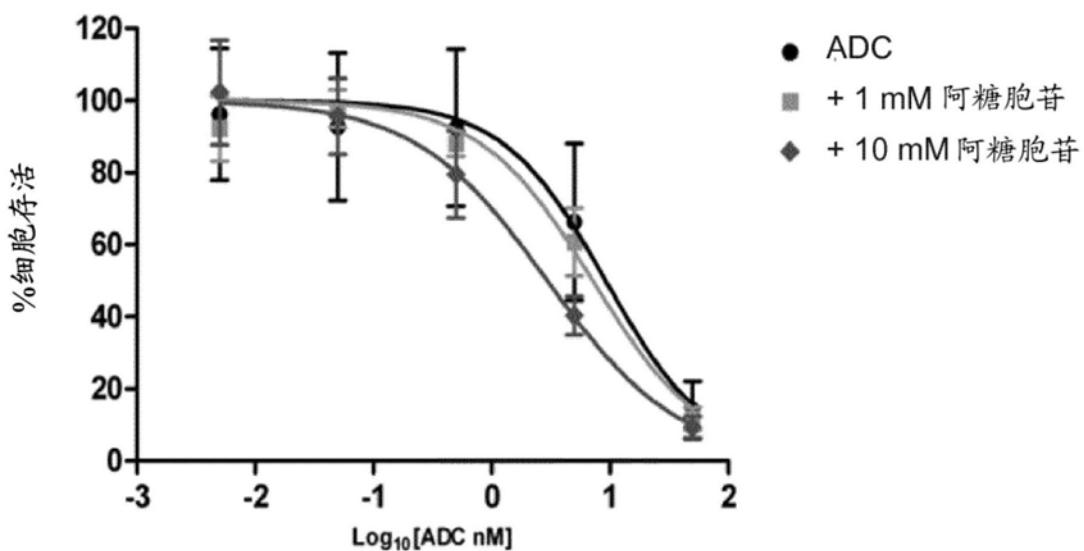
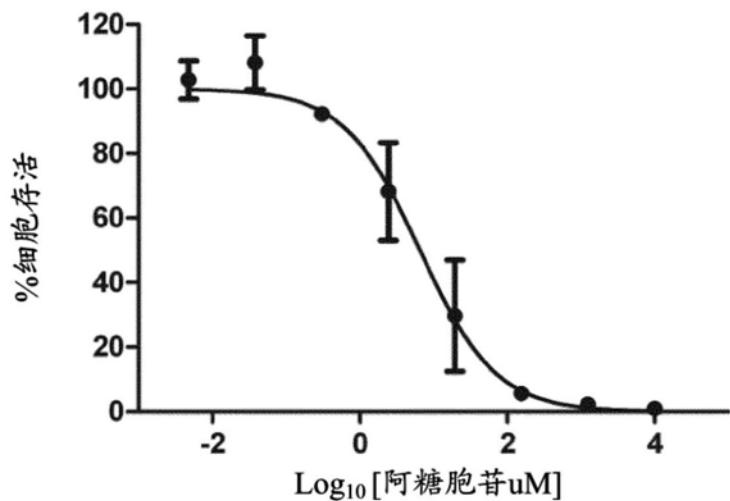


