



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114901306 A

(43) 申请公布日 2022. 08. 12

(21) 申请号 202080090186.8

(22) 申请日 2020.12.18

(30) 优先权数据

62/952,878 2019.12.23 US

62/952,859 2019.12.23 US

63/019,857 2020.05.04 US

63/021,556 2020.05.07 US

63/031,453 2020.05.28 US

63/123,581 2020.12.10 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.06.22

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/065873 2020.12.18

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/133653 EN 2021.07.01

(71) 申请人 宏观基因有限公司

地址 美国马里兰州

(72) 发明人 B·J·萨姆罗 R·拉莫特-莫斯

J·M·威金顿 埃兹奥·泊韦尼

保罗·A·摩尔 S·科宁 张霄瑜

(74) 专利代理机构 北京市铸成律师事务所

11313

专利代理师 吕艳英 贾慧娜

(51) Int.Cl.

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

权利要求书5页 说明书89页

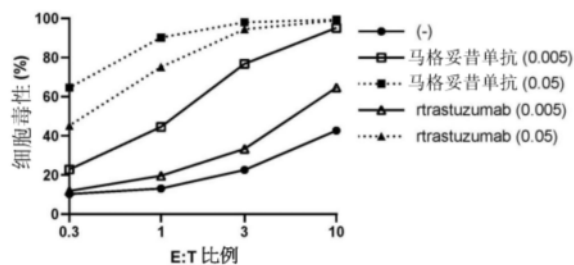
序列表40页 附图17页

(54) 发明名称

用于治疗癌症的疗法

(57) 摘要

本发明涉及用于单独或与结合肿瘤抗原 (TA) 的基于抗体的分子组合施用一种或多种结合PD-1或PD-L1和LAG-3的基于抗体的分子 (例如,PD-1x LAG-3双特异性分子) 的用于治疗癌症的方案。本发明尤其关注结合PD-1x LAG-3双特异性分子的这种方案的用途。本发明涉及这种分子的用途,以及涉及含有这种分子且促进这种给药方案在治疗癌症中的使用的药物组合物和药物试剂盒的用途。



1. 一种包括施用PD-1 x LAG-3双特异性分子给需要其的受试者的治疗癌症的方法,其中所述方法包括以约120mg至约800mg的固定剂量施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子给所述受试者。

2. 如权利要求1所述的方法,其中所述癌症特征在于肿瘤抗原(TA)的表达,并且其中所述方法进一步包括施用肿瘤抗原(TA)结合分子(TA-结合分子)给所述受试者。

3. 一种治疗受试者的癌症的方法,其中所述癌症特征在于TA的表达,所述方法包括施用给所述受试者TA-结合分子和:

(a) 双特异性(PD-1 x LAG-3双特异性分子);或

(b) 免疫特异性结合PD-1的分子(PD-1-结合分子)与免疫特异性结合LAG-3的分子(LAG-3-结合分子)组合;或

(c) 免疫特异性结合PD-L1和LAG-3二者的双特异性分子(PD-L1 x LAG-3双特异性分子);或

(d) 免疫特异性结合PD-L1的分子(PD-L1-结合分子)与LAG-3-结合分子组合。

4. 如权利要求2-3的任一项所述的方法,其中所述TA-结合分子包括ADCC-增强的Fc结构域。

5. 如权利要求2-4的任一项所述的方法,其中:

(a) 每种分子在分开的组合物中;或

(b) 每种分子在相同的组合物中;或

(c) 所述PD-1-结合分子和所述LAG-3-结合分子在相同的组合物中,且所述TA-结合分子在分开的组合物中;或

(d) 所述PD-L1-结合分子和所述LAG-3-结合分子在相同的组合物中,且所述TA-结合分子在分开的组合物中。

6. 如权利要求2-5的任一项所述的方法,其中所述TA-结合分子是抗体。

7. 如权利要求2-6的任一项所述的方法,其中所述PD-1-结合分子是抗体,所述PD-L1-结合分子是抗体,和所述LAG-3-结合分子是抗体。

8. 如权利要求3-6的任一项所述的方法,其中所述方法包括施用所述TA-结合分子和所述PD-1 x LAG-3双特异性分子。

9. 如权利要求4-8的任一项所述的方法,其中所述ADCC-增强的Fc结构域包括:

(A) 工程化的糖型;和/或

(B) 相对于野生型Fc区的氨基酸替换。

10. 如权利要求9所述的方法,其中所述ADCC-增强的Fc结构域包括:

(A) 工程化的糖型,其是不含有岩藻糖的复合的N-糖苷连接的糖链,和/或其包括平分O-GlcNAc;和/或

(B) 包括选自由下述组成的组中的氨基酸替换:

(a) 选自由下述组成的组中的一个替换:

F243L、R292P、Y300L、V305I、I332E和P396L;

(b) 选自由下述组成的组中的两个替换:

(1) F243L和P396L;

(2) F243L和R292P;

(3) R292P和V305I; 和

(4) S239D和I332E;

(c) 选自由下述组成的组中的三个替换:

(1) F243L、R292P和Y300L;

(2) F243L、R292P和V305I;

(3) F243L、R292P和P396L; 和

(4) R292P、V305I和P396L;

(d) 选自由下述组成的组中的四个替换:

(1) F243L、R292P、Y300L和P396L; 和

(2) F243L、R292P、V305I和P396L; 或

(e) 选自由下述组成的组中的五个替换:

(1) F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L; 和

(2) L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L,

其中编号为Kabat中的EU索引的编号。

11. 如权利要求9-10的任一项所述的方法, 其中所述ADCC-增强的Fc结构域包括氨基酸替换:L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L, 其中编号为Kabat中的EU索引的编号。

12. 如权利要求2-11的任一项所述的方法, 其中:

(A) 所述TA选自表6A或表6B; 和/或

(B) 所述TA-结合分子包括选自表7的抗体的VL和VH结构域。

13. 如权利要求3-7或9-12的任一项所述的方法, 其中:

(A) 所述PD-1-结合分子是包括下述的抗体:

(a) 包括SEQ ID NO:35的氨基酸序列的PD-1 VL结构域, 和包括SEQ ID NO:39的氨基酸序列的PD-1 VH结构域;

(b) 选自表1的抗PD-1抗体的VH和VL结构域; 或

(c) 选自表1的抗PD-1抗体的轻链和重链;

(B) 所述PD-L1-结合分子是包括下述的抗体:

(a) 包括SEQ ID NO:43的氨基酸序列的PD-L1 VL结构域和包括SEQ ID NO:47的氨基酸序列的PD-L1 VH结构域;

(b) 选自表2的抗PD-L1抗体的VH和VL结构域; 或

(c) 选自表2的抗PD-L1抗体的轻链和重链; 和

(C) 所述LAG-3-结合分子是包括下述的抗体:

(a) 包括SEQ ID NO:51的氨基酸序列的LAG-3 VL结构域, 和包括SEQ ID NO:55的氨基酸序列的LAG-3 VH结构域;

(b) 选自表3的抗LAG-3抗体的VH和VL结构域; 或

(c) 选自表3的抗LAG-3抗体的轻链和重链。

14. 如权利要求1-6、8或9-12的任一项所述的方法, 其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子包括:

(a) 包括SEQ ID NO:35的氨基酸序列的PD-1 VL结构域, 和包括SEQ ID NO:39的氨基酸序列的PD-1 VH结构域, 或选自表1的抗PD-1抗体的VH和VL结构域; 和/或

(b) 包括SEQ ID NO:51的氨基酸序列的LAG-3 VL结构域,和包括SEQ ID NO:55的氨基酸序列的LAG-3 VH结构域,或选自表3的抗LAG-3抗体的VH和VL结构域;或

(c) 选自表4-5的基于双特异性抗体的分子。

15. 如权利要求1-6、8、9-12或14的任一项所述的方法,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子包括:

(a) 两个所述PD-1-结合结构域;和

(b) 两个所述LAG-3-结合结构域。

16. 如权利要求1-6、8、9-12或14-15的任一项所述的方法,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子包括SEQ ID NO:35的PD-1 VL结构域、SEQ ID NO:39的PD-1 VH结构域、SEQ ID NO:51的LAG-3 VL结构域和SEQ ID NO:55的LAG-3 VH结构域。

17. 如权利要求1-6、8、9-12或14-16的任一项所述的方法,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子包括Fc区和铰链结构域。

18. 如权利要求17所述的方法,其中所述Fc区和所述铰链结构域都是IgG4同种型的,和其中所述铰链结构域包括稳定化突变。

19. 如权利要求17-18的任一项所述的方法,其中所述Fc区是包括下述的变体Fc区:

(a) 降低变体Fc区对Fc γ R的亲力的一个或多个氨基酸修饰;和/或

(b) 提高变体Fc区的血清半衰期的一个或多个氨基酸修饰。

20. 如权利要求19所述的方法,其中所述:

(a) 降低变体Fc区对Fc γ R的亲力的修饰包括L234A;L235A;或L234A和L235A的替换;和

(b) 提高变体Fc区的血清半衰期的修饰包括M252Y;M252Y和S254T;M252Y和T256E;M252Y、S254T和T256E;或K288D和H435K的替换,

其中所述编号为Kabat中的EU索引的编号。

21. 如权利要求1-6、9-12或14-20的任一项所述的方法,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子包括SEQ ID NO:59的两条多肽链和SEQ ID NO:60的两条多肽链。

22. 如权利要求1-6、9-12或14-21的任一项所述的方法,其中以约300mg的固定剂量施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

23. 如权利要求1-6、9-12或14-21的任一项所述的方法,其中以约600mg的固定剂量施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

24. 如权利要求1-6、9-12或14-23的任一项所述的方法,其中约每2周一次施用所述固定剂量。

25. 如权利要求1-6、9-12或14-23的任一项所述的方法,其中约每3周一次施用所述固定剂量。

26. 如权利要求1-6、9-12、14-21、23或24的任一项所述的方法,其中以约600mg的固定剂量约每2周一次施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

27. 如权利要求1-6、9-12、14-21、23或25的任一项所述的方法,其中以约600mg的固定剂量约每3周一次施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

28. 如权利要求1-6、9-12或14-27的任一项所述的方法,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子通过静脉内(IV)输注施用。

29. 如权利要求1-28的任一项所述的方法,其中所述癌症选自由下述组成的组中:肾上腺癌、AIDS相关的癌、肺泡状软组织肉瘤、肛门癌(包括肛管鳞状细胞癌(SCAC))、膀胱癌、骨癌、脑和脊髓癌、乳腺癌(包括HER2⁺乳腺癌或三阴性乳腺癌(TNBC))、颈动脉体瘤、子宫颈癌(包括HPV相关的子宫颈癌)、软骨肉瘤、脊索瘤、嫌色性肾细胞癌、透明细胞癌、结肠癌、结直肠癌、增生性小圆形细胞肿瘤、室管膜细胞瘤、子宫内膜癌(包括非选择性子宫内膜癌、MSI高子宫内膜癌、dMMR子宫内膜癌和/或POLE核酸外切酶结构域突变阳性子宫内膜癌)、尤因氏肉瘤、骨骼外黏液样软骨肉瘤、胆囊或胆道癌(包括胆管癌胆道癌)、胃癌、胃食管交界处(GEJ)癌、妊娠滋养细胞疾病、生殖细胞瘤、胶质母细胞瘤、头颈癌(包括头颈的鳞状细胞癌(SCCHN))、血液系统恶性肿瘤、肝细胞癌、胰岛细胞瘤、卡波西氏肉瘤、肾癌、白血病(包括、急性髓样白血病)、脂肪肉瘤/恶性脂肪瘤、肝癌(包括肝细胞肝癌(HCC))、淋巴瘤(包括、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL))、肺癌(包括小细胞肺癌(SCLC)、非-小细胞肺癌(NSCLC))、成神经管细胞瘤、黑素瘤(包括葡萄膜黑素瘤)、脑膜瘤、默克尔细胞癌、间皮瘤(包括间皮咽癌)、多发性内分泌肿瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征、成神经细胞瘤、神经内分泌肿瘤、卵巢癌、胰腺癌、甲状腺乳头状癌、甲状旁腺肿瘤、儿科癌症、周围神经鞘肿瘤、咽癌、嗜铬细胞瘤、垂体肿瘤、前列腺癌(包括转移性去势抵抗性前列腺癌(mCRPC))、葡萄膜后黑素瘤、肾转移癌、横纹肌样瘤、横纹肌肉瘤、肉瘤、皮肤癌、童年期的小圆形蓝细胞瘤(包括成神经细胞瘤和横纹肌肉瘤)、软组织肉瘤、鳞状细胞癌、胃癌、滑膜肉瘤、睾丸癌、胸腺癌、胸腺瘤、甲状腺癌和子宫癌。

30. 如权利要求29所述的方法,其中所述癌症选自由下述组成的组中:肛门癌、乳腺癌、胆道癌、子宫颈癌、结直肠癌、子宫内膜癌、胃癌、GEJ癌症、头颈癌、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑素瘤、卵巢癌和前列腺癌。

31. 如权利要求28或29的任一项所述的方法,其中所述癌症选自由下述组成的组中:HER2⁺乳腺癌、TNBC、胆管癌胆道癌、HPV相关的子宫颈癌、SCCHN、HCC、SCLC或NSCLC、NHL、前列腺癌、胃癌和GEJ癌症。

32. 如权利要求2-31的任一项所述的方法,其中所述TA-结合分子是包括包含轻链可变结构域(VL_{HER2})和重链可变结构域(VH_{HER2})的HER2-结合结构域的HER2-结合分子,其中:

(A) 所述轻链可变结构域(VL_{HER2})包括包含SEQ ID NO:61的CDRL1、CDRL2和CDRL3的马格妥昔单抗的轻链可变结构域,且所述重链可变结构域(VH_{HER2})包括包含SEQ ID NO:66的CDRH1、CDRH2和CDRH3的马格妥昔单抗的重链可变结构域;

(B) 所述轻链可变结构域(VL_{HER2})包括曲妥珠单抗的CDRL1、CDRL2和CDRL3且所述重链可变结构域(VH_{HER2})包括曲妥珠单抗的CDRH1、CDRH2和CDRH3;

(C) 所述轻链可变结构域(VL_{HER2})包括培妥珠单抗的CDRL1、CDRL2和CDRL3且所述重链可变结构域(VH_{HER2})包括培妥珠单抗的CDRH1、CDRH2和CDRH3;或

(D) 所述轻链可变结构域(VL_{HER2})包括hHER2 MAB-1的CDRL1、CDRL2和CDRL3且所述重链可变结构域(VH_{HER2})包括hHER2 MAB-1的CDRH1、CDRH2和CDRH3。

33. 如权利要求2-32的任一项所述的方法,其中所述HER2-结合分子是抗HER2抗体。

34. 如权利要求33所述的方法,其中所述抗HER2抗体是马格妥昔单抗,且所述方法包括

以约6mg/kg至约18mg/kg的剂量约每3周一次施用马格妥昔单抗。

35. 如权利要求32-34的任一项所述的方法,其中所述方法进一步包括施用化疗剂。

36. 如权利要求2-35的任一项所述的方法,其中所述癌症是表达HER2的癌症。

37. 如权利要求36所述的方法,其中所述表达HER2的癌症选自由下述组成的组中:乳腺癌、转移乳腺癌,膀胱癌、胃癌、GEJ癌症、卵巢癌、胰腺癌和胃癌。

38. 如权利要求2-31的任一项所述的方法,其中所述TA-结合分子是包括包含轻链可变结构域(VL)和重链可变结构域(VH)的B7-H3-结合结构域的B7-H3-结合分子,其中:

所述VL包括SEQ ID NO:71的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3,且所述VH包括SEQ ID NO:76的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3。

39. 如权利要求2-31或38的任一项所述的方法,其中所述TA-结合分子是依诺妥珠单抗且所述方法包括以约6mg/kg至约18mg/kg的剂量约每3周一次施用依诺妥珠单抗。

40. 如权利要求2-31或38-39的任一项所述的方法,其中所述癌症是表达B7-H3的癌症。

41. 如权利要求40所述的方法,其中所述表达B7-H3的癌症选自由下述组成的组中:肛门癌、SCAC、乳腺癌、TNBC、头颈癌、SCCHN、肺癌、NSCLC、黑素瘤、葡萄膜黑素瘤、前列腺癌和mCRPC。

42. 如权利要求2-41的任一项所述的方法,其中所述TA-结合分子通过静脉内(IV)输注施用。

43. 如权利要求1-42的任一项所述的方法,其中在所述治疗之前所述癌症的活检中存在表达LAG-3的细胞。

44. 如权利要求1-43的任一项所述的方法,其中在所述治疗之前所述癌症的活检中存在表达PD-1的细胞。

45. 如权利要求2-44的任一项所述的方法,其中所述治疗之前所述癌症的细胞表面上PD-L1表达如使用联合阳性评分(CPS)或肿瘤比例评分(TPS)确定的小于1%。

用于治疗癌症的疗法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请案主张美国专利申请序号63/123,581 (在2020年12月10日提交;申请中)、63/031,453 (在2020年5月28日提交;申请中)、63/021,556 (2020年5月7日提交;申请中)、63/019,857 (2020年5月4日提交;申请中)、62/952,878 (2019年12月23日提交;申请中)和62/952,859 (2019年12月23日提交;申请中)的优先权,其中每个申请均通过引用方式全部并入本文。

[0003] 序列表的引用

[0004] 按照37C.F.R.1.821以及下面条款,本申请案包括一个或多个序列表,其以计算机可读介质(文件名:1301_0166PCT_ST25.txt,创建于2020年12月10日,并且大小为69,999个字节)公开,该文件通过引用方式全部并入本文。

技术领域

[0005] 本发明涉及用于单独或与结合肿瘤抗原(TA)的基于抗体的分子组合施用一种或多种结合PD-1或PD-L1和LAG-3的基于抗体的分子(例如,PD-1 x LAG-3双特异性分子)的用于治疗癌症的方案。本发明尤其关注结合PD-1 x LAG-3双特异性分子的这种方案的用途。本发明涉及这种分子的用途,以及涉及含有这种分子且促进这种给药方案在治疗癌症中的使用的药物组合物和药物试剂盒的用途。

背景技术

[0006] I. 细胞-介导免疫应答

[0007] T-细胞最佳介导针对抗原的免疫应答的能力需要两个不同的信号传导相互作用(Viglietta,V.等(2007)“Modulating Co-Stimulation,”*Neurotherapeutics* 4:666-675;Korman,A.J.等(2007)“Checkpoint Blockade in Cancer Immunotherapy,”*Adv.Immunol.*90:297-339)。首先,已经排列在抗原呈递细胞(APC)的表面上的抗原必须被呈递给抗原特异性初始(naïve)CD4⁺T-细胞。这种呈递经T-细胞受体(TCR)递送信号,其指导T-细胞启动将对呈递的抗原具有特异性的免疫应答。其次,通过APC和不同的T-细胞表面分子之间的相互作用介导的一系列刺激和抑制信号首先触发T-细胞的启动和增殖并且最终触发它们抑制。因此,第一信号赋予对免疫应答的特异性而第二信号用于确定反应的特性、强度和持续时间。免疫应答由通常被称为“免疫检查点”的共刺激和共抑制配体和受体严格控制(Chen et al.,(2013)“Molecular Mechanisms of T Cell Co-Stimulation And Co-Inhibition,”*Nature Rev.Immunol.*13:227-242;Pardoll,D.M.,(2012)“The Blockade Of Immune Checkpoints In Cancer Immunotherapy,”*Nat.Rev.Cancer* 12(4):252-264)。这些分子提供用于T-细胞启动的第二信号并且提供正和负信号的平衡网络,其调节免疫应答以提供针对感染和癌症的保护。然而,一些癌细胞能够通过引起T-细胞耗竭的状态逃避免疫系统,其中T-细胞暴露于持久性抗原和/或炎症性信号(Wherry E.J.(2010)“T Cell Exhaustion,”*Nat.Immunol.*12(6):492-499)。两个免疫检查点分子涉及T-细胞耗竭、程序

性死亡-1 (“PD-1”) 和淋巴细胞启动基因3 (“LAG-3”) (Wherry, J.E. (2015) “Molecular And Cellular Insights Into T Cell Exhaustion,” *Nat.Rev.Immunol.* 15 (8) :486-499), 其在以下更详细地描述。

[0008] II. 程序性死亡-1 (“PD-1”)

[0009] 程序性死亡-1 (“PD-1”, 也称为“CD279”) 是在启动的T-细胞、B-细胞和单核细胞的表面上表达的免疫检查点蛋白质。其是T-细胞调节剂的扩展的CD28/CTLA-4家族的近似31kD类型I膜蛋白质成员, 广泛地负调节免疫应答 (Ishida, Y. 等 (1992) “Induced Expression Of PD-1, A Novel Member Of The Immunoglobulin Gene Superfamily, Upon Programmed Cell Death,” *EMBO J.* 11:3887-3895; US Patent Publication Nos. 2007/0202100; 2008/0311117; and 2009/00110667; US Patent Nos. 6,808,710; 7,101,550; 7,488,802; 7,635,757; and 7,722,868; PCT Publication No. WO 01/14557)。PD-1通过结合至跨膜蛋白质配体: 程序性死亡-配体1 (“PD-L1”, 也称为“B7-H1”) 和程序性死亡-配体12 (“PD-L2”, 也称为“B7-DC”) 介导其抑制免疫系统 (Flies, D.B. 等 (2007) “The New B7s: Playing a Pivotal Role in Tumor Immunity,” *J.Immunother.* 30 (3) :251-260; US Patent Nos. 6,803,192 and 7,794,710; US Patent Publication Nos. 2005/0059051; 2009/0055944; and 2009/0274666; 2009/0313687; PCT Publication Nos. WO 01/39722 and WO 02/086083)。在正常情况下, 免疫检查点蛋白质用作抑制过度启动的T细胞的作用靶, 并且因此用作保护自身免疫损伤。然而, 当其配体由肿瘤细胞表达时, 结合用于阻止免疫系统细胞接近肿瘤, 并且因此减弱免疫系统对识别和破坏肿瘤细胞的能力 (Tan, S. 等 (2020) “Cancer Immunotherapy: Pros, Cons And Beyond,” *Biomed.Pharmacother.* 124:109821:1-11)。因此, 肿瘤细胞上PD-L1的过度表达通常与不良的预后相关。

[0010] PD-1配体相互作用在抑制T-细胞启动和增殖中作用已经提示这些生物分子可用作炎症和癌症的治疗的治疗靶。因此, 已经提出使用对PD-1和其配体, 尤其是PD-L1的抗体来治疗感染和肿瘤且上调适应性免疫应答 (参见 Chocarro de Erauso, L. (2020) “Resistance to PD-L1/PD-1 Blockade Immunotherapy. A Tumor-Intrinsic or Tumor-Extrinsic Phenomenon?,” *Front.Pharmacol.* 11:441:1-13; Jiang, Y. 等 (2020) “Progress and Challenges in Precise Treatment of Tumors With PD-1/PD-L1 Blockade,” *Front.Immunol.* 11:339:1-7; Han, Y. 等 (2020) “PD-1/PD-L1 Pathway: Current Research In Cancer,” *Am.J.Cancer Res.* 10 (3) :727-742, US Patent Publication Nos. 2010/0040614; 2010/0028330; 2004/0241745; 2008/0311117; and 2009/0217401; US Patent Nos. 7,521,051; 7,563,869; and 7,595,048; PCT Publication Nos. WO 2004/056875 and WO 2008/083174)。已经报告了能够特异性结合至PD-1和PD-L1的抗体 (参见例如 Agata, T. 等 (1996) “Expression Of The PD-1 Antigen On The Surface Of Stimulated Mouse T And B Lymphocytes,” *Int.Immunol.* 8 (5) :765-772; and Berger, R. 等 (2008) “Phase I Safety And Pharmacokinetic Study Of CT-011, A Humanized Antibody Interacting With PD-1, In Patients With Advanced Hematologic Malignancies,” *Clin.Cancer Res.* 14 (10) :3044-3051; US Patent Nos. 8,008,449 and 8,552,154; US Patent Publication Nos. 2007/0166281; 2012/0114648; 2012/0114649; 2013/0017199; 2013/0230514 and 2014/0044738; and PCT Patent Publication Nos. WO 2003/099196; WO 2004/004771; WO 2004/056875;

WO 2004/072286;WO 2006/121168;WO 2007/005874;WO 2008/083174;WO 2009/014708;WO 2009/073533;WO 2012/135408,WO 2012/145549和WO 2013/014668)。

[0011] III. 淋巴细胞启动基因3 (“LAG-3”)

[0012] 淋巴细胞启动基因3 (“LAG-3”,也称为“CD223”)是由启动的CD4⁺和CD8⁺T-细胞和NK细胞表达,并且由浆细胞样树突细胞结构性表达的细胞-表面受体蛋白质;LAG-3不由B-细胞、单核细胞或任何其他测试的细胞类型表达(Workman,C.J.等(2009)“LAG-3Regulates Plasmacytoid Dendritic Cell Homeostasis,”J.Immunol.182(4):1885-1891)。

[0013] 研究已经显示LAG-3在负调节T-细胞增殖、功能和稳态中和在T-细胞耗竭中起重要的作用(Workman,C.J.等(2002)“Cutting Edge:Molecular Analysis Of The Negative Regulatory Function Of Lymphocyte Activation Gene-3,”J.Immunol.169:5392-5395;Workman,C.J.等(2003)“The CD4-Related Molecule,LAG-3(CD223)Regulates The Expansion Of Activated T-Cells,”Eur.J.Immunol.33:970-979;Workman,C.J.(2005)“Negative Regulation Of T-Cell Homeostasis By Lymphocyte Activation Gene-3(CD223),”J.Immunol.174:688-695;Hannier,S.等(1998)“CD3/TCR Complex-associated Lymphocyte Activation Gene-3 Molecules Inhibit CD3/TCR Signaling,”J.Immunol.161:4058-4065,Blackburn,S.D.,等(2009)“Coregulation of CD8⁺T Cell Exhaustion By Multiple Inhibitory Receptors During Chronic Viral Infection”Nature Immunol.10:29-37)。

[0014] 研究已经提示通过抗体阻断抑制LAG-3功能可逆转LAG-3-介导免疫系统抑制和部分恢复效应子功能(Grosso,J.F.等(2009)“Functionally Distinct LAG-3and PD-1Subsets on Activated and Chronically Stimulated CD8 T-Cells,”J.Immunol.182(11):6659-6669;Grosso,J.F.等(2007)“LAG-3Regulates CD8⁺T-Cell Accumulation And Effector Function During Self And Tumor Tolerance,”J.Clin.Invest.117:3383-3392).Antibodies capable of specifically binding to LAG-3 have been reported (see,e.g.,PCT Publication Nos.WO 2014/140180,WO 2015/138920,WO 2015/116539,WO 2016/028672,WO 2016/126858,WO 2016/200782和WO 2017/015560)。

[0015] IV. 双特异性分子

[0016] 提供双特异性分子(例如,双特异性抗体、双特异性双抗体等)提供了优于单特异性天然抗体的显著优势:共连接和共定位表达不同表位的细胞的能力。因此,双特异性分子具有包括疗法的广泛应用。双特异性允许在各种应用中的设计和工程化中有极大灵活性,提供增强对多聚体抗原亲和性,不同抗原的交联,并且依赖于两种靶抗原存在直接靶向特定的细胞类型。PD-1 x LAG-3双特异性分子用于癌症和/或与病原体相关的疾病的治疗在PCT公开号WO 2015/200119、WO 2017/025498、WO 2018/083087、WO 2018/185043、WO 2018/134279和WO 2018/217940中描述。具体地,PD-1 x LAG-3双特异性双抗体具有新的PD-1-和LAG-3-结合结构域和示例性活性在WO 2017/019846中描述。

[0017] V. 肿瘤抗原

[0018] 肿瘤抗原(“TA”)包括细胞膜蛋白质,其仅存在于肿瘤细胞和而不存在于任何其他细胞上(即,肿瘤-特异性抗原),或特征性存在于肿瘤细胞上,但也存在于某些正常细胞上(即,肿瘤相关抗原)。肿瘤抗原可被抗体靶向并且用于刺激免疫系统的细胞以克服肿瘤逃

避,并且在肿瘤监视和清除中起新的作用(Tan,S.等(2020)“Cancer Immunotherapy:Pros, Cons And Beyond,”Biomed.Pharmacother.124:109821:1-11;Finn,O.J.(2017)“Human Tumor Antigens Yesterday,Today,and Tomor Row,”Cancer Immunol.Res.5(5):347-354;Barros,L.等(2018)“Immunological-Based Approaches For Cancer Therapy,”Clinics 73(suppl 1):e429s:1-11;Smith,C.C.等(2019)“Alternative Tumour-Specific Antigens,”Nat.Rev.Cancer 19(8):465-478;Ehx,G.等(2019)“Discovery And Characterization Of Actionable Tumor Antigens,”Genome Med.11:29:1-3)。

发明内容

[0019] 本文提供了能够更积极地指导身体的免疫系统来攻击癌细胞的方案。尽管适应性免疫系统可以是针对癌症和疾病的有效防御机制,其通常受肿瘤微环境中由PD-1/PD-L1相互作用或由LAG-3抑制活性介导的免疫抑制/逃避机制的阻碍。如本文提供的,这种免疫抑制/逃避机制可通过施用PD-1 x LAG-3双特异性分子克服。如本文进一步提供的,PD/PD-L1和LAG-3检查点途径的双重检查点抑制可与TA-结合分子的抗肿瘤活性(特别地具有增强ADCC活性的一种)协同作用。

[0020] 本发明涉及用于单独或与结合肿瘤抗原(TA)的基于抗体的分子组合施用一种或多种结合PD-1或PD-L1和LAG-3的基于抗体的分子(例如,PD-1 x LAG-3双特异性分子)的用于治疗癌症的方案。本发明尤其关注结合PD-1 x LAG-3双特异性分子的这种方案的用途。本发明涉及这种分子的用途,以及涉及含有这种分子且促进这种给药方案在治疗癌症中的使用的药物组合物和药物试剂盒的用途。

[0021] 本发明特别地关注包括施用PD-1 x LAG-3双特异性分子给需要其的受试者的治疗癌症的方法,其中方法包括以约120mg至约800mg的固定剂量施用PD-1 x LAG-3双特异性分子给受试者。

[0022] 本发明另外关注这种方法的实施方式,其中癌症特征在于肿瘤抗原(TA)的表达,并且其中方法进一步包括施用肿瘤抗原(TA)结合分子(TA-结合分子)给受试者。

[0023] 本发明进一步关注治疗受试者的癌症的方法,其中癌症特征在于TA的表达,方法包括施用给受试者TA-结合分子和:

[0024] (a) 双特异性PD-1 x LAG-3双特异性分子;或

[0025] (b) 免疫特异性结合PD-1的分子(PD-1-结合分子)与免疫特异性结合LAG-3的分子(LAG-3-结合分子)组合;或

[0026] (c) 免疫特异性结合PD-L1和LAG-3二者的双特异性分子(PD-L1 x LAG-3双特异性分子);或

[0027] (d) 免疫特异性结合PD-L1的分子(PD-L1-结合分子)与LAG-3-结合分子组合。

[0028] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中TA-结合分子包括ADCC-增强的Fc结构域。

[0029] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中:

[0030] (a) 每个分子在不同的组合物中;或

[0031] (b) 每个分子在相同的组合物中;或

[0032] (c) PD-1-结合分子和LAG-3-结合分子在相同的组合物中,并且TA-结合分子在不

同的组合物中;或

[0033] (d) PD-L1-结合分子和LAG-3-结合分子在相同的组合物中,并且TA-结合分子在不同的组合物中。本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中TA-结合分子是抗体。

[0034] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中PD-1-结合分子是抗体、PD-L1-结合分子是抗体和LAG-3-结合分子是抗体。

[0035] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中方法包括施用TA-结合分子和PD-1 x LAG-3双特异性分子。

[0036] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中ADCC-增强的Fc结构域包括:

[0037] (A) 工程化的糖型;和/或

[0038] (B) 相对于野生型Fc区的氨基酸替换。

[0039] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中ADCC-增强的Fc结构域包括:

[0040] (A) 工程化的糖型,其是不含有岩藻糖的复合的N-糖苷连接的糖链,和/或其包括平分O-GlcNAc;和/或

[0041] (B) 包括选自由下述组成的组中的氨基酸替换:

[0042] (a) 选自由下述组成的组中的一个替换:

[0043] F243L、R292P、Y300L、V305I、I332E和P396L;

[0044] (b) 选自由下述组成的组中的两个替换:

[0045] (1) F243L和P396L;

[0046] (2) F243L和R292P;

[0047] (3) R292P和V305I;和

[0048] (4) S239D和I332E;

[0049] (c) 选自由下述组成的组中的三个替换:

[0050] (1) F243L、R292P和Y300L;

[0051] (2) F243L、R292P和V305I;

[0052] (3) F243L、R292P和P396L;和

[0053] (4) R292P、V305I和P396L;

[0054] (d) 选自由下述组成的组中的四个替换:

[0055] (1) F243L、R292P、Y300L和P396L;和

[0056] (2) F243L、R292P、V305I和P396L;或

[0057] (e) 选自由下述组成的组中的五个替换:

[0058] (1) F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L;和

[0059] (2) L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L,

[0060] 其中编号为Kabat中的EU索引的编号。

[0061] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中ADCC-增强的Fc结构域包括氨基酸替换:L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L,其中编号为Kabat中的EU索引的编号。

[0062] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中:

[0063] (A) TA选自表6A或表6B;和/或

[0064] (B) TA-结合分子包括选自表7的抗体的VL和VH结构域。

[0065] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中:

- [0066] (A) PD-1-结合分子是抗体,其包括:
- [0067] (a) 包括SEQ ID NO:35的氨基酸序列的PD-1 VL结构域和包括SEQ ID NO:39的氨基酸序列的PD-1 VH结构域;
- [0068] (b) 选自表1的抗PD-1抗体的VH和VL结构域;或
- [0069] (c) 选自表1的抗PD-1抗体的轻链和重链;
- [0070] (B) PD-L1-结合分子是抗体,其包括:
- [0071] (a) 包括SEQ ID NO:43的氨基酸序列的PD-L1 VL结构域和包括SEQ ID NO:47的氨基酸序列的PD-L1 VH结构域;
- [0072] (b) 选自表2的抗PD-L1抗体的VH和VL结构域;或
- [0073] (c) 选自表2的抗PD-L1抗体的轻链和重链;和
- [0074] (C) LAG-3-结合分子是抗体,其包括:
- [0075] (a) 包括SEQ ID NO:51的氨基酸序列的LAG-3 VL结构域和包括SEQ ID NO:55的氨基酸序列的LAG-3 VH结构域;
- [0076] (b) 选自表3的抗LAG-3抗体的VH和VL结构域;或
- [0077] (c) 选自表3的抗LAG-3抗体的轻链和重链。
- [0078] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中PD-1 x LAG-3双特异性分子包括:
- [0079] (a) 包括SEQ ID NO:35的氨基酸序列的PD-1 VL结构域和包括SEQ ID NO:39的氨基酸序列的PD-1 VH结构域,或选自表1的抗PD-1抗体的VH和VL结构域;和/或
- [0080] (b) 包括SEQ ID NO:51的氨基酸序列的LAG-3 VL结构域和包括SEQ ID NO:55的氨基酸序列的LAG-3 VH结构域,或选自表3的抗LAG-3抗体的VH和VL结构域;或
- [0081] (c) 选自表4-5的基于双特异性抗体的分子。
- [0082] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中PD-1 x LAG-3双特异性分子包括:
- [0083] (a) 两个PD-1-结合结构域;和
- [0084] (b) 两个LAG-3-结合结构域。
- [0085] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中PD-1 x LAG-3双特异性分子包括SEQ ID NO:35的PD-1 VL结构域、SEQ ID NO:39的PD-1 VH结构域、SEQ ID NO:51的LAG-3 VL结构域和SEQ ID NO:55的LAG-3 VH结构域。
- [0086] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中一种PD-1 x LAG-3双特异性分子或多种PD-L1 x LAG-3双特异性分子包括Fc区和铰链结构域,和实施方式,其中Fc区和铰链结构域都是IgG4同种型,并且其中铰链结构域包括稳定化突变。
- [0087] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中Fc区是变体Fc区,其包括:
- [0088] (a) 降低变体Fc区对Fc γ R的亲力的一个或多个氨基酸修饰;和/或
- [0089] (b) 提高变体Fc区的血清半衰期的一个或多个氨基酸修饰。
- [0090] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中:
- [0091] (a) 降低变体Fc区对Fc γ R的亲力的修饰包括L234A;L235A;或L234A和L235A的替换;和
- [0092] (b) 提高变体Fc区的血清半衰期的修饰包括M252Y;M252Y和S254T;M252Y和T256E;

M252Y、S254T和T256E；或K288D和H435K的替换，

[0093] 其中编号为Kabat中的EU索引的编号。

[0094] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式，其中PD-1 x LAG-3双特异性分子包括SEQ ID NO:59的两条多肽链和SEQ ID NO:60的两条多肽链。

[0095] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式，其中一种PD-1 x LAG-3双特异性分子或多种PD-L1 x LAG-3双特异性分子以约300mg的固定剂量施用，和实施方式，其中一种PD-1 x LAG-3双特异性分子或多种PD-L1 x LAG-3双特异性分子以约600mg的固定剂量施用。

[0096] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式，其中固定剂量以约每2周一次施用，和实施方式，其中约每3周一次施用固定剂量。

[0097] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式，其中以约600mg的固定剂量约每2周一次施用一种PD-1 x LAG-3双特异性分子或多种PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0098] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式，其中以约600mg的固定剂量约每3周一次施用一种PD-1 x LAG-3双特异性分子或多种PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0099] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式，其中一种PD-1 x LAG-3双特异性分子或多种PD-L1 x LAG-3双特异性分子通过静脉内 (IV) 输注施用。

[0100] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式，其中癌症选自由下述组成的组中：肾上腺癌、AIDS相关的癌、肺泡状软组织肉瘤、肛门癌（包括肛管鳞状细胞癌 (SCAC)）、膀胱癌、骨癌、脑和脊髓癌、乳腺癌（包括HER2+乳腺癌或三阴性乳腺癌 (TNBC)）、颈动脉体瘤、子宫颈癌（包括HPV相关的子宫颈癌）、软骨肉瘤、脊索瘤、嫌色性肾细胞癌、透明细胞癌、结肠癌、结直肠癌、增生性小圆形细胞肿瘤、室管膜细胞瘤、子宫内膜癌（包括非选择性子宫内膜癌、MSI高子宫内膜癌、dMMR子宫内膜癌和/或POLE核酸外切酶结构域突变阳性子宫内膜癌）、尤因氏肉瘤、骨骼外黏液样软骨肉瘤、胆囊或胆道癌（包括胆管癌胆道癌）、胃癌、胃食管交界处 (GEJ) 癌、妊娠滋养细胞疾病、生殖细胞瘤、胶质母细胞瘤、头颈癌（包括头颈的鳞状细胞癌 (SCCHN)）、血液系统恶性肿瘤、肝细胞癌、胰岛细胞瘤、卡波西氏肉瘤、肾癌、白血病（包括、急性髓样白血病）、脂肪肉瘤/恶性脂肪瘤、肝癌（包括肝细胞肝癌 (HCC)）、淋巴瘤（包括、弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL)、非霍奇金淋巴瘤 (NHL)）、肺癌（包括小细胞肺癌 (SCLC)、非-小细胞肺癌 (NSCLC)）、成神经管细胞瘤、黑素瘤（包括葡萄膜黑素瘤）、脑膜瘤、默克尔细胞癌、间皮瘤（包括间皮咽癌）、多发性内分泌肿瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征、成神经细胞瘤、神经内分泌肿瘤、卵巢癌、胰腺癌、甲状腺乳头状癌、甲状旁腺肿瘤、儿科癌症、周围神经鞘肿瘤、咽癌、嗜铬细胞瘤、垂体肿瘤、前列腺癌（包括转移性去势抵抗性前列腺癌 (mCRPC)）、葡萄膜后黑素瘤、肾转移癌、横纹肌样瘤、横纹肌肉瘤、肉瘤、皮肤癌、童年期的小圆形蓝细胞瘤（包括成神经细胞瘤和横纹肌肉瘤）、软组织肉瘤、鳞状细胞癌、胃癌、滑膜肉瘤、睾丸癌、胸腺癌、胸腺瘤、甲状腺癌和子宫癌。

[0101] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式，其中癌症选自由下述组成的组中：肛门癌、乳腺癌、胆道癌、子宫颈癌、结直肠癌、子宫内膜癌、胃癌、GEJ癌症、头颈癌、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑素瘤、卵巢癌和前列腺癌。

[0102] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式，其中癌症选自由下述组成的组中：HER2⁺乳腺癌、TNBC、胆管癌胆道癌、HPV相关的子宫颈癌、SCCHN、HCC、SCLC或NSCLC、NHL、前

列腺癌、胃癌和GEJ癌症。

[0103] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中TA-结合分子是HER2-结合分子,其包括包含轻链可变结构域(VL_{HER2})和重链可变结构域(VH_{HER2})的HER2-结合结构域,其中:

[0104] (A) 轻链可变结构域(VL_{HER2})包括马格妥昔单抗(margetuximab)的轻链可变结构域,其包括SEQ ID NO:61的CDR_{L1}、CDR_{L2}和CDR_{L3},和重链可变结构域(VH_{HER2})包括马格妥昔单抗的重链可变结构域,其包括SEQ ID NO:66的CDR_{H1}、CDR_{H2}和CDR_{H3};

[0105] (B) 轻链可变结构域(VL_{HER2})包括曲妥珠单抗(trastuzumab)的CDR_{L1}、CDR_{L2}和CDR_{L3}和重链可变结构域(VH_{HER2})包括曲妥珠单抗的CDR_{H1}、CDR_{H2}和CDR_{H3};

[0106] (C) 轻链可变结构域(VL_{HER2})包括培妥珠单抗(pertuzumab)的CDR_{L1}、CDR_{L2}和CDR_{L3}和重链可变结构域(VH_{HER2})包括培妥珠单抗的CDR_{H1}、CDR_{H2}和CDR_{H3};或

[0107] (D) 轻链可变结构域(VL_{HER2})包括hHER2 MAB-1的CDR_{L1}、CDR_{L2}和CDR_{L3}和重链可变结构域(VH_{HER2})包括hHER2 MAB-1的CDR_{H1}、CDR_{H2}和CDR_{H3}。

[0108] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中HER2-结合分子是抗HER2抗体。

[0109] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中抗HER2抗体是马格妥昔单抗,并且方法包括以约6mg/kg至约18mg/kg的剂量约每3周一次施用马格妥昔单抗。

[0110] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中方法进一步包括施用化疗剂。

[0111] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中癌症是表达HER2的癌症,和特别地,其中,其中表达HER2的癌症选自由下述组成的组中:乳腺癌、转移乳腺癌、膀胱癌、胃癌、GEJ癌症、卵巢癌、胰腺癌和胃癌。

[0112] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中TA-结合分子是B7-H3-结合分子,其包括包含轻链可变结构域(VL)和重链可变结构域(VH)的B7-H3-结合结构域,其中:

[0113] VL包括SEQ ID NO:71的CDR_{L1}、CDR_{L2}和CDR_{L3},和VH包括SEQ ID NO:76的CDR_{H1}、CDR_{H2}和CDR_{H3}。

[0114] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中TA-结合分子是依诺妥珠单抗(enoblituzumab),并且方法包括以约6mg/kg至约18mg/kg的剂量约每3周一次施用依诺妥珠单抗。

[0115] 如权利要求2-33或40-41的任一项的方法,其中癌症是表达B7-H3的癌症,和特别地其中表达B7-H3的癌症选自由下述组成的组中:肛门癌、SCAC、乳腺癌、TNBC、头颈癌、SCCHN、肺癌、NSCLC、黑色素瘤、葡萄膜黑色素瘤、前列腺癌和mCRPC。

[0116] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中TA-结合分子通过静脉内(IV)输注施用。

[0117] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中在治疗之前,癌症的活检中存在表达LAG-3的细胞,和实施方式,其中在治疗之前,癌症的活检中存在表达PD-1的细胞。

[0118] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中在治疗之前,癌症的活检中LAG-3和PD-1的共表达指示这种患者是这种方法的候选者,和实施方式,其中表达是基因表达。

[0119] 本发明另外关注以上描述的方法的实施方式,其中在治疗之前,癌细胞的表面上PD-L1表达如使用联合阳性评分(CPS)或肿瘤比例评分(TPS)确定的小于1%。

附图说明

[0120] 图1提供了显示具有由两对多肽链(即,总共四条多肽链)组成的四个表位结合位点的代表性共价结合的四价双抗体的示意图。每对的一条多肽具有E-螺旋异源二聚体促进结构域和每对的另一多肽具有K-螺旋异源二聚体促进结构域。如显示,半胱氨酸残基可存在于连接体中和/或异源二聚体促进结构域中。每对的一条多肽具有连接体,其包括半胱氨酸(该连接体可包括全部或部分铰链区)和CH2和/或CH3结构域,使得相关的链形成全部或部分Fc区。识别相同表位的VL和VH结构域使用相同阴影或填充图案显示。在这种实施方式中,其中两对多肽链是相同的并且VL和VH结构域识别不同表位(如显示的),所得分子拥有四个表位结合位点,并且相对于每个结合表位是双特异性且二价的。可替代地,在这种实施方式中,其中两个对多肽可是不同的,并且每对多肽的VL和VH结构域识别不同表位,所得分子拥有四个表位结合位点,并且相对于每个结合表位是四特异性且单价的。

[0121] 图2显示1mg至1200mg的剂量范围内PD-1 x LAG-3双特异性分子,DART-I的观察的和模型拟合的PK图。符号表示个体患者中观察的资料并且实线表示剂量组的模型拟合中值曲线。水平虚线表示基于用其他PD-1靶向剂的临床经验的目标阈值浓度。

[0122] 图3A-3D绘制了在第1周期(图3A和3B)或第2周期(图3C和3D)的第1天,在结束施用DART-I处和在施用那个周期的下一剂量之前,PD-1 x LAG-3双特异性分子,DART-I对CD4+细胞(图3A和3C)和CD8+细胞(图3B和3D)的平均(SD)受体占有率(RO)百分比。EOI=在施用第1周期或第2周期的第一剂量之后输注结束。PRE=在施用第1周期或第2周期的下一剂量之前的预剂量。缺失误差线指示N=1。

