



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114929278 A

(43) 申请公布日 2022.08.19

(21) 申请号 202180007992.9

(22) 申请日 2021.01.06

(30) 优先权数据

62/957,758 2020.01.06 US

62/985,152 2020.03.04 US

63/198,803 2020.11.13 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.06.30

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/012329 2021.01.06

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/142002 EN 2021.07.15

(71) 申请人 瓦西尼斯公司

地址 美国纽约

(72) 发明人 P·M·霍兰 A·莱克 A·杜拉克

E·史密斯 M·斯科里韦内

C·哈维 R·柯克 L·鲍尔奇

S·G·达斯 C·C·威尔斯

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

专利代理师 封新琴

(51) Int.Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

权利要求书13页 说明书74页

序列表78页 附图28页

(54) 发明名称

抗CCR8抗体及其用途

(57) 摘要

本公开涉及特异性地结合人CCR8的抗体或其抗原结合部分、编码所述抗体或其抗原结合部分的多核苷酸和载体,以及包含所述抗体或其抗原结合部分或所述多核苷酸或所述载体的药物组合物。本公开的一些方面涉及治疗疾病或疾患的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗CCR8抗体。

1. 一种抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分特异性地结合至人CCR8的N末端细胞外结构域内的一个或多个氨基酸。

2. 如权利要求1所述的抗体,所述抗体能够:

- (a) 增强对肿瘤的免疫响应;
- (b) 减少、消耗或杀伤肿瘤浸润性调节性T (“Treg”) 细胞;
- (c) 诱导CCR8在肿瘤浸润调节性T (“Treg”) 细胞中的内化;
- (d) 使NK细胞活化;
- (e) 诱导NK细胞介导的肿瘤浸润调节性T (“Treg”) 细胞杀伤;
- (f) 结合至食蟹猴 (“cyno”) CCR8;
- (g) 如通过BIACORE™所测量以10nM或更小的 K_D 结合至人CCR8;或
- (h) 它们的任何组合。

3. 如权利要求1或2所述的抗体或其抗原结合部分,其中人CCR8的所述N末端细胞外结构域包含SEQ ID NO:172所示的氨基酸序列。

4. 如权利要求1至3中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分结合至SEQ ID NO:172所示的至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个或至少十个氨基酸。

5. 如权利要求1至4中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分结合至SEQ ID NO:172所示的至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个或至少十个连续氨基酸。

6. 如权利要求1至6中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分结合至选自SEQ ID NO:180-200的氨基酸序列。

7. 如权利要求1至7中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分还结合cyno CCR8。

8. 如权利要求1至7中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分如通过BIACORE™所测量以10nM或更小的 K_D 结合人CCR8。

9. 如权利要求1至8中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分如通过BIACORE™所测量以1nM或更小的 K_D 结合人CCR8。

10. 如权利要求1至9中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分在施用抗CCR8抗体后诱导受试者中的抗体依赖性细胞毒性 (ADCC)。

11. 如权利要求10所述的抗体或其抗原结合部分,其中在施用所述抗体或其抗原结合部分后,所述ADCC包含1 μ g/mL或更小的EC50。

12. 如权利要求10或11所述的抗体或其抗原结合部分,其中在施用所述抗体或其抗原结合部分后,所述ADCC包含0.1 μ g/mL或更小的EC50。

13. 如权利要求1至12中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分能够诱导NK细胞的活化。

14. 如权利要求1至13中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分能够诱导NK细胞表面上的4-1BB、ICAM-1或4-1BB和ICAM-1两者的上调。

15. 如权利要求1至14中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分能够诱导所述受试者中NK细胞表面上的CD16的下调。

16. 如权利要求1至15中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分能够诱导所述受试者中NK细胞介导的肿瘤浸润性T_{reg}细胞杀伤。

17. 如权利要求1至16中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分在施用所述抗体或其抗原结合部分后诱导受试者中肿瘤浸润性T_{reg}细胞数目相对于所述施用前肿瘤浸润性T_{reg}细胞数目的消耗。

18. 如权利要求17所述的抗体或其抗原结合部分,其中肿瘤浸润性T_{reg}细胞数目相对于所述施用前肿瘤浸润性T_{reg}细胞数目消耗至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%或至少约50%。

19. 如权利要求1至18中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分诱导肿瘤浸润性T_{reg}细胞对CCR8的内化。

20. 如权利要求1至19中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分包含可变重(VH)链,所述可变重(VH)链包含VH互补决定区(CDR)1、VH CDR2和VH CDR3;其中所述VH CDR3包含选自SEQ ID NO:7、17、27、37、47、57、67、77、87、97、107、117、127、137、147、157和167所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

21. 如权利要求21所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述VH CDR2包含选自SEQ ID NO:6、16、26、36、46、56、66、76、86、96、106、116、126、136、146、156和166所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

22. 如权利要求21至25中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述VH CDR1包含选自SEQ ID NO:5、15、25、35、45、55、65、75、85、95、105、115、125、135、145、155和165所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

23. 如权利要求21至28中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中VL CDR3包含选自SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160和170所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

24. 如权利要求21至31中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中VL CDR2包含选自SEQ ID NO:9、19、29、39、49、59、69、79、89、99、109、119、129、139、149、159和169所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

25. 如权利要求21至34中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中VL CDR1包含选自SEQ ID NO:8、18、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、148、158和168所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

26. 如权利要求1至6和8至25中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分不结合cyno CCR8。

27. 如权利要求26所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分包含可变重(VH)链,所述可变重(VH)链包含VH互补决定区(CDR)1、VH CDR2和VH CDR3;其中所述VH CDR3包含选自SEQ ID NO:47、107、117、137和147所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

28. 如权利要求27所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述VH CDR2包含选自SEQ ID NO:46、106、116、136和146所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

29. 如权利要求27或28所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述VH CDR1包含选自SEQ ID NO:45、105、115、135和145所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

30. 如权利要求27至29中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述VL CDR3包含

选自SEQ ID NO:50、110、120、140和150所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

31. 如权利要求27至30中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述VL CDR2包含选自SEQ ID NO:49、109、119、139和149所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

32. 如权利要求27至31中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述VL CDR1包含选自SEQ ID NO:48、108、118、138和148所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

33. 如权利要求27至32中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分包含:

(a) 包含SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:46所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:47所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:48所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列的VL CDR3;

(b) 包含SEQ ID NO:105所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:107所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:108所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:109所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:110所示的氨基酸序列的VL CDR3;

(c) 包含SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:118所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:119所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:120所示的氨基酸序列的VL CDR3;

(d) 包含SEQ ID NO:135所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:136所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:137所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:138所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:139所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:140所示的氨基酸序列的VL CDR3;或

(e) 包含SEQ ID NO:145所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:146所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:147所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:148所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:149所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列的VL CDR3。

34. 如权利要求27至33中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述VH链包含选自SEQ ID NO:41、101、111、131和141所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

35. 如权利要求27至34中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中VL链包含选自SEQ ID NO:42、102、112、132和142所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

36. 如权利要求27至35中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分包含:

(a) 包含SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:42所示的氨基酸序列的VL链;

(b) 包含SEQ ID NO:101所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:102所示的氨基酸序列的VL链;

(c) 包含SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列的VL链;

(d) 包含SEQ ID NO:131所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:132所示的氨基酸序列的VL链;或

(e) 包含SEQ ID NO:141所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:142所示的氨基酸序列的VL链。

37. 如权利要求1至6和8至25中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分结合人CCR8和cyno CCR8。

38. 如权利要求37所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分包含可变重(VH)链,所述可变重(VH)链包含VH互补决定区(CDR)1、VH CDR2和VH CDR3;其中所述VH CDR3包含选自SEQ ID NO:7、17、27、37、57、67、77、87、97、127、157和167所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

39. 如权利要求38所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述VH CDR2包含选自SEQ ID NO:6、16、26、36、56、66、76、86、96、126、156和166所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

40. 如权利要求38或39所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述VH CDR1包含选自SEQ ID NO:5、15、25、35、55、65、75、85、95、125、155和165所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

41. 如权利要求38至40中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述VL CDR3包含选自SEQ ID NO:10、20、30、40、60、70、80、90、100、130、160和170所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

42. 如权利要求38至41中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述VL CDR2包含选自SEQ ID NO:9、19、29、39、59、69、79、89、99、129、159和169所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

43. 如权利要求38至42中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述VL CDR1包含选自SEQ ID NO:8、18、28、38、58、68、78、88、98、128、158和168所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

44. 如权利要求38至43中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分包含:

(a) 包含SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的VL CDR3;

(b) 包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:19所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:20所示的氨基酸序列的VL CDR3;

(c) 包含SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:28所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列的VL CDR3;

(d) 包含SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:38所示

的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列的VL CDR3；

(e) 包含SEQ ID NO:55所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:56所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:58所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL CDR3；

(f) 包含SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:66所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:67所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:70所示的氨基酸序列的VL CDR3；

(g) 包含SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:77所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:78所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:79所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:80所示的氨基酸序列的VL CDR3；

(h) 包含SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:88所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:89所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:90所示的氨基酸序列的VL CDR3；

(i) 包含SEQ ID NO:95所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:96所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:97所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:98所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:99所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:100所示的氨基酸序列的VL CDR3；

(j) 包含SEQ ID NO:125所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:126所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:127所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:128所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:129所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:130所示的氨基酸序列的VL CDR3；

(k) 包含SEQ ID NO:155所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:156所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:157所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:158所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:159所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:160所示的氨基酸序列的VL CDR3；或

(l) 包含SEQ ID NO:165所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:166所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:167所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:168所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:169所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:170所示的氨基酸序列的VL CDR3。

45. 如权利要求38至44中任一项所述的抗体或其抗原结合部分，其中所述VH链包含选自SEQ ID NO:1、11、21、31、51、61、71、81、91、121、151和161所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

46. 如权利要求37至45中任一项所述的抗体或其抗原结合部分，其中VL链包含选自SEQ ID NO:2、12、22、32、52、62、72、82、92、122、152和162所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

47. 如权利要求37至46中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分包含:

(a) 包含SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列的VL链;

(b) 包含SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL链;

(c) 包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列的VL链;

(d) 包含SEQ ID NO:31所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:32所示的氨基酸序列的VL链;

(e) 包含SEQ ID NO:51所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列的VL链;

(f) 包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的VL链;

(g) 包含SEQ ID NO:71所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列的VL链;

(h) 包含SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列的VL链;

(i) 包含SEQ ID NO:91所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列的VL链;

(j) 包含SEQ ID NO:121所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:122所示的氨基酸序列的VL链;

(k) 包含SEQ ID NO:151所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列的VL链;或

(l) 包含SEQ ID NO:161所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:162所示的氨基酸序列的VL链。

48. 如权利要求1至47中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分是人抗体、人源化抗体或嵌合抗体。

49. 如权利要求1至48中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分包含抗体的单链可变片段(scFv)。

50. 如权利要求1至49中任一项所述的抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分是双特异性抗体、双特异性T细胞衔接体(BiTE)、多特异性抗体、双互补位抗体、免疫缀合物、抗体药物缀合物或它们的任何组合。

51. 一种双特异性抗体,所述双特异性抗体包含权利要求1至49中任一项所述的抗体或其抗原结合部分。

52. 一种BiTe,所述BiTe包含权利要求1至49中任一项所述的抗体或其抗原结合部分。

53. 一种多特异性抗体,所述多特异性抗体包含权利要求1至49中任一项所述的抗体或其抗原结合部分。

54. 一种双互补位抗体,所述双互补位抗体包含权利要求1至49中任一项所述的抗体或

其抗原结合部分。

55. 如权利要求51所述的双特异性抗体、如权利要求52所述的BiTe、如权利要求53所述的多特异性抗体或如权利要求54所述的双互补位抗体,所述双特异性抗体、所述BiTe、所述多特异性抗体或所述双互补位抗体包含第一VH结构域,所述第一VH结构域包含第一VH CDR1、第一VH CDR2和第一VH CDR3;第一VL结构域,所述第一VL结构域包含第一VL CDR1、第一VL CDR2和第一VL CDR3;第二VH结构域,所述第二VH结构域包含第二VH CDR1、第二VH CDR2和第二VH CDR3;以及第二VL结构域,所述第二VL结构域包含第二VL CDR1、第二VL CDR2和第二VL CDR3;其中

(a) 所述第一VH CDR1包含选自SEQ ID NO:45、105、115、135和145所示的氨基酸序列的氨基酸序列;

(b) 所述第一VH CDR2包含选自SEQ ID NO:46、106、116、136和146所示的氨基酸序列的氨基酸序列;并且

(c) 所述第一VH CDR3包含选自SEQ ID NO:47、107、117、137和147所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

56. 如权利要求51所述的双特异性抗体、如权利要求52所述的BiTe、如权利要求53所述的多特异性抗体或如权利要求55所述的双互补位抗体,其中:

(a) 所述第一VL CDR1包含选自SEQ ID NO:48、108、118、138和148所示的氨基酸序列的氨基酸序列;

(b) 所述第一VL CDR2包含选自SEQ ID NO:49、109、119、139和149所示的氨基酸序列的氨基酸序列;并且

(c) 所述第一VL CDR3包含选自SEQ ID NO:50、110、120、140和150所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

57. 如权利要求55或56所述的双互补位抗体,其中:

(a) 所述第二VH CDR1包含选自SEQ ID NO:5、15、25、35、55、65、75、85、95、125、155和165所示的氨基酸序列的氨基酸序列;

(b) 所述第二VH CDR2包含选自SEQ ID NO:6、16、26、36、56、66、76、86、96、126、156和166所示的氨基酸序列的氨基酸序列;并且

(c) 所述第二VH CDR3包含选自SEQ ID NO:7、17、27、37、57、67、77、87、97、127、157和167所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

58. 如权利要求55至57中任一项所述的双互补位抗体,其中:

(a) 所述第二VL CDR1包含选自SEQ ID NO:8、18、28、38、58、68、78、88、98、128、158和168所示的氨基酸序列的氨基酸序列;

(b) 所述第二VL CDR2包含选自SEQ ID NO:9、19、29、39、59、69、79、89、99、129、159和169所示的氨基酸序列的氨基酸序列;并且

(c) 所述第二VL CDR3包含选自SEQ ID NO:10、20、30、40、60、70、80、90、100、130、160和170所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

59. 一种免疫缀合物,所述免疫缀合物包含权利要求1至49中任一项所述的抗体或其抗原结合部分。

60. 如权利要求59所述的免疫缀合物,所述免疫缀合物是抗体-药物缀合物。

61. 一种嵌合抗原受体 (CAR), 所述嵌合抗原受体 (CAR) 包含权利要求1至49中任一项所述的抗体或其抗原结合部分。

62. 一种T细胞受体 (TCR), 所述T细胞受体 (TCR) 包含权利要求1至49中任一项所述的抗体或其抗原结合部分。

63. 一种核酸分子或核酸分子组, 所述核酸分子或核酸分子组编码权利要求1至50中任一项所述的抗体或其抗原结合部分、权利要求51所述的双特异性抗体、权利要求52所述的BiTE、权利要求53所述的多特异性抗体、权利要求54至58中任一项所述的双互补位抗体、权利要求59或60所述的免疫缀合物、权利要求61所述的CAR或权利要求62所述的TCR。

64. 一种载体或载体组, 所述载体或载体组包含权利要求63所述的核酸分子或核酸分子组。

65. 一种细胞, 所述细胞包含权利要求61所述的CAR、权利要求62所述的TCR、权利要求63所述的核酸分子或核酸分子组或权利要求64所述的载体或载体组。

66. 如权利要求65所述的细胞, 所述细胞是宿主细胞。

67. 如权利要求65或66所述的细胞, 所述细胞是免疫细胞。

68. 如权利要求65至67中任一项所述的细胞, 所述细胞是T细胞。

69. 一种药物组合物, 所述药物组合物包含权利要求1至50中任一项所述的抗体或其抗原结合部分、权利要求51所述的双特异性抗体、权利要求52所述的BiTE、权利要求53所述的多特异性抗体、权利要求54至58中任一项所述的双互补位抗体、权利要求59或60所述的免疫缀合物、权利要求61所述的CAR、权利要求62所述的TCR、权利要求63所述的核酸分子或核酸分子组、权利要求64所述的载体或载体组或权利要求65至68中任一项所述的细胞以及药学上可接受的载体。

70. 一种治疗有需要的受试者的肿瘤的方法, 所述方法包括向所述受试者施用权利要求1至50中任一项所述的抗体或其抗原结合部分、权利要求51所述的双特异性抗体、权利要求52所述的BiTE、权利要求53所述的多特异性抗体、权利要求54至58中任一项所述的双互补位抗体、权利要求59或60所述的免疫缀合物、权利要求61所述的CAR、权利要求62所述的TCR、权利要求63所述的核酸分子或核酸分子组、权利要求64所述的载体或载体组、权利要求65至68中任一项所述的细胞或权利要求69所述的药物组合物。

71. 一种减少、消耗或杀伤肿瘤浸润性调节性T (“ T_{reg} ”) 细胞的方法, 所述方法包括使Treg细胞与权利要求1至50中任一项所述的抗体或其抗原结合部分、权利要求1至50中任一项所述的双特异性抗体、权利要求51所述的双特异性抗体、权利要求52所述的BiTE、权利要求53所述的多特异性抗体、权利要求54至58中任一项所述的双互补位抗体、权利要求59或60所述的免疫缀合物、权利要求61所述的CAR、权利要求62所述的TCR、权利要求63所述的核酸分子或核酸分子组、权利要求64所述的载体或载体组、权利要求65至68中任一项所述的细胞或权利要求69所述的药物组合物接触。

72. 一种使NK细胞活化或诱导NK细胞介导的肿瘤浸润性调节性T (“ T_{reg} ”) 细胞杀伤的方法, 所述方法包括使 T_{reg} 细胞与权利要求1至50中任一项所述的抗体或其抗原结合部分、权利要求1至50中任一项所述的双特异性抗体、权利要求51所述的双特异性抗体、权利要求52所述的BiTE、权利要求53所述的多特异性抗体、权利要求54至58中任一项所述的双互补位抗体、权利要求59或60所述的免疫缀合物、权利要求61所述的CAR、权利要求62所述的TCR、

权利要求63所述的核酸分子或核酸分子组、权利要求64所述的载体或载体组、权利要求65至68中任一项所述的细胞或权利要求69所述的药物组合物接触。

73. 如权利要求71或72所述的方法,其中所述接触是在体外或离体的。

74. 如权利要求71或72所述的方法,其中所述接触是在体内的。

75. 如权利要求70至74中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合部分诱导NK细胞的活化。

76. 如权利要求70至75中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合部分诱导NK细胞表面上的4-1BB、ICAM-1或4-1BB和ICAM-1两者的上调。

77. 如权利要求70至76中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合部分诱导NK细胞表面上的CD16的下调。

78. 如权利要求70至77中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合部分诱导NK细胞介导的肿瘤浸润性T_{reg}细胞杀伤。

79. 如权利要求70至78中任一项所述的方法,其中相对于在不存在所述抗体或其抗原结合部分的情况下肿瘤浸润性T_{reg}细胞的数目,所述抗体或其抗原结合部分消耗肿瘤浸润性T_{reg}细胞的数目。

80. 如权利要求70至79中任一项所述的方法,其中相对于在不存在所述抗体或其抗原结合部分的情况下肿瘤浸润性T_{reg}细胞的数目,所述抗体或其抗原结合部分使肿瘤浸润性T_{reg}细胞的数目消耗至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%或至少约50%。

81. 如权利要求70至80中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合部分诱导肿瘤浸润性T_{reg}细胞对CCR8的内化。

82. 如权利要求70至81中任一项所述的方法,其中所述肿瘤选自以下组成的组:卡波西氏肉瘤、白血病、急性淋巴细胞白血病、急性髓细胞白血病、成髓细胞早幼粒细胞髓单核细胞红白血病、慢性白血病、慢性髓细胞(粒细胞)白血病、慢性淋巴细胞性白血病、套细胞淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、伯基特淋巴瘤和边缘区B细胞淋巴瘤、真性红细胞增多性淋巴瘤、霍奇金病、非霍奇金病、多发性骨髓瘤、沃尔登斯特伦巨球蛋白血症、重链疾病、实体瘤、肉瘤和癌、纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、成骨肉瘤、骨肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮肉瘤、滑膜瘤、间皮瘤、尤因氏瘤、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、结肠肉瘤、结直肠癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管癌、肾细胞癌、肝细胞癌(HCC)、肝细胞瘤、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎性癌、肾母细胞瘤、宫颈癌、子宫癌、睾丸肿瘤、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神经胶质瘤、星形细胞瘤、髓母细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、血管母细胞瘤、听神经瘤、少突神经胶质瘤、脑膜瘤、黑素瘤、神经母细胞瘤、视网膜母细胞瘤、鼻咽癌、食道癌、基底细胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脑和中枢神经系统(CNS)癌、宫颈癌、绒毛膜癌、结直肠癌、结缔组织癌、消化系统癌、子宫内膜癌、食道癌、眼癌、头颈癌、胃癌、上皮内肿瘤、肾癌、喉癌、肝癌、肺癌(小细胞、大细胞)、黑素瘤、神经母细胞瘤;口腔癌(例如唇、舌、口和咽)、卵巢癌、胰腺癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、直肠癌;呼吸系统癌症、肉瘤、皮肤癌、胃癌、睾丸癌、甲状腺癌、子宫癌和泌尿系统癌,或它们的任何组合。

83. 如权利要求70至82中任一项所述的方法,其中所述肿瘤是难治性的或复发性的。
84. 如权利要求70至83中任一项所述的方法,其中所述肿瘤是晚期的、局部晚期的或转移性的。
85. 如权利要求70至84中任一项所述的方法,所述方法还包括施用另外的抗癌剂。
86. 如权利要求85所述的方法,其中所述另外的抗癌剂选自小分子、多肽、放射疗法、手术以及它们的组合。
87. 如权利要求85或86所述的方法,其中所述另外的抗癌剂包含化学疗法。
88. 如权利要求87所述的方法,其中所述化学疗法包含基于铂的化学疗法。
89. 如权利要求85至88中任一项所述的方法,其中所述另外的抗癌剂包含PD-1拮抗剂、PD-L1抑制剂、TIM-3抑制剂、LAG-3抑制剂、TIGIT抑制剂、CD112R抑制剂、TAM抑制剂、STING激动剂、4-1BB激动剂、CCL22抑制剂、诱导NK细胞活化的剂或它们的组合。
90. 如权利要求85至89中任一项所述的方法,其中所述另外的抗癌剂包含PD-1拮抗剂。
91. 如权利要求90所述的方法,其中所述PD-1拮抗剂选自由以下组成的组:PDR001、纳武单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗、MEDI0680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591和AMP-224。
92. 如权利要求85至91中任一项所述的方法,其中所述另外的抗癌剂包含PD-L1抑制剂。
93. 如权利要求92所述的方法,其中所述PD-L1抑制剂选自由以下组成的组:FAZ053、阿特殊单抗、阿维鲁单抗、德瓦鲁单抗和BMS-936559。
94. 如权利要求85至93中任一项所述的方法,其中所述另外的抗癌剂包含选自由以下组成的组的抗癌剂:舒尼替尼(SUTENT[®])、卡博替尼(CABOMETYX[®])、阿西替尼(INLYTA[®])、乐伐替尼(LENVIMA[®])、依维莫司(AFINITOR[®])、贝伐单抗(AVASTIN[®])、依多司他、NKTR-214 (CD-122偏向性激动剂)、替伏扎尼(FOTIVDA[®])、艾贝司他、伊匹单抗(YERVOY[®])、曲美木单抗、帕唑帕尼(VOTRIENT[®])、索拉非尼(NEXAVAR[®])、西罗莫司(TORISEL[®])、雷莫芦单抗(CYRAMZA[®])、尼拉帕尼、沃利替尼、沃洛拉尼(X-82)、瑞格非尼(STIVARGO[®])、多纳非尼(多激酶抑制剂)、卡瑞利珠单抗(SHR-1210)、迪-培萨替莫近(JX-594)、雷莫芦单抗(CYRAMZA[®])、阿帕替尼(YN968D1)、包封的阿霉素(THERMODOX[®])、替万替尼(ARQ197)、ADI-PEG 20、比美替尼、甲磺酸阿帕替尼、尼达尼布、利瑞鲁单抗、纳武单抗(OPDIVO[®])、派姆单抗(KEYTRUDA[®])、阿特殊单抗(TECENTRIQ[®])、阿维单抗(BAVENCIO[®])、德瓦鲁单抗(IMFIMZI[®])、西米普利单抗-rwlc(LIBTAYO[®])、替雷利珠单抗、斯巴达珠单抗以及它们的任何组合。
95. 如权利要求85至94中任一项所述的方法,其中所述另外的抗癌剂包含TIM-3抑制剂。
96. 如权利要求95所述的方法,其中所述TIM-3抑制剂是MGB453或TSR-022。
97. 如权利要求85至96中任一项所述的方法,其中所述另外的抗癌剂包含LAG-3抑制剂。

98. 如权利要求97所述的方法,其中所述LAG-3抑制剂选自由以下组成的组:LAG525、BMS-986016和TSR-033。

99. 如权利要求85至98中任一项所述的方法,其中所述另外的抗癌剂包含TIGIT抑制剂。

100. 如权利要求85至99中任一项所述的方法,其中所述另外的抗癌剂包含CD112R抑制剂。

101. 如权利要求85至100中任一项所述的方法,其中所述另外的抗癌剂包含TAM (Ax1、Mer、Tyro) 抑制剂。

102. 如权利要求85至101中任一项所述的方法,其中所述另外的抗癌剂包含4-1BB激动剂。

103. 如权利要求85至102中任一项所述的方法,其中所述另外的抗癌剂包含酪氨酸激酶抑制剂(TKI)。

104. 如权利要求85至103中任一项所述的方法,其中所述另外的抗癌剂包含CCL2抑制剂。

105. 如权利要求85至104中任一项所述的方法,其中所述另外的抗癌剂包含诱导NK细胞活化的剂。

106. 如权利要求85至105中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合部分在所述另外的抗癌剂之前施用。

107. 如权利要求85至105中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合部分在所述另外的抗癌剂之后施用。

108. 如权利要求85至105中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合部分与所述另外的抗癌剂共同施用。

109. 一种制备抗体或其抗原结合部分的方法,所述方法包括在合适的条件下培养权利要求65至68中任一项所述的细胞。

110. 如权利要求109所述的方法,所述方法还包括分离所述抗体或其抗原结合部分。

111. 权利要求1至50中任一项所述的抗体或其抗原结合部分、权利要求1至50中任一项所述的双特异性抗体、权利要求51所述的双特异性抗体、权利要求52所述的BiTE、权利要求53所述的多特异性抗体、权利要求54至58中任一项所述的双互补位抗体、权利要求59或60所述的免疫缀合物、权利要求61所述的CAR、权利要求62所述的TCR、权利要求63所述的核酸分子或核酸分子组、权利要求64所述的载体或载体组、权利要求65至68中任一项所述的细胞或权利要求69所述的药物组合物用于制造治疗有需要的受试者的肿瘤的药剂的用途。

112. 权利要求1至50中任一项所述的抗体或其抗原结合部分、权利要求1至50中任一项所述的双特异性抗体、权利要求51所述的双特异性抗体、权利要求52所述的BiTE、权利要求53所述的多特异性抗体、权利要求54至58中任一项所述的双互补位抗体、权利要求59或60所述的免疫缀合物、权利要求61所述的CAR、权利要求62所述的TCR、权利要求63所述的核酸分子或核酸分子组、权利要求64所述的载体或载体组、权利要求65至68中任一项所述的细胞或权利要求69所述的药物组合物用于制造减少、消耗或杀伤有需要的受试者中的肿瘤浸润性T_{reg}细胞的药剂的用途。

113. 权利要求1至50中任一项所述的抗体或其抗原结合部分、权利要求1至50中任一项

所述的双特异性抗体、权利要求51所述的双特异性抗体、权利要求52所述的BiTE、权利要求53所述的多特异性抗体、权利要求54至58中任一项所述的双互补位抗体、权利要求59或60所述的免疫缀合物、权利要求61所述的CAR、权利要求62所述的TCR、权利要求63所述的核酸分子或核酸分子组、权利要求64所述的载体或载体组、权利要求65至68中任一项所述的细胞或权利要求69所述的药物组合物用于制造使有需要的受试者中的NK细胞活化或诱导NK细胞介导的肿瘤浸润性T_{reg}细胞杀伤的药剂的用途。

114. 如权利要求1至50中任一项所述的抗体或其抗原结合部分、如权利要求1至50中任一项所述的双特异性抗体、如权利要求51所述的双特异性抗体、如权利要求52所述的BiTE、如权利要求53所述的多特异性抗体、如权利要求54至58中任一项所述的双互补位抗体、如权利要求59或60所述的免疫缀合物、如权利要求61所述的CAR、如权利要求62所述的TCR、如权利要求63所述的核酸分子或核酸分子组、如权利要求64所述的载体或载体组、如权利要求65至68中任一项所述的细胞或如权利要求69所述的药物组合物,所述抗体或其抗原结合部分、所述双特异性抗体、所述双特异性抗体、所述BiTE、所述多特异性抗体、所述双互补位抗体、所述免疫缀合物、所述CAR、所述TCR、所述核酸分子或核酸分子组、所述载体或载体组、所述细胞或所述药物组合物用于治疗有需要的受试者的肿瘤的方法中。

115. 如权利要求1至50中任一项所述的抗体或其抗原结合部分、如权利要求1至50中任一项所述的双特异性抗体、如权利要求51所述的双特异性抗体、如权利要求52所述的BiTE、如权利要求53所述的多特异性抗体、如权利要求54至58中任一项所述的双互补位抗体、如权利要求59或60所述的免疫缀合物、如权利要求61所述的CAR、如权利要求62所述的TCR、如权利要求63所述的核酸分子或核酸分子组、如权利要求64所述的载体或载体组、如权利要求65至68中任一项所述的细胞或如权利要求69所述的药物组合物,所述抗体或其抗原结合部分、所述双特异性抗体、所述双特异性抗体、所述BiTE、所述多特异性抗体、所述双互补位抗体、所述免疫缀合物、所述CAR、所述TCR、所述核酸分子或核酸分子组、所述载体或载体组、所述细胞或所述药物组合物用于减少、消耗或杀伤有需要的受试者中的肿瘤浸润性T_{reg}细胞的方法中。

116. 如权利要求1至50中任一项所述的抗体或其抗原结合部分、如权利要求1至50中任一项所述的双特异性抗体、如权利要求51所述的双特异性抗体、如权利要求52所述的BiTE、如权利要求53所述的多特异性抗体、如权利要求54至58中任一项所述的双互补位抗体、如权利要求59或60所述的免疫缀合物、如权利要求61所述的CAR、如权利要求62所述的TCR、如权利要求63所述的核酸分子或核酸分子组、如权利要求64所述的载体或载体组、如权利要求65至68中任一项所述的细胞或如权利要求69所述的药物组合物,所述抗体或其抗原结合部分、所述双特异性抗体、所述双特异性抗体、所述BiTE、所述多特异性抗体、所述双互补位抗体、所述免疫缀合物、所述CAR、所述TCR、所述核酸分子或核酸分子组、所述载体或载体组、所述细胞或所述药物组合物用于使有需要的受试者中的NK细胞活化或诱导NK细胞介导的肿瘤浸润性T_{reg}细胞杀伤的方法中。

117. 如权利要求1至50中任一项所述的抗体或其抗原结合部分、如权利要求51所述的双特异性抗体、如权利要求52所述的BiTE、如权利要求53所述的多特异性抗体、如权利要求54至58中任一项所述的双互补位抗体、如权利要求59或60所述的免疫缀合物、如权利要求61所述的CAR或如权利要求62所述的TCR,其中所述抗体或其抗原结合部分是无岩藻糖基化

的。

118. 如权利要求70至110中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合部分是无岩藻糖基化的。

抗CCR8抗体及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本PCT申请要求2020年1月6日提交的美国临时申请第62/957,758号、2020年3月4日提交的美国临时申请第62/985,152号和2020年11月13日提交的美国临时申请第63/198,803号的优先权权益,所述临时申请各自以引用方式整体并入本文。

[0003] 序列表的引用

[0004] 以电子方式与本申请一起提交的序列表(名称:4416_010PC03_Seqlisting_ST25;大小:91,567字节;创建日期:2021年1月4日)的内容以引用方式整体并入本文。

发明领域

[0005] 本公开提供了特异性地结合人CCR8的抗体及其抗原结合部分。

[0006] 发明背景

[0007] 免疫疗法是一种快速发展且极具前景的针对各种癌症形式的治疗,最近已取得许多成功。然而,一些患者对当前的免疫疗法反应有限或无反应,而其他患者在初始反应后展现复发。

[0008] 人免疫系统包括制约与平衡(checks and balances),用以阻止过度活跃的免疫系统损害身体。调节性T细胞("Treg")通过抑制免疫响应在维持功能性免疫系统中起至关重要的作用。然而,Treg、尤其是肿瘤浸润性Treg抑制免疫响应的能力可阻断对肿瘤的天然免疫响应。

[0009] 在某种程度上,由于免疫细胞的重要作用,很难产生特异性地靶向Treg、更具体地说靶向肿瘤浸润性Treg的疗法。因此,仍然需要能够特异性地靶向肿瘤微环境中的Treg并抑制Treg的活性的疗法。

发明内容

[0010] 本公开的某些方面涉及抗体或其抗原结合部分,所述抗体或其抗原结合部分特异性地结合至人CCR8的N末端细胞外结构域内的一个或多个氨基酸。在一些方面,所述抗体能够:(a)增强对肿瘤的免疫响应;(b)减少、消耗或杀伤肿瘤浸润性调节性T("Treg")细胞;(c)诱导CCR8在肿瘤浸润性调节性T("Treg")细胞中的内化;(d)使NK细胞活化;(e)诱导NK细胞介导的肿瘤浸润性调节性T("Treg")细胞杀伤;(f)结合至食蟹猴("cyno")CCR8;(g)如通过BIACORE™所测量以10nM或更小的K_D结合至人CCR8;或(h)它们的任何组合。

[0011] 在一些方面,人CCR8的所述N末端细胞外结构域包含SEQ ID NO:172所示的氨基酸序列。在一些方面,所述抗体结合至SEQ ID NO:172所示的至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个或至少十个氨基酸。在一些方面,所述抗体结合至SEQ ID NO:172所示的至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个或至少十个连续氨基酸。在一些方面,所述抗体结合至选自SEQ ID NO:180-200的氨基酸序列。

[0012] 在一些方面,所述抗体还结合cyno CCR8。

[0013] 在一些方面,所述抗体如通过BIACORE™所测量以10nM或更小的 K_D 结合人CCR8。在一些方面,所述抗体如通过BIACORE™所测量以1nM或更小的 K_D 结合人CCR8。

[0014] 在一些方面,所述抗体在施用抗CCR8抗体后诱导受试者中的抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。在一些方面,在施用所述抗体或其抗原结合部分后,ADCC包含1 μ g/mL或更小的EC50。在一些方面,在施用所述抗体或其抗原结合部分后,ADCC包含0.1 μ g/mL或更小的EC50。

[0015] 在一些方面,所述抗体能够诱导NK细胞的活化。在一些方面,所述抗体能够诱导NK细胞表面上的4-1BB、ICAM-1或4-1BB和ICAM-1两者的上调。在一些方面,所述抗体能够诱导所述受试者中NK细胞表面上的CD16的下调。

[0016] 在一些方面,所述抗体能够诱导所述受试者中NK细胞介导的肿瘤浸润性 T_{reg} 细胞杀伤。在一些方面,相对于施用前肿瘤浸润性 T_{reg} 细胞的数目,在施用所述抗体或其抗原结合部分后,所述抗体诱导受试者中肿瘤浸润性 T_{reg} 细胞数目的消耗。在一些方面,相对于所述施用前肿瘤浸润性 T_{reg} 细胞的数目,肿瘤浸润性 T_{reg} 细胞的数目消耗至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%或至少约50%。在一些方面,所述抗体诱导肿瘤浸润性 T_{reg} 细胞对CCR8的内化。

[0017] 在一些方面,所述抗体包含可变重(VH)链,所述可变重(VH)链包含VH互补决定区(CDR)1、VH CDR2和VH CDR3;其中所述VH CDR3包含选自SEQ ID NO:7、17、27、37、47、57、67、77、87、97、107、117、127、137、147、157和167所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0018] 在一些方面,所述VH CDR2包含选自SEQ ID NO:6、16、26、36、46、56、66、76、86、96、106、116、126、136、146、156和166所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0019] 在一些方面,所述VH CDR1包含选自SEQ ID NO:5、15、25、35、45、55、65、75、85、95、105、115、125、135、145、155和165所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0020] 在一些方面,VL CDR3包含选自SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160和170所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0021] 在一些方面,VL CDR2包含选自SEQ ID NO:9、19、29、39、49、59、69、79、89、99、109、119、129、139、149、159和169所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0022] 在一些方面,VL CDR1包含选自SEQ ID NO:8、18、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、148、158和168所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0023] 在一些方面,所述抗体不结合cyno CCR8。

[0024] 在一些方面,所述抗体包含可变重(VH)链,所述可变重(VH)链包含VH互补决定区(CDR)1、VH CDR2和VH CDR3;其中所述VH CDR3包含选自SEQ ID NO:47、107、117、137和147所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0025] 在一些方面,所述VH CDR2包含选自SEQ ID NO:46、106、116、136和146所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0026] 在一些方面,所述VH CDR1包含选自SEQ ID NO:45、105、115、135和145所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0027] 在一些方面,所述VL CDR3包含选自SEQ ID NO:50、110、120、140和150所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0028] 在一些方面,所述VL CDR2包含选自SEQ ID NO:49、109、119、139和149所示的氨基

酸序列的氨基酸序列。

[0029] 在一些方面,所述VL CDR1包含选自SEQ ID NO:48、108、118、138和148所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0030] 在一些方面,所述抗体包含:(a)包含SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:46所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:47所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:48所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列的VL CDR3;(b)包含SEQ ID NO:105所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:107所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:108所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:109所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:110所示的氨基酸序列的VL CDR3;(c)包含SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:118所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:119所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:120所示的氨基酸序列的VL CDR3;(d)包含SEQ ID NO:135所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:136所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:137所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:138所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:139所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:140所示的氨基酸序列的VL CDR3;或(e)包含SEQ ID NO:145所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:146所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:147所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:148所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:149所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列的VL CDR3。

[0031] 在一些方面,所述VH链包含选自SEQ ID NO:41、101、111、131和141所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,所述VL链包含选自SEQ ID NO:42、102、112、132和142所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0032] 在一些方面,所述抗体包含:(a)包含SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:42所示的氨基酸序列的VL链;(b)包含SEQ ID NO:101所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:102所示的氨基酸序列的VL链;(c)包含SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列的VL链;(d)包含SEQ ID NO:131所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:132所示的氨基酸序列的VL链;或(e)包含SEQ ID NO:141所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:142所示的氨基酸序列的VL链。

[0033] 在一些方面,所述抗体结合人CCR8和cyno CCR8。

[0034] 在一些方面,所述抗体包含可变重(VH)链,所述可变重(VH)链包含VH互补决定区(CDR)1、VH CDR2和VH CDR3;其中所述VH CDR3包含选自SEQ ID NO:7、17、27、37、57、67、77、87、97、127、157和167所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0035] 在一些方面,所述VH CDR2包含选自SEQ ID NO:6、16、26、36、56、66、76、86、96、126、156和166所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0036] 在一些方面,所述VH CDR1包含选自SEQ ID NO:5、15、25、35、55、65、75、85、95、125、155和165所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0037] 在一些方面,所述VL CDR3包含选自SEQ ID NO:10、20、30、40、60、70、80、90、100、

130、160和170所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0038] 在一些方面,所述VL CDR2包含选自SEQ ID NO:9、19、29、39、59、69、79、89、99、129、159和169所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0039] 在一些方面,所述VL CDR1包含选自SEQ ID NO:8、18、28、38、58、68、78、88、98、128、158和168所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0040] 在一些方面,所述抗体包含:(a)包含SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的VL CDR3;(b)包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:19所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:20所示的氨基酸序列的VL CDR3;(c)包含SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:28所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列的VL CDR3;(d)包含SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列的VL CDR3;(e)包含SEQ ID NO:55所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:56所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:58所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL CDR3;(f)包含SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:66所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:67所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:70所示的氨基酸序列的VL CDR3;(g)包含SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:77所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:78所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:79所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:80所示的氨基酸序列的VL CDR3;(h)包含SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:88所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:89所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:90所示的氨基酸序列的VL CDR3;(i)包含SEQ ID NO:95所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:96所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:97所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:98所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:99所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:100所示的氨基酸序列的VL CDR3;(j)包含SEQ ID NO:125所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:126所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:127所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:128所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:129所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:130所示的氨基酸序列的VL CDR3;(k)

包含SEQ ID NO:155所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:156所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:157所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:158所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:159所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:160所示的氨基酸序列的VL CDR3；或(1)包含SEQ ID NO:165所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:166所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:167所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:168所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:169所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:170所示的氨基酸序列的VL CDR3。

[0041] 在一些方面,所述VH链包含选自SEQ ID NO:1、11、21、31、51、61、71、81、91、121、151和161所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,VL链包含选自SEQ ID NO:2、12、22、32、52、62、72、82、92、122、152和162所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0042] 在一些方面,所述抗体包含:(a)包含SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列的VL链;(b)包含SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL链;(c)包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列的VL链;(d)包含SEQ ID NO:31所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:32所示的氨基酸序列的VL链;(e)包含SEQ ID NO:51所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列的VL链;(f)包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的VL链;(g)包含SEQ ID NO:71所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列的VL链;(h)包含SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列的VL链;(i)包含SEQ ID NO:91所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列的VL链;(j)包含SEQ ID NO:121所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:122所示的氨基酸序列的VL链;(k)包含SEQ ID NO:151所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列的VL链;或(1)包含SEQ ID NO:161所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:162所示的氨基酸序列的VL链。

[0043] 在一些方面,所述抗体是人抗体、人源化抗体或嵌合抗体。在一些方面,所述抗体包含抗体的单链可变片段(scFv)。

[0044] 在一些方面,所述抗体或其抗原结合部分是无岩藻糖基化的。

[0045] 在一些方面,所述抗体是双特异性抗体、双特异性T细胞衔接体(BiTe)、多特异性抗体、双互补位抗体、免疫缀合物、抗体药物缀合物或它们的任何组合。

[0046] 本公开的某些方面涉及包含本文所公开的抗体或其抗原结合部分的双特异性抗体。

[0047] 本公开的某些方面涉及包含本文所公开的抗体或其抗原结合部分的BiTe。

[0048] 本公开的某些方面涉及包含本文所公开的抗体或其抗原结合部分的多特异性抗体。

[0049] 本公开的某些方面涉及包含本文所公开的抗体或其抗原结合部分的双互补位抗体。

[0050] 在一些方面,双特异性抗体、BiTe、多特异性抗体或双互补位抗体包含第一VH结构域,所述第一VH结构域包含第一VH CDR1、第一VH CDR2和第一VH CDR3;第一VL结构域,所述第一VL结构域包含第一VL CDR1、第一VL CDR2和第一VL CDR3;第二VH结构域,所述第二VH

结构域包含第二VH CDR1、第二VH CDR2和第二VH CDR3；和第二VL结构域，所述第二VL结构域包含第二VL CDR1、第二VL CDR2和第二VL CDR3；其中 (a) 所述第一VH CDR1包含选自SEQ ID NO:45、105、115、135和145所示的氨基酸序列的氨基酸序列；(b) 所述第一VH CDR2包含选自SEQ ID NO:46、106、116、136和146所示的氨基酸序列的氨基酸序列；并且 (c) 所述第一VH CDR3包含选自SEQ ID NO:47、107、117、137和147所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0051] 在一些方面，(a) 所述第一VL CDR1包含选自SEQ ID NO:48、108、118、138和148所示的氨基酸序列的氨基酸序列；(b) 所述第一VL CDR2包含选自SEQ ID NO:49、109、119、139和149所示的氨基酸序列的氨基酸序列；并且 (c) 所述第一VL CDR3包含选自SEQ ID NO:50、110、120、140和150所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面，(a) 所述第二VH CDR1包含选自SEQ ID NO:5、15、25、35、55、65、75、85、95、125、155和165所示的氨基酸序列的氨基酸序列；(b) 所述第二VH CDR2包含选自SEQ ID NO:6、16、26、36、56、66、76、86、96、126、156和166所示的氨基酸序列的氨基酸序列；并且 (c) 所述第二VH CDR3包含选自SEQ ID NO:7、17、27、37、57、67、77、87、97、127、157和167所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面，(a) 所述第二VL CDR1包含选自SEQ ID NO:8、18、28、38、58、68、78、88、98、128、158和168所示的氨基酸序列的氨基酸序列；(b) 所述第二VL CDR2包含选自SEQ ID NO:9、19、29、39、59、69、79、89、99、129、159和169所示的氨基酸序列的氨基酸序列；并且 (c) 所述第二VL CDR3包含选自SEQ ID NO:10、20、30、40、60、70、80、90、100、130、160和170所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0052] 本公开的某些方面涉及包含本文所公开的抗体或其抗原结合部分的免疫缀合物。在一些方面，所述免疫缀合物是抗体-药物缀合物。

[0053] 本公开的某些方面涉及包含本文所公开的抗体或其抗原结合部分的嵌合抗原受体 (CAR)。

[0054] 本公开的某些方面涉及包含本文所公开的抗体或其抗原结合部分的T细胞受体 (TCR)。

[0055] 本公开的某些方面涉及核酸分子或核酸分子组，所述核酸分子或核酸分子组编码本文所公开的抗体或其抗原结合部分、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的BiTE、本文所公开的多特异性抗体、本文所公开的双互补位抗体、本文所公开的免疫缀合物、本文所公开的CAR或本文所公开的TCR。

[0056] 本公开的某些方面涉及载体或载体组，所述载体或载体组包含本文所公开的核酸分子或核酸分子组。

[0057] 本公开的某些方面涉及细胞，所述细胞包含本文所公开的CAR、本文所公开的TCR、本文所公开的核酸分子或核酸分子组或本文所公开的载体或载体组。在一些方面，所述细胞是宿主细胞。在一些方面，所述细胞是免疫细胞。在一些方面，所述细胞是T细胞。

[0058] 本公开的某些方面涉及药物组合物，所述药物组合物包含本文所公开的抗体或其抗原结合部分、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的BiTE、本文所公开的多特异性抗体、本文所公开的双互补位抗体、本文所公开的免疫缀合物、本文所公开的CAR、本文所公开的TCR、本文所公开的核酸分子或核酸分子组、本文所公开的载体或载体组或本文所公开的细胞以及药学上可接受的载体。

[0059] 本公开的某些方面涉及治疗有需要的受试者的肿瘤的方法，所述方法包括向所述

受试者施用本文所公开的抗体或其抗原结合部分、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的BiTE、本文所公开的多特异性抗体、本文所公开的双互补位抗体、本文所公开的免疫缀合物、本文所公开的CAR、本文所公开的TCR、本文所公开的核酸分子或核酸分子组、本文所公开的载体或载体组、本文所公开的细胞或本文所公开的药物组合物。

[0060] 本公开的某些方面涉及减少、消耗或杀伤肿瘤浸润性调节性T (“T_{reg}”) 细胞的方法,所述方法包括使Treg细胞与本文所公开的抗体或其抗原结合部分、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的BiTE、本文所公开的多特异性抗体、本文所公开的双互补位抗体、本文所公开的免疫缀合物、本文所公开的CAR、本文所公开的TCR、本文所公开的核酸分子或核酸分子组、本文所公开的载体或载体组、本文所公开的细胞或本文所公开的药物组合物接触。

[0061] 本公开的某些方面涉及使NK细胞活化或诱导NK细胞介导的肿瘤浸润性调节性T (“T_{reg}”) 细胞杀伤的方法,所述方法包括使T_{reg}细胞与本文所公开的抗体或其抗原结合部分、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的BiTE、本文所公开的多特异性抗体、本文所公开的双互补位抗体、本文所公开的免疫缀合物、本文所公开的CAR、本文所公开的TCR、本文所公开的核酸分子或核酸分子组、本文所公开的载体或载体组、本文所公开的细胞或本文所公开的药物组合物接触。

[0062] 在一些方面,所述接触是在体外或离体的。在一些方面,所述接触是在体内的。

[0063] 在一些方面,所述抗体或其抗原结合部分诱导NK细胞的活化。在一些方面,所述抗体或其抗原结合部分诱导NK细胞表面上的4-1BB、ICAM-1或4-1BB和ICAM-1两者的上调。

[0064] 在一些方面,所述抗体或其抗原结合部分诱导NK细胞表面上的CD16的下调。在一些方面,所述抗体或其抗原结合部分诱导NK细胞介导的肿瘤浸润性T_{reg}细胞杀伤。在一些方面,相对于在不存在所述抗体或其抗原结合部分的情况下肿瘤浸润性T_{reg}细胞的数目,所述抗体或其抗原结合部分消耗肿瘤浸润性T_{reg}细胞的数目。在一些方面,相对于在不存在所述抗体或其抗原结合部分的情况下肿瘤浸润性T_{reg}细胞的数目,所述抗体或其抗原结合部分使肿瘤浸润性T_{reg}细胞的数目消耗至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%或至少约50%。在一些方面,所述抗体或其抗原结合部分诱导肿瘤浸润性T_{reg}细胞对CCR8的内化。

[0065] 在一些方面,所述肿瘤选自由以下组成的组:卡波西氏肉瘤、白血病、急性淋巴细胞白血病、急性髓细胞白血病、成髓细胞早幼粒细胞髓单核细胞红白血病 (myeloblasts promyelocyte myelomonocytic monocytic erythroleukemia)、慢性白血病、慢性髓细胞性(粒细胞)白血病、慢性淋巴细胞性白血病、套细胞淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、伯基特淋巴瘤和边缘区B细胞淋巴瘤、真性红细胞增多性淋巴瘤、霍奇金病、非霍奇金病、多发性骨髓瘤、沃尔登斯特伦巨球蛋白血症、重链疾病、实体瘤、肉瘤和癌、纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、成骨肉瘤、骨肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮肉瘤、滑膜瘤、间皮瘤、尤因氏瘤、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、结肠肉瘤、结直肠癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管癌、肾细胞癌、肝细胞癌(HCC)、肝细胞瘤、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎性癌、肾母细胞瘤、宫颈癌、子宫癌、睾丸肿瘤、肺癌、小细胞肺