图5

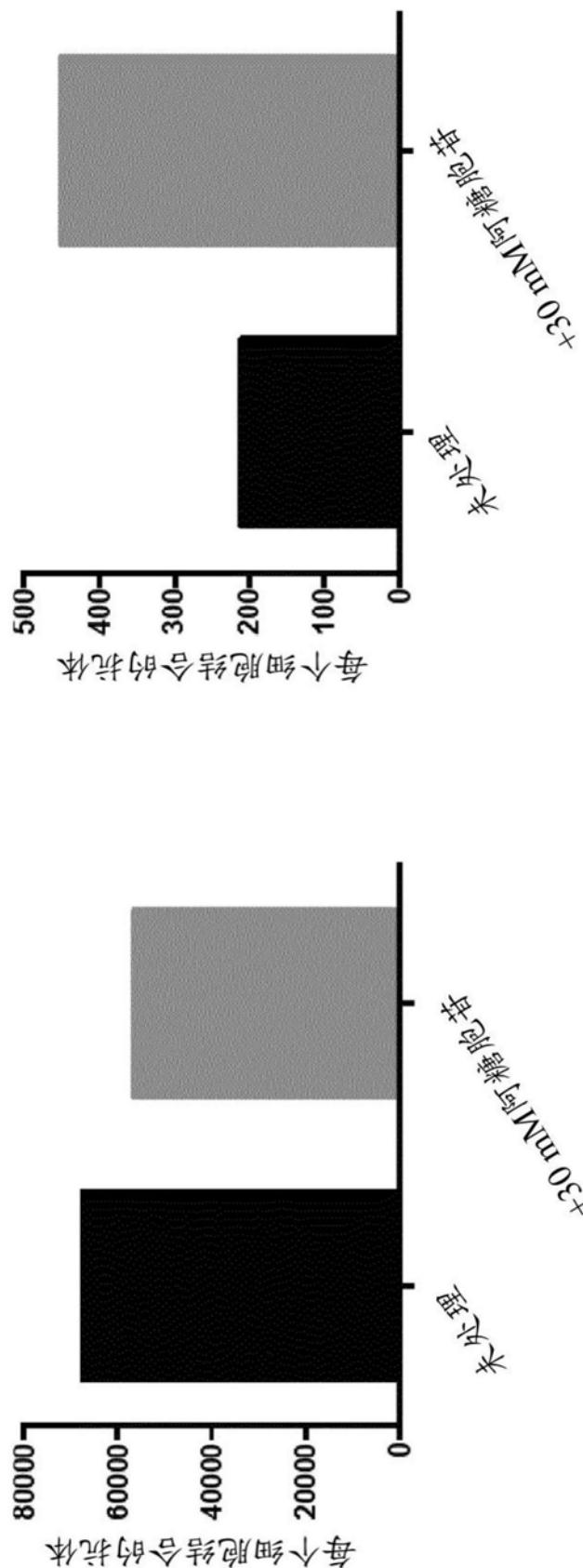


图6