[0123] 图4A-4C显示使用Q2W(图4A)、Q3W(图4B)和Q4W(图3C)方案,施用400、600、800、1000和1200mg固定剂量的PD-1 x LAG-3双特异性分子,DART-I的模拟的多剂量中值PK图。顶部水平虚线表示基于用其他PD-1靶向剂的临床经验的23 μ g/mL的目标阈值谷浓度、中间水平虚线表示RO EC₅₀ x 100和底部水平虚线表示RO EC₅₀ x 10。

[0124] 图5代表通过肿瘤类型用PD-1 x LAG-3双特异性分子,DART-I治疗的可评估应答的种群(cohort)扩展患者之中靶病灶减少的百分比的瀑布图(绘制为从基线改变%)。

[0125] 图6A-6E绘制了来自回顾性免疫组织化学测定法的LAG-3和PD-L1评分。来自TNBC、EOC和NSCLC种群的个体患者LAG-3(图6A)和PD-L1(图6B)评分从高到低的顺序绘制。来自TNBC、EOC和NSCLC种群的聚集LAG-3评分通过临床应答绘制(图6C)。来自DLBCL种群的个体患者LAG-3(图6D)评分从高到低的顺序绘制,以下提供了PD-L1评分。来自DLBCL种群的聚集LAG-3通过临床应答绘制(图6E)。PR=部分应答;SD=稳定疾病;PD=进行性疾病;CR=完全应答。

[0126] 图7绘制了来自回顾性NanoString PanCancer IO 360™测定法的LAG-3与PD-1(PDCD1)的基因表达。癌症类型如以下指示:圆形(●)=NSCLC;菱形(◆)=P-NSCLC;三角形(▲)=EOC;和正方形(■)=TNBC。临床应答如以下指示:“R”=应答者(部分应答);“P”=进行性疾病;“S”=稳定疾病;并且单独的符号指示未知/不确定。

[0127] 图8绘制了通过临床应答(PR-部分应答;SD-稳定疾病;PD-进行性疾病)的来自回顾性NanoString PanCancer IO 360™测定法的IFN- γ 基因签名评分。癌症类型如以下指示:圆形(●)=NSCLC;菱形(◆)=P-NSCLC;三角形(▲)=EOC;和正方形(■)=TNBC。

[0128] 图9代表了比较通过暴露于具有ADCC-增强的Fc结构域或野生型Fc结构域的TA-结

合分子调节的NK细胞表面上检查点分子表达的变化。在缓冲剂(-)、马格妥昔单抗(具有ADCC-增强的Fc结构域的抗HER2抗体)或曲妥珠单抗(具有野生型Fc结构域的抗HER2)每种以0.005 μ g/ml或0.05 μ g/ml存在的情况下,来自用N87 HER2+靶细胞孵育的PBMC的NK细胞上CD137(顶部箭头)、LAG-3(第二箭头)、PD-1(第三箭头)和PD-L1(底部箭头)的表达的流式细胞术分析。指示了阳性细胞(盒装的)的百分比。

[0129] 图10显示通过暴露于具有ADCC-增强的Fc结构域或野生型Fc结构域的TA-结合分子预调节的PBMC的细胞毒性。绘制了主要由用马格妥昔单抗0.005 μ g/ml或0.05 μ g/ml(空心 and 实心方块)、曲妥珠单抗0.005 μ g/ml或0.05 μ g/ml(空心 and 实心三角形)和缓冲液(实心圈)预调节的NK细胞介导的朝向K562靶细胞的细胞毒性曲线。

[0130] 图11代表了比较通过暴露于具有ADCC-增强的Fc结构域的TA-结合分子调节的NK细胞、单核细胞、CD4⁺和CD8⁺T细胞表面上检查点分子表达的变化。在马格妥昔单抗(具有ADCC-增强的Fc结构域的抗HER2抗体)或对照抗体各自以0.5 μ g/ml存在的情况下,用N87 HER2+靶细胞孵育的PBMC中存在不同免疫细胞类型上LAG-3(顶部箭头)、PD-1(第二箭头)、PD-L1(第三箭头)和CD137(底部箭头)表达的流式细胞术分析。指示了阳性细胞(盒装的)的百分比。

[0131] 图12显示了在针对K562靶细胞的抗PD-1抗体(瑞弗利单抗(retifanlimab))或PD-1 x LAG3双特异性分子(DART-I)(主要由NK细胞介导的细胞毒性)存在或不存在的条件下,用具有ADCC-增强的Fc结构域(马格妥昔单抗)或野生型Fc结构域(曲妥珠单抗)的TA-结合分子预调节的PBMC的细胞毒性。

[0132] 图13显示了在针对K562(HER2 negative)或N87(HER2⁺⁺⁺)靶细胞的PD-1 x LAG3双特异性分子(DART-I)(主要由NK细胞介导的细胞毒性)存在或不存在的条件下,用ADCC-增强的TA-结合分子(马格妥昔单抗)或对照预调节的PBMC的细胞毒性。

[0133] 图14显示了用PD-1 x LAG-3双特异性分子,DART-I和ADCC-增强的TA-结合分子,马格妥昔单抗治疗的28位可评估的患者的初步临床结果的瀑布图。指示了肿瘤类型。实心柱表示接收600mg DART-I+15mg mg/kg的患者的反应;条形柱表示接收300mg的DART-I+15mg/kg的患者的反应。

[0134] 图15A-15C绘制了用马格妥昔单抗和DART-I治疗的种群中来自19种基线活检样品的LAG3和PD-1(PDCD1)的基线基因表达。基线处双重LAG3/PDCD1表达在图15A中绘制。绘制了基线与目标病灶的变化%处LAG-3(图15B)和PDCD1(图15C)表达。CR=完全应答;PR=部分应答;SD=稳定疾病;PD=进行性疾病。

具体实施方式

[0135] 本发明涉及单独或与结合肿瘤抗原(TA)的基于抗体的分子组合施用一种或多种结合PD-1或PD-L1和LAG-3的基于抗体的分子(例如,PD-1 x LAG-3双特异性分子)的用于治疗癌症的方案。本发明尤其关注结合PD-1 x LAG-3双特异性分子的这种方案的用途。本发明涉及这种分子的用途,以及涉及含有这种分子且促进这种给药方案在治疗癌症中的使用的药物组合物和药物试剂盒的用途。

[0136] I. 抗体和基于抗体的分子

[0137] 抗体是免疫球蛋白分子,其含有能够通过位于这种免疫球蛋白分子的可变区中的

至少一个“表位-结合结构域”免疫特异性结合至分子的靶区域(“表位”) (比如肿瘤抗原(“TA”)的表位、PD-1的表位、PD-L1的表位或LAG-3的表位)的表位-结合结构域。这种分子可以是任何同种型(例如, IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY), 类别(例如, IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁和IgA₂)或亚类。

[0138] 如本文使用的, 术语“抗体”(“antibody”)和“多种抗体”(“antibodies”)旨在包括单克隆抗体、多特异性抗体、人抗体、人源化抗体、合成抗体、嵌合抗体、多克隆抗体和骆驼源化抗体(camelized antibodies)。如本文使用的, 术语“基于抗体的分子”旨在指完全的或完整的抗体分子和不完整的或完整的抗体的分子, 但包括抗体的表位-结合结构域(例如, 单链Fvs(scFv), 单链抗体, Fab片段, F(ab')片段, 二硫键连接的双特异性Fvs(sdFv), 胞内抗体, 双抗体, 包括抗体的VL、VH或VL和VH结构域的和包括1个、2个或3个抗体的轻链CDR结构域, 1个、2个或3个抗体的重链CDR结构域, 任何1个、2个、3个、4个或5个抗体的轻链和重链CDR结构域或全部6个抗体的轻链和重链CDR结构域的和)。这种基于抗体的分子可以是融合蛋白, 其包括另外组分, 例如, 肽连接体、二聚化结构域等。

[0139] 由于这种表位-结合结构域的存在, 本发明的基于抗体的分子能够“免疫特异性结合”至表位。如本文使用的, 如果其相对于可替代的表位(例如含有1个、2个、3个或大于3个氨基酸替换的变体表位, 或具有小于50%同一性或不相关的多肽)更频繁地, 更快速地反应或缔合、与表位具有更长持续时间和/或具有更大亲和力或亲合力, 则认为是抗体或其表位-结合片段“免疫特异性”结合另一分子的区域(即, 表位)。还可通过阅读该定义理解, 例如, 免疫特异性结合第一靶的基于抗体的分子可以或不可以免疫特异性或优选地结合至第二靶。含有表位的分子可具有免疫原性活性, 使得其在动物中引起抗体产生反应; 这种分子被称为“抗原”。

[0140] 天然抗体能够仅结合一个表位种类(即, 它们是“单特异性”), 然而它们可结合那个种类的多个拷贝(即, 展示出“二价”或“多价”)。就此而言, 天然存在的完全的或完整的IgG抗体的基本结构单元是由四条组装的多肽链: 两条较短的“轻链”与两条较长的“重链”复合组成的四聚物。每条多肽链由包括“可变结构域”的氨基末端(“N-末端”)部分和包括至少一种“恒定结构域”的羧基末端(“C-末端”)部分组成。IgG轻链由单个“轻链可变结构域”(“VL”)和单个“轻链恒定结构域”(“CL”)组成。因此, IgG抗体的轻链的结构是n-VL-CL-c(其中n和c分别表示多肽链的N-末端和C-末端)。IgG重链由单个“重链可变结构域”(“VH”), 三个“重链恒定结构域”(“CH1”、“CH2”和“CH3”)和位于CH1和CH2结构域之间的“铰链”区(“H”)组成。除非特别地相反指示, 本文描述的蛋白质分子的结构域的顺序是N-末端至C-末端方向。因此, IgG重链的结构是n-VH-CH1-H-CH2-CH3-c(其中n和c分别表示多肽的N-末端和C-末端)。完整的, 未修饰的抗体(例如, IgG抗体)结合抗原表位的能力取决于可变结构域的存在和序列。

[0141] A. 恒定结构域

[0142] 1. 轻链恒定结构域

[0143] 一个CL结构域是人IgG CL κ 结构域。代表性人CL κ 结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:1):

[0144] RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD
SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC

[0145] 另一CL结构域是人IgG CL λ 结构域。代表性人CL λ 结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:2) :

[0146] QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGA VTVKADSSPVKA GVETTPSKQS
NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TECS

[0147] 2. 重链CH1结构域

[0148] 代表性CH1结构域是人IgG1 CH1结构域。代表性人IgG1 CH1结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:3) :

[0149] ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS
GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRV

[0150] 另一代表性CH1结构域是人IgG2 CH1结构域。代表性人IgG2 CH1结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:4) :

[0151] ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS
GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVNHNKPS NTKVDKTV

[0152] 另一代表性CH1结构域是人IgG3 CH1结构域。代表性人IgG3 CH1结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:5) :

[0153] ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS
GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YTCNVNHNKPS NTKVDKRV

[0154] 另一代表性CH1结构域是人IgG4 CH1结构域。代表性人IgG4 CH1结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:6) :

[0155] ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS
GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVNHNKPS NTKVDKRV

[0156] 3. 重链铰链区

[0157] 代表性铰链区是人IgG1铰链区。代表性人IgG1铰链区的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:7) :

[0158] EPKSCDKTHT CPPCP

[0159] 另一代表性铰链区是人IgG2铰链区。代表性人IgG2铰链区的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:8) :

[0160] ERKCCVECPP CP

[0161] 另一代表性铰链区是人IgG3铰链区。代表性人IgG3铰链区的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:9) :

[0162] ELKTPLGDTT HTCPRCPEPK SCDTPPPCPR CPEPKSCDTP PPCPRCPEPK SCDTPPPCPR CP

[0163] 另一代表性铰链区是人IgG4铰链区。代表性人IgG4铰链区的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:10) :

[0164] ESKYGPPCPS CP

[0165] 如本文描述的, IgG4铰链区可包括稳定化突变比如S228P替换(如通过Kabat中的EU索引所编号)。具体的稳定的IgG4铰链区的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:11) :

[0166] ESKYGPPCPP CP

[0167] 4. 重链CH2和CH3结构域和Fc结构域

[0168] 两条重链的CH2和CH3结构域相互作用以形成由细胞Fc受体识别的IgG抗体的“Fc区”, Fc受体包括但不限于Fc γ 受体 (Fc γ R)。如本文使用的, 术语“Fc区”用于限定重链的C-

末端区。Fc区的一部分(包括涵盖完整的Fc区的部分)在本文中称为“Fc结构域”。如果Fc结构域的氨基酸序列相对于其他IgG同种型与该同种型最同源,则认为Fc结构域是特定的IgG同种型、类别或亚类,然而考虑了包括来自不同同种型的部分的杂交Fc结构域。

[0169] 代表性人IgG1的CH2-CH3结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:12):

	231	240	250	260	270	280
	APELLGGPSV	FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVDVSHED	PEVKFNWYVD	
[0170]		290	300	310	320	330
	GVEVHNAKTK	PREEQYNSTY	RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKALPA	
		340	350	360	370	380
	PIEKTISKAK	GQPREPQVYT	LPPSREEMTK	NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE	
		390	400	410	420	430
	WESNGQPENN	YKTTTPVLDS	DGSFFLYSKL	TVDKSRWQQG	NVFSCSVMHE	
[0171]		440	447			
	ALHNHYTQKS	LSLSPG	X			

[0172] 其中,**X**是赖氨酸(K)或不存在。

[0173] 代表性人IgG2的CH2-CH3结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:13):

	231	240	250	260	270	280
	APPVA-GPSV	FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVDVSHED	PEVQFNWYVD	
		290	300	310	320	330
	GVEVHNAKTK	PREEQFNSTF	RVVSVLTVVH	QDWLNGKEYK	CKVSNKGLPA	
[0174]		340	350	360	370	380
	PIEKTISKTK	GQPREPQVYT	LPPSREEMTK	NQVSLTCLVK	GFYPSDISVE	
		390	400	410	420	430
	WESNGQPENN	YKTTTPMLDS	DGSFFLYSKL	TVDKSRWQQG	NVFSCSVMHE	
		440	447			
	ALHNHYTQKS	LSLSPG	X			

[0175] 其中,**X**是赖氨酸(K)或不存在。

[0176] 代表性人IgG3的CH2-CH3结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:14):

	231	240	250	260	270	280
	APELLGGPSV	FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVDVSHED	PEVQFKWYVD	
		290	300	310	320	330
	GVEVHNAKTK	PREEQYNSTF	RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKALPA	
		340	350	360	370	380
[0177]	PIEKTISKTK	GQPREPQVYT	LPPSREEMTK	NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE	
		390	400	410	420	430
	WESSGQPENN	YNTTPPMLDS	DGSFFLYSKL	TVDKSRWQQG	NIFSCSVMHE	
		440	447			
	ALHNRFTQKS	LSLSPGX				

[0178] 其中, **X**是赖氨酸(K) 或不存在。

[0179] 代表性人IgG4的CH2-CH3结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:15) :

	231	240	250	260	270	280
	APEFLGGPSV	FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVDVSQED	PEVQFNWYVD	
		290	300	310	320	330
	GVEVHNAKTK	PREEQFNSTY	RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKGLPS	
		340	350	360	370	380
[0180]	SIEKTISKAK	GQPREPQVYT	LPPSQEEMTK	NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE	
		390	400	410	420	430
	WESNGQPENN	YKTPPVLDLDS	DGSFFLYSRL	TVDKSRWQEG	NVFSCSVMHE	
		440	447			
[0181]	ALHNHYTQKS	LSLSLGX				

[0182] 其中, **X**是赖氨酸(K) 或不存在。

[0183] 遍及本说明书, IgG重链的恒定区中的残基的编号是如Kabat等的SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 第5版, 公共卫生署, NH1, MD (1991) 中的EU索引编号, 其通过引用明确地并入本文。术语“如Kabat中的EU索引”指人IgG1 EU抗体的编号。

[0184] 在具有抗体恒定区内有许多不同位置 (例如, CH1位置, 包括但不限于位置192、193和214; Fc位置, 包括但不限于通过Kabat中的EU索引所编号的位置270、272、312、315、356和358) 已经观察到多态性, 并且因此在所展示出的序列和现有技术中的序列之间可存在轻微差异。已经很好地表征了人免疫球蛋白的多态性形式。目前, 18Gm同种异型是已知的: G1m (1、2、3、17) 或G1m (a、x、f、z)、G2m (23) 或G2m (n)、G3m (5、6、10、11、13、14、15、16、21、24、26、27、28) 或G3m (b1、c3、b3、b0、b3、b4、s、t、g1、c5、u、v、g5) (Lefranc等“*The Human IgG Subclasses: Molecular Analysis Of Structure, Function And Regulation.*” Pergamon, Oxford, pp. 43-78 (1990); Lefranc, G. 等1979, Hum. Genet.: 50, 199-211)。具体地, 考虑本发明的抗体可并入任何免疫球蛋白基因的任何同种异型 (allotype)、异种型 (isoallotype) 或单体型 (haplotype), 并且不限于本文提供的序列的同种异型、异种型或单体型。而且, 在一些表达系统中, CH3结构域的C-末端氨基酸残基 (上文粗体) 可在翻译后去除。相应地, 本发明的分子中, CH3结构域的C-末端残基是任选的氨基酸残基。具体地, 本发明涵盖的是缺少CH3结构域的C-末端残基的分子。同样具体地, 本发明涵盖的是包括CH3结构域的C-末端

赖氨酸残基的这种分子。

[0185] 本发明的含有Fc结构域的基于抗体的分子的Fc结构域可以是完全的Fc结构域(例如,完全的IgG Fc区)或仅一部分Fc区。任选地,本发明的含有Fc结构域的分子的Fc结构域缺少野生型IgG CH3结构域的C-末端赖氨酸氨基酸残基。

[0186] 在传统的免疫功能中,抗体-抗原复合物与免疫系统的细胞的相互作用导致各种各样的应答,范围从效应子功能比如抗体依赖性细胞毒性、大细胞脱粒和吞噬至免疫调节信号比如调节淋巴细胞增殖和抗体分泌。所有这些相互作用通过抗体或免疫复合物的Fc结构域与造血细胞上特有的细胞表面受体的结合被启动。如以上讨论的,通过抗体和免疫复合物触发的细胞应答的多样性由三种Fc受体:Fc γ RI (CD64)、Fc γ RII (CD32) 和Fc γ RIII (CD16) 的结构异质性引起。Fc γ RI (CD64)、Fc γ RIIA (CD32A) 和Fc γ RIII (CD16) 是启动性(即,免疫系统增强)受体;Fc γ RIIB (CD32B) 是抑制性(即,免疫系统降低)受体。另外,与新生Fc受体(FcRn)的相互作用介导IgG分子由内体至细胞表面的再循环并且释放至血液。以上呈现了代表性野生型IgG1 (SEQ ID NO:12)、IgG2 (SEQ ID NO:13)、IgG3 (SEQ ID NO:14) 和IgG4 (SEQ ID NO:15) 的CH2-CH3结构域的氨基酸序列。

[0187] 可修饰Fc结构域的氨基酸序列以便提供改变的表型,例如改变的血清半衰期、改变的稳定性、改变的对细胞酶的敏感性,改变的效应子功能或这种表型的组合。具体地,本发明考虑了包括野生型Fc结构域或已经修饰的Fc结构域的基于抗体的分子以增强其相对于由不具有这种修饰的Fc结构域的这种基于抗体的分子介导的ADCC的介导抗体依赖性细胞毒性(ADCC)的能力。这种修饰的Fc结构域在本文中称为“ADCC-增强的Fc结构域”。本发明也考虑了包括具有很少或没有ADCC活性的Fc结构域的基于抗体的分子。因此,在某些实施方式中,本发明的基于抗体的分子可被工程化为包括ADCC-增强的Fc结构域或具有很少或没有ADCC活性的Fc结构域。尽管本发明的基于抗体的分子的Fc结构域可拥有结合一种或多种Fc受体(例如,Fc γ R)的能力,在某些实施方式中,这种Fc结构域是具有与Fc γ RIA (CD64)、Fc γ RIIA (CD32A)、Fc γ RIIB (CD32B)、Fc γ RIIIA (CD16a) 或Fc γ RIIIB (CD16b) 改变的结合(相对于由不具有这种修饰的Fc结构域展示的结合)的修饰的Fc结构域。例如这种变体Fc结构域可具有增强的结合至启动性受体和/或将基本上减小的或没有结合至抑制性受体的能力并且将展示出增强的ADCC活性。可替代地,这种变体Fc结构域可具有基本上减小或没有结合至启动受体和/或将增强的结合至抑制受体的能力并且将展示出很少的或没有ADCC活性。

[0188] 减少或消除Fc γ R结合(和ADCC活性)的修饰是本领域熟知的并且其包括位置234和235处的氨基酸替换,位置265处的替换或位置297处的替换,如通过Kabat中的EU索引所编号(参见,例如,美国专利号5,624,821)。在一个实施方式中,本发明的基于抗体的分子包括具有很少或没有ADCC活性的Fc结构域,其包括下列替换中的1个、2个、3个或4个:L234A、L235A、D265A、N297Q和N297G。在具体的实施方式中,本发明的基于抗体的分子包括具有很少或没有ADCC活性的Fc结构域,其包括在位置234处用丙氨酸的替换和在位置235处用丙氨酸的替换(234A,235A),如通过Kabat中的EU索引所编号。可替代地,这种分子可包括天然存在的Fc结构域,其固有地展示处减少(或基本上不)结合至Fc γ RIIIA (CD16a) 和/或减少的效应子功能(相对于由野生型IgG1 Fc结构域展示出的结合和效应子功能)。在具体的实施方式中,本发明的携带Fc的分子包括IgG2 Fc结构域 (SEQ ID NO:13) 或IgG4 Fc结构域 (SEQ

ID:NO:15)。当利用IgG4 Fc结构域时,本发明也涵盖引入稳定化突变,比如以上描述的铰链区S228P替换(参见,例如,SEQ ID NO:11)。

[0189] 本发明的ADCC-增强的Fc结构域可包括完全的Fc结构域的一些或所有CH2结构域和/或一些或所有CH3结构域,或可包括变体CH2和/或变体CH3序列(其可包括,例如,相对于完全的Fc结构域的CH2或CH3结构域的一个或多个替换和/或插入和/或一个或多个删除)。这种Fc结构域可包括非Fc多肽部分,或可包括非天然完全的Fc结构域的部分,或可包括非天然存在的定向的CH2和/或CH3结构域(比如,例如,两个CH2结构域或两个CH3结构域,或在N-末端至C-末端方向上,CH3结构域连接至CH2结构域等)。

[0190] 鉴定为改变效应子功能的ADCC-增强的Fc结构域(例如,ADCC)在本领域是已知的,其包括相对于抑制Fc受体(例如,Fc γ RIIB(CD32B))的增加结合至启动Fc受体(例如,Fc γ RIIA(CD16A))的修饰(参见,例如,Stavenhagen,J.B.等(2007)“Fc Optimization Of Therapeutic Antibodies Enhances Their Ability To Kill Tumor Cells In Vitro And Controls Tumor Expansion In Vivo Via Low-Affinity Activating Fc γ Receptors,”*Cancer Res.*57(18):8882-8890)。已经描述了增强ADCC活性的许多单重、双重、三重、四重和五重替换(参见,例如,美国专利号6,737,056、7,317,091、7,355,008、7,960,512、8,217,147、8,652,466)。

[0191] 在一个实施方式中,ADCC-增强的Fc结构域包括包含选自下述一种或多种氨基酸替换(相对于野生型IgG Fc结构域):S239D、F243L、D270E、R292G、R292P、Y300L、V305I、I332E或P396L替换的Fc结构域,如通过Kabat中的EU索引所编号。这些氨基酸替换可以以任何组合存在于人IgG Fc结构域(例如,IgG1 Fc结构域)中。在一个实施方式中,变体人IgG Fc结构域含有S239D和I332E替换。在另一实施方式中,变体人IgG Fc结构域含有F243L、R292P和Y300L替换。在进一步的实施方式中,变体人IgG Fc结构域含有F243L、R292P、Y300L、V305I和P296L替换。在具体的实施方式中,这种人IgG ADCC-增强的Fc结构域将包括:

[0192] (a) 选自由下述组成的组中的一个替换:

[0193] (1) F243L;

[0194] (2) R292P;

[0195] (3) Y300L;

[0196] (4) V305I;

[0197] (5) I332E;和

[0198] (6) P396L

[0199] (b) 选自由下述组成的组中的两个替换:

[0200] (1) F243L和P396L;

[0201] (2) F243L和R292P;

[0202] (3) R292P和V305I;和

[0203] (4) S239D和I332E

[0204] (c) 选自由下述组成的组中的三个替换:

[0205] (1) F243L、R292P和Y300L;

[0206] (2) F243L、R292P和V305I;

[0207] (3) F243L、R292P和P396L；和

[0208] (4) R292P、V305I和P396L；

[0209] (d) 选自由下述组成的组中的四个替换：

[0210] (1) F243L、R292P、Y300L和P396L；和

[0211] (2) F243L、R292P、V305I和P396L；或

[0212] (e) 选自由下述组成的组中的五个替换：

[0213] (1) F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L；和

[0214] (2) L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L，

[0215] 其中编号为Kabat中的EU索引的编号。

[0216] 在具体的实施方式中，ADCC-增强的Fc结构域将包括：

[0217] (1) “FcMT1” ADCC-增强的Fc结构域，其中这种结构域包括F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L替换。相对于用野生型IgG1 Fc结构域观察的结合，包括FcMT1变体IgG1 Fc结构域的基于抗体的分子展示出与人CD16A (Fc γ RI_{IIIA}) 结合的10倍增加，并且与结合至CD16-158Val比，结合至CD16-158Phe以比例更大的方式增强。“FcMT1” ADCC-增强的Fc结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:16)：

```

[0218]  APELLGGPSV FLLPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
  GVEVHNAKTK PPEEQYNSTL RVVSILTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
  PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
  WESNGQPENN YKTTPLVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
  ALHNHYTQKS LSLSPGX

```

[0219] 其中，X是赖氨酸(K)或不存在

[0220] (2) “FcMT2” ADCC-增强的Fc结构域，其中这种结构域包括L235V、F243L、R292P、Y300L，和P396L替换。FcMT2变体IgG1 Fc结构域是进一步改进的FcMT1变体IgG1 Fc结构域，并且具有类似CD16A结合特性，而且在结合至CD32B (Fc γ RI_{IIB}) 中具有更有利的减少。“FcMT2” ADCC-增强的Fc结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:17)：

```

[0221]  APELVGGPSV FLLPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
  GVEVHNAKTK PPEEQYNSTL RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
  PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
  WESNGQPENN YKTTPLVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
  ALHNHYTQKS LSLSPGX

```

[0222] 其中，X是赖氨酸(K)或不存在

[0223] 或

[0224] (3) “FcMT3” ADCC-增强的Fc结构域，其中这种结构域包括F243L、R292P和Y300L替换。FcMT3变体IgG1 Fc结构域是进一步改进的FcMT1变体IgG1 Fc结构域，并且具有类似CD16A结合特性，而且在结合至CD32B (Fc γ RI_{IIB}) 中具有更有利的减少。“FcMT3” ADCC-增强的Fc结构域的氨基酸序列是 (SEQ ID NO:18)：

APELLGGPSV FLLPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTK PPEEQYNSTL RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
 [0225] PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
 ALHNHYTQKS LSLSPGX

[0226] 其中,X是赖氨酸(K)或不存在

[0227] 在可替代的实施方式中,ADCC-增强的Fc结构域包括工程化的糖型,其是不含有岩藻糖的复合的N-糖苷连接的糖链,和/或其包括平分O-GlcNAc。这种糖型可通过在缺少岩藻糖基转移酶的细胞系中重组地表达基于抗体的分子获得(例如,POTELLIGENT® cell lines,BioWa,Inc.;Matsushita,T.(2011)“Engineered Therapeutic Antibodies With Enhanced Effector Functions:Clinical Application Of The Potelligent® Technology,”Korean J.Hematol.46(3):148-150),and/or in cell lines that express O-GlcNAc transferase(Roche GlycArt AG;Satoh,M.等(2006)“Non-岩藻糖基ated Therapeutic Antibodies As Next-Generation Therapeutic Antibodies,”Exp.Opin.Biol.Ther.6(11):1161-1173)。在某些实施方式中,ADCC-增强的Fc结构域包括一种或多种氨基酸替换和工程化的糖型。

[0228] 另外,包括Fc结构域的分子的血清半衰期可通过增加Fc结构域对FcRn的结合亲和力而增加。如本文使用的术语“半衰期”意指分子的药物代谢动力学特性,其是分子在其施用后平均存活时间的度量。半衰期可表示为从受试者(例如,人患者或其他哺乳动物)的身体或其特定区室消除已知量的分子的百分之五十(50%)所需的时间,例如,如在血清中测量的,即循环半衰期,或在其他组织中测量的。一般而言,半衰期的增加导致施用的分子在循环中的平均停留时间(MRT)的增加。能够增加含有Fc结构域的分子的半衰期的修饰在本领域是已知的,并且包括,例如氨基酸替换M252Y、S254T、T256E和其组合。例如,参见美国专利号6,277,375、7,083,784、7,217,797和8,088,376;美国公开号2002/0147311和2007/0148164;以及PCT公开号WO 98/23289、WO 2009/058492和WO 2010/033279中描述的修饰)。

[0229] 在一个实施方式中,本发明的基于抗体的分子包括变体Fc结构域,其中这种变体Fc结构域包括在位置252处用酪氨酸的替换、在位置254处用苏氨酸的替换和在位置256处用谷氨酸的替换(252Y、254T和256E),如通过Kabat中的EU索引所编号。

[0230] 本发明也涵盖本发明的基于抗体的分子包括Fc结构域,其中这种Fc结构域包括:

[0231] (a) 改变效应子功能和/或Fc γ R结合的一种或多种突变;和/或

[0232] (b) 延长血清半衰期的一种或多种突变。

[0233] 在一个实施方式中,本发明的基于抗体的分子包括Fc结构域,其中这种Fc结构域包括:

[0234] (a) 减小或消除ADCC的一种或多种突变;和/或

[0235] (b) 延长血清半衰期的一种或多种突变。

[0236] 具有很少或没有ADCC活性的Fc结构域和延长的血清半衰期的变体的CH2和CH3结构域的代表性IgG1序列包括替换L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E(SEQ ID NO:19):

[0237] APEAAAGGPSV FLFPPKPKDT **LYITRE**PEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK
 PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT
 LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFFLYSKL
 TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPG**X**

[0238] 其中X是赖氨酸(K)或不存在。

[0239] 延长半衰期的变体Fc结构域的CH2和CH3结构域的代表性IgG4序列包括替换M252Y/S254T/T256E (SEQ ID NO:20) :

[0240] APEFLGGPSV FLFPPKPKDT **LYITRE**PEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK
 PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT
 LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFFLYSRL
 TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLG**X**

[0241] 其中X是赖氨酸(K)或不存在。

[0242] 5. 可变结构域

[0243] IgG分子的可变结构域包括三个“互补决定区”(“CDR”)以及称为“框架区”(“FR”)的间插非CDR区段,CDR含有抗体的将与表位接触的氨基酸残基,FR大体上保持维持CDR残基的结构和确定CDR残基的定位,以允许这种接触(尽管某些框架残基也可接触表位)。因此,VL和VH结构域具有结构n-FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4-c。CDR的氨基酸序列确定抗体是否将能够结合特定的表位。抗体轻链与抗体重链的相互作用,并且具体地,它们的VL和VH结构域的相互作用形成抗体的表位结合结构域。

[0244] 来自免疫球蛋白的成熟的重链和轻链的可变结构域的氨基酸是通过链中氨基酸的位置命名。Kabat (SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 第5版,公共卫生署,NH1,MD (1991))描述了抗体的许多氨基酸序列、鉴定了每个亚组的氨基酸共有序列并且为每个氨基酸指定了残基编码,并且鉴定CDR和FR,如通过Kabat定义(应理解,通过Chothia,C.&Lesk,A.M.((1987)“Canonical Structures For The Hypervariable Regions Of Immunoglobulins,”J.Mol.Biol.196:901-917)定义的CDR_H1提前五个残基开始)。Kabat的编号方案可通过参照保守氨基酸将考虑的抗体与Kabat中的共有序列之一对比而扩展至不包括在其纲要中的抗体。用于指定残基编号的该方法在本领域中已经变成了标准,并且易于鉴定在包括嵌合或人源化变体的不同抗体中在等同位置处的氨基酸。例如,在人抗体轻链的位置50处的氨基酸占据与小鼠抗体轻链的位置50处的氨基酸等同的位置。因此,很好地定义了其CDR开端和末端处的VL和VH结构域内的位置并且可通过VL和VH结构域的序列检查确定(参见,例如,Martin,C.R. (2010)“Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains,”In:ANTIBODY ENGINEERING VOL.2 (Kontermann,R.and Dübel,S. (eds.) ,Springer-Verlag Berlin Heidelberg,Chapter 3 (pages 33-51))。

[0245] 是(或可用作)抗体轻链的第一、第二和第三CDR的多肽在本文中分别命名为:CDR_L1结构域、CDR_L2结构域和CDR_L3结构域。类似地,是(或可用作)抗体重链的第一、第二和第三CDR的多肽在本文中分别命名为:CDR_H1结构域、CDR_H2结构域和CDR_H3结构域。因此,术语CDR_L1结构域、CDR_L2结构域、CDR_L3结构域、CDR_H1结构域、CDR_H2结构域和CDR_H3结构域涉及这种多肽,当并入到蛋白质中时,引起该蛋白质能够结合特定表位,而无论是否这种蛋白质是具有轻链和重链的抗体或者是双抗体或单链结合分子(例如,scFv、BiTe等),或者是另一类

型蛋白质。因此,如本文使用的,术语“表位结合结构域”表示能够免疫特异性结合至表位的本发明的基于抗体的分子的一部分。表位结合结构域可含有抗体的任何1个、2个、3个、4个或5个CDR结构域,或可含有抗体的全部6个CDR结构域,并且,尽管能够免疫特异性结合至这种表位,但对不同于这种抗体的表位可展示出免疫特异性、亲和力或选择性。典型地,然而,表位结合结构域将含有这种抗体的全部6个CDR结构域。

[0246] 表位结合结构域可包括融合至恒定结构域的完全的可变结构域或仅接枝至合适的框架区的这种可变结构域的互补决定区(CDR)。表位结合结构域可以是野生型或一个或多个氨基酸替换修饰。

[0247] 基于抗体的分子的人源化

[0248] 本发明特别地涵盖包括人源化抗体的VL和/或VH结构域的基于抗体的分子。术语“人源化”抗体指通常使用重组体技术制备的嵌合分子,其具有来自非人物种的免疫球蛋白的表位结合结构域和基于人免疫球蛋白的结构和/或序列的分子的剩余免疫球蛋白结构。这种抗体的可变结构域的多核苷酸序列可用于遗传操纵以产生这种衍生物并且改善这种抗体的亲和力或其他特征。已知重链和轻链二者的可变结构域含有三个互补决定区(CDR),其根据讨论的抗原而变化并且确定结合能力,两侧为四个框架区(FR),其在给定物种中相对保守并且其假定为CDR提供了支架。当针对特定抗原制备非人抗体时,可变结构域可“重塑”或“人源化”。使抗体人源化的一般原则涉及保留抗体的表位结合部分的基本序列,同时用人抗体序列交换该抗体的非人剩余部分。使单克隆抗体人源化有四个常规步骤。这些是:(1)确定起始抗体轻链和重链可变结构域的核苷酸和预测的氨基酸序列,(2)设计人源化抗体或犬源化抗体,即决定在人源化或犬源化过程期间使用哪个抗体框架区,(3)实际的人源化或犬源化方法/技术和(4)人源化抗体的转染和表达。参见,例如,美国专利号4,816,567;5,807,715;5,866,692;以及6,331,415;Lobuglio等(1989)“Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man:Kinetics And Immune Response,”*Proc.Natl.Acad.Sci.(U.S.A.)* 86:4220-4224 (1989)。其他参考文献描述了在与合适的人抗体恒定结构域融合之前接枝至人支持框架区(FR)的啮齿动物CDR(参见,例如,Riechmann,L.等(1988)“Reshaping Human Antibodies for Therapy,”*Nature* 332:323-327;and Jones等(1986)“Replacing The Complementarity-Determining Regions In A Human Antibody With Those From A Mouse,”*Nature* 321:522-525。也可以使用的人源化抗体的其他方法公开在Daugherty等(1991)“Polymerase Chain Reaction Facilitates The Cloning,CDR-Grafting,And Rapid Expression Of A Murine Monoclonal Antibody Directed Against The CD18 Component Of Leukocyte Integrins,”*Nucl.Acids Res.*19:2471-2476和美国专利号6,180,377、6,054,297、5,997,867和5,866,692中)。在一些实施方式中,人源化抗体保留全部CDR序列(例如,包含来自小鼠抗体的全部六个CDR的人源化小鼠抗体)。在其他实施方式中,人源化抗体相对于原抗体具有不同的一个或多个CDR(一个、两个、三个、四个、五个或六个)。

[0249] B. 双特异性分子

[0250] 在一些实施方式中,本发明的基于抗体的分子是双特异性的比如双特异性抗体或双特异性双抗体。这种基于双特异性抗体的分子可包括提供的PD-1和LAG-3的表位结合结构域(即,PD-1 x LAG-3双特异性分子)或提供的PD-L1和LAG-3的表位结合结构域(即,PD-

L1 x LAG-3双特异性分子)。提供这种基于双特异性抗体的分子提供了超过单特异性抗体的显著的优势:在共表达PD-1和LAG-3的细胞上共连接PD-1和LAG-3和/或共定位表达PD-1的细胞和表达LAG-3的细胞的能力,或在共表达PD-L1和LAG-3的细胞上共连接PD-L1和LAG-3和/或共定位表达PD-L1的细胞和表达LAG-3的细胞的能力。在某些实施方式中,这种基于双特异性抗体的分子可结合两种不同TA。

[0251] 1. 双特异性抗体

[0252] 已经开发各种重组体双特异性抗体格式(参见,例如,PCT公开号WO 2008/003116, WO 2009/132876、WO 2008/003103、WO 2007/146968、WO 2009/018386、WO 2012/009544、和 WO 2013/070565),其大部分使用连接体肽来将进一步表位-结合片段(例如,scFv、VL、VH等)融合至抗体核或在抗体核内(IgA、IgD、IgE、IgG或IgM),或将多个表位-结合片段(例如,两个Fab片段或scFvs)融合。可替选的格式使用连接体肽来将表位-结合片段(例如,scFv、VL、VH等)融合至二聚化结构域比如CH2-CH3结构域或可替选的多肽(PCT公开号WO 2005/070966、WO 2006/107786A、WO 2006/107617A和WO 2007/046893)。PCT公开号WO 2013/174873、WO 2011/133886和WO 2010/136172公开了三特异性抗体,其中CL和CH1结构域从它们各自的天然位置转变并且VL和VH结构域已经实现多样化(PCT公开号WO 2008/027236;WO 2010/108127)以允许它们结合一种以上的抗原。PCT公开号WO 2013/163427和WO 2013/119903公开了修饰CH2结构域以含有包括结合结构域的融合蛋白加合物。PCT公开号WO 2010/028797、WO2010028796和WO 2010/028795公开了已经用另外VL和VH结构域取代其Fc区的重组抗体,以便形成三价结合分子。PCT公开号WO 2003/025018和WO2003012069公开了单个链含有scFv结构域的重组双抗体。PCT公开号WO 2013/006544公开了作为单个多肽链合成的多价Fab分子,并且然后进行蛋白水解以产生异源二聚化结构。PCT公开号WO 2014/022540、WO 2013/003652、WO 2012/162583、WO 2012/156430、WO 2011/086091、WO 2008/024188、WO 2007/024715、WO 2007/075270、WO 1998/002463、WO 1992/022583和WO 1991/003493公开了将另外结合结构域或官能团添加至抗体或抗体部分(例如,将双抗体添加至抗体的轻链,或将另外VL和VH结构域添加至抗体的轻链和重链,或添加异源融合蛋白或链接多个Fab结构域至彼此)。在PCT公开号WO 2015/184207、WO 2015/184203、WO 2012/162068、WO 2012/018687、WO 2010/080538和WO 2006/113665中描述了且本文提供了包括双抗体样结构域的共价结合的双抗体和三价分子。因此,具体地考虑了本发明的PD-1 x LAG-3双特异性分子可具有任何以上描述的格式的结构且可产生任何以上描述的方法。

[0253] 2. 双特异性双抗体

[0254] 本发明的双抗体是稳定的,共价结合的异源二聚化非单特异性双抗体,参见,例如,Chichili,G.R.等(2015)“A CD3xCD123 Bispecific DART For Redirecting Host T Cells To Myelogenous Leukemia:Preclinical Activity And Safety In Nonhuman Primates,”*Sci.Transl.Med.*7(289):289ra82;Veri,M.C.等(2010)“Therapeutic Control Of B Cell Activation Via Recruitment Of Fcgamma Receptor IIB(CD32B) Inhibitory Function With A Novel Bispecific Antibody Scaffold,”*Arthritis Rheum.*62(7):1933-1943;Moore,P.A.等(2011)“Application Of Dual Affinity Retargeting Molecules To Achieve Optimal Redirected T cell Killing Of B-Cell Lymphoma,”*Blood* 117(17):4542-4551;美国专利公开号2007/0004909;2009/0060910;2010/0174053;

20130295121;2014/0099318;2015/0175697;2016/0017038;2016/0194396;2016/0200827和2017/0247452。这种双抗体包括两个或更多个共价复合的多肽链且涉及将一个或多个半胱氨酸残基工程化入每个采用的多肽种类。例如,将半胱氨酸残基添加至这种构建体的C-末端已经显示允许多肽链之间的二硫键合,稳定化所得异源二聚体而不干扰二价分子的结合特征。这种双抗体也包括用于促进多肽链的异源二聚化(“异源二聚体促进结构域”)的结构域。

[0255] 本发明的双抗体构建体是由多肽组成的共价复合的双抗体,且其可由两条、三条、四条或大于四条多肽链组成。如本文使用的,术语“包含”旨在是开放式的,使得由两条多肽链组成的本发明的双抗体可具有另外的多肽链。这种链可与双抗体的另一多肽链具有相同序列,或可与双抗体的任何其他多肽链的序列不同。本发明的双抗体可设计为包括Fc结构域。

[0256] 在某些实施方式中,本发明的双抗体是四条链,含有Fc结构域的双抗体具有两个对第一表位具有特异性的结合位点、两个对第二表位具有特异性的结合位点、Fc结构域和含有半胱氨酸的E/K-螺旋异源二聚体促进结构域。这种双抗体的通式结构在图1中提供。

[0257] 本发明的双特异性双抗体是工程化的,以便这种第一和第二多肽经半胱氨酸残基沿着它们的长度共价结合至彼此。这种半胱氨酸残基可引入间插连接体(连接体1;例如,GGGSGGGG (SEQ ID NO:21)),其分开多肽的VL和VH结构域。可替代地且更优选地,将包括半胱氨酸残基(连接体2)的第二肽,例如,在这种多肽链的N-末端至VL结构域的位置或C-末端至VH结构域的位置处引入每条多肽链。这种连接体2的优选的序列是SEQ ID NO:22:GGCGGG。另外地或任选地,半胱氨酸残基可引入其他结构域,以下下提供了其的示例。

[0258] 在某些实施方式中,本发明的异源二聚体促进结构域将包括相反电荷的串联重复螺旋结构域。因此,在一个实施方式中,一条多肽链将被工程化为含有“E-螺旋”结构域(SEQ ID NO:23:EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK),其残基将在pH 7形成负电荷,而两条多肽链的另一条将被工程化为含有“K-螺旋”结构域(SEQ ID NO:24:KVAAALKE-KVAAALKE-KVAAALKE-KVAAALKE),其残基将在pH 7形成正电荷。存在这种带电的结构域促进第一和第二多肽之间的缔合,且因此促进异源二聚化。提供那个螺旋给第一或第二多肽链不重要。

[0259] 在另一实施方式中,利用异源二聚体促进结构域,其中已经修饰SEQ ID NO:23的四个串联“E-螺旋”螺旋结构域之一以含有半胱氨酸残基(例如,EVAAACEK-EVAAALEK-EVAAALEK-EVAAALEK (SEQ ID NO:25)。相似地,在另一实施方式中,利用异源二聚体促进结构域,其中已经修饰SEQ ID NO:24的四个串联“K-螺旋”螺旋结构域之一以含有半胱氨酸残基(例如,KVAAACKE-KVAAALKE-KVAAALKE-KVAAALKE (SEQ ID NO:26)。有利地组合这种实施方式,以便采用SEQ ID NO:25的异源二聚体促进结构域和SEQ ID NO:26的异源二聚体促进结构域。

[0260] 因此,工程化这种双抗体,以便它们的多肽链对经沿着它们的长度定位的一个或多个半胱氨酸残基共价结合至彼此以产生共价缔合的分子复合物。这种半胱氨酸残基可引入将多肽的VL和VH结构域分开的间插连接体。可替代地,一种或多种连接体(例如,连接体2、连接体3等)可含有半胱氨酸残基。在具体的实施方式中,含有螺旋的异源二聚体促进结构域的一个或多个螺旋结构域将包括并入如SEQ ID NO:25或SEQ ID NO:26中的半胱氨酸残基的氨基酸替换。替代的,缺乏半胱氨酸残基的连接体2序列是SEQ ID NO:27:ASTKG,其可与含有异源二聚体促进结构域的二硫键半胱氨酸残基一起采用。

[0261] 优选地工程化本发明的双特异性双抗体,使得它们具有能够络合在一起以形成Fc区的IgG CH2-CH3结构域。在某些实施方式中,本发明的双特异性双抗体包括人IgG CH2-CH3结构域。以上提供了代表性人IgG CH2-CH3结构域且其包括已经工程化的CH2-CH3结构域以调节效应子功能和/或血清半衰期。

[0262] 在某些实施方式中,本发明的双特异性双抗体是用间插连接体肽(连接体3)将CH2和CH3结构域连接至异源二聚体促进结构域工程化的。优选地连接体3在异源二聚体促进结构域的C-末端的位置。本发明的PD-1 x LAG-3双特异性双抗体中可采用的连接体包括:GGGS(SEQ ID NO:28)、LGGGSG(SEQ ID NO:29)、ASTKG(SEQ ID NO:27)、LEPKSS(SEQ ID NO:30)、APSSS(SEQ ID NO:31)和APSSSPME(SEQ ID NO:32)、GGC和GGG。连接体3可包括单独或除其他连接体序列外的一部分IgG铰链区。代表性铰链区包括:来自IgG1的DKTHTCPPCP(SEQ ID NO:33)或EPKSCDKTHTCPPCP(SEQ ID NO:7),来自IgG2的ERKCCVECPPCP(SEQ ID NO:8),来自IgG4的ESKYGPPCPSCP(SEQ ID NO:10)和ESKYGPPCPPCP(SEQ ID NO:11)。IgG4铰链变体包括稳定化S228P替换以减少链交换(Lu等,(2008)“The Effect Of A Point Mutation On The Stability Of IgG4 As Monitored By Analytical Ultracentrifugation,” J.Pharmaceutical Sciences 97:960-969)以减少链交换的发生率)。在某些实施方式中,连接体3可进一步包括GGG,例如GGGDKTHTCPPCP(SEQ ID NO:34)。