癌、非小细胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神经胶质瘤、星形细胞瘤、髓母细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、血管母细胞瘤、听神经瘤、少突神经胶质瘤、脑膜瘤、黑素瘤、神经母细胞瘤、视网膜母细胞瘤、鼻咽癌、食道癌、基底细胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脑和中枢神经系统(CNS)癌、宫颈癌、绒毛膜癌、结直肠癌、结缔组织癌、消化系统癌、子宫内膜癌、食道癌、眼癌、头颈癌、胃癌、上皮内肿瘤、肾癌、喉癌、肝癌、肺癌(小细胞、大细胞)、黑素瘤、神经母细胞瘤;口腔癌(例如唇、舌、口和咽)、卵巢癌、胰腺癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、直肠癌;呼吸系统癌症、肉瘤、皮肤癌、胃癌、睾丸癌、甲状腺癌、子宫癌和泌尿系统癌,或它们的任何组合。在一些方面,所述肿瘤是难治性的或复发性的。在一些方面,所述肿瘤是晚期的、局部晚期的或转移性的。

[0066] 在一些方面,所述方法还包括施用另外的抗癌剂。在一些方面,所述另外的抗癌剂选自小分子、多肽、放射疗法、手术以及它们的组合。在一些方面,所述另外的抗癌剂包含化学疗法。在一些方面,所述化学疗法包含基于铂的化学疗法。在一些方面,所述另外的抗癌剂包含PD-1拮抗剂、PD-L1抑制剂、TIM-3抑制剂、LAG-3抑制剂、TIGIT抑制剂、CD112R抑制剂、TAM抑制剂、STING激动剂、4-1BB激动剂、CCL22抑制剂、诱导NK细胞活化的剂或它们的组合。在一些方面,所述另外的抗癌剂包含PD-1拮抗剂。在一些方面,所述PD-1拮抗剂选自自由以下组成的组:PDR001、纳武单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗、MEDI0680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591和AMP-224。在一些方面,所述另外的抗癌剂包含PD-L1抑制剂。在一些方面,所述PD-L1抑制剂选自自由以下组成的组:FAZ053、阿特殊单抗、阿维鲁单抗、德瓦鲁单抗和BMS-936559。在一些方面,所述另外的抗癌剂包含选自自由以下组成的组的抗癌剂:舒尼替尼(SUTENT[®])、卡博替尼(CABOMETYX[®])、阿西替尼(INLYTA[®])、乐伐替尼(LENVIMA[®])、依维莫司(AFINITOR[®])、贝伐单抗(AVASTIN[®])、依多司他、NKTR-214(CD-122偏向性激动剂)、替伏扎尼(FOTIVDA[®])、艾贝司他、伊匹单抗(YERVOY[®])、曲美木单抗、帕唑帕尼(VOTRIENT[®])、索拉非尼(NEXAVAR[®])、西罗莫司(TORISEL[®])、雷莫芦单抗(CYRAMZA[®])、尼拉帕尼、沃利替尼、沃洛拉尼(X-82)、瑞格非尼(STIVARGO[®])、多纳非尼(多激酶抑制剂)、卡瑞利珠单抗(SHR-1210)、迪-培萨替莫近(JX-594)、雷莫芦单抗(CYRAMZA[®])、阿帕替尼(YN968D1)、包封的阿霉素(THERMODOX[®])、替万替尼(ARQ197)、ADI-PEG 20、比美替尼、甲磺酸阿帕替尼、尼达尼布、利瑞鲁单抗、纳武单抗(OPDIVO[®])、派姆单抗(KEYTRUDA[®])、阿特殊单抗(TECENTRIQ[®])、阿维单抗(BAVENCIO[®])、德瓦鲁单抗(IMFIMZI[®])、西米普利单抗-rw1c(LIBTAYO[®])、替雷利珠单抗、斯巴达珠单抗以及它们的任何组合。在一些方面,所述另外的抗癌剂包含TIM-3抑制剂。在一些方面,所述TIM-3抑制剂是MGB453或TSR-022。在一些方面,所述另外的抗癌剂包含LAG-3抑制剂。在一些方面,所述LAG-3抑制剂选自自由以下组成的组:LAG525、BMS-986016和TSR-033。在一些方面,所述另外的抗癌剂包含TIGIT抑制剂。在一些方面,所述另外的抗癌剂包含CD112R抑制剂。在一些方面,所述另外的抗癌剂包含TAM(Ax1、Mer、Tyro)抑制剂。在一些方面,所述另外的抗癌剂包含4-1BB激动剂。在一些方面,所述另外的抗癌剂包含酪氨酸激酶抑制剂(TKI)。在一

些方面,所述另外的抗癌剂包含诱导NK细胞活化并且因此增强ADCC活性的剂。在一些方面,所述另外的抗癌剂包含CCL2抑制剂。在一些方面,所述另外的抗癌剂包含诱导NK细胞活化的剂。

[0067] 在一些方面,所述抗体或其抗原结合部分在所述另外的抗癌剂之前施用。在一些方面,所述抗体或其抗原结合部分在所述另外的抗癌剂之后施用。在一些方面,所述抗体或其抗原结合部分与所述另外的抗癌剂共同施用。

[0068] 本公开的某些方面涉及制备抗体或其抗原结合部分的方法,所述方法包括在合适的条件下培养本文所公开的细胞。在一些方面,所述方法还包括分离所述抗体或其抗原结合部分。

[0069] 在一些方面,所述抗体或其抗原结合部分是无岩藻糖基化的。

[0070] 本公开的某些方面涉及本文所公开的抗体或其抗原结合部分、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的BiTE、本文所公开的多特异性抗体、本文所公开的双互补位抗体、本文所公开的免疫缀合物、本文所公开的CAR、本文所公开的TCR、本文所公开的核酸分子或核酸分子组、本文所公开的载体或载体组、本文所公开的细胞或本文所公开的药物组合物用于制造治疗有需要的受试者的肿瘤的药剂的用途。

[0071] 本公开的某些方面涉及本文所公开的抗体或其抗原结合部分、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的BiTE、本文所公开的多特异性抗体、本文所公开的双互补位抗体、本文所公开的免疫缀合物、本文所公开的CAR、本文所公开的TCR、本文所公开的核酸分子或核酸分子组、本文所公开的载体或载体组、本文所公开的细胞或本文所公开的药物组合物用于制造减少、消耗或杀伤有需要的受试者中的肿瘤浸润性 T_{reg} 细胞的药剂的用途。

[0072] 本公开的某些方面涉及本文所公开的抗体或其抗原结合部分、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的BiTE、本文所公开的多特异性抗体、本文所公开的双互补位抗体、本文所公开的免疫缀合物、本文所公开的CAR、本文所公开的TCR、本文所公开的核酸分子或核酸分子组、本文所公开的载体或载体组、本文所公开的细胞或本文所公开的药物组合物用于制造使有需要的受试者中的NK细胞活化或诱导NK细胞介导的肿瘤浸润性 T_{reg} 细胞杀伤的药剂的用途。

[0073] 本公开的某些方面涉及本文所公开的抗体或其抗原结合部分、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的BiTE、本文所公开的多特异性抗体、本文所公开的双互补位抗体、本文所公开的免疫缀合物、本文所公开的CAR、本文所公开的TCR、本文所公开的核酸分子或核酸分子组、本文所公开的载体或载体组、本文所公开的细胞或本文所公开的药物组合物,所述抗体或其抗原结合部分、所述双特异性抗体、所述双特异性抗体、所述BiTE、所述多特异性抗体、所述双互补位抗体、所述免疫缀合物、所述CAR、所述TCR、所述核酸分子或核酸分子组、所述载体或载体组、所述细胞或所述药物组合物用于治疗有需要的受试者的肿瘤的方法中。

[0074] 本公开的某些方面涉及本文所公开的抗体或其抗原结合部分、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的BiTE、本文所公开的多特异性抗体、本文所公开的双互补位抗体、本文所公开的免疫缀合物、本文所公开的CAR、本文所公开的TCR、本文所公开的核酸分子或核酸分子组、本文所公开的载体或载体组、本文所公开的细

胞或本文所公开的药物组合物,所述抗体或其抗原结合部分、所述双特异性抗体、所述双特异性抗体、所述BiTE、所述多特异性抗体、所述双互补位抗体、所述免疫缀合物、所述CAR、所述TCR、所述核酸分子或核酸分子组、所述载体或载体组、所述细胞或所述药物组合物用于减少、消耗或杀伤有需要的受试者中的肿瘤浸润性 T_{reg} 细胞的方法中。

[0075] 本公开的某些方面涉及本文所公开的抗体或其抗原结合部分、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的BiTE、本文所公开的多特异性抗体、本文所公开的双互补位抗体、本文所公开的免疫缀合物、本文所公开的CAR、本文所公开的TCR、本文所公开的核酸分子或核酸分子组、本文所公开的载体或载体组、本文所公开的细胞或本文所公开的药物组合物,所述抗体或其抗原结合部分、所述双特异性抗体、所述双特异性抗体、所述BiTE、所述多特异性抗体、所述双互补位抗体、所述免疫缀合物、所述CAR、所述TCR、所述核酸分子或核酸分子组、所述载体或载体组、所述细胞或所述药物组合物用于使有需要的受试者中的NK细胞活化或诱导NK细胞介导的肿瘤浸润性 T_{reg} 细胞杀伤的方法中。

附图说明

[0076] 图1A至图1L是如通过荧光吸光度(图1A、图1C、图1E、图1G、图1I和图1K)和相对于二级抗体与表现人CCR8、Cyno CCR8、人CCR2、小鼠CCR8的293T细胞以及阴性对照293T细胞的相对结合(如指示;图1B、图1D、图1F、图1H、图1J和图1L)所测量的与人CCR8(HuCCR8-ECD-Fc)或cyno CCR8(CyCCR8-ECD-Fc)结合的图示,其示出抗CCR8-1(图1A至图1B)、抗CCR8-1-1(图1C至图1D)、抗CCR8-1-2(图1E至图1F)、抗CCR8-1-3(图1G至图1H)、抗CCR8-1-4(图1I至图1J)和抗CCR8-1-5(图1K至图1L)抗体的结合。

[0077] 图2A至图2R是如通过荧光吸光度(图2A、图2C、图2E、图2G、图2I、图2K、图2M、图2O、图2Q、图2S和图2U)和相对于二级抗体与表现人CCR8、cyno CCR8、人CCR2、小鼠CCR8的293T细胞以及阴性对照293T细胞的相对结合(如指示;图2B、图2D、图2F、图2H、图2J、图2L、图2N、图2P、图2R、图2T和图2V)所测量的与人CCR8(HuCCR8-ECD-Fc)或cyno CCR8(CyCCR8-ECD-Fc)结合的图示,其示出抗CCR8-2(图2A至图2B)、抗CCR8-2-1(图2C至图2D)、抗CCR8-2-2(图2E至图2F)、抗CCR8-2-3(图2G至图2H)、抗CCR8-2-4(图2I至图2J)、抗CCR8-2-5(图2K至图2L)、抗CCR8-2-6(图2M至图2N)、抗CCR8-2-7(图2O至图2P)、抗CCR8-2-8(图2Q至图2R)、抗CCR8-2-9(图2S至图2T)和抗CCR8-2-10(图2U至图2V)抗体的结合。

[0078] 图3A至图3B是条形图,其示出抗CCR8-1抗体(图3A)或抗CCR8-2抗体(图3B)对人CCR8、cyno CCR8和各种阴性对照(类淀粉前体样蛋白2(APLP2)、 $\alpha 1$ -抗胰凝乳蛋白酶(SERPINA3)、溶质载体家族6成员9(SLC6A9)和磷脂磷酸酶3(PLPP3))的细胞上亲和力(K_D)。

[0079] 图4A是显示抗CCR8-1和抗CCR8-2抗体与来自乳腺和肾脏肿瘤样品(分别为正方形和三角形)的分离的肿瘤浸润性白细胞(TIL)的结合的图示。图4B是显示同种型对照、抗CCR8-1、抗CCR8-2和阳性对照抗CCR8抗体与如指示来自肾细胞癌样品的分离的调节性T细胞(Treg细胞)的相对结合的图示。

[0080] 图5是条形图,其示出在如指示与抗CCR8-1和抗CCR8-2抗体接触后被迫表达人或食蟹猴(cyno)CCR8的293T细胞中的ADCC信号传导。

[0081] 图6A至图6B是条形图,其示出如由来自两名供体(D1和D2)的样品中在如指示与抗

CCR8-1或抗CCR8-2抗体接触后剩余的表达人CCR8(图6A)或cyno CCR8(图6B)的293T细胞的百分比所证明的ADCC。

[0082] 图7A至图7B是线形图,其示出在如指示与抗CCR8-1或抗CCR8-2抗体接触后表达人CCR8(图7A)或空载体(EV;图7B)的死亡靶标Raji细胞的百分比。

[0083] 图8A是线形图,其示出在如指示使培养物与抗CCR8-1或抗CCR8-2抗体接触后,与被表达CCR8的Raji细胞一起培养的4-1BB⁺/CD16⁻细胞(NK细胞)的百分比。图8B是条形图,其示出相对于同种型对照,在暴露于抗CCR8-1抗体或抗CCR8-2抗体后,表达CCR8表面靶标的Raji细胞的数目(黑色条)。图8C是条形图,其示出与被表达CCR8的Raji细胞(左侧条)一起培养的CD3⁻NKp46⁺NK细胞上的4-1BB表达水平(相对于同种型对照)。不表达CCR8表面靶标的对照Raji细胞由右侧条表示(图8B至图8C)。

[0084] 图9是从新鲜切除的人肿瘤中分离并如指示与抗CCR8-1或抗CCR8-2抗体一起孵育的总CD3⁺/CD4⁺TIL中FOXP3⁺细胞的相对数目(%)的图示。

[0085] 图10是条形图,其示出CCR8在被表达人CCR8或空载体的293T细胞中的内化。

[0086] 图11是线形图,其示出如通过流式细胞术所测量的结合人CCR8的单克隆抗体(购自 BIOLEGEND®; 目录号360603)和抗CCR8-1抗体或抗CCR8-2抗体的竞争性结合。

[0087] 图12A至图12B是线形图,其显示在如指示与增加浓度的抗CCR8-1野生型抗体、无岩藻糖基化的抗CCR8-1抗体、抗CCR8-2野生型抗体、无岩藻糖基化的抗CCR8-2抗体和同种型对照一起孵育后,CD16VV(图12A)或CD16FF(图12B) Jurkat ADCC报告细胞中相对于抗体浓度的ADCC活性。

[0088] 图13A至图13B是示出抗CCR8-1抗体与肿瘤Treg的结合的图示。在从肿瘤中分离的TIL中,使用流式细胞术将Treg鉴定为CD3⁺/FoxP3⁺。使用APC缀合的二级抗体,在来自肾脏和乳腺肿瘤的门控细胞上测量抗CCR8-1抗体的结合。图13A是散点图,其显示与抗CCR8-1抗体、阳性对照和仅二级抗体(阴性对照)接触的Treg上抗体对阳性对照的结合比率。图13B显示两个直方图迹线,其描绘对来自人肾脏肿瘤的门控Treg的APC-A染色,其中频率针对IgG1同种型对照(灰色迹线)或抗CCR8-1(黑色迹线)的模式归一化。图13C是散点图,其显示从与同种异体自然杀伤(NK)细胞一起孵育并且与对照抗体、抗CCR8-1抗体或阳性对照抗体接触的肿瘤中分离的CD3⁺TIL细胞的百分比。对于每一抗体情况,左侧的分组是为FoxP3⁻细胞(例如,非Treg)的CD3⁺细胞的百分比,而右侧的分组是为FoxP3⁺细胞(例如,Treg)的CD3⁺细胞的归一化百分比。

具体实施方式

[0089] 本公开的某些方面涉及特异性地结合CCR8的抗体或其抗原结合部分(“抗CCR8抗体”)。在某些方面,抗CCR8抗体特异性地结合人CCR8的N末端细胞外结构域。本公开的其他方面涉及治疗有需要的受试者的方法,所述方法包括施用本文所公开的抗CCR8抗体。

[0090] I. 术语

[0091] 为了可更容易地理解本公开,首先定义某些术语。如本申请中所用,除非本文另外明确提供,否则以下术语各自应具有下文所陈述的含义。在整个本申请中陈述了附加定义。

[0092] 应注意,术语“一(a或an)”个实体是指该实体中的一者或多者;例如,“核苷酸序列”应当理解为表示一个或多个核苷酸序列。因此,术语“一(a或an)”、“一个或多个”和“至

少一个”在本文中可互换使用。

[0093] 此外,当在本文使用时,“和/或”应当视为具有或不具有另一者的两种特定特征或组分的每一者的具体公开。因此,本文在短语中使用的术语“和/或”诸如“A和/或B”意为包括:“A和B二者”;“A或B”;“A”(单独);和“B”(单独)。类似地,在短语中使用的术语“和/或”诸如“A、B和/或C”意为涵盖以下方面中的每一者:A、B和C;A、B或C;A或C;A或B;B或C;A和C;A和B;B和C;A(单独);B(单独);和C(单独)。

[0094] 术语“约”在本文中用于意指大约、大致、左右或在.....附近。当术语“约”与数值范围结合使用时,其通过延伸所示数值的上下边界修饰该范围。通常,术语“约”在本文中用于以上下(更高或更低)10%的方差来修饰高于和低于规定值的数值。

[0095] 应该理解,每当在本文用措辞“包含”来描述方面时,还提供以“由.....组成”和/或“基本上由.....组成”描述的其他类似方面。

[0096] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科技术语具有与本发明相关领域的普通技术人员通常所理解的相同含义。例如,Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 第2版,2002, CRC Press; Dictionary of Cell and Molecular Biology, 第3版,1999, Academic Press; 和 Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, 修订板,2000, Oxford University Press, 给普通技术人员提供本发明中使用的许多术语的通用字典。

[0097] 单位、前缀和符号以其Système International de Unites (SI) 可接受的形式表示。数值范围将限定范围的数量包括在内。除非另外指出,否则核苷酸序列以5’到3’的方向从左到右书写。氨基酸序列以氨基到羧基的方向从左到右书写。本文提供的标题不限制本发明的各个方面,这些方面可通过整体参考本说明书而得。因此,如下直接定义的术语通过整体参考说明书被更详细地定义。

[0098] 如本文所用,术语“量”或“水平”在最广泛的意义上使用,并且是指物质(例如,代谢物、小分子、蛋白质、mRNA、标志物)的量、浓度或丰度。当提到代谢物或小分子(例如药物)时,术语“量”、“水平”和“浓度”通常可互换使用,并且通常指生物样品中的可检测量。“升高的水平”或“提高的水平”是指样品中物质的数量、浓度或丰度相对于对照样品(诸如来自未患有疾病或病症(例如,癌症)的一个或多个个体)或内部对照的增加。在一些方面,样品中物质(例如,药物)的升高的水平是指相对于对照样品中物质的量,物质的量增加约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%,如通过本领域已知的技术(例如,HPLC)所测定的。“降低的水平”是指个体中物质(例如,药物)的数量、浓度或丰度相对于对照(诸如来自未患有疾病或病症(例如,癌症)的一个或多个个体)或内部对照的降低。在一些方面,降低的水平很少或为不可检测的量、浓度或丰度。在一些方面,样品中物质(例如,药物)的降低的水平是指相对于对照样品中物质的量,物质的量减少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%,如通过本领域已知的技术(例如,HPLC)所测定的。

[0099] 当提及蛋白质、mRNA或标志物(诸如本文所述的那些)时,术语“表达的水平”或“表达水平”通常可互换使用,并且通常指生物样品中蛋白质、mRNA或标志物的可检测量。在一些方面,蛋白质、mRNA或标志物的可检测量或可检测水平与对剂(诸如本文所述的那些)的

响应可能性相关。“表达”通常是指借以将基因中包含的信息转化为细胞中存在并起作用的结构(例如,蛋白质标志物,诸如PD-L1)的过程。因此,如本文所用,“表达”可指转录成多核苷酸、翻译成多肽,或者甚至多核苷酸和/或多肽修饰(例如,多肽的翻译后修饰)。转录的多核苷酸、翻译的多肽、或多核苷酸和/或多肽修饰(例如,多肽的翻译后修饰)的片段也应被认为是表达的,无论它们来源于由选择性剪接或降解的转录物产生的转录物,还是来源于多肽的翻译后加工(例如通过蛋白水解)。“表达的基因”包括转录成多核苷酸(作为mRNA)的基因,然后翻译成多肽的那些基因,也包括转录成核糖核酸但不翻译成多肽(例如,转运RNA和核糖体RNA)的那些基因。“升高的表达”、“升高的表达水平”或“升高的水平”是指样品中的物质相对于对照样品(诸如未患疾病或病症(例如,癌症)的一个或多个个体)或内部对照的表达增加或水平升高。在一些方面,样品中物质(例如,蛋白质标志物,诸如PD-L1)的升高的表达是指相对于对照样品中物质的量,物质的量增加约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%,如通过本领域已知的技术(例如,FACS)所测定的。“减少的表达”、“降低的表达水平”或“降低的水平”是指个体中的物质(例如,蛋白质标志物)相对于对照(诸如未患疾病或病症(例如,癌症)的一个或多个个体)或内部对照的减少的表达或降低的水平。在一些方面,减少的表达是很少或没有表达。在一些方面,样品中物质(例如,蛋白质标志物)的减少的表达是指相对于对照样品中物质的量,物质的量减少了约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%,如通过本领域已知的技术(例如,FACS)所测定的。

[0100] 如本文所用,术语“拮抗剂”是指部分或完全阻断、抑制或中和本文所公开的天然多肽的生物活性的任何分子。合适的拮抗剂分子具体包括拮抗剂抗体或抗体片段、天然多肽的片段或氨基酸序列变体、肽或蛋白质等。在一些方面,以剂量依赖性方式观察到在拮抗剂存在下的抑制。在一些方面,测量的信号(例如,生物活性)比在可比较的条件下利用阴性对照测量的信号低至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或至少约100%。本文还公开了鉴定适用于本公开方法的拮抗剂的方法。例如,这些方法包括但不限于结合测定,诸如酶联免疫吸附测定(ELISA)、ForteBio®系统、放射免疫测定(RIA)、Meso Scale Discovery测定(例如Meso Scale Discovery电化学发光(MSD-ECL)和基于珠粒的Luminex®测定。这些测定确定拮抗剂结合目标多肽(例如受体或配体)的能力,并且因此指示拮抗剂抑制、中和或阻断多肽活性的能力。拮抗剂抗体的功效还可使用功能测定(诸如拮抗剂抑制多肽或激动剂功能的能力)来测定。例如,功能测定可包括将多肽与候选拮抗剂分子接触,并测量通常与多肽相关的一种或多种生物活性的可检测变化。拮抗剂的效力通常由其 IC_{50} 值(抑制50%激动剂响应所需的浓度)来定义。 IC_{50} 值越低,拮抗剂的效力越大,并且抑制最大生物响应所需的浓度越低。

[0101] 如本文所用,术语“抗CCR8抗体”是指特异性地结合至CCR8的抗体。在一些方面,抗CCR8抗体抑制CCR8生物活性和/或由CCR8信号传导或CCR8介导的其他功能介导的下游途径。抗CCR8抗体包括但不限于阻断、拮抗、阻抑、抑制或降低CCR8生物活性(例如,配体结合、

使G蛋白信号传导活化)的抗体,所述CCR8生物活性包括由CCR8信号传导或功能介导的下游途径,诸如受体结合和/或引发对CCR8或其代谢物的细胞响应(例如,免疫阻抑)。在一些方面,本公开所提供的抗CCR8抗体结合至人CCR8,并且防止、阻断或抑制人CCR8与配体(例如,CCL1)的结合或CCR8与G蛋白之间的相互作用。在一些方面,抗CCR8抗体防止、阻断或抑制人CCR8与CCL1的结合。在一些方面,抗CCR8抗体防止、阻断或抑制人CCR8与CCL8的结合。在一些方面,抗CCR8抗体防止、阻断或抑制人CCR8与CCL16的结合。在一些方面,抗CCR8抗体防止、阻断或抑制人CCR8与CCL18的结合。

[0102] 如本文所用,术语“抗体”是指包含两个轻链多肽和两个重链多肽的完整抗体。完整抗体包括不同的抗体同种型,包括IgM、IgG、IgA、IgD和IgE抗体。术语“抗体”包括多克隆抗体、单克隆抗体、嵌合(chimerized)或嵌合(chimeric)抗体、人源化抗体、灵长类化抗体(primatized antibody)、去免疫化抗体和完全人抗体。抗体可在多种物种中的任一种中制备或源自多种物种中的任一种,所述物种是例如哺乳动物诸如人、非人灵长类动物(例如,猩猩、狒狒或黑猩猩)、马、牛、猪、绵羊、山羊、狗、猫、兔、豚鼠、沙鼠、仓鼠、大鼠和小鼠。抗体可以是纯化的或重组的抗体。如本文所用,术语“抗体片段”、“抗原结合片段”或类似术语是指保留与靶抗原(例如,CCR8)结合并抑制所述靶抗原活性的能力的抗体片段。此类片段包括例如单链抗体、单链Fv片段(scFv)、Fd片段、Fab片段、Fab'片段或F(ab')₂片段。scFv片段是单个多肽链,其包括scFv所源自的抗体的重链和轻链可变区两者。另外,抗体的定义中还包括胞内抗体、微型抗体、三抗体(triobody)和双抗体(diabody),所述抗体适用于本文所述的方法。参见,例如,Todorovska等人,(2001) *J. Immunol. Methods* 248(1):47-66;Hudson和Kortt,(1999) *J. Immunol. Methods* 231(1):177-189;Poljak,(1994) *Structure* 2(12):1121-1123;Rondon和Marasco,(1997) *Annu. Rev. Microbiol.* 51:257-283,所述文献的每一篇的公开内容以引用方式整体并入本文。

[0103] 如本文所用,术语“抗体片段”还包括,例如,单结构域抗体,诸如骆驼化单结构域抗体。参见,例如,Muyldermans等人,(2001) *Trends Biochem. Sci.* 26:230-235;Nuttall等人,(2000) *Curr. Pharm. Biotech.* 1:253-263;Reichmann等人,(1999) *J. Immunol. Meth.* 231:25-38;PCT申请公布第WO 94/04678号和第WO 94/25591号以及美国专利第6,005,079号,其全部以引用方式整体并入本文。在一些方面,本公开提供了包含两个具有修饰的VH结构域(使得能形成单结构域抗体)的单结构域抗体。

[0104] 在一些方面,抗原结合片段包括重链多肽的可变区和轻链多肽的可变区。在一些方面,本文所述的抗原结合片段包含抗体的轻链和重链多肽的CDR。

[0105] 如本文所用,术语“双特异性”或“双功能抗体”是指具有两个不同重/轻链对和两个不同结合位点的人工杂交抗体。双特异性抗体可通过包括杂交瘤的融合或Fab'片段的连接在内的多种方法产生。参见,例如,Songsivilai&Lachmann,(1990) *Clin. Exp. Immunol.* 79:315-321;Kostelny等人,(1992) *J. Immunol.* 148:1547-1553。

[0106] 传统上,双特异性抗体的重组产生是基于两个免疫球蛋白重链/轻链对的共表达,其中两个重链/轻链对具有不同的特异性(Milstein和Cuello,(1983) *Nature* 305:537-539)。可将具有所需结合特异性(抗体-抗原结合性位点)的抗体可变结构域与免疫球蛋白恒定结构域序列融合。优选将重链可变区与免疫球蛋白重链恒定区(包括铰链区、CH2区和CH3区的至少一部分)融合。关于目前已知的用于产生双特异性抗体的说明性方法的进一步

细节,参见例如Suresh等人,(1986) *Methods Enzymol.* 121:210;PCT公布第W0 96/27011号;Brennan等人,(1985) *Science* 229:81;Shalaby等人,*J.Exp.Med.* (1992) 175:217-225;Kostelny等人,(1992) *J.Immunol.* 148(5):1547-1553;Hollinger等人,(1993) *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 90:6444-6448;Gruber等人,(1994) *J.Immunol.* 152:5368以及Tutt等人,(1991) *J.Immunol.* 147:60。双特异性抗体还包括交联或异源缀合的抗体。异源缀合的抗体可使用任何方便的交联方法制备。合适的交联剂是本领域公知的,并与许多交联技术一起公开于美国专利第4,676,980号中。

[0107] 还描述了直接从重组细胞培养物中制备和分离双特异性抗体片段的各种技术。例如,使用亮氨酸拉链已经产生了双特异性抗体。参见,例如,Kostelny等人(1992) *J Immunol* 148(5):1547-1553。可通过基因融合将来自Fos和Jun蛋白的亮氨酸拉链肽与两种不同抗体的Fab'部分连接。可在铰链区将抗体同二聚体还原形成单体,然后再氧化形成抗体异二聚体。所述方法也可用于生产抗体同二聚体。Hollinger等人(1993) *Proc Natl Acad Sci USA* 90:6444-6448描述的“双抗体”技术为制备双特异性抗体片段提供了替代机制。所述片段包含通过接头与轻链可变结构域(VL)连接的重链可变结构域(VH),所述接头太短而不能使同一链上的两个结构域之间配对。因此,一个片段的VH和VL结构域被迫与另一个片段的互补VL和VH结构域配对,从而形成两个抗原结合位点。还报道了用于通过使用单链Fv(scFv)二聚体制备双特异性抗体片段的另一种策略。参见,例如,Gruber等人(1994) *J Immunol* 152:5368。或者,抗体可以是如(例如) Zapata等人(1995) *Protein Eng.* 8(10):1057-1062中所述的“线性抗体”。简言之,这些抗体包含一对串联Fd区段(VH-CH1-VH-CH1),它们形成一对抗原结合区。线性抗体可以是双特异性的或单特异性的。

[0108] 在例如Tutt等人(1991) *J Immunol* 147:60中设想和描述具有两个以上效价的抗体(例如,三特异性抗体)。

[0109] 如本文所用,术语“双互补位”是指能够结合单一抗原(例如,多肽、靶标)上的两个表位的抗体。在一些方面,双互补位抗体包含第一抗原结合区和第二抗原结合区,其中所述第一抗原结合区结合第一表位并且所述第二抗原结合区结合同一抗原上的第二表位。

[0110] 本公开还包括多特异性抗体的变体形式,诸如Wu等人(2007) *Nat Biotechnol* 25(11):1290-1297中描述的双重可变结构域免疫球蛋白(DVD-Ig)分子。DVD-Ig分子被设计成使得来自两种不同亲本抗体的两个不同轻链可变结构域(VL)直接串联连接或通过重组DNA技术经由短接头连接,随后是轻链恒定结构域。类似地,重链包含两个串联连接的不同重链可变结构域(VH),随后是恒定区CH1和Fc区。从两种亲本抗体制备DVD-Ig分子的方法在例如PCT公布第W0 08/024188号和第W0 07/024715号中有进一步描述。在一些方面,双特异性抗体是Fab串联免疫球蛋白,其中具有第二特异性的轻链可变区与完整抗体的重链可变区融合。此类抗体描述于例如国际专利申请公布第W0 2015/103072号中。

[0111] 如本文所用,“癌症抗原”或“肿瘤抗原”是指(i)肿瘤特异性抗原,(ii)肿瘤相关抗原,(iii)表达肿瘤特异性抗原的细胞,(iv)表达肿瘤相关抗原的细胞,(v)肿瘤上的胚胎抗原,(vi)自体肿瘤细胞,(vii)肿瘤特异性膜抗原,(viii)肿瘤相关膜抗原,(ix)生长因子受体,(x)生长因子配体,和(xi)与癌症相关的任何其它类型的抗原或抗原呈递细胞或材料。

[0112] 如本文所用,术语“癌症特异性免疫响应”是指由肿瘤、癌细胞或癌症抗原的存在诱导的免疫响应。在某些方面,响应包括癌症抗原特异性淋巴细胞的增殖。在某些方面,响

应包括抗体和T细胞受体的表达和上调以及淋巴因子、趋化因子和细胞因子的形成和释放。先天免疫系统和获得性免疫系统相互作用,以启动针对肿瘤、癌细胞或癌症抗原的抗原响应。在某些方面,癌症特异性免疫响应是T细胞响应。

[0113] 术语“癌”是本领域承认的,指上皮或内分泌组织的恶性肿瘤,包括呼吸系统癌、胃肠系统癌、泌尿生殖系统癌、睾丸癌、乳腺癌、前列腺癌、内分泌系统癌和黑素瘤。本文所述的抗CCR8抗体可用于治疗患有、怀疑患有任何类型的癌症(包括肾癌或黑素瘤)或任何病毒性疾病或可能有发生所述癌症或病毒性疾病的高风险的患者。示例性癌包括由子宫颈、肺、前列腺、乳房、头和颈、结肠和卵巢的组织形成的那些癌。该术语还包括癌肉瘤,其包括由癌瘤性组织和肉瘤组织组成的恶性肿瘤。“腺癌”是指源自腺组织或其中肿瘤细胞形成可识别的腺体结构的癌。

[0114] 如本文所用,术语“CCR8”或“8型C-C趋化因子受体”是指G蛋白偶合受体。已知CCR8具有至少四种配体:CCL1、CCL8、CCL16和CCL18。认为CCL1通过诱导CCR8、FOXP3、CD39、颗粒酶B和IL-10表达以STAT3依赖性方式增强人Treg细胞。参见,例如,Barsheshet等人,PNAS 114(23):6086-91(2017年6月6日)。CCR8主要在Treg细胞上表达,并且在小部分TH2细胞、单核细胞、NK细胞和CD8⁺细胞上表达程度较低。CCR8是具有七个跨膜结构域、一个细胞外N末端结构域(SEQ ID NO:172)和一个细胞内C末端结构域的跨膜受体,其与相G蛋白互作用。人CCR8的氨基酸序列(UniProt P51685;SEQ ID NO:171)显示于下表1中。

[0115] 表1:人CCR8序列.N末端细胞外结构域(SEQ ID NO:172)加下划线。

[0116]

<pre> MDYTLDL SVTTVTDY YYPDI FSSPCDAELIQ TNGK LLLAVFYCLLFV FSLLG NSLVILV LVVCKKLRSITDV YLLNLALS DLLFVFSFPFQTY YLLDQWVFGT VMCKVVS GFYYIGFYSSMFFITLMSVDRYL AVVHAVYALKV RTIRMGTTL CLAVWLTA IMATIPLL VFYQVASED GVLQCYSFY NQQTLKWKIFTNF KMN ILGLLIP FTIFMFCYIKILHQLKRCQNHNKTKAIRLVLIVVIASLLFWVPFNV VLFLTSLHSMHILDGCSISQQLTYATHVTEIISFTHCCVNPVIYAFVGEKFKK HLSEIFQKSCSQIFNYLGRQMPRESCEKSSSCQQHSSRSSSVDYIL (SEQ ID NO: 171) </pre>
--

[0117] 如本文所用,术语“竞争”,当在竞争对相同表位的结合的抗原结合蛋白(例如,免疫球蛋白、抗体或其抗原结合片段)的上下文中使用时,是指通过测定(例如,竞争性结合测定;交叉阻断测定)确定的抗原结合蛋白之间的相互作用,其中测试抗原结合蛋白(例如,测试抗体)抑制(例如,减少或阻断)参考抗原结合蛋白(例如,参考抗体)与共同抗原(例如,CCR8或其片段)的特异性结合。

[0118] “源自”指定多肽或蛋白质的多肽或氨基酸序列是指多肽的来源。优选地,源自特定序列的多肽或氨基酸序列具有与该序列或其部分(其中所述部分由至少10-20个氨基酸,优选至少20-30个氨基酸,更优选至少30-50个氨基酸组成)基本同一,或者另外地可被本领域普通技术人员识别为源自该序列的氨基酸序列。源自另一种肽的多肽相对于起始多肽可具有一个或多个突变,例如,已被另一种氨基酸残基取代或者已具有一个或多个氨基酸残基插入或缺失的一个或多个氨基酸残基。

[0119] 多肽可包含非天然存在的氨基酸序列。此类变体必须与起始分子具有小于100%的序列同一性或相似性。在某些方面,变体将具有例如在变体分子的长度上与起始多肽的氨基酸序列具有约75%至小于100%,更优选约80%至小于100%,更优选约85%至小于

100%，更优选约90%至小于100%（例如，91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%），最优选约95%至小于100%的氨基酸序列同一性或相似性的氨基酸序列。

[0120] 在某些方面，本公开的抗体由核苷酸序列编码。本发明的核苷酸序列可用于多种应用，包括克隆、基因疗法、蛋白质表达和纯化、突变引入、有此需要的宿主的DNA疫苗接种、抗体生成（对于，例如，被动免疫）、PCR、引物和探针生成等。

[0121] 本领域普通技术人员还将理解，适用于本文公开的方法的抗体可以被改变，使得它们在序列上不同于它们所源自的天然存在的或天然的序列，同时保留天然序列的所需活性。例如，可进行导致“非必需”氨基酸残基处的保守取代或改变的核苷酸或氨基酸取代。可通过标准技术（诸如定点诱变和PCR介导的诱变）引入突变。

[0122] 适用于本文公开的方法的抗体可在一个或多个氨基酸残基处，例如在必需或非必需氨基酸残基处包含保守氨基酸取代。“保守氨基酸取代”是其中氨基酸残基被具有相似侧链的氨基酸残基取代的氨基酸取代。本领域已经定义了具有相似侧链的氨基酸残基的家族，包括碱性侧链（例如，赖氨酸、精氨酸、组氨酸）、酸性侧链（例如，天冬氨酸、谷氨酸）、不带电荷的极性侧链（例如，甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸）、非极性侧链（例如，丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸）、 β -支链侧链（例如，苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸）和芳香族侧链（例如，酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸）。因此，结合多肽中的非必需氨基酸残基优选被来自相同侧链家族的另一种氨基酸残基替代。在某些方面，一段氨基酸可被在侧链家族成员的顺序和/或组成上不同的结构上类似的串替代。或者，在某些方面，可沿着编码序列的全部或部分随机引入突变，诸如通过饱和诱变，并且可将所得的突变体掺入本发明的结合多肽中，并筛选它们与所需靶标结合的能力。

[0123] 如本文所用，术语“交叉反应”是指本公开的抗体与来自不同物种的CCR8结合的能力。例如，结合人CCR8的本公开的抗体也可结合另一物种的CCR8。如本文所用，通过在结合测定（例如，SPR、ELISA）中检测与纯化的抗原的特异性反应性，或通过检测与生理表达CCR8的细胞的结合或以其他方式与所述细胞的功能性相互作用来测量交叉反应性。用于确定交叉反应性的方法包括本文所述的标准结合测定，例如，通过BIAcore™表面等离子体共振（SPR）分析，使用BIAcore™ 2000SPR仪（BIAcore AB, Uppsala, Sweden）或流式细胞技术。

[0124] 如本文所用，术语“细胞毒性T淋巴细胞（CTL）响应”是指由细胞毒性T细胞诱导的免疫响应。CTL响应主要由CD8⁺T细胞介导。

[0125] 如本文所用，术语“EC₅₀”是指抗体或其抗原结合部分在体外或体内测定中诱导为最大响应的50%（即，在最大响应与基线之间的一半处）的响应的浓度。

[0126] 如本文所用，术语“有效剂量（effective dose）”或“有效剂量（effective dosage）”被定义为足以实现或至少部分实现所需效果的量。术语“治疗有效剂量”被定义为足以治愈或至少部分阻止已经患有疾病的患者的疾病及其并发症的量。对于这种用途的有效剂量取决于所治疗病症的严重程度和患者自身免疫系统的一般状态。

[0127] 如本文所用，术语“表位”或“抗原决定簇”是指抗原上免疫球蛋白或抗体所特异性地结合的位点。术语“表位作图”是指鉴定抗体或其抗原结合片段在其靶蛋白抗原上的结合位点或表位的过程或方法。本文提供了表位作图方法和技术。表位既可由连续氨基酸形成，也可由通过蛋白质的三级折叠而紧靠的非连续氨基酸形成。由连续氨基酸形成的表位在暴

露于变性溶剂时通常得以保留,然而由三级折叠形成的表位在用变性溶剂处理时通常丢失。表位通常以独特的空间构象包括至少3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个或15个氨基酸。用于确定给定抗体结合哪些表位的方法(即,表位作图)在本领域中是公知的,包括例如免疫印迹和免疫沉淀测定,其中测试CCR8的重叠或连续肽与给定抗CCR8抗体的反应性。确定表位空间构象的方法包括本领域的技术和本文所述的技术,例如,x射线晶体学和二维核磁共振(参见,例如,Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology,第66卷,G.E.Morris,编辑(1996))。

[0128] 本公开还包括与CCR8上的表位结合的抗体,所述表位包含本文所述的特定抗体所识别的表位的全部或部分(例如,相同或重叠的区域或所述区域之间或跨越所述区域的区域)。

[0129] 本公开还包括结合相同表位的抗体和/或与本文所述抗体竞争对人CCR8的结合的抗体。识别相同表位或竞争结合的抗体可使用常规技术来进行鉴定。此类技术包括,例如,免疫测定,其显示一种抗体阻断另一种抗体与靶抗原结合的能力,即,竞争性结合测定。在其中所测试的免疫球蛋白抑制参考抗体与共同抗原(诸如CCR8)的特异性结合的测定中测定竞争性结合。许多类型的竞争性结合测定是已知的,例如:固相直接或间接放射免疫测定(RIA)、固相直接或间接酶免疫测定(EIA)、夹心竞争测定(参见Stahli等人,Methods in Enzymology 9:242(1983));固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA(参见Kirkland等人,J.Immunol.137:3614(1986));固相直接标记测定、固相直接标记夹心测定(参见Harlow和Lane,Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Press(1988));使用I-125标记的固相直接标记RIA(参见Morel等人,Mol.Immunol.25(1):7(1988));固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA(Cheung等人,Virology 176:546(1990));和直接标记的RIA。(Moldenhauer等人,Scand.J.Immunol.32:77(1990))。典型地,这种测定包括使用与固体表面结合的纯化抗原或带有这两者之一的细胞、未标记的测试免疫球蛋白和标记的参考免疫球蛋白。通过在测试免疫球蛋白存在的情况下测定与固体表面或细胞结合的标记的量来测量竞争性抑制。通常测试免疫球蛋白过量存在。通常,当竞争抗体过量存在时,其将抑制参考抗体与共同抗原的特异性结合至少50-55%、55-60%、60-65%、65-70%、70-75%或更多。

[0130] 其他技术包括(例如)表位作图方法,诸如抗原:抗体复合物晶体的x射线分析,其提供表位的原子分辨率,和与氢/氘(H/D)交换组合的质谱法,其研究构象和抗原:抗体相互作用的动力学。其他方法监测抗体与抗原片段或抗原的突变形式的结合,其中由于抗原序列中氨基酸残基的修饰而导致的结合丧失通常被认为是表位组分的指示。另外,还可使用用于表位作图的计算组合方法。这些方法依赖于目标抗体从组合噬菌体展示肽库中亲和分离特定短肽的能力。然后将肽视为对应于用于筛选肽文库的抗体的表位定义的前导。对于表位作图,也已开发了计算算法,所述算法已经被证明能对构象不连续的表位作图。

[0131] 如本文所用,术语“Fc介导的效应子功能”或“Fc效应子功能”是指除抗体的主要功能和目的外的抗体的生物活性。例如,治疗性不可知抗体(therapeutic agnostic antibody)的效应子功能是除靶蛋白或途径的激活外的生物活性。抗体效应子功能的实例包括C1q结合和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;细胞表面受体(例如,B细胞受体)的下调;表达Fc受体的血小板的活化的

缺乏;和B细胞活化。许多效应子功能始于Fc与Fc γ 受体的结合。在一些方面,肿瘤抗原靶向抗体具有效应子功能,例如ADCC活性。在一些方面,本文所述的肿瘤抗原靶向抗体包含相对于恒定区的未修饰形式具有增强的效应子功能(例如,增强的介导ADCC的能力)的变体恒定区。

[0132] 如本文所用,术语“Fc受体”是指在免疫效应细胞表面上发现的多肽,其被抗体的Fc区结合。在一些方面,Fc受体是Fc γ 受体。Fc γ 受体有三个亚类:Fc γ RI(CD64)、Fc γ RII(CD32)和Fc γ cRIII(CD16)。所有四种IgG同种型(IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)结合并激活Fc受体Fc γ RI、Fc γ RIIA和Fc γ RIIIA。Fc γ RIIB是抑制性受体,因此与该受体结合的抗体不会激活补体和细胞响应。Fc γ RI是以单体形式与IgG结合的高亲和力受体,而Fc γ RIIA和Fc γ RIIIA是仅以多聚体形式结合IgG且亲和力稍低的低亲和力受体。抗体与Fc受体和/或C1q的结合受Fc区内特定残基或结构域的控制。结合还取决于位于铰链区内和抗体的CH2部分内的残基。在一些方面,本文所述抗体的激动和/或治疗活性依赖于Fc区与Fc受体(例如,Fc γ R)的结合。在一些方面,本文所述抗体的激动和/或治疗活性通过Fc区与Fc受体(例如,Fc γ R)的结合而提高。

[0133] 如本文所用,术语“人抗体”包括具有人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区(如果存在的话)的抗体。本公开的人抗体可包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)(参见,例如,Lonberg等人,(1994) *Nature* 368(6474):856-859;Lonberg,(1994) *Handbook of Experimental Pharmacology* 113:49-101;Lonberg&Huszar,(1995) *Intern.Rev.Immunol.*13:65-93,和Harding&Lonberg,(1995) *Ann.N.Y.Acad.Sci.*764:536-546)。然而,术语“人抗体”不包括其中源自另一种哺乳动物物种(诸如小鼠)的种系的CDR序列已经被移植到人框架序列上的抗体(即人源化抗体)。

[0134] 如本文所用,“人源化”是指非人抗体的CDR结构域外的一些、大部分或所有氨基酸被源自人免疫球蛋白的对应氨基酸替代的抗体。在抗体的人源化形式的一些实施方案中,CDR结构域外的一些、大部分或所有氨基酸已被来自人免疫球蛋白的氨基酸替代,而一个或多个CDR区内的一些、大部分或所有氨基酸未发生变化。氨基酸的少量添加、缺失、插入、取代或修饰是允许的只要它们不消除抗体结合至特定抗原的能力即可。“人源化”抗体保留了与原始抗体相似的抗原性特异性。

[0135] “嵌合抗体”是指可变区源自一种物种并且恒定区源自另一物种的抗体,诸如可变区源自小鼠抗体并且恒定区源自人抗体的抗体。

[0136] 如本文所用,术语“异源抗体”是相对于产生这种抗体的转基因非人生物定义的。该术语是指具有氨基酸序列或编码核酸序列的抗体,所述氨基酸序列或编码核酸序列对应于在不由转基因非人动物组成的生物体中发现的氨基酸序列或编码核酸序列,并且通常来自除转基因非人动物外的物种。

[0137] 术语“诱导免疫响应”和“提高免疫响应”可互换使用,是指对特定抗原的免疫响应的刺激(即,被动或适应性的)。关于诱导CDC或ADCC所使用的术语“诱导”是指特定直接细胞杀伤机制的刺激。

[0138] 如本文所用,术语“免疫原性细胞死亡”(或者称为“免疫原性细胞凋亡”)是指与一种或多种信号传导途径的活化相关的细胞死亡方式,所述信号传导途径诱导来自肿瘤细胞

的损伤相关分子模式 (DAMP) 分子 (例如, 三磷酸腺苷, ATP) 的死亡前表达和释放, 从而导致肿瘤细胞免疫原性的增强和肿瘤细胞以免疫原性方式 (例如, 通过吞噬作用) 死亡。如本文所用, 术语“免疫原性细胞死亡诱导剂”是指诱导免疫原性细胞死亡过程、途径或方式的化学、生物或药物剂。

[0139] 如本文所用, 术语“抑制”、“减少”或“阻断” (例如, 涉及抑制或减少细胞中人CCR8介导的STAT1和/或STAT3磷酸化) 可互换施用并且涵盖部分和完全抑制/阻断。CCR8的抑制/阻断降低或改变了在没有抑制或阻断的情况下发生的活性的正常水平或类型。抑制和阻断也旨在包括与不与抗CCR8抗体接触的CCR8相比, 当与抗CCR8抗体接触时CCR8的结合亲和力的任何可测量的降低, 例如, 使CCR8的结合抑制至少约10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%。

[0140] 如本文所用, 术语“抑制生长” (例如涉及肿瘤或细胞, 例如肿瘤细胞) 旨在包括肿瘤或细胞生长的任何可测量的降低, 例如使肿瘤生长抑制至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、99%或100%。

[0141] 如本文所用, “需要预防的”、“需要治疗的”或“有需要的”受试者是指根据适当的从业医生 (例如, 在人的情况下, 医生、护士或护理人员; 在非人哺乳动物的情况下, 兽医) 的判断将合理地受益于给定治疗 (诸如用包含抗CCR8抗体的组合物治疗) 的受试者。

[0142] 术语“体内”是指发生在活生物体中的过程。

[0143] 如本文所用, 术语“分离的抗体”是指基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体 (例如, 特异性地结合至人CCR8的分离的抗体基本上不含特异性地结合除CCR8外的抗原的抗体)。然而, 特异性地结合至表位的分离的抗体可与来自不同物种的其他CCR8蛋白具有交叉反应性。然而, 在本文所述的特异性结合测定中, 抗体继续显示与人CCR8的特异性结合。另外, 分离的抗体通常基本上不含其他细胞物质和/或化学物质。在一些方面, 将具有不同CCR8特异性的“分离的”抗体的组合组合在明确定义的组合物中。

[0144] 如本文所用, 术语“分离的核酸分子”是指编码与CCR8结合的抗体或抗体部分 (例如, V_H 、 V_L 、CDR3) 的核酸, 旨在指其中编码抗体或抗体部分的核苷酸序列不含编码结合除CCR8外的抗原的抗体或抗体部分的其他核苷酸序列的核酸分子, 所述其他序列可天然地在人基因组DNA中位于所述核酸的两侧。例如, 选自表8中所示的序列的序列对应于包含本文所述的抗CCR8抗体单克隆抗体的重链 (V_H) 和轻链 (V_L) 可变区的核苷酸序列。