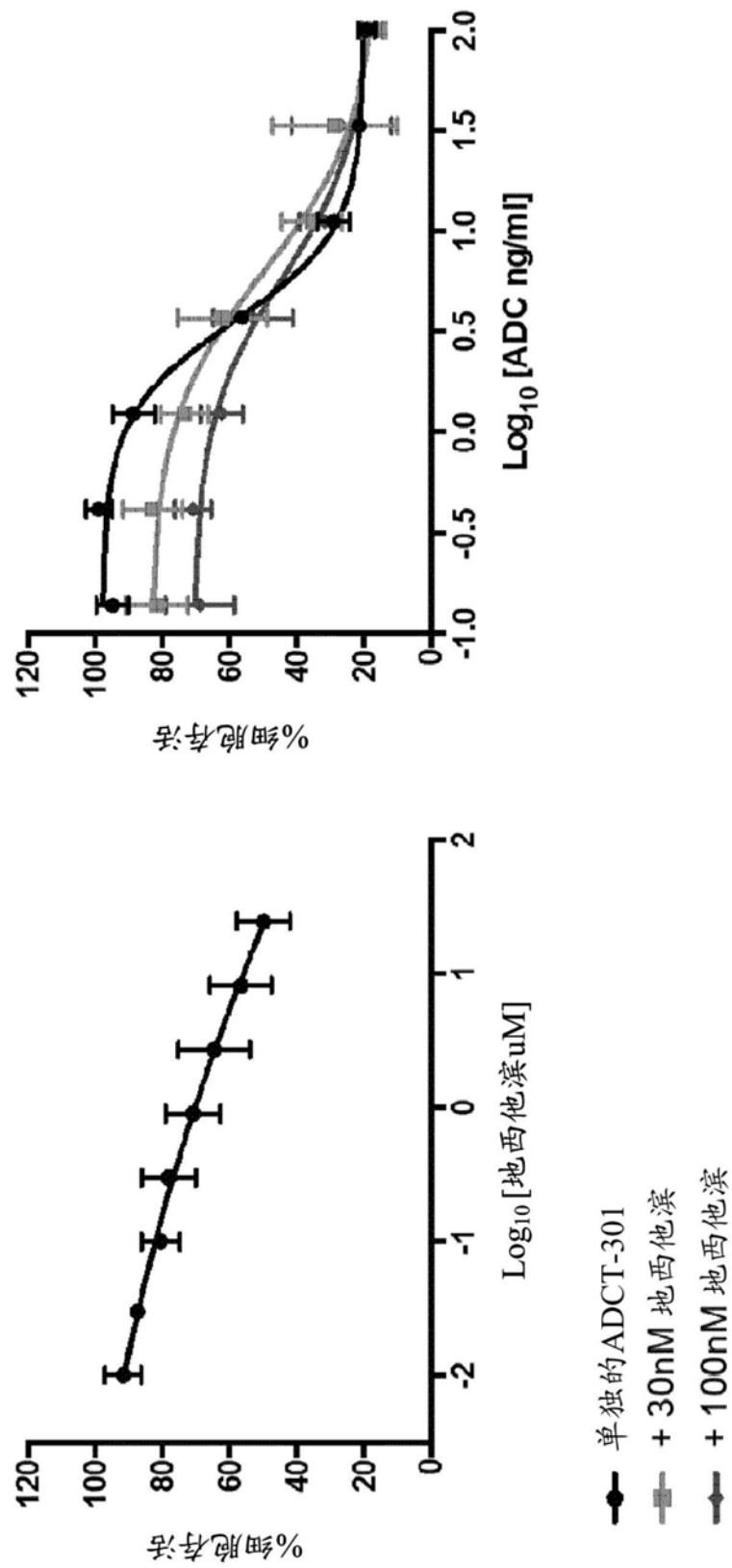


图7

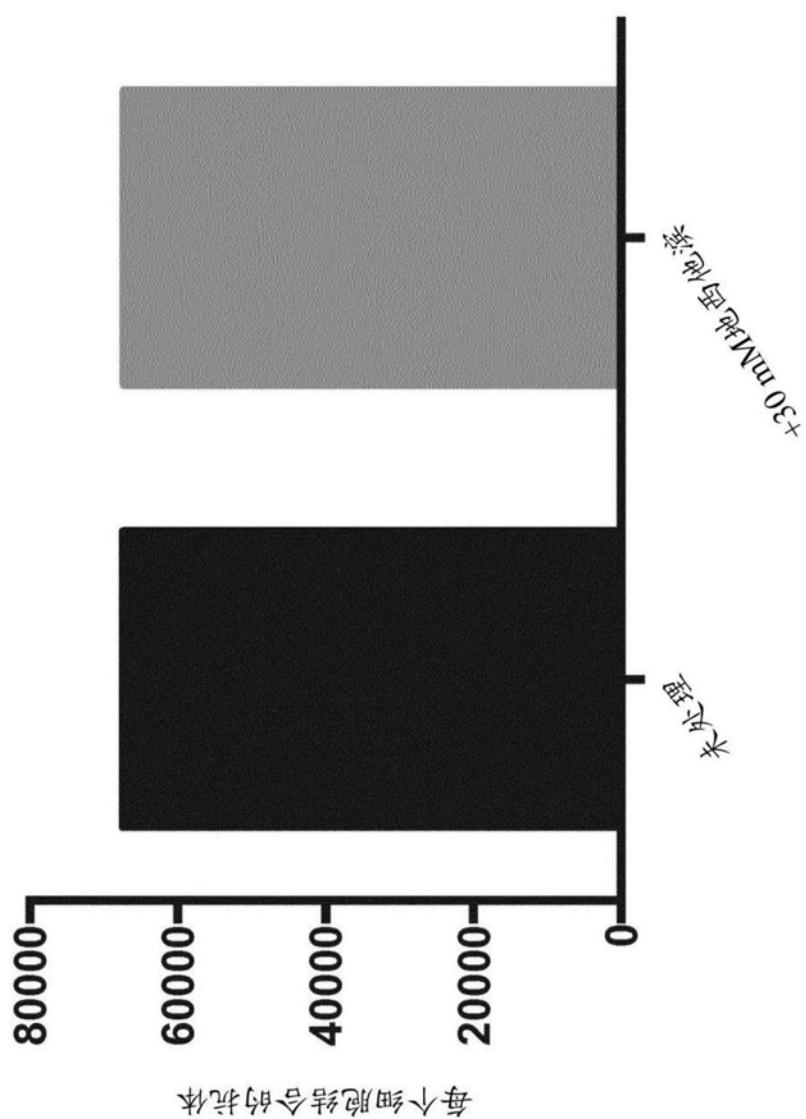