[0263] II. 结合至PD-1(或PD-L1)和/或LAG-3的基于抗体的分子

[0264] 本发明具体地考虑包括或采用以下的组合物和方法:

[0265] (1) PD-1 x LAG-3双特异性分子;

[0266] (2) 单特异性PD-1-结合分子,和单特异性LAG-3-结合分子;

[0267] (3) PD-L1 x LAG-3双特异性分子;或

[0268] (4) 单特异性PD-L1-结合分子,和单特异性LAG-3-结合分子;

[0269] 其中这种单特异性结合分子是完整的抗体,且这种双特异性分子是双抗体或双特异性抗体。

[0270] 按照本发明可使用的免疫特异性结合至人PD-1的基于抗体的分子(例如,单特异性PD-1-结合分子或PD-1 x LAG-3双特异性分子)将包括至少一种免疫特异性结合PD-1的表位的表位-结合结构域(PD-1-结合结构域)。

[0271] 按照本发明可使用的免疫特异性结合至人PD-L1的基于抗体的分子(即,单特异性PD-L1-结合分子或PD-L1 x LAG-3双特异性分子)将包括至少一种免疫特异性结合PD-1的表位的表位-结合结构域(PD-L1-结合结构域)。

[0272] 按照本发明可使用的免疫特异性结合至人LAG-3的基于抗体的分子(即,单特异性LAG-3-结合分子,PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子)将包括至少一种免疫特异性结合LAG-3的表位的表位-结合结构域(LAG-3-结合结构域)。

[0273] 在某些实施方式中,本发明考虑了包括PD-1-结合结构域、PD-L1-结合结构域和/或LAG-3-结合结构域,进一步包括Fc结构域的基于抗体的分子。在一个实施方式中,这种分子的Fc结构域是野生型IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc结构域。

[0274] 本发明考虑了包括PD-1-结合结构域、PD-L1-结合结构域或LAG-3-结合结构域,包括具有很少或没有ADCC活性的变体Fc结构域的单特异性基于抗体的分子。本发明还考虑了包括对PD-1和LAG-3具有免疫特异性或对PD-L1和LAG-3具有免疫特异性的表位结合结构

域,包括具有很少或没有ADCC活性的Fc结构域的双特异性基于抗体的分子(例如,双抗体)。在一个实施方式中,这种分子包括包含在位置234处用丙氨酸替换和在位置235处用丙氨酸替换(234A,235A)的变体IgG1 Fc结构域,如通过Kabat中的EU索引所编号。在另一实施方式中,这种分子包括IgG4 Fc结构域,和任选地包括稳定的IgG4铰链区(参见,例如,SEQ ID NO:11)。

[0275] 在某些实施方式中,包括PD-1-结合结构域、PD-L1-结合结构域和/或LAG-3-结合结构域,包括变体Fc结构域的基于抗体的分子包括一种或多种延长血清半衰期的突变。在一个实施方式中,这种分子包括包含替换在位置252处用酪氨酸、在位置254用苏氨酸和在位置256用谷氨酸的替换(252Y、254T和256E)的变体Fc结构域,如通过Kabat中的EU索引所编号。

[0276] 本发明也涵盖了包括PD-1-结合结构域、PD-L1-结合结构域和/或LAG-3-结合结构域的基于抗体的分子,其进一步包括Fc结构域,其中这种Fc结构域包括:

[0277] (a) 一种或多种减少或消除ADCC的突变;和/或

[0278] (b) 一种或多种延长血清半衰期的突变。

[0279] 在一个实施方式中,基于抗体的分子包括PD-1-结合结构域、PD-L1-结合结构域和/或LAG-3-结合结构域,包括包含以下替换的变体IgG1 Fc结构域:L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E(SEQ ID NO:19),如通过Kabat中的EU索引所编号。

[0280] 在另一实施方式中,基于抗体的分子包括PD-1-结合结构域、PD-L1-结合结构域和/或LAG-3-结合结构域,包括包含以下替换的变体IgG4 Fc结构域:M252Y/S254T/T256E(SEQ ID NO:20),如通过Kabat中的EU索引所编号。

[0281] A. PD-1-结合结构域和分子

[0282] 在一个实施方式中,PD-1-结合结构域包括SEQ ID NO:35和SEQ ID NO:39的VL和VH结构域的CDR。在另一实施方式中,PD-1-结合结构域包括SEQ ID NO:36和SEQ ID NO:39的人源化的VL和VH结构域。

[0283] 这种人源化的VL_{PD-1}结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:35):

[0284] EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSC**RASESVD NYGMSFMNWF** QQKPGQPPKL LIH**AASNQGS**
GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FC**QQSKEVPY** **T**FGGGTKVEI K

[0285] 这种VL_{PD-1}的CDR是:

[0286] CDR_{L1} SEQ ID NO:36:RASESVDNYGMSFMN;

[0287] CDR_{L2} SEQ ID NO:37:AASNQGS;和

[0288] CDR_{L3} SEQ ID NO:38:QQSKEVPYT。

[0289] 这种人源化的VH_{PD-1}结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:39):

[0290] QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSFT **SYWMN**WVRQA PGQGLEWIGV **IHPSDSETWL**
DQKFKDRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAREH **YGTSPFAY**WG QGTLVTVSS

[0291] 这种VH_{PD-1}结构域的CDR是:

[0292] CDR_{H1} SEQ ID NO:40:SYWMN;

[0293] CDR_{H2} SEQ ID NO:41:VIHPSDSETWLDQKFKD;和

[0294] CDR_{H3} SEQ ID NO:42:EHYGTSPFAY。

[0295] 已经描述了可替换的PD-1-结合结构域和包括其的分子,并且包括但不限于表1中

呈现的那些,以及这里通过常用名或INN名称提及。

表 1 PD-1-结合结构域/分子	
名称	参考
表 1 PD-1-结合结构域/分子	
名称	
参考	
[0296] 巴替利单抗(Balstilimab) (CAS 注册号: 2148321-77-9, 也称为 AGEN2034, 是由 Agenus 开发的)	WHO 药物信息 2019, 推荐的 INN: 列表 82, 33(3):611-612
布格利单抗(Budigalimab) (CAS 注册号: 2098225-93-3, 也称为 ABBV-181、PR-1648817, 是由**开发的 Abbvie)	WHO 药物信息 2019, 推荐的 INN: 列表 81, 33(1): 56-57
卡瑞利珠单抗 (Camrelizumab)(CAS 注册号: 1798286-48-2, 也称为 SHR-1210, 且上海恒瑞药物制剂的作为 AiRuiKa™在中国销售的)	WHO 药物信息 2017, 推荐的 INN: 列表 77, 31(1): 73-74
西米普利单抗(Cemiplimab) (CAS 注册号:1801342-60-8, 也称为 REGN-2810、SAR-439684, 且由 Sanofi &Regeneron 药物制剂作为 LIBTAYO®销售的)	WHO 药物信息 2019, 推荐的 INN: 列表 81, 33(1): 57-58
西利单抗(Cetrelimab) (CAS 注册号:2050478-92-5, 也称为 JNJ-63723283, 是由 Janssen Biotech 开发的)	WHO 药物信息 2019, 推荐的 INN: 列表 80, 32(3): 436-437
多塔利单抗 (Dostarlimab)(CAS 注册号: 2022215-59-2, 也称为 ANB-011、TSR-042, 是由 Tesero 开发的)	WHO 药物信息 2019, 推荐的 INN: 列表 81, 33(1): 65-66
[0297] 埃本利单抗(Ezabenlimab) (CAS 注册号: 2249882-54-8, 也称为 BI754091, 是由 Boehringer Ingelheim 开发的)	WHO 药物信息 2019, 建议的 INN: 列表 122, 33(4):834-835
洛达利单抗(Lodapolimab) (CAS 注册号: 2118349-31-6, 也称为 LY3300054, 是由 Eli Lilly 开发的)	WHO 药物信息 2019, 建议的 INN: 列表 121, 33(2): 287-288
尼伏鲁单抗(Nivolumab)(CAS 注册号:946414-94-4, 也称为 5C4、BMS-936558、ONO-4538、MDX-1106, 且由 Bristol-Myers Squibb 作为 OPDIVO®销售的)	WHO 药物信息, 2013, 推荐的 INN: 列表 69, 27(1):68-69
培布利珠单抗(Pembrolizumab)(已知的之前称为之前称为兰罗利珠单抗(lambrolizumab)), CAS 注册号:1374853-91-4, 也称为 MK-3475、SCH-900475, 且由 Merck 作为 KEYTRUDA®销售的)	WHO 药物信息, 2014, 推荐的 INN: 列表 75, 28(3):407
帕洛利单抗(Prolgolimab) (CAS 注册号: 2093956-19-3, 也称为 BCD-100, 是由 CJSC Biocad 开发的)	WHO 药物信息 2019, 推荐的 INN: 列表 81, 33(1): 102-103
瑞弗利单抗(Retifanlimab) (CAS 注册号: 2079108-44-2, 也称为 MGA012、INCMGA-00012, 是由 Incyte 和 MacroGenics 开发的)	WHO 药物信息 2019, 推荐的 INN: 列表 82, 33(1):611-612
萨善利单抗 (Sasanlimab)(CAS 注册号: 2206792-50-7, 也称为 PF-06801591、mAb7, 是由 Pfizer 开发的)	WHO 药物信息 2019, 建议的 INN: 列表 121, 33(2):330-331
斯鲁利单抗 (Serplulimab)(CAS 注册号: 2231029-82-4, 也称为 HLX10, 是由 Henlix 开发的)	WHO 药物信息 2019, 建议的 INN: 列表 121, 33(2):332-333

[0298]

表 1 PD-1-结合结构域/分子	
名称	参考
信迪利单抗(Sintilimab)(CAS 注册号: 2072873-06-2, 也称为 IBI-308、IBI308, 且由 Innovent Biologics 和 Eli Lilly 作为 TYVYT®在中国销售的)	WHO 药物信息 2019, 推荐的 INN: 列表 81, 33(1):112-113
司利珠单抗 (Spartalizumab)(CAS 注册号: 1935694-88-4, 也称为 NPVPDR001、NVS240118、PDR001, 是由 Novartis 开发的)	WHO 药物信息 2018, 推荐的 INN: 列表 79, 32(1): 161-162
替雷利珠单抗(Tislelizumab) (CAS 注册号: 1858168-59-8, 也称为 BGB-A317, 是由 Beigene 开发的)	WHO 药物信息 2018, 推荐的 INN: 列表 79, 32(1): 174-175
特瑞普利单抗(Toripalimab) (CAS 注册号:1924598-82-2, 也称为 JS001, 是由上海军医生物科学开发的)	WHO 药物信息 2019, 推荐的 INN: 列表 81, 33(1): 124-125
PD1-17、PD1-28、PD1-33、PD1-35 和 PD1-F2	US 7,488,802
17D8、2D3、4H1、5C4、4A11、7D3 和 5F4	US 8,008,449
hPD-1.08A、hPD-1.09A、109A、K09A、409A、h409A11、h409A16、h409A17、密码子优化的 109A 和密码子优化的 409A	US 8,354,509
1B8、20B3.1、7G3、3H4、2.3A9、1G7、1.8A10、28.11、6D10	US 8,168,757
1E3、1E8 和 1H3	US 2014/0044738
9A2、10B11、6E9、APE1922、APE1923、APE1924、APE1950、APE1963 和 APE2058	US 9,815,897
EH12.2H7	US 9,102727
GA1、GA2、GB1、GB6、GH1、A2、C7、H7、SH-A4、SH-A9、RG1H10、RG1H11、RG2H7、RG2H10、RG3E12、RG4A6、RG5D9、RG1H10-H2A-22-1S、RG1H10-H2A-27-2S、RG1H10-3C、RG1H10-16C、RG1H10-17C、RG1H10-19C、RG1H10-21C 和 RG1H10-23C2	US 2014/0356363
H1M7789N、H1M7799N、H1M7800N、H2M7780N、H2M7788N、H2M7790N、H2M7791N、H2M7794N、H2M7795N、H2M7796N、H2M7798N、H4H9019P、H4H7798N、H4xH9034P2、H4xH9035P2、H4xH9037P2、H4xH9045P2、H4xH9048P2、H4H9057P2、H4H9068P2、H4xH9119P2、H4xH9120P2、H4Xh9128p2、H4Xh9135p2、H4Xh9145p2、H4Xh8992p、H4Xh8999p 和 H4Xh9008p、	US 2015/0203579
mAb1、mAb2、mAb3、mAb4、mAb7、mAb8、mAb9、mAb10、mAb11、mAb12、mAb13、mAb14、mAb15 和 mAb16	US 2016/0159905
246A10、244C8、413D2、393C5、388D4、413E1、	US 2016/0319019

表 1
PD-1-结合结构域/分子

名称	参考
244C8-1、244C8-2、244C8-3、388D4-1、388D4-2 和 388D4-3	
Mu317、mu326、317-4B6、326-4A3、317-4B2、317-4B5、317-1、326-3B1、326-3G1、326-1、317-3A1、317-3C1、317-3E1、317-3G1、317-3H1、317-3I1、317-4B1、317-4B3、317-4B4、317-4A2、326-3A1、326-3C1、326-3D1、326-3E1、326-3F1、326-3B N55D、326-4A1、326-4A2BGB-A317	US 8,735,553
22A5、6E1、IOD1、4C1、7D3、13F1、14A6、15H5、5A8、7A4 和其人源化的版本	US 2017/267762
1E9、h1E9-1、h1E9-2、h1E9-4、h1E9-5、4B10、h4B10-1、h4B10-2、h4B10-3、1B10、10B4、A09、C07、F09、G08、G10、H08、H09 和 1353-G10	US 2018/142022
M136-M13-MHC723、m136-M14-MHC724、m136-M19-MHC725、m245-M3-MHC728、m245-M5-MHC729、A1.0、A1.6、Ba2、Bb2/C1.1、和 D4	US 2017/0044259
PD-1 mAb 1; PD-1 mAb 2; PD-1 mAb 3; PD-1 mAb 4; PD-1 mAb 5; PD-1 mAb 6; PD-1 mAb 7; PD-1 mAb 8; PD-1 mAb 9; PD-1 mAb 10; PD-1 mAb 11; PD-1 mAb 12; PD-1 mAb 13; PD-1 mAb 14; PD-1 mAb 15; 和其人源化的版本: hPD-1 mAb 2; hPD-1 mAb 7; hPD-1 mAb 9; hPD-1 mAb 15;	US 2017/019846
PD1B11、PD1B70、PD1B71、PD1B114 和它的亲和力-成熟的变体: PD1B149、PD1B160、PD1B162、PD1B164、PD1B183、PD1B184、PD1B185、PD1B187、PD1B192、PD1B175、PD1B177、PD1B194、PD1B195、PD1B196、PD1B197、PD1B198、PD1B199、PD1B200、PD1B201	US 20017/079112
BAP049-hum01、BAP049-hum02、BAP049-hum03、BAP049-hum04、BAP049-hum05、BAP049-hum06、BAP049-hum07、BAP049-hum08、BAP049-hum09、BAP049-huml0、BAP049-huml1、BAP049-huml2、BAP049-huml3、BAP049-huml4、BAP049-huml5、BAP049-huml6、BAP049-克隆-A、BAP049-克隆-B、BAP049-克隆-C、BAP049-克隆-D、或 BAP049-克隆-E、PDR-001	US 2018/0371093
AGEN-2034、AGEN-2034w、AGEN2033w、AGEN2046w、AGEN2047w、AGEN2001w、AGEN2002w、EPI1_pll_B03、EPI1_pll_B05、EPI1_pll_C02、EPI1_pll_C03	US 2017/081409
m136-M13-MHC723、m136-M19-MHC725、	US 2017/044259

[0299]

名称	参考
m245-M3- MHC728、m245-M5- MHC729、m136-M14- MHC724 和人源化变体 PD-1 A、PD-1 Ab、PD-1 Ae、PD-1 Af、PD-1 Ba、PD-1 Bb、PD-1 C、PD-1 Ca、PD-1 D、PD-1 1.0、PD-1 1.1、PD-1 1.2、PD-1 1.4、PD-1 1.5、PD-1 1.6、PD-1 1.7、PD-1 1.9、PD-1 1.10、PD-1 2、PD-1 4、CX188	
244C8、388D4、413E1、246A10、413D2 和人源化变体 D4-HC3+LC1、D4-HC1+LC3、D4-HC3+LC3、C8-HC1+LC1、C8-HC1+LC3、C8-HC2+LC1	US 10,239,942
PRS-332; 选自序列编码: 59-84 和 112-117 的 VH 和选自序列编码: 85-111 和 118-123 的 VL	US 2019/010231
H005-1	US 2016/376367
BA08-1	US 2017/210806
R3A1、R3A2、R4B3、R3B7、R3D6、A2 #1、A2 #2	US 2018/244779
BY18.1	WO 2016/180034
抗体 A、抗体 B、抗体 C、抗体 D、抗体 E、抗体 F、抗体 G、抗体 H、抗体 I; 11430	US 2017/0044260
SHB-128、SHB-152、SHB-168、SHB-617 和人源化变体 SSI-361	US 2018/346569
E8-3、C2-3、E1-3、F3-3、H8-3、C10-2、G2-1、G3-2、H2-1、H4-2、C8-1、G10-2、135C12、136B4、139D6、136E10、122F10、139D6、137F2	US 9,982,052
AB12M3、AB12M4、AB12M5、AB12M6、AB12M7、AB12M8、AB12M9	US 2018/113258
1.7.3 hAb、1.49.9 hAb、1.103.11 hAb、1.139.15 hAb、1.153.7 hAb	US 2017/024515; US 2017/025051
包括 949 VK1 gL9 gH8b 的 949 和人源化变体	US 9,102,728
948 和人源化变体	US 8,993,731
STM-432	US 2019/077866

[0301] 具体地考虑了,本文呈现的PD-1-结合分子可直接地使用在本发明的方法中,或者序列或多肽链可用于构建替选的PD-1-结合分子或PD-1 x LAG-3双特异性分子的构建体中。

[0302] B.PD-L1-结合结构域和分子

[0303] 在一个实施方式中,PD-L1-结合结构域包括SEQ ID NO:43和SEQ ID NO:47的VL和VH结构域的CDR。在另一实施方式中,PD-L1-结合结构域包括SEQ ID NO:43和SEQ ID NO:47的人源化的VL和VH结构域。

[0304] 这种人源化的VL_{PD-L1}结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:43):

[0305] DIQMTQSPSS LSASVGDRVT IT**KASQDVN TAVAWYQQK**P GKAPKLLIYW **ASTRHT**GVPS
RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC**QQ HYNTP**LTFGQ GTKVEIK

[0306] 这种VL_{PD-L1}的CDR是:

[0307] CDR_{L1} SEQ ID NO:44:KASQDVNTAVA;

[0308] CDR_{L2} SEQ ID NO:45:WASTRHT;和

[0309] CDR_{L3} SEQ ID NO:46:QQHYNTPLT。

[0310] 这种VH_{PD-L1}人源化的结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:47):

[0311] EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYTMSWVRQA PGKGLEWVAY ISIGGGTTY
PDTVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLKTED TAVYYCARQG LPYYFDYWGQ GTLVTVSS

[0312] 这种VH_{PD-L1}的CDR是:

[0313] CDR_{H1} SEQ ID NO:48:SYTM;

[0314] CDR_{H2} SEQ ID NO:49:YISIGGGTTYYPDTVK;和

[0315] CDR_{H3} SEQ ID NO:50:QGLPYYFDY。

[0316] 已经描述了可替代的PD-L1-结合结构域和包括其的分子,并且包括但不限于表2中呈现的那些,以及这里通过常用名或INN名称提及。

[0317]

表 2 PD-L1-结合分子	
名称	参考
阿得贝利单抗(Adebrelimab) (CAS 注册号: 2247114-85-6, 也称为 HTI-1088, SHR-1316, 是由 Hengrui Therapeutics 开发的)	WHO 药物信息 2019, 建议的 INN: 列表 122, 33(4):804-805
阿特利珠单抗(Atezolizumab) (CAS 注册号: 2118349-31-6, 也称为 MPDL3280A, RG7446, 且由 Genentech, Inc.作为 TECENTRIQ®销售的)	WHO 药物信息, 2015, 推荐的 INN: 列表 74, 29(3):387
阿维鲁单抗 (CAS 注册号: 2118349-31-6, 也称为 MSB-0010718C、MSB0010682、MSB0010718C, 且由 EMD Serono 作为 BAVENCIO®销售)	WHO 药物信息, 2016, 推荐的 INN: 列表 74, 30(1):100-101
必特芙普 α(Bintrafusp alfa) (CAS 注册号: 1918149-01-5, 具有融合至针对 PD-L1 的人 IgG1 单克隆抗体的 TGF-βRII (TGF-β “捕获”)的 2 细胞外结构域的双官能融合蛋白, 也称为 M7824, 是由 Merck 和 GSK 开发的)	WHO 药物信息, 2019, 推荐的 INN: 列表 81, 33(1):52-54
柯希利单抗(Cosibelimab) (CAS 注册号: 2216751-26-5, 也称为 CK-301, 由 Checkpoint Therapeutics 开发的)	WHO 药物信息 2019, 建议的 INN: 列表 121, 33(2):258-259
度伐鲁单抗(Durvalumab) (CAS 注册号: 2118349-31-6, 也称为 MEDI4736, 其由 Astrazeneca 作为 IMFINZI®销售)	WHO 药物信息, 2015, 推荐的 INN: 列表 74, 29(3):393-394
恩沃利单抗 (Envafolimab)(CAS 注册号: 2102192-68-5, 单-结构域抗体也称为 KN-035, 是由 Alphamab Co.开发的)	WHO 药物信息, 2019, 推荐的 INN: 列表 82, 33(3):634-635
玛奈利单抗(Manelimab) (CAS 注册号: 2168561-26-8, 也称为 BCD-135, 是由 CJSC Biocad 开发的)	WHO 药物信息 2019, 建议的 INN: 列表 121, 33(2):289-290
欧可利单抗 (Opucolimab)(CAS 注册号: 2251771-79-4, 也称为 HLX20, 是由 Henlix Biotech	WHO 药物信息 2019, 建议的 INN: 列表 122, 33(4):866-867

表 2 PD-L1-结合分子	
名称	参考
开发的)	
帕克米利单抗 (Pacmilimab)(CAS 注册号: 2145091-51-4, a PROBODY™也称为 CX-072, 是由 CytomX Therapeutics 开发的)	WHO 药物信息 2019, 建议的 INN: 列表 121, 33(2):312-313
索维舒地尔单抗(sugemalimab) (CAS 注册号: 2256084-03-2, 也称为 CS-1001, WBP-315, WBP 3155, 是由 CStone Pharmaceuticals 开发的)	WHO 药物信息 2019, 建议的 INN: 列表 122, 33(4):892-893
A09-188-1 以及亲和力成熟的和优化的变体: A09-204-1、A09-211-1、A09-212-1、A09-213-1、 A09-214-1、A09-215-1、A09-216-1、A09-219-1、 A09-220-1、A09-221-1、A09-222-1、A09-223-1、 A09-202-1、A09-248-2、A09-239-2、A09-240-2、 A09-241-2、A09-242-2、A09-243-2、A09-244-2、 A09-245-2、A09-246-2、A09-247-2	US 9,624,298
YW243.55.S70、243.55.H1、243.55.H12、243.55.H37、 243.55.H70、243.55.H89、243.55.S1、243.55.5、 243.55.8、243.55.30、243.55.34、243.55.S37、 243.55.49、243.55.51、243.55.62、243.55.84	US 8,217,149
2.9D10、2.7A4、2.14H9、3.15G8、2.20A8、3.18G1、 2.7A4OPT 或 2.14H9OPT	US 8,779,108B2
1B9.2E11.2、4H1.G10.15、1A8、1E4、8G2、1D11、 3A2、3B11、3F4、3H6、4C1、4E1、5A6、9C12、 1B4、1B11、1F6、1H8、1H12、2D5、2H11、3D12、 4C8、4C9、5E10、5H4、5H5、8A1、9G9、10A7 和 10H6	US 2015/0197571
1D05、84G09、411B08、411C04、411D07、386H03、 386A03、385F01、413D08、413G05、413F09、414B06	US 9,617,338
3G10,12A4,10A5、5F8,10H10、1B12、7H1、11E6、 12B7 和 13G4	US 9,273,135
A1、C2、C4、H12 和 H12-GL	US 2017/0319690
Ab-14、Ab-16、Ab-22、Ab-30、Ab-31、Ab-32、 Ab-38、Ab-42、Ab-46、Ab-50、Ab-52、Ab-55、 Ab-56 和 Ab-65	US 9,828,434
R2κA3、R2κA4、R2κA6、R2κF4、R2κH5、R2κH6、 R2κH3、sR3κA8、sR3κA9、sR3κB2、sR3κB5、 tccR3KA8、tccR3KA11、tccR3KB7、tccR3KD9、 tccKF10、tctR3KA4、tctR3KF8、R2λA7、R2λB12、 R2λ12、sR3λD7、sR3λE1、tccAF8、tccAD7、tctR3λH4、 KD-033 和其他	US 2016/340429
H2M8306N、H2M8307N、H2M8309N、H2M8310N、 H2M8312N、H2M8314N、H2M8316N、H2M8317N、 H2M8321N、H2M8323N、H2M8718N、H2M8718N2、	US 9,938,345

[0318]

表 2 PD-L1-结合分子	
名称	参考
和 H2M8719N、H1H9323P、H1 H9327P、H1 H9329P、H1H9336P、H1H9344P2、1H9345P2、H1H9351P2、H1H9354P2、H1 H9364P2、H1H9373P2、H1H9382P2、H1H9387P2 和 H1H9396P2	
克隆 8、克隆 12、克隆 16、克隆 18、克隆 60 及其优化的变体包括: cl、dl、g7、h9、b10、E10、A05、C05、C10、D08、G09、G10、G12、E11、D01、H06、C5H9、C5B10、C5E10、G12H9、G12B10、G12E10;	US 2016/0311903
BAP058 及其人源化变体包括: BAP058-hum01、BAP058-hum02、BAP058-hum03、BAP058-hum04、BAP058-hum05、BAP058-hum06、BAP058-hum07、BAP058-hum08、BAP058-hum09、BAP058-hum10、BAP058-hum11、BAP058-hum12、BAP058-hum13、BAP058-hum14、BAP058-hum15、BAP058-hum16 和 BAP058-hum17; FAZ-053	US 9,988,452
Mu333、Mu277 及其人源化变体包括: hu333-2B、hu333-3A2、hu333-3C2 和 hu333-3H2	US 2018/215825
332M1 及其人源化变体包括: 332M7、332M72 和 332M8	US 2018/346571
PDL1.1、PDL1.2	US 8,741,295
13C5、5G9、5G11、8C6、7B4、4D1、4A8、8H4、8H3、15F1 及其人源化变体包括 hu5G11、hu13C5;	US 2017/0204184
PDL1-56 dAb、Hu56V1、Hu56V2、Hu56V3、Hu56V4、Hu56V5 和 KN035	US 2018/0291103
1.4.1、1.14.4、1.20.15 和 1.46.11	WO 2017/020858
CTI-07、CTI-09、CTI-48、CTI-49、CTI-50、CTI-76、CTI-77、CTI-78、CTI-57 或 CTI-58	US 2018/0002424
92、24D5、29H1、9_2-1、9_2-2、9_2-3、9_2-4、9_2-5、9_2-6、9_2-7、9_2-8、9_2-9、9_2-10、24D5-H、HRP00049、HRP-00052	US 2018/0334504
5F10、9F6、5C10 及其人源化变体包括 5C10H1L1、5C10H1L2、5C10H2L1 和 5C10H2L2	US 2018/0305464
4B6、26F5、21F11、23A11、23F11 和 22C9; BM-GT、BM-ME、4B6-H3L4、4B6-H4L3、23F11-H4L4、23F11-H4L6、23F11-H6L4、23F11-H6L6、23A11-H3L3、23A11-H3L5、23A11-H5L3 和 23A11-H5L5;	WO 2017/161976
3C5-2G12 及其人源化变体包括 h3C5H1-h3C5L1、h3C5H2-h3C5L2、h3C5H3-h3C5L2、h3C5H4-h3C5L2、	WO 2017/196867
29E.2A3 和 24F.10C12	US 8,552,154
PD-L1 MAB-1、PD-L1 MAB-2、PD-L1 MAB-3 及其	WO 2020/041404

表 2 PD-L1-结合分子	
名称	参考
人源化变体包括 hPD-L1 MAB2、hPD-L1-MAB-3	

[0321] 具体地考虑了,本文呈现的PD-L1-结合分子可直接地使用在本发明的方法中,或者序列或多肽链可用于构建可替代的PD-L1-结合分子,或PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0322] C.LAG-3-结合结构域和分子

[0323] 在一个实施方式中,LAG-3-结合结构域包括SEQ ID NO:51和SEQ ID NO:55的VL和VH结构域的CDR。在另一实施方式中,LAG-3-结合结构域包括SEQ ID NO:51和SEQ ID NO:55的人源化的VL和VH结构域。

[0324] 这种人源化的VL_{LAG-3}结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:51):

[0325] DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS SVVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASYRYTGVPS
RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYYCQQ HYSTPWTFGG GTKLEIK

[0326] 这种VL_{LAG-3}结构域的CDR包括:

[0327] CDR_{L1} SEQ ID NO:52:RASQDVSSVVA;

[0328] CDR_{L2} SEQ ID NO:53:SASYRYT;和

[0329] CDR_{L3} SEQ ID NO:54:QQHYSTPWT。

[0330] 这种人源化的VH_{LAG-3}结构域的氨基酸序列是(SEQ ID NO:55):

[0331] QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT DYNMDWVRQA PGQGLEWMGD INPDNGVTIY
NQKFEGRVTM TTDSTSTAY MELRSLRSDD TAVYYCAREA DYFYFDYWGQ GTTLTVSS

[0332] 这种VH_{LAG-3}结构域的CDR包括:

[0333] CDR_{H1} SEQ ID NO:56:DYNMD;

[0334] CDR_{H2} SEQ ID NO:57:DINPDNGVTIYNQKFEG;和

[0335] CDR_{H3} SEQ ID NO:58:EADYFYFDY。

[0336] 已经描述了可替选的LAG-3-结合结构域和包括其的分子,并且包括但不限于表3中呈现的那些,以及这里通过常用名或INN名称提及。

表3 LAG-3-结合分子	
名称	参考
[0337] 瑞拉利单抗 (relatlimab)(CAS注册号: 1673516-98-7, 也称为 BMS-986016, ONO-4482, 是由 Bristol-Myers Squibb 开发的)	WHO 药物信息, 2019, 推荐的 INN: 列表 81, 33(1):104-105
埃拉利单抗 (ieramilimab)(CAS注册号: 2137049-37-5, 也称为 LAG-525, IMP-701, 是由 Novartis 开发的)	WHO 药物信息 2018, 建议的 INN: 列表 120, 32(4):601-602
安沙利单抗 (encelimumab)(CAS注册号: 2173096-82-5, 也称为 TSR-033, 是由 Anaptysbio/Tessero 开发的)	WHO 药物信息 2019, 建议的 INN: 列表 121, 33(2):265-266
弗安利单抗 (fianlimab)(CAS注册号: 2126132-98-5, 也称为 REGN 3767, 是由 Regneron 开发的)	WHO 药物信息 2019, 建议的 INN: 列表 121, 33(2):271-272
玛维泽利单抗(mavezelimumab) (CAS注册号:	WHO 药物信息 2019, 建议的 INN: 列

表3 LAG-3-结合分子	
名称	参考
[0338] 2231068-83-8, 也称为 MK-4280, 是由 Merck 开发的	表 121, 33(2):290-291

[0339] 具体地考虑了,本文呈现的LAG-3-结合分子可直接地使用在本发明的方法中,或者序列或多肽链可用于构建替选的LAG-3-结合分子,或PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子。

[0340] D.PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子

[0341] 按照本发明可使用免疫特异性结合至人PD-1 (或PD-L1) 和人LAG-3二者的基于抗体的分子(即,PD-1 x LAG-3双特异性分子,或PD-L1 x LAG-3双特异性分子)将包括至少一种免疫特异性结合PD-1的表位(或PD-L1)的表位-结合结构域和至少一种免疫特异性结合LAG-3的表位的表位-结合结构域。

[0342] 在某些实施方式中,本发明的PD-1 x LAG-3双特异性分子包括:

[0343] (I) PD-1-结合结构域,其包括包含PD-1-特异性CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3结构域的VL结构域(VL_{PD-1})和包含PD-1-特异性CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3结构域的VH结构域(VH_{PD-1});以及

[0344] (II) LAG-3-结合结构域,其包括包含LAG-3-特异性CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3结构域的VL结构域(VL_{LAG-3})和包含LAG-3-特异性CDR_H1、CDR_H2、和CDR_H3结构域的VH结构域(VH_{LAG-3}),

[0345] 其中PD-1-结合结构域和LAG-3-结合结构域是选自表1和3中提供的那些。

[0346] 在其他实施方式中,本发明的PD-L1 x LAG-3双特异性分子包括:

[0347] (I) PD-L1-结合结构域,其包括包含PD-L1-铁蛋白CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3结构域的VL结构域(VL_{PD-L1})和包含PD-L1-特异性CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3结构域的VH结构域(VH_{PD-L1});和

[0348] (II) LAG-3-结合结构域,其包括包含LAG-3-特异性CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3结构域的VL结构域(VL_{LAG-3})和包含LAG-3-特异性CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3结构域的VH结构域(VH_{LAG-3}),

[0349] 其中PD-L1-结合结构域和LAG-3-结合结构域是选自表2和3中提供的那些。

[0350] 本发明的一个实施方式涉及包括Fc结构域的PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子。在一个实施方式中,PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子包括具有很少或没有ADCC活性的Fc结构域。在一个实施方式中,PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子包括具有很少或没有ADCC活性的Fc结构域且包括一种或多种延长血清半衰期的突变。

[0351] 在某些实施方式中,本发明的PD-1 x LAG-3双特异性分子是PD-1 x LAG-3双特异性双抗体,优选地具有两个对PD-1具有特异性的结合位点、两个对LAG-3具有特异性的结合位点、Fc结构域和含有半胱氨酸的E/K-螺旋同源二聚体促进结构域的四条链的、含有Fc结构域的双抗体。代表性PD-1 x LAG-3双特异性双抗体的通式结构在图1中提供。这种分子包括结合至PD-1的抗体的VL和VH结构域(分别为VL_{PD-1}和VH_{PD-1})和还有结合至LAG-3的抗体的VL和VH结构域(分别为VL_{LAG-3}和VH_{LAG-3})。因此,这种PD-1 x LAG-3双特异性双抗体能够特异性结合至PD-1的表位和LAG-3的表位。

[0352] 1. DART-I

[0353] “DART-I”(也称为“MGD013”和tebotelimab)是本发明的代表性PD-1 x LAG-3双特异性分子。DART-I是具有两个对PD-1具有特异性的结合位点、两个对LAG-3具有特异性的结合位点、为延长半衰期而工程化的变体IgG4 Fc结构域和含有半胱氨酸的E/K-螺旋同源二聚体促进结构域的双特异性的、四条链的、含有Fc结构域的双抗体。DART-I包括具有表4中总结的氨基酸序列的四条多肽链。以下进一步详细描述了氨基酸序列。

表 4 - DART-I SEQ ID NOS	
DART-I (tebotelimab)	替换基多肽(在 N-末端至 C-末端方向上)
[0354] 第一和第三多肽链 (SEQ ID NO:59)	SEQ ID NO:51 SEQ ID NO:21 SEQ ID NO:39 SEQ ID NO:22 SEQ ID NO:25 SEQ ID NO:11 SEQ ID NO:20
第二和第四多肽链 (SEQ ID NO:60)	SEQ ID NO:35 SEQ ID NO:21 SEQ ID NO:55 SEQ ID NO:22 SEQ ID NO:26

[0355] DART-I的第一和第三多肽链包括,在N-末端至C-末端方向上:N-末端、能够结合至LAG-3的单克隆抗体的VL结构域(VL_{LAG-3} SEQ ID NO:51)、间插连接体肽(连接体1:GGGSGGGG (SEQ ID NO:21))、能够结合至PD-1的单克隆抗体的VH结构域(VH_{PD-1}) (SEQ ID NO:39);含有半胱氨酸的间插连接体肽(连接体2:GGCGGG (SEQ ID NO:22))、含有半胱氨酸的异源二聚体促进(E-螺旋)结构域(EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (SEQ ID NO:25))、包括稳定的IgG4铰链区的间插连接体肽(连接体3) (SEQ ID NO:11);包括替换M252Y/S254T/T256E且缺乏C-末端残基的变体IgG4 CH2-CH3结构域和C-末端(SEQ ID NO:20)。

[0356] DART-I的第一和第三多肽链的氨基酸序列是(SEQ ID NO:59):

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS SVVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASYRYTGVP
RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYSTPWTFGG GTKLEIKGGG SGGGGQVQLV
QSGAEVKKPG ASVKVCKAS GYSFTSYWMN WVRQAPGQGL EWIGVIHPSD SETWLDQKFK

[0357] DRVTITVDKS TSTAYMELSS LRSEDTAVYY CAREHYGTSP FAYWGQGLTV TVSSGGCGGG
EVAACEKEVA ALEKEVAALE KEVAALEKES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT
LYITREPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH
QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK
GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE

[0358] ALHNHYTQKS LSLSLG

[0359] DART-I的第二和第四多肽链包括,在N-末端至C-末端方向上:N-末端、能够结合至PD-1的单克隆抗体的VL结构域(VL_{PD-1}) (SEQ ID NO:35)、间插连接体肽(连接体1:GGGSGGGG (SEQ ID NO:21))、能够结合至LAG-3的单克隆抗体的VH结构域(VH_{LAG-3}) (SEQ ID NO:55)、含有半胱氨酸的间插连接体肽(连接体2:GGCGGG (SEQ ID NO:22))、含有半胱氨酸的异源二聚体促进(K-螺旋)结构域(KVAACKK-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (SEQ ID NO:26))和C-末端。

[0360] DART-I的第二和第四多肽链的氨基酸序列是(SEQ ID NO:60):

[0361] EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGMSFMNWF QQKPGQPPKL LIHAASNQGS
GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQQSKEVPY TFGGGTKVEI KGGGSGGGGQ
VQLVQSGAEV KKPGASVKVS CKASGYTFTD YNMDWVRQAP GQGLEWMGDI NPDNGVTIYN
QKFEGRVTMT TDTSTSTAYM ELRSLRSDDT AVYYCAREAD YFYFDYWGQG TLLTVSSGGC
GGGKVAACKE KVAALKEKVA ALKEKVAALK E

[0362] DART-I的变体可易于通过并入可替代的VH/VL结构域、间插连接体、Fc结构域和/或通过引入一种或多种氨基酸替换、增加或删除生成。例如，工程化至减少/消除Fc γ R结合和/或ADCC活性且为了延长半衰期的变体IgG1 Fc结构域易于通过并入包括替换L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E (SEQ ID NO:19) 而不是SEQ ID NO:20的CH2和CH3结构域生成。这种变体的连接体3可包括IgG1铰链 (SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:35或SEQ ID NO:34)。在本发明的方法中可使用的另外连接体和PD-1 x LAG-3双特异性双抗体在WO2015/200119和WO 2017/019846中公开 (参见具体的“DART-A”、DART-B”、“DART-C”、“DART-D”、“DART-E”、“DART-F”和“DART-G”，其序列在表14中那里描述)。

[0363] 2. 另外PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3) 双特异性分子

[0364] 已经描述了在本发明的方法中可使用的其他PD-1 x LAG3双特异性分子, 并且其包括但不限于表5中呈现的那些和以下进一步描述的。

表 5 PD-1 x LAG-3 (或 PD-L1 x LAG-3) 双特异性分子	
名称	参考
PD-1 x LAG3 双特异性分子, 包括报导的序列编码的组合: 5 和 4、6 和 4、3 和 4、3 和 7、3 和 8、9 和 4、10 和 4、3 和 11、3 和 12	WO 2017/025498
[0365] PD-1 x LAG3 双特异性分子, 名称为: FS18-7-9/84G09、FS18-7-32/84G09、FS18-7-33/84G09、FS18-7-36/84G09、FS18-7-58/84G09、FS18-7-62/84G09、FS18-7-65/84G09、FS18-7-78/84G09、FS18-7-88/84G09、FS18-7-95/84G09	WO 2017/220569
PD-1 x LAG3 双特异性分子, 名称为 57E02x51A09-188001 mAbdAb 的; 和许多 PD-1 和 LAG-3 表位结合结构域	WO 2018/083087
PD-1 x LAG3 双特异性分子, 包括报导的序列编码的组合: 74 和 66、61 和 75、85 和 66、61 和 86、78 和 62、65 和 79、65 和 81、78 和 79、65 和 62、61 和 66、76 和 66、61 和 77、	WO 2018/134279

表 5 PD-1 x LAG-3 (或 PD-L1 x LAG-3) 双特异性分子	
名称	参考
80 和 62、65 和 81	
[0366] PD-1 x LAG3 双特异性分子, 名称为: 0799、0927、0222、0224、8970、8984、9010、8310、8311、1252、8312、8313、1088、0918、0725	WO 2018/185043
PD-1 x LAG3 双特异性分子, 名称为名称: A、B、C、E、F、G、H、I、J、K、L、M、N、O、P、Q、R、S、T、U	WO 2018/217940
PD-1 x LAG3 双特异性分子, 名称为: 18ASS、90ASU、33ARK	WO 2019/148412

[0367] WO 2017/025498和WO 2018/134279中描述了PD-1 x LAG3双特异性抗体-脂钙蛋白突变蛋白融合蛋白。这种抗体-脂钙蛋白突变蛋白融合蛋白的示例包括具有工程化为结合LAG-3的基因融合至重链的C-末端的脂钙蛋白突变蛋白的抗PD-1抗体。

[0368] WO 2018/083087中描述了PD-1 x LAG-3双特异性抗体-结构域抗体 (抗体-dAb) 融

合蛋白。这种抗体-dAb融合蛋白的示例包括具有基因融合至重链的C-末端的抗PD-1dAb的抗LAG-3抗体。WO 2018/185043中描述了包括CH1/Ck结构域交换(单独与VH/VL交换组合)和/或CH1/CL界面的带电的氨基酸替换的PD-1 x LAG-3双特异性抗体。这种双特异性抗体的示例包括四多肽链抗体,其具有一个PD-1-结合结构域和一个LAG-3-结合结构域(1+1抗体)包括交叉Fab(与VH/VL结构域交换),和具有三条不同多肽链的三多肽链抗体,两个PD-1-结合结构域和两个LAG-3-结合结构域(2+2抗体)包含两个在CH1/CK中具有突变的Fab结构域和两个在每条重链的C-末端处融合交叉Fab结构域。

[0369] WO 2018/217944和WO 2018/217940中描述了具有三条多肽链Fab x scFvFc结构或两条多肽链scFvFc x scFvFc结构的PD-1 x LAG-3双特异性抗体。这种双特异性抗体的示例包括与抗LAG3 scFvFc孔配对的抗PD1 scFvFc和与抗LAG3半IgG配对的抗PD1 scFvFc(重链+轻链)。

[0370] 具体地考虑了,本文呈现的PD-1 x LAG-3双特异性分子和PD-L1 x LAG-3双特异性分子可直接使用在本发明的方法中。可生成可替代的PD-1 x LAG-3双特异性分子和PD-L1 x LAG-3双特异性分子,其包括本文提供的任何PD-1、PD-L1和LAG-3-结合分子的6个CDR(或VL和VH结构域)(参见,例如,SEQ ID NOS:35-58,和表1-5)。

[0371] III. 结合至TA的基于抗体的分子

[0372] 按照本发明可使用的免疫特异性结合至肿瘤抗原(TA)的基于抗体的分子(即,TA-结合分子)将包括至少一种免疫特异性结合这种TA的表位的表位-结合结构域(TA-结合结构域)。

[0373] 在某些实施方式中,本发明考虑了包括TA-结合结构域的基于抗体的分子,其进一步包括Fc结构域。在一个实施方式中,TA-结合分子的Fc结构域是野生型IgG1、IgG2、IgG3或IgG4Fc结构域。在另一实施方式中,TA分子的Fc结构域是ADCC-增强的Fc结构域。

[0374] 本发明还涵盖了包括Fc结构域的TA-结合分子,其中这种Fc结构域包括:

[0375] (a) 一种或多种增强ADCC的突变和/或修饰;和/或

[0376] (b) 一种或多种延长血清半衰期的突变。

[0377] 在一个实施方式中,TA-结合分子包括FcMT1 ADCC-增强的Fc结构域(SEQ ID NO:16)、FcMT2 ADCC-增强的Fc结构域(SEQ ID NO:17)或FcMT3 ADCC-增强的Fc结构域(SEQ ID NO:18)。

[0378] A. 肿瘤抗原

[0379] 本发明具体地考虑了包括或采用TA-结合分子和以下的组合物和方法:

[0380] (1) PD-1 x LAG-3双特异性分子;

[0381] (2) 单特异性PD-1-结合分子和单特异性LAG-3-结合分子;

[0382] (3) PD-L1 x LAG-3双特异性分子;或

[0383] (4) 单特异性PD-L1-结合分子和单特异性LAG-3-结合分子,

[0384] 其中这种单特异性结合分子是完整的抗体,并且这种双特异性分子是双抗体或双特异性抗体。在某些实施方式中TA-结合分子包括ADCC-增强的Fc结构域。

[0385] 可由这种TA-结合分子结合的肿瘤抗原包括但不限于表6A-6B中呈现的那些,并且本文通过常用名、短名和/或基因名称可提及。

[0386]