[0145] 如本文所用, “同种型”是指由重链恒定区基因编码的抗体类别 (例如, IgM或IgG1)。在一些方面, 本公开的人单克隆抗体是IgG1同种型。在一些方面, 本公开的人单克隆抗体是IgG2同种型。在一些方面, 本公开的人单克隆抗体是IgG3同种型。在一些方面, 本公开的人单克隆抗体是IgG4同种型。对本领域技术人员显而易见的是, 抗体同种型 (例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD和IgE) 的鉴定是本领域中常规的, 并且通常涉及与已知抗体、公开的Fc变体序列和保守序列的序列比对的组合。

[0146] 如本文所用, 术语“KD”或“ K_D ”是指抗体与抗原之间的结合反应的平衡解离常数。 K_D 的值是抗体解离速率常数 (k_d) 与抗体结合速率常数 (k_a) 之比的数值表示。 K_D 的值与抗体对抗原的结合亲和力成反比。 K_D 值越小, 抗体对其抗原的亲和力越大。亲和力是单个分子与其配体结合的程度, 通常通过平衡解离常数 (K_D) 来测量和报告, 该常数用于评估和排列双分

子相互作用的排序强度。

[0147] 如本文所用,术语“kd”或“ k_d ”(或者“koff”或“ k_{off} ”)旨在指抗体从抗体/抗原复合物中解离的解离速率常数。 K_d 的值每秒衰变或解离的复合物的分数的数值表示,以 秒^{-1} 为单位表示。

[0148] 如本文所用,术语“ka”或“ k_a ”(或者“kon”或“ k_{on} ”)旨在指抗体与抗原缔合的结合速率常数。ka的值是在1摩尔(1M)抗体和抗原溶液中每秒钟形成的抗体/抗原复合物数量的数值表示,以 $\text{M}^{-1}\text{sec}^{-1}$ 为单位表示。

[0149] 如本文所用,术语“淋巴细胞”是指参与身体的免疫防御的一种类型的白细胞或白血细胞。淋巴细胞有两种主要类型:B细胞和T细胞。如本文所用,术语“肿瘤浸润性淋巴细胞”(缩写为“TIL”)或“肿瘤浸润性Treg”分别是指与肿瘤细胞相关(例如,位于肿瘤团块内)的淋巴细胞或Treg。

[0150] 如本文所用,术语“连接”、“融合(fused或fusion)”可互换使用。这些术语是指通过任何方式,包括化学缀合或重组方式,使两个或更多个元件或组分或结构域接合。化学缀合的方法(例如,使用异双官能交联剂)是本领域已知的。

[0151] 如本文所用,术语“单克隆抗体”是指表现出对特定表位的单一结合特异性和亲和力的抗体。因此,术语“人单克隆抗体”是指表现出单一结合特异性并且具有源自人种系免疫球蛋白序列的可变区和任选的恒定区的抗体。在一些方面,人单克隆抗体由杂交瘤产生,所述杂交瘤包括与永生化细胞融合的获自转基因非人动物(例如,转基因小鼠)的B细胞,所述动物具有包含人重链转基因和轻链转基因的基因组。

[0152] 如本文所用,术语“自然杀伤(NK)细胞”是指一种类型的细胞毒性淋巴细胞。这些是大的、通常是颗粒状的非T、非B淋巴细胞,它们杀死某些肿瘤细胞,并在针对病毒和其他细胞内病原体的先天免疫方面以及在抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)方面起着重要作用。

[0153] 如本文所用,应用于物体的术语“天然存在的”是指物体可以存在于自然界中的事实。例如,存在于生物体(包括病毒)中的多肽或多核苷酸序列是天然存在的,所述多肽或多核苷酸序列可以从自然界的来源中分离出来,并且在实验室中未被人有意修饰过。

[0154] 如本文所用,术语“核酸”是指呈单链或双链形式的脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸及其聚合物。除非明确限制,否则所述术语涵盖含有天然核苷酸的已知类似物的核酸,其与参照核酸具有类似结合性质并且以与天然存在的核苷酸类似的方式代谢。除非另外指出,否则特定的核酸序列还隐含地涵盖其经保守修饰的变体(例如,简并密码子取代)和互补序列以及明确指示的序列。具体而言,简并密码子取代可通过产生序列来实现,在所述序列中一个或多个选择的(或所有的)密码子的第三位被混合碱基和/或脱氧肌苷残基取代(Batzer等人,Nucleic Acid Res.19:5081,1991;Ohtsuka等人,Biol.Chem.260:2605-2608,1985;以及Cassol等人,1992;Rossolini等人,Mol.Cell.Probes 8:91-98,1994)。对于精氨酸和亮氨酸,第二碱基处的修饰也可以是保守的。术语核酸可与基因、cDNA和由基因编码的mRNA互换使用。

[0155] 本文使用的多核苷酸可以由任何多核糖核苷酸或多脱氧核糖核苷酸组成,其可以是未修饰的RNA或DNA或修饰的RNA或DNA。例如,多核苷酸可由单链和双链DNA、为单链区和双链区的混合物的DNA、单链和双链RNA以及为单链区和双链区的混合物的RNA、包含可为单

链区或更常见地双链区或者单链区和双链区的混合物的DNA和RNA的杂交分子组成。另外，多核苷酸可由包含RNA或DNA或RNA和DNA的三链区组成。多核苷酸还可含有一个或多个修饰的碱基或出于稳定性或其他原因而修饰的DNA或RNA主链。“修饰的”碱基包括，例如，三苯甲基化碱基和稀有碱基，诸如肌苷。可对DNA和RNA进行各种修饰；因此，“多核苷酸”包括化学、酶促或代谢修饰的形式。

[0156] 当核酸与另一种核酸序列处于功能关系中时，其为“可操作地连接的”。例如，如果启动子或增强子影响序列的转录，则其与编码序列可操作地连接。就转录调控序列而言，可操作地连接的意味着被连接的DNA序列是连续的，并且在必要时连接两个蛋白质编码区（所述两个蛋白质编码区是连续的并且在读框中）。对于转换序列，可操作地连接表示该序列能够实现转换重组。

[0157] 如本文所用，“肠胃外施用”、“肠胃外施用的”和其他语法上等同的短语是指除肠内和局部施用外的施用方式，通常通过注射，包括但不限于静脉内、鼻内、眼内、肌内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、包膜下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外、大脑内、颅内、颈内动脉内和胸骨内注射和输注。

[0158] 如本文所用，术语“患者”包括接受预防性或治疗性治疗的人和其他哺乳动物受试者。

[0159] 在两个或更多个核酸或多肽序列的上下文中，术语“同一性百分比”是指当就最大一致性进行比较和比对时，具有如使用下述序列比较算法（例如，BLASTP和BLASTN或本领域技术人员可用的其他算法）之一或通过目测测量的特定百分比的相同的核苷酸或氨基酸的两个或更多个序列或子序列。取决于应用，“同一性百分比”可存在于被比较序列的区域上，例如，存在于功能结构域上，或者，存在于待比较的两个序列的全长上。对于序列比较，通常地，一个序列充当与测试序列进行比较的参考序列。当使用序列比较算法时，将测试和参考序列输入到计算机中，如果需要，指定子序列坐标，并且指定序列算法程序参数。然后，序列比较算法根据指定的程序参数，计算一个或多个测试序列相对于参考序列的序列同一性百分比。

[0160] 用于比较的序列的最佳比对可以例如通过Smith&Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2: 482 (1981) 的局部同源性算法，通过Needleman&Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48: 443 (1970) 的同源性比对算法，通过Pearson&Lipman, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85: 2444 (1988) 的相似性搜索方法，通过这些算法的计算机化执行（Wisconsin Genetics软件包中的GAP、BESTFIT、FASTA和TFASTA, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.），或通过目测（通常参见Ausubel等人，在下文中）来进行。

[0161] 适于测定序列同一性百分比和序列相似性的算法的一个实例是BLAST算法，所述算法描述于Altschul等人, *J. Mol. Biol.* 215: 403-410 (1990) 中。用于进行BLAST分析的软件可通过国家生物技术信息中心网站公开获得。

[0162] 如本文中通常所用的，“药学上可接受的”是指在合理的医学判断范围内，适于与人类和动物的组织、器官和/或体液接触使用而没有过度毒性、刺激、过敏反应或与合理的效益/风险比相称的其他问题或并发症的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0163] 如本文所用，“药学上可接受的载体”是指并包括生理上相容的任何和所有的溶剂、分散介质、包衣、抗细菌和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。所述组合物可包括药学上

可接受的盐,例如酸加成盐或碱加成盐(参见,例如,Berge等人(1977) *J Pharm Sci* 66:1-19)。

[0164] 如本文所用,术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”可互换使用,以指代氨基酸残基的聚合物。所述术语适用于其中一个或多个氨基酸残基是相应的天然存在的氨基酸的人工化学模拟物的氨基酸聚合物,以及天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物。

[0165] 如本文所用,术语“预防”,当结合疾患使用时,是指相对于未接受组合物的受试者,降低受试者的疾患的症状的频率或延迟其发作的组合物的施用。

[0166] 如本文所用,用于本文所述的任何蛋白质(抗体或片段)的术语“纯化的”或“分离的”是指从天然伴随其的组分(例如,蛋白质或其他天然存在的生物或有机分子)(例如,表达所述蛋白质的原核生物中的其他蛋白质、脂质和核酸)中分离或纯化的多肽。通常,当多肽构成按重量计至少60%(例如,至少65%、70%、75%、80%、85%、90%、92%、95%、97%或99%)的样品中的总蛋白质时,所述多肽被纯化。

[0167] 如本文所用,术语“重排的”是指重链或轻链免疫球蛋白基因座的构型,在所述构型中V区段以分别编码基本上完整的 V_H 或 V_L 结构域的构象紧邻D-J或J区段。通过与种系DNA比较,可以鉴定重排的免疫球蛋白基因座;重排的基因座将具有至少一个重组的七聚体/九聚体同源元件。

[0168] 如本文所用,术语“重组宿主细胞”(或简称为“宿主细胞”)旨在指已向其中引入了重组表达载体的细胞。应当理解,此类术语不仅指特定的受试细胞,还指这种细胞的后代。在接续传代中由于突变或环境影响而可能发生某些修饰,因此此类后代可能实际上并不等同于亲代细胞,但其仍包括在本文所用术语“宿主细胞”的范围内。

[0169] 如本文所用,术语“重组抗体”包括通过重组手段制备、表达、产生或分离的所有人抗体,诸如(a)从动物(例如,小鼠)或由其制备的杂交瘤中分离的抗体,所述动物对于人免疫球蛋白基因而言是转基因的或跨染色体的,(b)从经转化以表达所述抗体的宿主细胞,例如从转染瘤中分离的抗体,(c)从重组组合人抗体文库中分离的抗体,和(d)通过涉及将人免疫球蛋白基因序列剪接到其他DNA序列的任何其他手段制备、表达、产生或分离的抗体。此类重组人抗体包含利用特定人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区,所述可变区和恒定区序列由种系基因编码,但包括随后例如在抗体成熟过程中发生的重排和突变。如本领域所知的(参见,例如,Lonberg(2005) *Nature Biotech.* 23(9):1117-1125),可变区包含抗原结合结构域,其由各种基因编码,所述基因重排形成对外来抗原特异的抗体。除了重排以外,可变区还可通过多个单个氨基酸变化(称为体细胞突变或超突变)被进一步修饰,以增加抗体对外来抗原的亲和力。恒定区将随着对抗原的进一步相应而改变(即,同种型转换)。因此,响应于抗原而重排和体细胞突变的编码轻链和重链免疫球蛋白多肽的核酸分子可能与原始核酸分子不具有完全同一性的序列,而是具有基本上同一或相似(即,具有至少80%的同一性)。

[0170] 如本文所用,术语“参考抗体”(可与“参考mAb”互换使用)或“参考抗原结合蛋白”是与CCR8上的特定表位结合并用于建立其自身与一种或多种不同抗体之间的关系抗体或其抗原结合片段,其中所述关系是参考抗体和一种或多种不同抗体与CCR8上相同表位的结合。如本文所用,所述术语意指抗CCR8抗体,其可用于测试或测定,诸如本文所述的那些测试或分析(例如,竞争性结合测定),用作竞争者,其中所述测定可用于发现、鉴定或开发

一种或多种与相同表位结合的不同抗体。

[0171] 如本文所用,术语“特异性结合”、“选择性结合”、“选择性地结合”和“特异性地结合”是指抗体与预定抗原上的表位的结合。通常,当使用重组人CCR8作为分析物并且抗体作为配体在BIAcore™ 2000仪器中通过表面等离子体共振 (SPR) 技术测定时,抗体以约小于 10^{-6} M,诸如大约小于 10^{-7} 、 10^{-8} M、 10^{-9} M或 10^{-10} M或甚至更低的平衡解离常数(K_D)结合,并且其与预定抗原结合的亲和力为其与除所述预定抗原或密切相关的抗原外的非特异性抗原(例如,BSA、酪蛋白)结合的亲和力的至少两倍。在某些方面,当使用重组人CCR8作为分析物并且抗体作为配体在BIAcore™ 2000仪器中通过表面等离子体共振 (SPR) 技术测定时,特异性地结合至CCR8的抗体以大约小于100nM(10^{-7} M)、任选地大约小于50nM(5×10^{-8} M)、任选地大约小于15nM(1.5×10^{-8} M)、任选地大约小于10nM(10^{-8} M)、任选地大约小于5nM(5×10^{-9} M)、任选地大约小于1nM(10^{-9} M)、任选地大约小于0.1nM(10^{-10} M)、任选地大约小于0.01nM(10^{-11} M)或甚至更低的平衡解离常数(K_D)结合,其中结合至预定抗原以比所述抗体对结合至除预定抗原或紧密相关的抗原以外的非特异性抗原(例如,BSA、酪蛋白)的亲和力大至少两倍的亲和力发生。短语“识别抗原的抗体”和“对抗原具有特异性的抗体”在本文中术语“特异性地结合至抗原的抗体”互换使用。

[0172] 如本文所用,术语“受试者”包括任何人或非人动物。例如,本发明的方法和组合物可用于治疗患有免疫病症的受试者。术语“非人动物”包括所有脊椎动物,例如哺乳动物和非哺乳动物,诸如非人灵长类动物、绵羊、狗、牛、鸡、两栖动物、爬行动物等。

[0173] 对于核酸,术语“实质同源性”表示两个核酸或其指定的序列,当被最佳比对和比较时,在具有适当的核苷酸插入或缺失的情况下,在至少约80%的核苷酸中,通常至少约90%至95%,更优选至少约98%至99.5%的核苷酸中是同一的。或者,当区段在选择性杂交条件下与链的互补序列杂交时,存在实质同源性。

[0174] 两个序列之间的同一性百分比是序列所共享的相同位置的数量的函数(即,同源性% = 相同位置的数量/位置总数 \times 100),其中考虑了需要被引入以进行两个序列的最佳比对的空位的数量和每个空位的长度。序列的比较和两个序列之间同一性百分比的确定可使用如下非限制性实例中所述的数学算法来完成。

[0175] 两个核苷酸序列之间的同一性百分比可使用GCG软件包(可在<http://www.gcg.com>上获得)中的GAP程序,使用NWSgapdna.CMP矩阵以及为40、50、60、70或80的空位权重和为1、2、3、4、5或6的长度权重来确定。两个核苷酸或氨基酸序列之间的同一性百分比也可使用已并入ALIGN程序(2.0版)的E.Meyers和W.Miller(CABI OS, 4:11-17(1989))的算法,使用PAM120权重残基表、为12的空位长度罚分、为4的空位罚分来确定。另外,两个氨基酸序列之间的同一性百分比可使用已并入GCG软件包(可在<http://www.gcg.com>上获得)中的GAP程序中的Needleman和Wunsch(J.Mol.Biol. (48):444-453(1970))算法,使用Blossum 62矩阵或PAM250矩阵、为16、14、12、10、8、6或4的空位权重、为1、2、3、4、5或6的长度权重来确定。

[0176] 可将本公开的核酸和蛋白质序列进一步用作“查询序列”,以针对公共数据库执行搜索,以例如鉴定相关序列。此类搜索可使用Altschul,等人(1990)J.Mol.Biol.215:403-10的NBLAST和XBLAST程序(2.0版)来进行。可用NBLAST程序、得分=100、字长=12来进行BLAST核苷酸搜索,以获得与本发明核酸分子同源的核苷酸序列。可用XBLAST程序、得分=

50、字长=3来进行BLAST蛋白质搜索,以获得与本发明蛋白质分子同源的氨基酸序列。为了获得用于比较目的的空位比对,可利用如Altschul等人,(1997) *Nucleic Acids Res.* 25 (17):3389-3402中描述的空位BLAST程序。当利用BLAST和空位BLAST程序时,可使用相应程序(例如XBLAST和NBLAST)的默认参数。参见<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>。

[0177] 核酸可存在于全细胞中,存在于细胞溶解物中,或以部分纯化或基本上纯的形式存在。当通过标准技术(包括碱性/SDS处理、CsCl显带、柱色谱、琼脂糖凝胶电泳和本领域公知的其他技术)从其他细胞组分或其他污染物(例如,其他细胞核酸或蛋白质)中纯化出来时,核酸是“分离的”或“基本上纯的”。参见,F. Ausubel, 等人,编 *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987)。

[0178] 可根据提供基因序列的标准技术,对来自cDNA、基因组或其混合物的本公开的核酸组合物(尽管通常是天然序列(除修饰的限制性位点等外))进行突变。对于编码序列,这些突变可以根据需要影响氨基酸序列。特别地,设想了与天然V序列、D序列、J序列、恒定序列、转换序列和本文所述的其他此类序列基本上同源或源自所述序列的DNA序列(其中“源自”表示序列与另一个序列相同或从另一个序列修饰而来)。

[0179] 术语“T细胞”是指一种类型的白血细胞,其通过在细胞表面上存在T细胞受体而与其他白血细胞相区别。存在T细胞的多个亚群,包括但不限于T辅助细胞(又称 T_H 细胞或 $CD4^+$ T细胞)和亚型,包括 T_H1 、 T_H2 、 T_H3 、 T_H17 、 T_H9 和 T_{FH} 细胞;细胞毒性T细胞(又称 T_C 细胞、 $CD8^+$ T细胞、细胞毒性T淋巴细胞、T杀伤细胞、杀伤性T细胞);记忆T细胞和亚型,包括中心记忆T细胞(T_{CM} 细胞)、效应记忆T细胞(T_{EM} 和 T_{EMRA} 细胞)和驻留记忆T细胞(T_{RM} 细胞);调控性T细胞(又称 T_{reg} 细胞或抑制性T细胞)和亚型,包括 $CD4^+FOXP3^+T_{reg}$ 细胞、 $CD4^+FOXP3^-T_{reg}$ 细胞、Tr1细胞、Th3细胞和 $T_{reg}17$ 细胞;自然杀伤T细胞(又称NKT细胞);粘膜相关非变异T细胞(MAIT)和 $\gamma\delta$ T细胞($\gamma\delta$ T细胞),包括 $V\gamma9/V\delta2$ T细胞。任何一种或多种前述或未提及的T细胞可以是用于本发明的使用方法的靶细胞类型。

[0180] 如本文所用,术语“T细胞介导的响应”是指由T细胞(包括但不限于效应T细胞(例如, $CD8^+$ 细胞)和辅助T细胞(例如, $CD4^+$ 细胞))介导的任何响应。T细胞介导的响应包括,例如,T细胞的细胞毒性和增殖。

[0181] 如本文所用,术语“调节性T细胞”、“T调节性细胞”、“Treg”或“ T_{reg} ”在本文中可互换使用,是指调节免疫系统、维持对自身抗原的耐受性以及预防自身免疫疾病的T细胞亚群。Treg是免疫抑制性的,通常抑制或下调效应T细胞的诱导和增殖。已知Treg引导效应T细胞溶解、支持耐受性树突细胞形成、支持M2巨噬细胞形成、产生免疫抑制代谢物和细胞因子、用作IL-2汇池(sink)并且促进新血管系统形成。尽管存在许多Treg类型,但许多Treg表达CD4和FOXP3,其中FOXP3在许多情况下用作Treg的标志物。

[0182] 如本文所用,术语“治疗有效量”或“治疗有效剂量”或本文所用的类似术语旨在表示将引发所需生物或医学响应(例如,癌症的一个或多个症状的改善)的剂(例如,抗CCR8抗体或其抗原结合片段)的量。

[0183] 如本文所用,术语“治疗”是指本文中描述的治疗或预防措施。“治疗”的方法采用向需要这种治疗的受试者(例如,需要针对特定抗原的增强的免疫响应的受试者或最终可能获得这种病症的受试者)施用本公开的人抗体,以预防、治愈、延迟、降低所述病症或复发病症的严重程度或改善其一种或多种症状,或者延长受试者的存活期,使其超过没有这种

治疗时所预期的存活期。

[0184] 如本文所用,术语“肿瘤微环境”(或者“癌症微环境”;缩写为TME)是指肿瘤或癌细胞存在于其中的细胞环境或背景,包括周围血管以及非癌细胞,包括但不限于免疫细胞、成纤维细胞、骨髓来源的炎症细胞和淋巴细胞。信号传导分子和细胞外基质也构成了TME。肿瘤和周围的微环境密切相关,并不断相互作用。肿瘤可通过释放细胞外信号、促进肿瘤血管生成和诱导外周免疫耐受来影响微环境,而微环境中的免疫细胞可影响肿瘤细胞的生长和进化。

[0185] 如本文所用,术语“载体”旨在指能够转运与其相连的另一种核酸的核酸分子。一种类型的载体是“质粒”,其是指可将另外的DNA区段连接至其中的环状双链DNA环。另一种类型的载体是病毒载体,其中可将另外的DNA片段连接到病毒基因组中。某些载体能够在它们被引入至其中的宿主细胞中自主复制(例如,具有细菌复制起点的细菌载体以及附加型哺乳动物载体)。其他载体(例如,非附加型哺乳动物载体)可以在引入到宿主细胞中后整合到宿主细胞的基因组中,并且由此与宿主基因组一起复制。此外,某些载体能够指导与它们可操作地连接的基因表达。此类载体在本文中称为“重组表达载体”(或简称为“表达载体”)。通常,重组DNA技术中有用的表达载体通常以质粒的形式存在。在本说明书中,“质粒”和“载体”可互换使用,因为质粒是最常用的载体形式。然而,本发明旨在包括表达载体的此类其他形式,诸如病毒载体(例如,复制缺陷型逆转录病毒、腺病毒和腺相关病毒),其具有等同的功能。

[0186] 除非另有定义,否则本文所用的所有技术和科学术语具有与本公开所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。下面描述了优选方法和材料,尽管与本文所述的方法和材料相似或等效的方法和材料也可用于目前公开的方法和组合物的实践或测试。本文提及的所有公布、专利申请、专利以及其他参考文献以引用的方式整体并入。

[0187] 在以下子部分中进一步详细地描述了本公开的各个方面。

[0188] II. 本公开的组合物

[0189] 本公开的某些方面涉及特异性地结合CCR8的抗体或其抗原结合部分(“抗CCR8抗体”)。在某些方面,抗CCR8抗体特异性地结合人CCR8的N末端细胞外结构域。在历史上,极难产生针对CCR8的治疗性抗体。如同其他GPCR,CCR8由于其较强的膜缔合、缺乏在细胞表面上的序列暴露以及难以表达CCR8全长蛋白质自身而难以产生针对其的抗体。众多借力于多抗体产生平台的先前尝试均以失败告终。(还参见Jo和Jung, *Experimental & Molecular Medicine* 48:e207 (2016)。)本公开通过特异性地靶向人CCR8的N末端细胞外结构域解决了此问题。通过产生特异性地靶向N末端结构域的抗体,本公开专注于产生靶向CCR8的最长细胞外部分的抗体。这使得能够实现先前无法获得的抗CCR8抗体。在这样做时,本文所述的抗体能够以先前未描述的方式抑制CCR8活性。具体地说,本文所公开的抗体能够:(a) 增强对肿瘤的免疫响应;(b) 减少、消耗或杀伤肿瘤浸润性调节性T(“Treg”)细胞;(c) 诱导CCR8在肿瘤浸润性调节性T(“Treg”)细胞中的内化;(d) 使NK细胞活化;(e) 诱导NK细胞介导的肿瘤浸润性调节性T(“Treg”)细胞杀伤;(f) 结合至食蟹猴(“cyno”)CCR8;(g) 如通过BIACORE™所测量以10nM或更小的KD结合至人CCR8;或(h) 它们的任何组合。

[0190] 在一些方面,通过去除一个或多个翻译后修饰对抗体或其抗原结合部分进一步进行工程化。在一些方面,对抗体或其抗原结合部分经工程化以去除一个或多个岩藻糖单元。

在一些方面,抗体或其抗原结合部分经修饰以从抗体的(IgG1)Fc区去除一个或多个岩藻糖单元。在一些方面,所述抗体或其抗原结合部分是无岩藻糖基化的。在一些方面,去除一个或多个岩藻糖单元增加抗体或其抗原结合片段的ADCC。在一些方面,经修饰以去除一个或多个岩藻糖单元的抗CCR8抗体(例如,无岩藻糖基化的抗体)的ADCC为未经修饰以去除一个或多个岩藻糖单元的抗CCR8抗体(例如,岩藻糖基化的抗体)的至少约1.5倍、至少约2.0倍、至少约2.5倍、至少约3.0倍、至少约3.5倍、至少约4.0倍、至少约4.5倍或至少约5.0倍。在一些方面,经修饰以去除一个或多个岩藻糖单元的抗CCR8抗体的ADCC为未经修饰以去除一个或多个岩藻糖单元的抗CCR8抗体的至少约3.0倍。在一些方面,经修饰以去除一个或多个岩藻糖单元的抗CCR8抗体的ADCC为未经修饰以去除一个或多个岩藻糖单元的抗CCR8抗体的至少约3.5倍。在一些方面,经修饰以去除一个或多个岩藻糖单元的抗CCR8抗体的ADCC为未经修饰以去除一个或多个岩藻糖单元的抗CCR8抗体的至少约4.0倍。

[0191] 在某些方面,抗CCR8抗体能够诱导对肿瘤的免疫响应。Treg细胞通过下调T细胞活性作为使免疫系统处于控制下的方式来调控免疫响应。肿瘤浸润性Treg可阻止靶向肿瘤的免疫响应,从而允许肿瘤逃避受试者免疫系统的摧毁。本文所述的抗体能够抑制肿瘤浸润性Treg,从而减少抗肿瘤免疫响应的此屏障。在一些方面,相对于在不存在抗CCR8抗体的情况下的免疫响应,抗CCR8抗体使有需要的受试者对肿瘤的免疫响应增加至少约50%、至少约100%、至少约150%、至少约200%、至少约250%、至少约300%、至少约350%、至少约400%、至少约450%或至少约500%。

[0192] 可使用本领域中已知的任何指标来测量抗肿瘤免疫响应。在一些方面,通过比较在使肿瘤与抗CCR8抗体接触之前和之后由受试者获得的肿瘤样品中肿瘤浸润性T细胞(TIL)的数目来测定抗肿瘤免疫响应。在一些方面,通过免疫组织化学或定量聚合酶链反应(qPCR)来测量TIL数目。在一些方面,相对于在使肿瘤与抗CCR8抗体接触前从受试者获得的肿瘤样品中的TIL数目,肿瘤样品中TIL的数目增加至少约1.5倍、至少约2倍、至少约2.5倍、至少约3倍、至少约3.5倍、至少约4倍、至少约4.5倍、至少约5倍、至少约6倍、至少约7倍、至少约8倍、至少约9倍、至少约10倍、至少约15倍或至少约20倍。

[0193] 在某些方面,抗CCR8抗体能够减少、消耗或杀伤肿瘤浸润性Treg细胞。在一些方面,相对于施用前肿瘤浸润性Treg细胞的数目,在施用所述抗体或其抗原结合部分后,抗CCR8抗体诱导受试者中肿瘤浸润性Treg细胞数目的消耗。在一些方面,相对于施用前肿瘤浸润性Treg细胞的数目,肿瘤浸润性Treg细胞的数目消耗至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或约100%。在一些方面,相对于外周Treg细胞,抗CCR8优先减少、消耗或杀伤肿瘤浸润性Treg细胞。

[0194] 在一些方面,在施用抗CCR8抗体后,抗CCR8抗体诱导受试者中的抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。在一些方面,在施用所述抗体或其抗原结合部分后,ADCC包含约100 μ g/mL或更小的EC50。在一些方面,在施用抗CCR8抗体后,ADCC包含如下的EC50:约100 μ g/mL或更小、约90 μ g/mL或更小、约80 μ g/mL或更小、约70 μ g/mL或更小、约60 μ g/mL或更小、约50 μ g/mL或更小、约45 μ g/mL或更小、约40 μ g/mL或更小、约35 μ g/mL或更小、约30 μ g/mL或更小、约30 μ g/mL或更小、约25 μ g/mL或更小、约20 μ g/mL或更小、约15 μ g/mL或更小、约10 μ g/mL或更小、约5 μ g/

mL或更小、约1 μ g/mL或更小、约0.5 μ g/mL或更小、约 μ g/mL或更小、约0.1 μ g/mL或更小或约0.01 μ g/mL或更小。在一些方面,在施用所述抗体或其抗原结合部分后,ADCC包含约1 μ g/mL或更小的EC50。在一些方面,在施用所述抗体或其抗原结合部分后,ADCC包含约0.1 μ g/mL或更小的EC50。

[0195] 不受任何理论或特定机制束缚,假设抑制肿瘤浸润性Treg中的CCR8信号传导导致肿瘤微环境中NK细胞的活化。随后,活化的NK细胞能够靶向并杀伤肿瘤浸润性Treg,从而使其数目减少并增强对肿瘤的免疫响应。因此,在一些方面,抗CCR8抗体能够使NK细胞活化。在一些方面,NK细胞在肿瘤微环境中被活化。在一些方面,NK细胞是肿瘤浸润性NK细胞。可使用本领域中已知的任何技术来测量NK细胞活化。在一些方面,通过测量表达活化NK细胞的一种或多种标志物的细胞的百分比来测定NK细胞活化。在某些方面,通过测量肿瘤微环境中表达NKp46但不表达CD3的细胞(例如,NKp46⁺/CD3⁻细胞)的百分比来测定NK细胞活化。

[0196] 在一些方面,NK细胞活化的特征在于NK细胞对一个或多个靶基因的表达增加。在一些方面,抗CCR8抗体能够诱导NK细胞表面上4-1BB的上调。在一些方面,抗CCR8抗体能够诱导NK细胞表面上ICAM-1的上调。在一些方面,抗CCR8抗体能够诱导NK细胞表面上4-1BB和ICAM-1的上调。在一些方面,在使抗CCR8抗体与肿瘤接触后,NK细胞表面上的4-1BB和/或ICAM-1水平相对于在接触前采集的肿瘤样品中的NK细胞表面上的4-1BB和/或ICAM-1水平上调至少约1.5倍、2倍、2.5倍、3.0倍、3.5倍、4.0倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或10倍。

[0197] 在一些方面,NK细胞活化的特征在于NK细胞对一个或多个靶基因的表达减少。在一些方面,抗CCR8抗体能够诱导NK细胞表面上CD16的下调。在一些方面,在使抗CCR8抗体与肿瘤接触后,NK细胞表面上的CD16水平相对于在接触前采集的肿瘤样品中NK细胞表面上的CD16水平下调至少约1.5倍、2倍、2.5倍、3.0倍、3.5倍、4.0倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或10倍。

[0198] 在一些方面,相对于在使肿瘤与抗CCR8抗体接触前从受试者获得的肿瘤样品中的活化NK细胞百分比,肿瘤微环境中活化NK细胞的数目增加至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或约100%。在一些方面,相对于在使肿瘤与抗CCR8抗体接触前从受试者获得的肿瘤样品中的活化NK细胞数目,肿瘤微环境中活化NK细胞的百分比增加至少约1.5倍、至少约2倍、至少约2.5倍、至少约3倍、至少约3.5倍、至少约4倍、至少约4.5倍、至少约5倍、至少约6倍、至少约7倍、至少约8倍、至少约9倍、至少约10倍、至少约15倍或至少约20倍。在一些方面,抗CCR8抗体能够诱导NK细胞介导的肿瘤浸润性Treg杀伤。

[0199] 本文所述的抗CCR8抗体能够特异性地结合至人CCR8。然而,在一些方面,抗CCR8抗体能够结合来自非人动物的CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体能够特异性地结合人CCR8和非人灵长类动物CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体能够结合人CCR8和食蟹猴(cyno)CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体以高于对非人CCR8(例如,cyno CCR8)的亲和力结合人CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8但不结合cyno CCR8。

[0200] 在一些方面,抗CCR8抗体以约100nM或更小的平衡解离常数(K_D)结合人CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体以约50nM或更小的 K_D 结合人CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体以约25nM或

更小的 K_D 结合人CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体以约20nM或更小的 K_D 结合人CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体以约15nM或更小的 K_D 结合人CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体以约10nM或更小的 K_D 结合人CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体以约5nM或更小的 K_D 结合人CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体以约1nM或更小的 K_D 结合人CCR8。在一些方面,通过BIAcore™来测量 K_D 。在某些方面,如通过BIAcore™所测量,抗CCR8抗体以约10nM或更小的 K_D 结合人CCR8。在某些方面,如通过BIAcore™所测量,抗CCR8抗体以约1nM或更小的 K_D 结合人CCR8。

[0201] 本文所公开的抗体及其抗原结合部分对CCR8的抑制可经由任何机制发生。不受任何特定机制束缚,在一些方面,抗CCR8抗体诱导肿瘤浸润性Treg细胞对CCR8的内化。CCR8受体从表面的内化消除所述受体结合其配体的能力并且增强细胞内信号传导,这有效地抑制肿瘤浸润性Treg细胞中的CCR8活性。在某些方面,抗CCR8抗体结合由肿瘤浸润性Treg细胞表达的CCR8。

[0202] 在一些方面,抗CCR8抗体阻断CCR8与其配体之间的相互作用,例如经由空间位阻、构象变化、使CCR8受体内化或它们的任何组合。在一些方面,抗CCR8抗体与CCR8的N末端细胞外结构域的结合抑制CCR8受体与G蛋白相互作用的能力,例如经由构象变化和/或经由CCR8受体的内化。

[0203] II.A. 表位

[0204] 本文所述的抗体特异性地结合CCR8的N末端细胞外结构域或其片段。人CCR8的N末端细胞外结构域通常定义为由全长CCR8序列的氨基酸1-35(例如SEQ ID NO:171的氨基酸1-35)组成(参见uniprot.org/uniprot/P51685)。人CCR8的N末端细胞外结构域的氨基酸序列包含氨基酸序列MDYTLDL SVTTVTDYYPDIFSSPCDAELI QTNGK(SEQ ID NO:172)。

[0205] 在一些方面,抗CCR8抗体结合(例如)如SEQ ID NO:172所示的人CCR8的N末端细胞外结构域内的至少一个、至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个或至少十个氨基酸。在一些方面,(例如)如SEQ ID NO:172所示的人CCR8的N末端细胞外结构域内的所述至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个或至少十个氨基酸是连续的。在一些方面,抗CCR8抗体结合(例如)如SEQ ID NO:172所示的人CCR8的N末端细胞外结构域内的至少一个、至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个或至少十个连续氨基酸。在一些方面,(例如)如SEQ ID NO:172所示的人CCR8的N末端细胞外结构域内的所述至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个或至少十个氨基酸不是连续的。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8的N末端细胞外结构域中的至少一个氨基酸和不在人CCR8的N末端细胞外结构域内的至少一个人CCR8氨基酸。

[0206] 在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基1-10的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基1-15的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基1-20的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基1-25的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基1-30的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基

酸残基5-10的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基5-15的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基5-20的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基5-25的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基5-30的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基5-35的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基10-15的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基10-20的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基10-25的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基10-30的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基10-35的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基15-20的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基15-25的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基15-30的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基15-35的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基20-25的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基20-30的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基20-35的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基25-30的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基25-35的氨基酸。在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含一个或多个选自SEQ ID NO:172的氨基酸残基30-35的氨基酸。

[0207] 在一些方面,抗CCR8抗体结合人CCR8上的表位,所述表位包含选自SEQ ID NO:180-200的氨基酸序列。

[0208] II.B. 抗体序列

[0209] 在一些方面,抗CCR8抗体包含完整抗体,例如包含两个轻链多肽和两个重链多肽的抗体。在一些方面,抗CCR8抗体包含完整抗体中保留结合CCR8能力的片段。在一些方面,抗CCR8抗体是单链抗体。在一些方面,抗CCR8抗体是单链Fv片段(scFv)。在一些方面,抗CCR8抗体是Fd片段。在一些方面,抗CCR8抗体是Fab片段。在一些方面,抗CCR8抗体是Fab'片段。在一些方面,抗CCR8抗体是F(ab')₂片段。在一些方面,抗CCR8抗体是选自内抗体、微抗体、三抗体或双抗体。

[0210] 在一些方面,抗CCR8抗体包含可变重(VH)链和可变轻(VL)链。在一些方面,VH包含VH互补决定区(CDR)1、VH CDR2和VH CDR3;并且VL包含VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3。在一些

方面,VH CDR1包含表2A中列出的氨基酸序列。在一些方面,VH CDR1包含SEQ ID NO:201所示的氨基酸序列。在一些方面,VH CDR1包含SEQ ID NO:202所示的氨基酸序列。在一些方面,VH CDR1包含SEQ ID NO:203所示的氨基酸序列。在一些方面,VH CDR1包含SEQ ID NO:204所示的氨基酸序列。

[0211] 表2A:VH CDR1共有序列

SEQ ID NO:	VH CDR1 共有序列
201	(S/D/G/A)Y(Y/A/T)M(H/L/N)
202	(D/G/A)Y(A/T)M(H/L/N)
203	(G/A)YTM(L/N)
204	(S/D)Y(Y/A)MH

[0213] 注意:上文(和本公开中别处)括号中列出的氨基酸残基指示替代方案中该特定位置处的氨基酸。例如,Y(Y/A)MH意指序列可为YYMH或YAMH。

[0214] 在一些方面,VH CDR2包含表2B中列出的氨基酸序列。在一些方面,VH CDR2包含SEQ ID NO:205所示的氨基酸序列。在一些方面,VH CDR2包含SEQ ID NO:206所示的氨基酸序列。在一些方面,VH CDR2包含SEQ ID NO:207所示的氨基酸序列。在一些方面,VH CDR2包含SEQ ID NO:208所示的氨基酸序列。

[0215] 表2B:VH CDR2共有序列

SEQ ID NO:	VH CDR2 共有序列
205	(I/G/A)I(N/S/T)(P/W/A)(S/N)(G/S)G(S/R)(T/I)(S/G/Y)YA(Q/D)(K/S)(F/V)(Q/K)G
206	AI(T/S)ASGGRTYYADSVKG
207	(G/A)I(T/S)(W/A)(N/S)(S/G)G(S/R)(I/T)(G/Y)YADSVKG
208	(I/G)I(N/S)(P/W)(S/N)(G/S)GS(T/I)(S/G)YA(Q/D)(K/S)(F/V)(Q/K)G

[0217] 在一些方面,VH CDR3包含表2C中列出的氨基酸序列。在一些方面,VH CDR3包含SEQ ID NO:209所示的氨基酸序列。在一些方面,VH CDR3包含SEQ ID NO:210所示的氨基酸序列。

[0218] 表2C:VH CDR3共有序列

SEQ ID NO:	VH CDR3 共有序列
209	(A/G)V(R/G)N(R/G)FRFDY
210	GR(K/V/D/E/R)SYR(D/E/K/V)SLRFDY

[0220] 在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:201所示的氨基酸序列的VH CDR1、具有SEQ ID NO:205所示的氨基酸序列的VH CDR2和具有SEQ ID NO:209所示的氨基酸序列的VH CDR3。在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:204所示的氨基酸序列的VH CDR1、具有SEQ ID NO:205所示的氨基酸序列的VH CDR2和具有SEQ ID NO:209所示的氨基

酸序列的VH CDR3。在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:201所示的氨基酸序列的VH CDR1、具有SEQ ID NO:208所示的氨基酸序列的VH CDR2和具有SEQ ID NO:209所示的氨基酸序列的VH CDR3。在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:204所示的氨基酸序列的VH CDR1、具有SEQ ID NO:208所示的氨基酸序列的VH CDR2和具有SEQ ID NO:209所示的氨基酸序列的VH CDR3。在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:201所示的氨基酸序列的VH CDR1、具有SEQ ID NO:208所示的氨基酸序列的VH CDR2和具有SEQ ID NO:209所示的氨基酸序列的VH CDR3。在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:201所示的氨基酸序列的VH CDR1、具有SEQ ID NO:208所示的氨基酸序列的VH CDR2和具有SEQ ID NO:209所示的氨基酸序列的VH CDR3。在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:202所示的氨基酸序列的VH CDR1、具有SEQ ID NO:206所示的氨基酸序列的VH CDR2和具有SEQ ID NO:210所示的氨基酸序列的VH CDR3。在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:202所示的氨基酸序列的VH CDR1、具有SEQ ID NO:207所示的氨基酸序列的VH CDR2和具有SEQ ID NO:210所示的氨基酸序列的VH CDR3。在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:203所示的氨基酸序列的VH CDR1、具有SEQ ID NO:206所示的氨基酸序列的VH CDR2和具有SEQ ID NO:210所示的氨基酸序列的VH CDR3。在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:203所示的氨基酸序列的VH CDR1、具有SEQ ID NO:207所示的氨基酸序列的VH CDR2和具有SEQ ID NO:210所示的氨基酸序列的VH CDR3。

[0221] 在一些方面,VL CDR1包含表3A中列出的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR1包含SEQ ID NO:211所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR1包含SEQ ID NO:212所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR1包含SEQ ID NO:213所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR1包含SEQ ID NO:214所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR1包含SEQ ID NO:215所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR1包含SEQ ID NO:216所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR1包含SEQ ID NO:217所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR1包含SEQ ID NO:218所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR1包含SEQ ID NO:219所示的氨基酸序列。

[0222] 表3A:VL CDR1共有序列

SEQ ID NO:	VL CDR1 共有序列
211	SSY(T/A)G(N/S/P)(I/R/V/S)(N/V/T)(L/-)(P/F/Y/H)VV
212	SSY(T/A)G(N/S)(I/R/S)(N/V/T)(L/-)(P/F/Y/H)VV
213	SSYAGSST(F/Y)VV
[0223] 214	SSYAGS(R/D)(V/T)(F/H)VV
215	(A/G)(T/A)WD(Y/S)SL(T/R)(A/M)(V/W)V
216	(A/G)(T/A)WD(Y/S)SL(T/R/S)(A/M)(V/W)V
217	(A/G)TWD(Y/S)SL(T/S)A(V/W)V
218	G(A/T)WDSSL(R/S)(M/A)WV
219	(S/T)G(S/T)(G/S)SNIG(N/K)N(Y/F)VS

[0224] 在一些方面,VL CDR2包含表3B中列出的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR2包含SEQ ID NO:220所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR2包含SEQ ID NO:221所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR2包含SEQ ID NO:222所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR2包

含SEQ ID NO:223所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR2包含SEQ ID NO:224所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR2包含SEQ ID NO:225所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR2包含SEQ ID NO:226所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR2包含SEQ ID NO:227所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR2包含SEQ ID NO:228所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR2包含SEQ ID NO:229所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR2包含SEQ ID NO:230所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR2包含SEQ ID NO:231所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR2包含SEQ ID NO:232所示的氨基酸序列。

[0225] 表3B:VL CDR2共有序列

SEQ ID NO:	VL CDR2 共有序列
220	E(V/A)(N/T/I/S)KRPS
221	E(V/A)(N/T/S)KRPS
222	EV(T/S)KRPS
223	E(A/V)TKRPS
224	EV(N/S)KRPS
[0226] 225	EV(N/T)KRPS
226	DN(D/T)(K/R)PS
227	DN(D/T/N)(K/R)RPS
228	DN(D/N)KRPS
229	DN(T/N)(K/R)RPS
230	D(N/D)(D/T/N)(K/R)RPS
231	D(N/D)(D/N)KRPS
232	D(N/D)(T/N)(K/R)RPS

[0227] 在一些方面,VL CDR3包含表3C中列出的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR3包含SEQ ID NO:233所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR3包含SEQ ID NO:234所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR3包含SEQ ID NO:235所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR3包含SEQ ID NO:236所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR3包含SEQ ID NO:236所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR3包含SEQ ID NO:236所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR3包含SEQ ID NO:237所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR3包含SEQ ID NO:238所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR3包含SEQ ID NO:239所示的氨基酸序列。在一些方面,VL CDR3包含SEQ ID NO:240所示的氨基酸序列。

[0228] 表3C:VL CDR3共有序列

SEQ ID NO:	VL CDR3 共有序列
[0229] 233	SSY(T/A)G(N/S/P)(I/R/V/S)(N/V/T)(L/-)(P/F/Y/H)VV
234	SSY(T/A)G(N/S)(I/R/S)(N/V/T)(L/-)(P/F/Y/H)VV
235	SSYAGSST(F/Y)VV

[0230]	236	SSYAGS(R/I)(V/T)(F/H)VV
	237	(A/G)(T/A)WD(Y/S)SL(T/R)(A/M)(V/W)V
	238	(A/G)(T/A)WD(Y/S)SL(T/R/S)(A/M)(V/W)V
	239	(A/G)TWD(Y/S)SL(T/S)A(V/W)V
	240	G(A/T)WDSSL(R/S)(M/A)WV

[0231] 在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:211所示的氨基酸序列的VL CDR1、具有SEQ ID NO:220所示的氨基酸序列的VL CDR2和具有SEQ ID NO:233所示的氨基酸序列的VL CDR3。在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:212所示的氨基酸序列的VL CDR1、具有SEQ ID NO:221所示的氨基酸序列的VL CDR2和具有SEQ ID NO:234所示的氨基酸序列的VL CDR3。在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:213所示的氨基酸序列的VL CDR1、具有SEQ ID NO:222所示的氨基酸序列的VL CDR2和具有SEQ ID NO:235所示的氨基酸序列的VL CDR3。在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:213所示的氨基酸序列的VL CDR1、具有SEQ ID NO:222所示的氨基酸序列的VL CDR2和具有SEQ ID NO:236所示的氨基酸序列的VL CDR3。在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:213所示的氨基酸序列的VL CDR1、具有SEQ ID NO:223所示的氨基酸序列的VL CDR2和具有SEQ ID NO:235所示的氨基酸序列的VL CDR3。在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:213所示的氨基酸序列的VL CDR1、具有SEQ ID NO:223所示的氨基酸序列的VL CDR2和具有SEQ ID NO:236所示的氨基酸序列的VL CDR3。在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:217所示的氨基酸序列的VL CDR1、具有SEQ ID NO:227所示的氨基酸序列的VL CDR2和具有SEQ ID NO:238所示的氨基酸序列的VL CDR3。在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:218所示的氨基酸序列的VL CDR1、具有SEQ ID NO:231所示的氨基酸序列的VL CDR2和具有SEQ ID NO:239所示的氨基酸序列的VL CDR3。在一些方面,抗CCR8抗体包含具有SEQ ID NO:219所示的氨基酸序列的VL CDR1、具有SEQ ID NO:232所示的氨基酸序列的VL CDR2和具有SEQ ID NO:240所示的氨基酸序列的VL CDR3。

[0232] 在一些方面,抗CCR8抗体的VH CDR3包含选自SEQ ID NO:7、17、27、37、47、57、67、77、87、97、107、117、127、137、147、157和167所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,抗CCR8抗体的VH CDR2包含选自SEQ ID NO:6、16、26、36、46、56、66、76、86、96、106、116、126、136、146、156和166所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,抗CCR8抗体的VH CDR1包含选自SEQ ID NO:5、15、25、35、45、55、65、75、85、95、105、115、125、135、145、155和165所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0233] 在一些方面,抗CCR8抗体的VH CDR3包含选自SEQ ID NO:47、107、117、137和147所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,抗CCR8抗体的VH CDR2包含选自SEQ ID NO:46、106、116、136和146所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,抗CCR8抗体的VH CDR1包含选自SEQ ID NO:45、105、115、135和145所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0234] 在一些方面,抗CCR8抗体的VH CDR3包含选自SEQ ID NO:7、17、27、37、57、67、77、87、97、127、157和167所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,抗CCR8抗体的VH CDR2包含选自SEQ ID NO:6、16、26、36、56、66、76、86、96、126、156和166所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,抗CCR8抗体的VH CDR2包含选自SEQ ID NO:5、15、25、35、55、65、75、85、95、125、155和165所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0235] 在一些方面,抗CCR8抗体的VL CDR3包含选自SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160和170所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,抗CCR8抗体的VL CDR2包含选自SEQ ID NO:9、19、29、39、49、59、69、79、89、99、109、119、129、139、149、159和169所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,抗CCR8抗体的VL CDR1包含选自SEQ ID NO:8、18、28、38、48、58、68、78、88、98、108、118、128、138、148、158和168所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0236] 在一些方面,抗CCR8抗体的VL CDR3包含选自SEQ ID NO:50、110、120、140和150所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,抗CCR8抗体的VL CDR2包含选自SEQ ID NO:49、109、119、139和149所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,抗CCR8抗体的VL CDR1包含选自SEQ ID NO:48、108、118、138和148所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0237] 在一些方面,抗CCR8抗体的VL CDR3包含选自SEQ ID NO:10、20、30、40、60、70、80、90、100、130、160和170所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,抗CCR8抗体的VL CDR2包含选自SEQ ID NO:9、19、29、39、59、69、79、89、99、129、159和169所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,抗CCR8抗体的VL CDR2包含选自SEQ ID NO:8、18、28、38、58、68、78、88、98、128、158和168所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0238] 在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:46所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:47所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:48所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列的VL CDR3。

[0239] 在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:105所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:107所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:108所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:109所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:110所示的氨基酸序列的VL CDR3。

[0240] 在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:118所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:119所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:120所示的氨基酸序列的VL CDR3。

[0241] 在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:135所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:136所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:137所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:138所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:139所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:140所示的氨基酸序列的VL CDR3。