图8

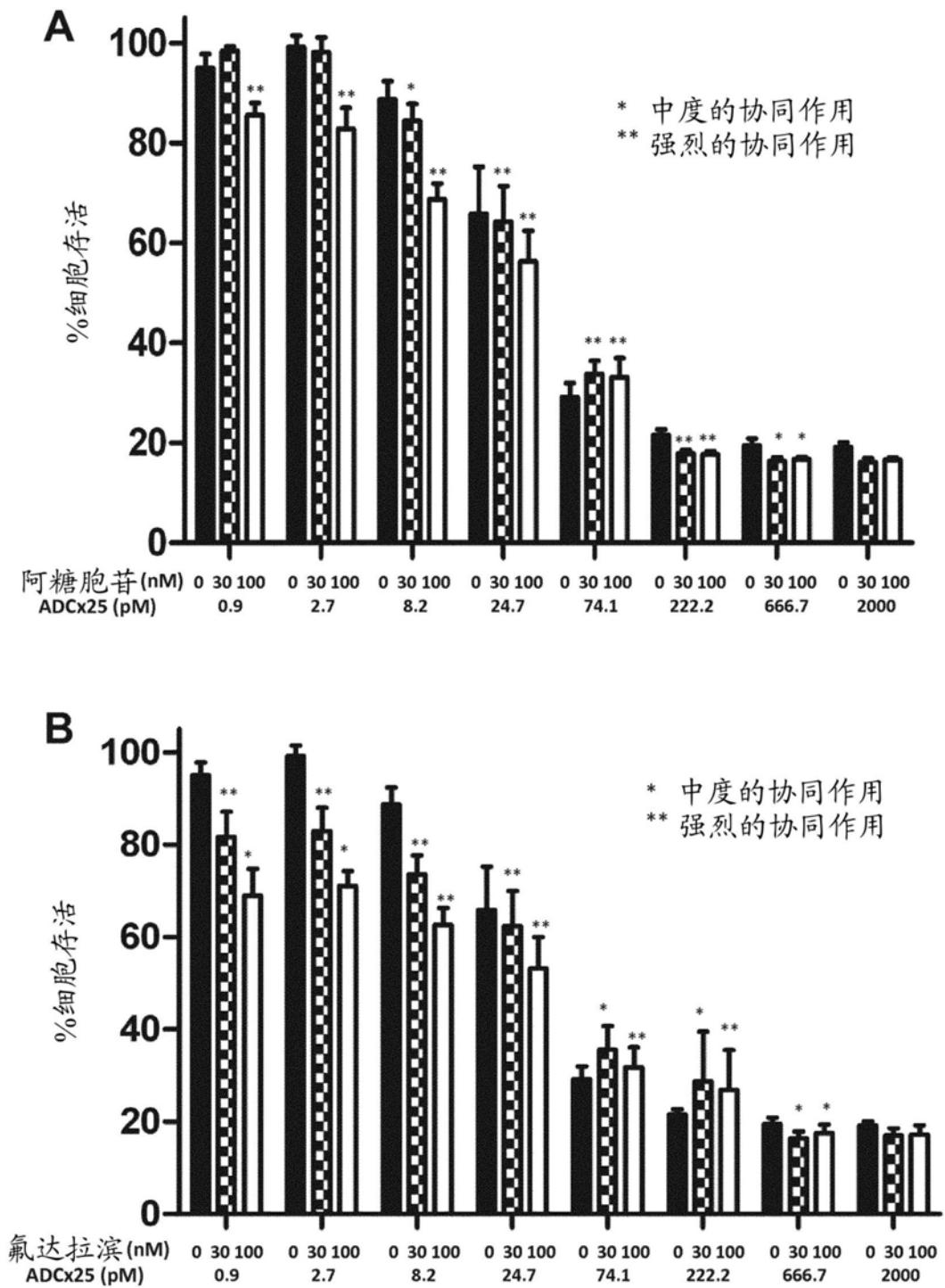