表 6A 肿瘤抗原		
蛋白质肿瘤抗原	基因名称	UniProtKB ID No.
α -N-乙酰半乳糖胺 α -2,6-唾液酸转移酶 6	ST6GALNAC6; CA19-9	Q969X2
5,6-二羟基吲哚-2-羧酸羧酸氧化酶	TYRP1、gp75	P17643
启动的白细胞细胞黏附分子	ALCAM、CD166	Q13740
α -1,4-N-乙酰葡萄糖氨基转移酶	A4GNT	Q9UNA3
B 黑素瘤抗原 1	BAGE、CT2.1	Q13072
Basigin	BSG、CD147	P35613
B-细胞抗原受体复合物-缔合的蛋白质 α 链	CD79A	P11912
B-细胞抗原受体复合物-缔合的蛋白质 β 链	CD79B	P40259
B-细胞受体 CD22	BL-CAM、CD22	P20273
B-淋巴细胞抗原 CD19	CD19	P15391
B-淋巴细胞抗原 CD20	MS4A1、CD20	P11836
骨髓基质抗原 2	BST2、CD317	Q10589
campath-1 抗原	CD52	P31358
脱水酶碳酸酐酶 14	CA14	Q9ULX7
羧肽酶 M	CPM	P14384
胚胎抗原-相关的细胞黏附分子 5	CEACAM5、CD66e	P06731
胚胎抗原-相关的细胞黏附分子 6	CEACAM6、CD66c	P40199
连环蛋白 β -1	CTNNB1、 β -连环蛋白	P35222
CD27 抗原	CD27	P26842
CD276 抗原	CD276、B7-H3	Q5ZPR3
CD40 配体	CD40LG、CD154	P29965
细胞-表面 A33 抗原	GPA33	Q99795
软骨蛋白硫酸硫酸软骨素蛋白聚糖 4	CSPG4	Q6UVK1

[0387]

表 6A 肿瘤抗原		
蛋白质肿瘤抗原	基因名称	UniProtKB ID No.
C 型凝集素结构域家族成员 4 C	CLEC4C、BDCA2、CD303	Q8WTT0
周期蛋白依赖性激酶 4	CDK4	P11802
细胞毒素 T-淋巴细胞蛋白质 4	CTLA4	P16410
含有解聚素和金属蛋白酶结构域的蛋白质 9	ADAM-9	Q13443
肝配蛋白 A 型受体 2	EPHA2	P29317
表皮生长因子受体	EGFR、ERBB1、HER1	P00533
上皮细胞黏附分子	EPCAM、CD326	P16422
G 抗原 1	GAGE1、CT4.1	Q13065
G 抗原 2A	GAGE2A	Q6NT46
G 抗原 2B/C	GAGE2B	Q13066
G 抗原 2D	GAGE2D	Q9UEU5
G 抗原 2E	GAGE2E	Q4V326
G2/有丝分裂-特异性周期蛋白-B1	CCNB1	P14635
GDP-L-岩藻糖合酶	TSTA3	Q13630
谷氨酸羧肽酶 2	FOLH1、PSMA	Q04609
透明质酸酶-2	HYLA2、LUCA2	Q12891
失活的酪氨酸-蛋白激酶跨膜受体 ROR1	ROR1、NTRKR1	Q01973
整联蛋白 α -E	ITGAE、CD103	P38570
整联蛋白 β -6	ITGB6	P18564
白细胞介素-13 受体亚单位 α -2 (CD123、 白细胞介素-3 受体的亚单位)	IL13RA2、CD213a2	Q14627
白细胞介素-2 受体亚单位 α	IL2RA: CD25	P01589
连接黏附分子 C	JAM3	Q9BX67
角质, II 型细胞骨架 8	CK-8、KRT8	P05787
乳凝集素	MFGE8	Q08431
低亲和力免疫球蛋白 ϵ Fc 受体	FCER2、CD23	P06734
黑素细胞蛋白质 PMEL	PMEL、gp100	P40967
由 T-细胞 1 识别的黑素瘤抗原	MLANA、MART1	Q16655
黑素瘤-缔合的抗原 1	MAGEA1、MAGE1	P43355
黑素瘤-缔合的抗原 3	MAGEA3、MAGE3	P43357
黑素转铁蛋白	MELTF、MAAp97、CD228	P08582
膜辅助因子蛋白质	CD46	P15529
间皮蛋白	MSLN	Q13421
黏蛋白-1	MUC1、PEM	P15941
黏蛋白-16	MUC16、CA-125	Q8WX17
髓样细胞-表面抗原 CD33	CD33	P20138
神经细胞黏附分子 1	NCAM1、CD56	P13591
致癌蛋白-M	OSM	P13725
致癌蛋白-M-具体的受体特异性受体亚单位 β	OSMR、IL31RB	Q99650

[0388]

表 6A 肿瘤抗原		
蛋白质肿瘤抗原	基因名称	UniProtKB ID No.
血小板糖蛋白 4	CD36	P16671
程序设计细胞死亡 1 配体 1	CD274	Q9NZQ7
鞘脂启动蛋白原受体 GPR37	GPR37	O15354
前列腺-特异性抗原	KLK3、PSA	P07288
前列腺酸性磷酸酶	ACPP	P15309
蛋白质 PML	PML、TRIM19、Myl	P29590
含有 PWWP 结构域的 DNA 修复因子 3A	PWWP3A、MUM1	Q2TAK8
受体酪氨酸-蛋白激酶 erbB-2	ERBB2、HER2、CD340	P04626
受体酪氨酸-蛋白激酶 erbB-3	ERBB3、HER3	P21860
受体酪氨酸-蛋白激酶 erbB-4	ERBB4、HER4	Q15303
受体型酪氨酸-蛋白质磷酸酶 C	PTPRC、CD45	P08575
T-细胞表面糖蛋白 CD5	CD5	P06127
T-细胞-特异性表面糖蛋白 CD28	CD28	P10747
运铁蛋白受体蛋白质 1	TFRC、CD71	P02786
跨膜 4 L6 家族成员 1	TM4SF1、TAAL6	P30408
滋养层糖蛋白	TPBG、5T4	Q13641
肿瘤坏死因数受体超级家族成员 10B	TNFRSF10B、DR5、CD262	O14763
肿瘤坏死因数受体超级家族成员 1A	TNFRSF1A、TNFR1、 CD120a	P19438
肿瘤坏死因数受体超级家族成员 1B	TNFRSF1B、TNFR2、 CD120b	P20333
肿瘤坏死因数受体超级家族成员 3	LTBR、TNFR3	P36941
肿瘤坏死因数受体超级家族成员 5	CD40	P25942
肿瘤坏死因数受体超级家族成员 6	TNFR6、Apo-1、Fas、CD95	P25445
泛素-共轭酶 E2 K	UBE2K	P61086
泛素-蛋白质连接酶 E3A	UBE3A	Q05086
血管内皮生长因子 A	VEGFA	P15692
血管内皮生长因子 B	VEGFB	P49765
血管内皮生长因子受体 1	FLT1、VEGFR1	P17948
血管内皮生长因子受体 2	KDR、VEGFR2、CD309	P35968
血管内皮生长因子受体 3	FLT4、VEGFR3	P35916
锌指蛋白质 354C	ZNF354C、KID3	Q86Y25

[0389]

表 6B 肿瘤抗原	
肿瘤抗原	引证
3-岩藻糖基-N-乙酰氨基乳糖	Gooi, H.C. (1983), "Marker Of Peripheral Blood Granulocytes And Monocytes Of Man Recognized By Two Monoclonal Antibodies VEP8 And VEP9 Involves The Trisaccharide 3-Fucosyl-N-Acetylactosamine," Eur. J. Immuno. 13(4):306-12.
血液 A 组抗原	Gooi, H.C.,等(1983) "Monoclonal Antibody Reactive With The

表 6B 肿瘤抗原	
肿瘤抗原	引证
	<i>Human Epidermal Growth Factor Receptor Recognizes The Blood Group A Antigen,</i> ” Biosci. Rep. 3(11):1045-52.
双岩藻糖基 1 型链(Aleb) 双岩藻糖基 2 型链(ALey)	Dohi, T.等(1989) “ <i>Immunohistochemical Study Of Carbohydrate Antigen Expression In Gastric Carcinoma,</i> ” Gastroenterol Jpn. 24(3): 239-45; Yazawa, S.等(1993), “ <i>Aberrant alpha1 →2 Fucosyltransferases Found in Human Colorectal Carcinoma Involved in the Accumulation of Leb and Y Antigens in Colorectal Tumors,</i> ” Jpn. J. Cancer Res. 84:989-995
[0390] 神经节苷脂抗原 4.2	Nudelman, E.等(1982) “ <i>Characterization Of A Human Melanoma-Associated Ganglioside Antigen Defined By Monoclonal Antibody, 4.2,</i> ” J. Biol. Chem. 257(21): 12752-6.
神经节苷脂抗原 D1.1	Levine, J.M.,等(1984) “ <i>The D1.1 Antigen: A Cell-Surface Marker For Germinal Cells Of The Central Nervous System,</i> ” J. Neurosci. 4(3):820-31.
神经节苷脂 GD2/GD3/GM2/GM3	Krengel, U. and Bousquet P.A. (2014), “ <i>Molecular Recognition of Gangliosides and Their Potential for Cancer Immunotherapies,</i> ” Front. Immuno. 5(325):1-11.
乳糖神经酰胺	Symington, F.W. (1984) “ <i>Monoclonal Antibody Specific for Lactosylceramide,</i> ” J. Biol. Chem. 259(9):6008-6012.
Rh 抗原(D、C、c、E 或 e)	Avent, N.D. and Reid, M.E. (2000) “ <i>The Rh Blood Group System: A Review,</i> ” Blood 95:375-387.
唾液酸化-Tn	Holmberg, L.A. (2001) “ <i>Theratope Vaccine (STn-KLH),</i> ” Expert Opin. Biol. Ther. 1(5):881-91.

[0391] B.TA-结合结构域和分子

[0392] 许多TA-结合分子是本领域已知的或可使用包括本文描述的那些的熟知的方法生成。TA-结合分子可以是单特异性或双特异性。因此代表性TA-结合分子包括TA-结合结构域,并且其序列或多肽链可在本发明的TA-结合分子的构建中采用,或用作本发明的TA-结合分子(例如,ADCC-增强TA-结合分子),是表7中列出的。以下呈现了几种TA-结合分子的CDR、VH和VL结构域。

表 7 TA-结合分子		
抗体名称	肿瘤抗原	治疗性靶应用
阿巴伏单抗 (Abagovomab)	CA-125	卵巢癌
[0393] 阿德木单抗 (Adecatumumab)	Epcam	前列腺和乳腺癌
阿托珠单抗 (Afutuzumab)	CD20	淋巴瘤
阿珠单抗 (Alacizumab)	VEGFR2	癌症
阿妥莫单抗 (Altumomab)	CEA	结直肠癌

表 7
TA-结合分子

抗体名称	肿瘤抗原	治疗性靶应用
阿麦妥单抗 (Amatuximab)	间皮蛋白	癌症
麻安莫单抗 (Anatumomab Mafenatox)	TAG-72	非小细胞肺癌
阿尼鲁单抗 (Anifrolumab)	干扰素 A/B 受体	系统性红斑狼疮
安卢珠单抗 (Anrukizumab)	IL-13	癌症
阿泊珠单抗 (Apolizumab)	HLA-DR	血液癌症
阿西莫单抗 (Arcitumomab)	CEA	胃肠癌症肠道癌症
阿替奴单抗 (Atinumab)	RTN4	癌症
贝妥莫单抗 (Bectumomab)	CD22	非霍奇金淋巴瘤(检测)
贝利木单抗 (Belimumab)	BAFF	非霍奇金淋巴瘤
贝伐珠单抗 (Bevacizumab)	VEGF-A	转移癌, 早产儿视网膜病
比伐珠单抗 (Bivatuzumab)	CD44 V6	鳞状细胞癌
兰妥莫单抗 (Blinatumomab)	CD19	癌症
维布妥昔单抗 (Brentuximab)	CD30 (TNFRSF8)	血液学癌症
坎妥珠单抗 (Cantuzumab)	MUC1	癌症
玛托-阿那妥莫单抗 (Cantuzumab Mertansine)	黏蛋白 Canag	结直肠癌
卡普赛珠单抗 (Caplacizumab)	VWF	癌症
卡罗单抗 (Capromab)	前列腺癌细胞	前列腺癌(检测)
卡芦单抗 (Carlumab)	MCP-1	肿瘤学/免疫指征
卡妥索单抗 (Catumaxomab)	Epcam, CD3	卵巢癌、恶性的腹水、胃癌
西妥昔单抗 (Cetuximab)	EGFR	转移结直肠癌和头颈癌
西他妥珠单抗 (Citatumab)	Epcam	卵巢癌和其他实体肿瘤
西妥木单抗 (Cixutumumab)	IGF-1 受体	实体肿瘤

[0394]

表 7
TA-结合分子

抗体名称	肿瘤抗原	治疗性靶应用
克立瓦妥珠单抗 (Clivatuzumab)	MUC1	胰腺癌
可那木单抗 (Conatumumab)	TRAIL-R2	癌症
达西珠单抗 (Dacetuzumab)	CD40	血液学癌症
达洛妥珠单抗 (Dalotuzumab)	胰岛素样生长因子 I 受体	癌症
达妥木单抗 (Daratumumab)	CD38	癌症
登西珠单抗 (Demcizumab)	DLL4	癌症
马德尼妥组单抗 (Denintuzumab)	CD19	急性淋巴细胞白血病和 B-细胞非霍 奇金淋巴瘤
地莫单抗 (Detumomab)	B-淋巴瘤细胞	淋巴瘤
卓齐妥单抗 (Droazitumab)	DR5	癌症
度利戈妥单抗 (Duligotumab)	HER3	癌症
杜氏图单抗 (Dusigitumab)	ILGF2	癌症
依美昔单抗 (Ecromeximab)	GD3 神经节苷脂	恶性的黑素瘤
依决洛单抗 (Edrecolomab)	Epcam	结直肠癌
依洛珠单抗 (Elotuzumab)	SLAMF7	多发性骨髓瘤
艾西莫单抗 (Elsilimomab)	IL-6	癌症
依纳妥珠单抗 (Enavatuzumab)	TWEAK 受体	癌症
恩莫单抗 (Enlimomab)	ICAM-1 (CD54)	癌症
依诺苏单抗 (Enoticumab)	DLL4	癌症
恩妥昔单抗 (Ensituximab)	5AC	癌症
西依匹莫单抗 (Epitumomab Cituxetan)	上皮唾蛋白	癌症
依帕珠单抗 (Epratuzumab)	CD22	癌症, SLE
厄马索单抗 (Ertumaxomab)	HER2, CD3	乳腺癌

[0395]

表 7
TA-结合分子

抗体名称	肿瘤抗原	治疗性靶应用
埃达珠单抗 (Etaracizumab)	整联蛋白 $A_{\alpha}\beta_3$	黑素瘤, 前列腺癌, 卵巢癌
法拉莫单抗 (Faralimomab)	干扰素受体	癌症
法勒珠单抗 (Farletuzumab)	叶酸受体 1	卵巢癌
法西奴单抗 (Fasinumab)	HNGF	癌症
Fbta05 (Bi20) (Fbta05 (Bi20))	CD20	慢性淋巴细胞白血病
非拉妥组单抗 (Ficlatuzumab)	HGF	癌症
芬妥木单抗 (Figitumumab)	IGF-1 受体	肾上腺皮质癌, 非小细胞肺癌
夫兰妥单抗 (Flanvotumab)	TYRP1 (糖蛋白 75)	黑素瘤
伏妥珠单抗 (Flotetuzumab)	CD123	急性髓样白血病
瑞索利木单抗 (Fresolimumab)	TGF-B	癌症
伏妥昔单抗 (Futuximab)	EGFR	癌症
加利昔单抗 (Galiximab)	CD80	B-细胞淋巴瘤
甘尼妥单抗 (Ganitumab)	IGF-I	癌症
吉妥单抗奥佐米星 (Gemtuzumab Ozogamicin)	CD33	急性骨髓性白血病
吉妥昔单抗 (Girentuximab)	碳酸酐酶 9 (CA-IX)	透明细胞肾细胞癌
格莱木单抗维多汀 (Glembatumumab Vedotin)	GPNMB	黑素瘤, 乳腺癌
替伊莫单抗 (Ibritumomab Tiuxetan)	CD20	非霍奇金淋巴瘤
艾芦库单抗 (Icrucumab)	VEGFR-1	癌症
英加妥珠单抗 (Imgatuzumab)	EGFR	癌症
英拉苏单抗 (Inclacumab)	选择素 P	癌症
雷英妥昔单抗 (Indatuximab Ravtansine)	SDC1	癌症
伊珠单抗奥佐米星 (Inotuzumab Ozogamicin)	CD22	癌症

[0396]

表 7
TA-结合分子

抗体名称	肿瘤抗原	治疗性靶应用
英妥木单抗 (Intetumumab)	CD51	实体肿瘤 (前列腺癌、黑素瘤)
伊匹木单抗 (Ipilimumab)	CD152	黑素瘤
伊妥木单抗 (Iratumumab)	CD30 (TNFRSF8)	霍奇金淋巴瘤
伊曲珠单抗 (Itolizumab)	CD6	癌症
拉贝珠单抗 (Labetuzumab)	CEA	结直肠癌
兰帕利珠单抗 (Lampalizumab)	CFD	癌症
来金珠单抗 (Lebrikizumab)	Il-13	霍奇金淋巴瘤
来沙木单抗 (Lexatumumab)	TRAIL-R2	癌症
利格利珠单抗 (Ligelizumab)	IGHE	癌症
林妥株单抗 (Lintuzumab)	CD33	癌症
利瑞鲁单抗 (Lirilumab)	KIR2D	癌症
洛妥珠单抗 (Lorvotuzumab)	CD56	癌症
鲁卡木单抗 (Lucatumumab)	CD40	多发性骨髓瘤, 非霍奇金淋巴瘤, 霍奇金淋巴瘤
鲁米昔单抗 (Lumiliximab)	CD23	慢性淋巴细胞白血病
马帕木单抗 (Mapatumumab)	TRAIL-R1	癌症
马妥珠单抗 (Matuzumab)	EGFR	结直肠癌、肺癌和胃癌
米拉珠单抗 (Milatuzumab)	CD74	多发性骨髓瘤和其他血液学恶性肿瘤
明瑞莫单抗 (Minretumomab)	TAG-72	癌症
克米佐妥单抗 (Mirzotamab clezutoclax)	B7-H3	癌症
米妥莫单抗 (Mitumomab)	GD3 神经节苷脂	小细胞肺癌
莫加木珠单抗 (Mogamulizumab)	CCR4	癌症
莫罗木单抗 (Morolimumab)	猕猴因子	癌症

[0397]

表 7
TA-结合分子

抗体名称	肿瘤抗原	治疗性靶应用
帕舒托-莫塞妥莫单抗 (Moxetumomab Pasudotox)	CD22	癌症
他那可单抗 (Nacolomab Tafenatox)	C242 抗原	结直肠癌
那米鲁单抗 (Namilumab)	CSF2	癌症
他那莫单抗 (Naptumomab Estafenatox)	5T4	非小细胞肺癌、肾细胞癌
纳那妥单抗 (Narnatumab)	RON	癌症
那昔妥单抗 (Naxitamab)	GD2	成神经细胞瘤、骨肉瘤
奈昔妥木单抗 (Necitumumab)	EGFR	非小细胞肺癌
奈瑞莫单抗 (Nerelimomab)	TNF-A	癌症
耐斯伐库单抗 (Nesvacumab)	血管生成素 2	癌症
尼妥珠单抗 (Nimotuzumab)	EGFR	鳞状细胞癌、头颈癌、鼻咽癌、神经胶质瘤
莫坦-诺非妥莫单抗 (Nofetumomab Merpentan)	未确定的	癌症
奥卡拉妥珠单抗 (Ocaratuzumab)	CD20	癌症
奥法妥木单抗 (Ofatumumab)	CD20	慢性淋巴细胞性白血病
奥拉妥单抗 (Olaratumab)	PDGF-R A	癌症
奥洛珠单抗 (Olokizumab)	IL6	癌症
奥博妥单抗 (Omburtamab)	B7-H3	成神经细胞瘤、肉瘤、转移脑癌
奥纳妥珠单抗 (Onartuzumab)	人散射因子受体激酶	癌症
昂妥昔珠单抗 (Ontuxizumab)	TEM1	癌症
莫奥珠单抗 (Oportuzumab Monatox)	Epcam	癌症
奥戈伏单抗 (Oregovomab)	CA-125	卵巢癌
奥替库单抗 (Orticumab)	Oxldl	癌症
奥乐妥珠单抗 (Otlertuzumab)	CD37	癌症

[0398]

表 7
TA-结合分子

抗体名称	肿瘤抗原	治疗性靶应用
帕尼单抗 (Panitumumab)	EGFR	结直肠癌
帕尼库单抗 (Pankomab)	MUC1 的肿瘤特异性糖基化	卵巢癌
巴萨妥珠单抗 (Parsatuzumab)	EGFL7	癌症
帕曲妥单抗 (Patritumab)	HER3	癌症
培妥莫单抗 (Pemtumomab)	MUC1	癌症
培拉珠单抗 (Perakizumab)	IL17A	关节炎
培妥珠单抗 (Pertuzumab)	HER2	癌症
皮那妥珠单抗维多汀 (Pinatuzumab Vedotin)	CD22	癌症
平妥莫单抗 (Pintumomab)	腺癌抗原	腺癌
普拉库鲁单抗 (Placulumab)	人 TNF	癌症
泊拉妥珠单抗维多汀 (Polatuzumab Vedotin)	CD79B	癌症
普立托昔单抗 (Pritoxaximab)	大肠杆菌志贺氏毒素类型-1	癌症
普立妥木单抗 (Pritumumab)	波形蛋白	脑癌
奎利珠单抗 (Quilizumab)	IGHE	癌症
雷妥莫单抗 (Racotumomab)	N-羟乙酰神经氨糖酸	癌症
雷得妥单抗 (Radretumab)	纤连蛋白额外结构域-B	癌症
雷莫芦单抗 (Ramucirumab)	VEGFR2	实体肿瘤
利妥木单抗 (Rilotumumab)	HGF	实体肿瘤
利妥昔单抗 (Rituximab)	CD20	淋巴瘤、白血病、一些自身免疫性疾病
罗妥木单抗 (Robatumumab)	IGF-1 受体	癌症
罗度单抗 (Roledumab)	RHD	癌症
沙马珠单抗	CD200	癌症

[0399]

表 7
TA-结合分子

抗体名称	肿瘤抗原	治疗性靶应用
(Samalizumab)		
沙妥莫单抗喷地肽 (Satumomab Pendetide)	TAG-72	癌症
司里班妥单抗 (Scribantumab)	ERBB3	癌症
西罗珠单抗 (Sibrotuzumab)	FAP	癌症
司妥昔单抗 (Siltuximab)	IL-6	癌症
索利托单抗 (Solitomab)	Epcam	癌症
松妥珠单抗 (Sontuzumab)	上皮唾蛋白	癌症
他巴鲁单抗 (Tabalumab)	BAFF	B-细胞癌症
替他珠单抗 (Tacatuzumab Tetraxetan)	甲胎蛋白	癌症
帕他莫单抗 (Taplutumomab Paptox)	CD19	癌症
阿替莫单抗 (Telimomab)	未确定的	癌症
替妥莫单抗 (Tenatumomab)	腱生蛋白 C	癌症
替奈昔单抗 (Teneliximab)	CD40	癌症
替妥木单抗 (Teprotumumab)	CD221	血液肿瘤
替昔木单抗 (Ticilimumab)	CTLA-4	癌症
替加珠单抗 (Tigatuzumab)	TRAIL-R2	癌症
托西莫单抗 (Tositumomab)	CD20	滤泡淋巴瘤
托维妥单抗 (Tovetumab)	CD140a	癌症
曲妥珠单抗 (Trastuzumab)	HER2	乳腺癌
Trbs07 (Ektomab)	Gd2	黑素瘤
曲美木单抗 (Tremelimumab)	CTLA-4	癌症
西莫白介素单抗 (Tucotuzumab Celmoleukin)	Epcam	癌症
优利妥昔单抗 (Ublituximab)	MS4A1	癌症

[0400]

抗体名称	肿瘤抗原	治疗性靶应用
乌瑞鲁单抗 (Urelumab)	4-1BB	癌症
伐妥昔单抗 (Vadastuximab)	CD33	急性髓样白血病
万替妥单抗 (Vantictumab)	卷曲受体	癌症
伐利昔单抗 (Vapaliximab)	AOC3 (VAP-1)	癌症
伐特珠单抗 (Vatelizumab)	ITGA2	癌症
维妥珠单抗 (Veltuzumab)	CD20	非霍奇金淋巴瘤
维森库单抗 (Vesencumab)	NRP1	癌症
伏洛昔单抗 (Volociximab)	整联蛋白 A5β1	实体肿瘤
伏司妥珠单抗 (Vorsetuzumab)	CD70	癌症
伏妥莫单抗 (Votumumab)	肿瘤抗原 CTAA16.88	结直肠肿瘤
扎芦木单抗 (Zalutumumab)	EGFR	头颈的鳞状细胞癌
扎妥昔单抗 (Zatuximab)	HER1	癌症
齐拉木单抗 (Ziralimumab)	CD147	癌症
佐妥昔单抗 (Zolbetuximab)	Cldn18.2	胃肠腺癌和胰腺肿瘤

[0401]

[0402] 在一个实施方式中,本发明涉及TA-结合分子,其包括表7中列出的任何TA-结合分子的CDR结构域(或VL和VH结构域)。在另外实施方式中,本发明使用表7中或如以下提供的任何TA-结合分子。在可替选的实施方式中,本发明涉及ADCC-增强TA-结合分子,其包括表7中列出的任何抗体的CDR结构域(或VL和VH结构域)。以下提供了ADCC-增强TA-结合分子的特别的示例。

[0403] 在某些实施方式中,TA-结合分子结合HER2 TA(“HER2-结合分子”)。在一个实施方式中,本发明的HER2-结合分子是抗HER2抗体。结合人HER2的抗体包括“马格妥昔单抗”、“曲妥珠单抗”和“培妥珠单抗”。马格妥昔单抗(也称为MGAH22;CAS注册号1350624-75-7,KEGG D10446,参见例如,美国专利号8,802,093)是结合HER2且介导增强ADCC活性的Fc-优化的单克隆抗体。以下提供了马格妥昔单抗的序列。曲妥珠单抗(也称为rhuMAB4D5,且作为HERCEPTIN®销售;CAS注册号180288-69-1;参见,美国专利号5,821,337)是具有IgG1/κ恒定区的人源化抗体。曲妥珠单抗的氨基酸序列见于关于恩特曲妥珠单抗(trastuzumab emtansine)的WHO药物信息,2011,推荐的INN:列表65,25(1):89-90中)。培妥珠单抗(也称为rhuMAB2C4,和且作为PERJETA™销售;CAS注册号380610-27-5;参见例如,PCT公开号WO 2001/000245)是具有IgG1/κ恒定区的另一人源化抗体。培妥珠单抗的Fab结构域的氨基酸

序列见于在蛋白质数据库收录号117i)中。抗体“8H11”是结合与由马格妥昔单抗、曲妥珠单抗和培妥珠单抗识别的表位不同的HER2的表位的鼠抗HER2单克隆抗体(PCT公开号WO 2001/036005)。描述了抗体8H11的人源化变体(标注“hHER2 MAB-1”(见例如,WO 2018/156740)且以下提供了代表性人源化的VH和VL结构域。除了以上-鉴定的HER2-结合分子外,本发明考虑了,任何以下HER2-结合分子的使用:1.44.1、1.140、1.43、1.14.1、1.100.1、1.96、1.18.1、1.20、1.39、1.24和1.71.3(美国专利号8,350,011;8,858,942和PCT公开号WO 2008/019290中公开的);F5和C1(美国专利号7,892,554、8,173,424、8,974,792和PCT公开号WO 99/55367中公开的);还有美国专利公开号2011/0097323、2013/017114、2014/0328836、2016/0130360和2016/0257761和PCT专利公开WO2011/147986的HER2-结合分子。

[0404] 在某些实施方式中,TA-结合分子结合B7-H3 TA(“B7-H3-结合分子”)。在一个实施方式中,本发明的B7-H3-结合分子是抗B7-H3抗体。结合人B7-H3的抗体包括“依诺妥珠单抗”和“奥博妥单抗”和“mirzotamab”。依诺妥珠单抗(也称为MGAH22;CAS注册号1350624-75-7、KEGG D11752,参见例如,美国专利号8,802,093)是结合HER2和介导增强ADCC活性的Fc-优化的单克隆抗体。以下提供了马格妥昔单抗的序列。奥博妥单抗(也称为8H9;CAS注册号1895083-75-6,参见例如,美国专利号7,737,258)是鼠单克隆抗体。奥博妥单抗的氨基酸序列见于WHO药物信息2018,建议的INN:列表119,32(2):339-340中)。8H9的人源化版本在WO 2016/033225中公开。Mirzotamab clezutoclax(也称为ABBV-155;CAS注册号2229859-12-3,参见例如WO 2017/214322)是具有IgG1/ κ 恒定区的人源化抗体。mirzotamab的氨基酸序列在WHO药物信息2019,建议的INN:列表121,33(2):294-6中发现)。除了以上-鉴定的B7-H3-结合分子,本发明考虑了,任何以下B7-H3-结合分子的使用:BRCA84D、BRCA69D和PRCA157(WO2011109400中公开的);L7、L8、L11、M30和M31(US2013/0078234中公开的),hmAb-C和B7-H3抗体hmAb-D(WO 2017/180813中公开的)。

[0405] C. ADCC增强的TA-结合分子

[0406] 本发明具体地考虑了包括或采用马格妥昔单抗和以下的组合物和方法:

[0407] (1) PD-1 x LAG-3双特异性分子;

[0408] (2) 单特异性PD-1-结合分子和单特异性LAG-3-结合分子;

[0409] (3) PD-L1 x LAG-3双特异性分子;或

[0410] (4) 单特异性PD-L1-结合分子和单特异性LAG-3-结合分子,

[0411] 其中这种单特异性结合分子是完整的抗体,且这种双特异性分子是双抗体或双特异性抗体。

[0412] 1. 马格妥昔单抗

[0413] 马格妥昔单抗包括变体人Fc结构域,其对CD16A受体展示出增加的亲和力。已经修饰抗体(IgG κ)的轻链(N65S;以下加双底线)以删除N-连接的糖基化位点。

[0414] 马格妥昔单抗的VL结构域具有SEQ ID NO:61的氨基酸序列:

[0415] DIVMTQSHKF MSTSVGDRVS ITCKASQDVN TAVAWYQQKP GHSPKLLIYS ASFRYTGVPD
RFTGSRSRGTD FTFTISSVQA EDLAVYYCQQ HYTTPPTFGG GTKVEIK

[0416] 马格妥昔单抗的VL结构域的CDR结构域是:

[0417] CDR_{L1} SEQ ID NO:62:KASQDVNTAVA

[0418] CDR_{L2} SEQ ID NO:63:SASFRYT和

[0419] CDR_L3 SEQ ID NO:64:QQHYTTPPT。

[0420] 马格妥昔单抗的轻链具有SEQ ID NO:65的氨基酸序列:

DIQMTQSHKF MSTSVGDRVS ITCKASQDVN TAVAWYQQKP GHSPKLLIYS ASFRYTGVDP
 RFTG**S**RSRGTD FTFTISSVQA EDLAVYYCQQ HYTTPPTFGG GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP
 [0421] SDEQLKSGTA SVVCLLNIFY BREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSLSTLT
 LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEK

[0422] 马格妥昔单抗的VH结构域具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列:

QVQLQQSGPE LVKPGASLKL SCTASGFNIK **DTYIH**WVKQR PEQGLEWIGR **IYPTNGYTRY**
 [0423] **DPKFQD**KATI TADTSSNTAY LQVSRITSED TAVYYCSR**WG** **G****DGFYAMDY**W GQGASVTVSS

[0424] 马格妥昔单抗的VH结构域的CDR结构域是:

[0425] CDR_H1 SEQ ID NO:67:DTYIH

[0426] CDR_H2 SEQ ID NO:68:RIYPTNGYTRYDPKFQD和

[0427] CDR_H3 SEQ ID NO:69WGGDGFYAMDY。

[0428] 包括FcMT2 ADCC-增强的Fc结构域(包括L235V、F243L、R292P、Y300L,和P396L替换;加底线的)的马格妥昔单抗的重链具有SEQ ID NO:70的氨基酸序列:

QVQLQQSGPE LVKPGASLKL SCTASGFNIK DTYIHWVKQR PEQGLEWIGR IYPTNGYTRY
 DPKFQDKATI TADTSSNTAY LQVSRITSED TAVYYCSRWG G**DGFYAMDY**W GQGASVTVSS
 ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFPAVLQSS
 [0429] GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDRVEP KSCDKTHTCP PCPAP**E**LVGG
 PSVFL**L**PPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSD HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKP**P**EEQYN
 ST**L**RVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE
 LTKNQVSLTLC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTT**P**LV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW
 QQGNVVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

[0430] 马格妥昔单抗的重链的变体包括FcMT1 ADCC-增强的Fc结构域(包括F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L替换;参见SEQ ID NO:16)。马格妥昔单抗的重链的另一变体包括FcMT3 ADCC-增强的Fc结构域(包括F243L、R292P和Y300L替换;参见SEQ ID NO:18)。

[0431] 本发明具体地考虑了包括或采用依诺妥珠单抗和以下的组合物和方法:

[0432] (1) PD-1 x LAG-3双特异性分子;

[0433] (2) 单特异性PD-1-结合分子和单特异性LAG-3-结合分子;

[0434] (3) PD-L1 x LAG-3双特异性分子;或

[0435] (4) 单特异性PD-L1-结合分子和单特异性LAG-3-结合分子,

[0436] 其中这种基于单特异性抗体的分子是完整的抗体,且这种基于双特异性抗体的分子是双抗体或双特异性抗体。

[0437] 2. 依诺妥珠单抗

[0438] 依诺妥珠单抗的VL结构域具有SEQ ID NO:71的氨基酸序列:

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT IT**KASQNV**D **T**NVAWYQQKP GKAPKALII**S** **AS**YR**YS**GVPS
 [0439] RFSG**S**SGSGTD FTLTISLQPEDFATYYC**QQ** **Y**NN**Y**P**F**TFGQ GTKLEIK

[0440] 依诺妥珠单抗的VL结构域的CDR结构域:

[0441] CDR_L1 SEQ ID NO:72:KASQNVDTNVA

[0442] CDR_L2 SEQ ID NO:73:SASYRYS和

[0443] CDR_L3 SEQ ID NO:74:QQYNNYPFT。

- [0444] 依诺妥珠单抗的轻链具有SEQ ID NO:75的氨基酸序列：
DIQLTQSPSF LSASVGDRTV ITCKASQNVN TNVAWYQQKP GKAPKALIYS ASYRYSRVPS
RFSGSGSGTD FTLTISSSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP
- [0445] SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSLSTLT
LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEK
- [0446] 依诺妥珠单抗的VH结构域具有SEQ ID NO:76的氨基酸序列：
EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY ISSDSSAIYY
ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCGRGR ENIYYGSRLD YWGQGTTVTV
- [0447] SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSV VTPVSSSLGT QTYICNVNHK PSNTKVDKRV
- [0448] 依诺妥珠单抗的VH结构域的CDR结构域是：
- [0449] CDR_{H1} SEQ ID NO:77:SFGMH
- [0450] CDR_{H2} SEQ ID NO:78:YISSDSSAIYYADTVKG和
- [0451] CDR_{H3} SEQ ID NO:79:GRENIIYGSRLDY
- [0452] 依诺妥珠单抗的重链包括FcMT2 ADCC-增强的Fc结构域(包括L235V、F243L、R292P、Y300L,和P396L替换;加底线的)且具有SEQ ID NO:80的氨基酸序列：
EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY ISSDSSAIYY
ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCGRGR ENIYYGSRLD YWGQGTTVTV
SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSV VTPVSSSLGT QTYICNVNHK PSNTKVDKRV EPKSCDKTHT CPPCPAPELV
GGPSVFLLPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPPEEQ
YNSTLRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR
EEMTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTP LVLDSDGSFF LYSKLTVDKS
RWQQGNVFSC SVMHEALHNN YTQKSLSLSP
GK
- [0453] [0454] 依诺妥珠单抗的重链的变体包括FcMT1 ADCC-增强的Fc结构域(包括F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L替换;参见SEQ ID NO:16)。依诺妥珠单抗的重链的另一变体包括FcMT3 ADCC-增强的Fc结构域(包括F243L、R292P和Y300L替换;参见SEQ ID NO:18)。
- [0455] 3. 其他ADCC-增强的Fc TA-结合分子
- [0456] 本发明具体地考虑了包括或采用ADCC-增强的TA-结合分子和以下的组合物和方法：
- [0457] (1) PD-1 x LAG-3双特异性分子；
- [0458] (2) 单特异性PD-1-结合分子和单特异性LAG-3-结合分子；
- [0459] (3) PD-L1 x LAG-3双特异性分子；或
- [0460] (4) 单特异性PD-L1-结合分子和单特异性LAG-3-结合分子，
- [0461] 其中这种单特异性结合分子是完整的抗体，且这种双特异性分子为双抗体或双特异性抗体。
- [0462] 在一个实施方式中，本发明涉及包括免疫特异性结合表6A-6B中列出的任何TA的TA-结合结构域的ADCC-增强的TA-结合分子。
- [0463] 在一个实施方式中，本发明涉及包括表7中列出的任何抗体的CDR结构域(或VL和VH结构域)的ADCC-增强的TA-结合分子。这种分子可包括如本文提供的或如本领域已知的

增强的ADCC-增强的Fc结构域。

[0464] 本发明具体地考虑包括或采用其他TA-结合分子的组合物和方法,其他TA-结合分子包括增强的ADCC-增强的Fc结构域,其包括但不限于:奥比妥单抗(KEGG D0932; Marcus,R.等(2017)“Obinutuzumab for the First-Line Treatment of Follicular Lymphoma,”N.Engl.J.Med.377(14):1331-1344) and BAT4306F(Yu,J.-C.等(2018)“Abstract 3823:Bat4306f,An Anti-CD20 Antibody Devoid Of Fucose Modification, Demonstrates Enhanced ADCC Effect And Potent In Vivo Efficacy,”Cancer Res.78:(13Supplement):3823),其是抗CD20抗体、amivantamab EGFR-cMET双特异性抗体(KEGG D11894;Yun等(2020)“Antitumor Activity of Amivantamab(JNJ-61186372),an EGFR-MET Bispecific Antibody,in Diverse Models of EGFR Exon 20Insertion-Driven NSCLC”Cancer Discovery DOI:10.1158/2159-8290.CD-20-0116)和tafasitamab(MOR208)(KEGG D11601;Kellner,C.等(2013)“The Fc-Engineered CD19 Antibody MOR208(Xmab5574)Induces Natural Killer Cell-Mediated Lysis Of Acute Lymphoblastic Leukemia Cells From Pediatric And Adult Patients,”Leukemia 27(7):1595-1598)和奥贝利单抗(KEGG D11496),其是抗CD19抗体。

[0465] IV.生产的方法

[0466] 本发明的基于抗体的分子可使用产生重组蛋白质的本领域已知的任何方法进行重组制备和表达。例如,可构建编码这种结合分子的多肽链的核酸,将其引入表达载体,且在合适的宿主细胞中表达。结合分子可在细菌细胞(例如,大肠杆菌细胞)或真核细胞(例如,CHO、293E、COS、NS0细胞)中重组产生。另外,结合分子可在酵母细胞比如毕赤酵母属或酵母菌属中表达。

[0467] 为了产生本发明的基于抗体的分子,可构建编码分子的一种或多种多核苷酸,将其引入表达载体,并且然后在合适的宿主细胞中表达。标准分子生物学技术用于制备重组表达载体、转染宿主细胞、转化株的选择、培养宿主细胞和回收分子(参见,例如,Green,M.R等(2012),MOLECULAR CLONING,A LABORATORY MANUAL,4th Ed.,Cold Spring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor,NY and Ausubel等,eds.,(1998,)CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY,John Wiley&Sons,NY中描述的技术)。表达载体应具有允许载体在宿主细胞中复制的特征。载体还应具有对在宿主细胞中表达必要的启动子和信号序列。这种序列是本领域熟知的。除了编码这种结合分子的核酸序列外,重组表达载体可携带另外序列,比如调节宿主细胞中载体的复制的序列(例如,复制的起源)和可选择的标记基因。可采用的另一方法是在植物(例如,烟草)或转基因动物中表达基因序列。已经公开了用于在植物或奶(milk)中重组表达这种结合分子的合适的方法(参见,例如,Peeters等(2001)(2001)“Production Of Antibodies And Antibody Fragments In Plants,”Vaccine 19:2756;U.S.Patent No.5,849,992;和Pollock等(1999)“Transgenic Milk As A Method For The Production Of Recombinant Antibodies,”J.Immunol Methods 231:147-157)。

[0468] 一旦本发明的基于抗体的分子已经重组表达,其可通过用于多肽或多蛋白的纯化领域已知的任何方法从宿主细胞的内侧或外侧(比如从培养基)纯化。用于抗体纯化的常用的分离和纯化的方法(例如,基于抗原选择性的抗体纯化方案)可用于这种分子的分离和纯化,并且不限于任何特别的方法。例如,通过示例,柱色谱、过滤、超滤,盐析、溶剂沉淀、溶剂

提取、蒸馏、免疫沉淀、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳、等电点聚焦、透析和重结晶。色谱包括,例如,离子交换,亲和力,特别地通过特异性抗原(任选地在基于抗体的分子包括Fc区或其蛋白质A结合部分的情况下蛋白质A选择后)的亲和力、分级柱色谱、疏水性、凝胶过滤、逆相和吸附(Marshak等(1996) STRATEGIES FOR PROTEIN PURIFICATION AND CHARACTERIZATION: A LABORATORY COURSE MANUAL. (Eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY)。

[0469] V. 药物组合物

[0470] 本发明的基于抗体的分子,例如结合TA(任选地包括ADCC-增强的Fc结构域)的抗体、结合PD-1的抗体、结合PD-L1的抗体、结合LAG-3的抗体、PD-1 x LAG-3双特异性分子或PD-L1x LAG-3双特异性分子,可被配制作作为组合物。本发明的组合物包括用在制造用于治疗癌症或其他疾病和病况的适于施用给受试者(例如,人患者或其他哺乳动物)的药物组合物中的散装药物组合物(例如,不纯的或非无菌组合物)。这种药物组合物包括一种或多种基于抗体的分子(例如,结合TA(任选地包括ADCC-增强的Fc结构域)的抗体、结合PD-1的抗体、结合PD-L1的抗体、结合LAG-3的抗体、PD-1 x LAG-3双特异性分子或PD-L1 x LAG-3双特异性分子)和一种或多种药学上可接受的载体,并且可任选地包括一种或多种另外治疗剂。药物组合物可以以例如,如特别地适合于与这种药学上可接受的载体重构或与这种载体重构的水性溶液、干燥的冻干粉或无水的浓缩物供应。

[0471] 如本文使用的,术语“药学上可接受的载体”表示由美国联邦或州政府监管机构批准的或美国药典或其他公认的药典列出的作为适合于施用给动物,且更特别地施用给人的稀释剂、溶剂、分散介质、抗菌剂和抗真菌剂、赋形剂或媒介物。这种药学载体可以是无菌液体,比如水和油,包括石油、动物、蔬菜或合成起源的那些。也可采用盐溶液和水性右旋糖和甘油溶液作为液体载体,特别地用于可注射的溶液。如果需要,组合物也可含有少量的湿润剂或乳化剂,或pH缓冲剂。这些组合物可采用溶液、悬浮液、乳液、片剂、丸剂、胶囊、粉末、缓释制剂等的形式。

[0472] 一般而言,本发明的组合物成分以剂量形式单独或混合在一起供应,例如,在指示活性剂的量的不透气密封的容器比如小瓶、安瓿或药囊中以干燥的冻干粉或无水浓缩物或以水性溶液。其中组合物通过输注施用,其可用输注含有无菌制药级水或生理盐水的瓶子分装。组合物通过注射施用时,可提供用于注射的无菌水的安瓿、生理盐水或其他稀释剂以便施用之前可混合成分。

[0473] VI. 药物试剂盒

[0474] 本发明还提供了药物试剂盒,其包括含有本发明的药物组合物和指导材料(例如,注意事项、包装插页、说明书等)的一种或多种容器。另外,对治疗疾病有用的一种或多种其他预防剂或治疗剂也可包括在药物试剂盒中。这种药物试剂盒的容器可,例如包括一种或多种指示其中含有活性剂的量的不透气密封的小瓶、安瓿、小袋等。通过输注施用的组合物时,容器可以是含有无菌制药级溶液(例如,水、生理盐水、缓冲液等)的输注瓶、袋等。通过注射施用的组合物时,药物试剂盒可含有用于注射的无菌水、生理盐水或其他稀释剂的安瓿,以便促进混合施用给受试者(例如,人患者或其他哺乳动物)的药物试剂盒的组分。

[0475] 在一个实施方式中,这种试剂盒的药物组合物在不透气密封的容器中以干燥灭菌冻干粉或无水浓缩物供应并且其可以,例如,用水、生理盐水或其他稀释剂重构至施用给受

试者的合适的浓度。在另一实施方式中,这种试剂盒的药物组合物在不透气的密封容器以水性溶液供应和可以,例如,用水,生理盐水或其他稀释剂稀释至施用给受试者的合适的浓度。试剂盒可进一步在一种或多种容器中包括对治疗癌症有用的一种或多种其他预防剂和/或治疗剂;和/或试剂盒可进一步包括结合一种或多种与癌症相关的癌症抗原的一种或多种细胞毒素抗体。在某些实施方式中,其他预防剂或治疗剂是化疗剂。在其他实施方式中,预防剂或治疗剂是生物或激素治疗剂。

[0476] 本发明的药物试剂盒中包括的指导材料可以是,例如,由管理药物制剂或生物产品的制造、使用或销售的政府机关规定的内容和格式,并且可指示由机关批准制造、销售或使用用于人施用和/或用于人疗法的药物组合物。指导材料可,例如提供关于药物组合物的含有剂量、如何施用其的方法等的信息。