[0242] 在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:145所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:146所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:147所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:148所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:149所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列的VL CDR3。

[0243] 在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的VL CDR3。

示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:160所示的氨基酸序列的VL CDR3。

[0254] 在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:165所示的氨基酸序列的VH CDR1、包含SEQ ID NO:166所示的氨基酸序列的VH CDR2、包含SEQ ID NO:167所示的氨基酸序列的VH CDR3、包含SEQ ID NO:168所示的氨基酸序列的VL CDR1、包含SEQ ID NO:169所示的氨基酸序列的VL CDR2和包含SEQ ID NO:170所示的氨基酸序列的VL CDR3。

[0255] 在一些方面,VH链包含与选自SEQ ID NO:41、101、111、131和141的氨基酸具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些方面,所述VH链包含选自SEQ ID NO:41、101、111、131和141所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,VL链包含与选自SEQ ID NO:42、102、112、132和142的氨基酸具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些方面,所述VL链包含选自SEQ ID NO:42、102、112、132和142所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,VH链包含与选自SEQ ID NO:41、101、111、131和141的氨基酸具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;并且VL链包含与选自SEQ ID NO:42、102、112、132和142的氨基酸具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体不结合cyno CCR8。在一些方面,VH链包含选自SEQ ID NO:41、101、111、131和141所示的氨基酸序列的氨基酸序列;并且VL链包含选自SEQ ID NO:42、102、112、132和142所示的氨基酸序列的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体不结合cyno CCR8。

[0256] 在一些方面,抗CCR8抗体包含VH链,所述VH链包含与SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;和VL链,所述VL链包含与SEQ ID NO:42所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体不结合cyno CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:42所示的氨基酸序列的VL链;其中抗CCR8抗体不结合cyno CCR8。

[0257] 在一些方面,抗CCR8抗体包含VH链,所述VH链包含与SEQ ID NO:101所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;和VL链,所述VL链包含与SEQ ID NO:102所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体不结合cyno CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:101所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:102所示的氨基酸序列的VL链;其中抗CCR8抗体不结合cyno CCR8。

[0258] 在一些方面,抗CCR8抗体包含VH链,所述VH链包含与SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;和VL链,所述VL链包含与SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体不结合

cyno CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列的VL链;其中抗CCR8抗体不结合cyno CCR8。

[0259] 在一些方面,抗CCR8抗体包含VH链,所述VH链包含与SEQ ID NO:131所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;和VL链,所述VL链包含与SEQ ID NO:132所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体不结合cyno CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:131所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:132所示的氨基酸序列的VL链;其中抗CCR8抗体不结合cyno CCR8。

[0260] 在一些方面,抗CCR8抗体包含VH链,所述VH链包含与SEQ ID NO:141所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;和VL链,所述VL链包含与SEQ ID NO:142所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体不结合cyno CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:141所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:142所示的氨基酸序列的VL链;其中抗CCR8抗体不结合cyno CCR8。

[0261] 在一些方面,VH链包含与选自SEQ ID NO:1、11、21、31、51、61、71、81、91、121、151和161所示的氨基酸序列的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些方面,VH链包含选自SEQ ID NO:1、11、21、31、51、61、71、81、91、121、151和161所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,VL链包含与选自SEQ ID NO:2、12、22、32、52、62、72、82、92、122、152和162所示的氨基酸序列的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些方面,VL链包含选自SEQ ID NO:2、12、22、32、52、62、72、82、92、122、152和162所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,VH链包含与选自SEQ ID NO:1、11、21、31、51、61、71、81、91、121、151和161所示的氨基酸序列的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;并且VL链包含与选自SEQ ID NO:2、12、22、32、52、62、72、82、92、122、152和162所示的氨基酸序列的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。在一些方面,VH链包含选自SEQ ID NO:1、11、21、31、51、61、71、81、91、121、151和161所示的氨基酸序列的氨基酸序列;并且VL链包含选自SEQ ID NO:2、12、22、32、52、62、72、82、92、122、152和162所示的氨基酸序列的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。

[0262] 在一些方面,抗CCR8抗体包含VH链,所述VH链包含与SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;和VL链,所述VL链包含与SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和

cyno CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列的VL链;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。

[0263] 在一些方面,抗CCR8抗体包含VH链,所述VH链包含与SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;和VL链,所述VL链包含与SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL链;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。

[0264] 在一些方面,抗CCR8抗体包含VH链,所述VH链包含与SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;和VL链,所述VL链包含与SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列的VL链;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。

[0265] 在一些方面,抗CCR8抗体包含VH链,所述VH链包含与SEQ ID NO:31所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;和VL链,所述VL链包含与SEQ ID NO:32所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:31所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:32所示的氨基酸序列的VL链;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。

[0266] 在一些方面,抗CCR8抗体包含VH链,所述VH链包含与SEQ ID NO:51所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;和VL链,所述VL链包含与SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:51所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列的VL链;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。

[0267] 在一些方面,抗CCR8抗体包含VH链,所述VH链包含与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;和VL链,所述VL链包含与SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体结合人

CCR8和cyno CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的VL链;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。

[0268] 在一些方面,抗CCR8抗体包含VH链,所述VH链包含与SEQ ID NO:71所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;和VL链,所述VL链包含与SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:71所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:72所示的氨基酸序列的VL链;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。

[0269] 在一些方面,抗CCR8抗体包含VH链,所述VH链包含与SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;和VL链,所述VL链包含与SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列的VL链;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。

[0270] 在一些方面,抗CCR8抗体包含VH链,所述VH链包含与SEQ ID NO:91所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;和VL链,所述VL链包含与SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:91所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列的VL链;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。

[0271] 在一些方面,抗CCR8抗体包含VH链,所述VH链包含与SEQ ID NO:121所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;和VL链,所述VL链包含与SEQ ID NO:122所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。在一些方面,抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:121所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:122所示的氨基酸序列的VL链;其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。

[0272] 在一些方面,抗CCR8抗体包含VH链,所述VH链包含与SEQ ID NO:151所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列;和VL链,所述VL链包含与SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至

少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列；其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。在一些方面，抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:151所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列的VL链；其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。

[0273] 在一些方面，抗CCR8抗体包含VH链，所述VH链包含与SEQ ID NO:161所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列；和VL链，所述VL链包含与SEQ ID NO:162所示的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列；其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。在一些方面，抗CCR8抗体包含有包含SEQ ID NO:161所示的氨基酸序列的VH链和包含SEQ ID NO:162所示的氨基酸序列的VL链；其中抗CCR8抗体结合人CCR8和cyno CCR8。

[0274] 在一些方面，抗CCR8抗体是人抗体。在一些方面，抗CCR8抗体是人源化抗体。在一些方面，抗CCR8是嵌合抗体。

[0275] 在一些方面，抗CCR8抗体选自由以下组成的组：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD和IgE抗体。在一些方面，抗CCR8抗体是IgG1抗体。在一些方面，抗CCR8抗体是IgG4抗体。在一些方面，抗CCR8抗体包含野生型IgG1重链恒定区。在一些方面，抗CCR8抗体包含野生型IgG4重链恒定区。在一些方面，抗CCR8抗体包含有包含至少一个突变的Fc结构域。在一些方面，抗CCR8抗体包含突变型IgG1重链恒定区。在一些方面，抗CCR8抗体包含突变型IgG4重链恒定区。在一些方面，根据EU编号，突变型IgG4重链恒定区包含取代S228P、L235E、L235A或它们的组合中的任一者。

[0276] 在一些方面，本公开提供了与根据上文所提及方面中的任一者的抗CCR8抗体结合至人CCR8上的基本上相同表位的抗体或其抗原结合部分。在一些方面，本公开提供了与根据上文所提及方面中的任一者的抗CCR8抗体交叉竞争结合至人CCR8的抗体或其抗原结合部分。

[0277] 在一些方面，抗CCR8抗体包含改变的重链恒定区，所述改变的重链恒定区相对于所述抗体的对应未改变的恒定区具有修改的效应子功能。涉及抗CCR8抗体的恒定区的效应子功能可通过改变恒定区或Fc区的性质来调节。改变的效应子功能包括，例如，以下活性中的一者或多者的调节：抗体依赖性细胞毒性 (ADCC)、补体依赖性细胞毒性 (CDC)、细胞凋亡、与一种或多种Fc受体的结合以及促炎响应。调节是指与恒定区的未改变形式的活性相比，包含改变的恒定区的受试抗体所表现出的效应子功能活性的增强、降低或消除。在特定方面，调节包括其中活性被消除或完全不存在的状况。

[0278] 在一方面，抗CCR8抗体包含IgG4重链恒定区。在一方面，IgG4重链恒定区是野生型IgG4重链恒定区。在另一方面，例如，根据EU编号 (Kabat, E. A. 等人, 同上), IgG4恒定区包含突变，例如，S228P和L235E或L235A中的一者或两者。在一方面，本文所述的抗CCR8抗体包含IgG1恒定区。在一方面，IgG1重链恒定区是野生型IgG1重链恒定区。在另一方面，IgG1重链恒定区包含突变。

[0279] 具有改变的FcR结合亲和力和/或ADCC活性和/或改变的CDC活性的改变的恒定区是这样的多肽，所述多肽与恒定区的未改变形式相比具有提高或降低的FcR结合活性和/或

ADCC活性和/或CDC活性。显示与FcR结合增强的改变的恒定区以比未改变的多肽更大的亲和力结合至少一种FcR。显示与FcR结合降低的改变的恒定区以比恒定区的未改变形式更低的亲和力结合至少一种FcR。此类显示出与FcR的结合降低的变体可具有很少或不明显的与FcR的结合,例如,与天然序列免疫球蛋白恒定区或Fc区与FcR的结合水平相比,0至50%(例如,小于50%、49%、48%、47%、46%、45%、44%、43%、42%、41%、40%、39%、38%、37%、36%、35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%)的与FcR的结合。类似地,与未改变的恒定区相比,显示经调整的ADCC和/或CDC活性的改变的恒定区可显示出增强的或降低的ADCC和/或CDC活性。

[0280] 在一些方面,抗CCR8抗体展现增加的效应子功能。在一些方面,抗CCR8抗体包含杂交恒定区或其部分,诸如G2/G4杂交恒定区(参见,例如,Burton等人(1992) *Adv Immun* 51: 1-18; Canfield等人(1991) *J Exp Med* 173:1483-1491以及Mueller等人(1997) *Mol Immunol* 34(6):441-452)。

[0281] 在一些方面,抗CCR8抗体包含展现增强的补体依赖性细胞毒性(CDC)的改变的恒定区。可通过在抗体的Fc区中引入一个或多个氨基酸取代、插入或缺失来调整CDC活性。参见,例如美国专利第6,194,551号。可选地或另外地,可在Fc区中引入一个或多个半胱氨酸残基,从而允许在该区域中形成链间二硫键。如此产生的同二聚体抗体可能具有提高的内化能力和/或增强的补体介导的细胞杀伤。参见例如,Caron等人(1992) *J Exp Med* 176: 1191-1195和Shopes(1992) *Immunol* 148:2918-2922; PCT公布第WO 99/51642号和第W094/29351号; Duncan和Winter(1988) *Nature* 322:738-40; 以及美国专利第5,648,260号和第5,624,821号。

[0282] 在一些方面,抗CCR8抗体是双特异性抗体、双特异性T细胞衔接体(BiTE)、多特异性抗体、双互补位抗体、免疫缀合物、抗体药物缀合物或它们的任何组合。

[0283] II.C. 抗体变体和免疫缀合物

[0284] 本公开的某些方面涉及包含结合至人CCR8的第一抗原结合区和结合第二抗原的第二抗原结合区的抗体,其中所述第一抗原结合区包含本文所述的抗CCR8抗体。在一些方面,所述抗体是双特异性抗体,例如仅能够结合两种抗原。在一些方面,所述抗体是多特异性抗体,例如能够结合两种以上的抗原。在一些方面,多特异性抗体能够结合至少约3种抗原、至少约4种抗原、至少约5种抗原或至少约6种抗原。

[0285] 在一些方面,抗体是双互补位抗体。双互补位抗体能够结合单一多肽靶标上的两个表位。在一些方面,双互补位抗体包含第一抗原结合区和第二抗原结合区,其中所述第一抗原结合区和/或所述第二抗原结合区包含本文所公开的抗CCR8抗体。

[0286] 在一些方面,多特异性抗体是双特异性T细胞衔接体(BiTE)。BiTE构建体包含结合T细胞上的CD3受体的第一抗原结合区以及第二抗原特异性结合区。在一些方面,BiTE包含结合CD3的第一抗原结合区和结合人CCR8的第二抗原结合区,其中所述第二抗原结合区包含本文所公开的抗CCR8抗体。

[0287] 在一些方面,双特异性抗体、多特异性抗体、BiTE或双互补位抗体包含第一VH CDR1、第一VH CDR2和第一VH CDR3; 第一VL结构域,所述第一VL结构域包含第一VL CDR1、第一VL CDR2和第一VL CDR3; 第二VH结构域,所述第二VH结构域包含第二VH CDR1、第二VH

CDR2和第二VH CDR3;和第二VL结构域,所述第二VL结构域包含第二VL CDR1、第二VL CDR2和第二VL CDR3;其中(a)所述第一VH CDR1包含选自SEQ ID NO:45、105、115、135和145所示的氨基酸序列的氨基酸序列;(b)所述第一VH CDR2包含选自SEQ ID NO:46、106、116、136和146所示的氨基酸序列的氨基酸序列;并且(c)所述第一VH CDR3包含选自SEQ ID NO:47、107、117、137和147所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,所述第一VL CDR1包含选自SEQ ID NO:48、108、118、138和148所示的氨基酸序列的氨基酸序列;(b)所述第一VL CDR2包含选自SEQ ID NO:49、109、119、139和149所示的氨基酸序列的氨基酸序列;并且(c)所述第一VL CDR3包含选自SEQ ID NO:50、110、120、140和150所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0288] 在一些方面,(a)所述VH CDR1包含选自SEQ ID NO:5、15、25、35、55、65、75、85、95、125、155和165所示的氨基酸序列的氨基酸序列;(b)所述VH CDR2包含选自SEQ ID NO:6、16、26、36、56、66、76、86、96、126、156和166所示的氨基酸序列的氨基酸序列;并且(c)所述VH CDR3包含选自SEQ ID NO:7、17、27、37、57、67、77、87、97、127、157和167所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,(a)所述VL CDR1包含选自SEQ ID NO:8、18、28、38、58、68、78、88、98、128、158和168所示的氨基酸序列的氨基酸序列;(b)所述VL CDR2包含选自SEQ ID NO:9、19、29、39、59、69、79、89、99、129、159和169所示的氨基酸序列的氨基酸序列;并且(c)所述VL CDR3包含选自SEQ ID NO:10、20、30、40、60、70、80、90、100、130、160和170所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0289] 在一些方面,抗体是双互补位抗体,并且(a)所述第二VH CDR1包含选自SEQ ID NO:5、15、25、35、55、65、75、85、95、125、155和165所示的氨基酸序列的氨基酸序列;(b)所述第二VH CDR2包含选自SEQ ID NO:6、16、26、36、56、66、76、86、96、126、156和166所示的氨基酸序列的氨基酸序列;并且(c)所述第二VH CDR3包含选自SEQ ID NO:7、17、27、37、57、67、77、87、97、127、157和167所示的氨基酸序列的氨基酸序列。在一些方面,抗体是双互补位抗体,并且(a)所述第二VL CDR1包含选自SEQ ID NO:8、18、28、38、58、68、78、88、98、128、158和168所示的氨基酸序列的氨基酸序列;(b)所述第二VL CDR2包含选自SEQ ID NO:9、19、29、39、59、69、79、89、99、129、159和169所示的氨基酸序列的氨基酸序列;并且(c)所述第二VL CDR3包含选自SEQ ID NO:10、20、30、40、60、70、80、90、100、130、160和170所示的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0290] 本公开的某些方面涉及包含本文所公开的抗CCR8抗体的免疫缀合物。在一些方面,所述免疫缀合物是抗体-药物缀合物。免疫缀合物可包括连接至本文所公开的抗CCR8抗体的本领域中已知的任何细胞毒性剂。在一些方面,抗体-药物缀合物包含选自由以下组成的组的细胞毒性剂:类美登素(maytansinoid)(例如,美登素(maytansine))、多拉司他汀(dolastatin)、澳瑞他汀(auristatin)药物类似物、隐藻素、倍癌霉素(duocarmycin)衍生物(例如,CC-1065类似物和倍癌霉素)、烯二炔抗生素(例如,埃斯波霉素(esperamicin)和卡奇霉素(calicheamicin))、吡咯并苯并二氮杂萜(PBD)以及它们的任何组合。包含抗CCR8抗体和细胞毒性剂的抗体-药物缀合物可允许以较低数目的效应细胞(包括NK细胞和巨噬细胞)在肿瘤适应症中产生功效。

[0291] II.D.Fc区变体

[0292] 在某些实施方案中,可以将一种或多种氨基酸修饰引入本文提供的抗体的Fc区

中,由此生成Fc区变体。Fc区变体可以包含在一个或多个氨基酸位置包含氨基酸修饰(例如取代)的人Fc区序列(例如,人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc区)。

[0293] 在某些实施方案中,本发明涵盖具有一些但不是所有效应子功能的抗体变体,所述效应子功能使其成为用于如下应用的期望候选物,其中抗体的体内半衰期是重要的,而某些效应子功能(诸如补体和ADCC)是不必要的或有害的。可以进行体外和/或体内细胞毒性测定以证实CDC和/或ADCC活性的减少/消除。例如,可以进行Fc受体(FcR)结合测定以确保抗体缺乏Fc γ R结合(因此有可能缺乏ADCC活性),但是保留FcRn结合能力。介导ADCC的主要细胞(NK细胞)仅表达Fc γ R1,而单核细胞表达Fc γ R1、Fc γ R2和Fc γ R3。造血细胞上的FcR表达汇总于Ravetch和Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991) 第464页上的表3中。评估目标分子的ADCC活性的体外测定的非限制性实例描述于美国专利第5,500,362号(参见,例如Hellstrom, I.等人 *Proc. Nat' l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)) 和 Hellstrom, I等人, *Proc. Nat' l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985); 5,821,337 (参见 Bruggemann, M.等人, *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987))。或者,可以采用非放射性测定方法(参见,例如,用于流式细胞术的ACT1™非放射性细胞毒性测定(Cell Technology, Inc. Mountain View, CA; 以及 CytoTox 96® non-radioactive cytotoxicity assay (Promega, Madison, WI)。对于此类测定有用的效应细胞包括外周血单核细胞(PBMC)和自然杀伤(NK)细胞。或者或另外,可以在体内例如在动物模型中评估目标分子的ADCC活性,诸如公开于Clynes等人 *Proc. Nat' l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998) 的动物模型。也可以进行C1q结合测定以证实抗体不能结合C1q,并且因此缺乏CDC活性。参见,例如,WO 2006/029879 和WO 2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体活化,可进行CDC测定(参见,例如, Gazzano-Santoro等人, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg, M. S. 等人, *Blood* 101:1045-1052 (2003); 以及 Cragg, M. S. 和 M. J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004))。也可使用本领域中已知的方法来实施FcRn结合和体内清除/半衰期测定(参见,例如, Petkova, S. B. 等人, *Int' l. Immunol.* 18 (12):1759-1769 (2006))。

[0294] 具有降低的效应子功能的抗体包括具有Fc区残基238、265、269、270、297、327和329中的一个或多个的取代的那些抗体(美国专利第6,737,056号)。此类Fc突变体包括在氨基酸位置265、269、270、297和327中的两处或更多处具有取代的Fc突变体,包括残基265和297取代成丙氨酸的所谓的“DANA”Fc突变体(美国专利第7,332,581号)。

[0295] 描述具有改善的或降低的与FcR的结合的某些抗体变体。(参见,例如,美国专利第6,737,056号;WO 2004/056312;以及 Shields等人, *J. Biol. Chem.* 9 (2):6591-6604 (2001)。

[0296] 在某些实施方案中,抗体变体包含具有改善ADCC的一处或多处氨基酸取代,例如Fc区的位置298、333和/或334(残基的EU编号方式)的取代的Fc区。

[0297] 在一些实施方案中,对Fc区做出改变,其导致改变的(即,改善的或降低的)C1q结合和/或补体依赖性细胞毒性(CDC),例如,如描述于美国专利第6,194,551号、WO 99/51642 以及 Idusogie等人 *J. Immunol.* 164:4178-4184 (2000)。

[0298] 具有延长的半衰期和改善的与新生儿Fc受体(FcRn)的结合的抗体描述于US2005/0014934A1 (Hinton等人),新生儿Fc受体(FcRn)负责将母体IgG转移至胎儿(Guyer等人, *J. Immunol.* 117:587 (1976) 和 Kim等人, *J. Immunol.* 24:249 (1994))。那些抗体包含其中具有改善Fc区与FcRn结合的一处或多处取代的Fc区。此类Fc变体包括在Fc区残基238、252、254、

256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434中的一处或多处具有取代,例如Fc区残基434的取代(例如,美国专利第7,371,826号)的那些变体。

[0299] 还参见Duncan和Winter, *Nature* 322:738-40 (1988); 美国专利第5,648,260号; 美国专利第5,624,821号; 和WO 94/29351, 其涉及Fc区变体的其他实例。

[0300] 在一些实施方案中,提供了抗体,其中同种型是人IgG1。在一些实施方案中,提供了抗体,其中同种型是人IgG4。在一些实施方案中,提供了抗体,其中同种型是人IgG4,其中存在丝氨酸228至脯氨酸的单一突变(S228P)。在一些实施方案中,提供了抗体,其中同种型是人IgG4,其中存在丝氨酸228至脯氨酸(S228P)和亮氨酸235至谷氨酸盐(L235E)的两个突变。在文献中,S228P突变发生在位置228处,然而,抗体中突变的确切定位可依据此抗体的产生方式而变化。

[0301] II.E. 嵌合抗原受体(CAR)和T细胞受体(TCR)

[0302] 本公开的某些方面涉及嵌合抗原受体(CAR),其包含特异性地结合人CCR8的N末端细胞外结构域的抗原结合区。在一些方面,所述抗原结合区包含本文所公开的抗CCR8抗体或与本文所公开的抗CCR8抗体结合相同表位的抗体或其抗原结合片段。在一些方面,CAR还包含跨膜结构域。在一些方面,CAR还包含细胞内信号传导结构域。在一些方面,CAR还包含铰链区和/或间隔区。

[0303] 本公开的某些方面涉及T细胞受体(TCT),其包含特异性地结合人CCR8的N末端细胞外结构域的抗原结合区。在一些方面,所述抗原结合区包含本文所公开的抗CCR8抗体或与本文所公开的抗CCR8抗体结合相同表位的抗体或其抗原结合片段。在一些方面,TCR还包含跨膜结构域。在一些方面,TCR还包含细胞内信号传导结构域。

[0304] II.F. 核酸分子、载体和细胞

[0305] 本公开的某些方面涉及编码本文公开的抗CCR8抗体的核酸分子。核酸可存在于全细胞中,存在于细胞溶解物中,或以部分纯化或基本上纯的形式存在。当通过标准技术(包括碱性/SDS处理、CsCl显带、柱色谱、限制酶、琼脂糖凝胶电泳和本领域中公知的其他技术)从其他细胞组分或其他污染物(例如,其他细胞核酸(例如其他染色体DNA,例如在自然界中连接至分离的DNA的染色体DNA)或蛋白质)中纯化出来时,核酸是“分离的”或“基本上纯的”。参见,F. Ausubel, 等人, 编(1987) *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York。本文所述的核酸可为(例如)DNA或RNA,并且可含有或可不含有内含子序列。在一些实施方案中,核酸是cDNA分子。

[0306] 本文所述的核酸可使用标准分子生物学技术来获得。对于由杂交瘤(例如,从如下文进一步描述的携带人免疫球蛋白基因的转基因小鼠制备的杂交瘤)表达的抗体,编码由杂交瘤所制得抗体的轻链和重链的cDNA可通过标准PCR扩增或cDNA克隆技术来获得。对于从免疫球蛋白基因文库获得的抗体(例如,使用噬菌体展示技术),可从文库回收编码抗体的核酸。

[0307] 在一些方面,核酸可进一步编码信号肽。

[0308] 本文所述的核酸分子可经修饰以缺失特定序列(例如,限制性酶识别序列)或使密码子优化。

[0309] 用于制备本文所公开的抗CCR8抗体的方法可包括在细胞系中表达重链和轻链,所

述细胞系中包含编码所述重链和轻链以及信号肽的核苷酸序列。本文涵盖包含这些核苷酸序列的宿主细胞。

[0310] 在获得编码VH和VL区段的DNA片段后,可通过标准重组DNA技术进一步操纵这些DNA片段,以(例如)将可变区基因转化成长抗体链基因、Fab片段基因或scFv基因。在这些操纵中,编码VL或VH的DNA片段可操作地连接至编码另一蛋白质的另一DNA片段,诸如抗体恒定区或柔性接头。如在此背景下所用,术语“可操作地连接”意欲指两个DNA片段接合,使得由所述两个DNA片段编码的氨基酸序列保持在框内。

[0311] 可通过将编码VH的DNA可操作地连接至编码重链恒定区(铰链、CH1、CH2和/或CH3)的另一DNA分子使编码VH区的分离的DNA转化成长重链基因。人重链恒定区基因的序列在本领域中是已知的(参见,例如,Kabat,E.A.等人(1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*,第5版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH出版号91-3242),并且涵盖这些区的DNA片段可通过标准PCR扩增来获得。重链恒定区可以是IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM或IgD恒定区,例如IgG1区。对于Fab片段重链基因而言,可将编码VH的DNA可操作地连接至仅编码重链CH1恒定区的另一DNA分子。

[0312] 可通过将编码VL的DNA可操作地连接至编码轻链恒定区CL的另一DNA分子使编码VL区的分离的DNA转化成长轻链基因(以及Fab轻链基因)。人轻链恒定区基因的序列在本领域中是已知的(参见,例如,Kabat,E.A.等人(1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*,第5版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH出版号91-3242),并且涵盖这些区的DNA片段可通过标准PCR扩增来获得。轻链恒定区可以是 κ 或 λ 恒定区。

[0313] 为了产生scFv基因,将编码VH和VL的DNA片段可操作地连接至编码柔性接头(例如,编码氨基酸序列(Gly4-Ser)3)的另一片段,使得所述VH和VL序列可表达为连续单链蛋白质,其中VL和VH区由所述柔性接头接合(参见,例如,Bird等人(1988) *Science* 242:423-426;Huston等人,(1988) *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 85:5879-5883;McCafferty等人,(1990) *Nature* 348:552-554)。

[0314] 本文还提供了编码与本文所公开的抗CCR8抗体的那些VH和VL序列同源的VH和VL序列的核酸分子。示例性核酸分子编码与编码本文所公开的VH和VL序列的核酸分子至少70%同一(例如,至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%同一)的VH和VL序列。本文还提供了具有保守取代(即,在核酸分子翻译时不改变所得氨基酸序列的取代)的核酸分子,例如用于密码子优化。

[0315] 还提供了编码抗CCR8抗体(诸如本文所述的抗CCR8抗体)的VH和/或VL区的核酸,所述核酸包含与编码本文所述的抗CCR8抗体的VH和/或VL区的任一核苷酸序列至少约75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一的核苷酸序列。

[0316] 还提供了编码抗CCR8抗体(诸如本文所述的抗CCR8抗体)的重链和/或轻链的核酸,所述核酸包含与编码本文所述的抗CCR8抗体的重链和/或轻链的任一核苷酸序列至少约75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一的核苷酸序列。

[0317] 本公开的某些方面涉及包含本文公开的核酸分子的载体。在一些方面,载体选自病毒载体、哺乳动物载体和细菌载体。在一些方面,载体是病毒颗粒或病毒。在一些方面,载体是哺乳动物载体。在一些方面,载体是细菌载体。

[0318] 在某些方面,病毒载体是逆转录病毒载体。在一些方面,病毒载体选自由以下组成的组:腺病毒载体、慢病毒、仙台病毒(Sendai virus)、杆状病毒载体、爱泼斯坦-巴尔病毒载体(Epstein Barr viral vector)、乳多泡病毒载体(papovaviral vector)、牛痘病毒载体、单纯疱疹病毒载体和腺相关病毒(AAV)载体。在特定方面,载体是AAV载体。在一些方面,载体是慢病毒。在特定方面,载体是AAV载体。在一些方面,载体是仙台病毒。在一些方面,载体是杂合载体。可用于本公开中的杂合载体的实例可见于Huang和Kamihira, *Biotechnol. Adv.* 31 (2):208-23 (2103), 其以引用方式整体并入本文。

[0319] 在一些方面,载体还包含一个或多个调控元件,包括但不限于一个或多个增强子、启动子、miRNA结合序列、polyA序列、内含子序列、剪接受体位点以及它们的任何组合。在一些方面,载体包含组织特异性增强子。在一些方面,载体包含组织特异性启动子。

[0320] 本公开的某些方面涉及细胞(例如,宿主细胞),所述细胞包含本文所公开的抗CCR8抗体、本文所公开的双特异性抗体、本文所公开的BiTE、本文所公开的多特异性抗体、本文所公开的双互补位抗体、本文所公开的CAR、本文所公开的TCR、本文所公开的核酸分子或本文所公开的载体。细胞可以是任何类型的细胞。在一些方面,细胞选自哺乳动物细胞、细菌细胞、昆虫细胞、植物细胞和酵母细胞。在一些方面,细胞选自由以下组成的组:大肠杆菌(*E. coli*)细胞、真菌(诸如酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和巴斯德毕赤酵母(*Pichia pastoris*))、昆虫细胞(诸如SF9)、哺乳动物细胞系(例如,人细胞系)和原代细胞系。

[0321] 在一些方面,所述细胞是免疫细胞。在一些方面,所述细胞是T细胞。因此,本公开的某些方面涉及包含本文所公开的CAR或TCR的免疫细胞(例如,T细胞)。

[0322] II.G. 药物组合物

[0323] 在某些方面,本公开提供了包含抗CCR8抗体和药学上可接受的稀释剂、载体、增溶剂、乳化剂、防腐剂和/或佐剂的药物组合物。

[0324] 在某些方面,可接受的制剂材料优选地在所采用的剂量和浓度下对接受者无毒。在某些方面,一种或多种制剂材料用于皮下和/或静脉内施用。在某些方面,药物组合物可包含用于改变、维持或保存例如组合物的pH、重量摩尔渗透压浓度、粘度、澄清度、颜色、等渗性、气味、无菌性、稳定性、溶出或释放速率、吸附或渗透的制剂材料。在某些方面,合适的制剂材料包括但不限于氨基酸(诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸);抗菌剂;抗氧化剂(诸如抗坏血酸、亚硫酸钠或亚硫酸氢钠);缓冲剂(诸如硼酸盐、碳酸氢盐、Tris-HCl、柠檬酸盐、磷酸盐或其他有机酸);填充剂(诸如甘露醇或甘氨酸);螯合剂(诸如乙二胺四乙酸(EDTA));络合剂(诸如咖啡因、聚乙烯吡咯烷酮、 β -环糊精或羟基丙基- β -环糊精);填充物;单糖;二糖;和其他碳水化合物(诸如葡萄糖、甘露糖或糊精);蛋白质(诸如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白);着色剂、调味剂和稀释剂;乳化剂;亲水聚合物(诸如聚乙烯吡咯烷酮);低分子量多肽;成盐抗衡离子(诸如钠);防腐剂(诸如苯扎氯铵、苯甲酸、水杨酸、硫柳汞、苯乙醇、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、氯己定、山梨酸或过氧化氢);溶剂(诸如甘油、丙二醇或聚乙二醇);糖醇(诸如甘露醇或山梨醇);悬浮剂;表面活性剂或湿润剂(诸如普流尼克、PEG、脱水山梨醇酯、聚山梨醇酯诸如聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80、triton、氨丁三醇、卵磷脂、胆固醇、泰洛沙泊);稳定性增强剂(诸如蔗糖或山梨醇);张力增强剂(诸如碱金属卤化物,优选氯化钠或氯化钾,甘露醇山梨醇);递送媒介物;稀释剂;赋形

剂和/或药物佐剂。(Remington's Pharmaceutical Sciences,第18版,A.R.Gennaro,编辑,Mack Publishing Company(1995)。在某些方面,制剂包含PBS;20mM NaOAC(pH 5.2)、50mM NaCl;和/或10mM NAOAC(pH 5.2)、9%的蔗糖。在某些方面,最佳药物组合物将由本领域技术人员根据例如预期的施用途、递送形式和所需剂量来确定。参见例如,Remington's Pharmaceutical Sciences,同上。在某些方面,此类组合物可影响抗CCR8抗体的物理状态、稳定性、体内释放速率和/或体内清除速率。

[0325] 在某些方面,药物组合物中的主要媒介物或载体本质上可以是水性或非水性的。例如,在某些方面,合适的媒介物或载体可以是注射用水、生理盐水溶液或人工脑脊液,其可能补充有用于肠胃外施用的组合物中常用的其他材料。在某些方面,盐水包含等渗磷酸盐缓冲盐水。在某些方面,中性缓冲盐水或与血清白蛋白混合的盐水是另外的示例性媒介物。在某些方面,药物组合物包含pH为约7.0-8.5的Tris缓冲液,或pH为约4.0-5.5的乙酸盐缓冲液,其还可包含山梨醇或其合适的替代物。在某些方面,可通过将所选的具有所需纯度的组合物与任选的配制剂(Remington's Pharmaceutical Sciences,同上)以冻干饼或水溶液的形式混合来制备包含抗CCR8抗体的组合物以用于储存。另外,在某些方面,可使用合适的赋形剂诸如蔗糖将包含抗CCR8抗体的组合物配制成冻干物。

[0326] 在某些方面,可选择药物组合物用于肠胃外递送。在某些方面,可选择组合物用于吸入或通过消化道(诸如口服)递送。此类药学上可接受的组合物的制备在本领域技术人员的能力范围内。

[0327] 在某些方面,制剂组分以施用部位可接受的浓度存在。在某些方面,缓冲液用于将组合物保持在生理pH或稍低的pH下,通常在约5至约8的pH范围内。

[0328] 在某些方面,当设想肠胃外施用,治疗性组合物可以无热原、肠胃外可接受的水溶液的形式存在于药学上可接受的媒介物中,所述水溶液包含抗CCR8抗体。在某些方面,用于肠胃外注射的媒介物是无菌蒸馏水,其中抗CCR8抗体被配制成无菌等渗溶液,并被适当保存。在某些方面,所述制备可涉及将所需分子与剂(诸如可注射微球、生物可侵蚀颗粒、聚合化合物(诸如聚乳酸或聚乙醇酸)、珠粒或脂质体)一起配制,所述剂可提供产品的受控或持续释放,所述产品然后通过储库注射进行递送。在某些方面,还可使用透明质酸,所述透明质酸可具有促进循环中的持续时间的的作用。在某些方面,可植入药物递送装置可用于引入所需的分子。

[0329] 在某些方面,药物组合物可被配制用于吸入。在某些方面,抗CCR8抗体可被配制成干粉用于吸入。在某些方面,可用用于气雾剂递送的推进剂配制包含抗CCR8抗体的吸入溶液。在某些方面,可将溶液雾化。在PCT申请号PCT/US94/001875(其描述了经化学修饰的蛋白质的肺部递送)中进一步描述了肺部施用。

[0330] 在某些方面,设想了可口服施用制剂。在某些方面,可用或可不用通常用于配制固体剂型诸如片剂和胶囊剂的那些载体来配制以这种方式施用的抗CCR8抗体。在某些方面,胶囊剂可被设计成在胃肠道中在生物利用度被最大化且体系前降解被最小化时的点释放制剂的活性部分。在某些方面,可包括至少一种另外的剂以促进抗CCR8抗体的吸收。在某些方面,还可使用稀释剂、调味剂、低熔点蜡、植物油、润滑剂、悬浮剂、片剂崩解剂和粘合剂。

[0331] 在某些方面,药物组合物可包含有效量的抗CCR8抗体与适合于片剂生产的无毒赋形剂的混合物。在某些方面,通过将片剂溶解在无菌水或另一种合适的媒介物中,可以单位

剂量形式制备溶液。在某些方面,合适的赋形剂包括但不限于惰性稀释剂,诸如碳酸钙、碳酸钠或碳酸氢钠、乳糖或磷酸钙;或粘合剂,诸如淀粉、明胶或阿拉伯胶;或润滑剂,诸如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石。

[0332] 其他药物组合物对本领域技术人员来说是显而易见的,包括在持续或受控释放制剂中包含抗CCR8抗体的制剂。在某些方面,用于配制多种其他持续或受控递送部件(诸如脂质载体、可生物消蚀的微粒或多孔珠粒和储库注射剂)的技术对于本领域技术人员来说也是已知的。参见例如描述用于递送药物组合物的多孔聚合物微粒的受控释放的PCT申请号PCT/US93/00829。在某些方面,持续释放制剂可包括成型制品形式(例如薄膜或微胶囊)的半透性聚合物基质。持续释放基质可包括聚酯、水凝胶、聚丙交酯(美国专利第3,773,919和EP 058,481)、L-谷氨酸和 γ -乙基-L-谷氨酸的共聚物(Sidman等人,Biopolymers,22:547-556(1983))、聚(2-羟基乙基-甲基丙烯酸酯)(Langer等人,J.Biomed.Mater.Res.,15:167-277(1981)和Langer,Chem.Tech.,12:98-105(1982))、乙烯乙酸乙烯酯(Langer等人,同上)或聚-D(-)-3-羟基丁酸(EP 133,988)。在某些方面,持续释放组合物还可包含脂质体,其可通过本领域中已知的几种方法中的任一种来制备。参见,例如,Eppstein等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,82:3688-3692(1985);EP 036,676;EP 088,046和EP 143,949。

[0333] 用于体内施用的药物组合物通常是无菌的。在某些方面,这可通过无菌过滤膜过滤来实现。在某些方面,当冻干组合物时,使用该方法的灭菌可在冻干和复原之前或之后进行。在某些方面,用于肠胃外施用的组合物可以冻干形式或溶液形式储存。在某些方面,通常将肠胃外组合物置于具有无菌入口的容器中,例如,具有可被皮下注射针头刺穿的塞子的静脉内注射溶液袋或小瓶。

[0334] 在某些方面,一旦配制了药物组合物,就可将其以溶液、悬浮液、凝胶、乳液、固体的形式或作为脱水或冻干粉末储存在无菌小瓶中。在某些方面,可将此类制剂以即用型形式或以在施用前复原的形式(例如,冻干的)储存。

[0335] 在某些方面,提供了用于产生单剂量施用单位的药盒。在某些方面,药盒可包含含有干燥蛋白质的第一容器和含有水性制剂的第二容器。在某些方面,包括了包含单室和多室预填充注射器(例如,液体注射器和冻干注射器)的药盒。

[0336] 在某些方面,待治疗性使用的包含抗CCR8抗体的药物组合物的有效量将取决于例如治疗背景和目标。本领域技术人员将理解,根据某些方面,用于治疗的合适剂量水平将因此部分取决于所递送的分子、对其使用抗CCR8抗体的适应症、施用途径和患者的尺寸(体重、身体表面积或器官尺寸)和/或状况(年龄和一般健康状况)而变化。在某些方面,临床医生可滴定剂量并修改施用途径以获得最佳治疗效果。

[0337] 在某些方面,给药频率将考虑所用制剂中抗CCR8抗体的药代动力学参数。在某些方面,临床医生将施用该组合物,直至达到实现期望效果的剂量。在某些方面,所述组合物因此可随时间以单剂量或两个或更多个剂量(其可包含或不包含相同量的所需分子)施用,或者作为经由植入装置或导管的连续输注施用。适当剂量的进一步细化由本领域普通技术人员常规进行,并且在他们常规执行的任务的范围内。在某些方面,可通过使用适当的剂量-反应数据来确定适当的剂量。

[0338] 在某些方面,药物组合物的施用途径依照已知的方法,例如口服,通过经由静脉内、腹膜内、脑内(实质内)、脑室内、肌内、皮下、眼内、动脉内、门静脉内或病变内途径的注

射;通过持续释放系统或植入装置。在某些方面,组合物可通过推注射施用或通过输注连续施用,或通过植入装置施用。在某些方面,组合疗法的单个成分可通过不同的途径施用。

[0339] 在某些方面,可通过植入其上已吸附或包封了所需分子的膜、海绵或另一种合适的材料来局部施用所述组合物。在某些方面,在使用植入装置的情况下,可将所述装置植入任何合适的组织或器官中,并且所需分子的递送可通过扩散、定时释放推注或连续施用来进行。在某些方面,可希望以离体方式使用包含抗CCR8抗体的药物组合物。在此类情况下,将从患者取出的细胞、组织和/或器官暴露于包含抗CCR8抗体的药物组合物中,之后将所述细胞、组织和/或器官植入回患者体内。

[0340] 在某些方面,可通过使用方法(诸如本文所述的那些方法)植入某些已被遗传工程化的细胞以表达和分泌多肽来递送抗CCR8抗体。在某些方面,此类细胞可以是动物或人细胞,并且可以是自体的、异源的或异种的。在某些方面,可使细胞永生化。在某些方面,为了减少免疫响应的机会,可包封细胞以避免对周围组织的浸润。在某些方面,包封材料通常是生物相容的、半透性的聚合物外壳或膜,其允许一种或多种蛋白质产物的释放,但防止细胞被患者的免疫系统或来自周围组织的其他有害因素破坏。

[0341] III. 本公开的方法

[0342] 本公开的某些方面涉及制备和/或使用本文所公开的抗CCR8抗体的方法。

[0343] III.A. 使用方法

[0344] 本公开的某些方面涉及减少、消耗或杀伤肿瘤浸润性Treg的方法,其包括向受试者施用本文所公开的抗CCR8抗体。本公开的一些方面涉及减少、消耗或杀伤肿瘤浸润性Treg的方法,所述方法包括施用本文所公开的双特异性抗体、BiTE、多特异性抗体、双互补位抗体、免疫缀合物、CAR、TCR、核酸分子或核酸分子组、载体或载体组、细胞或药物组合物。

[0345] 本公开的某些方面涉及使NK细胞活化或诱导NK细胞介导的肿瘤浸润性调节性Treg杀伤的方法,所述方法包括向受试者施用本文所公开的抗CCR8抗体。本公开的一些方面涉及使NK细胞活化或诱导NK细胞介导的肿瘤浸润性调节性Treg杀伤的方法,所述方法包括施用本文所公开的双特异性抗体、BiTE、多特异性抗体、双互补位抗体、免疫缀合物、CAR、TCR、核酸分子或核酸分子组、载体或载体组、细胞或药物组合物。

[0346] 在一些方面,接触是在体外。在一些方面,接触是在体内。在一些方面,接触治疗有需要的受试者的疾病或疾患。在一些方面,接触促进受试者中的免疫响应。在一些方面,受试者具有肿瘤,并且接触增强对所述肿瘤的免疫响应。

[0347] 本公开的某些方面涉及治疗有需要的受试者的肿瘤的方法,所述方法包括向所述受试者施用本文所公开的抗CCR8抗体。本公开的一些方面涉及治疗有需要的受试者的肿瘤的方法,所述方法包括施用本文所公开的双特异性抗体、BiTE、多特异性抗体、双互补位抗体、免疫缀合物、CAR、TCR、核酸分子或核酸分子组、载体或载体组、细胞或药物组合物。

[0348] 在一些方面,受试者具有肿瘤。在一些方面,肿瘤选自自由以下组成的组:卡波西氏肉瘤、白血病、急性淋巴细胞白血病、急性髓细胞白血病、成髓细胞早幼粒细胞髓单核细胞红白血病、慢性白血病、慢性髓细胞(粒细胞)白血病、慢性淋巴细胞性白血病、套细胞淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、伯基特淋巴瘤和边缘区B细胞淋巴瘤、真性红细胞增多性淋巴瘤、霍奇金病、非霍奇金病、多发性骨髓瘤、沃尔登斯特伦巨球蛋白血症、重链疾病、实体瘤、肉瘤和癌、纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、成骨肉瘤、骨肉瘤、脊索瘤、血管

肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮肉瘤、滑膜瘤、间皮瘤、尤因氏瘤、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、结肠肉瘤、结直肠癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管癌、肾细胞癌、肝细胞癌(HCC)、肝细胞瘤、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎性癌、肾母细胞瘤、宫颈癌、子宫癌、睾丸肿瘤、肺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神经胶质瘤、星形细胞瘤、髓母细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、血管母细胞瘤、听神经瘤、少突神经胶质瘤、脑膜瘤、黑素瘤、神经母细胞瘤、视网膜母细胞瘤、鼻咽癌、食道癌、基底细胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脑和中枢神经系统(CNS)癌、宫颈癌、绒毛膜癌、结直肠癌、结缔组织癌、消化系统癌、子宫内膜癌、食道癌、眼癌、头颈癌、胃癌、上皮内肿瘤、肾癌、喉癌、肝癌、肺癌(小细胞、大细胞)、黑素瘤、神经母细胞瘤；口腔癌(例如唇、舌、口和咽)、卵巢癌、胰腺癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、直肠癌；呼吸系统癌症、肉瘤、皮肤癌、胃癌、睾丸癌、甲状腺癌、子宫癌和泌尿系统癌,或它们的任何组合。

[0349] 在一些方面,肿瘤对先前疗法具有难治性。在一些方面,肿瘤对先前标准照护疗法具有难治性。在一些方面,先前疗法包含免疫疗法、化学疗法、手术、放射疗法或它们的任何组合。在一些方面,肿瘤对先前化学疗法具有难治性。在一些方面,肿瘤对先前免疫疗法具有难治性。在一些方面,肿瘤是复发性的。

[0350] 在一些方面,肿瘤是晚期的。在一些方面,肿瘤是局部晚期的。在一些方面,肿瘤是转移性的。

[0351] 在一些方面,抗CCR8抗体与另外的抗癌剂组合施用。在一些方面,所述另外的抗癌剂选自小分子、多肽、放射疗法、手术以及它们的组合。

[0352] 在一些方面,抗CCR8抗体在另外的抗癌剂之前施用。在一些方面,抗CCR8抗体在另外的抗癌剂之后施用。在一些方面,抗CCR8抗体与另外的抗癌剂同时施用。在一些方面,抗CCR8抗体和另外的抗癌剂被配制在单一组合物中。

[0353] 在一些方面,所述另外的抗癌剂包含化学疗法。化学疗法可以是本领域中已知的任何化学疗法。在一些方面,化学疗法是针对特定癌症类型的标准照护治疗。在一些方面,化学疗法是基于铂的化学疗法。在一些方面,化学疗法选自由以下组成的组:多柔比星(ADRIAMYCIN®)、顺铂、卡铂、硫酸博来霉素、卡莫司汀、苯丁酸氮芥(LEUKERAN®)、环磷酰胺(CYTOXAN®; NEOSAR®)、来那度胺(REVLIMID®)、硼替佐米(VELCADE®)、地塞米松、米托蒽醌、依托泊苷、阿糖胞苷、苯达莫司汀(TREANDA®)、利妥昔单抗(RITUXAN®)、异环磷酰胺、长春新碱(ONCOVIN®)、氟达拉滨(FLUDARA®)、沙利度胺(THALOMID®)、阿伦单抗(CAMPATH®)、奥法木单抗(ARZERRA®)、依维莫司(AFINITOR®、ZORTRESS®)、卡非佐米(KYPROLISTM)以及它们的任何组合。

[0354] 在一些方面,另外的抗癌剂包含免疫疗法。在一些方面,免疫疗法选自PD-1拮抗剂、PD-L1抑制剂、TIM-3抑制剂、LAG-3抑制剂、TIGIT抑制剂、CD112R抑制剂、TAM抑制剂、STING激动剂、4-1BB激动剂、CCL22抑制剂、诱导NK细胞活化的剂以及它们的任何组合。

[0355] 在一些方面,另外的抗癌疗法包含PD-1拮抗剂。本领域中已知的任何PD-1拮抗剂均可与本文所公开的抗CCR8抗体组合使用。在一些方面,PD-1拮抗剂是特异性地结合PD-1

的抗体或其抗原结合部分。可与本文所公开的抗CCR8抗体组合使用的PD-1拮抗剂的非限制性实例包括PDR001、纳武单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗、MEDI0680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591和AMP-224。

[0356] 在一些方面，另外的抗癌疗法包含PD-L1抑制剂。本领域中已知的任何PD-L1抑制剂均可与本文所公开的抗CCR8抗体组合使用。在一些方面，PD-L1抑制剂是特异性地结合PD-L1的抗体或其抗原结合部分。可与本文所公开的抗CCR8抗体组合使用的PD-L1抑制剂的非限制性实例包括FAZ053、阿特殊单抗、阿维鲁单抗、德瓦鲁单抗和BMS-936559。

[0357] 在一些方面，另外的抗癌疗法包含TIM-3抑制剂。本领域中已知的任何TIM-3抑制剂均可与本文所公开的抗CCR8抗体组合使用。在一些方面，TIM-3抑制剂是特异性地结合TIM-3的抗体或其抗原结合部分。可与本文所公开的抗CCR8抗体组合使用的TIM-3抑制剂的非限制性实例包括MGB453和TSR-022。

[0358] 在一些方面，另外的抗癌疗法包含LAG-3抑制剂。本领域中已知的任何LAG-3抑制剂均可与本文所公开的抗CCR8抗体组合使用。在一些方面，LAG-3抑制剂是特异性地结合LAG-3的抗体或其抗原结合部分。可与本文所公开的抗CCR8抗体组合使用的LAG-3抑制剂的非限制性实例包括LAG525、BMS-986016和TSR-033。

[0359] 在一些方面，另外的抗癌疗法包含TIGIT抑制剂。本领域中已知的任何TIGIT抑制剂均可与本文所公开的抗CCR8抗体组合使用。在一些方面，TIGIT抑制剂是特异性地结合TIGIT的抗体或其抗原结合部分。

[0360] 在一些方面，另外的抗癌疗法包含CD112R抑制剂。本领域中已知的任何CD112R抑制剂均可与本文所公开的抗CCR8抗体组合使用。在一些方面，CD112R抑制剂是特异性地结合CD112R的抗体或其抗原结合部分。