图9

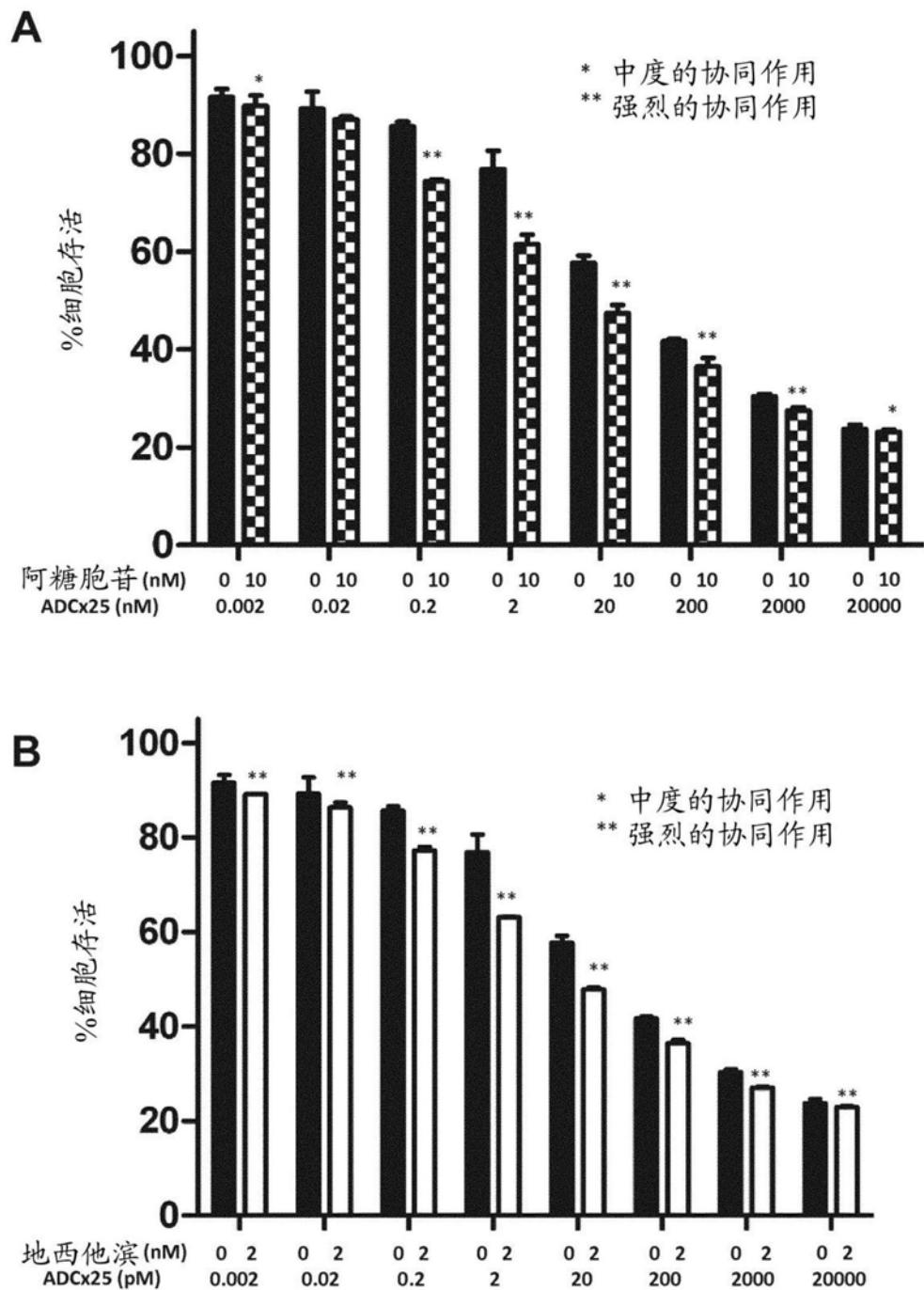


图10