[0477] 因此,例如,本发明的药物试剂盒包括的指导材料可指导所提供的药物组合物与在相同的药物试剂盒中或在分开的药物试剂盒中可提供的另外试剂组合施用。这种指导材料可指导约每2周一次、约每3周一次或通常更多或更少施用所提供的药物组合物。这种指导材料可指导所提供的药物组合物包括,或被重构/稀释至施用约120mg,约300mg、约400mg、约420mg、约600mg、约800mg或约840mg或更多的固定剂量,或施用约2mg/kg、约4mg/kg、约6mg/kg、约8mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg、约18mg/kg或更多的基于体重的剂量。这种指导材料可指导所提供的药物组合物包括,或被重构/稀释至包括,单剂量或大于一个剂量(例如,2个剂量、4个剂量、6个剂量、12个剂量、24个剂量等)。这种药物试剂盒包括的指导材料可组合任何一组这种信息(例如,其可指导所提供的含有PD-1 x LAG-3双特异性分子的药物组合物包括,或被重构/稀释至包括,约400mg或约600mg的剂量,且约每2周一次施用这种剂量;其可指导所提供的药物组合物包括,或被重构/稀释至包括,约600mg或约800mg的剂量,且约每3周一次施用这种剂量等,和/或其可指导所提供的含有HER2-或B7-H3-结合分子的药物组合物包括,或被重构至包括,约15mg/kg的剂量,且约每3周一次施用这种剂量等)。这种指导材料可指导关于包括的药物组合物的施用模式,例如其通过静脉内(IV)输注施用。药物试剂盒包括的指导材料可指导关于这种施用的持续时间或时机,例如包括的药物组合物是在30-240分钟的时间段、30-90分钟的时间段等内通过静脉内(IV)输注施用的组合物。

[0478] 本发明的药物试剂盒包括的指导材料可指导关于合适的或期望的所包括的药物组合物的使用,例如指导施用这种药物组合物(例如,PD-1 x LAG-3双特异性分子)用于治疗癌症。在某些实施方式中,药物试剂盒所包括的指导材料可指导本发明的PD-1(或PD-L1)-结合分子和LAG-3-结合分子,或PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子的药物组合物与TA-结合分子(任选地具有ADCC-增强的Fc结构域)组合施用,用于治疗其中表达TA(例如,HER2或B7-H3)的癌症。可治疗的癌症包括但不限于:肾上腺癌、AIDS相关的癌、肺泡状软组织肉瘤、肛门癌(包括肛管鳞状细胞癌(SCAC))、膀胱癌、骨癌、脑和脊髓癌、乳腺癌(包括HER2⁺乳腺癌或三阴性乳腺癌(TNBC))、颈动脉体瘤、子宫颈癌(包括HPV相关的子宫颈癌)、软骨肉瘤、脊索瘤、嫌色性肾细胞癌、透明细胞癌、结肠癌、结直肠癌、增生性小圆形细胞肿瘤、室管膜细胞瘤、子宫内膜癌(包括非选择性子宫内膜癌、MSI高子宫内膜癌、dMMR子宫内膜癌和/或POLE核酸外切酶结构域突变阳性子宫内膜癌)、尤因氏肉瘤、骨骼外黏液样软骨肉瘤、胆囊或胆道癌(包括胆管癌胆道癌)、胃癌、胃食管交界处(GEJ)癌、妊娠滋养细胞

疾病、生殖细胞瘤、胶质母细胞瘤、头颈癌(包括头颈的鳞状细胞癌(SCCHN))、血液系统恶性肿瘤、肝细胞癌、胰岛细胞瘤、卡波西氏肉瘤、肾癌、白血病(包括、急性髓样白血病)、脂肪肉瘤/恶性脂肪瘤、肝癌(包括肝细胞肝癌(HCC))、淋巴瘤(包括、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL))、肺癌(包括小细胞肺癌(SCLC)、非-小细胞肺癌(NSCLC))、成神经管细胞瘤、黑素瘤(包括葡萄膜黑素瘤)、脑膜瘤、默克尔细胞癌、间皮瘤(包括间皮咽癌)、多发性内分泌肿瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征、成神经细胞瘤、神经内分泌肿瘤、卵巢癌、胰腺癌、甲状腺乳头状癌、甲状旁腺肿瘤、儿科癌症、周围神经鞘肿瘤、咽癌、嗜铬细胞瘤、垂体肿瘤、前列腺癌(包括转移性去势抵抗性前列腺癌(mCRPC))、葡萄膜后黑素瘤、肾转移癌、横纹肌样瘤、横纹肌肉瘤、肉瘤、皮肤癌、童年期的小圆形蓝细胞瘤(包括成神经细胞瘤和横纹肌肉瘤)、软组织肉瘤、鳞状细胞癌、胃癌、滑膜肉瘤、睾丸癌、胸腺癌、胸腺瘤、甲状腺癌和子宫癌。

[0479] VII. 本发明的基于抗体的分子的用途

[0480] 如本文提供的,本发明PD-1 x LAG-3双特异性分子可用于治疗或预防包括癌症的各种疾病。另外,本发明的PD-1-结合(或PD-L1-结合)、LAG-3-结合、PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子可用于与本发明TA-结合分子(任选地具有ADCC-增强的Fc结构域)组合以治疗其中表达这种TA的癌症。

[0481] 因此,本发明提供了治疗癌症的方法,这种方法包括施用PD-1 x LAG-3双特异性分子给需要其的受试者。

[0482] 另外,本发明提供了治疗癌症的方法,其包括施用TA-结合分子和:

[0483] (1) PD-1 x LAG-3双特异性分子;

[0484] (2) 单特异性PD-1-结合分子,与单特异性LAG-3-结合分子组合;

[0485] (3) PD-L1 x LAG-3双特异性分子;或

[0486] (4) 单特异性PD-L1-结合分子,与单特异性LAG-3-结合分子组合,

[0487] 其中这种单特异性结合分子是完整的抗体,且这种双特异性分子是双抗体或双特异性抗体,和其中这种癌症表达这种TA。在某些实施方式中这种TA-结合分子包括ADCC-增强的Fc结构域。

[0488] 本文提供了本文提供了施用这种PD-1 x LAG-3双特异性分子或分子的组合给需要其的受试者的特别的给药方案。

[0489] 如本文使用的,术语“组合”指使用大于一种治疗剂(例如,本发明的基于抗体的分子)。术语“组合”的使用不限制施用单独治疗剂给具有疾病或紊乱的受试者(例如,人患者或其他哺乳动物)的顺序,也不意味着在完全相同的时间施用或必须施用试剂,而意味着将这些试剂同时地或在时间间隔内依次施用给受试者,使得这些试剂相对于如果以其他方式施用这些试剂提供的益处提供增加的益处。例如,每种基于抗体的分子(例如,a TA-结合分子,a PD-1-结合分子(或PD-L1-结合分子)和LAG-3-结合分子;或TA-结合分子和PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子)可以在相同时间或在时间的不同点以任何顺序依次施用;然而,如果不在相同时间施用,它们应在足够近的时间施用,以便提供期望的治疗性或预防性效果。每种施用的试剂可以任何合适的形式且通过任何合适的途径,例如,一种通过口服途径和一种通过肠胃外等分开施用。本文提供了施用本发明的基于抗体的分子给需要其的受试者的特别的给药方案。

[0490] 通过施用PD-1 x LAG-3双特异性分子;或TA-结合分子和:PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子;或PD-1-结合(或PD-L1-结合)与LAG-3-结合分子组合可治疗的癌症包括但不限于:肾上腺癌、AIDS相关的癌、肺泡状软组织肉瘤、肛门癌(包括肛管鳞状细胞癌(SCAC))、膀胱癌、骨癌、脑和脊髓癌、乳腺癌(包括HER2⁺乳腺癌或三阴性乳腺癌(TNBC))、颈动脉体瘤、子宫颈癌(包括HPV相关的子宫颈癌)、软骨肉瘤、脊索瘤、嫌色性肾细胞癌、透明细胞癌、结肠癌、结直肠癌、增生性小圆形细胞肿瘤、室管膜细胞瘤、子宫内膜癌(包括非选择性子宫内膜癌、MSI高子宫内膜癌、dMMR子宫内膜癌和/或POLE核酸外切酶结构域突变阳性子宫内膜癌)、尤因氏肉瘤、骨骼外黏液样软骨肉瘤、胆囊或胆道癌(包括胆管癌胆道癌)、胃癌、胃食管交界处(GEJ)癌、妊娠滋养细胞疾病、生殖细胞瘤、胶质母细胞瘤、头颈癌(包括头颈的鳞状细胞癌(SCCHN))、血液系统恶性肿瘤、肝细胞癌、胰岛细胞瘤、卡波西氏肉瘤、肾癌、白血病(包括、急性髓样白血病)、脂肪肉瘤/恶性脂肪瘤、肝癌(包括肝细胞肝癌(HCC))、淋巴瘤(包括、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL))、肺癌(包括小细胞肺癌(SCLC)、非-小细胞肺癌(NSCLC))、成神经管细胞瘤、黑素瘤(包括葡萄膜黑素瘤)、脑膜瘤、默克尔细胞癌、间皮瘤(包括间皮咽癌)、多发性内分泌肿瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征、成神经细胞瘤、神经内分泌肿瘤、卵巢癌、胰腺癌、甲状腺乳头状癌、甲状旁腺肿瘤、儿科癌症、周围神经鞘肿瘤、咽癌、嗜铬细胞瘤、垂体肿瘤、前列腺癌(包括转移性去势抵抗性前列腺癌(mCRPC))、葡萄膜后黑素瘤、肾转移癌、横纹肌样瘤、横纹肌肉瘤、肉瘤、皮肤癌、童年期的小圆形蓝细胞瘤(包括成神经细胞瘤和横纹肌肉瘤)、软骨肉瘤、鳞状细胞癌、胃癌、滑膜肉瘤、睾丸癌、胸腺癌、胸腺瘤、甲状腺癌和子宫癌。

[0491] 在某些实施方式中,本发明的PD-1 x LAG-3双特异性分子可在以下的治疗中使用:乳腺癌(包括HER2⁺乳腺癌和/或TNBC)、胆道癌(包括胆管癌)、子宫颈癌(包括HPV相关的子宫颈癌)、子宫内膜癌(包括非选择性子宫内膜癌、MSI高子宫内膜癌、dMMR子宫内膜癌和/或POLE核酸外切酶结构域突变阳性子宫内膜癌)、胃癌、GEJ癌症、头颈癌(包括SCCHN)、肝癌(包括HCC)、肺癌(包括SCLC和/或NSCLC)、淋巴瘤(包括NHL和DLBCL)、卵巢癌、前列腺。

[0492] 在其他实施方式中,本发明的PD-1-结合(或PD-L1-结合)和LAG-3-结合分子,或PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子可与HER2-结合分子(比如马格妥昔单抗)组合使用以治疗HER⁺癌症,包括:乳腺癌、转移乳腺癌、膀胱癌、胃癌、GEJ癌症、卵巢癌、胰腺癌和胃癌。在一个这种实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性分子与ADCC-增强的HER2-结合分子组合使用。在另一这种实施方式中,DART-I与马格妥昔单抗组合使用。

[0493] 在其他实施方式中,本发明的PD-1-结合(或PD-L1-结合)和LAG-3-结合分子,或PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子可与B7-H3-结合分子(比如依诺妥珠单抗)组合使用以治疗B7-H3⁺癌症,包括:肛门癌、SCAC、乳腺癌、TNBC、头颈癌、SCCHN、肺癌、NSCLC、黑素瘤、葡萄膜黑素瘤、前列腺癌、mCRPC。在一个这种实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性分子与ADCC-增强的B7-H3-结合分子组合使用。在另一这种实施方式中,DART-I与依诺妥珠单抗组合使用。

[0494] 在某些实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性分子;或TA-结合分子和:PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子;或PD-1-结合(或PD-L1-结合)与LAG-3-结合分子组合施用作为治疗癌症的一线疗法。在其他实施方式中,这种分子在一种或多种先前的疗法线之后施用。在其他实施方式中,这种分子进一步与一种或多种另外疗法组合施用。在仍其他

实施方式中,在外科去除肿瘤的时间时或之后辅助疗法可采用这种分子,以便延迟、抑制或预防转移的发展。在外科手术之前也可施用这种分子(例如,作为新辅助疗法),以便减少肿瘤的大小,因此能够进行或简化这种外科手术,在这种外科手术期间使组织不受伤害,和/或减少任何所得外形毁损。

[0495] 在一个实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性分子与TA-结合分子(例如,HER2或B7-H3)组合施用作为治疗癌症的一线疗法。在其他实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性分子在一种或多种先前的疗法线之后与TA-结合分子组合施用。在其他实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性分子与TA-结合分子组合且进一步与一种或多种另外的疗法组合施用。在仍其他实施方式中,可在外科去除肿瘤的时间时或之后作为辅助疗法与TA-结合分子组合采用本发明的PD-1 x LAG-3双特异性分子。本发明的PD-1 x LAG-3双特异性分子还可与TA-结合分子组合或在外科手术之前施用。在一个这种实施方式中,TA-结合分子是HER2-结合分子或B7-H3-结合分子。

[0496] 本发明具体地涵盖施用PD-1 x LAG-3双特异性分子;或PD-1-结合(或PD-L1-结合)和LAG-3-结合分子,或PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子与TA-结合分子组合,与对那些本领域技术人员已知的用于治疗或预防癌症的一种或多种另外的疗法组合,所述另外的疗法包括但不限于当前标准和实验化学疗法、激素疗法、生物疗法、免疫疗法、辐射疗法或外科手术。在一些实施方式中,PD-1-结合(或PD-L1-结合)和LAG-3-结合分子的组合,或PD-1x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子与TA-结合分子(例如,ADCC-增强的TA-结合分子)组合施用,进一步与对那些本领域技术人员已知的用于治疗或/或预防癌症,尤其是TA-表达癌症(例如,HER2⁺癌症或B7-H3⁺癌症)的治疗或预防有效量的一种或多种治疗剂组合施用。治疗表达HER2的癌症中通常使用的化疗剂包括但不限于蒽环类(特别地,柔红霉素、多柔比星和表柔比星),卡培他滨,卡铂,环磷酰胺,亚叶酸,甲氨蝶呤,奥沙利铂,紫杉烷(特别地,多西他赛和紫杉醇),5-氟尿嘧啶(5-FU)。

[0497] 本发明的另一方面涉及通过在开始治疗之前测量受试者的肿瘤细胞中PD-L1表达的程度来确定受试者对这种治疗的顺从性的改善方法。已经确定肿瘤细胞中大于10%的PD-L1表达作为用某些PD-1-结合(或PD-L1-结合)分子治疗的临床上相关的截止点。测量PD-L1表达的程度的方法是本领域已知的(de Vicente, J.C. et al. (2018) "PD-L1 Expression in Tumor Cells Is an Independent Unfavorable Prognostic Factor in Oral Squamous Cell Carcinoma," *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 28(3):546-554; Davis, A.A. et al. (2019) "The Role Of PD-L1 Expression As A Predictive Biomarker: An Analysis Of All US Food And Drug Administration (FDA) Approvals Of Immune Checkpoint Inhibitors," *J. ImmunoTher. Canc.* 7:278:1-8; Khozin, S. et al. (2017) "Rates Of PD-L1 Expression Testing In US Community-Based Oncology Practices (uSCPS) For Patients With Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer (mNSCLC) Receiving Nivolumab (N) Or Pembrolizumab (P)," *J. Clin. Oncol.* 35(15_suppl):11596)。例如,这种测量可以使用通过使用Dako EnVision Flex+可视化系统(Dako Autostainer),使用小鼠单克隆PD-L1抗体(克隆22C3, 1:200稀释;PD-L1 IHC 22C3 pharmDx; Dako SK006)完成。在这种测定法中,福尔马林固定的,石蜡包埋的肿瘤活检样品在单克隆小鼠抗PD-L1抗体(克隆22C3)存在的情况下孵育。PD-L1蛋白质表达通过以下确

定:使用肿瘤比例评分(TPS),其是以任何强度显示部分或完全膜染色的存活肿瘤细胞的百分数或通过联合阳性评分(CPS),其是PD-L1染色细胞(肿瘤细胞,淋巴细胞,巨噬细胞)的数量除以存活肿瘤细胞的总数,乘以一百。

[0498] 发现,在治疗之前受试者的肿瘤展示出小于1%的PD-L1表达(如在IHC分析中使用联合阳性评分(CPS)或肿瘤比例评分(TPS)确定的)表明患者对本发明的治疗方法,特别地涵盖施用PD-1-结合(或PD-L1-结合)和LAG-3-结合分子,或PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子与ADCC-增强的TA-结合分子组合的方法的顺从性。这种顺从性也在对至少一种先前治疗无应答或应答不足的受试者中提高,先前治疗包括用ADCC-增强的TA-结合分子治疗不存在的情况下,用PD-1-结合分子或PD-L1-结合分子的先前治疗。本发明涵盖通过施用TA-结合分子和:PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子;或PD-1-结合(或PD-L1-结合)与LAG-3-结合分子组合给受试者治疗癌症的方法,其中在这种治疗之前,这种癌症的细胞表面上PD-L1表达如使用联合阳性评分(CPS)或肿瘤比例评分(TPS)确定的小于1%。

[0499] VIII. 施用和剂量

[0500] 本发明的基于抗体的分子(例如,PD-1 x LAG-3双特异性分子)可通过各种方法施用给受试者,例如,需要其的受试者,例如,人患者。对于许多应用,施用的途径是:静脉内注射或输注(IV)、皮下注射(SC)、腹膜内注射(IP)或肌内注射之一。也可能使用关节内递送。也可使用肠胃外施用的其他模式。这种模式的示例包括:动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、皮内、经气管的、表皮下、关节内、囊下,蛛网膜下、脊柱内和硬膜外和胸骨内注射。

[0501] 本发明的基于抗体的分子可作为固定剂量或作为基于体重的剂量(例如,mg/kg患者体重剂量)施用。还可选择剂量以减少或避免针对施用的抗体的产生。调整用药方案以提供期望的应答,例如,治疗应答或组合治疗效果。一般而言,可使用基于抗体的分子(和任选地其他试剂)的剂量,以便提供受试者以生物利用量的试剂。如本文使用的,术语“剂量”(“dose”)指一次采用指定量的药物。术语“用药”(“dosage”)指在指定一段时间内施用剂量的具体的量、数量和频率;因此,术语用药包括时序特征,比如持续时间和周期数。相对于施用剂量(即,用药)的时机,术语“约”旨在表示所述施用的 ± 3 天的范围。

[0502] 如本文使用的术语“固定剂量(flat dose)”指不依赖患者体重的剂量,并且包括适合于作为对待治疗的受试者单一剂量使用的施用基于抗体的分子(例如,结合TA的抗体、结合PD-1的抗体、结合PD-L1的抗体、结合LAG-3、PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子的抗体)的物理离散单位;其中每个这种单位含有与药学载体缔合,并且任选地与其他试剂缔合的预定量的这种基于抗体的分子(计算以产生期望的治疗效果)。可给予单个或多个固定剂量。如本文使用的术语“基于体重的剂量”指每单位患者体重施用的本发明的分子离散量,例如每千克受试者的体重的毫克药物(mg/kg体重,本文缩写为“mg/kg”)。计算的剂量将基于基线处受试者的体重施用。典型地,从基线或确定的稳定水平重量的体重的显著($\geq 10\%$)变化将促进重新计算剂量。单个或多个剂量可以以给药方案施用。包括基于抗体的分子的组合物可经输注施用给需要其的受试者。

[0503] 在一些实施方式中,根据批准的处方给药方案,结合至TA(特别地,ADCC-增强的TA-结合分子)、PD-1或PD-L1和/或LAG-3的基于抗体的分子施用给需要其的受试者,其可并入固定剂量或体重基础剂量。描述了这种分子的批准的处方给药方案(例如,曲妥珠单抗、

培妥珠单抗、培布利珠单抗、尼伏鲁单抗、阿特利珠单抗、度伐鲁单抗、tafasitamab等的包装插页可从美国国家医药图书馆网站:dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/获得)。在某些实施方式中,结合至PD-1、或PD-L1,和/或LAG-3的基于抗体的分子以约120mg至约800mg的固定剂量施用给需要其的受试者。在某些实施方式中,结合至TA的基于抗体的分子(例如,结合HER2或B7-H3的基于抗体的分子)以约2mg/kg至约18mg/kg的基于体重的剂量施用给需要其的受试者。

[0504] 在某些实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性分子(例如,DART-I)以约120mg至约800mg的固定剂量施用给需要其的受试者。在某些实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性分子以约120mg、约300mg、约400mg、约600mg或约800mg的固定剂量施用给需要其的受试者。在具体的实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性分子以约400mg的固定剂量施用给需要其的受试者。在另一具体的实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性分子以约600mg的固定剂量施用给需要其的受试者。在另一具体的实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性分子以约800mg的固定剂量施用给需要其的受试者。在某些实施方式中,抗PD-1抗体(例如,瑞弗利单抗)以约120mg至约750mg的固定剂量施用给需要其的受试者。在某些实施方式中,抗PD-1抗体以约375mg、约500mg或约750mg的固定剂量施用给需要其的受试者。在具体的实施方式中,抗PD-1抗体以约375mg的的固定剂量施用给需要其的受试者。在另一具体的实施方式中,抗PD-1抗体以约500mg的固定剂量施用给需要其的受试者。在某些实施方式中,抗LAG-3抗体(例如,瑞拉利单抗)以约80mg至约200mg的固定剂量施用给需要其的受试者。在某些实施方式中,抗LAG-3抗体以约80mg、约100mg或约160mg的固定剂量施用给需要其的受试者。在具体的实施方式中,抗LAG-3抗体以约160mg的固定剂量施用给需要其的受试者。相对于固定剂量或固定用药,术语“约”旨在表示所述剂量的 $\pm 10\%$ 的范围,使得例如,约600mg的剂量将在540mg和660mg之间。相对于用药,术语“约”旨在表示所述剂量的 ± 3 天的范围。

[0505] 在某些实施方式中,HER2-或B7-H3-结合分子(例如,抗HER2抗体、抗B7-H3抗体)以约2mg/kg至约18mg/kg的基于体重的剂量施用给需要其的受试者。在某些实施方式中,HER2-或B7-H3-结合分子以约2mg/kg、约4mg/kg、约6mg/kg、约8mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg或约18mg/kg的剂量施用给需要其的受试者。在具体的实施方式中,HER2-或B7-H3-结合分子以约15mg/kg的剂量施用给需要其的受试者。在其他具体的实施方式在,第一剂量的HER2-结合分子以约8mg/kg的剂量,随后一个或多个另外剂量的这种HER2-结合分子以约6mg/kg的剂量施用给需要其的受试者。在其他具体的实施方式中,第一剂量的HER2-结合分子以约4mg/kg的剂量,随后一个或多个另外剂量的这种HER2-结合分子以约2mg/kg的剂量施用给需要其的受试者。相对于基于体重的剂量,术语“约”旨在表示所述剂量的 $\pm 10\%$ 的范围,使得例如,约15mg/kg的剂量将在13.6mg/kg和16.5mg/kg之间。

[0506] 在某些实施方式中,HER2-结合分子以约420mg至约1650mg的固定剂量施用给需要其的受试者。在具体的实施方式中,HER2-结合分子以约420mg的固定剂量施用给需要其的受试者。在另一具体的实施方式中,HER2-结合分子以约600mg的固定剂量施用给需要其的受试者。在其他具体的实施方式中,HER2-结合分子以约840mg的固定剂量施用给需要其的受试者。在另一具体的实施方式中,HER2-结合分子以约1650mg的固定剂量施用给需要其的受试者。在其他具体的实施方式中,第一剂量的HER2-结合分子以约840mg的固定剂量,随后一个或多个另外剂量的这种HER2-结合分子以约420mg的固定剂量施用给需要其的受试者。

[0507] 基于抗体的分子的用药(例如,结合TA的抗体、结合PD-1的抗体、结合PD-L1的抗体、结合LAG-3的抗体、PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子的剂量)可在足以涵盖至少2个剂量、至少4个剂量、至少6个剂量、至少12个剂量或至少24个剂量(治疗的过程)的一段时间内以周期的时间间隔施用。例如,用药可以以例如,每天一次或两次或每周约一次至四次施用。在某些实施方式中,可以每周一次(“Q1W”)、每两周一次(“Q2W”)、每三周一次(“Q3W”)、每四周一次(“Q4W”)等施用用药。这种周期的施用可持续例如,约1至52周之间或大于52周的一段时间。这种治疗过程可分为数个增量,每个本文称为“周期”例如,2至24周之间、约3至7周之间、约4周、或约6周、或约8周、或约12周、或约24周,在期间施用固定数量的剂量。在每个周期期间,施用的剂量和/或频率可相同或不同。可影响有效治疗受试者所需的用药和时机的因素包括,例如,疾病或紊乱的严重程度、制剂、递送的途径、先前的治疗、受试者的一般健康和/或年龄和受试者其他疾病的存在。而且,用治疗有效量化合物治疗受试者可包括单个治疗或可包括一系列治疗。

[0508] 考虑了,提供受试者多剂量的基于抗体的分子(例如,结合TA的抗体、结合PD-1的抗体、结合PD-L1的抗体、结合LAG-3的抗体、PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)双特异性分子)。每个这种剂量中每种基于抗体的分子的量可相同或可与之前施用的量不同。因此,例如,疗法可包括“第一”(或“负载”)剂量的这种基于抗体的分子,随后较低的“第二”剂量的这种基于抗体的分子的施用。例如,第一剂量的基于抗体的分子是约8mg/kg时,第二剂量将小于8mg/kg,(例如,约6mg/kg)。在一些实施方式中,随后的剂量以相同浓度作为第二较低剂量施用。在一些实施方式中,基于抗体的分子的相同剂量是在整个治疗过程内施用。在一些实施方式中,结合HER2的TA-结合分子以约4mg/kg、约8mg/kg的第一剂量或约840mg的第一固定剂量施用,随后施用第二较低剂量,其中施用第一剂量之后约三周施用第二剂量。在一些实施方式中,施用另外的随后剂量的HER2-结合分子,其中施用第二剂量或先前的随后剂量之后约三周,随后剂量施用。

[0509] “给药方案”是用药管理,其中患者以预定的频率(或一组这种频率)施用预定的剂量(或一组这种预定的剂量)预定的周期数(或多个周期性)。

[0510] 代表性给药方案包括以约120mg的固定剂量Q2W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子(例如,DART-I)。另一代表性给药方案包括以约300mg的固定剂量Q2W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子。仍另一代表性给药方案包括以约300mg的固定剂量Q3W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子。另一代表性给药方案包括以约400mg的固定剂量Q2W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子。另一代表性给药方案包括以约400mg的固定剂量Q3W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子。另一代表性给药方案包括以约600mg的固定剂量Q2W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子。仍另一代表性给药方案包括以约600mg的固定剂量Q3W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子。其他代表性给药方案包括以约800mg的固定剂量Q2W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子或以约800mg的固定剂量Q3W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子。如本文提供的,这种给药方案可进一步包括施用TA-结合分子。在一个实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性分子根据本文提供的给药方案与根据批准的处方给药方案施用的批准的TA-结合分子(例如,曲妥珠单抗,培妥珠单抗等)组合施用。在一个实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性分子根据本文提供的给药方案与根据批准的处方给药方案施用的批准的ADCC-增强TA-结合分子(例如,tafasitamab等)组合施用。在以上给药方案的某些实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性分

子是DART-I。在一个这种实施方式中，DART-I以约600mg的固定剂量Q3W施用。在另一这种实施方式中，DART-I以约600mg的固定剂量Q3W与根据批准的处方给药方案施用的批准的TA-结合分子（例如，曲妥珠单抗，培妥珠单抗等）组合施用。在另一这种实施方式中，DART-I以约600mg的固定剂量Q3W与根据批准的处方给药方案施用的批准的ADCC-增强TA-结合分子（例如，tafasitamab等）组合施用。

[0511] 另一代表性给药方案包括以约375mg的固定剂量Q3W施用抗PD-1抗体（例如，瑞弗利单抗）和以约160mg的固定剂量Q4W施用抗LAG-3抗体（例如，瑞拉利单抗）。另一代表性给药方案包括以约500mg的固定剂量Q4W施用抗PD-1抗体和以约160mg的固定剂量Q4W施用抗LAG-3抗体。仍另一代表性给药方案包括以约750mg的固定剂量Q4W施用抗PD-1抗体和以约160mg的固定剂量Q4W施用抗LAG-3抗体。如本文提供的，这种给药方案可进一步包括施用TA-结合分子。在一个实施方式中，抗PD-1抗体和抗LAG-3抗体根据本文提供的给药方案与根据批准的处方给药方案施用的批准的TA-结合分子（例如，曲妥珠单抗，培妥珠单抗等）组合施用。在一个实施方式中，抗PD-1抗体和抗LAG-3抗体根据本文提供的给药方案与根据批准的处方给药方案施用的批准的ADCC-增强TA-结合分子（例如，tafasitamab等）组合施用。在以上给药方案的某些实施方式中，抗PD-1抗体是瑞弗利单抗且抗LAG-3抗体是瑞拉利单抗。在一个这种实施方式中，瑞弗利单抗以约375mg的固定剂量Q3W施用、瑞拉利单抗以约160mg的固定剂量Q4W施用且批准的TA-结合分子（例如，曲妥珠单抗，培妥珠单抗等）根据批准的处方给药方案施用。在另一这种实施方式中，瑞弗利单抗以约500mg的固定剂量Q4W施用、瑞拉利单抗以约160mg的固定剂量Q4W施用且批准的TA-结合分子（例如，曲妥珠单抗，培妥珠单抗等）根据批准的处方给药方案施用。在另一这种实施方式中，瑞弗利单抗是以约375mg的固定剂量Q3W施用、瑞拉利单抗以约160mg的固定剂量Q4W施用且批准的ADCC-增强TA-结合分子（例如，tafasitamab等）根据批准的处方给药方案施用。在仍另一这种实施方式中，瑞弗利单抗以约500mg的固定剂量Q4W施用、瑞拉利单抗以约160mg的固定剂量Q4W施用且批准的ADCC-增强TA-结合分子（例如，tafasitamab等）根据批准的处方给药方案施用。

[0512] 在一个实施方式中，PD-1 x LAG-3双特异性分子根据本文提供的给药方案与ADCC-增强TA-结合分子组合施用。代表性组合给药方案包括以约120mg的固定剂量Q2W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子（例如，DART-I）且ADCC-增强HER2-或B7-H3-结合分子（例如，马格妥昔单抗或依诺妥珠单抗）以约2mg/kg至约18mg/kg的量，施用Q3W。另一代表性组合给药方案包括以约120mg的固定剂量Q3W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子（例如，DART-I）且ADCC-增强HER2-或B7-H3-结合分子（例如，马格妥昔单抗或依诺妥珠单抗）以约2mg/kg至约18mg/kg的剂量，施用Q3W。另一代表性给药方案包括以约300mg的固定剂量Q2W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子且ADCC-增强HER2-或B7-H3-结合分子以约2mg/kg至约18mg/kg的剂量，施用Q3W。仍另一代表性给药方案包括以约300mg的固定剂量Q3W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子且ADCC-增强HER2-或B7-H3-结合分子以约2mg/kg至约18mg/kg的剂量，施用Q3W。另一代表性给药方案包括以约400mg的固定剂量Q2W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子且ADCC-增强HER2-或B7-H3-结合分子以约2mg/kg至约18mg/kg的剂量，施用Q3W。另一代表性给药方案包括以400mg Q3W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子且ADCC-增强HER2-或B7-H3-结合分子以约2mg/kg至约18mg/kg的剂量，施用Q3W。具体的给药方案包括以约600mg的固定剂量Q2W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子且ADCC-增强HER2-或B7-H3-结合分子以约2mg/kg至约

18mg/kg的固定剂量,施用Q3W。另一具体的给药方案包括以约600mg的固定剂量Q3W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子且ADCC-增强HER2-或B7-H3-结合分子以约2mg/kg至约18mg/kg的剂量,施用Q3W。另一具体的给药方案包括以约800mg的固定剂量Q2W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子且ADCC-增强HER2-或B7-H3-结合分子以约2mg/kg至约18mg/kg的剂量,施用Q3W。另一具体的给药方案包括以约800mg的固定剂量Q3W施用PD-1 x LAG-3双特异性分子且ADCC-增强HER2-或B7-H3-结合分子以约2mg/kg至约18mg/kg的剂量,施用Q3W。在以上给药方案的某些实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性分子是DART-I。在以上给药方案的一些实施方式中,ADCC-增强HER2-结合分子是马格妥昔单抗。在以上给药方案的一些实施方式中,ADCC-增强B7-H3-结合分子是依诺妥珠单抗。

[0513] 优选地,在以上实施方式中,施用以预定的频率或周期数,或这种计划的时间间隔的1-3天内发生,使得施用发生在计划的剂量的1-3天之前、1-3天之后或当天,例如,每3周一次(±3天)。典型地,在以上实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性分子和ADCC-增强HER2-或B7-H3-结合分子在24-小时周期内通过IV输注施用。在某些实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性分子和ADCC-增强HER2-或B7-H3-结合分子根据至少1个月或更多、至少3个月或更多、或至少6个月或更多或至少12个月或更多的持续时间(即,治疗过程)的任何以上给药方案通过IV输注施用。特别地考虑了至少6月或更多、或至少12月或更多或直到观察到疾病或难以管理的毒性缓解的治疗持续时间。在某些实施方式中,在疾病缓解后治疗持续一段时间。

[0514] 在某些实施方式中,基于抗体的分子通过IV输注施用。因此,基于抗体的分子通常稀释(分开或一起)入包括合适的稀释剂,例如,0.9%氯化钠的注射袋。因为可能发生输注或过敏反应,预防这种输注反应的术前用药是推荐的并且在抗体施用期间应观察过敏性反应的预防措施。这种IV输注可在30分钟和24小时之间的周期内施用给受试者。在某些实施方式中,IV输注在约30-240分钟、约30-180分钟、约30-120分钟或约30-90分钟的周期内,或约60-90分钟的周期内,或约60-75分钟的周期内,或更小周期内递送,如果受试者不展示出不利的输注反应的信号或症状。

[0515] 尽管,如以上所讨论,可采用各种给药和施用途径以便按照本发明提供基于抗体的分子给需要其的接受受试者,特别地提供某些组合、给药和施用途径在这种治疗中使用。特别地本文描述了在这种给药和施用中本发明的PD-1 x LAG-3双特异性双抗体(例如,DART-I)与抗HER2或抗B7-H3抗体(例如,马格妥昔单抗、曲妥珠单抗、培妥珠单抗和/或依诺妥珠单抗)组合使用。

[0516] 因此,这种给药方案包括以约300mg至约800mg的固定剂量施用PD-1 x LAG-3双特异性双抗体和以约2mg/kg至约15mg/kg的剂量和/或以约420-840mg的固定剂量施用抗HER2或抗B7-H3抗体,其中这种分子施用Q3W(±3天)。在某些实施方式中,以约300mg、约400mg、约600mg或约800mg的固定剂量施用PD-1 x LAG-3双特异性双抗体且以约2mg/kg、约4mg/kg、约6mg/kg、约8mg/kg或约15mg/kg的剂量施用抗HER2或抗B7-H3抗体。在其他实施方式中,以约300mg、约400mg、约600mg或约800mg的固定剂量施用PD-1 x LAG-3双特异性双抗体且以约420mg或约840mg的固定剂量施用抗HER2抗体。

[0517] (A) 在某些实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性双抗体以约300mg的固定剂量施用。在这种实施方式中,如果待施用的抗HER2或抗B7-H3抗体分别是马格妥昔单抗或依诺妥

珠单抗,这种马格妥昔单抗或依诺妥珠单抗以约15mg/kg体重的剂量施用。可替代地,如果在这种实施方式中,待施用的抗HER2抗体是曲妥珠单抗,第一剂量的曲妥珠单抗以约8mg/kg的剂量施用,随后一个或多个另外剂量的曲妥珠单抗每个以约6mg/kg的剂量施用,或第一剂量的曲妥珠单抗以约4mg/kg的剂量施用,随后一个或多个另外剂量的曲妥珠单抗每个以约2mg/kg的剂量施用。可替代地,如果在这种实施方式中,待施用的抗HER2抗体是培妥珠单抗,第一剂量的培妥珠单抗以约840mg的剂量施用,随后一个或多个另外剂量的培妥珠单抗每个以约420mg的剂量施用。

[0518] (B) 在某些实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性双抗体以约400mg的固定剂量与抗HER2或抗B7-H3抗体结合施用。在这种实施方式中,如果待施用的抗HER2或抗B7-H3抗体分别是马格妥昔单抗或依诺妥珠单抗,这种马格妥昔单抗或依诺妥珠单抗以约15mg/kg体重的剂量施用。可替代地,如果在这种实施方式中,待施用的抗HER2抗体是曲妥珠单抗,第一剂量的曲妥珠单抗以约8mg/kg的剂量施用,随后一个或多个另外剂量的曲妥珠单抗每种以约6mg/kg的剂量施用,或第一剂量的曲妥珠单抗以约4mg/kg的剂量施用,随后一个或多个另外剂量的曲妥珠单抗每个以约2mg/kg的剂量施用。可替代地,如果在这种实施方式中,待施用的抗HER2抗体是培妥珠单抗,第一剂量的培妥珠单抗以约840mg的剂量施用,随后一个或多个另外剂量的培妥珠单抗每个以约420mg的剂量施用。

[0519] (C) 在某些实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性双抗体以约600mg的固定剂量施用。在这种实施方式中,如果待施用的抗HER2或抗B7-H3抗体分别是马格妥昔单抗或依诺妥珠单抗,这种马格妥昔单抗或依诺妥珠单抗以约15mg/kg体重的剂量施用。在这种实施方式中,如果待施用的抗HER2抗体是曲妥珠单抗,第一剂量的曲妥珠单抗以约8mg/kg的剂量施用,随后一个或多个另外剂量的曲妥珠单抗每个以约6mg/kg的剂量施用,或第一剂量的曲妥珠单抗以约4mg/kg的剂量施用,随后一个或多个另外剂量的曲妥珠单抗每个以约2mg/kg的剂量施用。可替代地,如果在这种实施方式中,待施用的抗HER2抗体是培妥珠单抗,第一剂量的培妥珠单抗以约840mg的剂量施用,随后一个或多个另外剂量的培妥珠单抗每个以约420mg的剂量施用。

[0520] (D) 在某些实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性双抗体以约800mg的固定剂量施用。在这种实施方式中,如果待施用的抗HER2或抗B7-H3抗体分别是马格妥昔单抗或依诺妥珠单抗,这种马格妥昔单抗或依诺妥珠单抗以约15mg/kg体重的剂量施用。可替代地,如果待施用的抗HER2抗体是曲妥珠单抗,第一剂量的曲妥珠单抗以约8mg/kg的剂量施用,随后一个或多个另外剂量的曲妥珠单抗每个以约6mg/kg的剂量施用,或第一剂量的曲妥珠单抗以约4mg/kg的剂量施用,随后一个或多个另外剂量额曲妥珠单抗每个以约2mg/kg的剂量施用。可替代地,如果待施用的抗HER2抗体是培妥珠单抗,第一剂量的这种培妥珠单抗以约840mg的剂量施用,随后一个或多个另外剂量的培妥珠单抗每个以约420mg的剂量施用。

[0521] 在任何以上实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性双抗体和抗HER2或抗B7-H3抗体同时、依次、以交替方式或在不同的时间,在24小时内通过IV输注施用。在任何以上实施方式中,PD-1 x LAG-3双特异性双抗体是DART-I。

[0522] 本发明还提供了给药方案,其中PD-1 x LAG-3双特异性双抗体与两种不同抗HER2抗体(例如,曲妥珠单抗和培妥珠单抗)组合施用,其中每种分子的施用根据任何以上实施方式或根据批准的处方给药方案。

[0523] IX. 本发明的实施方式

[0524] 现在已经大致地描述了本发明, 本发明通过参考以下编号的实施方式 (“EA” 和 “EB”) 将更容易理解本, 实施方式通过阐释的方式提供且除非指定, 实施方式不旨在限制本发明:

[0525] EA1. 包括施用PD-1 x LAG-3双特异性分子给需要其的受试者的治疗癌症的方法, 其中所述方法包括以约120mg至约800mg的固定剂量施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子给所述受试者。

[0526] EA2. 根据EA1的方法, 其中所述癌症特征在于肿瘤抗原 (TA) 的表达, 并且其中所述方法进一步包括施用肿瘤抗原 (TA) 结合分子 (TA-结合分子) 给所述受试者。

[0527] EA3. 治疗受试者的癌症的方法, 其中所述癌症特征在于TA的表达, 所述方法包括施用TA-结合分子给所述受试者并且进一步包括施用以下给所述受试者:

[0528] (a) 双特异性 (PD-1 x LAG-3双特异性分子); 或

[0529] (b) 免疫特异性结合PD-1的分子 (PD-1-结合分子) 与免疫特异性结合LAG-3的分子 (LAG-3-结合分子) 组合; 或

[0530] (c) 免疫特异性结合PD-L1和LAG-3二者的双特异性分子 (PD-L1 x LAG-3双特异性分子); 或

[0531] (d) 免疫特异性结合PD-L1的分子 (PD-L1-结合分子) 与LAG-3-结合分子组合。

[0532] EA4. 根据EA2-EA3的任一项的方法, 其中所述TA-结合分子包括ADCC-增强的Fc结构域。

[0533] EA5. 根据EA2-EA4的任一项的方法, 其中:

[0534] (a) 每种分子在分开的组合物中; 或

[0535] (b) 每种分子在相同的组合物中; 或

[0536] (c) 所述PD-1-结合分子和所述LAG-3-结合分子在相同的组合物中, 且所述TA-结合分子在分开的组合物中; 或

[0537] (d) 所述PD-L1-结合分子和所述LAG-3-结合分子在相同的组合物中, 且所述TA-结合分子在分开的组合物中。

[0538] EA6. 根据EA2-EA5的任一项的方法, 其中所述TA-结合分子是抗体。

[0539] EA7. 根据EA2-EA6的任一项的方法, 其中所述PD-1-结合分子是抗体。

[0540] EA8. 根据EA2-EA6的任一项的方法, 其中所述PD-L1-结合分子是抗体。

[0541] EA9. 根据EA2-EA8的任一项的方法, 其中所述LAG-3-结合分子是抗体。

[0542] EA10. 根据EA3-EA6的任一项的方法, 其中所述方法包括施用所述TA-结合分子和所述PD-1 x LAG-3双特异性分子。

[0543] EA11. 根据EA3-EA9的任一项的方法, 其中所述方法包括施用所述TA-结合分子和所述PD-1-结合分子与所述LAG-3-结合分子组合。

[0544] EA12. 根据EA3-EA6的任一项的方法, 其中所述方法包括施用所述TA-结合分子和所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0545] EA13. 根据EA3-EA9的任一项的方法, 其中所述方法包括施用所述TA-结合分子和所述PD-L1-结合分子与所述LAG-3-结合分子组合。

[0546] EA14. 根据EA4-EA13的任一项的方法, 其中所述ADCC-增强的Fc结构域包括:

- [0547] (a) 工程化的糖型;和/或
- [0548] (b) 相对于野生型Fc区的氨基酸替换。
- [0549] EA15. 根据EA14的方法,其中所述ADCC-增强的Fc结构域包括工程化的糖型,其是不含有岩藻糖的复合的N-糖苷连接的糖链,和/或其包括平分O-GlcNAc。
- [0550] EA16. 根据EA14或EA15的方法,其中所述ADCC-增强的Fc结构域包括选自F243L、R292P、Y300L、V305I、I332E和P396L的一种或多种氨基酸替换。
- [0551] EA17. 根据EA14-EA16的任一项的方法,其中所述ADCC-增强的Fc结构域包括选自由下述组成的组中的氨基酸替换:
- [0552] (a) 选自由下述组成的组中的一个替换:
- [0553] F243L、R292P、Y300L、V305I、I332E和P396L;
- [0554] (b) 选自由下述组成的组中的两个替换:
- [0555] (1) F243L和P396L;
- [0556] (2) F243L和R292P;
- [0557] (3) R292P和V305I;和
- [0558] (4) S239D和I332E;
- [0559] (c) 选自由下述组成的组中的三个替换:
- [0560] (1) F243L、R292P和Y300L;
- [0561] (2) F243L、R292P和V305I;
- [0562] (3) F243L、R292P和P396L;和
- [0563] (4) R292P、V305I和P396L;
- [0564] (d) 选自由下述组成的组中的四个替换:
- [0565] (1) F243L、R292P、Y300L和P396L;和
- [0566] (2) F243L、R292P、V305I和P396L;或
- [0567] (e) 选自由下述组成的组中的五个替换:
- [0568] (1) F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L;和
- [0569] (2) L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L,
- [0570] 其中编号为Kabat中的EU索引的编号。
- [0571] EA18. 根据EA14-EA16的任一项的方法,其中所述ADCC-增强的Fc结构域包括氨基酸替换:L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L,其中编号为Kabat中的EU索引的编号。
- [0572] EA19. 根据EA14-EA16的任一项的方法,其中所述ADCC-增强增强Fc结构域包括氨基酸替换:S239D和I332E,其中编号为Kabat中的EU索引的编号。
- [0573] EA20. 根据EA2-EA19的任一项的方法,其中所述TA选自表6A或表6B。
- [0574] EA21. 根据EA2-EA19的任一项的方法,其中所述TA-结合分子包括选自表7的抗体的VL和VH结构域。
- [0575] EA22. 根据EA3-EA7、EA9、EA11或EA14-EA21的任一项的方法,其中所述PD-1-结合分子是包括下述的抗体:
- [0576] (a) 包括SEQ ID NO:35的氨基酸序列的PD-1 VL结构域,和包括SEQ ID NO:39的氨基酸序列的PD-1 VH结构域;
- [0577] (b) 选自表1的抗PD-1抗体的VH和VL结构域;或