[0361] 在一些方面，另外的抗癌疗法包含CCL22抑制剂。本领域中已知的任何CCL22抑制剂均可与本文所公开的抗CCR8抗体组合使用。在一些方面，CCL22抑制剂是特异性地结合CCL22的抗体或其抗原结合部分。

[0362] 在一些方面，另外的抗癌疗法是诱导NK细胞活化并且因此增强CCR8抗体的ADCC活性的剂。在一些方面，诱导NK细胞活化的剂是抗体或其抗原结合部分、小分子、细胞因子或细胞因子融合物。

[0363] 在某些方面，另外的抗癌剂包含选自以下组成的组的抗癌剂：舒尼替尼(SUTENT[®])、卡博替尼(CABOMETYX[®])、阿西替尼(INLYT A[®])、乐伐替尼(LENVIMA[®])、依维莫司(AFINITOR[®])、贝伐单抗(AV ASTIN[®])、依多司他、NKTR-214 (CD-122偏向性激动剂)、替伏扎尼(FOTIVDA[®])、艾贝司他、伊匹单抗(YERVOY[®])、曲美木单抗、帕唑帕尼(VOTRIENT[®])、索拉非尼(NEXAVAR[®])、西罗莫司(TORISEL[®])、雷莫芦单抗(CYRAMZA[®])、尼拉帕尼、沃利替尼、沃洛拉尼(X-82)、瑞格非尼(STIVARGO[®])、多纳非尼(多激酶抑制剂)、卡瑞利珠单抗(SHR-1210)、迪-培萨替莫近(JX-594)、雷莫芦单抗(CYRAMZA[®])、阿帕替尼(YN968D1)、包封的阿霉素(THERMODOX[®])、替万替尼(ARQ197)、ADI-PEG 20、比美替尼、甲磺酸阿帕替尼、尼达尼布、利瑞鲁单抗、纳武单抗

(OPDIVO[®])、派姆单抗(KEYTRUDA[®])、阿特殊单抗(T ECENTRIQ[®])、阿维单抗(BAVENCIO[®])、德瓦鲁单抗(IMFIMZI[®])、西米普利单抗-rwlc (LIBTAYO[®])、替雷利珠单抗、斯巴达珠单抗以及它们的任何组合。

[0364] 在一些方面,所述另外的抗癌剂包含TAM(Axl、Mer、Tyro)抑制剂。在一些方面,所述另外的抗癌剂包含4-1BB激动剂。在一些方面,所述另外的抗癌剂包含酪氨酸激酶抑制剂(TKI)。可与本文所公开的抗CCR8抗体组合使用的TKI的非限制性实例包括甲磺酸伊马替尼、达沙替尼、尼罗替尼和博舒替尼。

[0365] 本公开的抗CCR8抗体可通过任何合适的途径来施用。在一些方面,静脉内施用抗CCR8抗体。在一些方面,皮下施用抗CCR8抗体。在一些方面,肌肉施用抗CCR8抗体。在一些方面,腹膜内施用抗CCR8抗体。在一些方面,口服施用抗CCR8抗体。

[0366] III.B. 产生抗CCR8抗体的方法

[0367] 本公开的特征还在于用于产生本文所述的任一抗CCR8抗体的方法。在一些方面,用于制备本文所述抗体的方法可包括用适当免疫原对受试者(例如,非人哺乳动物)进行免疫。本文阐述了用于产生本文所述的任何抗体的合适免疫原。例如,为了产生结合至人CCR8的N末端细胞外结构域的抗体,技术人员可用包含N末端细胞外结构域的人CCR8片段对合适的受试者(例如,非人哺乳动物,诸如大鼠、小鼠、沙鼠、仓鼠、狗、猫、猪、山羊、马或非人灵长类动物)进行免疫。在一些方面,使用包含SEQ ID NO:172所示的氨基酸序列的片段多肽作为免疫原。

[0368] 可用合适的抗原对合适的受试者(例如,非人哺乳动物)进行免疫,同时随后进行足以引发哺乳动物产生抗体的多次加强免疫。可将免疫原与佐剂一起向受试者(例如,非人哺乳动物)施用。用于在受试者中产生抗体的佐剂包括但不限于蛋白质佐剂;细菌佐剂,例如完整细菌(BCG、厌氧短棒杆菌(*Corynebacterium parvum*)或明尼苏达沙门菌(*Salmonella minnesota*))和细菌组分,包括细胞壁骨架、海藻糖二霉菌酸酯、单磷酸基脂质A、结核杆菌(*tubercle bacillus*)的甲醇可提取残留物(MER)、完全或不完整弗氏佐剂;病毒佐剂;化学佐剂,例如氢氧化铝以及碘乙酸盐和胆固醇半琥珀酸酯。可用于诱导免疫响应的方法中的其他佐剂包括例如霍乱毒素和副痘病毒蛋白。还参见Bieg等人(1999) *Autoimmunity* 31(1):15-24。还参见例如,Lodmell等人(2000) *Vaccine* 18:1059-1066; Johnson等人(1999) *J Med Chem* 42:4640-4649; Baldridge等人(1999) *Methods* 19:103-107; 以及Gupta等人(1995) *Vaccine* 13(14):1263-1276。

[0369] 在一些方面,所述方法包括制备分泌与免疫原结合的单克隆抗体的杂交瘤细胞系。例如,用如上所述的CCR8多肽对合适的哺乳动物诸如实验室小鼠进行免疫。可在免疫原的至少一次强化免疫后2至4天分离免疫哺乳动物的抗体产生细胞(例如,脾脏的B细胞),然后将其在与合适的骨髓瘤细胞系的细胞融合之前在培养中短暂生长。可将细胞在融合启动子(诸如例如痘苗病毒或聚乙二醇)存在下融合。克隆在融合中获得的杂交细胞,并选择分泌所需抗体的细胞克隆。例如,可将用合适的免疫原免疫的Balb/c小鼠的脾细胞与骨髓瘤细胞系PA1或骨髓瘤细胞系Sp2/0-Ag 14的细胞融合。融合后,将细胞在合适的培养基中扩增,以规则的间隔为所述培养基补充选择培养基,例如HAT培养基,以防止正常骨髓瘤细胞生长超过所需的杂交瘤细胞。然后筛选获得的杂交细胞的所需抗体(例如与人CCR8结合的

抗体)的分泌,并且在一些方面,技术人员可从美国专利第6,300,064号(属于Knappik等人; Morphosys AG)和Schoonbroodt等人(2005) *Nucleic Acids Res* 33(9):e81中描述的非免疫偏向的文库中鉴定抗CCR8抗体。

[0370] 在一些方面,本文所述的方法可涉及例如噬菌体展示技术、细菌展示、酵母表面展示、真核生物病毒展示、哺乳动物细胞展示和无细胞(例如,核糖体展示)抗体筛选技术与或所述技术结合使用(参见例如,Etz等人(2001) *J Bacteriol* 183:6924-6935;Cornelis(2000) *Curr Opin Biotechnol* 11:450-454;Klemm等人(2000) *Microbiology* 146:3025-3032;Kieke等人(1997) *Protein Eng* 10:1303-1310;Yeung等人(2002) *Biotechnol Prog* 18:212-220;Boder等人(2000) *Methods Enzymology* 328:430-444;Grabherr等人(2001) *Comb Chem High Throughput Screen* 4:185-192;Michael等人(1995) *Gene Ther* 2:660-668;Pereboev等人(2001) *J Virol* 75:7107-7113;Schaffitzel等人(1999) *J Immunol Methods* 231:119-135;以及Hanes等人(2000) *Nat Biotechnol* 18:1287-1292)。

[0371] 使用各种噬菌体展示方法鉴定抗体的方法是本领域已知的。在噬菌体展示方法中,将功能性抗体结构域展示在携带编码它们的多核苷酸序列的噬菌体颗粒的表面上。这种噬菌体可用于展示抗体的抗原结合结构域,诸如Fab、Fv或二硫键稳定的Fv抗体片段,其从文库或组合抗体文库(例如,人或鼠)中表达。这些方法中使用的噬菌体通常是丝状噬菌体,诸如fd和M13。抗原结合结构域表达为与噬菌体外壳蛋白pIII、pVIII或pIX中的任一种重组融合的蛋白质。参见例如,Shi等人(2010) *JMB* 397:385-396。本文所述的可用于制备免疫球蛋白或其片段的噬菌体展示方法的实例包括以下文献中公开的那些:Brinkman等人(1995) *J Immunol Methods* 182:41-50;Ames等人(1995) *J Immunol Methods* 184:177-186;Kettleborough等人(1994) *Eur J Immunol* 24:952-958;Persic等人(1997) *Gene* 187:9-18;Burton等人(1994) *Advances in Immunology* 57:191-280;以及PCT公布第W0 90/02809号、第W0 91/10737号、第W0 92/01047号、第W0 92/18619号、第W0 93/11236号、第W0 95/15982号和第W0 95/20401号。合适的方法也描述在例如美国专利第5,698,426号、第5,223,409号、第5,403,484号、第5,580,717号、第5,427,908号、第5,750,753号、第5,821,047号、第5,571,698号、第5,427,908号、第5,516,637号、第5,780,225号、第5,658,727号、第5,733,743号和第5,969,108号中。

[0372] 在一些方面,噬菌体展示抗体库可使用从免疫哺乳动物的B细胞收集的mRNA来产生。例如,可从用上述CCR8多肽免疫的小鼠中分离包含B细胞的脾细胞样品。可从细胞中分离出mRNA,并使用标准分子生物学技术将其转化为cDNA。参见,例如,Sambrook等人(1989) “*Molecular Cloning:A Laboratory Manual*,第2版,”Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.;Harlow和Lane(1988),同上;Benny K.C.Lo(2004),同上;以及Borrebaek(1995),同上。将编码免疫球蛋白重链和轻链多肽的可变区的cDNA用于构建噬菌体展示文库。用于产生这种文库的方法描述于,例如,Merz等人(1995) *J Neurosci Methods* 62(1-2):213-9;Di Niro等人(2005) *Biochem J* 388(Pt 3):889-894;以及Engberg等人(1995) *Methods Mol Biol* 51:355-376中。

[0373] 在一些方面,选择和筛选的组合可用于从例如杂交瘤产生的抗体群体或噬菌体展示抗体文库中鉴定目标抗体。合适的方法在本领域中是已知的,并且描述于例如Hoogenboom(1997) *Trends in Biotechnology* 15:62-70;Brinkman等人(1995),同上;Ames

等人(1995),同上;Kettleborough等人(1994),同上;Persic等人(1997),同上;以及Burton等人(1994),同上中。例如,使用标准分子生物学技术产生多种噬菌粒载体(每种噬菌粒载体编码噬菌体外壳蛋白(例如,M13噬菌体的pIII、pVIII或pIX)与不同抗原结合区的融合蛋白),然后将其引入细菌群体(例如,大肠杆菌)中。在一些方面,细菌中噬菌体的表达可能需要使用辅助噬菌体。在一些方面,不需要辅助噬菌体(参见,例如,Chasteen等人,(2006) *Nucleic Acids Res* 34(21):e145)。回收从细菌产生的噬菌体,然后将其与例如与固体支持物结合的(固定的)靶抗原接触。还可将噬菌体与溶液中的抗原接触,随后使复合物结合到固体支持物上。

[0374] 可使用本领域中已知的任何基于免疫学或生物化学的方法来表征使用上述方法筛选的抗体亚群的对特定抗原(例如,人CCR8)的特异性和结合亲和力。例如,抗体与CCR8的特异性结合可以例如使用基于免疫学或生物化学的方法来确定,所述方法是诸如但不限于,如上所述的ELISA测定、SPR测定、免疫沉淀测定、亲和色谱和平衡透析。可用于分析抗体的免疫特异性结合和交叉反应性的免疫测定包括但不限于竞争性和非竞争性测定系统,其使用诸如蛋白质印迹、RIA、ELISA(酶联免疫吸附测定)、“夹心”免疫分析、免疫沉淀测定、免疫扩散测定、凝集测定、补体结合测定、免疫放射测定、荧光免疫测定和蛋白A免疫测定等技术。此类测定是常规的并且在本领域中是公知的。

[0375] 在其中选择的CDR氨基酸序列是短序列(例如,长度少于10-15个氨基酸)的方面,可如例如Shiraishi等人(2007) *Nucleic Acids Symposium Series* 51(1):129-130和美国专利第6,995,259号中所述,化学合成编码CDR的核酸。对于编码受者抗体的给定核酸序列,编码CDR的核酸序列的区域可使用标准分子生物学技术,利用化学合成的核酸来替换。可以合成化学合成的核酸的5'和3'末端以包含粘性末端限制性酶切位点,用于将核酸克隆到编码供体抗体的可变区的核酸中。

[0376] III.C. 重组抗体的表达和纯化

[0377] 本文所述的抗体或其抗原结合片段可使用分子生物学和蛋白质化学领域中已知的多种技术来生产。例如,可将编码抗体的重链和轻链多肽中的一种或两种的核酸插入包含转录和翻译调控序列的表达载体中,所述调控序列包括例如启动子序列、核糖体结合位点、转录起始和终止序列、翻译起始和终止序列、转录终止子信号、多腺苷酸化信号和增强子或激活子序列。调控序列包括启动子以及转录起始和终止序列。另外,表达载体可包括一个以上的复制系统,使得其可在两种不同的生物体中得以保持,例如在哺乳动物或昆虫细胞中进行表达,以及在原核宿主中进行克隆和扩增。

[0378] 几种可能的载体系统可用于在哺乳动物细胞中表达从核酸克隆的重链和轻链多肽。一类载体依赖于将所需基因序列整合到宿主细胞基因组中。具有稳定整合的DNA的细胞可通过同时引入药物抗性基因诸如大肠杆菌gpt (Mulligan和Berg (1981) *Proc Natl Acad Sci USA* 78:2072) 或Tn5 neo (Southern和Berg (1982) *Mol Appl Genet* 1:327) 来选择。可将选择标记基因与待表达的DNA序列连接,或者可通过共转染将可选择标记基因引入同一细胞(Wigler等人(1979) *Cell* 16:77)。第二类载体利用赋予染色体外质粒自主复制能力的DNA元件。这些载体可源自动物病毒,诸如牛乳头瘤病毒 (Sarver等人(1982) *Proc Natl Acad Sci USA*, 79:7147)、巨细胞病毒、多瘤病毒 (Deans等人(1984) *Proc Natl Acad Sci USA* 81:1292) 或SV40病毒 (Lusky和Botchan (1981) *Nature* 293:79)。

[0379] 可将表达载体以适合核酸后续表达的方式引入细胞。如下所论述的,引入方法主要由靶细胞类型决定。示例性方法包括CaPO₄沉淀、脂质体融合、阳离子脂质体、电穿孔、病毒感染、葡聚糖介导的转染、凝聚胺介导的转染、原生质体融合和直接显微注射。

[0380] 用于表达抗体或其抗原结合片段的合适宿主细胞包括酵母、细菌、昆虫、植物和哺乳动物细胞。特别感兴趣的是细菌诸如大肠杆菌、真菌诸如酿酒酵母和毕赤酵母、昆虫细胞诸如SF9、哺乳动物细胞系(例如,人细胞系)以及原代细胞系。

[0381] 在一些方面,抗体或其片段可在转基因动物(例如,转基因哺乳动物)中表达并从中纯化。例如,如在例如Houdebine (2002) *Curr Opin Biotechnol* 13(6):625-629; van Kuik-Romeijn等人(2000) *Transgenic Res* 9(2):155-159; 和Pollock等人(1999) *J Immunol Methods* 231(1-2):147-157中所述,可在转基因非人哺乳动物(例如,啮齿动物)中产生抗体,并从乳汁中分离所述抗体。

[0382] 抗体及其片段可通过在足以允许蛋白质表达的条件下培养用含有编码抗体或片段的核酸的表达载体转化的宿主细胞,持续一定量的时间而从细胞中产生。用于蛋白质表达的此类条件将随表达载体和宿主细胞的选择而变化,并且将由本领域技术人员通过常规实验来容易地确定。例如,可将在大肠杆菌中表达的抗体从包涵体中重新折叠(参见例如, Hou等人(1998) *Cytokine* 10:319-30)。细菌表达系统及其使用方法在本领域中是公知的(参见 *Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley&Sons, and *Molecular Cloning--A Laboratory Manual--* 第3版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (2001))。密码子、合适的表达载体和合适的宿主细胞的选择将根据许多因素而变化,并且可以根据需要容易地进行优化。本文所述的抗体(或其片段)可在哺乳动物细胞或其他表达系统(包括但不限于酵母、杆状病毒)和体外表达系统(参见例如, Kaszubska等人(2000) *Protein Expression and Purification* 18:213-220)中表达。

[0383] 表达后,可以分离抗体及其片段。抗体或其片段可用本领域技术人员已知的多种方法分离或纯化,这取决于样品中存在的其他组分。标准纯化方法包括电泳技术、分子技术、免疫学技术和色谱技术,包括离子交换色谱、疏水色谱、亲和色谱和反相HPLC色谱。例如,可使用标准抗-抗体柱(例如,蛋白-A或蛋白-G柱)纯化抗体。与蛋白质浓缩结合的超滤和渗滤技术也是有用的。参见,例如, Scopes (1994) "Protein Purification, 第3版," Springer-Verlag, New York City, New York。必需的纯化程度将根据所需的用途而变化。在一些情况下,所表达的抗体或其片段的纯化不是必需的。

[0384] 测定纯化抗体或其片段的产率或纯度的方法在本领域中是已知的,包括例如 Bradford测定、紫外光谱学、双缩脲蛋白测定、Lowry蛋白测定、氨基黑蛋白测定、高压液相色谱(HPLC)、质谱(MS)和凝胶电泳方法(例如,使用蛋白染色剂诸如考马斯蓝或胶体银染色)。

[0385] III.D. 抗体或其抗原结合片段的修饰

[0386] 可在表达和纯化后修饰抗体或其抗原结合片段。修饰可以是共价或非共价修饰。此类修饰可通过例如多肽的靶向氨基酸残基与能够与选定的侧链或末端残基反应的有机衍生剂反应而引入抗体或片段中。可使用多个标准(包括例如抗体或片段的结构分析或氨基酸序列分析)中的任一个选择合适的修饰位点。

[0387] 在一些方面,可将抗体或其抗原结合片段与异源部分缀合。异源部分可以是例如

异源多肽、治疗剂(例如,毒素或药物)或可检测的标记,诸如但不限于放射性标记、酶促标记、荧光标记、重金属标记、发光标记或亲和标签诸如生物素或链霉抗生物素蛋白。合适的异源多肽包括,例如,抗原性标签(FLAG(DYKDDDDK(SEQ ID NO:241))、聚组氨酸(6-His; HHHHHH(SEQ ID NO:142))、血凝素(HA; YPYDVPDYA(SEQ ID NO:242))、谷胱甘肽-S-转移酶(GST)或麦芽糖结合蛋白(MBP)),用于纯化抗体或片段。异源多肽还包括用作诊断或可检测标志物的多肽(例如酶),例如萤光素酶、荧光蛋白(例如,绿色荧光蛋白(GFP))或氯霉素乙酰转移酶(CAT)。合适的放射性标记包括例如³²P、³³P、¹⁴C、¹²⁵I、¹³¹I、³⁵S和³H。合适的荧光标记包括但不限于荧光素、异硫氰酸荧光素(FITC)、绿色荧光蛋白(GFP)、DyLight™488、藻红蛋白(PE)、碘化丙啶(PI)、PerCP、PE-Alexa Fluor®700、Cy5、别藻蓝蛋白和Cy7。发光标记包括,例如,多种发光镧系元素(例如,铈或铽)螯合物中的任一种。例如,合适的铈螯合物包括二乙烯三胺五乙酸(DTPA)或四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)的铈螯合物。酶促标记包括例如碱性磷酸酶、CAT、萤光素酶和辣根过氧化物酶。

[0388] 两种蛋白质(例如,抗体和异源部分)可使用许多已知的化学交联剂中的任一种进行交联。此类交联剂的实例是通过包含“受阻的”二硫键的键联连接两个氨基酸残基的那些交联剂。在这些键联中,交联单元内的二硫键被保护(通过阻碍二硫键两侧上的基团)免受通过例如还原型谷胱甘肽或二硫化物还原酶的作用进行的还原。一种合适的试剂4-琥珀酰亚胺基氧基羰基- α -甲基- α -(2-吡啶基二硫代)甲苯(SMPT)利用一种蛋白质上的末端赖氨酸和另一种蛋白质上的末端半胱氨酸在两个蛋白质之间形成这种键联。还可使用通过每个蛋白质上不同的偶联部分交联的异双功能试剂。其他有用的交联剂包括但不限于连接两个氨基(例如,N-5-叠氨基-2-硝基苯甲酰基氧基琥珀酰亚胺)、两个巯基(例如,1,4-双-马来酰亚胺基丁烷)、氨基和巯基(例如,间-马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯)、氨基和羧基(例如,4-[对-叠氨基水杨酰胺基]丁胺)以及氨基和存在于精氨酸的侧链中的胍基(例如,对-叠氨基苯基乙二醛一水合物)的试剂。

[0389] 在一些方面,可将放射性标记直接与抗体的氨基酸骨架直接缀合。或者,可将放射性标记作为更大分子的一部分(例如,间-[¹²⁵I]碘代苯基-N-羟基琥珀酰亚胺([¹²⁵I]mIPNHS)中的¹²⁵I)包含,其与游离氨基结合以形成相关蛋白质的间碘代苯基(mIP)衍生物(参见例如,Rogers等人(1997) J Nucl Med 38:1221-1229)或螯合物(例如,与DOTA或DTPA的螯合物),然后又将其与蛋白质骨架结合。将放射性标记或含有它们的更大的分子/螯合物与本文所述的抗体或抗原结合片段缀合的方法是本领域已知的。此类方法涉及在有利于放射性标记或螯合剂与蛋白质结合的条件(例如,pH、盐浓度和/或温度)下将蛋白质与放射性标记一起孵育(例如,参见美国专利第6,001,329号)。

[0390] 将荧光标记(有时称为“荧光团”)与蛋白质(例如,抗体)缀合的方法在蛋白质化学领域中是已知的。例如,可使用连接到荧光团的琥珀酰亚胺(NHS)酯或四氟苯基(TFP)酯部分,将荧光团与蛋白质的游离氨基(例如,赖氨酸的)或巯基(例如,半胱氨酸的)缀合。在一些方面,可将荧光团与异双官能交联剂部分(诸如磺基-SMCC)缀合。合适的缀合方法涉及在促进荧光团与蛋白质结合的条件下,将抗体蛋白质或其片段与荧光团一起孵育。参见,例如,Welch和Redvanly(2003)“Handbook of Radiopharmaceuticals:Radiochemistry and Applications,” John Wiley和Sons (ISBN 0471495603)。

[0391] 在一些方面,可例如用改善抗体在循环中(例如,在血液、血清或其他组织中)的稳

定性和/或保留的部分修饰抗体或片段。例如,可如例如Lee等人(1999) *Bioconjug Chem* 10 (6):973-8;Kinstler等人(2002) *Advanced Drug Deliveries Reviews* 54:477-485;和Roberts等人(2002) *Advanced Drug Delivery Reviews* 54:459-476中所述对抗体或片段进行聚乙二醇化,或者可对所述对抗体或片段进行羟乙基化(HESylated) (Fresenius Kabi, Germany; 参见例如 **Pavisić** 等人(2010) *Int J Pharm* 387 (1-2):110-119)。稳定化部分可将抗体(或片段)的稳定性或保留性提高至少1.5倍(例如,至少2倍、5倍、10倍、15倍、20倍、25倍、30倍、40倍或50倍或更多倍)。

[0392] 在一些方面,可使本文所述的抗体或其抗原结合片段糖基化。在一些方面,可将本文所述的抗体或其抗原结合片段进行酶促或化学处理,或者从细胞中产生所述抗体或其抗原结合片段,使得所述抗体或片段具有减少的糖基化或不存在糖基化。用于产生糖基化减少的抗体的方法是本领域已知的,并且描述于例如美国专利第6,933,368号;Wright等人(1991) *EMBO J* 10 (10):2717-2723;和Co等人(1993) *Mol Immunol* 30:1361。

[0393] 实施例

[0394] 实施例1:抗体的产生

[0395] 针对CCR8的N末端片段产生17种对人CCR8具有特异性的单克隆抗体。

[0396] 抗体噬菌体淘选、克隆和转染

[0397] 将表达与6X His标签融合的人或食蟹猴CCR8的N末端细胞外结构域以及随后的小鼠IgG2a-Fc的重组蛋白(CCR8-Fc)克隆到哺乳动物表达载体中(分别SEQ ID NO:173和174;表4)。对于人蛋白质,使位置25处的游离半胱氨酸突变为丝氨酸以防止二硫键合。将所得分泌蛋白通过在CHO细胞中转染来表达并使用蛋白A进行纯化,并将其用作使用Fab展示文库进行噬菌体淘选的抗原。对于淘选,将纯化的蛋白质偶合至M280甲苯磺酰基珠粒或ELISA板,并且使用标准方法进行淘选。在人CCR8-ECD-Fc上进行连续数轮的淘选或与食蟹猴CCR8-ECD-Fc以交替轮次进行淘选,每一轮通过洗涤去除未结合的噬菌体。将来自所得结合噬菌体库的DNA分离,并且将重链和轻链序列克隆到哺乳动物表达载体中。使个别转化的菌落在96孔细菌培养板中的孔中单独生长,并使用Qiagen Turbo Miniprep试剂盒对DNA进行纯化。使用96孔DNA微型文库以相同96孔格式转染CHO细胞,并且在37°C、7%CO₂孵育器中孵育三天后收获所分泌的抗体上清液。

[0398] 表4:CCR8-ECD-Fc序列(信号肽;CCR8细胞外结构域;6X His标签和接头;以及小鼠IgG2a-Fc)

[0399]	<p>人 CCR8-Fc</p> <p><i>MGWSCIILFLVATATGAHSMDYTLDL SVTTVTDYYY PDIFSSPSDAELIQTN GK HHHHHHSGGGGSEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGP SVFIFPPKIKDVL MISLS PIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFN NVEVHTAQTQT HREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNKDL PAPIERTISKPKGSVRA PQVYVLPPPEEEMTKKQVT LTCMVTD FMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLD SDGSYFMYSKLRVEKKNWV ERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK (SEQ ID NO: 173)</i></p>
	<p>食蟹猴 CCR8-Fc</p> <p><i>MGWSCIILFLVATATGAHSMDYTLDP SMTTMTDYY YPDSLSSPSDGELIQRNDK HHHHHHSGGGGSEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGP SVFIFPPKIKDVL MISLS PIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFN NVEVHTAQTQT HREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNKDL PAPIERTISKPKGSVRA PQVYVLPPPEEEMTKKQVT LTCMVTD FMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLD SDGSYFMYSKLRVEKKNWV ERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK (SEQ ID NO: 174)</i></p>

[0400] CHO上清液的流式细胞术

[0401] 使用 Accutase® 收获表达人 CCR8、食蟹猴 CCR8、小鼠 CCR8 和人 CCR2 的 293T 细胞，并且将 100,000 个细胞分配到 96 孔 v 形底板的每一孔中。在一些情况下，还测试了表达天然人 CCR8 的细胞系 Hut78。接着将微型文库 CHO 上清液以 1:2 的最终稀释度添加到每一细胞类型中，并将其在 4°C 下孵育 1 小时。在形成团块后，将细胞与抗人-Fc-生物素和随后的链霉抗生物素蛋白-APC 一起或与抗人-Fc-APC 一起在 4°C 下孵育 30 分钟。在洗涤和固定后，利用碘化丙啶使细胞在 FACS Canto II 上运行以进行活/死区分。对活细胞进行分析，并且将显示特异性结合至 CCR8 (人和/或食蟹猴) 但不结合至 CCR2 的克隆送出以进行 DNA 测序和进一步测试。

[0402] 抗 CCR8-1 的开发

[0403] 通过如上文所概述的在人 CCR8 N 末端蛋白上的噬菌体淘选开发出亲代抗体抗 CCR8-亲代-1，其对 293T-人 CCR8 细胞系的亲和力为 1nM。为了改善亲和力，在牛痘病毒中产生文库，其中使重链的 CDR3 随机化。在牛痘中产生 12,000 种 CDR3 变体的文库。在用重链 CDR3 文库 (每个细胞一种克隆) 和亲代轻链病毒构建体感染过夜后，在细胞表面上表达全长人 IgG 抗体 (参照)。将感染的 A431 细胞与最终浓度为 0.1 μg/ml 的人 CCR8-N 末端蛋白一起孵育，洗涤并用抗 Fc-DyLight649 染色以检测 CCR8 蛋白结合并且用抗 Hu-Fab-FITC 染色以检测细胞表面上的抗体表达。分选出 2000 个具有高抗体表达和高 CCR8 结合的细胞，并且使病毒扩

增。从病毒库提取DNA,并且将新的重链V基因克隆到含有信号序列和人IgG1恒定结构域的哺乳动物细胞表达载体中(产生全长IgG1)并连同亲代轻链一起在CHO细胞中共转染,以用于如上文所概述的克隆评估。与亲代重链相比,发现抗CCR8-1抗体(包含具有SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列的可变重链和具有SEQ ID NO:43所示的氨基酸序列的可变轻链)在CDR3中具有三个氨基酸突变,并且其对293T-人CCR8细胞系的亲和力为0.4nM。发现抗CCR8-1抗体结合huCCR8-ECD-Fc,但不结合CyCCR8-ECD-Fc(图1A),并且所述抗体优先结合表达HuCCR8但不表达cyno CCR8、人CCR2或小鼠CCR8的293T细胞(图1B)。

[0404] 抗CCR8-1-1、抗CCR8-1-2、抗CCR8-2-3、抗CCR8-1-4和抗CCR8-1-5的开发

[0405] 将亲代抗体(抗CCR8-亲代-1)的重链克隆到牛痘病毒中,以有助于利用Vaccinex的牛痘展示人IgG文库进行轻链改组淘选。简言之,将 6×10^8 个BHK细胞用来自抗CCR8-亲代-1抗体的重链(H23188)和来自未经处理(*naïve*)来源的 λ 轻链库感染。在37°C、7%CO₂下孵育两天后,收获上清液,并且通过离心使在表面上表达人IgG文库的牛痘病毒颗粒形成团块。使团块重新悬浮,并且与偶合至M280甲苯磺酰基珠粒的纯化的人CCR8-Fc蛋白一起孵育。洗去未结合的病毒并扩增结合的病毒以用于后续轮次。在人CCR8-Fc蛋白上实施两轮、之后在cyno CCR8-Fc蛋白上实施两轮后,提取来自结合库的DNA,并且将新的轻链连同亲代重链一起克隆到哺乳动物表达载体中以进行CHO转染和如上文所详述的流式细胞术分析。发现抗CCR8-1-1、抗CCR8-1-2、抗CCR8-2-3、抗CCR8-1-4和抗CCR8-1-5抗体以较CyCCR8-ECD-Fc更高的特异性结合huCCR8-ECD-Fc(分别为图1C、图1E、图1G、图1H和图1K),并且相对于cyno CCR8、人CCR2和小鼠CCR8,各抗体优先结合表达HuCCR8的293T细胞(分别为图1D、图1F、图1H、图1J和图1K)。

[0406] 表5:抗CCR8抗体

抗体来源	Mab 编号	重链 (SEQ ID NO)	轻链	对 293T-Hu CCR8 细胞的亲和力(nM)	对 293T-Cy CCR8 细胞的亲和力(nM)	与 HuCCR8-Fc 蛋白的结合	与 CyCCR8-Fc 蛋白的结合
亲代	抗 CCR8-亲代-1	H23188	L1037	1.06	>50	++++	-
HCD R3 随机化	抗 CCR8-1	41	43	0.41	>50	+++	-
[0407] VL 改组	抗 CCR8-1-1	101	103	1.01	22.1	+++	+
VL 改组	抗 CCR8-1-2	111	113	1.06	>50	+++	+
VL 改组	抗 CCR8-1-3	121	123	1.38	>50	+++	+
VL 改组	抗 CCR8-1-4	131	133	0.28	35.9	+++	+
VL 改组	抗 CCR8-1-5	141	143	1.36	48.6	+++	+

[0408] 抗CCR8-2和抗CCR8-2-1的开发

[0409] 通过如上文所概述的噬菌体淘选开发亲代抗体(抗CCR8-亲代-2),其中在人蛋白上进行两轮,之后在食蟹猴N末端蛋白上进行两轮。发现所述亲代抗体结合至人和食蟹猴CCR8细胞系两者,其中亲和力分别为19.9nM和11.1nM。为了改善亲和力,在噬菌体中产生文库,其中使重链的CDR1和CDR2随机化。将此文库在Cyno-CCR8-ECD-Fc蛋白上进行一轮淘选,之后在人-CCR8-ECD-Fc蛋白上进行连续两轮淘选。以96孔格式对个别噬菌体克隆进行处理,并且通过噬菌体ELISA在人和食蟹猴蛋白两者以及阴性抗原上进行分析。将对CCR8具有特异性的克隆送出以进行测序并克隆到哺乳动物表达载体中以进行进一步表征。抗CCR8-2抗体对293T-HuCCR8细胞具有0.4nM并且对293T-Cyno CCR8细胞具有0.9nM的改善亲和力,所述改善亲和力是源自各自在CDR1和CDR2中的两个氨基酸突变。抗CCR8-2和抗CCR8-2-1抗体均显示与人和cyno CCR8蛋白两者(图2C和图2E)以及表达人和cyno CCR8两者的细胞(图2D和图2F)的结合。

[0410] 抗CCR8-2-2的开发

[0411] 将亲代抗体抗CCR8-亲代-2的重链克隆到牛痘病毒中,以有助于利用牛痘展示人IgG文库进行轻链改组淘选。简言之,将 6×10^8 个BHK细胞用来自抗CCR8-亲代-2抗体的重链(H23407)和来自未经处理来源的 λ 轻链库感染。在37°C、7%CO₂下孵育两天后,收获上清液,并且通过离心使在表面上表达人IgG文库的牛痘病毒颗粒形成团块。使团块重新悬浮,并且

与偶合至M280甲苯磺酰基珠粒的纯化的食蟹猴CCR8-Fc蛋白一起孵育。洗去未结合的病毒并扩增结合的病毒以用于后续轮次。在食蟹猴CCR8-Fc蛋白上实施两轮后,利用0.1 μ g/ml生物素-食蟹猴CCR8-Fc和0.1 μ g/ml人CCR8-Fc蛋白分选出结合库中的人/cyno交叉结合剂。收集针对两种蛋白质的最高结合剂,扩增并提取DNA以克隆到哺乳动物表达载体中,以进行CHO转染和如上文所详述的流式细胞术分析。将显示与293T-CCR8细胞系最佳结合的轻链与来自抗CCR8-2抗体的重链(H23727)交叉配对,以检查亲和力的协同改善。与亲代相比,抗CCR8-2-2抗体展现改善的与人CCR8的交叉反应性结合(图2E至图2F)。

[0412] 表6:抗CCR8抗体

抗体来源	Mab 编号	重链 (SEQ ID NO)	轻链 (SEQ ID NO)	对 293T-Hu CCR8 细胞的亲和力(nM)	对 293T-Cy CCR8 细胞的亲和力(nM)	与 HuCCR8-Fc 蛋白的结合	与 CyCCR8-Fc 蛋白的结合
亲代	抗 CCR8-亲代-2	H23407	L1032	19.9	11.1	++++	++++
[0413] HCDR1/HCDR2 随机化	抗 CCR8-2	11	13	0.41	0.94	+++	+++
HCDR1/HCDR2 随机化	抗 CCR8-2-1	51	53	0.54	1.09	+++	+++
HCDR1/HCDR2 随机化和 VL 改组	抗 CCR8-2-2	161	163	0.8	1.6	+++	+++

[0414] 抗CCR8-2-3和抗CCR8-2-4的开发

[0415] 通过如上文所概述的噬菌体淘选开发亲代抗体抗CCR8-亲代-3,其中在人蛋白上进行两轮,之后在食蟹猴N末端蛋白上进行两轮。发现所述亲代抗体结合至人CCR8细胞系,亲和力为6.8nM。为了改善亲和力,在噬菌体中产生文库,其中使重链的CDR3随机化。将此文库在Cyno-CCR8-ECD-Fc蛋白上进行一轮淘选,之后在人-CCR8-ECD-Fc蛋白上进行一轮淘选。提取来自结合库的DNA,并且将其克隆到哺乳动物表达载体中以进行CHO转染和如上文所详述的流式细胞术分析。抗CCR8-2-3和抗CCR8-2-4抗体均显示与人和cyno CCR8细胞系两者的交叉反应性结合(图2G至图2J)。

[0416] 抗CCR8-2-5和抗CCR8-2-6的开发

[0417] 还在牛痘病毒中制得抗CCR8-亲代-3抗体重链的CDR3变体的文库。利用1 μ g/ml生物素-食蟹猴CCR8-Fc和1 μ g/ml人CCR8-Fc蛋白分选出文库中的人/cyno交叉结合剂。收集针对两种蛋白质的最高结合剂,扩增并提取DNA以克隆到哺乳动物表达载体中,以进行CHO转染和如上文所详述的流式细胞术分析。抗CCR8-2-5和抗CCR8-2-6抗体均显示与人和cyno CCR8细胞系两者的交叉反应性结合(图2K至图2N)。

[0418] 抗CCR8-2-7、抗CCR8-2-8、抗CCR8-2-9和抗CCR8-2-10的开发

[0419] 将抗CCR8-亲代-3抗体的重链克隆到牛痘病毒中,以有助于利用Vaccinex的牛痘展示人IgG文库进行轻链改组淘选。简言之,将6 \times 10⁸个BHK细胞用来自抗CCR8-亲代-3抗体的重链(H23373)和来自未经处理来源的 λ 轻链库感染。在37 $^{\circ}$ C、7%CO₂下孵育两天后,收获上清液,并且通过离心使在表面上表达人IgG文库的牛痘病毒颗粒形成团块。使团块重新悬浮,并且与偶合至M280甲苯磺酰基珠粒的纯化的食蟹猴CCR8-Fc蛋白一起孵育。洗去未结合的病毒并扩增结合的病毒以用于后续轮次。在食蟹猴CCR8-Fc蛋白上实施两轮后,利用0.1 μ g/ml生物素-食蟹猴CCR8-Fc和0.1 μ g/ml人CCR8-Fc蛋白分选出结合库中的人/cyno交叉结合剂。收集针对两种蛋白质的最高结合剂,扩增并提取DNA以克隆到哺乳动物表达载体中,以进行CHO转染和如上文所详述的流式细胞术分析。将显示与293T-CCR8细胞系最佳结合的轻链与来自抗CCR8-2-3抗体的重链(H23499)和经由噬菌体重链CDR3作用而开发的其他重链交叉配对,以检查亲和力的协同改善。相对于抗CCR8-亲代-3抗体,抗CCR8-2-7、抗CCR8-2-8、抗CCR8-2-9和抗CCR8-2-10抗体均显示与人和食蟹猴CCR8细胞系两者的结合增强(图2O至图2V)。

[0420] 表7:抗CCR8抗体

[0421]

抗体来源	Mab 编号	重链 (SEQ ID NO)	轻链 (SEQ ID NO)	对 293T-HuCCR8 细胞的亲和力 (nM)	对 293T-CyCCR8 细胞的亲和力 (nM)	与 HuCCR8-Fc 蛋白的结合	与 CyCCR8-Fc 蛋白的结合
亲代	抗 CCR8-亲代-3	H23373	L1032	6.8	>50	++++	++++
HCD R3 随机化	抗 CCR8-2-3	91	93	2.5	3.9	++++	++++
HCD R3 随机化	抗 CCR8-2-4	21	23	0.96	2.4	++++	++++
HCD R3 随机化	抗 CCR8-2-5	21	23	2.9	5.2	+++	+++
HCD R3 随机化	抗 CCR8-2-6	151	153	1.5	4.5	+++	+++
HCD R3 随机化和 VL 改组	抗 CCR8-2-7	31	33	1.3	3.5	++++	+++
HCD R3 随机化和 VL 改组	抗 CCR8-2-8	71	73	1.5	2.5	++++	+++

[0422]	HCD R3 随机化和 VL 改组	抗 CCR8-2-9	61	63	1.5	3.2	++++	++++
	HCD R3 随机化和 VL 改组	抗 CCR8-2-10	81	83	2.4	3.9	+++	+++

[0423] 实施例2:抗体结合CCR8

[0424] 在所述17种抗体中,选择两种进行进一步表征:抗CCR8-1,其包含具有SEQ ID NO.41所示的氨基酸序列的可变重链和具有SEQ ID NO:43所示的氨基酸序列的可变轻链;和抗CCR8-2,其包含具有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的可变重链和具有SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列的可变轻链。

[0425] 为了测试CCR8抗体是否结合至细胞表达的人或食蟹猴CCR8,针对人或食蟹猴CCR8用慢病毒感染293T和Raji细胞。将表达CCR8构建体的细胞系与CCR8抗体一起以剂量依赖性方式在4℃下孵育30min,通过洗涤去除未结合的CCR8抗体,并且使用荧光缀合的抗人二级抗体在4℃下检测结合的CCR8抗体持续30min。结果显示,抗CCR8-1(图3A)和抗CCR8-2(图3B)两者均结合至人CCR8细胞系,而抗CCR8-2(图3B)结合至食蟹猴CCR8细胞系。

[0426] 实施例3:抗体结合至CCR8⁺肿瘤Treg

[0427] 为了测试CCR8抗体是否结合至CCR8⁺肿瘤Treg,从新鲜切除的肿瘤中分离出肿瘤浸润性白细胞(TIL)并且平铺于96孔板中。在4℃下,将TIL与带荧光标签的抗体组(CD3、CD4、FOXP3)一起孵育以鉴定肿瘤Treg。另外,将CCR8抗体与单一浓度的TIL一起在4℃下孵育30min,通过洗涤去除未结合的CCR8抗体,并且使用荧光缀合的抗人二级抗体在4℃下检测结合的CCR8抗体持续30min。结果显示,抗CCR8-1和抗CCR8-2两者均结合至CCR8⁺肿瘤Treg(图4A至图4B)。

[0428] 实施例4:抗体在ADCC报告生物测定中诱导ADCC信号传导

[0429] 为了测试CCR8抗体是否诱导ADCC信号传导,根据制造商的说明书,将CCR8抗体与被表达人或食蟹猴CCR8的293T细胞一起以剂量依赖性方式于96孔板中在37℃下孵育6小时。将CD16Jurkat抗体依赖性细胞毒性(ADCC)报告细胞与复合有CCR8抗体的靶细胞一起共培养。在实验完成后,通过CD16 Jurkat ADCC报告细胞上的生物发光读出测定ADCC信号传导。结果显示,抗CCR8-1和抗CCR8-2两者均诱导使用人CCR8细胞系作为靶标的ADCC信号传导,而抗CCR8-2还诱导使用食蟹猴CCR8细胞系的ADCC信号传导(图5)。

[0430] 实施例5:使用PBMC作为效应细胞,抗体诱导对被表达人和食蟹猴CCR8的细胞的ADCC

[0431] 为了测试CCR8抗体是否诱导对CCR8⁺细胞的ADCC,在96孔板中将CCR8抗体与被表达人或食蟹猴CCR8并且标记有CellTrace Violet的293T或Raji靶细胞一起以剂量依赖性方式孵

育。将PBMC与复合有CCR8抗体的靶细胞一起在37℃下共培养过夜。在实验完成后,通过流式细胞术评估CCR8⁺靶细胞的数目。结果显示,抗CCR8-1和抗CCR8-2两者均诱导对人CCR8细胞系的ADCC(图6A),而抗CCR8-2还诱导对食蟹猴CCR8细胞系的ADCC(图6B)。

[0432] 实施例6:使用NK细胞作为效应细胞,抗体诱导对被迫表达人CCR8的细胞的ADCC

[0433] 为了测试CCR8抗体是否诱导对CCR8⁺细胞的ADCC,在96孔板中将CCR8抗体与被迫表达人CCR8并且标记有CellTrace Violet的Raji靶细胞一起以剂量依赖性方式孵育。将NK细胞与复合有CCR8抗体的靶细胞一起在37℃下共培养4小时。在实验完成后,通过流式细胞术评估CCR8⁺靶细胞的数目。结果显示,抗CCR8-1和抗CCR8-2两者均诱导对人CCR8细胞系的ADCC(图7A至图7B)。

[0434] 实施例7:抗体在与被迫表达人CCR8的细胞的共培养测定中调节NK细胞活化标志物并杀伤表达CCR8的细胞

[0435] 为了测试CCR8抗体是否调节NK细胞的活化标志物,在96孔板中将CCR8抗体与被迫表达人CCR8并且标记有CellTrace Violet的Raji靶细胞一起以剂量依赖性方式孵育。将NK细胞与复合有CCR8抗体的靶细胞一起在37℃下共培养过夜。在实验完成后,通过测量NK细胞的细胞表面上的4-1BB、ICAM-1和CD16表达的流式细胞术来评估CCR8⁺靶细胞的数目。结果显示,抗CCR8-1和抗CCR8-2两者均诱导细胞表面上4-1BB和ICAM-1的上调,而CD16在NK细胞的细胞表面上下调(图8A、图8C)。

[0436] 为了测试CCR8抗体是否杀伤表达CCR8的细胞,在96孔板中将抗体与Raji细胞和被迫表达人CCR8的Raji靶细胞(“Raji-CCR8细胞”) (并且标记有CellTrace Violet)两者一起以剂量依赖性方式孵育。在实验完成后,通过测量剩余CellTrace Violet阳性细胞数目的流式细胞术来评估CCR8⁺靶细胞的数目。结果显示,抗CCR8-1和抗CCR8-2两者均杀伤Raji-CCR8细胞,并且不杀伤不含CCR8的Raji细胞(图8B)。

[0437] 实施例8:使用NK细胞作为效应细胞,抗体诱导对肿瘤Treg的ADCC

[0438] 为了测试CCR8抗体是否诱导对CCR8⁺肿瘤Treg的ADCC,从新鲜切除的人肿瘤中分离出TIL并且将其与CCR8抗体一起孵育。将NK细胞与TIL:抗体复合物一起于96孔板中在37℃下共培养过夜。在实验完成后,通过流式细胞术评估肿瘤Treg的数目。结果显示,抗CCR8-1和抗CCR8-2两者均诱导人肿瘤Treg杀伤(图9A)。

[0439] 实施例9:抗体诱导CCR8在被迫表达人CCR8的细胞中的内化

[0440] 为了测试CCR8抗体是否诱导CCR8-IgG复合物内化,将CCR8抗体与pH敏感性FabFluor试剂一起孵育以产生CCR8内化报告抗体。使用此抗体缀合物将被迫表达人CCR8的293T细胞在37℃下处理30min。在293T细胞上进行抗体孵育期间,抗体结合至CCR8并诱导内化成酸性胞内体,从而从缀合的FabFluor试剂引发荧光信号。在实验完成后,可通过流式细胞术分析荧光信号并在抗体缀合物之间进行比较。结果显示,使用人CCR8细胞系作为靶标,抗CCR8-1和抗CCR8-2两者均诱导CCR8内化(图10)。

[0441] 实施例10:Retrogenix抗体结合实验

[0442] 为了鉴定CCR8抗体的靶标,将CCR8抗体与被迫表达约4,500种细胞表面蛋白的呈固定或存活状态的细胞一起孵育。已证明抗CCR8-1仅结合至CCR8,而抗CCR8-2还结合至类淀粉前体样蛋白2(APLP2),但浓度显著较低(数据未显示)。

[0443] 实施例11:抗CCR8抗体表位的表征

[0444] 为了表征CCR8抗体的结合位点,将CCR8抗体与Raji-CCR8细胞一起以剂量依赖性方式于96孔板中在4℃下孵育30min。将未结合的CCR8抗体洗掉,并且将细胞与单一浓度的荧光缀合的人单克隆抗CCR8抗体(市售)一起在37℃下孵育30min。在实验完成后,通过流式细胞术评估市售单克隆CCR8抗体的结合。结果显示,抗CCR8-1部分地阻断市售单克隆CCR8抗体与细胞结合,而抗CCR8-2则不阻断(图11)。

[0445] 实施例12:无岩藻糖基化的CCR8抗体显示增强的ADCC活性

[0446] 使抗CCR8-1进一步优化以从抗体的(IgG1)Fc区去除岩藻糖单元。为了测试对ADCC信号传导的诱导,根据制造商的说明书,将CCR8抗体与被迫表达人CCR8的293T细胞一起以剂量依赖性方式于96孔板中在37℃下孵育6h。将CD16VV或CD16FF Jurkat ADCC报告细胞与复合有CCR8抗体的靶细胞一起共培养。在实验完成后,通过CD16 Jurkat ADCC报告细胞上的生物发光读出测定ADCC信号传导。结果显示,抗CCR8-1和抗CCR8-2两者均诱导使用人CCR8细胞系作为靶标的ADCC信号传导,而抗CCR8-2还诱导使用食蟹猴CCR8细胞系的ADCC信号传导(图12A至图12B)。高和低亲和力等位基因多态性均观测到活性增加。

[0447] 实施例12:抗体结合肿瘤Treg并诱导ADCC

[0448] 为了测试CCR8抗体是否结合肿瘤Treg并诱导ADCC,从新鲜肾脏和乳腺肿瘤切除物中分离出肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)并且将其与抗CCR8-1抗体一起孵育。使用PE缀合的抗人IgG抗体测量抗CCR8-1抗体结合(图13A),并且使用商业购得的纯化的抗人CD213a1(IL-13-Ra1)抗体作为阳性对照(Biolegend目录号360404)。如图13A中所示,三角形代表来自肾脏肿瘤的TIL并且圆圈代表来自乳腺肿瘤的TIL。所有数据均通过流式细胞术获得。

[0449] 在后续实验中,使来自新鲜肾脏和乳腺肿瘤切除物的分离的TIL与同种异体NK细胞和抗CCR8-1抗体、莫加珠单抗(mogamulizumab)或同种型对照一起孵育24小时。使用流式细胞术测量作为Treg(FoxP3+)或其他淋巴细胞(FoxP3-)的CD3+细胞的百分比。在NK细胞存在下,抗CCR8-1抗体导致Treg大量损失,而不影响非Treg群体。

[0450] 总之,这些数据显示,抗CCR8-1抗体结合肿瘤Treg并且引起NK细胞介导的ADCC。

[0451] 表8:序列

SEQ ID NO:	序列
1	VQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAM

[0453]

	HWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKG RFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARG RESYRVSLRFDYWGQGTLVTVSS
3	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYV SWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKS GTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSLSAWVF GGGTKLT
5	DYAMH
6	GISWNSGSIGYADSVKG
7	GRESYRVSLRFDY
8	SGSSSNIGNNYVS
9	DNNKRPS
10	GTWDSLSAWV
11	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCAAGGFTFSAYT MNWVRQAPGKGLEWVSAISASGGRTYYADSVK GRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR RFARGWFDPWGQGTLVTVSS
13	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYV SWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKS GTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSLSAWVF GGGTKLT
15	AYTMN
16	AISASGGRTYYADSVKG
17	RFARGWFDP
18	SGSSSNIGNNYVS
19	DNNKRPS
20	GTWDSLSAWV
21	EVQLVES GGGLVQP GRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVK GRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAR GRKSYRVSLRFDYWGQGTLVTVSS
23	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYV SWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKS GTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSLSAWVF GGGTKLT
25	DYAMH
26	GISWNSGSIGYADSVKG
27	GRKSYRVSLRFDY
28	SGSSSNIGNNYVS
29	DNNKRPS
30	GTWDSLSAWV
31	EVQLVES GGGLVQP GRSLRLSCAASGFTFDDYA

[0454]

	MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVK GRFTISRDNSKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAR GRDSYRKSLRFDYWGQGTLVTVSS
33	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSGSNIGNNYV SWYQQLPGTAPKMLIYDNTRRPSGIPDRFSGSKS DTSATLGITGLQTGDEADYYCGAWDSSLRMWV FGGTKLTVL
35	DYAMH
36	GISWNSGSIGYADSVKG
37	GRDSYRKSLRFDY
38	TGSGSNIGNNYVS
39	DNTRRPS
40	GAWDSSLRMWV
41	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY YMHWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKF QGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCA RAVRNRFRFDYWGQGTLVTVSS
42	
43	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNLV SWYQQHPGKAPKLMYEVSKRPSGVSNRFSGSK SGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGSSTFVVF GGTKLTVL
45	SYMH
46	IINPSGGSTSYAQKFQ
47	AVRNRFRFDY
48	TGTSSDVGSYNLVS
49	EVSKRPS
50	SSYAGSSTFVV
51	EVQLLESGGLVQPGGSLRLSCAARGFIFSGYT MLWVRQAPGKGLEWVSAITASGGRTYYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR RFARGWFDPWGQGTLVTVSS
53	QSVLTQPPSVSAAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYV SWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKS GTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSLSAWVF GGTKLT
55	GYTML
56	AITASGGRTYYADSVKG
57	RFARGWFDP
58	SGSSSNIGNNYVS
59	DNNKRPS
60	GTWDSLSAWV

[0455]

61	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVK GRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAR GRKSYRDSLRFDYWGQGLVTVSS
63	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSGSNIGNNYV SWYQQLPGTAPKMLIYDNTRRPSGIPDRFSGSKS DTSATLGITGLQTGDEADYYCGAWDSSLRMWV FGGGTKLTVL
65	DYAMH
66	GISWNSGSGIGYADSVKG
67	GRKSYRDSLRFDY
68	TGSGSNIGNNYVS
69	DNTRRPS
70	GAWDSSLRMWV
71	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVK GRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAR GRRSYRDSLRFDYWGQGLVTVSS
73	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSGSNIGNNYV SWYQQLPGTAPKMLIYDNTRRPSGIPDRFSGSKS DTSATLGITGLQTGDEADYYCGAWDSSLRMWV FGGGTKLTVL
75	DYAMH
76	GISWNSGSGIGYADSVKG
77	GRRSYRDSLRFDY
78	TGSGSNIGNNYVS
79	DNTRRPS
80	GAWDSSLRMWV
81	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVK GRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAR GRKSYRDSLRFDYWGQGLVTVSS
83	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGTSSNIGKNFVS WYQQLPGTAPKLLIYDDNKRPSGIPDRFSGSKSA TSATLGITGLQTGDGADYYCGTWDSLSAWVFG GGTKLTVL
85	DYAMH
86	GISWNSGSGIGYADSVKG
87	GRKSYRDSLRFDY
88	SGTSSNIGKNFVS
89	DDNKRPS
90	GTWDSLSAWV

[0456]

91	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVK GRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAR GRKSYRDSLRFDYWGQGLVTVSS
93	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYV SWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKS GTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSLSAWVF GGGTKLT
95	DYAMH
96	GISWNSGSGIGYADSVKG
97	GRKSYRDSLRFDY
98	SGSSSNIGNNYVS
99	DNNKRPS
100	GTWDSLSAWV
101	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSY YMHWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKF QGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCA RGVNGFRFDYWGQGLVTV
103	QSALTQPPSVSGSPGQSITISCTGTSSDVGTYNLV SWYQQHPGNAPKLMIIYEVTKRPSGVSNRFSGSK SGNTATLTISGLQAEDEADYHCSSYAGSITHVVF GGGTKLTVL
105	SYMH
106	IINPSGGSTSYAQKFQG
107	GVGNGFRFDY
108	TGTSSDVGTYNLVS
109	EVTKRPS
110	SSYAGSITHVV
111	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSY YMHWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKF QGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCA RGVNGFRFDYWGQGLVTV
113	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSGDVGSYSLV SWYQHHPNAPKLIIEVNVKRPSGVSDFRFSGSKS GNTASLTITGLQAEDEAHYFCSSYTGNIINLPVVF GGGTKLTVL
115	SYMH
116	IINPSGGSTSYAQKFQG
117	GVGNGFRFDY
118	TGTSGDVGSYSLVS
119	EVNKRPS
120	SSYTGNIINLPVV

[0457]

121	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY YMHWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKF QGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCA RGVGNFRFDYWGQGLVT
123	QSALTQPPSVSGSPGQSITISCSGTSSDVGIYNLVS WYQQHPGKAPKLIIEVIKRPSGISNRFSGFKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAGPVTYVVFV GGTKLTVL
125	SYMH
126	IINPSGGSTSYAQKFQG
127	GVGNFRFDY
128	SGTSSDVGIYNLVS
129	EVIKRPS
130	SSYAGPVTYVV
131	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY YMHWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKF QGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCA RGVGNFRFDYWGQGLVT
133	QSALTQPASVSGSPGQSITISCSGTSSNIGKYNLV SWYQQHPGEAPTLIIEATKRPSGVSNRFSGSKS GNTASLTISGLQAEDEADYICSSYAGSRVVFV GGTKLTVL
135	SYMH
136	IINPSGGSTSYAQKFQG
137	GVGNFRFDY
138	SGTSSNIGKYNLVS
139	EATKRPS
140	SSYAGSRVVFV
141	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY YMHWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKF QGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCA RGVGNFRFDYWGQGLVT
143	QSALTQPPSVSGSPGQSITISCSGTSSDVGSYNLV SWYQQEPGKAPKLIIEVKNRPSGVSNRFSGSKS GNTASLTISGLQAEDEADYHCSSYAGSSTYVVF GGTKLTVL
145	SYMH
146	IINPSGGSTSYAQKFQG
147	GVGNFRFDY
148	SGTSSDVGSYNLVS
149	EVNKRPS
150	SSYAGSSTYVV

[0458]

151	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVK GRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAR GRVSYRESLRFDYWGQGLVT
153	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYV SWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKS GTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSLSAWVF GGGTKLT
155	DYAMH
156	GISWNSGSGIGYADSVKG
157	GRVSYRESLRFDY
158	SGSSSNIGNNYVS
159	DNNKRPS
160	GTWDSLSAWV
161	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAGGFTFSAYT MNWVRQAPGKGLEWVSAISASGGRTYYADSVK GRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR RFARGWFDPWGQGLVT
163	QSVLTQPPSVSAAPGQRVTISCSGSTSNIGNHYV SWYQQLPRAVPKLVYDNDKRPSGISDRFSGSRS GTSATLDISGLQAGDEADYYCATWDYSLTAVVF GGGTKLTVL
165	AYTMN
166	AISASGGRTYYADSVKG
167	RFARGWFDP
168	SGSTSNIGNHYVS
169	DNDKRPS
170	ATWDYSLTAVV
171	MDYTLDLSTVTTVTDYYYPDIFSSPCDAELIQTNG KLLLAVFYCLLFVFSLLGNSLVILVLVVCKKLR IT DVYLLNLALSDLLFVFSFPFQTYLLDQWVFGT VMCKVVSGFYIYGFYSSMFFITLMSVDRYLAVV HAVY ALKVRTIRMGTTLCLAVWLTAIMATIPLLVFYQ VASEDGLVLCYFYNQQTLLKWKIFTNFKMNLG LLIP FTIFMFCYIKILHQLKRCQNHNKTKAIRLVLIVVI ASLLFWVPFNVVFLTSLHSMHILDGCSISQQLT Y ATHVTEIISFTHCCVNPVIYAFVGEKFKKHLSEIF QKSCSQIFNYLGRQMPRESCEKSSSCQHQHSSRSS

[0459]

	S VDYIL
172	MDYTLDL SVTTVTD YYY PDIFSSPCDAELIQTNG K
173	MGWSC IILFLVATATGAHSM DYTLDL SVTTVTD YYY PDIFSSPSDAELIQTNGKHHHHHSGGGGSE PRG PTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVL MIS LSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTA Q TQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKC KVNNKDL PAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPE EEM TKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELN YKNTEPVLDS DGSYFMYSKLRVEKKNWVERNS YSCSVV HEGLHNHHTTKSFSRTPGK
174	MGWSC IILFLVATATGAHSM DYTLDP SMTTMTD YYY PDSLSSPSDGELIQRNDKHHHHHSGGGGS EPRG PTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVL MIS LSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTA Q TQTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKC KVNNKDL PAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPE EEM TKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELN YKNTEPVLDS DGSYFMYSKLRVEKKNWVERNS YSCSVV HEGLHNHHTTKSFSRTPGK
175	MGWSC IILFLVATATGAHS

序列表

<110> 瓦西尼斯公司 (VACCINEX, INC.)

<120> 抗CCR8抗体及其用途

<130> 4416.010PC03

<150> US 63/198,803

<151> 2020-11-13

<150> US 62/985,152

<151> 2020-03-04

<150> US 62/957,758

<151> 2020-01-06

<160> 242

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 1

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

1 5 10 15

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Gly Arg Glu Ser Tyr Arg Val Ser Leu Arg Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 2

<400> 2

000

<210> 3
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列
 <400> 3
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
 20 25 30
 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
 85 90 95
 Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
 100 105

<210> 4
 <400> 4
 000
 <210> 5
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列
 <400> 5
 Asp Tyr Ala Met His
 1 5
 <210> 6
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列

<400> 6

Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 7

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 7

Gly Arg Glu Ser Tyr Arg Val Ser Leu Arg Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 8

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 8

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 9

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 10

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 10

Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Trp Val

1 5 10
 <210> 11
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗CCR8-2重链
 <400> 11
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Gly Gly Phe Thr Phe Ser Ala Tyr
 20 25 30
 Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Ala Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Phe Ala Arg Gly Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 12
 <400> 12
 000
 <210> 13
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗CCR8-2轻链
 <400> 13
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
 20 25 30
 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

	35		40		45												
Ile	Tyr	Asp	Asn	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser		
	50					55					60						
Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln		
65					70					75				80			
Thr	Gly	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Thr	Trp	Asp	Ser	Ser	Leu		
			85						90				95				
Ser	Ala	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr						
			100					105									

<210> 14

<400> 14

000

<210> 15

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 15

Ala Tyr Thr Met Asn

1 5

<210> 16

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 16

Ala Ile Ser Ala Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 17

Arg Phe Ala Arg Gly Trp Phe Asp Pro

1 5
 <210> 18
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列
 <400> 18
 Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser
 1 5 10
 <210> 19
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列
 <400> 19
 Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 1 5
 <210> 20
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列
 <400> 20
 Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Trp Val
 1 5 10
 <210> 21
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗CCR8-2-4重链、抗CCR8-2-5重链
 <400> 21
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Arg Lys Ser Tyr Arg Val Ser Leu Arg Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 22

<400> 22

000

<210> 23

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗CCR8-2-4轻链、抗CCR8-2-5轻链

<400> 23

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

<210> 24

<400> 24

000

<210> 25

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 25

Asp Tyr Ala Met His

1 5

<210> 26

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 26

Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 27

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 27

Gly Arg Lys Ser Tyr Arg Val Ser Leu Arg Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 28

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 28

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 29

<211> 7

<212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列
 <400> 29
 Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 1 5
 <210> 30
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列
 <400> 30
 Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Trp Val
 1 5 10
 <210> 31
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗CCR8-2-7重链
 <400> 31
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Arg Asp Ser Tyr Arg Lys Ser Leu Arg Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 32
 <400> 32
 000
 <210> 33
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗CCR8-2-7轻链
 <400> 33
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Asn Asn
 20 25 30
 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Met Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Asp Asn Thr Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Asp Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ala Trp Asp Ser Ser Leu
 85 90 95
 Arg Met Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110
 <210> 34
 <400> 34
 000
 <210> 35
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列
 <400> 35
 Asp Tyr Ala Met His
 1 5
 <210> 36
 <211> 17
 <212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 36

Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 37

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 37

Gly Arg Asp Ser Tyr Arg Lys Ser Leu Arg Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 38

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 38

Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 39

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 39

Asp Asn Thr Arg Arg Pro Ser

1 5

<210> 40

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 40

Gly Ala Trp Asp Ser Ser Leu Arg Met Trp Val

1 5 10

<210> 41

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗CCR8-1重链

<400> 41

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ala Val Arg Asn Arg Phe Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 42

<400> 42

000

<210> 43

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗CCR8-1轻链

<400> 43

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln

1 5 10 15

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

<210> 44

<400> 44

000

<210> 45

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 45

Ser Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 46

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 46

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 47

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 47

Ala Val Arg Asn Arg Phe Arg Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 48

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 48

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr Asn Leu Val Ser

1 5 10

<210> 49

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 49

Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 50

Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Ser Thr Phe Val Val

1 5 10

<210> 51

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗CCR8-2-1重链

<400> 51

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

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

<210> 52

<400> 52

000

<210> 53

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗CCR8-2-1轻链

<400> 53

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

<210> 54

<400> 54

000

<210> 55

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 55

Gly Tyr Thr Met Leu

1 5

<210> 56

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 56

Ala Ile Thr Ala Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 57

Arg Phe Ala Arg Gly Trp Phe Asp Pro

1 5

<210> 58

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 58

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser

1 5 10
 <210> 59
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列
 <400> 59
 Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 1 5
 <210> 60
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列
 <400> 60
 Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Trp Val
 1 5 10
 <210> 61
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗CCR8-2-9重链
 <400> 61
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Arg Lys Ser Tyr Arg Asp Ser Leu Arg Phe Asp Tyr Trp

	100		105		110										
Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser						
		115					120								
<210>	62														
<400>	62														
000															
<210>	63														
<211>	110														
<212>	PRT														
<213>	人工序列(Artificial Sequence)														
<220>															
<223>	抗CCR8-2-9轻链														
<400>	63														
Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Gly	Ala	Pro	Gly	Gln
1			5					10						15	
Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Asn	Ile	Gly	Asn	Asn
			20					25					30		
Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Met	Leu
		35					40					45			
Ile	Tyr	Asp	Asn	Thr	Arg	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
	50					55					60				
Gly	Ser	Lys	Ser	Asp	Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln
65					70					75				80	
Thr	Gly	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Ala	Trp	Asp	Ser	Ser	Leu
				85					90					95	
Arg	Met	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu		
			100					105					110		
<210>	64														
<400>	64														
000															
<210>	65														
<211>	5														
<212>	PRT														
<213>	人工序列(Artificial Sequence)														
<220>															
<223>	合成序列														
<400>	65														
Asp	Tyr	Ala	Met	His											
1			5												

<210> 66

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 66

Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 67

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 67

Gly Arg Lys Ser Tyr Arg Asp Ser Leu Arg Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 68

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 68

Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 69

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 69

Asp Asn Thr Arg Arg Pro Ser

1 5

<210> 70

<211> 11

<212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列
 <400> 70
 Gly Ala Trp Asp Ser Ser Leu Arg Met Trp Val
 1 5 10
 <210> 71
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗CCR8-2-8重链
 <400> 71
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Arg Arg Ser Tyr Arg Asp Ser Leu Arg Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 72
 <400> 72
 000
 <210> 73
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗CCR8-2-8轻链

<400> 73

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

<210> 74

<400> 74

000

<210> 75

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 75

Asp Tyr Ala Met His

1 5

<210> 76

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 76

Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 77

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 77

Gly Arg Arg Ser Tyr Arg Asp Ser Leu Arg Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 78

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 78

Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 79

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 79

Asp Asn Thr Arg Arg Pro Ser

1 5

<210> 80

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 80

Gly Ala Trp Asp Ser Ser Leu Arg Met Trp Val

1 5 10

<210> 81

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗CCR8-2-10重链

<400> 81

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

<210> 82

<400> 82

000

<210> 83

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗CCR8-2-10轻链

<400> 83

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

	85	90	95
Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu			
	100	105	110
<210> 84			
<400> 84			
000			
<210> 85			
<211> 5			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成序列			
<400> 85			
Asp Tyr Ala Met His			
1	5		
<210> 86			
<211> 17			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成序列			
<400> 86			
Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys			
1	5	10	15
Gly			
<210> 87			
<211> 13			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成序列			
<400> 87			
Gly Arg Lys Ser Tyr Arg Asp Ser Leu Arg Phe Asp Tyr			
1	5	10	
<210> 88			
<211> 13			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			

<223> 合成序列

<400> 88

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

1 5 10

<210> 89

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 89

Asp Asp Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 90

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 90

Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Trp Val

1 5 10

<210> 91

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗CCR8-2-3重链

<400> 91

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

<400> 95

Asp Tyr Ala Met His

1 5

<210> 96

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 96

Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 97

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 97

Gly Arg Lys Ser Tyr Arg Asp Ser Leu Arg Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 98

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 98

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 99

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 99

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

1 5
 <210> 100
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列
 <400> 100
 Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Trp Val
 1 5 10
 <210> 101
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗CCR8-1-1重链
 <400> 101
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Val Gly Asn Gly Phe Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr
 115
 <210> 102
 <400> 102
 000
 <210> 103
 <211> 111
 <212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗CCR8-1-1轻链

<400> 103

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

<210> 104

<400> 104

000

<210> 105

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 105

Ser Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 106

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 106

Ile	Ile	Asn	Pro	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5											15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗CCR8-1-2重链

<400> 111

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

<210> 112

<400> 112

000

<210> 113

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗CCR8-1-2轻链

<400> 113

Gln	Ser	Ala	Leu	Thr	Gln	Pro	Ala	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Gly	Gln
1				5					10					15	
Ser	Ile	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Thr	Ser	Gly	Asp	Val	Gly	Ser	Tyr
			20				25						30		
Ser	Leu	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	His	His	Pro	Ser	Arg	Ala	Pro	Lys	Leu
		35				40						45			
Ile	Ile	Tyr	Glu	Val	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Ser	Asp	Arg	Phe
	50					55						60			

50		55		60															
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr				
65					70					75				80					
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
				85					90					95					
Ala	Arg	Gly	Val	Gly	Asn	Gly	Phe	Arg	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly				
			100					105					110						
Thr	Leu	Val	Thr																
	115																		
<210>	122																		
<400>	122																		
000																			
<210>	123																		
<211>	111																		
<212>	PRT																		
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)																		
<220>																			
<223>	抗CCR8-1-3轻链																		
<400>	123																		
Gln	Ser	Ala	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Gly	Gln				
1			5					10					15						
Ser	Ile	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Val	Gly	Ile	Tyr				
			20					25					30						
Asn	Leu	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	His	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu				
		35					40					45							
Ile	Ile	Tyr	Glu	Val	Ile	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Ser	Asn	Arg	Phe				
	50					55					60								
Ser	Gly	Phe	Lys	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Leu				
65					70					75				80					
Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Ser	Tyr	Ala	Gly	Pro				
				85					90					95					
Val	Thr	Tyr	Val	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu					
			100					105					110						
<210>	124																		
<400>	124																		
000																			
<210>	125																		
<211>	5																		
<212>	PRT																		

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 125

Ser Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 126

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 126

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 127

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 127

Gly Val Gly Asn Gly Phe Arg Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 128

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 128

Ser Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ile Tyr Asn Leu Val Ser

1 5 10

<210> 129

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 129

Glu Val Ile Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 130

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 130

Ser Ser Tyr Ala Gly Pro Val Thr Tyr Val Val

1 5 10

<210> 131

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗CCR8-1-4重链

<400> 131

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Val Gly Asn Gly Phe Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr

115

<210> 132

<400> 132

000

<210> 133
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 抗CCR8-1-4轻链
 <400> 133
 Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Ser Ile Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Lys Tyr
 20 25 30
 Asn Leu Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Glu Ala Pro Thr Leu
 35 40 45
 Leu Ile Tyr Glu Ala Thr Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80
 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Ile Cys Ser Ser Tyr Ala Gly Ser
 85 90 95
 Arg Val Phe Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 134
 <400> 134
 000
 <210> 135
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列
 <400> 135
 Ser Tyr Tyr Met His
 1 5
 <210> 136
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列

<400> 136

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 137

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 137

Gly Val Gly Asn Gly Phe Arg Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 138

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 138

Ser Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Lys Tyr Asn Leu Val Ser

1 5 10

<210> 139

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 139

Glu Ala Thr Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 140

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 140

Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Arg Val Phe Val Val

<400> 143

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

<210> 144

<400> 144

000

<210> 145

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 145

Ser Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 146

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 146

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 147

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 147

Gly Val Gly Asn Gly Phe Arg Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 148

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 148

Ser Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr Asn Leu Val Ser

1 5 10

<210> 149

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 149

Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 150

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 150

Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Ser Thr Tyr Val Val

1 5 10

<210> 151

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗CCR8-2-6重链

<400> 151

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

<210> 152

<400> 152

000

<210> 153

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗CCR8-2-6轻链

<400> 153

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

	85	90	95
Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr			
	100	105	
<210> 154			
<400> 154			
000			
<210> 155			
<211> 5			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成序列			
<400> 155			
Asp Tyr Ala Met His			
1	5		
<210> 156			
<211> 17			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成序列			
<400> 156			
Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys			
1	5	10	15
Gly			
<210> 157			
<211> 13			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成序列			
<400> 157			
Gly Arg Val Ser Tyr Arg Glu Ser Leu Arg Phe Asp Tyr			
1	5	10	
<210> 158			
<211> 13			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			

<223> 合成序列

<400> 158

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 159

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 159

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 160

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 160

Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Trp Val

1 5 10

<210> 161

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 抗CCR8-2-2重链

<400> 161

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Gly Gly Phe Thr Phe Ser Ala Tyr

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Ala Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

<400> 165

Ala Tyr Thr Met Asn

1 5

<210> 166

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 166

Ala Ile Ser Ala Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 167

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 167

Arg Phe Ala Arg Gly Trp Phe Asp Pro

1 5

<210> 168

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 168

Ser Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Asn His Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 169

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成序列

<400> 169

Asp Asn Asp Lys Arg Pro Ser

1 5
 <210> 170
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列
 <400> 170
 Ala Thr Trp Asp Tyr Ser Leu Thr Ala Val Val
 1 5 10
 <210> 171
 <211> 355
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <220>
 <223> 人CCR8序列
 <400> 171
 Met Asp Tyr Thr Leu Asp Leu Ser Val Thr Thr Val Thr Asp Tyr Tyr
 1 5 10 15
 Tyr Pro Asp Ile Phe Ser Ser Pro Cys Asp Ala Glu Leu Ile Gln Thr
 20 25 30
 Asn Gly Lys Leu Leu Leu Ala Val Phe Tyr Cys Leu Leu Phe Val Phe
 35 40 45
 Ser Leu Leu Gly Asn Ser Leu Val Ile Leu Val Leu Val Val Cys Lys
 50 55 60
 Lys Leu Arg Ser Ile Thr Asp Val Tyr Leu Leu Asn Leu Ala Leu Ser
 65 70 75 80
 Asp Leu Leu Phe Val Phe Ser Phe Pro Phe Gln Thr Tyr Tyr Leu Leu
 85 90 95
 Asp Gln Trp Val Phe Gly Thr Val Met Cys Lys Val Val Ser Gly Phe
 100 105 110
 Tyr Tyr Ile Gly Phe Tyr Ser Ser Met Phe Phe Ile Thr Leu Met Ser
 115 120 125
 Val Asp Arg Tyr Leu Ala Val Val His Ala Val Tyr Ala Leu Lys Val
 130 135 140
 Arg Thr Ile Arg Met Gly Thr Thr Leu Cys Leu Ala Val Trp Leu Thr
 145 150 155 160
 Ala Ile Met Ala Thr Ile Pro Leu Leu Val Phe Tyr Gln Val Ala Ser
 165 170 175

Glu Asp Gly Val Leu Gln Cys Tyr Ser Phe Tyr Asn Gln Gln Thr Leu
 180 185 190
 Lys Trp Lys Ile Phe Thr Asn Phe Lys Met Asn Ile Leu Gly Leu Leu
 195 200 205
 Ile Pro Phe Thr Ile Phe Met Phe Cys Tyr Ile Lys Ile Leu His Gln
 210 215 220
 Leu Lys Arg Cys Gln Asn His Asn Lys Thr Lys Ala Ile Arg Leu Val
 225 230 235 240
 Leu Ile Val Val Ile Ala Ser Leu Leu Phe Trp Val Pro Phe Asn Val
 245 250 255
 Val Leu Phe Leu Thr Ser Leu His Ser Met His Ile Leu Asp Gly Cys
 260 265 270
 Ser Ile Ser Gln Gln Leu Thr Tyr Ala Thr His Val Thr Glu Ile Ile
 275 280 285
 Ser Phe Thr His Cys Cys Val Asn Pro Val Ile Tyr Ala Phe Val Gly
 290 295 300
 Glu Lys Phe Lys Lys His Leu Ser Glu Ile Phe Gln Lys Ser Cys Ser
 305 310 315 320
 Gln Ile Phe Asn Tyr Leu Gly Arg Gln Met Pro Arg Glu Ser Cys Glu
 325 330 335
 Lys Ser Ser Ser Cys Gln Gln His Ser Ser Arg Ser Ser Ser Val Asp
 340 345 350
 Tyr Ile Leu
 355

<210> 172

<211> 35

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<223> 人CCR8的N末端细胞外结构域

<400> 172

Met Asp Tyr Thr Leu Asp Leu Ser Val Thr Thr Val Thr Asp Tyr Tyr
 1 5 10 15
 Tyr Pro Asp Ile Phe Ser Ser Pro Cys Asp Ala Glu Leu Ile Gln Thr
 20 25 30

Asn Gly Lys
 35

<210> 173

<211> 299

<212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)
 <220>
 <223> 人CCR8-Fc
 <400> 173
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Ala His Ser Met Asp Tyr Thr Leu Asp Leu Ser Val Thr Thr Val Thr
 20 25 30
 Asp Tyr Tyr Tyr Pro Asp Ile Phe Ser Ser Pro Ser Asp Ala Glu Leu
 35 40 45
 Ile Gln Thr Asn Gly Lys His His His His His His Ser Gly Gly Gly
 50 55 60
 Gly Ser Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys
 65 70 75 80
 Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
 85 90 95
 Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr
 100 105 110
 Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser
 115 120 125
 Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His
 130 135 140
 Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile
 145 150 155 160
 Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn
 165 170 175
 Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys
 180 185 190
 Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu
 195 200 205
 Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe
 210 215 220
 Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu
 225 230 235 240
 Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr
 245 250 255
 Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg
 260 265 270

Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His
 275 280 285
 Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 290 295
 <210> 174
 <211> 299
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 食蟹猴CCR8-Fc
 <400> 174
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Ala His Ser Met Asp Tyr Thr Leu Asp Pro Ser Met Thr Thr Met Thr
 20 25 30
 Asp Tyr Tyr Tyr Pro Asp Ser Leu Ser Ser Pro Ser Asp Gly Glu Leu
 35 40 45
 Ile Gln Arg Asn Asp Lys His His His His His Ser Gly Gly Gly
 50 55 60
 Gly Ser Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys
 65 70 75 80
 Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
 85 90 95
 Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr
 100 105 110
 Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser
 115 120 125
 Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His
 130 135 140
 Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile
 145 150 155 160
 Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn
 165 170 175
 Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys
 180 185 190
 Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu
 195 200 205
 Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe
 210 215 220

<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
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> VH CDR1共有序列
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (1)
 <223> 其中Xaa是Ser、Asp、Gly或Ala
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3) .. (3)
 <223> 其中Xaa是Tyr、Ala或Thr
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5) .. (5)
 <223> 其中Xaa是His、Leu或Asn
 <400> 201
 Xaa Tyr Xaa Met Xaa
 1 5
 <210> 202

<211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> VH CDR1共有序列
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (1)
 <223> 其中Xaa是Asp、Gly或Ala
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3) .. (3)
 <223> 其中Xaa是Ala或Thr
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5) .. (5)
 <223> 其中Xaa是His、Leu或Asn
 <400> 202
 Xaa Tyr Xaa Met Xaa
 1 5
 <210> 203
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> VH CDR1共有序列
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (1)
 <223> 其中Xaa是Gly或Ala
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5) .. (5)
 <223> 其中Xaa是Leu或Asn
 <400> 203
 Xaa Tyr Thr Met Xaa
 1 5
 <210> 204
 <211> 5

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VH CDR1共有序列
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1) .. (1)
<223> 其中Xaa是Ser或Asp
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3) .. (3)
<223> 其中Xaa是Tyr或Ala
<400> 204
Xaa Tyr Xaa Met His
1 5
<210> 205
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VH CDR2共有序列
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1) .. (1)
<223> 其中Xaa是Ile、Gly或Ala
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3) .. (3)
<223> 其中Xaa是Asn、Ser或Thr
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4) .. (4)
<223> 其中Xaa是Pro、Trp或Ala
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5) .. (5)
<223> 其中Xaa是Ser或Asn
<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (6) .. (6)
 <223> 其中Xaa是Gly或Ser
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8) .. (8)
 <223> 其中Xaa是Ser或Arg
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9) .. (9)
 <223> 其中Xaa是Thr或Ile
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10) .. (10)
 <223> 其中Xaa是Ser、Gly或Tyr
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (13) .. (13)
 <223> 其中Xaa是Gln或Asp
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (14) .. (14)
 <223> 其中Xaa是Lys或Ser
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15) .. (15)
 <223> 其中Xaa是Phe或Val
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16) .. (16)
 <223> 其中Xaa是Gln或Lys
 <400> 205
 Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Tyr Ala Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15
 Gly
 <210> 206
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9) .. (9)
 <223> 其中Xaa是Ile或Thr
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10) .. (10)
 <223> 其中Xaa是Gly或Tyr
 <400> 207
 Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly
 <210> 208
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> VH CDR2共有序列
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (1)
 <223> 其中Xaa是Ile或Gly
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3) .. (3)
 <223> 其中Xaa是Asn或Ser
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4) .. (4)
 <223> 其中Xaa是Pro或Trp
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5) .. (5)
 <223> 其中Xaa是Ser或Asn
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6) .. (6)
 <223> 其中Xaa是Gly或Ser
 <220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9) .. (9)

<223> 其中Xaa是Thr或Ile

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (10) .. (10)

<223> 其中Xaa是Ser或Gly

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (13) .. (13)

<223> 其中Xaa是Gln或Asp

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (14) .. (14)

<223> 其中Xaa是Lys或Ser

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (15) .. (15)

<223> 其中Xaa是Phe或Val

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16) .. (16)

<223> 其中Xaa是Gln或Lys

<400> 208

Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Ser Xaa Xaa Tyr Ala Xaa Xaa Xaa Xaa

1

5

10

15

Gly

<210> 209

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> VH CDR3共有序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (1)

<223> 其中Xaa是Ala或Gly

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3) .. (3)
 <223> 其中Xaa是Arg或Gly
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5) .. (5)
 <223> 其中Xaa是Arg或Gly
 <400> 209
 Xaa Val Xaa Asn Xaa Phe Arg Phe Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 210
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> VH CDR3共有序列
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3) .. (3)
 <223> 其中Xaa是Lys、Val、Asp、Glu或Arg
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7) .. (7)
 <223> 其中Xaa是Asp、Glu、Lys或Val
 <400> 210
 Gly Arg Xaa Ser Tyr Arg Xaa Ser Leu Arg Phe Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 211
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> VL CDR1共有序列
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4) .. (4)
 <223> 其中Xaa是Thr或Ala
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6) .. (6)

- <222> (8) .. (8)
<223> 其中Xaa是Val或Thr
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9) .. (9)
<223> 其中Xaa是Phe或His
<400> 214
Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Xaa Xaa Xaa Val Val
1 5 10
<210> 215
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> VL CDR1共有序列
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1) .. (1)
<223> 其中Xaa是Ala或Gly
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2) .. (2)
<223> 其中Xaa是Thr或Ala
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5) .. (5)
<223> 其中Xaa是Tyr或Ser
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8) .. (8)
<223> 其中Xaa是Thr或Arg
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9) .. (9)
<223> 其中Xaa是Ala或Met
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (10) .. (10)
<223> 其中Xaa是Val或Trp

- <400> 215
 Xaa Xaa Trp Asp Xaa Ser Leu Xaa Xaa Xaa Val
 1 5 10
- <210> 216
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> VL CDR1共有序列
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (1)
 <223> 其中Xaa是Ala或Gly
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2) .. (2)
 <223> 其中Xaa是Thr或Ala
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5) .. (5)
 <223> 其中Xaa是Tyr或Ser
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8) .. (8)
 <223> 其中Xaa是Thr、Arg或Ser
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9) .. (9)
 <223> 其中Xaa是Ala或Met
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10) .. (10)
 <223> 其中Xaa是Val或Trp
- <400> 216
 Xaa Xaa Trp Asp Xaa Ser Leu Xaa Xaa Xaa Val
 1 5 10
- <210> 217
 <211> 11
 <212> PRT

- <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> VL CDR1共有序列
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (1)
 <223> 其中Xaa是Ala或Gly
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5) .. (5)
 <223> 其中Xaa是Tyr或Ser
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8) .. (8)
 <223> 其中Xaa是Thr或Ser
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10) .. (10)
 <223> 其中Xaa是Val或Trp
 <400> 217
 Xaa Thr Trp Asp Xaa Ser Leu Xaa Ala Xaa Val
 1 5 10
 <210> 218
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> VL CDR1共有序列
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2) .. (2)
 <223> 其中Xaa是Ala或Thr
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8) .. (8)
 <223> 其中Xaa是Arg或Ser
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9) .. (9)

<223> 其中Xaa是Met或Ala
 <400> 218
 Gly Xaa Trp Asp Ser Ser Leu Xaa Xaa Trp Val
 1 5 10
 <210> 219
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> VL CDR1共有序列
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (1)
 <223> 其中Xaa是Ser或Thr
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3) .. (3)
 <223> 其中Xaa是Ser或Thr
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4) .. (4)
 <223> 其中Xaa是Gly或Ser
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9) .. (9)
 <223> 其中Xaa是Asn或Lys
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11) .. (11)
 <223> 其中Xaa是Tyr或Phe
 <400> 219
 Xaa Gly Xaa Xaa Ser Asn Ile Gly Xaa Asn Xaa Val Ser
 1 5 10
 <210> 220
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> VL CDR2共有序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2) .. (2)
<223> 其中Xaa是Val或Ala
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3) .. (3)
<223> 其中Xaa是Asn、Thr、Ile或Ser
<400> 220
Glu Xaa Xaa Lys Arg Pro Ser
1 5
<210> 221
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> VL CDR2共有序列
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2) .. (2)
<223> 其中Xaa是Val或Ala
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3) .. (3)
<223> 其中Xaa是Asn、Thr或Ser
<400> 221
Glu Xaa Xaa Lys Arg Pro Ser
1 5
<210> 222
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> VL CDR2共有序列
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3) .. (3)
<223> 其中Xaa是Thr或Ser
<400> 222

Glu Val Xaa Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 223

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> VL CDR2共有序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2) .. (2)

<223> 其中Xaa是Ala或Val

<400> 223

Glu Xaa Thr Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 224

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> VL CDR2共有序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3) .. (3)

<223> 其中Xaa是Asn或Ser

<400> 224

Glu Val Xaa Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 225

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> VL CDR2共有序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3) .. (3)

<223> 其中Xaa是Asn或Thr

<400> 225

Glu Val Xaa Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 226

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> VL CDR2共有序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3) .. (3)

<223> 其中Xaa是Asp或Thr

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4) .. (4)

<223> 其中Xaa是Lys或Arg

<400> 226

Asp Asn Xaa Xaa Pro Ser

1 5

<210> 227

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> VL CDR2共有序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3) .. (3)

<223> 其中Xaa是Asp、Thr或Asn

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4) .. (4)

<223> 其中Xaa是Lys或Arg

<400> 227

Asp Asn Xaa Xaa Arg Pro Ser

1 5

<210> 228

<211> 7

<212> PRT

<222> (3) .. (3)
<223> 其中Xaa是Asp、Thr或Asn
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4) .. (4)
<223> 其中Xaa是Lys或Arg
<400> 230
Asp Xaa Xaa Xaa Arg Pro Ser
1 5
<210> 231
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> VL CDR2共有序列
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2) .. (2)
<223> 其中Xaa是Asn或Asp
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3) .. (3)
<223> 其中Xaa是Asn或Asp
<400> 231
Asp Xaa Xaa Lys Arg Pro Ser
1 5
<210> 232
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> VL CDR2共有序列
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2) .. (2)
<223> 其中Xaa是Asn或Asp
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3) .. (3)

Ser Ser Tyr Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val Val
 1 5 10
 <210> 234
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> VL CDR3共有序列
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4) .. (4)
 <223> 其中Xaa是Thr或Ala
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6) .. (6)
 <223> 其中Xaa是Asn或Ser
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7) .. (7)
 <223> 其中Xaa是Ile、Arg或Ser
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8) .. (8)
 <223> 其中Xaa是Asn、Val或Thr
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9) .. (9)
 <223> 其中Xaa是Leu或不存在氨基酸
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10) .. (10)
 <223> 其中Xaa是Pro、Phe、Tyr或His
 <400> 234

Ser Ser Tyr Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val Val
 1 5 10
 <210> 235
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <223> VL CDR3共有序列
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9) .. (9)
 <223> 其中Xaa是Phe或Tyr
 <400> 235
 Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Ser Thr Xaa Val Val
 1 5 10
 <210> 236
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> VL CDR3共有序列
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7) .. (7)
 <223> 其中Xaa是Arg或Ile
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8) .. (8)
 <223> 其中Xaa是Val或Thr
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9) .. (9)
 <223> 其中Xaa是Phe或His
 <400> 236
 Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Xaa Xaa Xaa Val Val
 1 5 10
 <210> 237
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> VL CDR3共有序列
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (1)

- <223> 其中Xaa是Ala或Gly
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2) .. (2)
 <223> 其中Xaa是Thr或Ala
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5) .. (5)
 <223> 其中Xaa是Tyr或Ser
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8) .. (8)
 <223> 其中Xaa是Thr或Arg
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9) .. (9)
 <223> 其中Xaa是Ala或Met
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10) .. (10)
 <223> 其中Xaa是Val或Trp
 <400> 237
 Xaa Xaa Trp Asp Xaa Ser Leu Xaa Xaa Xaa Val
 1 5 10
 <210> 238
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> VL CDR3共有序列
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (1)
 <223> 其中Xaa是Ala或Gly
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2) .. (2)
 <223> 其中Xaa是Thr或Ala
 <220>

- <221> MISC_FEATURE
 <222> (5) .. (5)
 <223> 其中Xaa是Tyr或Ser
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8) .. (8)
 <223> 其中Xaa是Thr、Arg或Ser
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9) .. (9)
 <223> 其中Xaa是Ala或Met
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10) .. (10)
 <223> 其中Xaa是Val或Trp
 <400> 238
 Xaa Xaa Trp Asp Xaa Ser Leu Xaa Xaa Xaa Val
 1 5 10
 <210> 239
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> VL CDR3共有序列
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (1)
 <223> 其中Xaa是Ala或Gly
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5) .. (5)
 <223> 其中Xaa是Tyr或Ser
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8) .. (8)
 <223> 其中Xaa是Thr或Ser
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10) .. (10)

<223> 其中Xaa是Val或Trp
 <400> 239
 Xaa Thr Trp Asp Xaa Ser Leu Xaa Ala Xaa Val
 1 5 10
 <210> 240
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> VL CDR3共有序列
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2) .. (2)
 <223> 其中Xaa是Ala或Thr
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8) .. (8)
 <223> 其中Xaa是Arg或Ser
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9) .. (9)
 <223> 其中Xaa是Met或Ala
 <400> 240
 Gly Xaa Trp Asp Ser Ser Leu Xaa Xaa Trp Val
 1 5 10
 <210> 241
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成序列-抗原性标签
 <400> 241
 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 1 5
 <210> 242
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
 <220>