- [0578] (c) 选自表1的抗PD-1抗体的轻链和重链。
- [0579] EA23. 根据EA3-EA6、EA8-EA9或EA13-EA21的任一项的方法, 其中所述PD-L1-结合分子是包括下述的抗体:
- [0580] (a) 包括SEQ ID NO:43的氨基酸序列的PD-L1 VL结构域和包括SEQ ID NO:47的氨基酸序列的PD-L1 VH结构域;
- [0581] (b) 选自表2的抗PD-L1抗体的VH和VL结构域;或
- [0582] (c) 选自表2的抗PD-L1抗体的轻链和重链。
- [0583] EA24. 根据EA3-EA9、EA11或EA13-EA23的任一项的方法, 其中所述LAG-3-结合分子是包括下述的抗体:
- [0584] (a) 包括SEQ ID NO:51的氨基酸序列的LAG-3 VL结构域, 和包括SEQ ID NO:55的氨基酸序列的LAG-3 VH结构域;
- [0585] (b) 选自表3的抗LAG-3抗体的VH和VL结构域;或
- [0586] (c) 选自表3的抗LAG-3抗体的轻链和重链。
- [0587] EA25. 根据EA1-EA6、EA10或EA14-EA21的任一项的方法, 其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子包括:
- [0588] (a) 包括SEQ ID NO:35的氨基酸序列的PD-1 VL结构域, 和包括SEQ ID NO:39的氨基酸序列的PD-1 VH结构域, 或选自表1的抗PD-1抗体的VH和VL结构域; 和/或
- [0589] (b) 包括SEQ ID NO:51的氨基酸序列的LAG-3 VL结构域, 和包括SEQ ID NO:55的氨基酸序列的LAG-3 VH结构域, 或选自表3的抗LAG-3抗体的VH和VL结构域; 或
- [0590] (c) 选自表4-5的基于双特异性抗体的分子。
- [0591] EA26. 根据EA1-EA6、EA10或EA14-EA21的任一项的方法, 其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子包括:
- [0592] (a) PD-1-结合结构域, 其包括包含SEQ ID NO:35的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3的轻链可变结构域(VL_{PD-1}), 和包含SEQ ID NO:39的PD-1-特异性CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3的重链可变结构域(VH_{PD-1}); 和
- [0593] (b) LAG-3-结合结构域, 其包括包含SEQ ID NO:51的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3的轻链可变结构域(VL_{LAG-3}), 和包含包括SEQ ID NO:55的LAG-3-特异性CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3的重链可变结构域(VH_{LAG-3})。
- [0594] EA27. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA26的任一项的方法, 其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子包括:
- [0595] (a) 两个所述PD-1-结合结构域; 和
- [0596] (b) 两个所述LAG-3-结合结构域。
- [0597] EA28. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA27的任一项的方法, 其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子包括SEQ ID NO:35的VL结构域和SEQ ID NO:39的VH结构域。
- [0598] EA29. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA28的任一项的方法, 其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子包括SEQ ID NO:51的VL结构域和SEQ ID NO:55的VH结构域。
- [0599] EA30. 根据EA1-EA6、EA10、EA12、EA14-EA21或EA25-EA29的任一项的方法, 其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子包括Fc区。
- [0600] EA31. 根据EA30的方法, 其中所述Fc区是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型的。

[0601] EA32. 根据EA30或EA31的任一项的方法,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子进一步包括铰链结构域。

[0602] EA33. 根据EA32的方法,其中所述Fc区和所述铰链结构域都是IgG4同种型的,且其中所述铰链结构域包括稳定化突变。

[0603] EA34. 根据EA30-EA33的任一项的方法,其中所述Fc区是包括下述的变体Fc区:

[0604] (a) 降低变体Fc区对Fc γ R的亲力的一个或多个氨基酸修饰;和/或

[0605] (b) 提高变体Fc区的血清半衰期的一个或多个氨基酸修饰。

[0606] EA35. 根据EA34的方法,其中所述降低变体Fc区对Fc γ R的亲力的修饰包括L234A;L235A;或L234A和L235A的替换,其中所述编号为Kabat中的EU索引的编号。

[0607] EA36. 根据EA34或EA35的任一项的方法,其中所述提高变体Fc区的血清半衰期的修饰包括M252Y;M252Y和S254T;M252Y和T256E;M252Y、S254T和T256E;或K288D和H435K的替换,其中所述编号为Kabat中的EU索引的编号。

[0608] EA37. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA36的任一项的方法,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子包括SEQ ID NO:59的两条多肽链和SEQ ID NO:60的两条多肽链。

[0609] EA38. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA37的任一项的方法,其中以约120mg的固定剂量施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0610] EA39. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA37的任一项的方法,其中以约300mg的固定剂量施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0611] EA40. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA37的任一项的方法,其中以约400mg的固定剂量施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0612] EA41. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA37的任一项的方法,其中以约600mg的固定剂量施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0613] EA42. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA37的任一项的方法,其中以约800mg的固定剂量施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0614] EA43. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA42的任一项的方法,其中约每2周一次施用所述固定剂量。

[0615] EA44. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA42的任一项的方法,其中约每3周一次施用所述固定剂量。

[0616] EA45. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21、EA25-EA37、EA40或EA43的任一项的方法,其中以约400mg的固定剂量约每2周一次施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0617] EA46. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21、EA25-EA37、EA41或EA43的任一项的方法,其中以约600mg的固定剂量约每2周一次施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0618] EA47. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21、EA25-EA37、EA41或EA44的任一项的方法,其中以约600mg的固定剂量约每3周一次施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0619] EA48. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21E、A25-EA37、EA42或EA44的任一项的方法,其中以约800mg的固定剂量约每3周一次施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0620] EA49. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21、EA25-EA48的任一项的方法,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子通过静脉内 (IV) 输注施用。

[0621] EA50. 根据EA49的方法,其中所述静脉内 (IV) 输注在30-240分钟的时间段内。

[0622] EA51. 根据EA49的方法,其中所述静脉内 (IV) 输注在约30-90分钟的时间段内。

[0623] EA52. 根据EA1-EA51的任一项的方法,其中所述癌症是肾上腺癌、AIDS相关的癌、肺泡状软组织肉瘤、肛门癌(包括肛管鳞状细胞癌(SCAC))、膀胱癌、骨癌、脑和脊髓癌、乳腺癌(包括HER2+乳腺癌或三阴性乳腺癌(TNBC))、颈动脉体瘤、子宫颈癌(包括HPV相关的子宫颈癌)、软骨肉瘤、脊索瘤、嫌色性肾细胞癌、透明细胞癌、结肠癌、结直肠癌、增生性小圆形细胞肿瘤、室管膜细胞瘤、子宫内膜癌(包括非选择性子宫内膜癌、MSI高子宫内膜癌、dMMR子宫内膜癌和/或POLE核酸外切酶结构域突变阳性子宫内膜癌)、尤因氏肉瘤、骨骼外黏液样软骨肉瘤、胆囊或胆道癌(包括胆管癌胆道癌)、胃癌、胃食管交界处(GEJ)癌、妊娠滋养细胞疾病、生殖细胞瘤、胶质母细胞瘤、头颈癌(包括头颈的鳞状细胞癌(SCCHN))、血液系统恶性肿瘤、肝细胞癌、胰岛细胞瘤、卡波西氏肉瘤、肾癌、白血病(包括、急性髓样白血病)、脂肪肉瘤/恶性脂肪瘤、肝癌(包括肝细胞肝癌(HCC))、淋巴瘤(包括、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL))、肺癌(包括小细胞肺癌(SCLC)、非-小细胞肺癌(NSCLC))、成神经管细胞瘤、黑素瘤(包括葡萄膜黑素瘤)、脑膜瘤、默克尔细胞癌、间皮瘤(包括间皮咽癌)、多发性内分泌肿瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征、成神经细胞瘤、神经内分泌肿瘤、卵巢癌、胰腺癌、甲状腺乳头状癌、甲状旁腺肿瘤、儿科癌症、周围神经鞘肿瘤、咽癌、嗜铬细胞瘤、垂体肿瘤、前列腺癌(包括转移性去势抵抗性前列腺癌(mCRPC))、葡萄膜后黑素瘤、肾转移癌、横纹肌样瘤、横纹肌肉瘤、肉瘤、皮肤癌、童年期的小圆形蓝细胞瘤(包括成神经细胞瘤和横纹肌肉瘤)、软组织肉瘤、鳞状细胞癌、胃癌、滑膜肉瘤、睾丸癌、胸腺癌、胸腺瘤、甲状腺癌或子宫癌。

[0624] EA53. 根据EA52的方法,其中所述癌症是肛门癌、乳腺癌、胆道癌、子宫颈癌、结直肠癌、子宫内膜癌、胃癌、GEJ癌症、头颈癌、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑素瘤、卵巢癌或前列腺癌。

[0625] EA54. 根据EA52或EA53的任一项的方法,其中所述癌症是HER2⁺乳腺癌或TNBC。

[0626] EA55. 根据EA52或EA53的任一项的方法,其中所述癌症是胆管癌胆道癌。

[0627] EA56. 根据EA52或EA53的任一项的方法,其中所述癌症是HPV相关的子宫颈癌。

[0628] EA57. 根据EA52或EA53的任一项的方法,其中所述癌症是SCCHN。

[0629] EA58. 根据EA52或EA53的任一项的方法,其中所述癌症是HCC。

[0630] EA59. 根据EA52或EA53的任一项的方法,其中所述癌症是SCLC或NSCLC。

[0631] EA60. 根据EA52或EA53的任一项的方法,其中所述癌症是NHL。

[0632] EA61. 根据EA52或EA53的任一项的方法,其中所述癌症是前列腺癌。

[0633] EA62. 根据EA52或EA53的任一项的方法,其中所述癌症是胃癌。

[0634] EA63. 根据EA2-EA62的任一项的方法,其中所述TA-结合分子是包括包含轻链可变结构域(VL_{HER2})和重链可变结构域(VH_{HER2})的HER2-结合结构域的HER2-结合分子,其中:

[0635] (a) 所述轻链可变结构域(VL_{HER2})包括包含SEQ ID NO:61的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3的马格妥昔单抗的轻链可变结构域,且所述重链可变结构域(VH_{HER2})包括包含SEQ ID NO:66的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3的马格妥昔单抗的重链可变结构域;

[0636] (b) 所述轻链可变结构域(VL_{HER2})包括曲妥珠单抗的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3且所述重链可变结构域(VH_{HER2})包括曲妥珠单抗的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3;

[0637] (c) 所述轻链可变结构域(VL_{HER2})包括培妥珠单抗的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3且所述重链可变结构域(VH_{HER2})包括培妥珠单抗的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3;或

[0638] (d) 所述轻链可变结构域(VL_{HER2})包括hHER2 MAB-1的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3且所述重链可变结构域(VH_{HER2})包括hHER2 MAB-1的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3。

[0639] EA64. 根据EA2-EA63的任一项的方法,其中所述HER2-结合分子是抗HER2抗体。

[0640] EA65. 根据EA64的方法,其中所述抗HER2抗体是马格妥昔单抗,和所述方法包括以约6mg/kg至约18mg/kg的剂量约每3周一次施用马格妥昔单抗。

[0641] EA66. 根据EA65的方法,其中以选自由约6mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg和约18mg/kg组成的组中的剂量约每3周一次施用马格妥昔单抗。

[0642] EA67. EA65或EA66的任一项的方法,其中以约600mg的固定剂量约每3周一次施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子且以约15mg/kg的剂量约每周3周一次施用马格妥昔单抗。

[0643] EA68. 根据EA63-EA67的任一项的方法,其中所述方法进一步包括施用化疗剂。

[0644] EA69. 根据EA63-EA68的任一项的方法,其中所述癌症是表达HER2的癌症。

[0645] EA70. 根据EA69的方法,其中所述表达HER2的癌症是乳腺癌、转移乳腺癌、膀胱、胃癌、GEJ癌症、卵巢癌、胰腺癌或胃癌。

[0646] EA71. 根据EA2-EA62的任一项的方法,其中所述TA-结合分子是包括包含轻链可变结构域(VL)和重链可变结构域(VH)的B7-H3-结合结构域的B7-H3-结合分子,其中:

[0647] 所述VL包括SEQ ID NO:71的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3,且所述VH包括SEQ ID NO:76的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3。

[0648] EA72. 根据EA2-EA62或EA71的任一项的方法,其中所述TA-结合分子是依诺妥珠单抗。

[0649] EA73. 根据EA72的方法,其中以约6mg/kg至约18mg/kg的剂量约每3周一次施用所述依诺妥珠单抗。

[0650] EA74. 根据EA73的方法,其中以选自由约6mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg和约18mg/kg组成的组中的剂量约每3周一次施用依诺妥珠单抗。

[0651] EA75. 根据EA73或EA74的任一项的方法,其中以约600mg的固定剂量约每3周一次施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子和以约15mg/kg的剂量约每周3周一次施用依诺妥珠单抗。

[0652] EA76. 根据EA71-EA75的任一项的方法,其中所述癌症是表达B7-H3的癌症。

[0653] EA77. 根据EA76的方法,其中所述表达B7-H3的癌症是肛门癌、SCAC、乳腺癌、TNBC、头颈癌、SCCHN、肺癌、NSCLC、黑素瘤、葡萄膜黑素瘤、前列腺癌、mCRPC。

[0654] EA78. 根据EA2-EA77的任一项的方法,其中所述TA-结合分子通过静脉内(IV)输注

施用。

[0655] EA79. 根据EA78的方法,其中所述IV输注在约30-240分钟的时间段内。

[0656] EA80. 根据EA78的方法,其中所述IV输注在约30-90分钟的时间段内。

[0657] EA81. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21、EA25-EA80的任一项的方法,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子和所述TA-结合分子在分开的药物组合物中同时施用给所述受试者,其中所述分开的组合物在24小时周期内施用。

[0658] EA82. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21、EA25-EA80的任一项的方法,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子和所述TA-结合分子在分开的药物组合物中依次施用给所述受试者,其中第二施用组合物在施用第一施用组合物之后至少24小时施用。

[0659] EA83. 根据EA1-EA82的任一项的方法,其中所述受试者先前已经用CAR T-细胞疗法治疗。

[0660] EA84. 根据EA1-EA6、EA10、EA14-EA21、EA25-EA82的任一项的方法,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子与CAR T-细胞疗法同时施用或在用CAR T-细胞疗法治疗后施用。

[0661] EA85. 根据EA1-EA84的任一项的方法,其中在所述治疗之前所述癌症的活检中存在表达LAG-3的细胞。

[0662] EA86. 根据EA1-EA85的任一项的方法,其中在所述治疗之前所述癌症的活检中存在表达PD-1的细胞。

[0663] EA87. 根据EA1-EA86的方法,其中在治疗之前癌症的活检中LAG-3和PD-1的共表达指示所述患者是这种方法的候选者。

[0664] EA88. 根据EA87的方法,其中表达是基因表达。

[0665] EA89. 根据EA1-EA88的任一项的方法,其中在所述治疗之前所述癌症的细胞表面上PD-L1表达如使用联合阳性评分(CPS)或肿瘤比例评分(TPS)确定的小于1%。

[0666] EA90. 根据EA1-EA89的任一项的方法,其中所述受试者先前对至少一种先前治疗无应答或应答不足。

[0667] EA91. 根据EA90的方法,其中至少一种所述先前治疗是使用PD-1-结合分子或PD-L1-结合分子的治疗。

[0668] EB1. 用于治疗受试者的癌症的PD-1 x LAG-3双特异性分子,其中以约120mg至约800mg的固定剂量施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子。

[0669] EB2. 根据EB1的PD-1 x LAG-3双特异性分子,其中所述癌症特征在于TA的表达,且其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子与TA-结合分子组合使用。

[0670] EB3. 以下的组合:

[0671] (I) TA-结合分子;和

[0672] (II) (a) PD-1 x LAG-3双特异性分子;或

[0673] (b) PD-1-结合分子与LAG-3-结合分子组合;或

[0674] (c) PD-L1 x LAG-3双特异性分子;或

[0675] (d) PD-L1-结合分子与LAG-3-结合分子组合,

[0676] 来治疗特征在于所述TA的表达的癌症。

[0677] EB4. 根据EB2,或EB3的组合,或EB7的组的PD-1 x LAG-3双特异性分子,其中所

述TA-结合分子包括ADCC-增强的Fc结构域。

[0678] EB5. 根据EB2或EB4的任一项目的PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或EB2-4的任一项目的组合, 或EB7-8的任一项目的组合, 其中:

[0679] (a) 每种分子在分开的组合物中; 或

[0680] (b) 每种分子在相同的组合物中; 或

[0681] (c) 所述PD-1-结合分子和所述LAG-3-结合分子在相同的组合物中, 且所述TA-结合分子在分开的组合物中; 或

[0682] (d) 所述PD-L1-结合分子和所述LAG-3-结合分子在相同的组合物中, 且所述TA-结合分子在分开的组合物中。

[0683] EB6. 根据EB2或EB4-EB5的任一项目的PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或EB3-5的任一项目的组合, 或EB7-EB9的任一项目的组合, 其中所述TA-结合分子是抗体。

[0684] EB7. 根据EB3-EB6的任一项目的组合, 其中所述PD-1-结合分子是抗体。

[0685] EB8. 根据EB3-EB6的任一项目的组合, 其中所述PD-L1-结合分子是抗体。

[0686] EB9. 根据EB3-EB8的任一项目的组合, 其中所述LAG-3-结合分子是抗体。

[0687] EB10. 根据EB3-EB6的任一项目的组合, 其中使用所述TA-结合分子和所述PD-1 x LAG-3双特异性分子。

[0688] EB11. 根据EB3-EB9的任一项目的组合, 其中使用所述TA-结合分子和所述PD-1-结合分子与所述LAG-3-结合分子组合。

[0689] EB12. 根据EB3-EB6的任一项目的组合, 其中使用所述TA-结合分子和所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0690] EB13. 根据EB3-EB9的任一项目的组合, 其中使用所述TA-结合分子和所述PD-L1-结合分子与所述LAG-3-结合分子组合。

[0691] EB14. 根据EB4-EB6的任一项目PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或根据EB4-EB9的任一项目的组合, 其中所述ADCC-增强的Fc结构域包括:

[0692] (a) 工程化的糖型; 和/或

[0693] (b) 相对于野生型Fc区的氨基酸替换。

[0694] EB15. 根据EB14的PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或根据EB14的组合, 其中所述ADCC-增强的Fc结构域包括工程化的糖型, 其是不含有岩藻糖的复合的N-糖苷连接的糖链, 和/或其包括平分O-GlcNAc。

[0695] EB16. 根据EB14或EB15的PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或根据EB14或EB15的组合, 其中所述ADCC-增强的Fc结构域包括选自F243L、R292P、Y300L、V305I、I332E和P396L的一种或多种氨基酸替换。

[0696] EB17. 根据EB14-EB16的任一项目的PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或根据EB14-EB16的任一项目的组合, 其中所述ADCC-增强的Fc结构域包括选自由下述组成的组中的氨基酸替换:

[0697] (a) 选自由下述组成的组中的一个替换:

[0698] F243L、R292P、Y300L、V305I、I332E和P396L;

[0699] (b) 选自由下述组成的组中的两个替换:

[0700] (1) F243L和P396L;

- [0701] (2) F243L和R292P;
- [0702] (3) R292P和V305I;和
- [0703] (4) S239D和I332E;
- [0704] (c) 选自由下述组成的组中的三个替换:
- [0705] (1) F243L、R292P和Y300L;
- [0706] (2) F243L、R292P和V305I;
- [0707] (3) F243L、R292P和P396L;和
- [0708] (4) R292P、V305I和P396L;
- [0709] (d) 选自由下述组成的组中的四个替换:
- [0710] (1) F243L、R292P、Y300L和P396L;和
- [0711] (2) F243L、R292P、V305I和P396L;或
- [0712] (e) 选自由下述组成的组中的五个替换:
- [0713] (1) F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L;和
- [0714] (2) L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L,
- [0715] 其中编号为Kabat中的EU索引的编号。
- [0716] EB18. 根据EB14-EB16的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB14-EB16的任一项的组合,其中所述ADCC-增强的Fc结构域包括氨基酸替换:L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L,其中编号为Kabat中的EU索引的编号。
- [0717] EB19. 根据EB14-EB16的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB14-EB16的任一项的组合,其中所述ADCC-增强增强Fc结构域包括氨基酸替换:S239D和I332E,其中编号为Kabat中的EU索引的编号。
- [0718] EB20. 根据EB2、EB4-EB6或EB14-EB19的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB19的任一项的组合,其中所述TA选自表6A或表6B。
- [0719] EB21. 根据EB2、EB4-EB6或EB14-EB19的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB19的任一项的组合,其中所述TA-结合分子包括选自表7的抗体的VL和VH结构域。
- [0720] EB22. 根据EB3-EB7、EB9、EB11或EB14-EB21的任一项的组合,其中所述PD-1-结合分子是包括下述的抗体:
- [0721] (a) 包括SEQ ID NO:35的氨基酸序列的PD-1 VL结构域,和包括SEQ ID NO:39的氨基酸序列的PD-1 VH结构域;
- [0722] (b) 选自表1的抗PD-1抗体的VH和VL结构域;或
- [0723] (c) 选自表1的抗PD-1抗体的轻链和重链。
- [0724] EB23. 根据EB3-EB6、EB8-EB9或EB13-EB21的任一项的组合,其中所述PD-L1-结合分子是包括下述的抗体:
- [0725] (a) 包括SEQ ID NO:43的氨基酸序列的PD-L1 VL结构域,和包括SEQ ID NO:49氨基酸序列的PD-L1 VH结构域;
- [0726] (b) 选自表2的抗PD-L1抗体的VH和VL结构域;或
- [0727] (c) 选自表2的抗PD-L1抗体的轻链和重链。
- [0728] EB24. 根据EB3-EB9、EB11或EB13-EB23的任一项的组合,其中所述LAG-3-结合分子

是包括下述的抗体：

[0729] (a) 包括SEQ ID NO:51的氨基酸序列的LAG-3 VL结构域,和包括SEQ ID NO:55的氨基酸序列的LAG-3 VH结构域;

[0730] (b) 选自表3的抗LAG-3抗体的VH和VL结构域;或

[0731] (c) 选自表3的抗LAG-3抗体的轻链和重链。

[0732] EB25. 根据EB2、EB4-EB6或EB14-EB21的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB6、EB10或EB14-EB21的任一项的组合,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子包括:

[0733] (a) 包括SEQ ID NO:35的氨基酸序列的PD-1 VL结构域,和包括SEQ ID NO:39的氨基酸序列的PD-1 VH结构域,或选自表7的抗PD-1抗体的VH和VL结构域;和/或

[0734] (b) 包括SEQ ID NO:51的氨基酸序列的LAG-3 VL结构域,和包括SEQ ID NO:55的氨基酸序列的LAG-3 VH结构域,或选自表9的抗LAG-3抗体的VH和VL结构域;或

[0735] (c) 选自表4-5的基于双特异性抗体的分子。

[0736] EB26. EB2、EB4-EB6或EB14-EB21的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB6、EB10或EB14-EB21的任一项的组合,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子包括:

[0737] (a) PD-1-结合结构域,其包括包含SEQ ID NO:35的CDR_{L1}、CDR_{L2}和CDR_{L3}的轻链可变结构域(VL_{PD-1}),和包含SEQ ID NO:39的PD-1-特异性CDR_{H1}、CDR_{H2}和CDR_{H3}的重链可变结构域(VH_{PD-1});和

[0738] (b) LAG-3-结合结构域,其包括包含SEQ ID NO:51的CDR_{L1}、CDR_{L2}和CDR_{L3}的轻链可变结构域(VL_{LAG-3}),和包含SEQ ID NO:55的LAG-3-特异性CDR_{H1}、CDR_{H2}和CDR_{H3}的重链可变结构域(VH_{LAG-3})。

[0739] EB27. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB26的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB26的任一项的组合,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子包括:

[0740] (a) 两个所述PD-1-结合结构域;和

[0741] (b) 两个所述LAG-3-结合结构域。

[0742] EB28. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB27的任一项的,或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB27的任一项的组合,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子包括SEQ ID NO:35的VL结构域和SEQ ID NO:39的VH结构域。

[0743] EB29. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB28的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB28的任一项的组合,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子包括SEQ ID NO:51的VL结构域,和SEQ ID NO:39的VH结构域。

[0744] EB30. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB29的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB2-6、EB10、EB 12、EB14-EB21或EB25-EB29的任一项的组合,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子包括Fc区。

[0745] EB31. 根据EB30的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB30的组合,其中所述Fc区是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型的。

[0746] EB32. 根据EB30或EB31的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB30或EB31的任一项的组合,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异

性分子进一步包括铰链结构域。

[0747] EB33. 根据EB32的PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或根据EB32的组合, 其中所述Fc区和所述铰链结构域都是IgG4同种型的, 和其中所述铰链结构域包括稳定化突变。

[0748] EB34. 根据EB30-EB33的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或根据EB30-EB33的任一项的组合, 其中所述Fc区是包括下述的变体Fc区:

[0749] (a) 降低变体Fc区对Fc γ R的亲力的一个或多个氨基酸修饰; 和/或

[0750] (b) 提高变体Fc区的血清半衰期的一个或多个氨基酸修饰。

[0751] EB35. 根据EB34的PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或根据EB34的组合, 其中所述降低变体Fc区对Fc γ R的亲力的修饰包括L234A; L235A; 或L234A和L235A的替换, 其中所述编号为Kabat中的EU索引的编号。

[0752] EB36. 根据EB34或EB35的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或根据EB34或EB35的任一项的组合, 其中所述提高变体Fc区的血清半衰期的修饰包括M252Y; M252Y和S254T; M252Y和T256E; M252Y、S254T和T256E; 或K288D和H435K的替换, 其中所述编号为Kabat中的EU索引的编号。

[0753] EB37. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB36的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB36的任一项的组合, 其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子包括SEQ ID NO:59的两条多肽链和SEQ ID NO:60的两条多肽链。

[0754] EB38. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB37的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB37的任一项的组合, 其中以约120mg的固定剂量施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0755] EB39. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB37的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB37的任一项的组合, 其中以约300mg的固定剂量施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0756] EB40. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB37的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB37的任一项的组合, 其中以约400mg的固定剂量施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0757] EB41. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB37的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB37的任一项的组合, 其中以约600mg的固定剂量施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0758] EB42. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB37的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB37的任一项的组合, 其中以约800mg的固定剂量施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0759] EB43. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB42的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB42的任一项的组合, 其中约每2周一次施用所述固定剂量。

[0760] EB44. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB42的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子, 或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB42的任一项的组合, 其中约每3周一次施用所述固定剂量。

[0761] EB45. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21、EB25-EB37、EB40或EB43的任一项的PD-1 x

LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21、EB25-EB37、EB40或EB43的任一组的组合,其中以约400mg的固定剂量约每2周一次施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0762] EB46. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21、EB25-EB37、EB41或EB43的任一组的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21、EB25-EB37、EB41或EB43的任一组的组合,其中以约600mg的固定剂量约每2周一次施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0763] EB47. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21、EB25-EB37、EB41或EB44的任一组的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21、EB25-EB37、EB41或EB44的任一组的组合,其中以约600mg的固定剂量约每3周一次施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0764] EB48. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21、EB25-EB37、EB42或EB44的任一组的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21、EB25-EB37、EB42或EB44的任一组的组合,其中以约800mg的固定剂量约每3周一次施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子。

[0765] EB49. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB48的任一组的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21、EB25-EB48的任一组的组合,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子通过静脉内(IV)输注施用。

[0766] EB50. 根据EB49的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB49的组合,其中所述静脉内(IV)输注在30-240分钟的时间段内。

[0767] EB51. 根据EB49的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB49的组合,其中所述静脉内(IV)输注在约30-90分钟的时间段内。

[0768] EB52. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB51的任一组的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB51的任一组的组合,其中所述癌症是肾上腺癌、AIDS相关的癌、肺泡状软组织肉瘤、肛门癌(包括肛管鳞状细胞癌(SCAC))、膀胱癌、骨癌、脑和脊髓癌、乳腺癌(包括HER2⁺乳腺癌或三阴性乳腺癌(TNBC))、颈动脉体瘤、子宫颈癌(包括HPV相关的子宫颈癌)、软骨肉瘤、脊索瘤、嫌色性肾细胞癌、透明细胞癌、结肠癌、结直肠癌、增生性小圆形细胞肿瘤、室管膜细胞瘤、子宫内膜癌(包括非选择性子宫内膜癌、MSI高子宫内膜癌、dMMR子宫内膜癌和/或POLE核酸外切酶结构域突变阳性子宫内膜癌)、尤因氏肉瘤、骨骼外黏液样软骨肉瘤、胆囊或胆道癌(包括胆管癌胆道癌)、胃癌、胃食管交界处(GEJ)癌、妊娠滋养细胞疾病、生殖细胞瘤、胶质母细胞瘤、头颈癌(包括头颈的鳞状细胞癌(SCCHN))、血液系统恶性肿瘤、肝细胞癌、胰岛细胞瘤、卡波西氏肉瘤、肾癌、白血病(包括、急性髓样白血病)、脂肪肉瘤/恶性脂肪瘤、肝癌(包括肝细胞肝癌(HCC))、淋巴瘤(包括、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL))、肺癌(包括小细胞肺癌(SCLC)、非-小细胞肺癌(NSCLC))、成神经管细胞瘤、黑素瘤(包括葡萄膜黑素瘤)、脑膜瘤、默克尔细胞癌、间皮瘤(包括间皮咽癌)、多发性内分泌肿瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征、成神经细胞瘤、神经内分泌肿瘤、卵巢癌、胰腺癌、甲状腺乳头状癌、甲状旁腺肿瘤、儿科癌症、周围神经鞘肿瘤、咽癌、嗜铬细胞瘤、垂体肿瘤、前列腺癌(包括转移性去势抵抗性前列腺癌(mCRPC))、葡萄膜后黑素瘤、肾转移癌、横纹肌样瘤、横纹肌肉瘤、肉瘤、皮肤癌、童年期的的小圆形蓝细胞瘤(包括成

神经细胞瘤和横纹肌肉瘤)、软组织肉瘤、鳞状细胞癌、胃癌、滑膜肉瘤、睾丸癌、胸腺癌、胸腺瘤、甲状腺癌或子宫癌。

[0769] EB53. 根据EB52PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB52的组合,其中所述癌症肛门癌、乳腺癌、胆道癌、子宫颈癌、结直肠癌、子宫内膜癌、胃癌、GEJ癌症、头颈癌、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑素瘤、卵巢癌或前列腺癌。

[0770] EB54. 根据EB52或EB53的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB52或EB53的任一项的组合,其中所述癌症是HER2⁺乳腺癌或TNBC。

[0771] EB55. 根据EB52或EB53的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB52或EB53的任一项的组合,其中所述癌症是胆管癌胆道癌。

[0772] EB56. 根据EB52或EB53的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB52或EB53的任一项的组合,其中所述癌症是HPV相关的子宫颈癌。

[0773] EB57. 根据EB52或EB53的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB52或EB53的任一项的组合,其中所述癌症是SCCHN。

[0774] EB58. 根据EB52或EB53的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB52或EB53的任一项的组合,其中所述癌症是HCC。

[0775] EB59. 根据EB52或EB53的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB52或EB53的任一项的组合,其中所述癌症是SCLC或NSCLC。

[0776] EB60. 根据EB52或EB53的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB52或EB53的任一项的组合,其中所述癌症是NHL。

[0777] EB61. 根据EB52或EB53的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB52或EB53的任一项的组合,其中所述癌症是前列腺癌。

[0778] EB62. 根据EB52或EB53的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB52或EB53的任一项的组合,其中所述癌症是胃癌。

[0779] EB63. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB62的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB62的任一项的组合,其中所述TA-结合分子是包括包含轻链可变结构域(VL_{HER2})和重链可变结构域(VH_{HER2})的HER2-结合结构域的HER2-结合分子,其中:

[0780] (a) 所述轻链可变结构域(VL_{HER2})包括包含SEQ ID NO:61的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3的马格妥昔单抗的轻链可变结构域,和所述重链可变结构域(VH_{HER2})包括包含SEQ ID NO:66的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3的马格妥昔单抗的重链可变结构域;

[0781] (b) 所述轻链可变结构域(VL_{HER2})包括曲妥珠单抗的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3和所述重链可变结构域(VH_{HER2})包括曲妥珠单抗的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3;

[0782] (c) 所述轻链可变结构域(VL_{HER2})包括培妥珠单抗的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3和所述重链可变结构域(VH_{HER2})包括培妥珠单抗的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3;或

[0783] (d) 所述轻链可变结构域(VL_{HER2})包括hHER2 MAB-1的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3和所述重链可变结构域(VH_{HER2})包括hHER2 MAB-1的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3。

[0784] EB64. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB63的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB63的任一项的组合,其中所述HER2-结合分子是抗HER2抗体。

[0785] EB65. 根据EB64的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB64的组合,其中所述抗HER2抗体是马格妥昔单抗,和其中以约6mg/kg至约18mg/kg的剂量约每3周一次施用马格妥

昔单抗。

[0786] EB66. 根据EB65的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB65的组合,其中以选自由约6mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg和约18mg/kg组成的组中剂量约每3周一次施用马格妥昔单抗。

[0787] EB67. 根据EB65或EB66的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB65或EB66的任一项的组合,其中以约600mg的固定剂量约每3周一次施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子和以约15mg/kg的剂量约每周3周一次施用马格妥昔单抗。

[0788] EB68. 根据EB63-67的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB63-EB67的任一项的组合,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述组合与化疗剂一起施用。

[0789] EB69. 根据EB63-EB68的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB63-EB68的任一项的组合,其中所述癌症是表达HER2的癌症。

[0790] EB70. 根据EB69的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB69的组合,其中所述表达HER2的癌症是乳腺癌、转移乳腺癌、膀胱、胃癌、GEJ癌症、卵巢癌、胰腺癌或胃癌。

[0791] EB71. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB62的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB62的任一项的组合,其中所述TA-结合分子是包括包含轻链可变结构域(VL)和重链可变结构域(VH)的B7-H3-结合结构域的B7-H3-结合分子,其中:

[0792] 所述VL包括SEQ ID NO:71的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3,和所述VH包括SEQ ID NO:76的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3。

[0793] EB72. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21、EB25-EB62或EB71的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-62或EB71的任一项的组合,其中所述TA-结合分子是依诺妥珠单抗。

[0794] EB73. 根据EB72的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB72的组合,其中以约6mg/kg至约18mg/kg的剂量约每3周一次施用所述依诺妥珠单抗。

[0795] EB74. 根据EB73的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB73的组合,其中以选自由约6mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg和约18mg/kg组成的组中的剂量约每3周一次施用依诺妥珠单抗。

[0796] EB75. 根据EB73或EB74的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB73或EB74的任一项的组合,其中以约600mg的固定剂量约每3周一次施用所述PD-1 x LAG-3双特异性分子且以约15mg/kg的剂量约每3周一次施用依诺妥珠单抗。

[0797] EB76. 根据EB71-EB75的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB71-EB75的任一项的组合,其中所述癌症是表达B7-H3的癌症。

[0798] EB77. 根据EB76的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB76的组合,其中所述表达B7-H3的癌症肛门癌、SCAC、乳腺癌、TNBC、头颈癌、SCCHN、肺癌、NSCLC、黑素瘤、葡萄膜黑素瘤、前列腺癌、mCRPC。

[0799] EB78. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB77的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB77的任一项的组合,其中所述TA-结合分子通过静脉内(IV)输注施用。

[0800] EB79. 根据EB78的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB78的组合,其中所述IV输注在约30-240分钟的时间段内。

[0801] EB80. 根据EB78的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB78的组合,其中所述IV输注在约30-90分钟的时间段内。

[0802] EB81. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB80的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21、EB25-EB80的任一项的组合,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子和所述TA-结合分子在分开的药物组合物中同时施用给所述受试者,其中所述分开的组合物在24小时周期内施用。

[0803] EB82. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB80的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21、EB25-EB80的任一项的组合,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子和所述TA-结合分子在分开的药物组合物中依次施用给所述受试者,其中第二施用组合物在施用第一施用组合物之后至少24小时施用。

[0804] EB83. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB82的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB82的任一项的组合,其中所述受试者先前已经用CAR T-细胞疗法治疗。

[0805] EB84. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB83的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB6、EB10、EB14-EB21、EB25-EB82的任一项的组合,其中所述PD-1 x LAG-3双特异性分子或所述PD-L1 x LAG-3双特异性分子与使用CAR T-细胞疗法的治疗同时或在用CAR T-细胞疗法的治疗后施用。

[0806] EB85. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB84的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB84的任一项的组合,其中在所述治疗之前所述癌症的活检中存在表达LAG-3的细胞。

[0807] EB86. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB85的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB85的任何的组合,其中在所述治疗之前所述癌症的活检中存在表达PD-1的细胞。

[0808] EB87. 根据EB1-EB86的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或EB3-EB86的任何的组合,其中在治疗之前癌症的活检中LAG-3和PD-1的共表达指示所述患者是这种方法的候选者。

[0809] EB88. 根据EB87的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB87的组合,其中表达是基因表达。

[0810] EB89. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB88任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB88的任一项的组合,其中在所述治疗之前所述癌症的细胞表面上PD-L1表达如使用联合阳性评分(CPS)或肿瘤比例评分(TPS)确定的小于1%。

[0811] EB90. 根据EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB89的任一项的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB3-EB89的任一项的组合,其中所述受试者先前对至少一种先前治疗无应答或应答不足。

[0812] EB91. 根据EB90的PD-1 x LAG-3双特异性分子,或根据EB88的组合,其中至少一种所述先前治疗是使用PD-1-结合分子或PD-L1-结合分子的治疗。

[0813] 实施例

[0814] 提供以下实施例是以更好地阐释所要求保护的发明,而不是解释为限制发明的范围。在提到具体材料的范围内,仅仅是为了阐释的目的,而不旨在限制本发明。本领域技术人员可在不行使发明能力且不偏离本发明范围的情况下开发出等效的手段或反应物。

[0815] 实施例1

[0816] I阶段研究

[0817] 为了确定患者对DART-I (结合PD-1和LAG-3的双特异性分子,也称为MGD013和tebotelimab)的耐受性,进行了I阶段临床研究。研究包括剂量递增阶段和种群扩增阶段。研究由每个临床地点的机构审查委员会批准,并且所有患者签署了书面知情同意书。

[0818] 为了初始剂量递增和剂量扩增种群,每两周一次(Q2W)施用DART-I。为了研究的目的,使用八(8)周(56天)周期,其中DART-I从第一周期的每两周时间段的第1天开始Q2W施用(即,在第1天,和在第15天±1天、第29天±1天和第43天±1天施用),并且从每个随后周期的第1天±1天开始Q2W施用。患者可接收多个8周Q2W治疗周期,其取决于对研究治疗耐受性和应答。

[0819] 在另外扩增种群中,每三周一次(Q3W)施用DART-I。为了研究的目的,使用三(3)周周期(每个为21天)。DART-I在第一周期的第1天和在每个随后周期的第1天±3天施用。患者可接收多个3周(Q3W)处理周期,其取决于对研究治疗耐受性和应答。

[0820] 在组合扩增种群中,DART-I和抗HER2抗体马格妥昔单抗(具有ADCC-增强的Fc结构域的TA-结合分子)都每三周一次(Q3W)施用。为了研究的目的,使用三(3)周周期(每个为21天),其中DART-I和马格妥昔单抗在第一周期的第1天和每个随后周期的第1天±3天施用。患者可接收多个3周Q3W处理周期,其取决于对研究治疗耐受性和应答。

[0821] 在这些研究中,将DART-I的剂量稀释至标准生理盐水的0.12mg/mL至6.4mg/mL的浓度范围且使用商业上可获得的注射器或输注泵通过IV线在约60至75分钟内施用。

[0822] 在这些研究中,将马格妥昔单抗的剂量稀释至标准生理盐水的2.4至7.2mg/mL的浓度且使用商业上可获得的注射器或输注泵通过IV输注在约30-120分钟内施用。

[0823] 抗肿瘤活性使用以下评估:常规的实体肿瘤的反应评估标准(RECIST),版本1.1(Eisenhauer,E.A.等,(2009)“New Response Evaluation Criteria In Solid Tumours: Revised RECIST Guideline (Version 1.1)”*Eur.J.Cancer.*45(2):228-247);实体肿瘤的免疫相关的反应评估标准(irRECIST)(Wolchok,J.D.等,(2009)“Guidelines For The Evaluation Of Immune Therapy Activity In Solid Tumors:Immune-Related Response Criteria.”*Clin.Cancer Res.*15:7412-7420)或改进的国际工作组标准(即,the Lugano Classification;Cheson,B.D.等,(2014)“Recommendations For Initial Evaluation, Staging,And Response Assessment Of Hodgkin And Non-Hodgkin Lymphoma:The Lugano Classification.”*J.Clin.Oncol.*32:3059-3068),用于应答评估,如果适用的话。

[0824] 在剂量递增阶段中将从1mg至多达1200mg依次逐步增加固定剂量在1至6名患者的连续的种群中施用Q2W,评估每个种群(表8)。在各种剂量水平中,评估为剂量递增目的不可评价的患者被替换。还将另外的患者加入多个感兴趣的剂量水平,以获得另外的临床经验。在剂量递增阶段中,加入具有任何组织学的不可切除、局部晚期和或转移实体肿瘤的患者。47名患者(49%检查点-经验的)以剂量递增治疗且没有限定最大耐受剂量。

表 8 - 剂量递增种群

剂量水平	DART-I 剂量	种群
剂量水平 1	1 mg	Cohort 1
剂量水平 2	3 mg	Cohort 2
剂量水平 3	10 mg	Cohort 3
剂量水平 4	30 mg	Cohort 4
剂量水平 5	120 mg	Cohort 5
剂量水平 6	400 mg	Cohort 6
剂量水平 7	800 mg	Cohort 7
剂量水平 8	1200 mg	Cohort 8

[0825]

[0826] 基于包括但不限于观察的临床活性、外周受体占有率和药物动力学 (PK) 的来自剂量递增阶段的全部临床数据,初步选择600mg的剂量,Q2W施用作为给药方案以评估种群扩增阶段。

[0827] 具有不同的恶性疾病(包括:NSCLC(先前检查点治疗后和检查点-初始种群);SCCHN(先前检查点治疗后和检查点-初始种群)、SCLC、胆管癌胆管癌、HCC、子宫颈癌、TNBC、上皮卵巢癌(EOC)、DLBCL和胃癌)的患者在种群扩增阶段的初始种群中用DART-I以600mg的固定剂量施用Q2W进行治疗。基于以下详细的部分药物动力学(PK)和受体占有率(RO)资料,种群扩增阶段(具有胃癌或EOC的最初患者)的另外种群用DART-I以600mg的固定剂量施用Q3W进行治疗。

[0828] 在单独的种群中,加入的表达HER2肿瘤抗原的晚期或转移实体肿瘤(即,HER2+实体肿瘤,特别地HER2+胃或乳腺癌)的患者接收DART-I和马格妥昔单抗,在同一天依次施用。施用DART-I(300mg或600mg),随后施用马格妥昔单抗(15mg/kg)Q3W。该种群遵循常规的3+3方式,开始招募的3名患者以DART-I 300mg剂量水平,随后患者用DART-I以600mg剂量水平治疗。

[0829] 药物动力学(PK)

[0830] 在正在进行的研究中,评估了DART-I以1至1200mg Q2W的给药方案范围的药物代谢动力学特征。在1-2周期的第1天第一剂量输注的开始后的(i)预剂量、(ii)在输注EOI的结束处和(iii)2、4、24、72、168小时,收集血清PK样品。在1-2周期期间施用每个另外剂量的预剂量和EOI,收集另外血清PK样品,且使用ELISA测量人血清的DART-I浓度。简言之,测定板用2 μ g/mL的捕获抗体(识别DART-I的LAG-3结构域的抗个体基因型抗体,“抗ID”)涂覆过夜。在用1X磷酸盐水磷酸盐缓冲液(PBS)中的0.5%牛血清白蛋白(BSA)与0.1%Tween-20的阻断非特异性位点后,用DART-I标准校准器、质量控制和测试样品孵育板。固定化的抗ID抗体捕获标准校准器、质量控制和测试样品中存在的DART-I。捕获的DART-I通过依次添加0.25 μ g/mL2A5-生物素(生物素化的抗EK螺旋抗体),随后1:10,000稀释的链霉抗生物素-HRP得到检测。结合的HRP活性通过由ELISA PICO底物生成的发光得到量化。使用Victor X4板阅读器测量发光强度作为相对光单位(RLU)。通过将DART-I标准品与四参数逻辑模型拟合RLU信号产生标准曲线。血清样品中DART-I的浓度通过使用将光强度与DART-I浓度1/y²加权相关的四参数曲线拟合的标准曲线插值来确定。

[0831] 初步PK分区建模方式用于分析使用WinNonlin PK分析程序(Phoenix® 64 WinNonlin®,版本8.0,Certara Inc.,Princeton,NJ)的数据。使用的模型是开放的一个或两个分区和加权因子为预测的浓度平方的倒数。拟合模型至用WinNonlin产生的初始评估的第1周期,第1天(C1D1),第一剂量资料。

[0832] 为了初步PK分析,评估了四十五名受试者(所有给药Q2W)(1名患者以1和3mg Q2W用药,4名患者以10mg Q2W用药、5名患者以30mg Q2W用药、6名患者以120mg Q2W用药、9名患者以400mg Q2W用药、8名患者以600mg Q2W用药、7名患者以800mg Q2W用药和4名患者以1200mg Q2W用药)。PK特征在图2中呈现。

[0833] PK参数在表9中通过处理总结。这些结果指示,第一剂量DART-I暴露以剂量相关方式增加。DART-I C_{max} 以剂量比例方式增加(斜率:0.985[90%置信区间(CI):0.949-1.022])和第一剂量AUC_(INF)在1至1200mg的剂量范围内以大于剂量比例方式增加(斜率:1.345[90%CI:1.294-1.397])。总身体清除(CL)值随着剂量增加而减少,并且分布的稳态容积(V_{ss})和消除半衰期($t_{1/2}$)值二者在1至1200mg的剂量范围内随着剂量增加而增加。然而,CL、 V_{ss} 和 $t_{1/2}$ 似乎不依赖于400至1200mg的剂量范围内的剂量,尽管随着增加剂量注意到有轻微趋势。DART-I的平均半衰期是约11天,且分布的容积指示DART-I分布仅限于血容量。

[0834]

DART-I 用药 (以 mg 剂量)	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	AUC _(INF) ($\mu\cdot\text{h/mL}$)	CL (mL/h)	V_{ss} (mL)	$t_{1/2}$ (h)
	GeoMean (%CV)	GeoMean (%CV)	平均值 (SD)	平均值 (SD)	平均值 (SD)
1 Q2W (n=1)	0.4	6	159.4	2358	10.3
3 Q2W (n=1)	1.2	44	68.5	2470	25.0
10 Q2W (n=4)	3.0 (25)	207 (30)	49.9 (13.7)	2818 (700)	40.4 (10.1)
30 Q2W (n=5)	8.0 (13)	590 (26)	52.2 (12.8)	3756 (505)	51.5 (9.8)
120 Q2W (n=6)	32.9 (20)	5503 (8)	21.9 (1.7)	4442 (975)	152.5 (40.9)
400 Q2W (n=9)	119.7 (26)	26213 (41)	16.5 (7.8)	4857 (1866)	247.3 (157.2)
600 Q2W (n=8)	198.7 (26)	50878 (35)	12.5 (5.4)	4515 (1745)	285.3 (116.0)
800 Q2W (n=7)	201.5 (20)	47393 (50)	18.5 (8.2)	6149 (1854)	285.9 (169.3)
1200 Q2W (n=4)	500.0 (18)	121384 (23)	10.1 (2.3)	3888 (1406)	288.3 (106.3)
400 至 1200 Q2W 总体(n=28)	NR	NR	14.9 (7.1)	4944 (1845)	273.7 (137.0)