<223> 合成序列-血凝素

<400> 242

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala

1

5

抗 CCR8-1

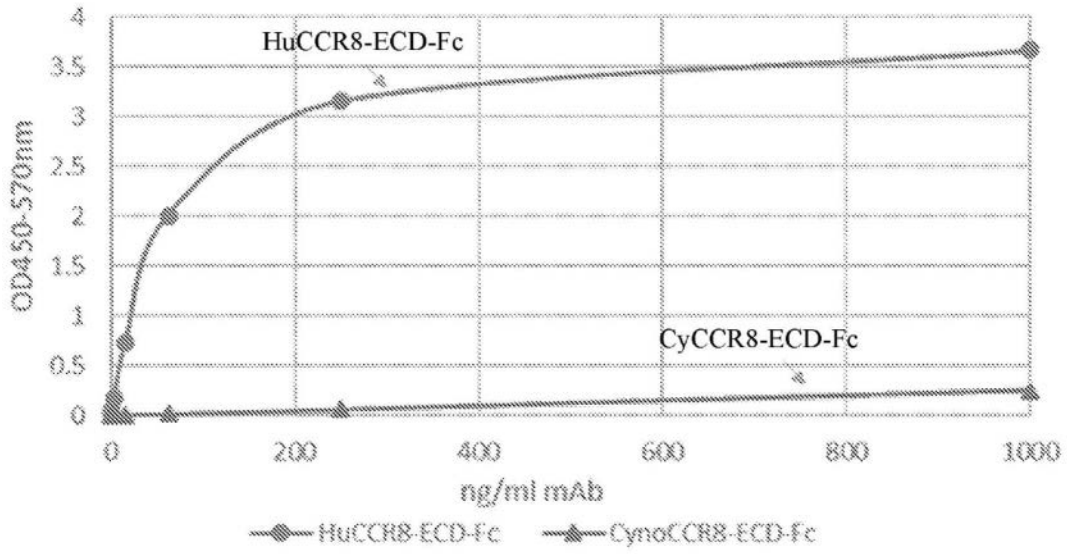


图1A

对细胞系的抗 CCR8-1 滴定

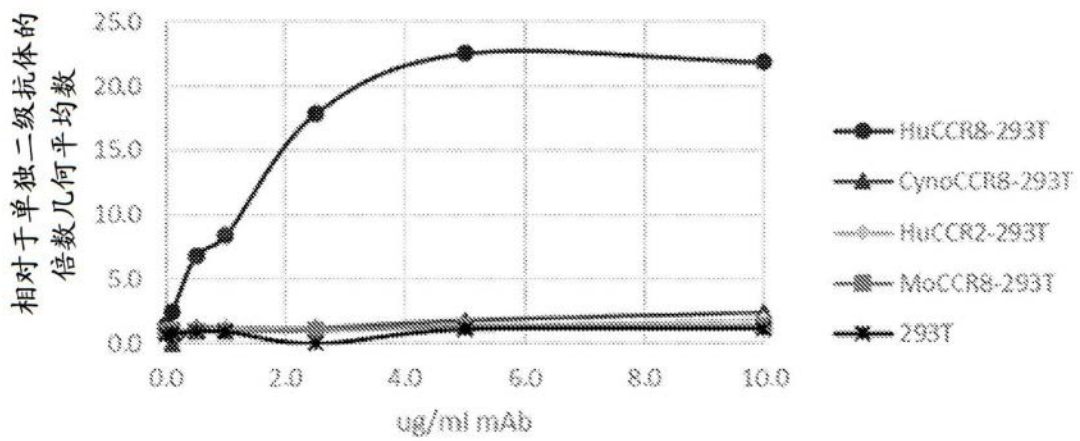


图1B

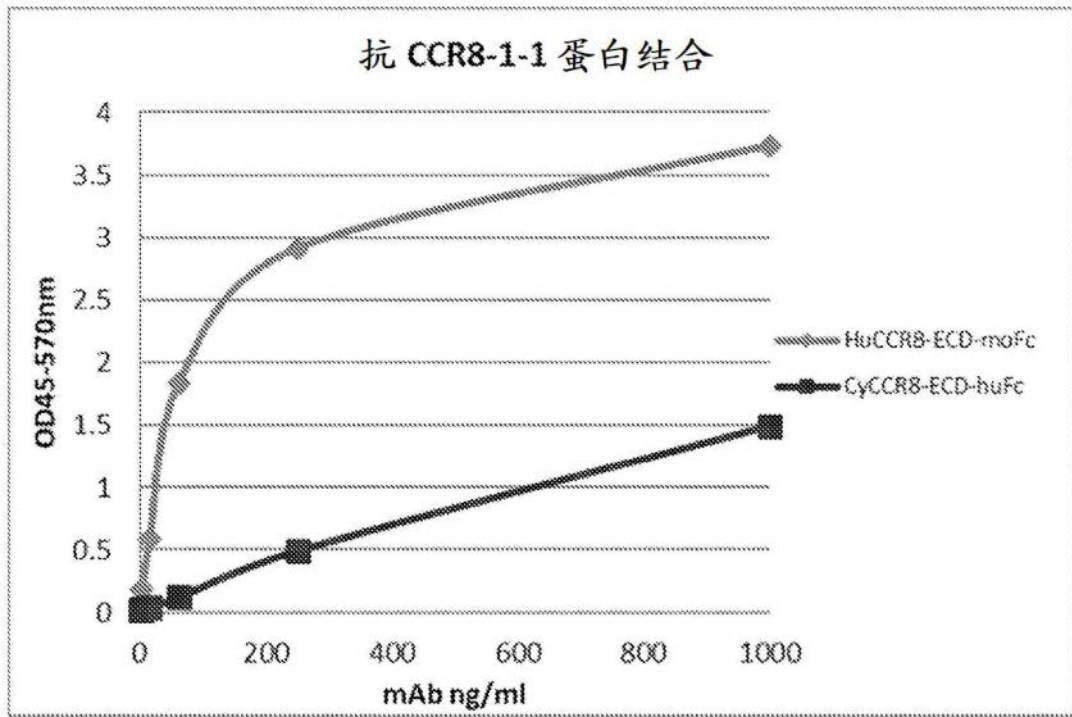


图1C

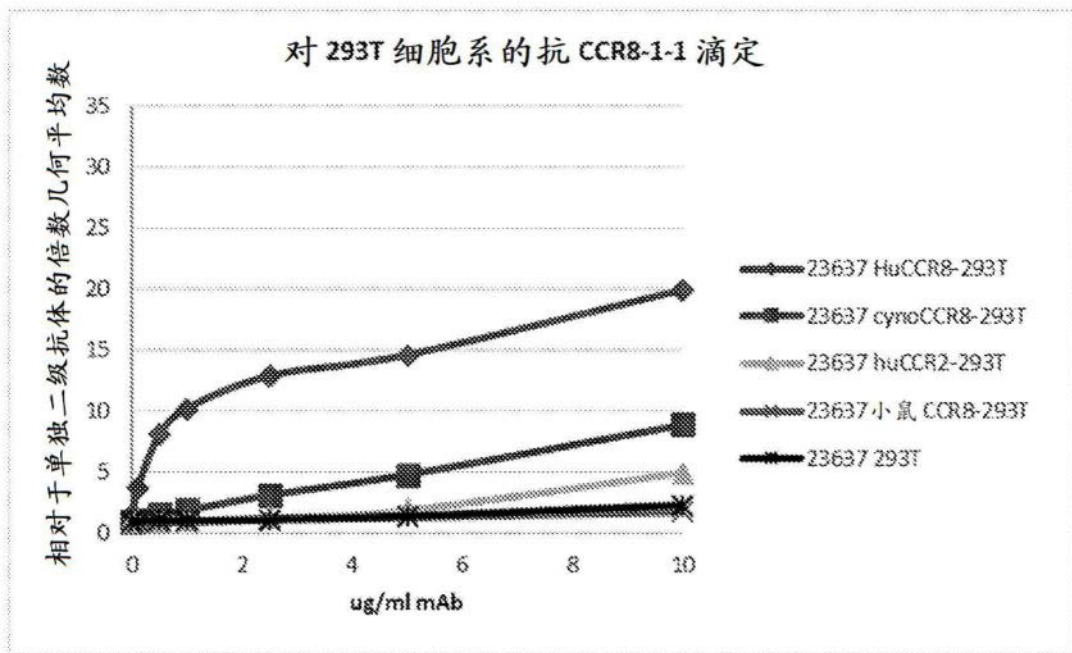


图1D

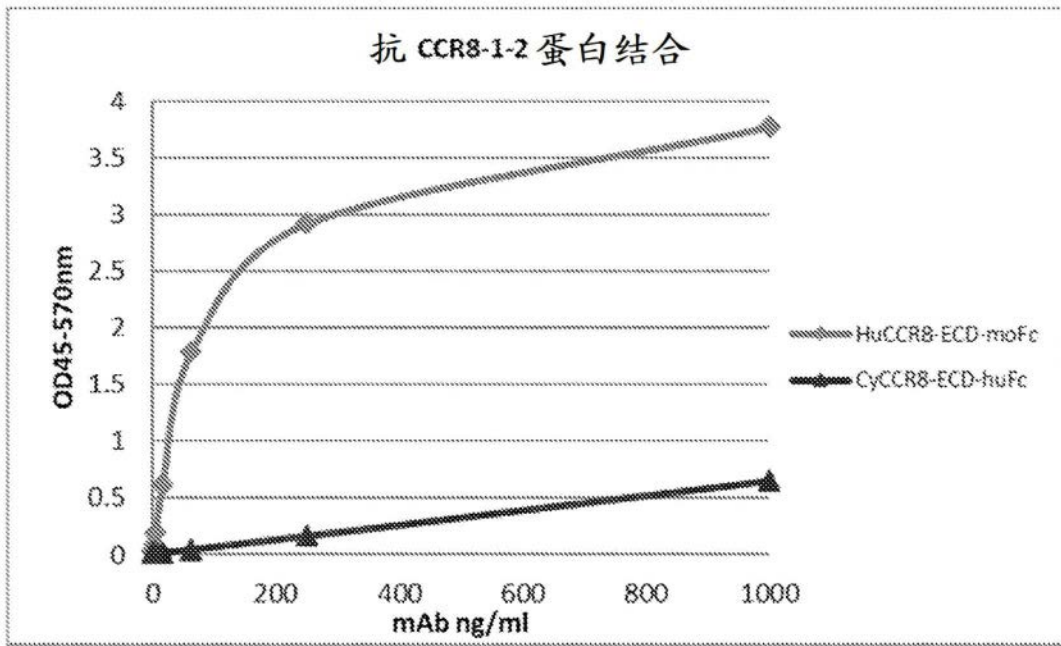


图1E

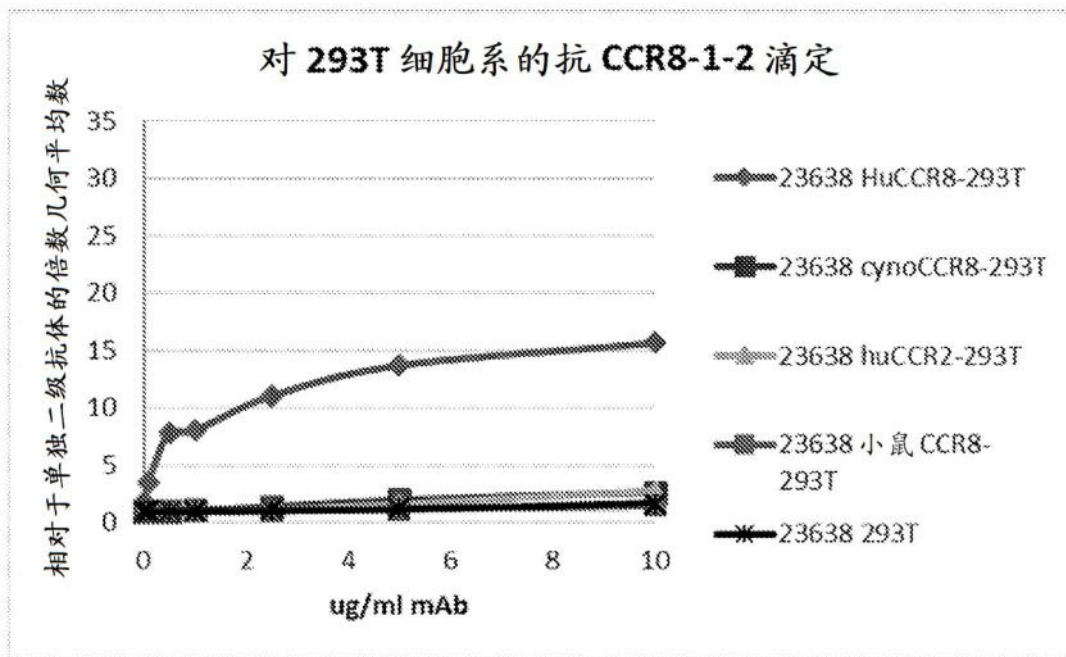


图1F

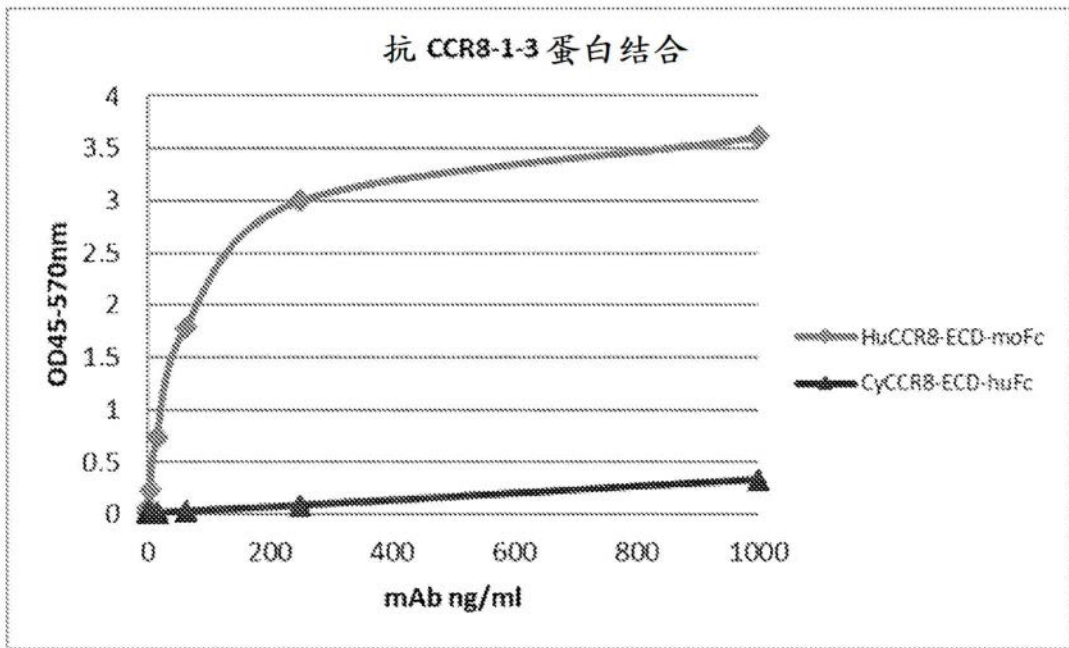


图1G

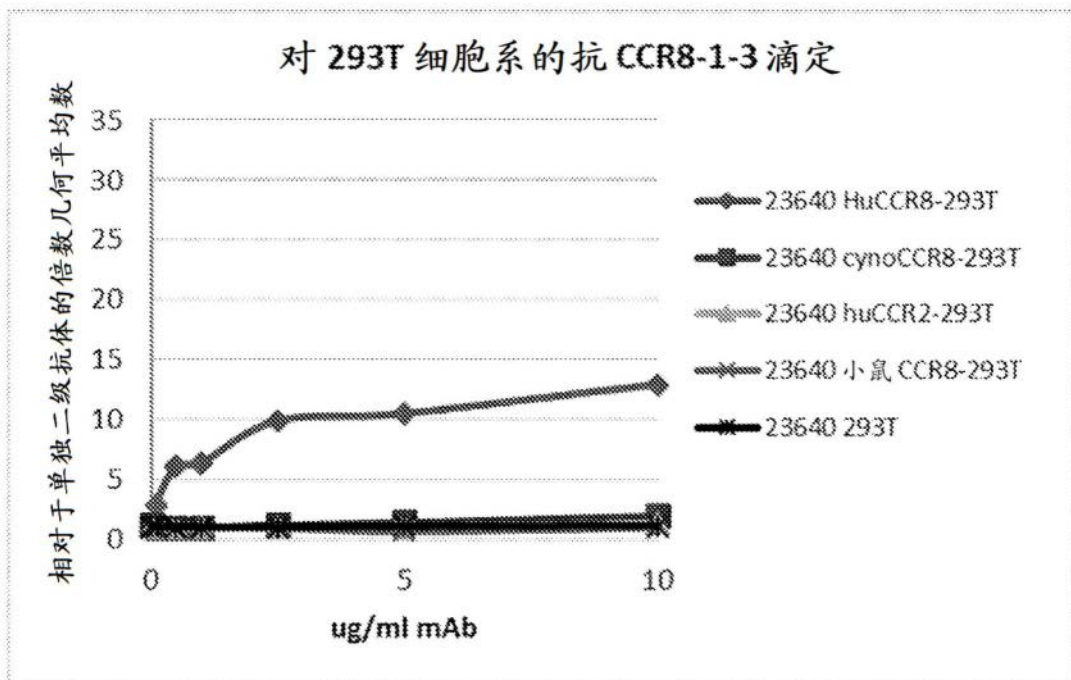


图1H

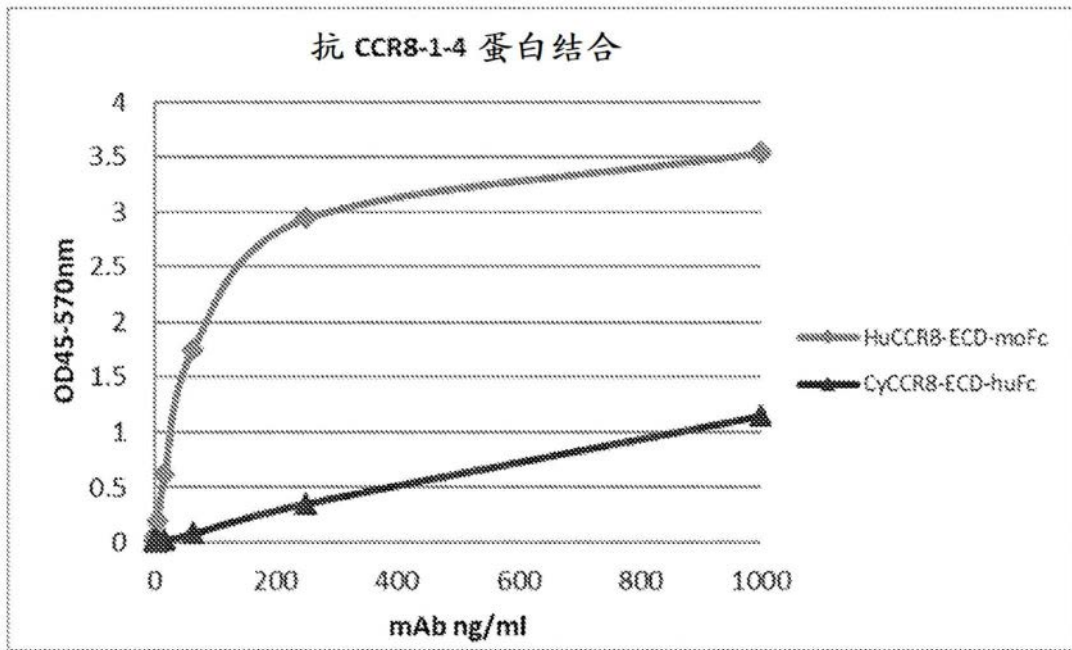


图1I

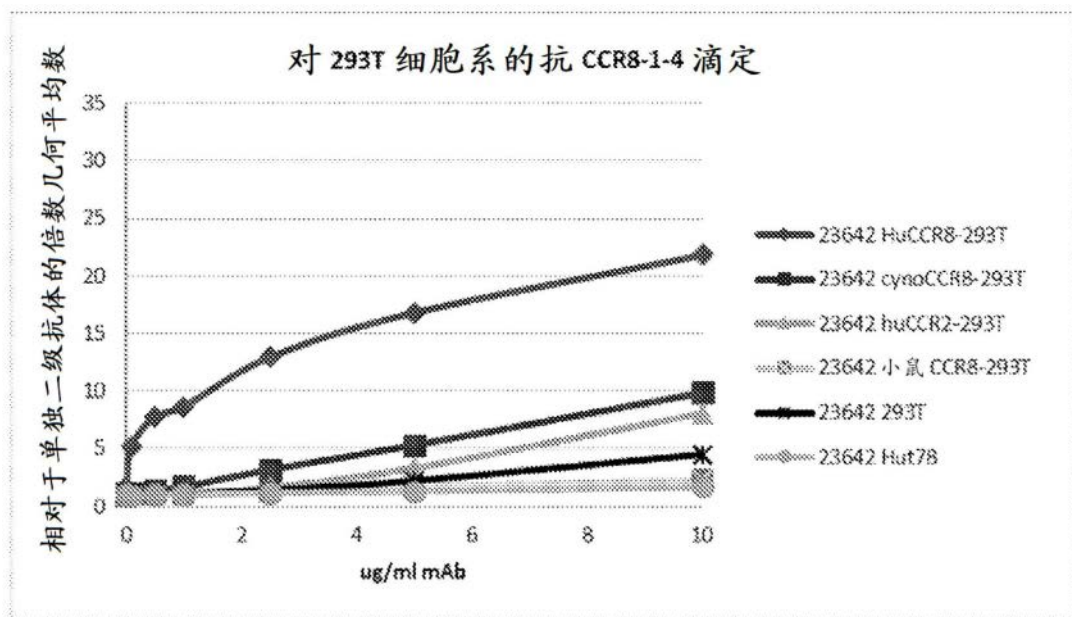


图1J

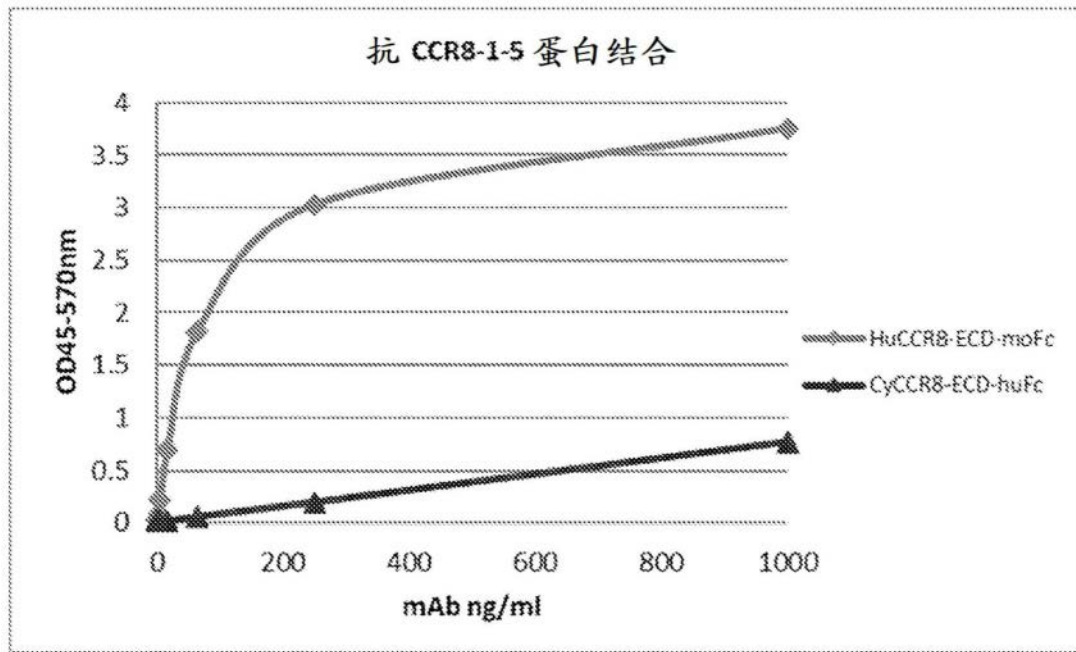


图1K

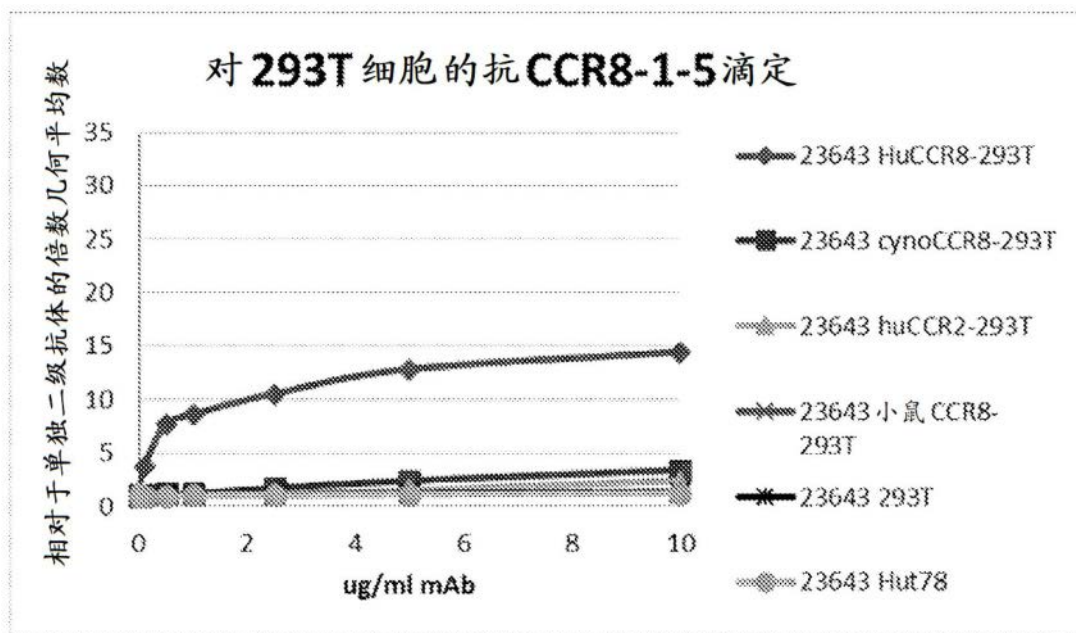


图1L

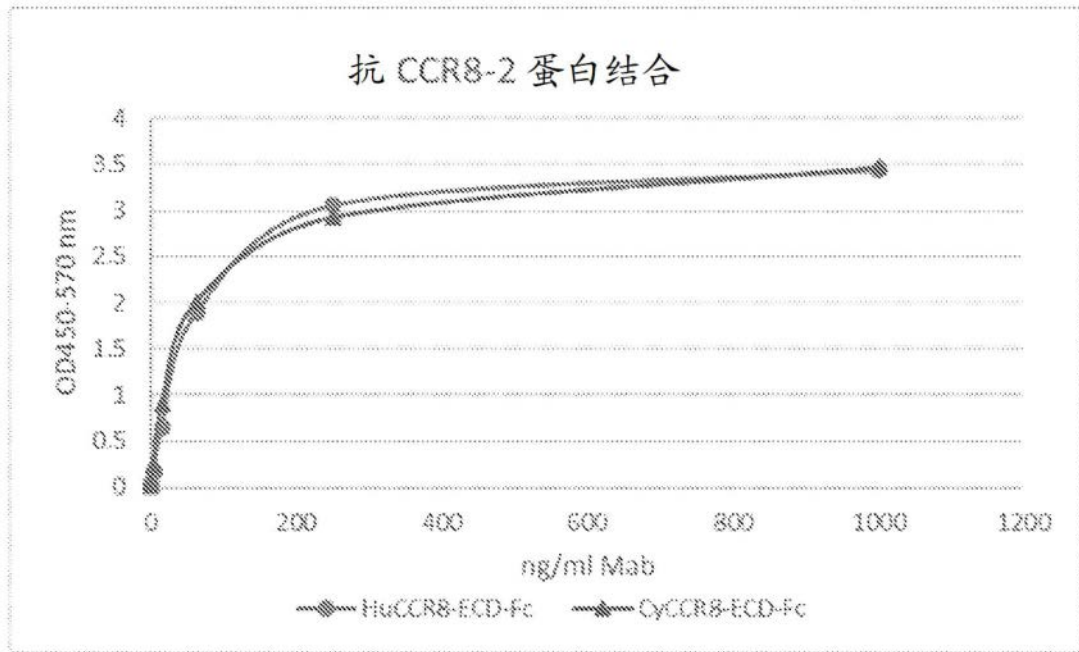


图2A

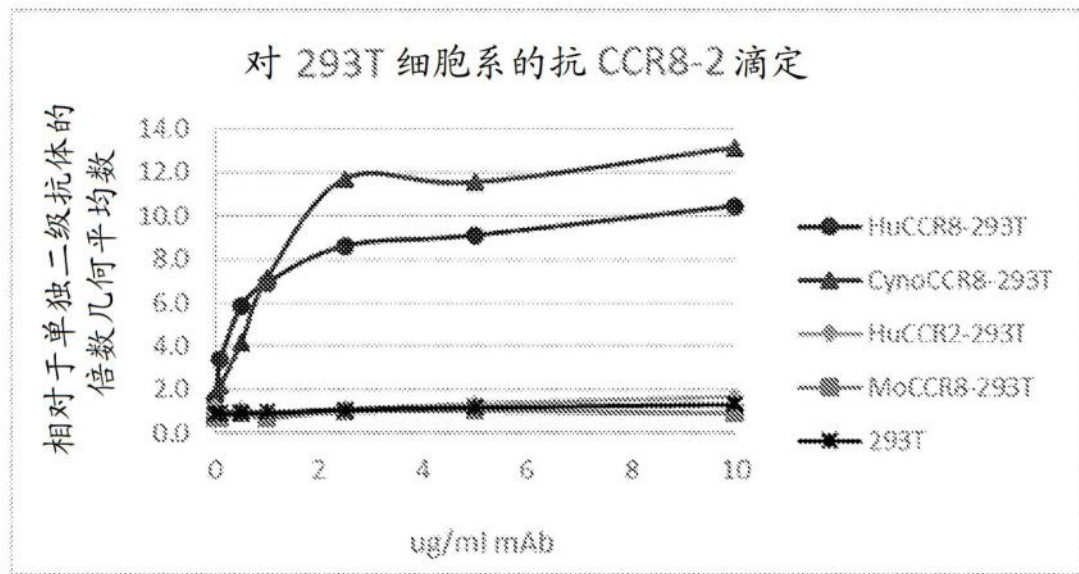


图2B

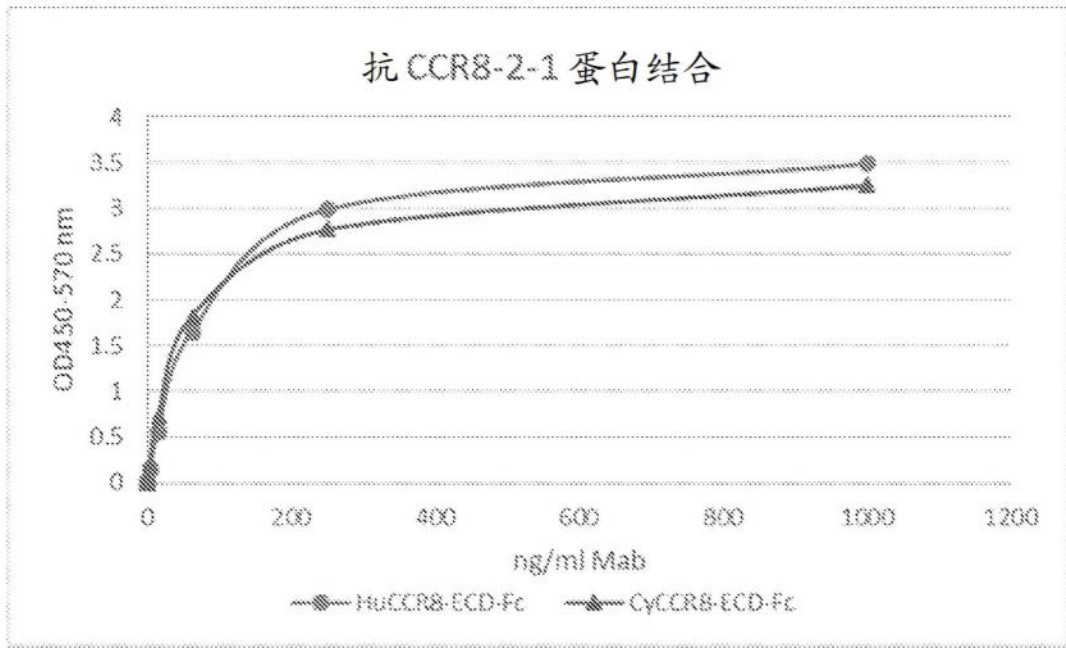


图2C

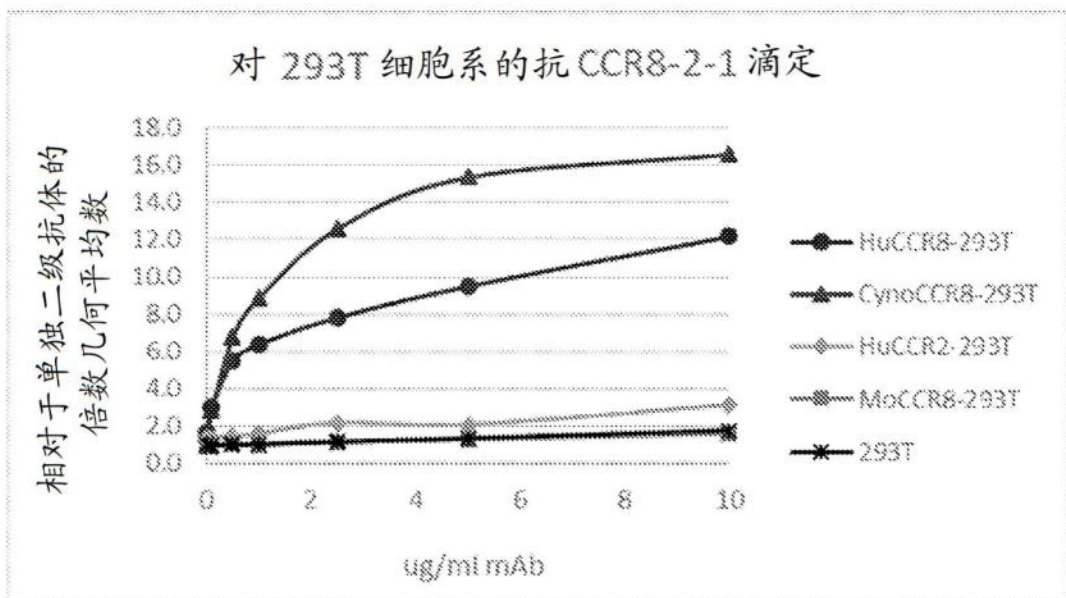


图2D

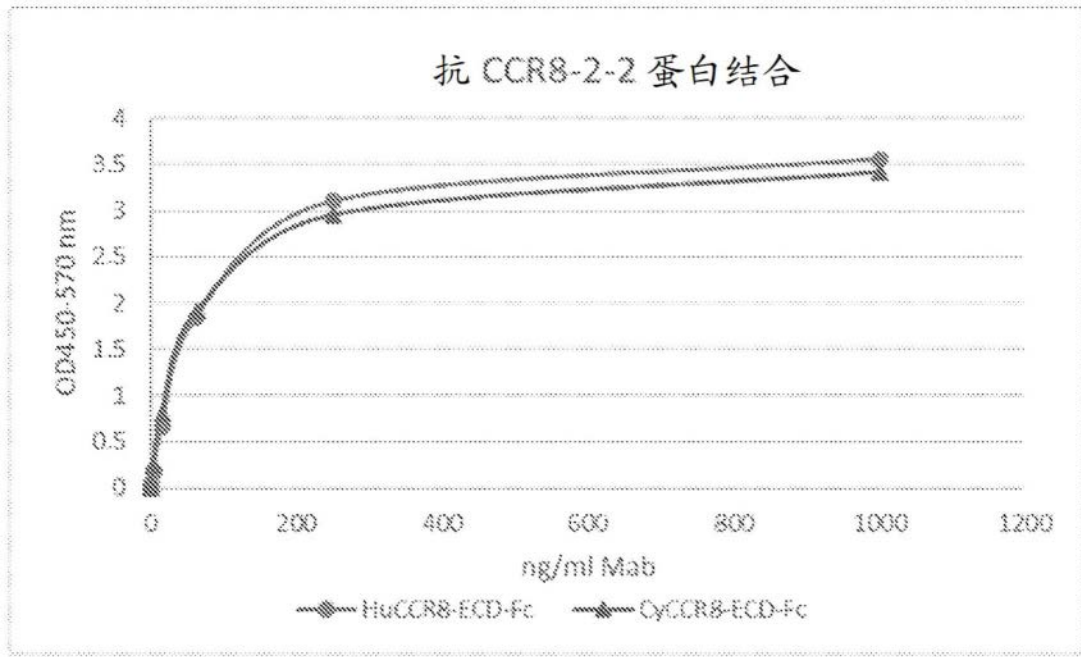


图2E

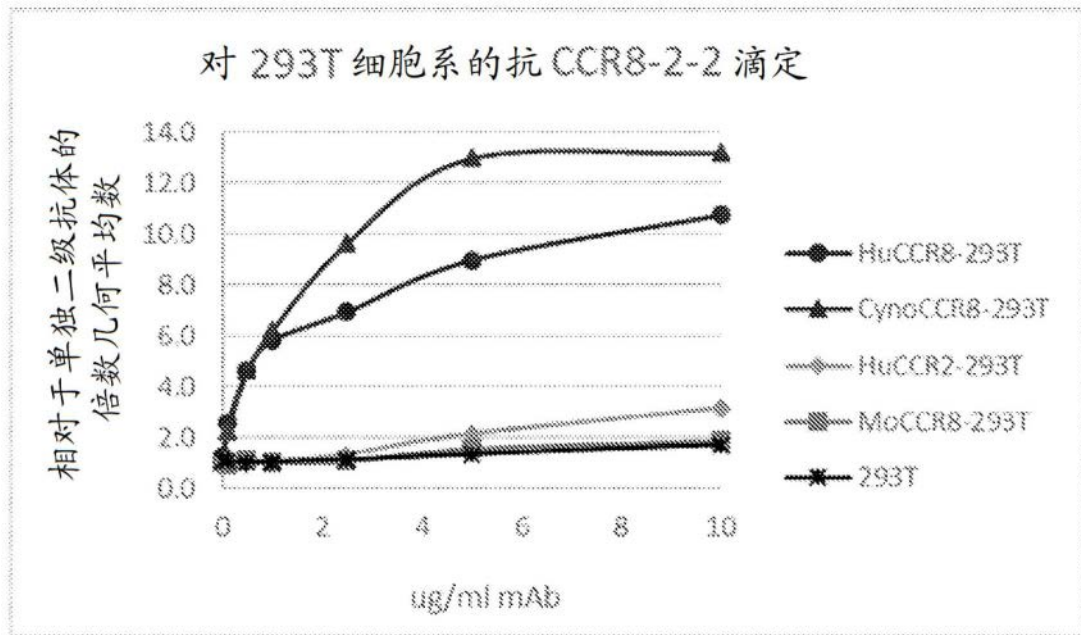


图2F

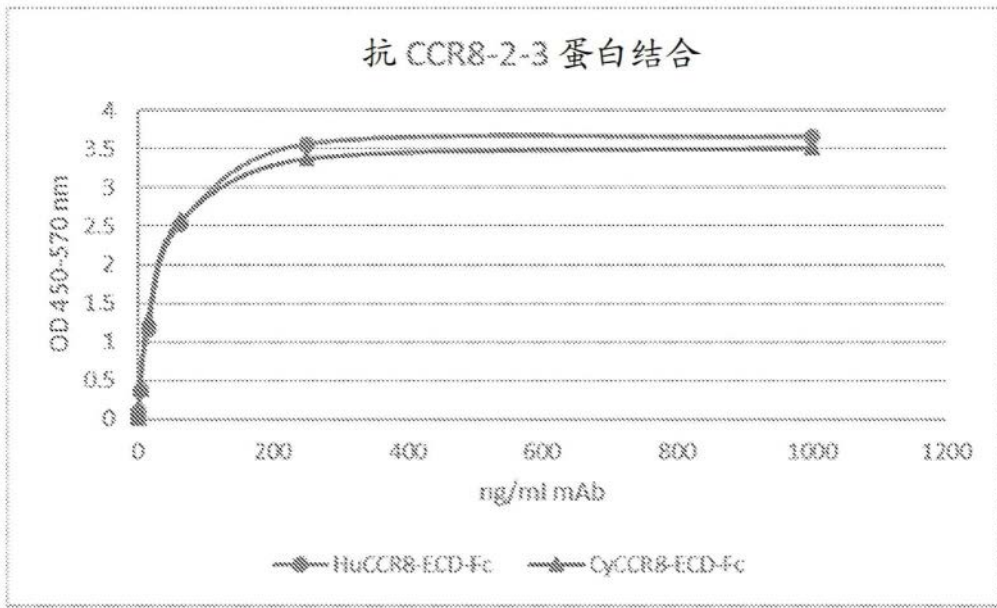


图2G

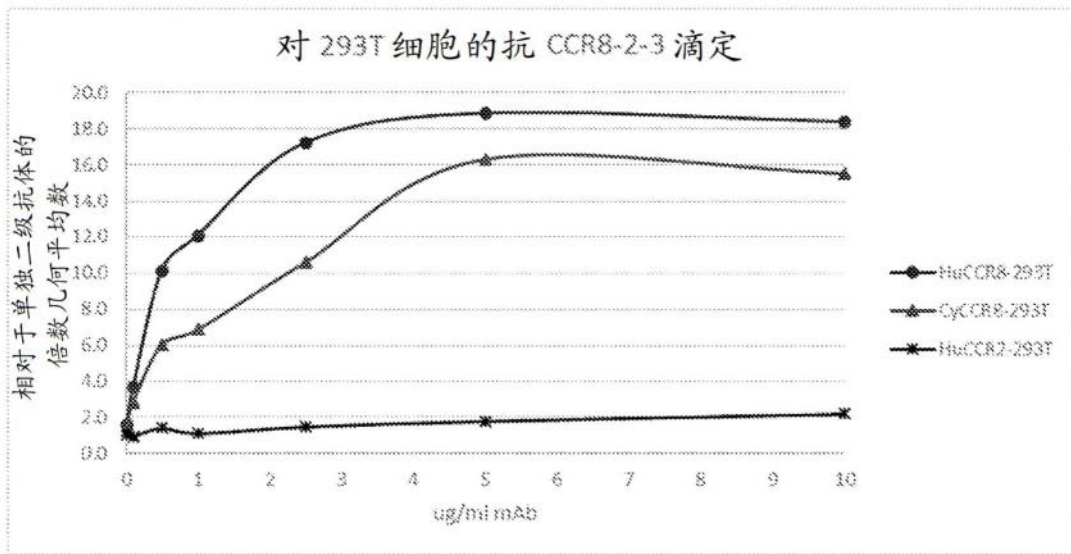


图2H

抗 CCR8-2-4 蛋白结合

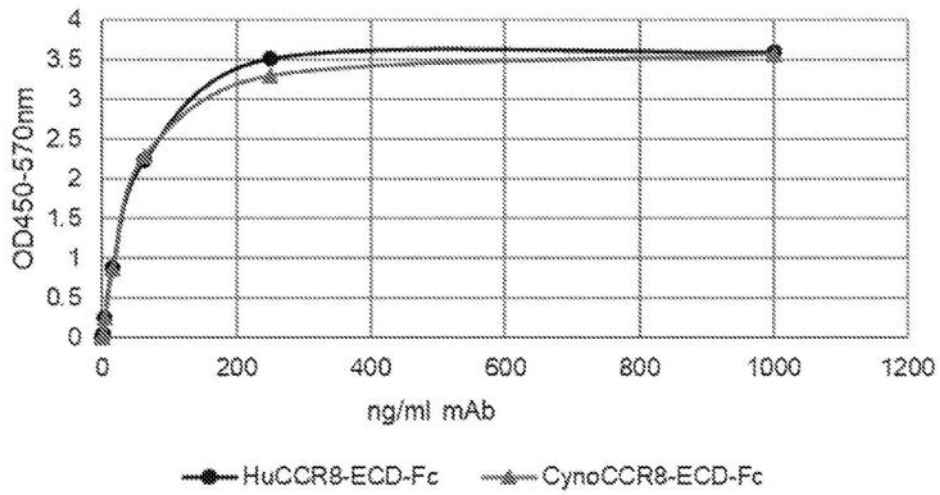


图2I

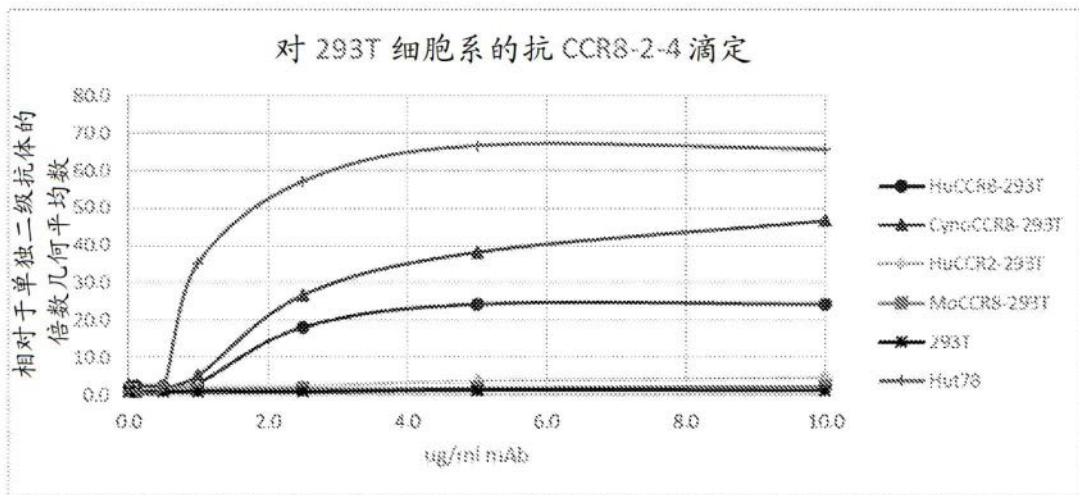


图2J

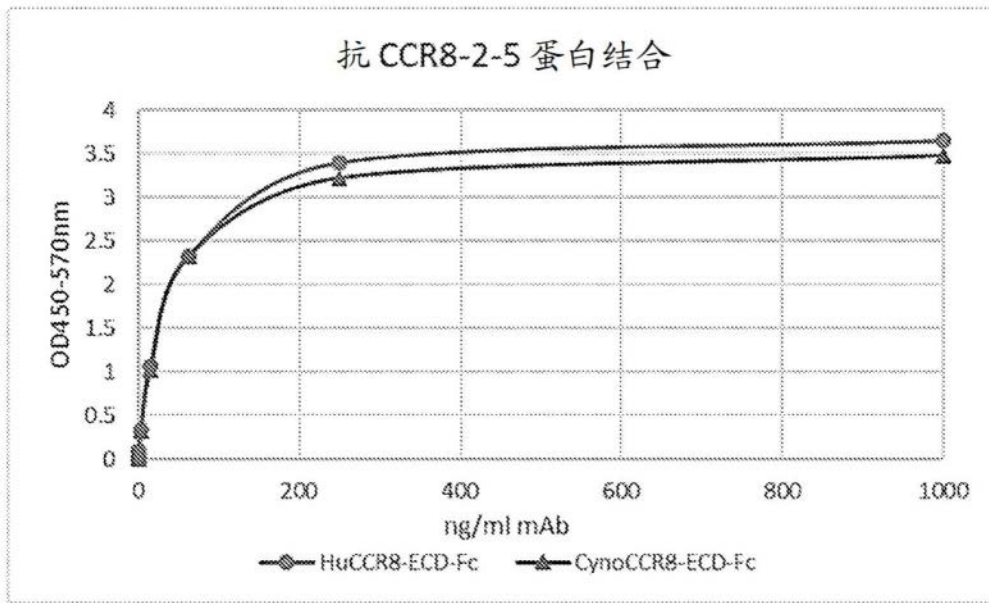


图2K

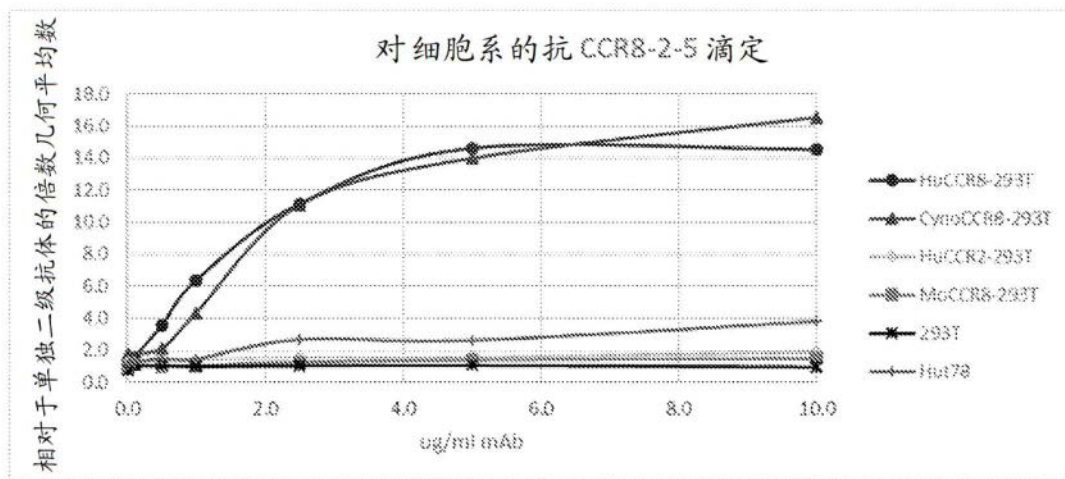


图2L

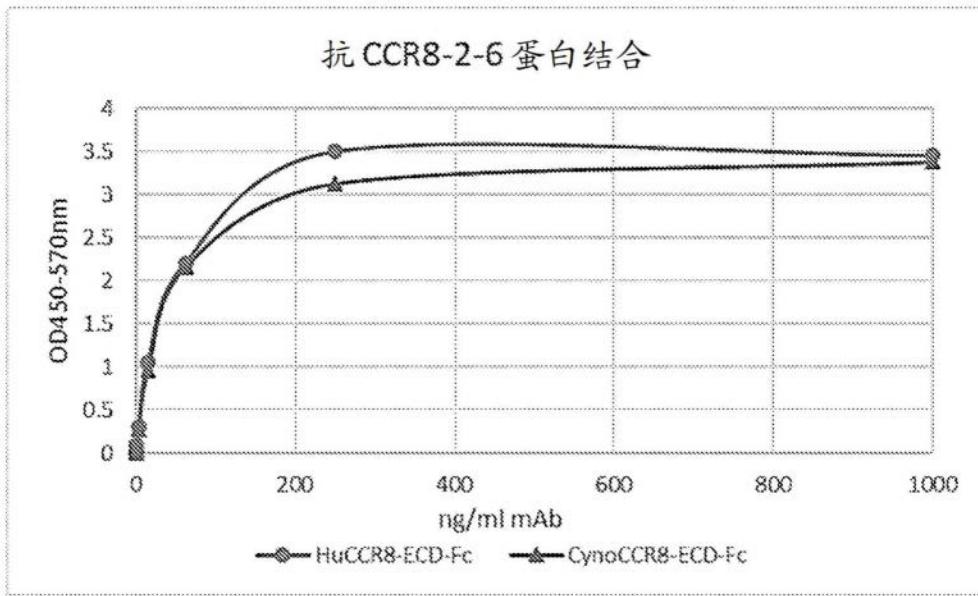


图2M

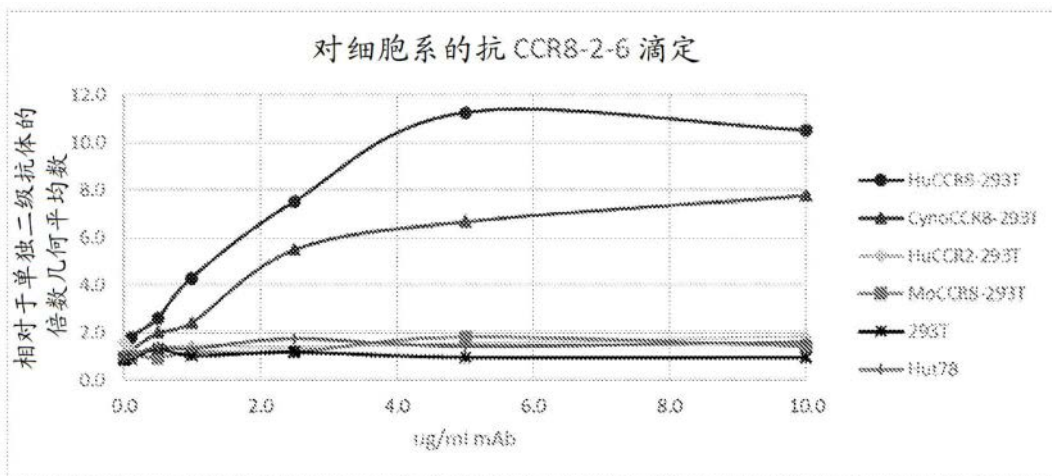


图2N

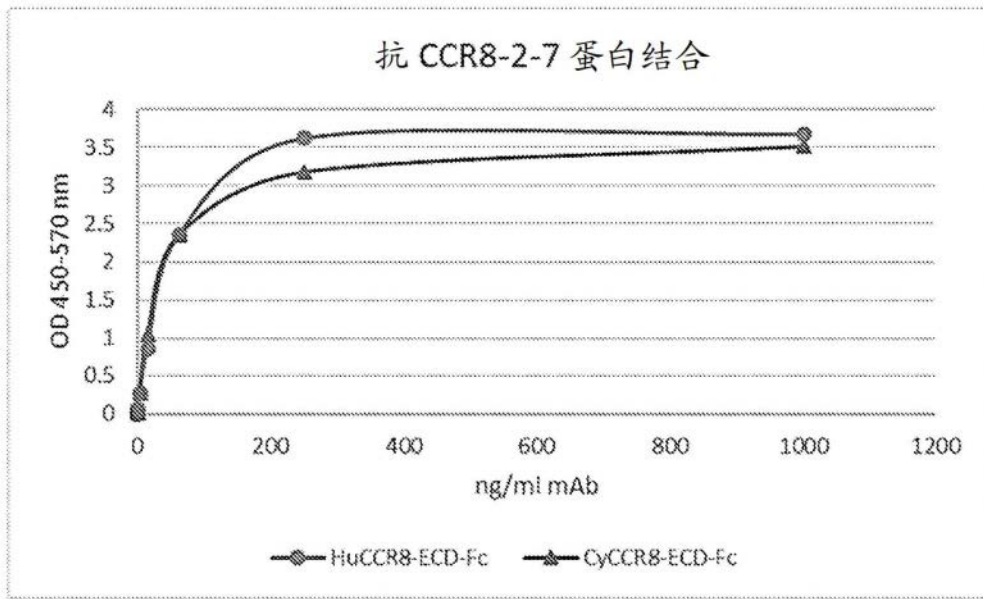


图20

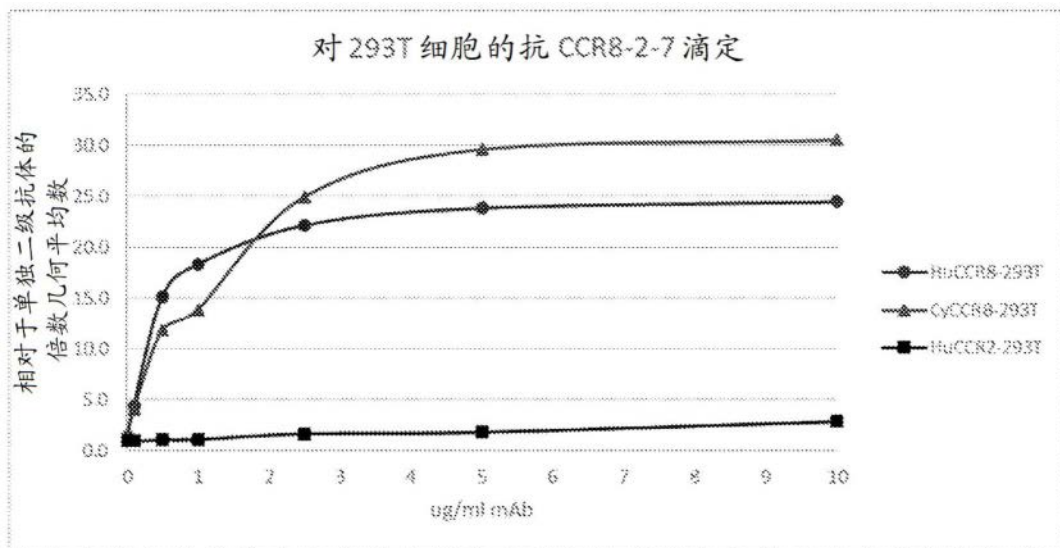


图2P

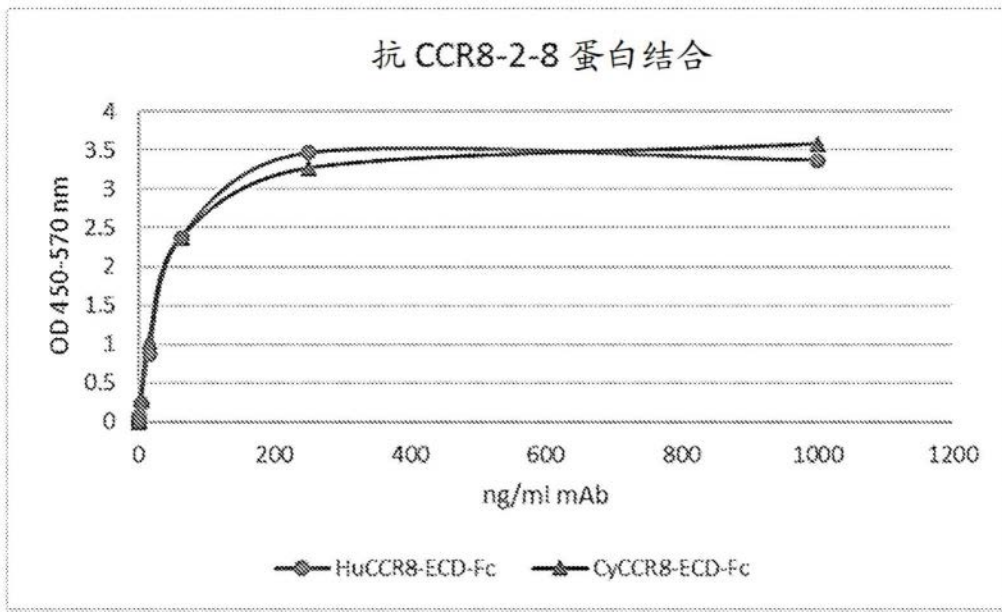


图2Q

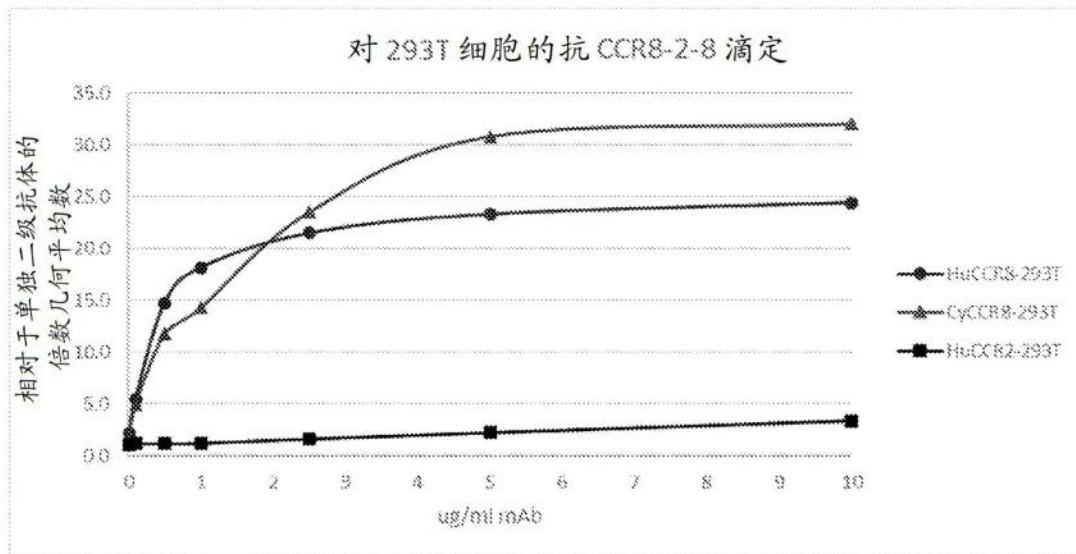


图2R

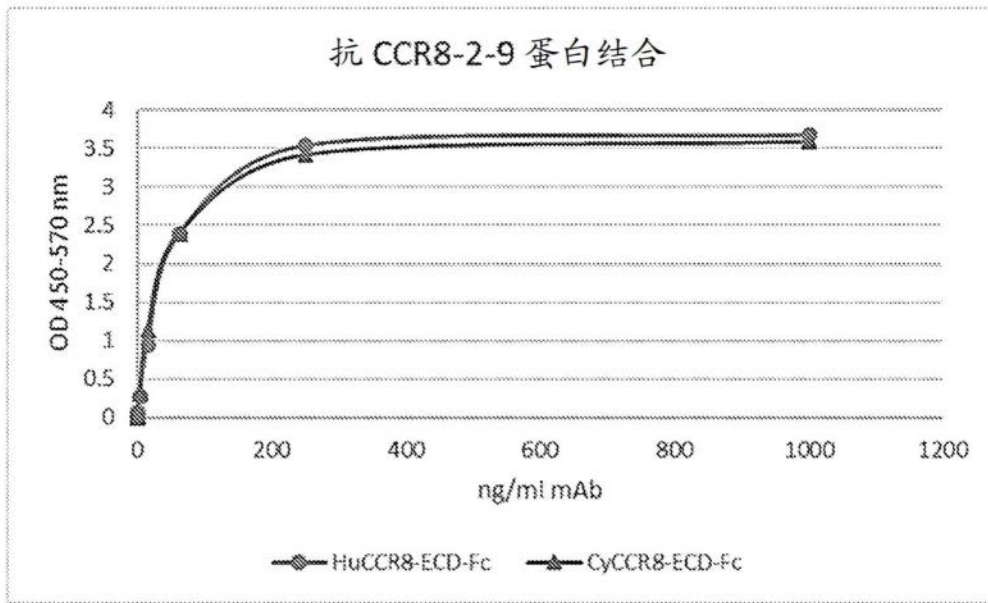


图2S

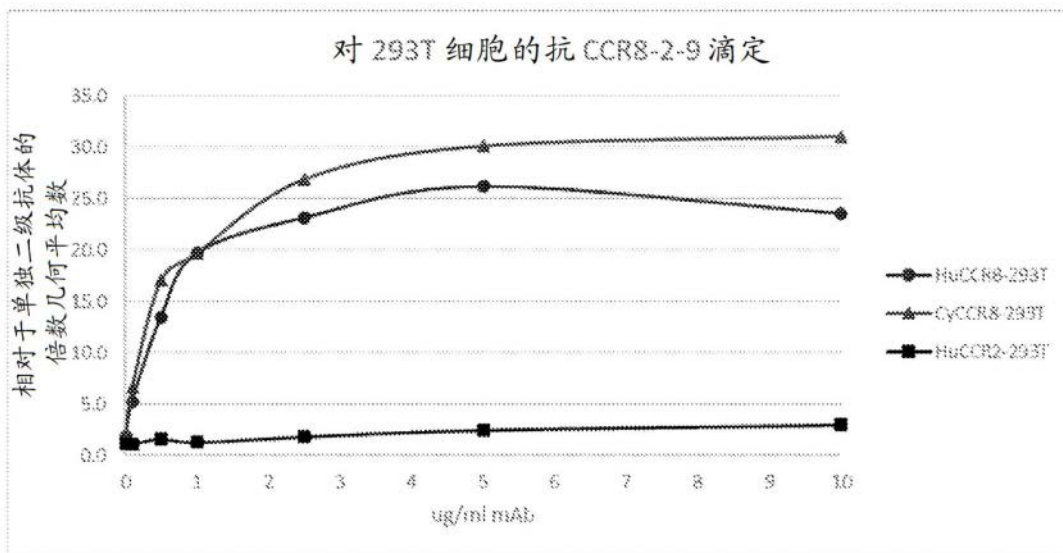


图2T

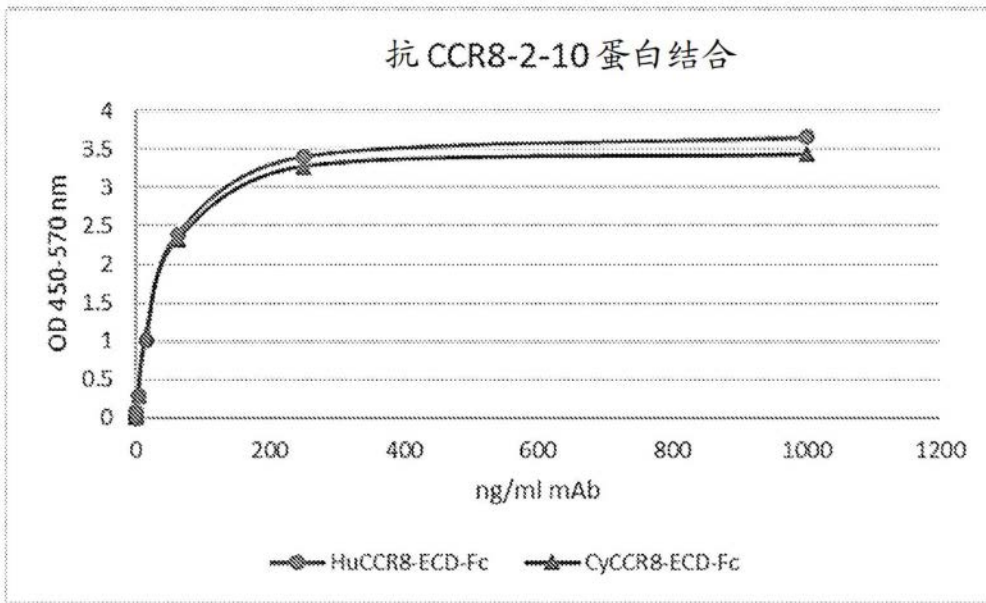


图2U

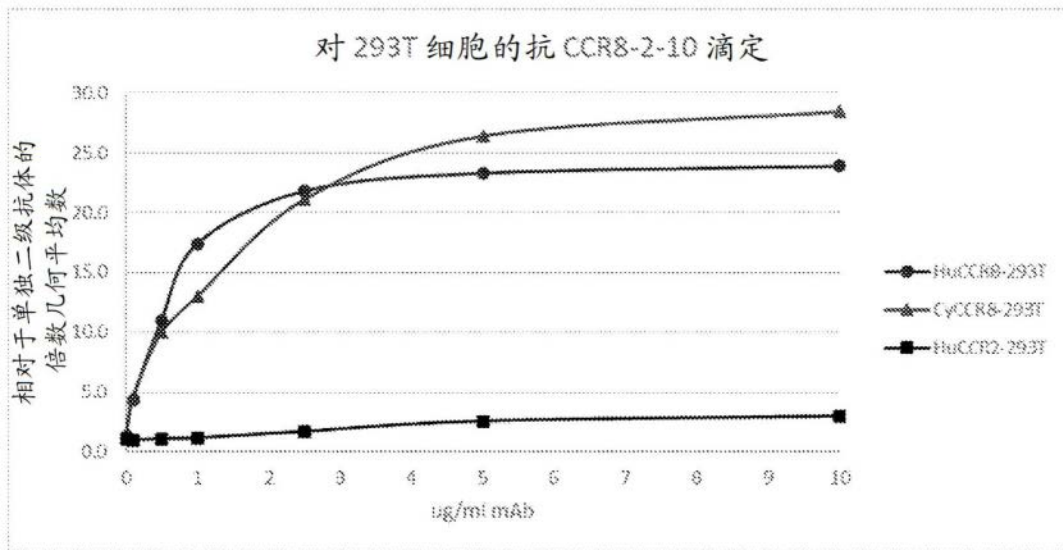


图2V

抗 CCR8-1 的细胞上 Kd

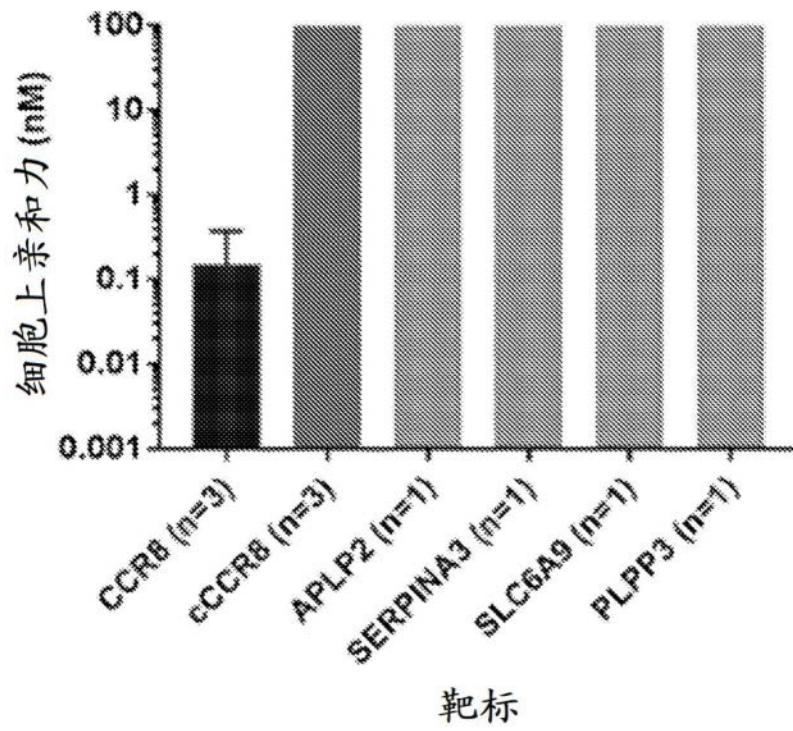


图3A

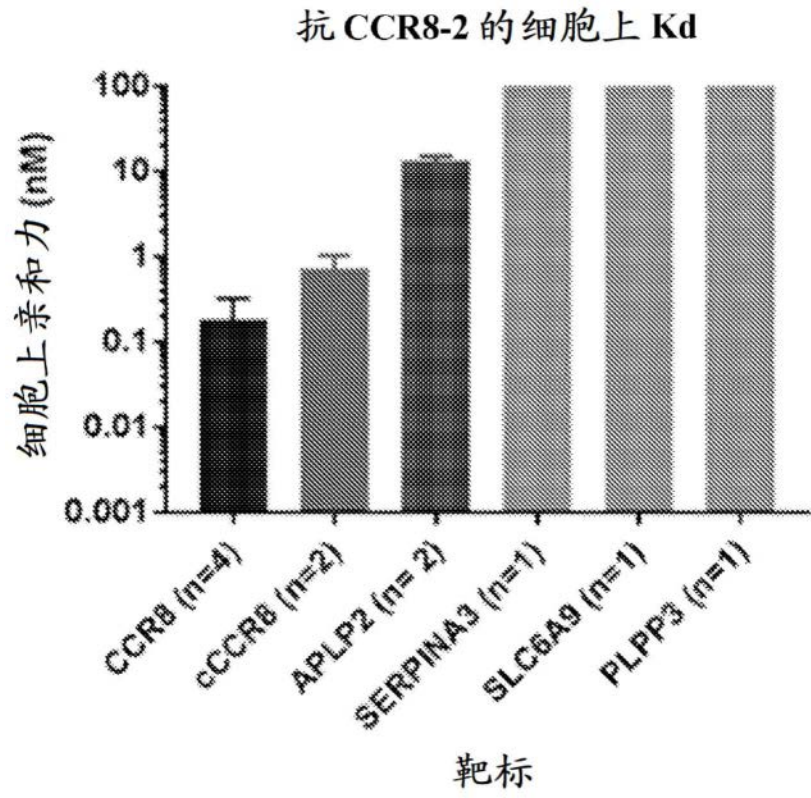


图3B

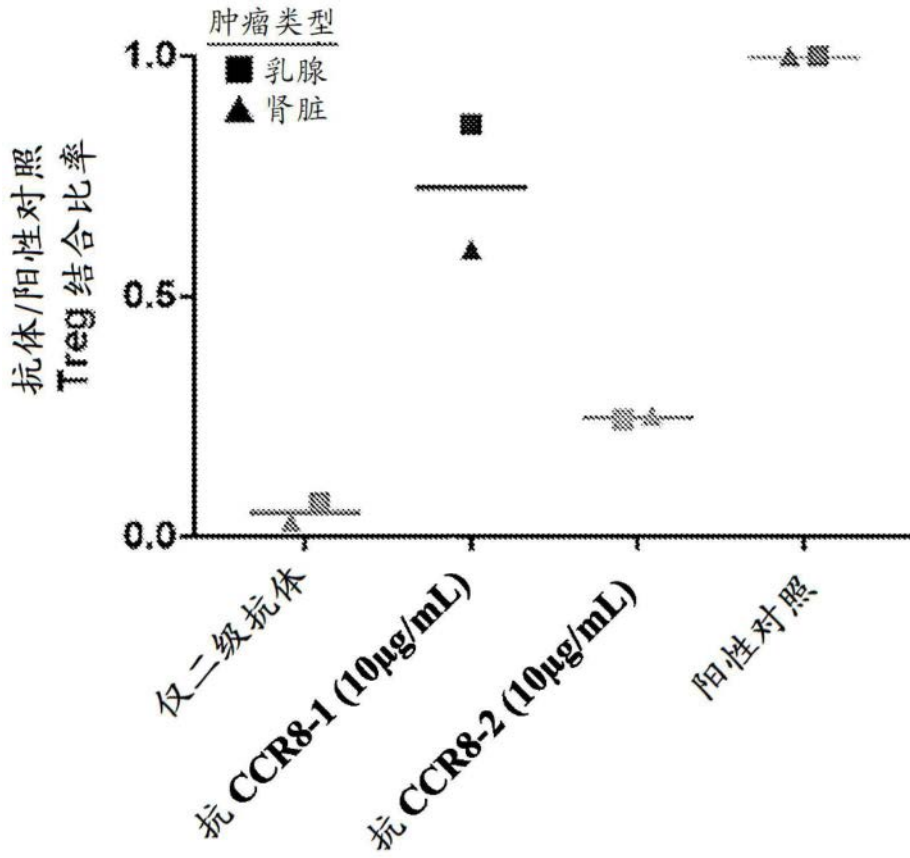


图4A

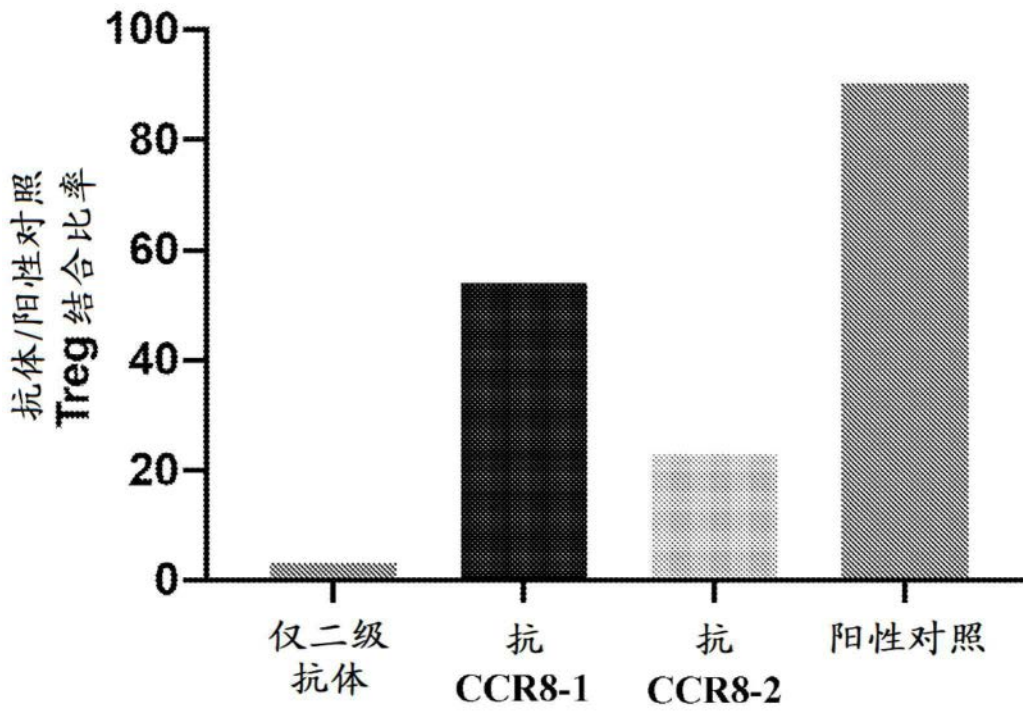


图4B

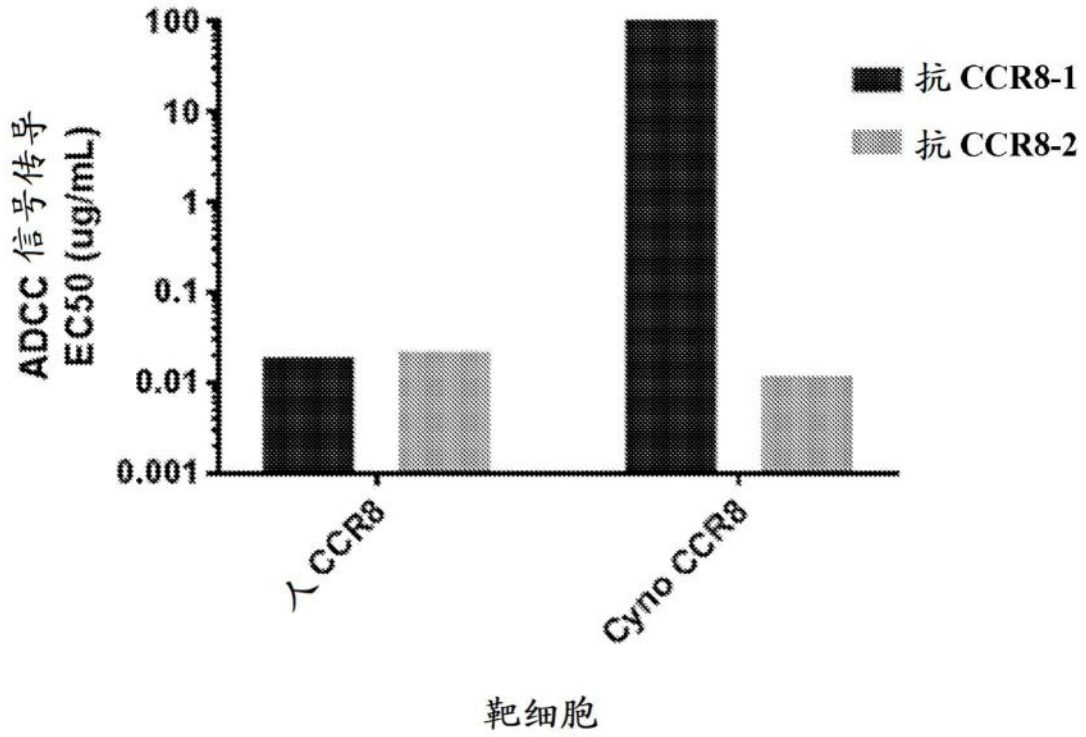


图5

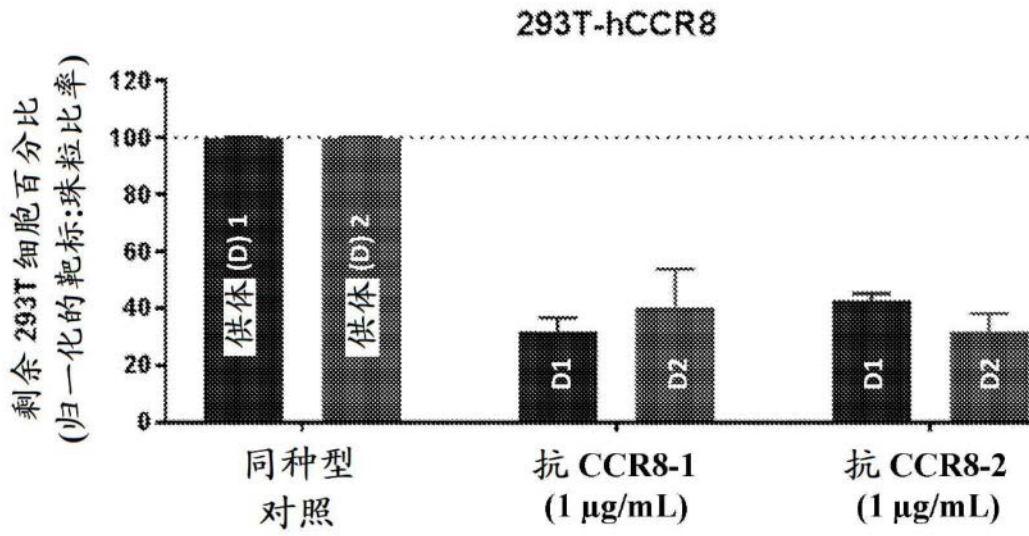


图6A

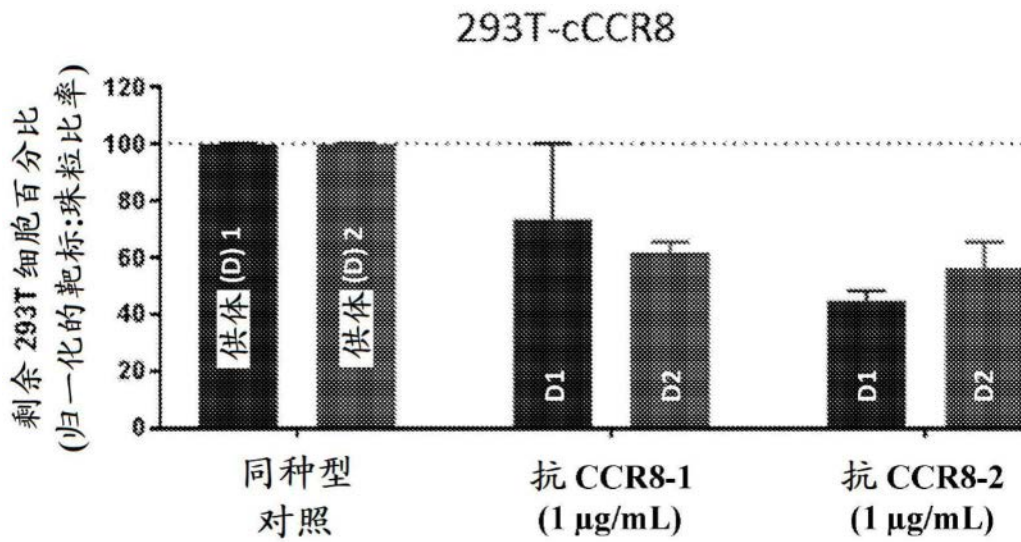


图6B

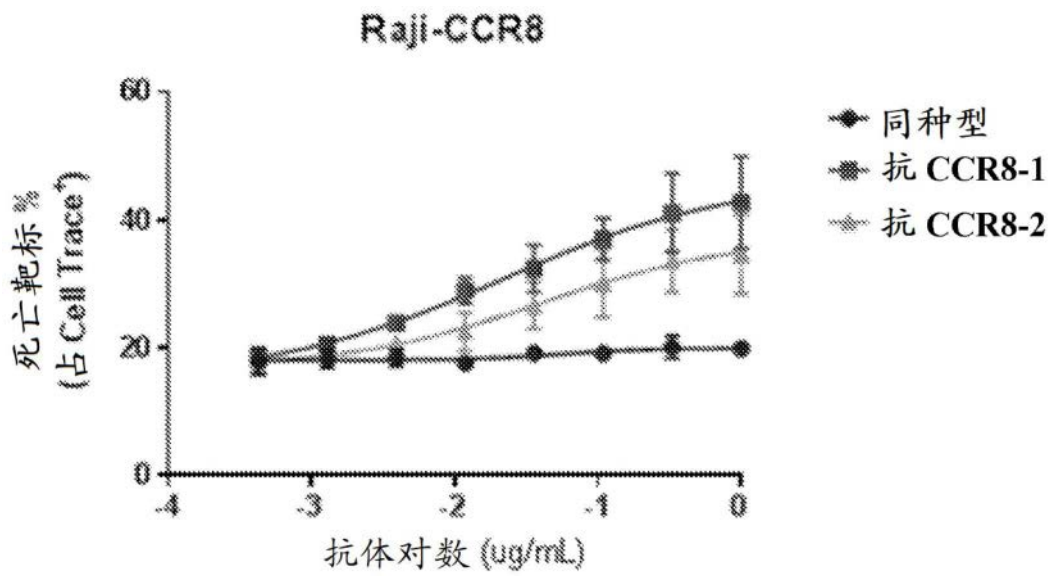


图7A

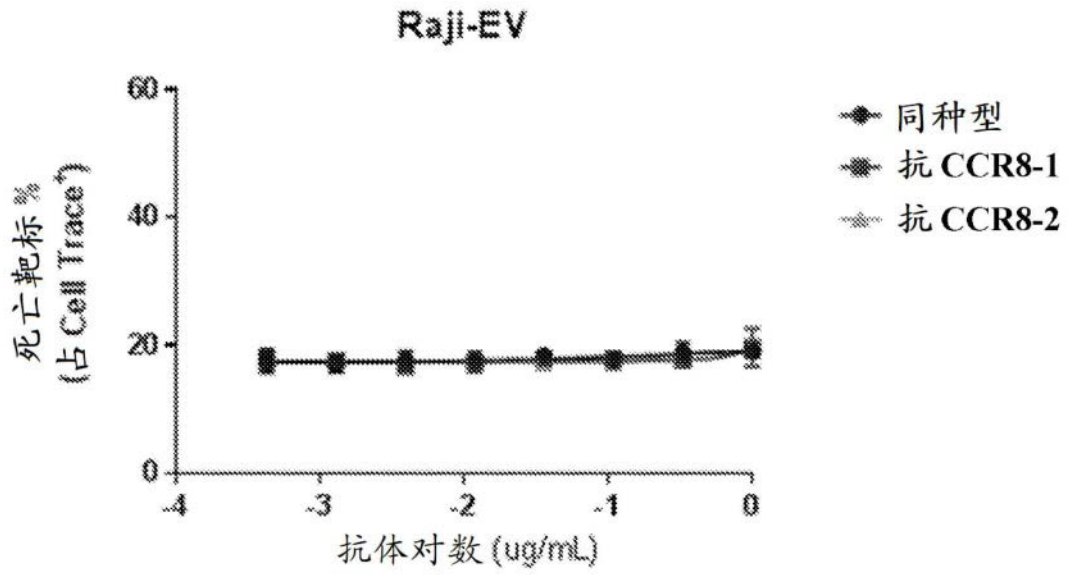


图7B

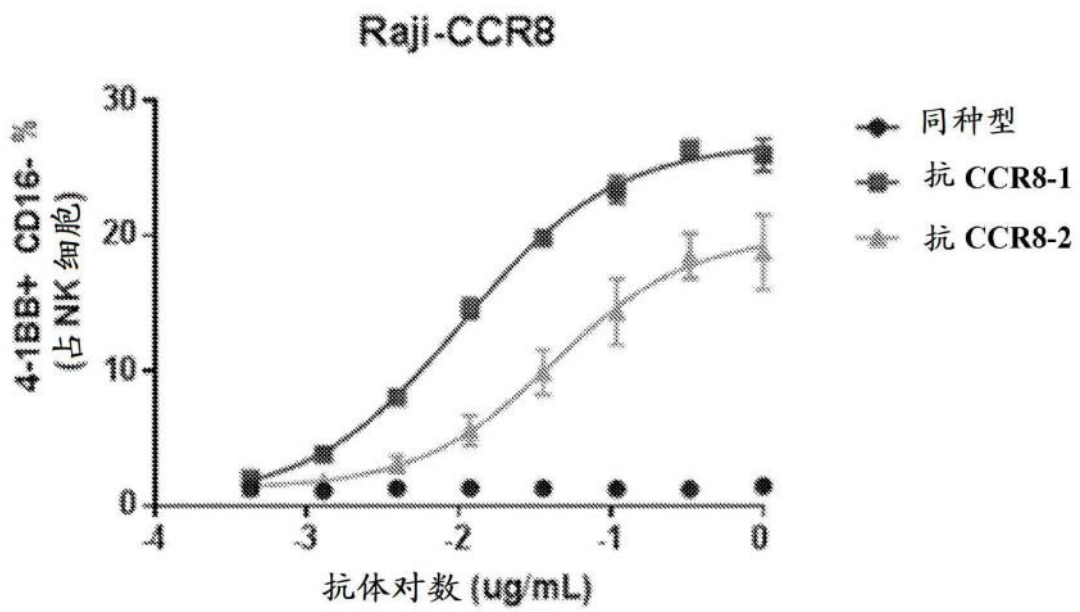


图8A

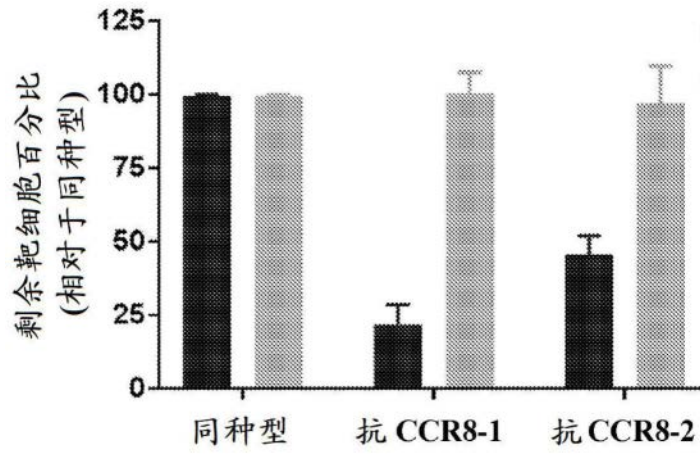


图8B

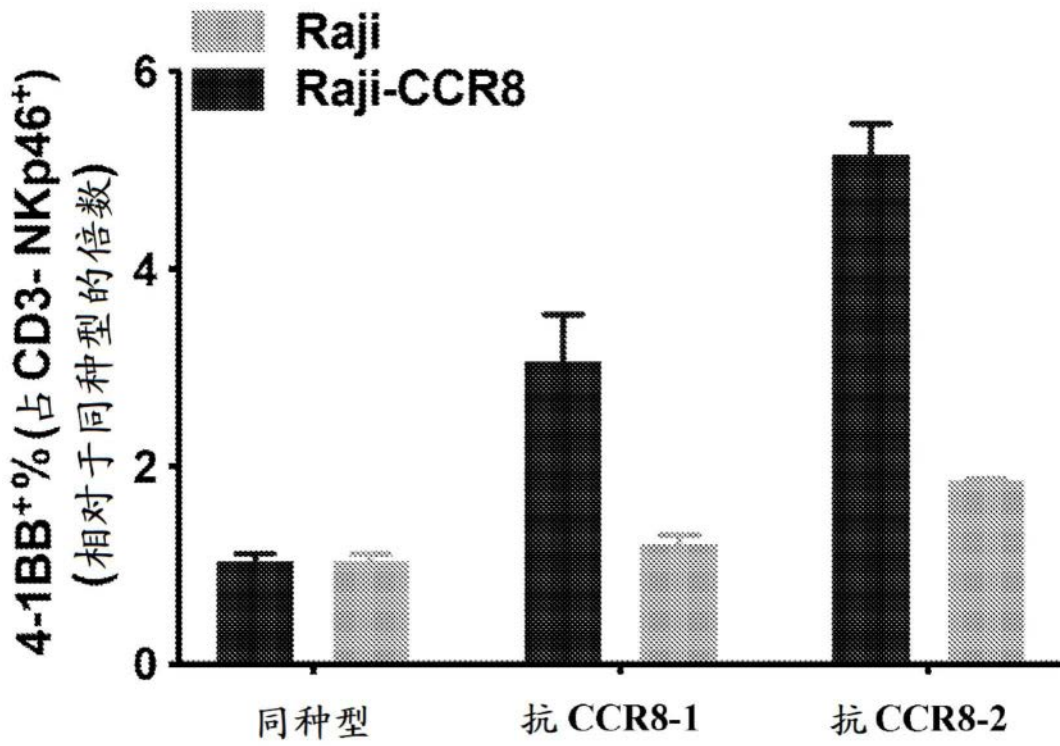


图8C

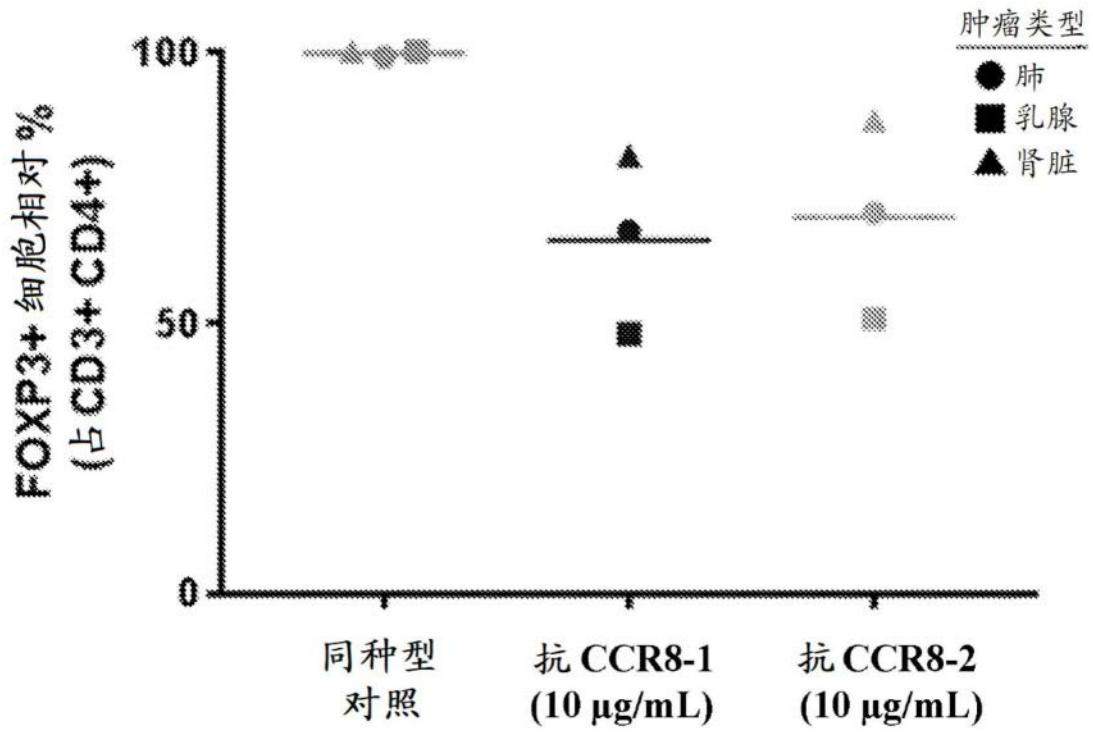


图9

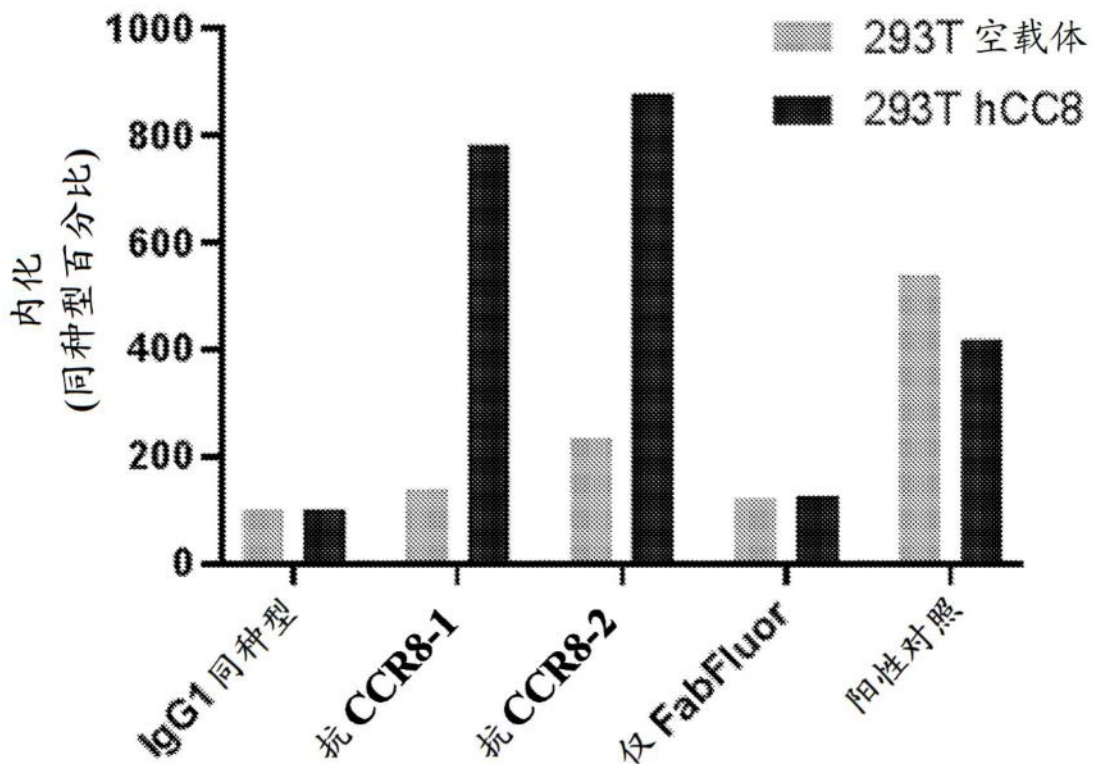


图10

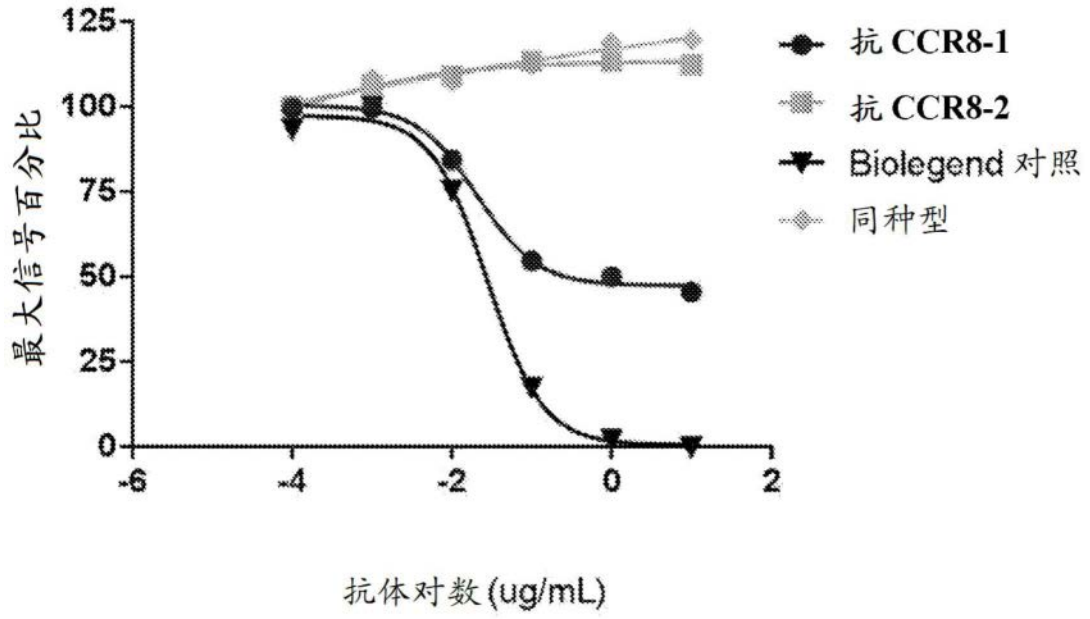


图11

NK 细胞 - CD16 VV 等位基因

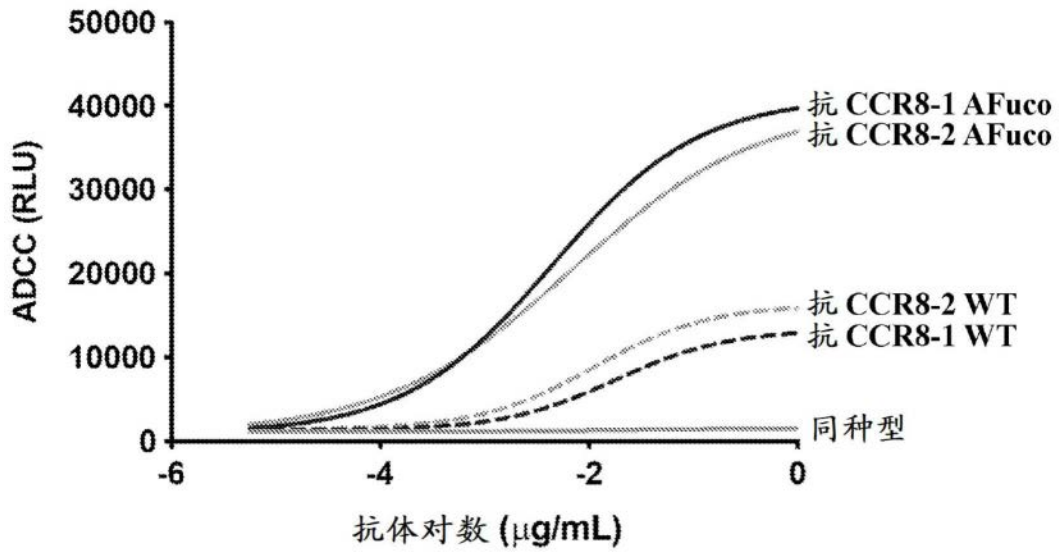


图12A

NK 细胞 - CD16 FF 等位基因

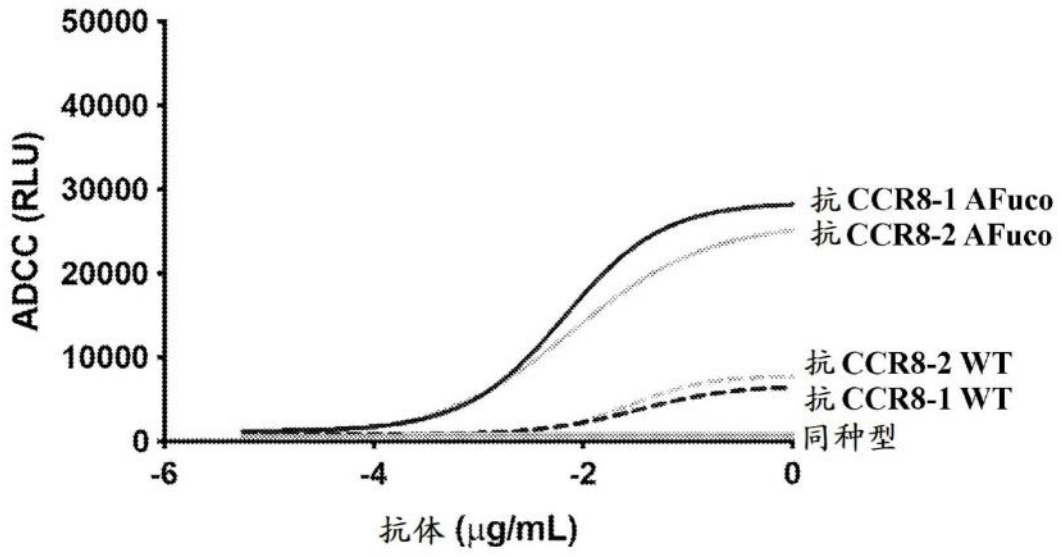


图12B

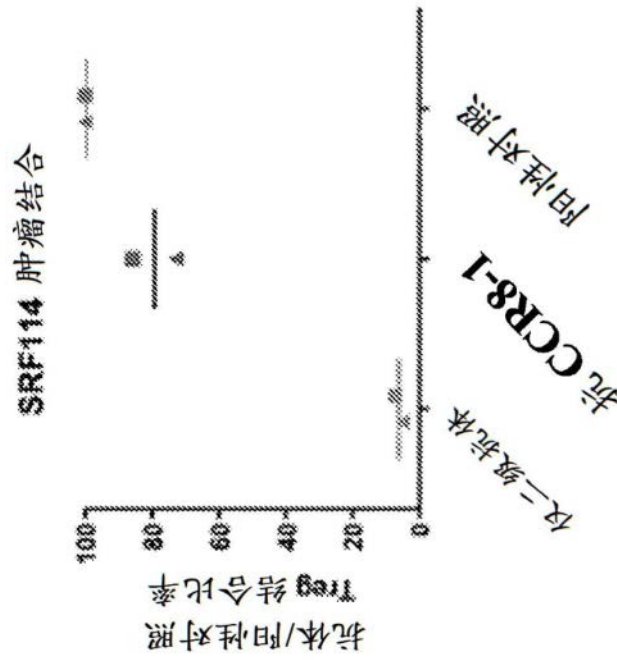


图13A

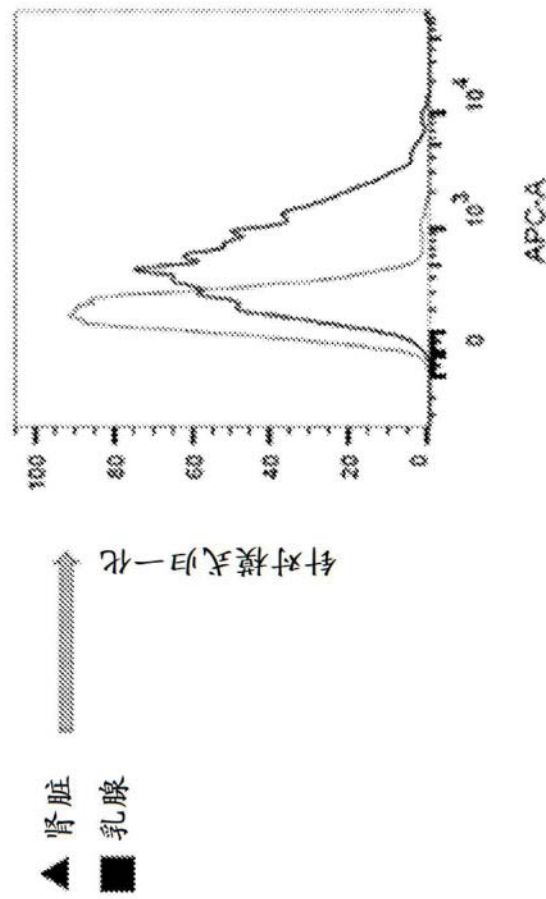


图13B

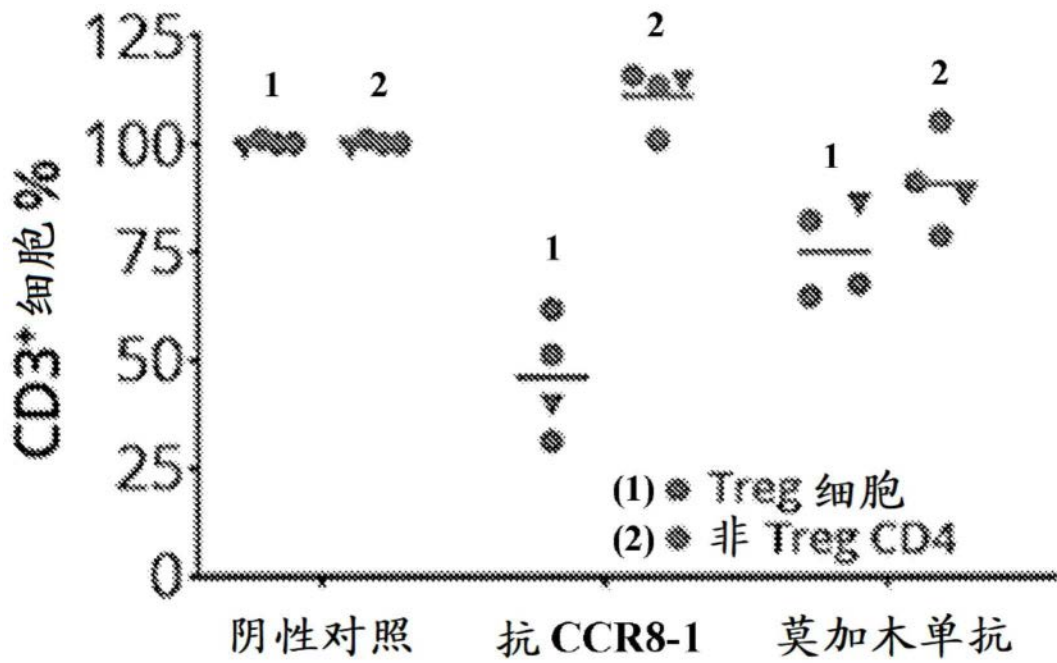


图13C