[0835] 缩写: AUC (INF) = 从时间零外推之无限时间的血清浓度时间曲线的线下面积; C1D1 = 第1周期第1天; C_{max} = 最大观察的血清浓度; CL = 总身体清除; CV = 变异系数; GeoMean = 几何平均值; N = 患者的数量; NR = 未报到过的; Q2W = 每2周一次; SD = 标准偏差; $t_{1/2}$ = 消除半衰期; V_{ss} = 稳态处的分布容积。

[0836] 药效学 (PD)

[0837] 评估了在1至1200mg Q2W的剂量范围内DART-I的受体占有率 (RO) 特征。每种样品

中DART-I的RO通过荧光-启动细胞分选 (FACS) 确定。简言之,每个样品全血的五等分试样分配至五个12x75mm管。两个这些等分试样用DART-I加标-一个加目标样品是每个RO组的平均值。于室温 (RT) 孵育30分钟后,所有等分试样于RT在黑暗中用红色血液细胞裂解缓冲液 (BD Biosciences) 处理15分钟,并且然后以1200rpm离心5分钟。去除上清液且用2ml FBS染色缓冲液 (BD Biosciences) 洗涤含有白细胞的细胞小球。在黑暗于RT,在100 μ L的总体积中,两个等分试样 (一个加标) 用抗体组1染色,两个等分试样 (一个加标) 用抗体组2染色 (参见表10),且一个等分试样用合适的同种型对照染色30分钟。样品用2mL FACS缓冲液洗涤两次。将0.2 μ g的链霉抗生物素-R-藻红蛋白缀合物 (SAPE, Life Technologies) 添加至抗体组2等分试样,其然后在黑暗于RT混合且孵育30分钟,然后用2mL FACS缓冲液洗涤一次。细胞在200 μ L的具有DAPI (0.1 μ g/mL) (组1和2样品) 或不具有DAPI (同种型样品) 的染色缓冲液中再悬浮并且在10分钟后在FACS Canto II上获取。几何平均值荧光强度 (gMFI) 记录了所有时间点的IgG4或EK通道的CD4+或CD8+群体的全部。第1周期第1天 (C1D1) 预剂量样品被认为是从所有样品减去的背景 (如果C1D1预剂量样品数据没有获得,使用同种型样品)。作为百分数 (%) 表达的受体占有率 (RO) 使用以下式计算:

$$[0838] \quad \text{受体占有率(RO)EK或IgG4} = \frac{\text{gMFI样品}_{\text{非加标}} - \text{gMFI背景}}{\text{gMFI样品}_{\text{加标}} - \text{gMFI背景}}$$

$$[0839] \quad \text{受体占有率(RO)EK或IgG4} = \frac{\text{gMFI样品}_{\text{非加标}} - \text{gMFI背景}}{\text{gMFI样品}_{\text{加标}} - \text{gMFI背景}}$$

表 10: 抗体组

荧光示踪的抗体/来源	组 1 μ L/测试	组 2 μ L/测试
Alexafluor 488 (AF488)-缀合抗 PD-1 [非竞争]/MacroGenics	5	-
藻红蛋白(PE)-Cy7 缀合抗 LAG-3 [克隆 3DS223H] (非竞争)/Ebioscience	-	5
生物素缀合抗 EK [克隆 2A5]/MacroGenics	-	10
[0840] PE 缀合抗 IgG4 [克隆 HP6023]/Southern Biotech	2	-
PerCP Cy5.5 缀合抗 CD8 [克隆 RPA-T8]/BD Biosciences	5	5
PE-Cy7 缀合抗 CD45RA [克隆 L48]/BD Biosciences	5	5
APC 缀合抗 CCR7 [克隆 G043H7]/BioLegend	5	5
APC-Cy7 缀合抗 CD4 [克隆 SK3]/BD Biosciences	5	5
V500 缀合抗 CD3 [克隆 SP34-2]/BD Biosciences	5	5
染色缓冲液	68	60

[0841] 为了初步PD分析,评估了五十六名患者 (所有给药Q2W) (1名患者以1和3mg Q2W剂量、3名患者以10mg Q2W剂量、5名患者以30mg Q2W剂量、7名患者以120mg Q2W剂量、9名患者以400mg Q2W剂量、16名患者以600mg Q2W剂量、8名患者以800mg Q2W剂量和6名患者以1200mg Q2W剂量)。在EOI (在施用第1周期或第2周期的第一剂量后输注结束) 和PRE (在施用下一剂量之前) 处CD4+和CD8+细胞的百分比受体占有率 (RO) 在图3A-3D中呈现。DART-I浓度

和结合CD4+和CD8+细胞之间的关系使用E_{max}模型： $E = (E_{\text{最大}} \times C) / (EC_{50} + C)$ 检查；其中E=结合%， $E_{\text{最大}}$ =最大结合%， EC_{50} =产生一半最大效果的浓度，和C=DART-I的浓度。发现DART-I表现出分别对CD4+和CD8+细胞的0.045和0.011 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 EC_{50} 的有效RO。最大RO在整个Q2W给药时间间隔内在剂量 $\geq 120\text{mg}$ 处观察到，和90%的max RO分别对于CD4+和CD8+细胞在0.6和0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 处实现。

[0842] PK和靶标浓度建模

[0843] 基于400mg至1200mg Q2W的给药方案 (n=28) 给药的患者的血清浓度数据 (参见以上关于数据分析和建模的细节) 的另外PK刺激对于1-分区:V和CL和对于2-分区:V₁,V₂,CL和CLD进行。在图4A、4B和4C中分别描绘了使用Q2W、Q3W和Q4W(每四周一次)方案的400、600、800、1000和1200mg剂量模拟的多个剂量中位PK概况。如图4A-4C中显示的,指示DART-I靶向 $\geq 23\mu\text{g}/\text{mL}$ 的谷浓度($C_{\text{谷}}$)的中位PK概况可使用Q2W施用 $\geq 400\text{mg}$ 且使用DART-I使用Q3W方案施用 $\geq 600\text{mg}$ 获得。另外,所有模拟的DART-I剂量和方案导致DART-I $C_{\text{谷}} \geq 4.5\mu\text{g}/\text{mL}$ 的100 x RO EC_{50} 。

[0844] 这些研究支持许多剂量和方案以达到靶阈值谷浓度(23 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。这些研究成支持包括施大于或等于约400mg的本发明的PD-1 x LAG-3双特异性分子Q2W的给药方案的效力,和特别地包括施用约600mg的本发明的PD-1 x LAG-3双特异性分子Q2W的给药方案的效力。这些研究还特别地支持包括施用大于或等于约600mg的本发明的PD-1 x LAG-3双特异性分子Q3W的给药方案的效力。另外,如以上注意到,在整个Q2W给药方案内剂量 $\geq 120\text{mg}$ 处观察到最大RO。因此,这些研究支撑包括施用 \geq 约120mg Q2W的给药方案的效力以提供足以实现最大RO的本发明的PD-1 x LAG-3双特异性分子的靶谷浓度。

[0845] 初始临床发现的总结

[0846] 提供了初始188名患者(Q2W剂量递增中的47名患者(49%检查点-经验的),和Q2W种群扩增中的随后141名患者(33%检查点经验的))的治疗后的结果。治疗相关的不良事件(TRAE)在117/188(62.2%)名患者中发生,最常见的是疲劳(n=33)和恶心(n=20)。 ≥ 3 级TRAE的速率是19.7%。免疫相关不良事件与用抗PD-1抗体观察到的事件是一致的。平均值半衰期是约11天;外周血液流式细胞术分析确认在剂量 $\geq 120\text{mg}$ 的治疗期间完全且持续靶命中结合。

[0847] 在首批39名用DART-I单疗法以以1至1200mg范围剂量Q2W治疗的应答可评估的剂量递增患者中,在依照RECIST 1.1具有三阴性乳腺癌(TNBC)、间皮瘤或胃癌的患者中观察到3名确认部分应答(PR),而19名患者具有稳定的疾病。尽管研究正在进行中,数据也在逐渐成熟,但图5呈现了瀑布图,表明了120名接受以600mg Q2W的DART-I单疗法的应答可评估种群扩增患者之中靶病灶减少的百分比。在单疗法实体肿瘤扩增种群(即排除弥漫性大B细胞淋巴瘤[DLBCL])之中,迄今已经观察到依照RECIST 1.1,7名客观应答(3名确认/4名未确认),包括6名PR(卵巢、NSCLC和TNBC[每个n=2])和1名完全应答[CR](NSCLC)。51名患者具有稳定疾病。在TNBC、EOC、NSCLC(检查点抑制剂(CPI)初始和先期PD-1检查点后)扩增种群中,75名应答可评估的患者的进一步结果总结在表11中。

表 11: 应答率(75 名可评估的患者)-单疗法的总结

	TNBC	EOC	NSCLC CPI-初始	NSCLC PD1 后
[0848] 可评估的患者	23	23	14	15
ORR (确认)	4.3% (1/23)	8.7% (2/23)	14.3% (2/14)	0% (0/15)
ORR (确认和未确认)	17.4% (4/23)	8.7% (2/23)	21.4% (3/14)	13.3% (2/15)
SD	34.8 (8/23)	43.5 (10/23)	50% (7/14)	53.3% (8/15)
DCR	39.1% (9/23)	52.2 (12/23)	64.3% (9/14)	53.3% (8/15)

[0849] 在DLBCL扩增种群中,在2名可评估的患者中,按照Lugano分类已经观察到1名CR和1名PR。具体地,DLBCL患者状态-CD19靶向CAR T细胞复发后,在单次DART-I输注(600mg)后经历了CR。检查点抑制剂初始NSCLC患者(叶切除术和卡铂+培美曲塞治疗后)在8周的周期(四次施用DART-I 600mg Q2W)后经历了CR。表12中总结了DLBCL扩增种群中13例应答可评估的患者的进一步结果。在这个较大的组中,7名患者的应答涵盖了启动B-细胞(ABC)、生殖中心B细胞(GCB)和双击(MYC/BCL2)分子亚型。应答持续时间从1(第2次搜索数据待定)至168天的范围,7名应答者中有6名保持应答。在重度预治疗的R/R DLBCL患者中,单疗法普遍耐受良好。输液相关反应可控,并且没有肿瘤裂解综合症的证据。这些结果表明了在CAR T经验和初始R/R DLBCL患者中的抗肿瘤活性,代表了各种分子亚型,初步ORR:53.8%。

表 12: 应答率(13 名可评估的患者)-单疗法的总结

	可评估的患者的应答数量(%)†		
	CAR T 后 (N=6)	CAR T 初始(N=7)	总数(N=13)
[0850] 最佳总体应答‡			
CR	2 (33.3)	0 (0)	2 (15.4)
PR	0 (0)	5 (71.4)	5 (38.5)
稳定疾病	0 (0)	0 (0)	0 (0)
进行性疾病	4 (66.7)	2 (28.6)	6 (46.2)
ORR, n (%)	2 (33.3)	5 (71.4)	7 (53.8)
DCR, n (%)	2 (33.3)	5 (71.4)	7 (53.8)

[0851] †用至少一种基线后肿瘤评估治疗患者,和排除由于死亡(n=2)和不良事件(n=1)首次搜索之前停止治疗的3名患者

[0852] ‡依照Lugano分类评估肿瘤

[0853] 在用DART-I与抗HER-2抗体(马格妥昔单抗)组合治疗具有HER-2+肿瘤的患者的人群中,在治疗的前5名可评估的患者之中,有2名HER2+乳腺癌患者经历了部分应答(PR),其中1名确认,1名未确认。具体地,一名重度预治疗的乳腺癌患者,具有胸壁广泛受累且肝和肺的转移,在单次组合施用后两周出现了戏剧性的疾病退化,并且在第一次治疗的疾病评估中表现出PR。另外,一些患者在先前的抗PD-1疗法后也观察到了客观应答。以下提供组合种群的其他结果。

[0854] 对治疗前的肿瘤活检样本进行LAG-3表达和PD-L1表达的评估。简言之,在Ventana Discovery Ultra平台上使用LAG-3Ab克隆EPR4392(2)(Abcam) IHC测定法检测LAG-3表达。阳性定义为每40x放大的热点场(HSF)至少一个LAG-3+ve肿瘤-渗入淋巴细胞(TIL)。PD-L1TPS/CPS表达是按照Agilent PD-L1(22C3) pharmDx试剂盒用法说明确定的。如本文使用

的,“-ve”表示“阴性”和“+ve”表示“阳性”。

[0855] 进行了回顾性免疫组织化学(IHC)。简言之,来自TNBC、EOC和NSCLC扩展种群的存档活检通过IHC分析LAG-3(N=46)或PD-L1(N=45)。LAG-3Ab克隆EPR4392(2)(Abcam)IHC测定法在Ventana Discovery Ultra平台上进行。通过计算每40x场跨越5个LAG-3+热点的LAG-3+细胞的平均值确定LAG-3得分。PD-L1表达按Agilent PD-L1(22C3) pharmDx试剂盒确定;TPS(NSCLC)按解释手册计算,CPS(EOC,TNBC)计算如下:PD-L1+细胞(肿瘤和免疫)/存活肿瘤细胞总数 $\times 100$ 。CPS<1或TPS<1%被认为阴性。图6A和6B分别绘制了个体患者的LAG-3和PD-L1评分,并指示了临床应答。图6C绘制了通过临床应答绘制的LAG-3评分。

[0856] 另外,对从DLBCL患者(CD19靶向CAR T细胞复发后)获得的活检样本进行IHC分析,该患者在单剂量DART-I后展示出完全应答。CAR T-细胞治疗前和后的淋巴结活检样品(DART-I治疗前)通过使用HALO®图像分析平台进行多重IF(荧光)染色,评估CD3(T-细胞标志物)、CD79a(B细胞标志物)以及PD-1和LAG-3的表达。DAPI染色用于确定总细胞数和每个标志物的阳性细胞数。单一、双重和三重阳性细胞的数量,占DAPI染色细胞的百分比在表13中呈现,并且显示PD-1和/或LAG-3和/或CD3阳性细胞的数量在CAR T-细胞治疗后显著增加。LAG-3的表达是该分析中检查的活检样本中观察到的最高的。

表 13: 单、双和三阳性细胞的总结

染色	CAR T-细胞前	CAR T-细胞后
	总 DAPI 细胞的%	总 DAPI 细胞的%
PD-1+ve 细胞	0.1	34.0
LAG-3+ve 细胞	0.0	26.7
CD3+ve 细胞	0.0	51.9
CD79a+ve 细胞	12.5	11.3
[0857] 双 PD-1+ve/LAG-3+ve 细胞	0.0	19.2
双 PD-1+ve/CD3+ve 细胞	0.0	28.6
双 PD-1+ve/CD79a+ve 细胞	0.05	7.1
双 LAG-3+ve/CD3+ve 细胞	0.0	21.2
双 LAG-3+ve/CD79a+ve 细胞	0.0	5.1
双 CD3+ve/CD79a+ve 细胞	0.003	7.9
三 CD3+ve/LAG-3+ve/PD-1+ve 细胞	0.0	16.7
三 CD79a+ve/PD-1+ve/LAG-3+ve 细胞	0.0	4.5

[0858] 从DLBCL扩增种群(N=11)获得的另外的预处理活检样本,通过IHC分析LAG-3和PD-L1的表达,基本上如以上描述的。结果在图6D和6E中显示。图6D绘制了个体患者LAG-3表达从高到低的顺序,右侧指示每个LAG-3表达范围的应答者。另外,图下方框中指示PD-L1评分(CPS)。图6E按客观应答绘制了LAG-3表达。这些结果指示,展示出较高LAG-3的基线水平的DLBCL患者似乎显示出更好的应答。

[0859] 使用NanoString PanCancer IO 360™测定法来查询基因表达,包括14种免疫细胞类型的丰度和来自EOC(N=14)NSCLC(N=25,包括先前检查点治疗后(P-NSCLC))和TNBC(N=13)扩增种群的档案活检的32个免疫肿瘤学标志。图7中绘制了LAG-3与PD-1(PDCD1)表达,并且显示应答患者展示出较高的LAG-3和PD-1表达水平(用虚圈表示)。IFN- γ 基因签名(CXCL9、CXCL10、CXC11、STAT1)分数按临床应答绘制在图8中,并显示展示出部分应答的患者具有较高的IFN- γ 基因签名分数。这些研究指示,客观应答与高基线LAG-3/PD-1表达和

IFN- γ 基因签名分数有关。

[0860] 这些数据指示,本发明的PD-1 x LAG-3双特异性分子(通过DART-I阐释),其被设计为协调阻断PD-1和LAG-3,表现出可接受的安全性,并且展示出令人鼓舞的抗肿瘤活性证据,特别是在具有展示出较高LAG-3表达水平的肿瘤和具有较高IFN- γ 基因签名分数的患者中。这些数据支持这种分子(特别是DART-I的)的几种给药方案,包括施用:约 $\geq 400\text{mg}$ 这种分子(特别是DART-I的)Q2W(特别是约 400mg Q2W或约 600mg Q2W),以及约 $\geq 600\text{mg}$ 这种分子(特别是DART-I的)Q3W(特别是约 600mg Q3W或约 800mg Q3W)以达到靶 $C_{50} \geq 23\mu\text{g/mL}$ 。可替代的给药方案包括:约 $\geq 120\text{mg}$ 这种分子Q2W以达到靶 $C_{50} \geq 100 \times R0 EC_{50}$ 。这些研究进一步支持根据以上任何一种剂量和方案施用本发明的PD-1 x LAG-3双特异性分子与TA-结合分子,特别是HER2-结合分子(例如,抗HER2抗体)组合,用于治疗HER2表达(HER2+)癌症。具体地,使用Q3W方案施用约 $\geq 600\text{mg}$ 的这种分子(特别是DART-I)与也可使用Q3W方案施用的TA-结合分子比如HER2-结合分子(例如,以 15mg/kg Q3W施用的马格妥昔单抗)组合。

[0861] 实施例2

[0862] TA-结合分子介导检查点表达和NK细胞活性的变化

[0863] 在体外评价了包括ADCC-增强的Fc结构域和野生型Fc结构域的TA-结合分子介导免疫效应细胞,特别是NK细胞表面上的检查点分子表达变化的能力。另外,检查了对体外细胞毒素活性(特别是NK细胞细胞毒素活性)的影响。简言之,在马格妥昔单抗(结合HER2的表位且包括ADCC-增强的Fc结构域的TA-结合分子,即ADCC-增强的TA-结合分子)、曲妥珠单抗的复制品(“rtrastuzumab”,其结合HER2的相同表位但是包括野生型Fc结构域的)或PBS(磷酸缓冲的盐水)单独存在的情况下,PBMC效应细胞($0.5 \times 10^6/\text{ml}$)与对TA HER2(HER2⁺⁺⁺胃癌细胞细胞系)阳性的N87靶细胞($0.05 \times 10^6/\text{ml}$)(E:T比例是10:1)共孵育。抗体以 $0.005\mu\text{g/ml}$ 和 $0.05\mu\text{g/ml}$ 使用,且将 20u/ml IL-2添加入培养物。使用补充有10%FBS,10mM HEPE缓冲液和青霉素-链霉素的具有L-谷氨酰胺的RPMI 1640培养基作为培养基。

[0864] 第3天,取出每个样品的一部分,并且通过荧光启动细胞分选(FACS)检查检查点蛋白的细胞表面表达:在NK细胞上的CD137、LAG-3、PD-1和PD-L1。以下Ab用于定义免疫细胞亚群和细胞表面检查点蛋白的表达:CD3-V500、CD4-PerCP Cy5.5、CD8-FITC、CD56-PE、Lag-3-PE-Cy7、PDL-1-APC、CD137-BV421、PD-1-BV650。细胞表面染色如下进行:在 4°C 通过在FACS缓冲液中使用Abs的混合物孵育细胞30分钟,随后用PBS洗涤,然后将标记的细胞重悬在FACS缓冲液中。使用LSRFortessa流式细胞仪采集FACS样品,并且使用FlowJo软件分析。代表性的FACS图显示在图11中,框住检查点阳性的NK细胞并指示百分比。从图11中可见,马格妥昔单抗上调CD137、LAG-3和PD-L1的表达程度大于曲妥珠单抗。

[0865] 第6天,剩余样品的一部分用于供应效应细胞,用于使用PKH26红色标记的K562细胞(HER2-、骨髓性白血病细胞系)作为靶细胞以0.3:1、1:1、3:1和10:1的E:T比例的细胞毒性测定法。孵育4小时后,收集细胞,根据制造商的使用说明,以7-AAD和Annexin V作为标志物,通过FACS分析确定细胞毒性,以区分活细胞、凋亡细胞和死亡细胞。图12中绘制了在每个E:T比例下观察到的细胞毒性百分比。由于K562靶细胞不表达HER2,在该测定法中的杀伤力不直接由抗HER2抗体K562靶细胞的结合介导,而是反映了在TA阳性靶细胞存在的情况下通过事先暴露抗HER2抗体介导的细胞毒素活性(主要是NK细胞)的增强。如图12中显示的,与rtrastuzumb相比,马格妥昔单抗介导的NK细胞毒素活性增强更强。这些结果指示,包括

ADCC-增强的Fc结构域的TA-结合分子是PD-L1和LAG-3表达以及细胞毒性活性(主要是NK细胞)的更有效的介导体。

[0866] 检查了ADCC-增强的TA-结合分子介导另外免疫细胞类型表面的检查点分子表达变化的能力。简言之,在马格妥昔单抗(0.5 μ g/ml)或对照抗体(MGAWN1,0.5 μ g/ml)存在的情况下,将PBMC效应细胞(1.5×10^6 /ml)与N87靶细胞(HER2⁺⁺⁺胃癌细胞系)以15:1的E:T比例共孵育。使用补充有10%FBS、10mM HEPES缓冲液和青霉素-链霉素的具有L-谷氨酰胺的RPMI 1640培养基作为培养基。在第2天和第3天,通过FACS检查检查点蛋白的细胞表面表达:CD137、LAG-3、PD-1和PD-L1、在NK细胞(第3天)、单核细胞(第2天)、CD4⁺(第3天)和CD8⁺T细胞(第3天)上。以下抗体(Abs)用于定义免疫细胞亚群和细胞表面检查点蛋白的表达:CD3-V500、CD4-PerCP Cy5.5、CD8-FITC、CD14-FITC、CD56-PE、Lag-3-PE-Cy7、PDL-1-APC、CD137-BV421、PD-1-BV650。细胞表面染色如下进行:在4 $^{\circ}$ C通过在FACS缓冲液中用Ab的混合物孵育细胞30分钟,随后用PBS洗涤,然后将标记的细胞重悬在FACS缓冲液中。使用LSRFortessa流式细胞仪采集FACS样品,并且使用FlowJo软件分析。代表性的FACS图显示在图13中,框住检查点阳性免疫细胞且指示百分比。如图13中可见,ADCC-增强的TA-结合分子马格妥昔单抗介导所有检查的细胞类型上LAG-3和PD-L1表达的上调,在单核细胞、NK细胞和CD8⁺T细胞上观察到最突出的上调。CD137在NK上得到上调,PD-1在CD4⁺和CD8⁺T细胞上得到上调。

[0867] 实施例3

[0868] 体外组合研究

[0869] 如以上描述的,发现TA-结合分子一般,特别是具有ADCC-增强的Fc结构域的那些有效地介导检查点分子PD-L1和LAG-3的上调。在体外检查了TA-结合分子与检查点抑制剂组合的活性,其阻断了LAG-3和/或PD-1/PD-L1抑制检查点途径。简言之,在TA-结合分子马格妥昔单抗(包括ADCC-增强的Fc结构域)或trastuzumab(包括野生型Fc结构域)、对照抗体(MGAWN1,包括野生型人IgG1 Fc结构域的抗WNV mAb)或PBS,单独或与瑞弗利单抗(PD-1-结合分子)、DART-I(结合PD-1和LAG-3二者的双特异性分子)组合存在的情况下,将PBMC效应细胞(0.5×10^6 /ml)与N87靶细胞(HER2⁺⁺⁺胃癌细胞系)以20:1的比例共孵育。测定法在具有或不具有外源性IL-2(20u/ml)的情况下进行(代表最佳和次优条件)。抗HER2抗体以0.005 μ g/ml和/或0.05 μ g/ml使用,抗PD-1抗体瑞弗利单抗以5 μ g/ml使用,PD-1 x LAG-3双特异性分子DART-I以5 μ g/ml使用。第6天,收集细胞作为效应子,并通过FACS测定对K562靶细胞的细胞毒性(E:T=10:1),其中使用7-AAD和膜联蛋白V,以区分活细胞、凋亡细胞和死亡细胞,基本上如以上描述的。图14绘制了从代表性供体中观察到的次优条件的细胞毒性百分比。

[0870] 如图14中显示的,在该测定法中,观察到trastuzumab与PD-1检查点抑制剂、瑞弗利单抗或与PD-1 x LAG-3双检查点抑制剂DART-I组合时,细胞毒性的最小增强。相反地,PD-1 x LAG-3双检查点抑制剂DART-I与具有ADCC-增强的Fc结构域的TA-结合分子、马格妥昔单抗组合时,细胞毒性增强。在一些供体中,还看见PD-1检查点抑制剂、retinoflimab来增强马格妥昔单抗的细胞毒性。

[0871] 在另一研究中,进一步检查了ADCC-增强TA-结合分子马格妥昔单抗单独或与PD-1 x LAG-3双检查点抑制剂DART-I组合的活性。简言之,在TA-结合分子马格妥昔单抗(0.005 μ g/ml)或对照抗体(MGAWN1,0.005 μ g/ml)单独或与DART-I(5 μ g/ml)组合存在的情况下,将

PBMC效应细胞 (1×10^6 /ml) 与N87靶细胞 (HER2⁺⁺⁺胃癌细胞系) 以15:1的比例共孵育。测定法在具有或不具有外源性IL-2 (20u/ml) 的情况下进行(代表最佳和次优条件)。第7天,收集细胞作为效应子,根据制造商的使用说明,使用用7-AAD和Annexin V作为标记物,通过FACS测定对PKH26红色标记的K562靶细胞的细胞毒性 (E:T=10:1),以区分活细胞、凋亡细胞和死亡细胞。通过使用Steady-Glo荧光素酶测定法系统 (Promega) 评估剩余的细胞荧光素酶活性,确定对表达荧光素酶的N87细胞的细胞毒性 (E:T=3:1)。图15中绘制了从代表性的供体观察到的次优条件的细胞毒性百分比。如图15中显示的,与以对照Ab调节的PBMC相比,用ADCC-增强的TA-结合分子马格妥昔单抗调节的PBMC对用马格妥昔单抗调理的K562和HER2⁺⁺⁺N87细胞表现出更高的细胞毒性活性(主要是NK细胞)。由以上可见,PD-1 x LAG-3双特异性分子DART-I与DCC-增强TA-结合分子马格妥昔单抗组合增强了细胞毒性。这些研究共同指示,PD/PD-L1和LAG-3的检查点途径的双检查点抑制可与TA-结合分子(尤其是具有增强ADCC活性的分子)的抗肿瘤活性起协同作用。

[0872] 实施例4

[0873] I阶段临床研究-HER2+分组

[0874] 如以上描述的,在正在进行的I阶段临床研究具有晚期或转移HER2+实体肿瘤(特别地HER2+胃或乳腺癌)的患者种群中,患者接受DART-I(结合PD-1和LAG-3的双特异性分子)和马格妥昔单抗(结合HER2的TA-结合分子且具有ADCC-增强的Fc结构域)。

[0875] 28名可评估的具有HER2+实体肿瘤的患者(包括以上描述的前5名患者)的临床结果在图16中总结。客观应答率(ORR)(包括具有未确定的客观应答的患者)是28.6%(8/28),具有50%(14/28)的疾病对照率。表14通过癌症类型总结了这些患者之中的应答率。28.65%的ORR比较利于PANACEA研究(Loi,等2019Lancet Oncol.Mar;20(3):371-382.doi:10.1016/S1470-2045(18)30812-X.),在HER2+mBC中培布利珠单抗+曲妥珠单抗的单分组、多中心Ph.1b/2试验中报导了11.5%的ORR(n=52)(PD-L1阳性中的15%ORR(n=6/40);和PD-L1阴性中的0%ORR(n=0/12)。治疗良好耐受且应答的患者仍然进行疗法,并且正在进一步加入HER2+肿瘤-特异性种群。

表 14: 应答率(28 名可评估的患者) – 联合疗法的总结

	乳腺	GEJ 食道	结直肠	其他	总计
[0876] 可评估的患者	9	7	4	8	28
ORR (确认的)	22.2% (2/9)	14.3% (1/7)	50% (2/4)	12.5% (1/8)	21.4% (6/28)
ORR (确认的 + 未确认的)	22.2% (2/9)	28.6% (2/7)	50% (2/4)	25% (2/8)	28.6% (8/28)
疾病对照率	44.4% (4/9)	57.1% (4/7)	50% (2/4)	50% (4/8)	50% (14/28)

[0877] 评估可得到的预治疗的肿瘤活检样品的LAG-3表达和PD-L1表达。简言之,在Ventana Discovery Ultra平台上使用LAG-3Ab克隆EPR4392(2)(Abcam)IHC测定法检查LAG-3的表达。阳性定义为每40x放大的热点场(HSF)至少一个肿瘤-渗入淋巴细胞(TIL)。根据Agilent PD-L1(22C3)pharmDx试剂盒用法说明确定PD-L1 TPS/CPS表达。通过IHC的LAG-3表达在患者之中变化,且未发现与应答相关。观察到大多数应答的患者具有通过IHC的PD-L1阴性(≤ 1 的PD-L1表达)的肿瘤。与已发表的数据(参见,例如,Loi,S.et al.(2019)“Pembrolizumab Plus Trastuzumab In Trastuzumab-Resistant,Advanced,HER2-

positive Breast Cancer (PANACEA): a Single-Arm, Multicentre, Phase 1b-2 Trial,” *Lancet Oncol.* 20 (3): 371-382) 形成鲜明对比, 在利用PD-1和LAG-3双检查点抑制与具有ADCC-增强的Fc结构域的TA-结合分子的组合的该组合研究中PD-L1阴性患者之中高应答率表明, 在用曲妥珠单抗加抗PD-1或抗PD-L1抗体治疗的HER2+乳腺癌患者之中, PD-L1阴性患者的应答率为0%, PD-L1阳性患者的应答率仅为15%。高应答可能反映了ADCC-增强TA-结合分子与PD/PD-L1和LAG-3检查点途径的双检查点抑制组合的协同的活性。

[0878] 使用NanoString PanCancer IO 360TM测定法以从用马格妥昔单抗和DART-I治疗的19个HER2+晚期实体瘤种群的档案活检中查询视基因表达, 其包括14种免疫细胞类型和32种免疫肿瘤学标志的丰度。将LAG-3的标准化表达评分(标准化为0-100)针对PDCD1绘图(图17A)。图17B和17C分别绘制了标准化的LAG-3和PDCD1表达水平与靶病灶从基线开始的最佳变化百分比的相关性。基因表达分析指示, 表现出客观应答的患者在基线活检样品中展示出较高的LAG-3和PDCD1 mRNA表达。

[0879] 在该临床试验种群中, 双检查点抑制剂DART-I与ADCC增强的TA-结合分子马格妥昔单抗组合通常是与DART-I单疗法一致是耐受性良好, 安全性。在具有表达HER2肿瘤抗原的各种肿瘤类型(即, HER2+肿瘤)的难治的患者之中观察到抗肿瘤活性的证据。基线LAG-3和PD-1 mRNA表达似乎与临床应答相关, 但大多数反应患者具有基线PD-L1表达 ≤ 1 (通过IHC)。

[0880] 总的来说, 用比如DART-I的分子对PD-1/PD-L1和LAG-3检查点途径的双检查点抑制, 可与TA-结合分子(特别是具有增强ADCC活性的分子如马格妥昔单抗)的抗肿瘤活性协同作用。这种组合似乎比单独使用TA-结合分子或仅与PD-1/PD-L1途径的检查点抑制组合治疗更有效, 且可用于PD-L1阴性患者的治疗。

[0881] 本说明书中提及的所有出版物和专利以如同每个出版物或专利申请被明确且单独地指出以其全部内容通过引用并入的程度通过引用并入本文。尽管已经结合其具体实施方式描述了本发明, 但是应当理解它能进一步改变, 并且本申请案意欲涵盖总体上遵循本发明的原理并且包括落入本发明所属领域内的已知或惯常实践内的并且可适用于前文所提出的实质特征的这种偏离的本发明的任何变化、应用或调整。

序列表

<110> 宏观基因有限公司
 <120> 用于治疗癌症的疗法
 <130> 1301.166PCT
 <150> US 63/123,581
 <151> 2020-12-10
 <150> US 63/031,453
 <151> 2020-05-28
 <150> US 63/021,556
 <151> 2020-05-07
 <150> US 63/019,857
 <151> 2020-05-04
 <150> US 62/952,878
 <151> 2019-12-23
 <150> US 62/952,859
 <151> 2019-12-23
 <160> 80
 <170> PatentIn版本 3.5
 <210> 1
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (107)
 <223> 代表性人CL κ 结构域
 <400> 1

```

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

	85	90	95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
	100	105	
<p><210> 2 <211> 104 <212> PRT <213> 智人 <220> <221> MISC_FEATURE <222> (1) .. (104) <223> 代表性人CL λ 结构域 <400> 2</p>			
Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu			
1	5	10	15
Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe			
	20	25	30
Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val			
	35	40	45
Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr			
	50	55	60
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His			
65	70	75	80
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys			
	85	90	95
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser			
	100		
<p><210> 3 <211> 98 <212> PRT <213> 智人 <220> <221> MISC_FEATURE <222> (1) .. (98) <223> 代表性人 IgG1 CH1 结构域 <400> 3</p>			
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys			
1	5	10	15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr			
	20	25	30

<400> 5

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

Arg Val

<210> 6

<211> 98

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (98)

<223> 代表性人 IgG4 CH1 结构域

<400> 6

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

Arg Val

<210> 7

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (15)

<223> 代表性人 IgG1 铰链区

<400> 7

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10 15

<210> 8

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (12)

<223> 代表性人 IgG2 铰链区

<400> 8

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 9

<211> 62

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1) .. (62)

<223> 代表性人 IgG3 铰链区

<400> 9

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys

1 5 10 15

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro

 20 25 30

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu

 35 40 45

Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro

 50 55 60

<210> 10

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (12)
 <223> 代表性人 IgG4 铰链区
 <400> 10
 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro
 1 5 10
 <210> 11
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 含有稳定化S228P替换的代表性人 IgG4 铰链区
 <400> 11
 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10
 <210> 12
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (217)
 <223> 代表性人 IgG1 CH2-CH3 结构域
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (217) .. (217)
 <223> Xaa是赖氨酸 (K) 或不存在
 <400> 12
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65	70	75	80
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys			
	85	90	95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln			
	100	105	110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met			
	115	120	125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro			
	130	135	140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn			
145	150	155	160
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu			
	165	170	175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val			
	180	185	190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln			
	195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa			
	210	215	
<210> 13			
<211> 216			
<212> PRT			
<213> 智人			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<222> (1) .. (216)			
<223> 代表性人 IgG2 CH2-CH3 结构域			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<222> (216) .. (216)			
<223> Xaa是赖氨酸 (K) 或不存在			
<400> 13			
Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro			
1	5	10	15
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val			
	20	25	30
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val			
	35	40	45
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln			

50	55	60																		
Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln					
65					70					75					80					
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly					
				85						90					95					
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro					
				100						105					110					
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr					
				115						120					125					
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser					
				130						135					140					
Asp	Ile	Ser	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr					
145					150					155					160					
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr					
					165					170					175					
Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe					
				180						185					190					
Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys					
				195						200					205					
Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Xaa													
				210						215										

<210> 14
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (217)
 <223> 代表性人 IgG3 CH2-CH3 结构域
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (217) .. (217)
 <223> Xaa是赖氨酸 (K) 或不存在
 <400> 14

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

35	40	45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu		
50	55	60
Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
65	70	75
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		
85	90	95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln		
100	105	110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met		
115	120	125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro		
130	135	140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn		
145	150	155
Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		
165	170	175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile		
180	185	190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln		
195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa		
210	215	
<210> 15		
<211> 217		
<212> PRT		
<213> 智人		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (1) .. (217)		
<223> 代表性人 IgG4 CH2-CH3 结构域		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<222> (217) .. (217)		
<223> Xaa是赖氨酸 (K) 或不存在		
<400> 15		
Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys		
1	5	10
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val		

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Pro Glu Glu
 50 55 60
 Gln Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ile Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 100 105 110
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 115 120 125
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 145 150 155 160
 Tyr Lys Thr Thr Pro Leu Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 165 170 175
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 180 185 190
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 195 200 205
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
 210 215

<210> 17

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 包括 L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L替换的ADCC-增强的“FcMT2”变体IgG1

Fc结构域

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (217) .. (217)

<223> Xaa是赖氨酸 (K) 或不存在

<400> 17

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

1 5 10 15
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Pro Glu Glu
 50 55 60
 Gln Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 100 105 110
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 115 120 125
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 145 150 155 160
 Tyr Lys Thr Thr Pro Leu Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 165 170 175
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 180 185 190
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 195 200 205
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
 210 215

<210> 18

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 包括F243L、R292P和Y300L替换的ADCC-增强的“FcMT3”变体IgG1 Fc结构域

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (217) .. (217)

<223> Xaa是赖氨酸 (K) 或不存在

<400> 18

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

1	5	10	15
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val			
	20	25	30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr			
	35	40	45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Pro Glu Glu			
	50	55	60
Gln Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His			
65	70	75	80
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys			
	85	90	95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln			
	100	105	110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu			
	115	120	125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro			
	130	135	140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn			
145	150	155	160
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu			
	165	170	175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val			
	180	185	190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln			
	195	200	205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa			
	210	215	
<210> 19			
<211> 217			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 包括L234A、L235A、M252Y、S254T和T256E替换的具有很少或没有ADCC活性的变体IgG1 Fc结构域的CH2-CH3 结构域			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<222> (217) .. (217)			
<223> Xaa是赖氨酸 (K) 或不存在			
<400> 19			

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 100 105 110
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 115 120 125
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 145 150 155 160
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 165 170 175
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 180 185 190
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 195 200 205
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
 210 215

<210> 20

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 包括M252Y、S254T和T256E替换的具有延长的半衰期的变体IgG4 Fc结构域的CH2-CH3结构域

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (217) .. (217)

<223> Xaa是赖氨酸 (K) 或不存在

<400> 20

Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60
 Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95
 Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 100 105 110
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
 115 120 125
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 145 150 155 160
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 165 170 175
 Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
 180 185 190
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 195 200 205
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa
 210 215

<210> 21

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 连接体1

<400> 21

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 1 5

<210> 22

Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
 20 25

<210> 26

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 含有半胱氨酸的异源二聚体促进“K-螺旋”结构域

<400> 26

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
 1 5 10 15

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
 20 25

<210> 27

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可替选的连接体2

<400> 27

Ala Ser Thr Lys Gly
 1 5

<210> 28

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 例证性连接体3

<400> 28

Gly Gly Gly Ser
 1

<210> 29

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 例证性连接体3

<400> 29

Leu Gly Gly Gly Ser Gly

1 5
 <210> 30
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 例证性连接体3
 <400> 30
 Leu Glu Pro Lys Ser Ser
 1 5
 <210> 31
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 例证性连接体3
 <400> 31
 Ala Pro Ser Ser Ser
 1 5
 <210> 32
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 例证性连接体3
 <400> 32
 Ala Pro Ser Ser Ser Pro Met Glu
 1 5
 <210> 33
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (10)
 <223> 代表性人铰链区
 <400> 33
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10

<210> 34

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工连接体

<400> 34

Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 35

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 结合PD-1 (VLPD-1) 的人源化抗体的轻链可变结构域

<400> 35

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
 20 25 30

Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45

Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys
 85 90 95

Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 36

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 结合PD-1 (VLPD-1) 的人源化抗体的轻链可变结构域的 CDRL1

<400> 36

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Met Ser Phe Met Asn
1 5 10 15

<210> 37

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 结合PD-1 (VLPD-1) 的人源化抗体的轻链可变结构域的CDRL2

<400> 37

Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser

1 5

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 结合PD-1 (VLPD-1) 的人源化抗体的轻链可变结构域的CDRL3

<400> 38

Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Tyr Thr

1 5

<210> 39

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 结合PD-1 (VHPD-1) 的人源化抗体的重链可变结构域

<400> 39

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 Ser Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala 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 Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 40

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 结合PD-1 (VHPD-1)的人源化抗体的重链可变结构域的CDRH1

<400> 40

Ser Tyr Trp Met Asn

1 5

<210> 41

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 结合PD-1 (VHPD-1)的人源化抗体的重链可变结构域的CDRH2

<400> 41

Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 42

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 结合PD-1 (VHPD-1)的人源化抗体的重链可变结构域的CDRH3

<400> 42

Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 43

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 结合PD-L1 (VLPD-L1)的人源化抗体的轻链可变结构域

<400> 43

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

1 5 10 15

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

<210> 44

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 结合PD-L1 (VLPD-L1) 的人源化抗体的轻链可变结构域的CDRL1

<400> 44

Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala
 1 5 10

<210> 45

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 结合PD-L1 (VLPD-L1) 的人源化抗体的轻链可变结构域的CDRL2

<400> 45

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
 1 5

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 结合PD-L1 (VLPD-L1) 的人源化抗体的轻链可变结构域的CDRL3

<400> 46

Gln Gln His Tyr Asn Thr Pro Leu Thr
 1 5

<210> 47
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 结合PD-L1 (VHPD-L1) 的人源化抗体的重链可变结构域
 <400> 47
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Tyr Ile Ser Ile Gly Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gln Gly Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 48
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 结合PD-L1 (VHPD-L1) 的人源化抗体的重链可变结构域的CDRH1
 <400> 48
 Ser Tyr Thr Met
 1
 <210> 49
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 结合PD-L1 (VHPD-L1) 的人源化抗体的重链可变结构域的CDRH2
 <400> 49

Tyr Ile Ser Ile Gly Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys
 1 5 10 15
 <210> 50
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 结合PD-L1 (VHPD-L1) 的人源化抗体的重链可变结构域的CDRH3
 <400> 50
 Gln Gly Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr
 1 5
 <210> 51
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 结合LAG-3 (VLLAG-3) 的人源化抗体的轻链可变结构域
 <400> 51
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Ser Val
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 52
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 结合LAG-3 (VLLAG-3) 的人源化抗体的轻链可变结构域的CDRL1
 <400> 52

Ala Arg Glu Ala Asp Tyr Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 56
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 结合LAG3 (VHLAG-3) 的人源化抗体的重链可变结构域的CDRH1
<400> 56

Asp Tyr Asn Met Asp
1 5

<210> 57
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 结合LAG3 (VHLAG-3) 的人源化抗体的重链可变结构域的CDRH2
<400> 57

Asp Ile Asn Pro Asp Asn Gly Val Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Glu
1 5 10 15

Gly

<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 结合LAG3 (VHLAG-3) 的人源化抗体的重链可变结构域的CDRH3
<400> 58

Glu Ala Asp Tyr Phe Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 59
<211> 496
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> DART-I 的第一和第三多肽链的氨基酸序列
<400> 59

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Val	Ser	Ser	Val
			20					25					30		
Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Ser	Ala	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Thr	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
		50				55						60			
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75					80
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	His	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp
					85				90					95	
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
			100					105						110	
Gly	Gly	Gly	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys
			115					120					125		
Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe
						135							140		
Thr	Ser	Tyr	Trp	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
145					150						155				160
Glu	Trp	Ile	Gly	Val	Ile	His	Pro	Ser	Asp	Ser	Glu	Thr	Trp	Leu	Asp
					165				170					175	
Gln	Lys	Phe	Lys	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser
					180				185					190	
Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val
			195					200					205		
Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Glu	His	Tyr	Gly	Thr	Ser	Pro	Phe	Ala	Tyr	Trp
					210			215				220			
Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Cys	Gly	Gly	Gly
225					230					235					240
Glu	Val	Ala	Ala	Cys	Glu	Lys	Glu	Val	Ala	Ala	Leu	Glu	Lys	Glu	Val
					245					250				255	
Ala	Ala	Leu	Glu	Lys	Glu	Val	Ala	Ala	Leu	Glu	Lys	Glu	Ser	Lys	Tyr
					260				265					270	
Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro
					275			280					285		
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Tyr	Ile	Thr
					290			295				300			
Arg	Glu	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp

305 310 315 320
 Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 325 330 335
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 340 345 350
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 355 360 365
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
 370 375 380
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 385 390 395 400
 Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 405 410 415
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 420 425 430
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 435 440 445
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
 450 455 460
 Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 465 470 475 480
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 485 490 495
 <210> 60
 <211> 271
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> DART-I 的第二和第四多肽链的氨基酸序列
 <400> 60
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65	70	75	80
Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys			
	85	90	95
Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly			
	100	105	110
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala			
	115	120	125
Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser			
	130	135	140
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro			
145	150	155	160
Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Asp Ile Asn Pro Asp Asn Gly Val			
	165	170	175
Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp			
	180	185	190
Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp			
	195	200	205
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Ala Asp Tyr Phe Tyr Phe			
210	215	220	
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys			
225	230	235	240
Gly Gly Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys			
	245	250	255
Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu			
	260	265	270

<210> 61

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 马格妥昔单抗的轻链可变结构域

<400> 61

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

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

<210> 62
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 马格妥昔单抗的轻链可变结构域的CDRL1
 <400> 62
 Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala
 1 5 10
 <210> 63
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 马格妥昔单抗的轻链可变结构域的CDRL2
 <400> 63
 Ser Ala Ser Phe Arg Tyr Thr
 1 5
 <210> 64
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 马格妥昔单抗的轻链可变结构域的CDRL3
 <400> 64
 Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
 1 5
 <210> 65
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> 马格妥昔单抗的轻链

<400> 65

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	His	Lys	Phe	Met	Ser	Thr	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Ser	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asp	Val	Asn	Thr	Ala
			20					25						30	
Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	His	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
			35				40						45		
Tyr	Ser	Ala	Ser	Phe	Arg	Tyr	Thr	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly
			50				55					60			
Ser	Arg	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Val	Gln	Ala
65					70					75					80
Glu	Asp	Leu	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	His	Tyr	Thr	Thr	Pro	Pro
					85					90					95
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
					100					105				110	
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
										115				120	
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
										130				135	
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
145										150				155	
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
										165				170	
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr
										180				185	
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser
										195				200	
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys										

<210> 66

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 马格妥昔单抗的重链可变结构域

<400> 66

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

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

<210> 67

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 马格妥昔单抗的重链可变结构域的CDRH1

<400> 67

Asp Thr Tyr Ile His

1 5

<210> 68

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 马格妥昔单抗的重链可变结构域的CDRH2

<400> 68

Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Asp Pro Lys Phe Gln

1 5 10 15

Asp

<210> 69

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 马格妥昔单抗的重链可变结构域的CDRH3

<400> 69

Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 70

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 马格妥昔单抗的重链,其包括FcMT2 ADCC-增强的Fc结构域(包括L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L 替换)

<400> 70

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Asp Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Val Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Leu Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Pro Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Leu Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Leu Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 71
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 依诺妥珠单抗的轻链可变结构域
 <400> 71
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

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

<210> 72

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 依诺妥珠单抗的轻链可变结构域的CDRL1

<400> 72

Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala
 1 5 10

<210> 73

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 依诺妥珠单抗的轻链可变结构域的CDRL2

<400> 73

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
 1 5

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 依诺妥珠单抗的轻链可变结构域的CDRL3

<400> 74

Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe Thr
 1 5

<210> 75
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 依诺妥珠单抗的轻链
 <400> 75
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 76
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 依诺妥珠单抗的重链可变结构域

<400> 76

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Phe
			20					25					30		
Gly	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Tyr	Ile	Ser	Ser	Asp	Ser	Ser	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Thr	Val
	50					55						60			
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr
65					70					75				80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Asp	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85						90					95	
Gly	Arg	Gly	Arg	Glu	Asn	Ile	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Arg	Leu	Asp	Tyr	Trp
			100						105				110		
Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro
			115						120				125		
Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr
			130						135				140		
Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr
145						150				155				160	
Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro
			165							170				175	
Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr
			180							185				190	
Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn
			195						200				205		
His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val				
			210						215					220	

<210> 77

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 依诺妥珠单抗的重链可变结构域的CDRH1

<400> 77

Ser Phe Gly Met His

1 5
 <210> 78
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 依诺妥珠单抗的重链可变结构域的CDRH2
 <400> 78
 Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val Lys
 1 5 10 15
 Gly
 <210> 79
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 依诺妥珠单抗的重链可变结构域的CDRH3
 <400> 79
 Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 80
 <211> 452
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 依诺妥珠单抗的重链,其包括FcMT2 ADCC-增强的Fc结构域(包括L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L替换)
 <400> 80
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

				85					90					95			
Gly	Arg	Gly	Arg	Glu	Asn	Ile	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Arg	Leu	Asp	Tyr	Trp		
				100					105					110			
Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro		
				115					120					125			
Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr		
				130					135					140			
Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr		
				145					150					155			160
Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro		
				165					170					175			
Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr		
				180					185					190			
Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn		
				195					200					205			
His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser		
				210					215					220			
Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Val		
				225					230					235			240
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Leu	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu		
				245					250					255			
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser		
				260					265					270			
His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu		
				275					280					285			
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Pro	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr		
				290					295					300			
Leu	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn		
				305					310					315			320
Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro		
				325					330					335			
Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln		
				340					345					350			
Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val		
				355					360					365			
Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val		
				370					375					380			
Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro		
				385					390					395			400

Leu Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly Lys
450

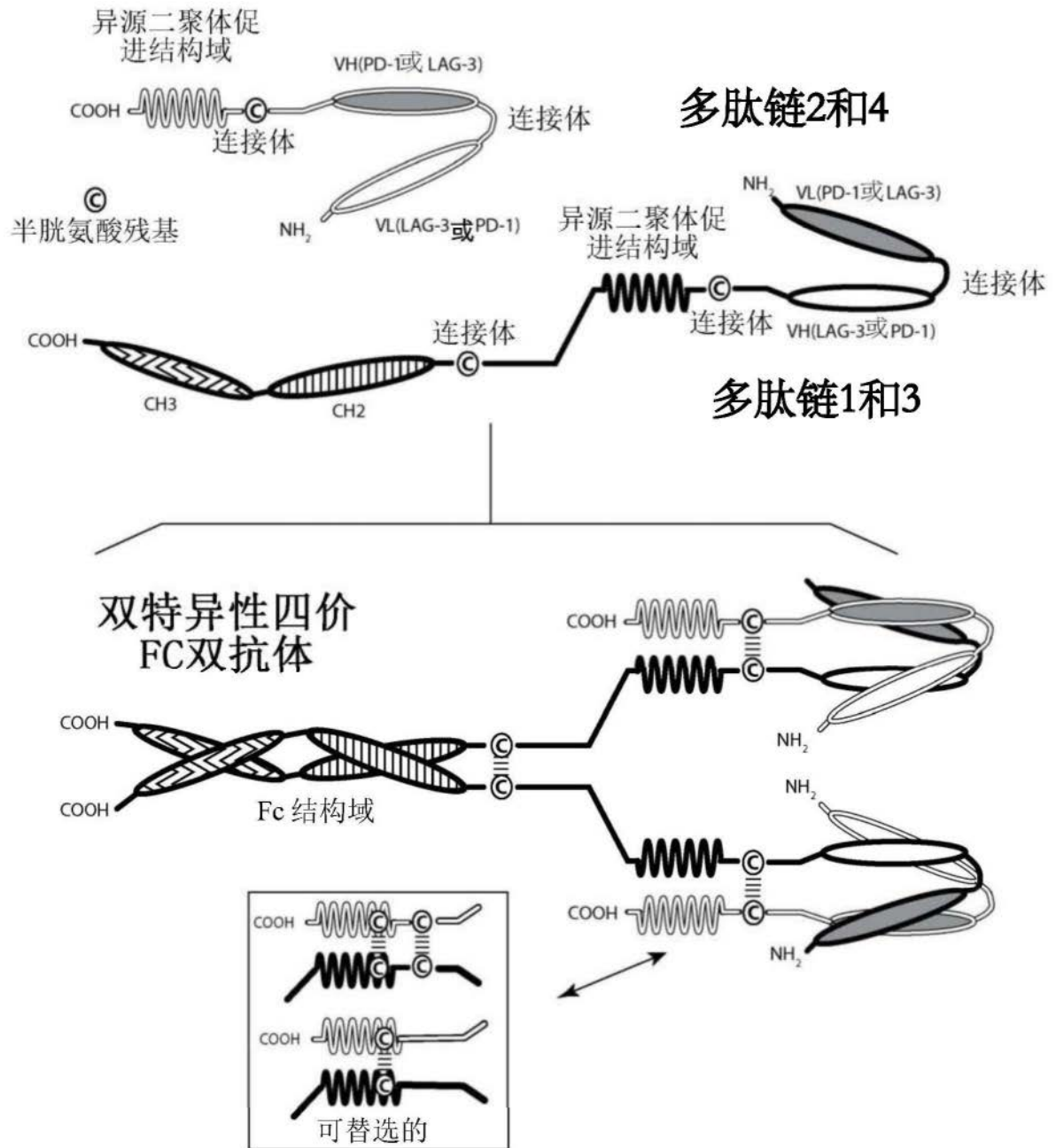
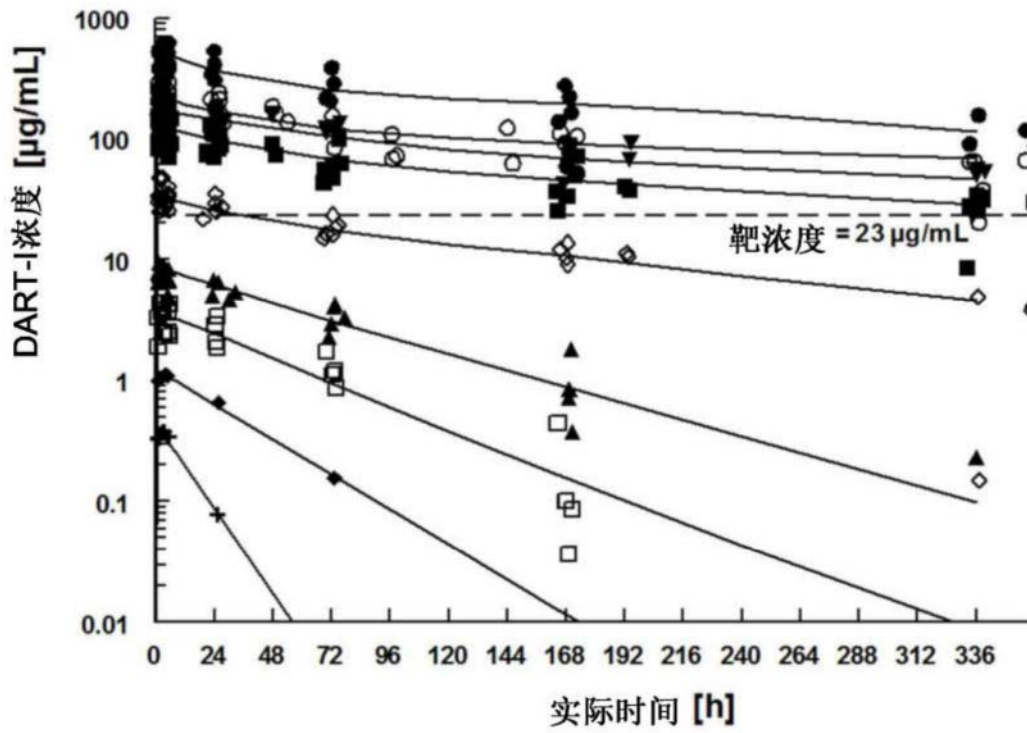


图1



+ 1 MG (N=1); ◆ 3 MG (N=1); □ 10 MG (N=4); ▲ 30 MG (N=5);
 ◇ 120 MG (N=6); ■ 400 MG (N=9); ○ 600 MG (N=8)
 ▼ 800 MG (N=7); ● 1200 MG (N=4)

图2

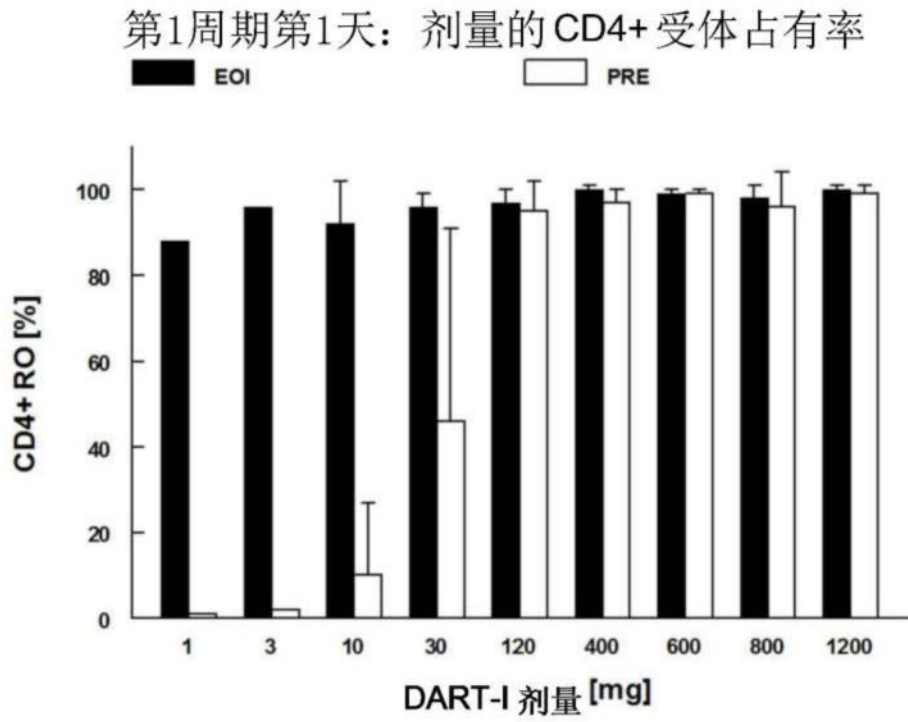


图3A

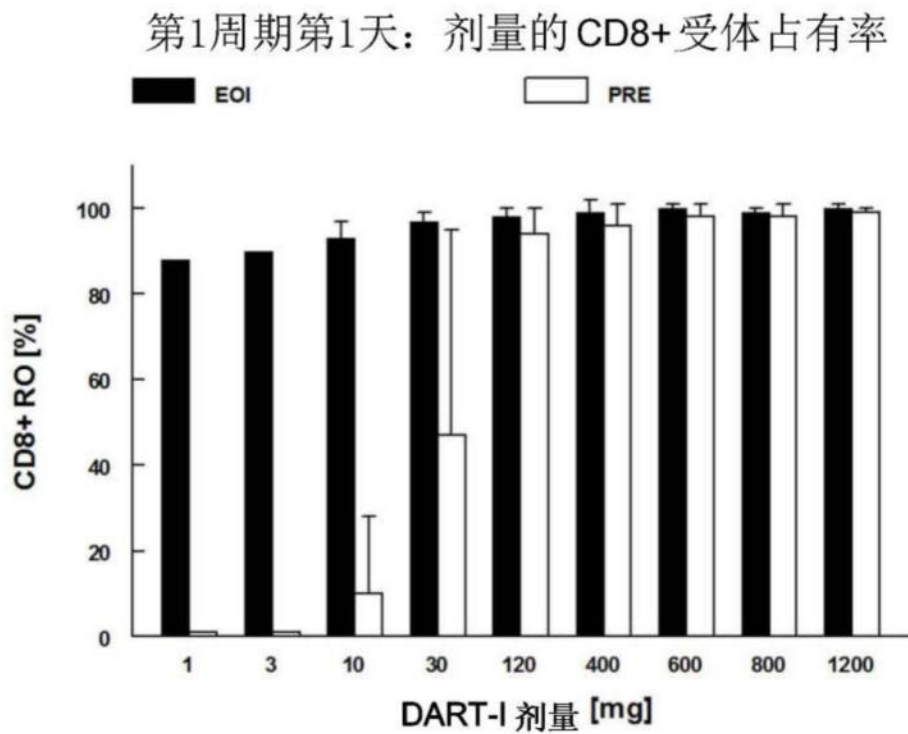


图3B

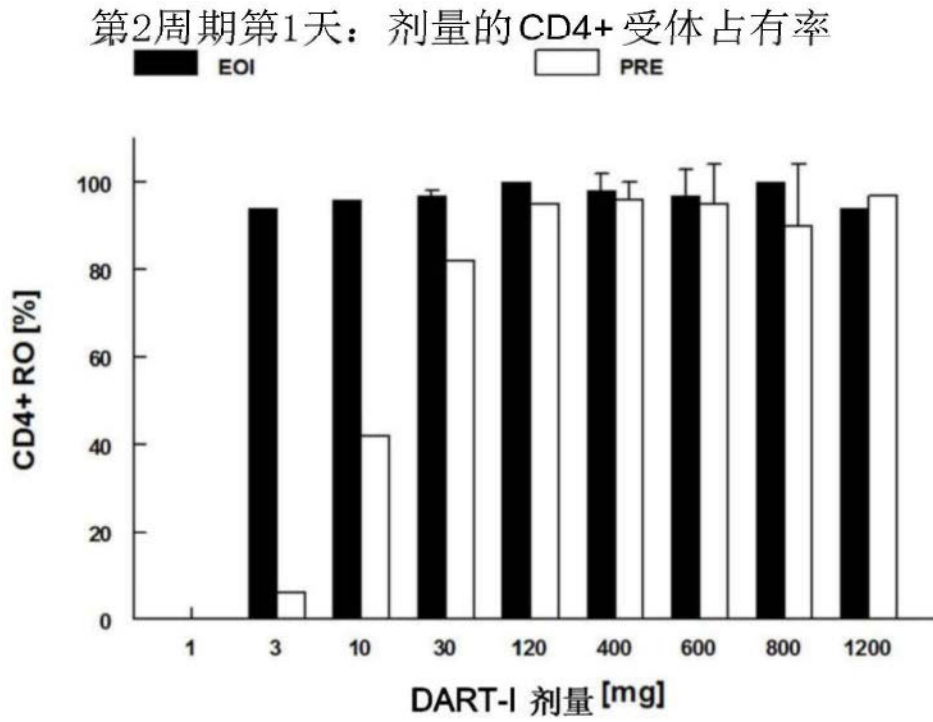


图3C

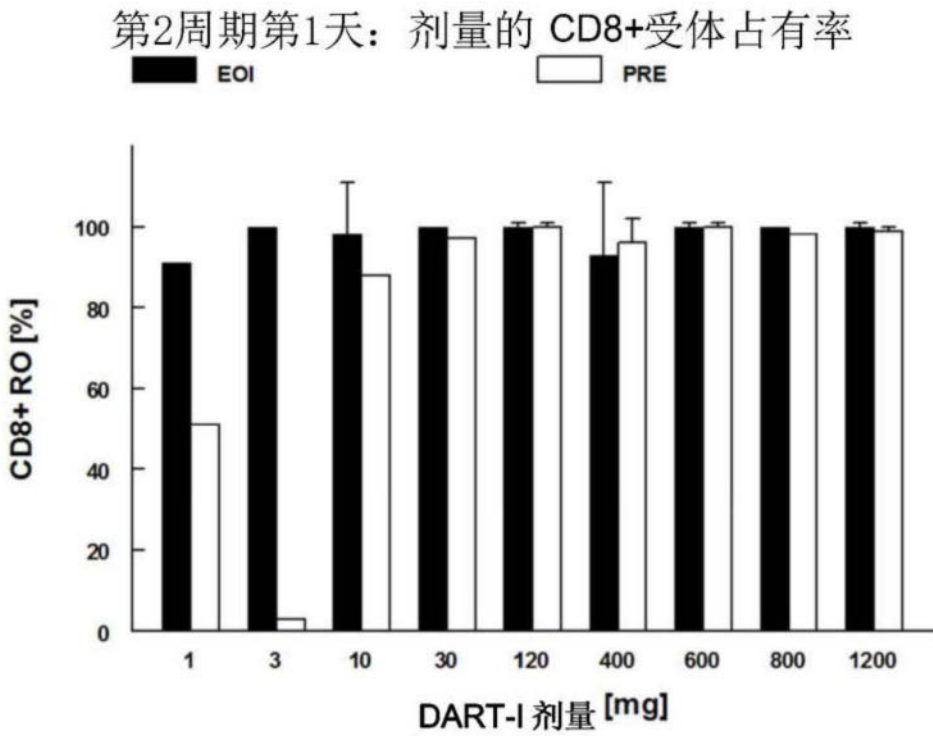


图3D

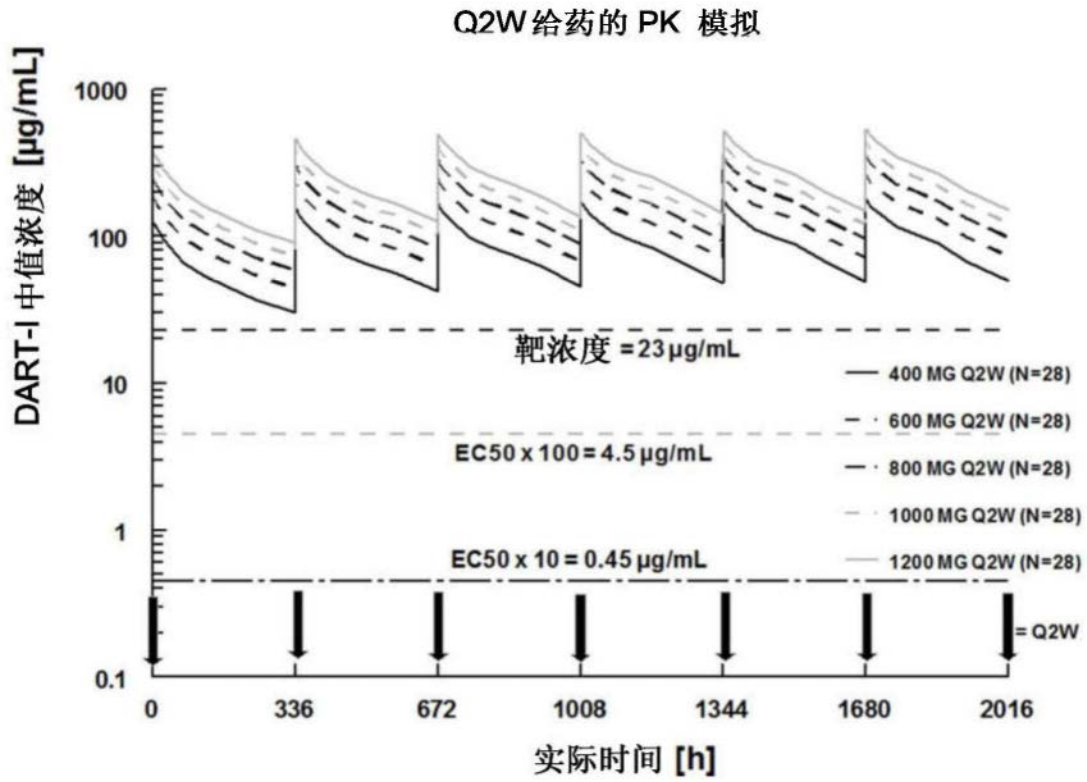


图4A

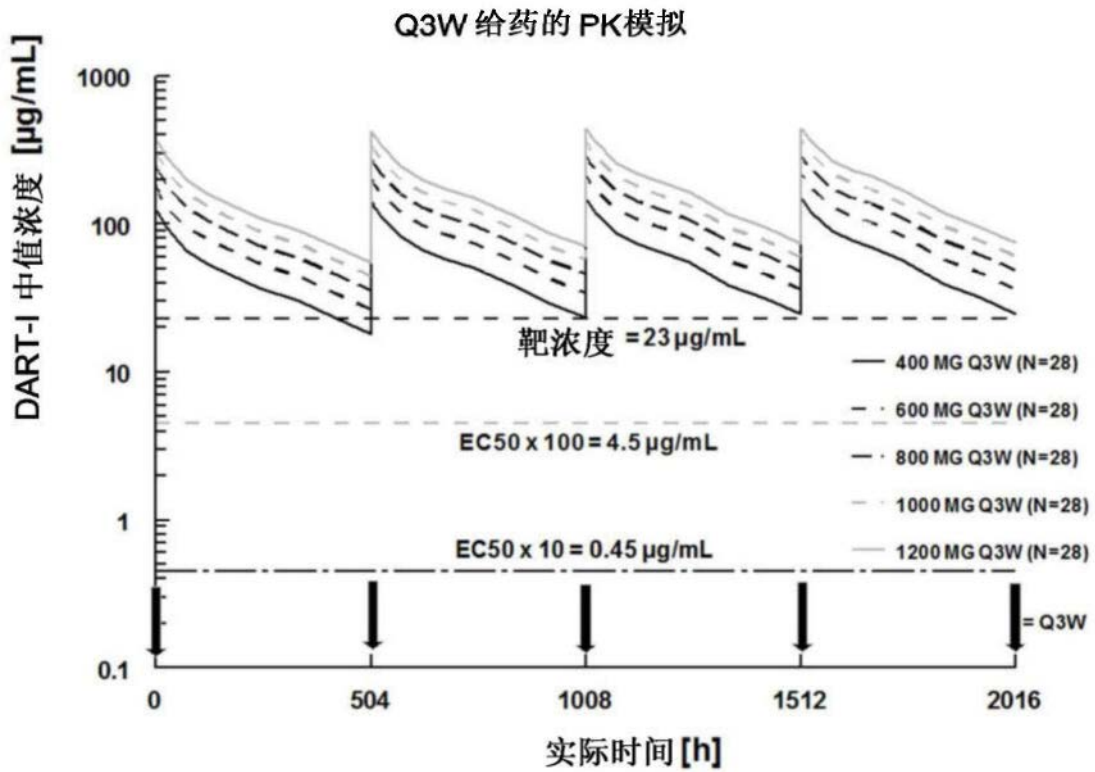


图4B

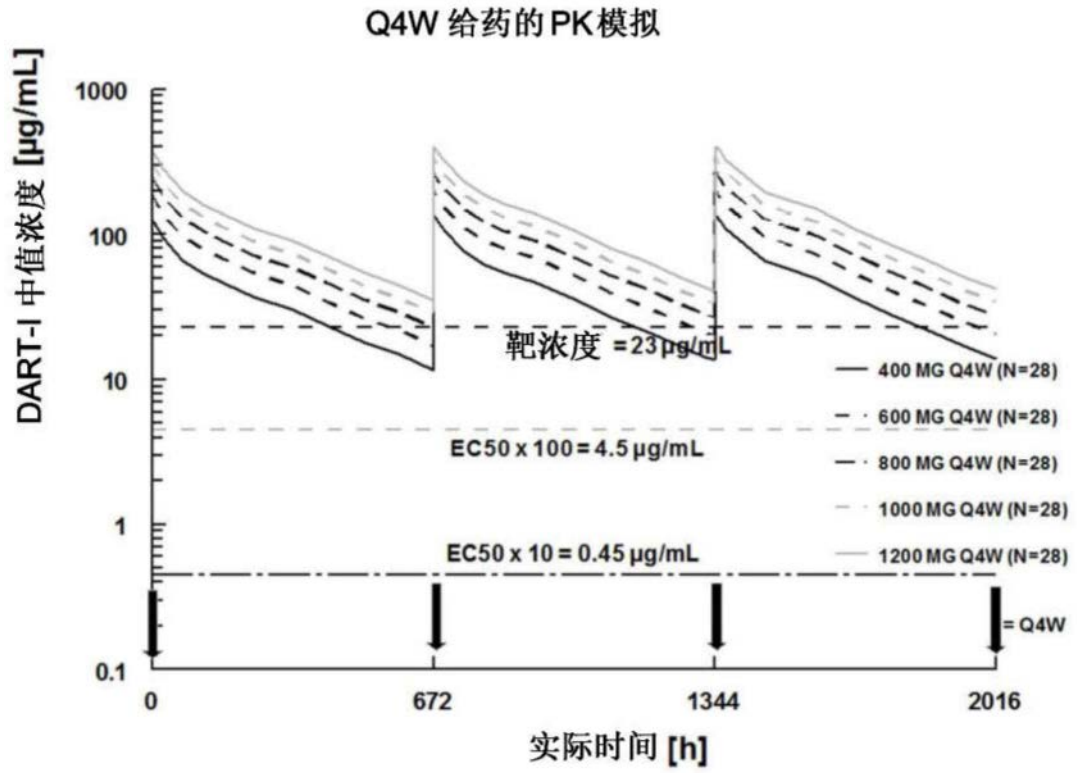


图4C

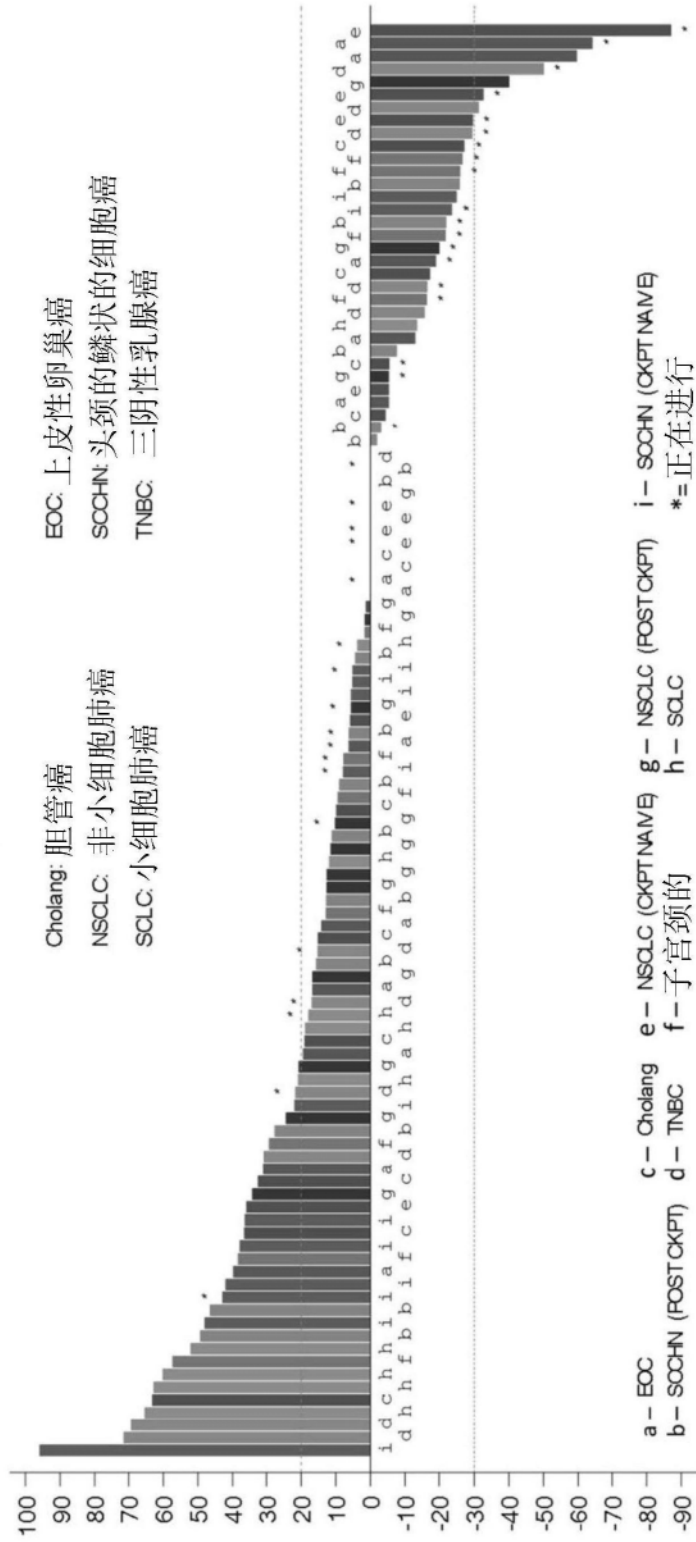


图5

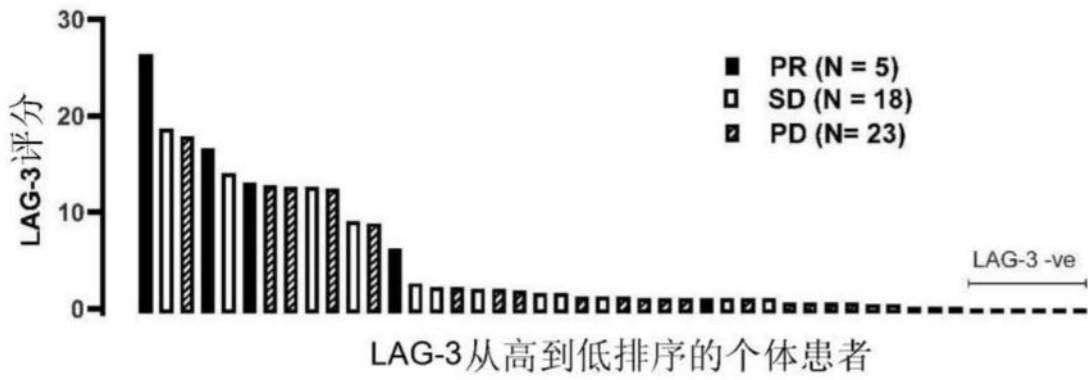


图6A

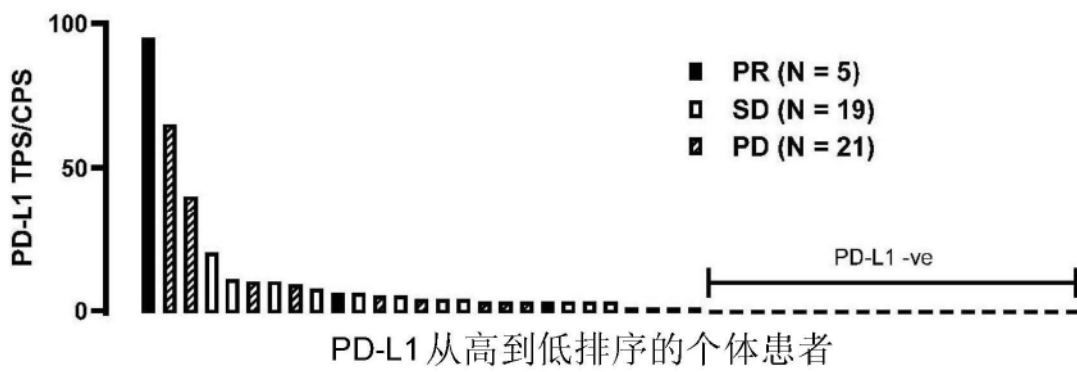


图6B

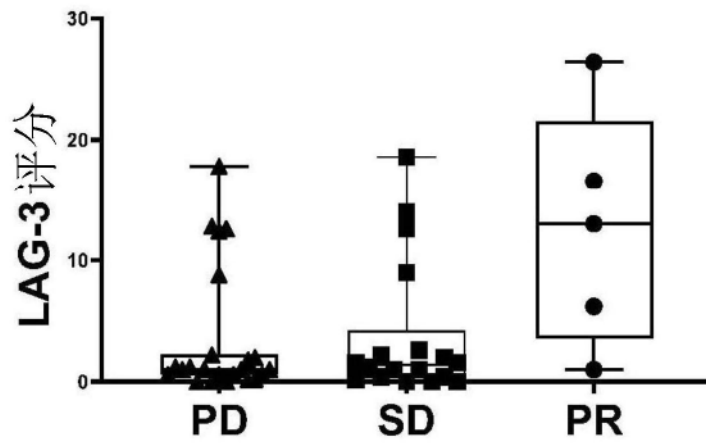


图6C

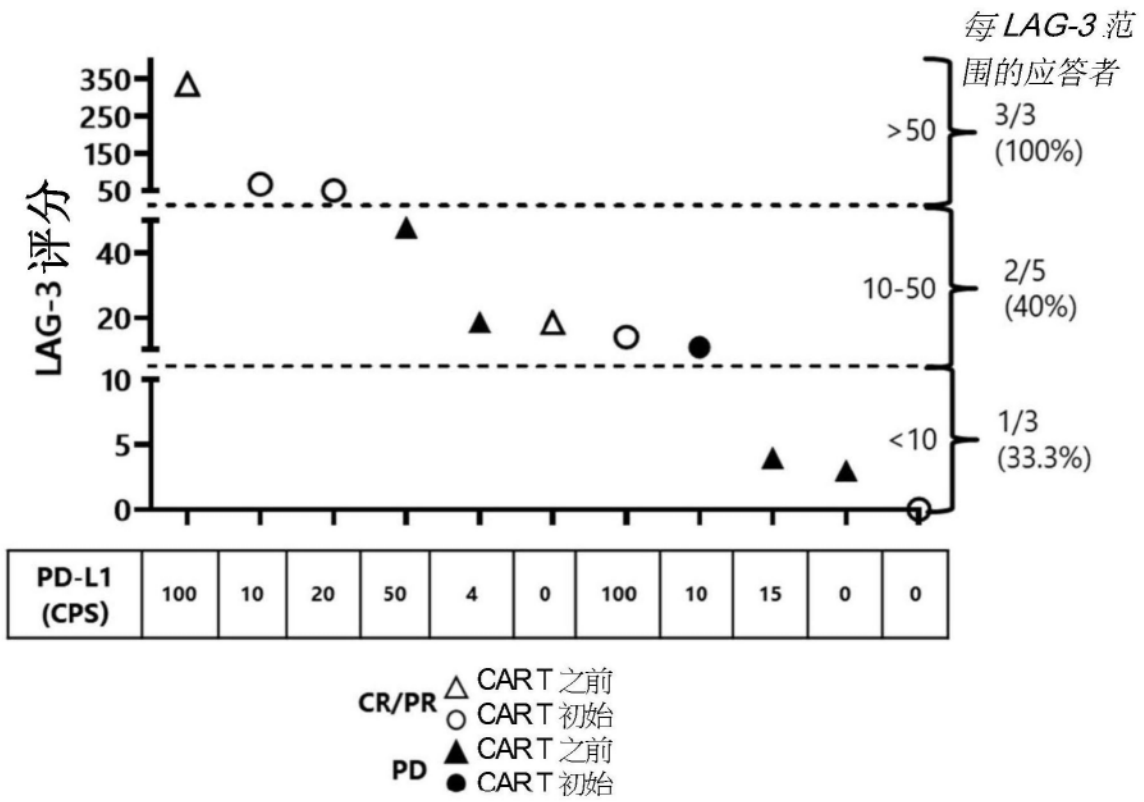


图6D

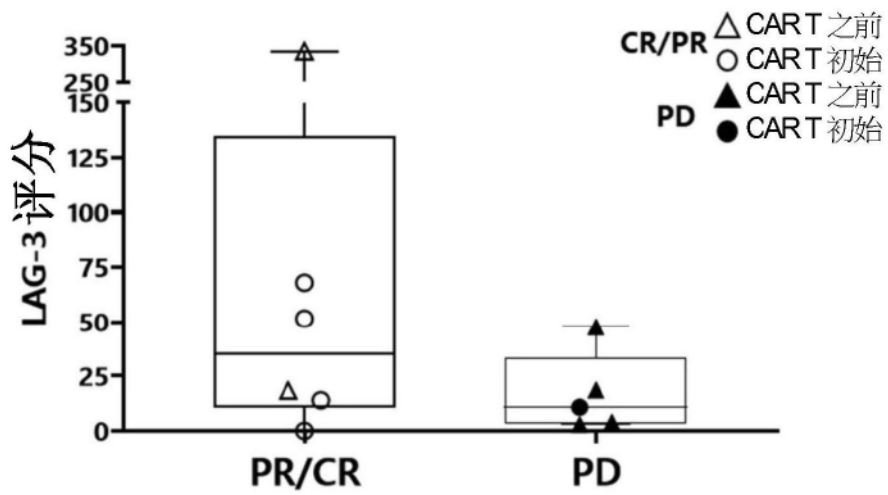


图6E

LAG3 与 PDCD1 表达

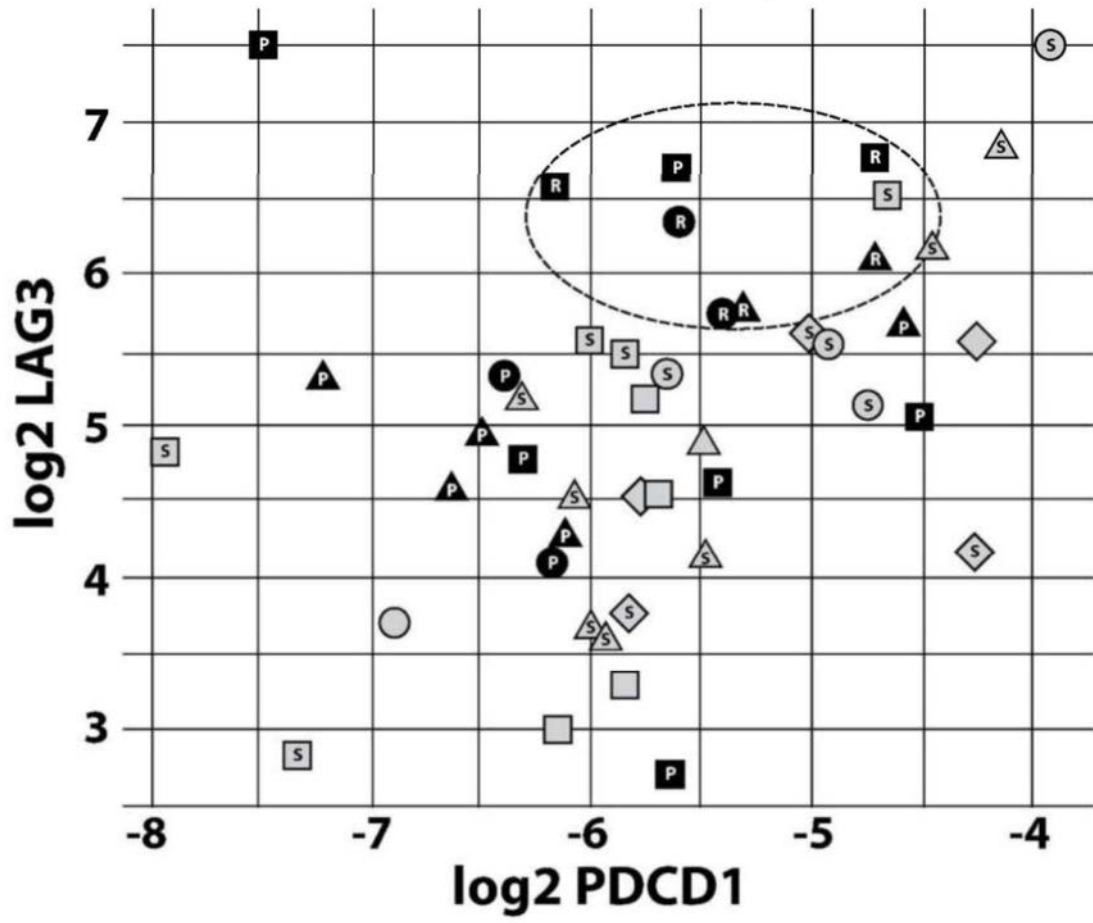


图7

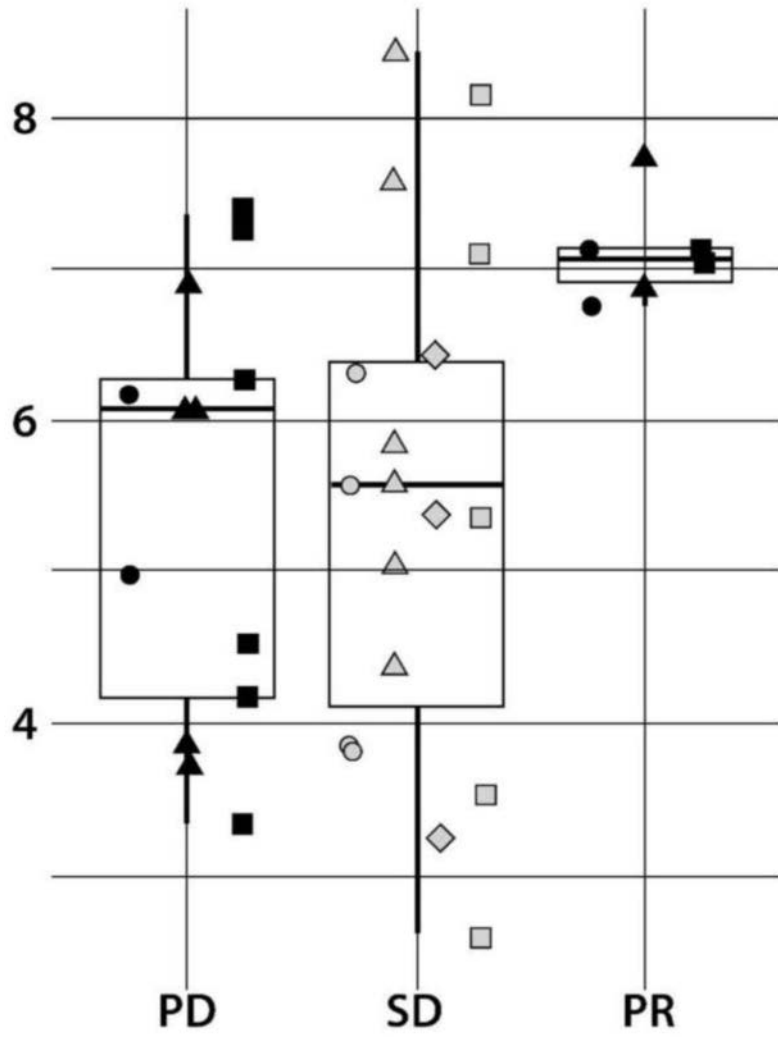


图8

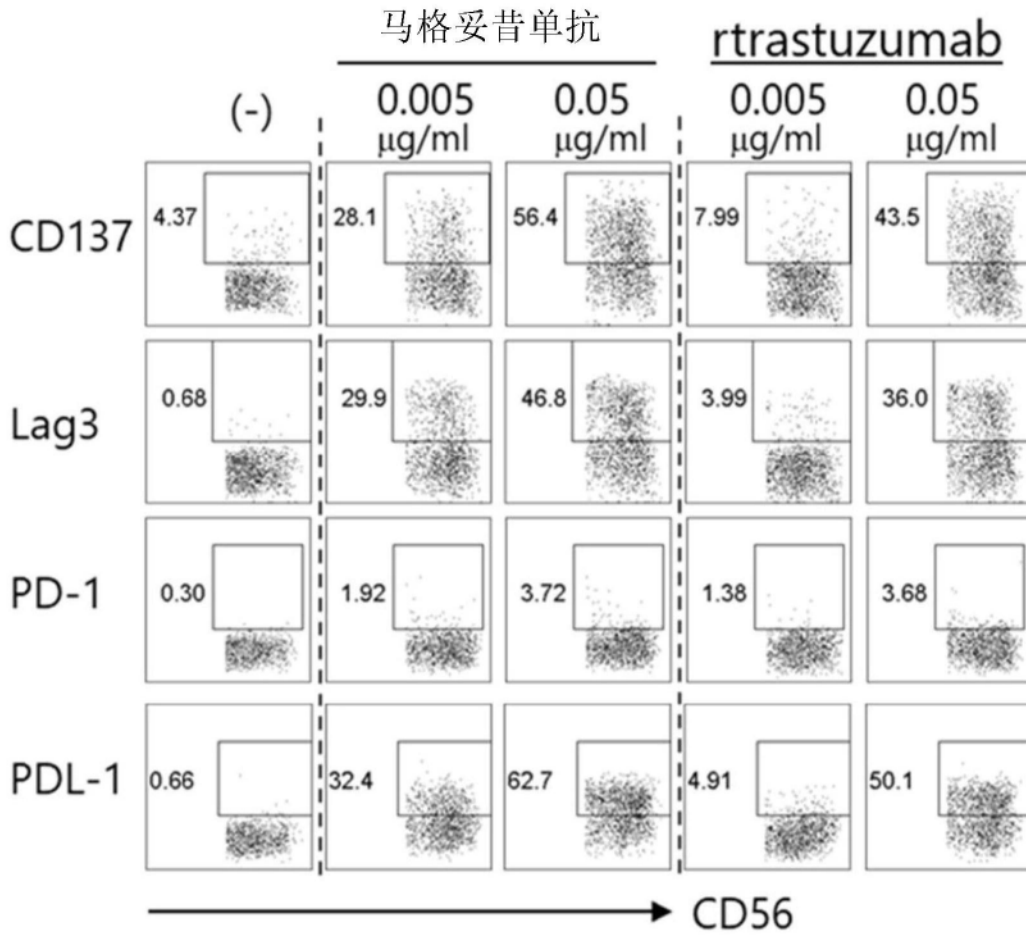


图9

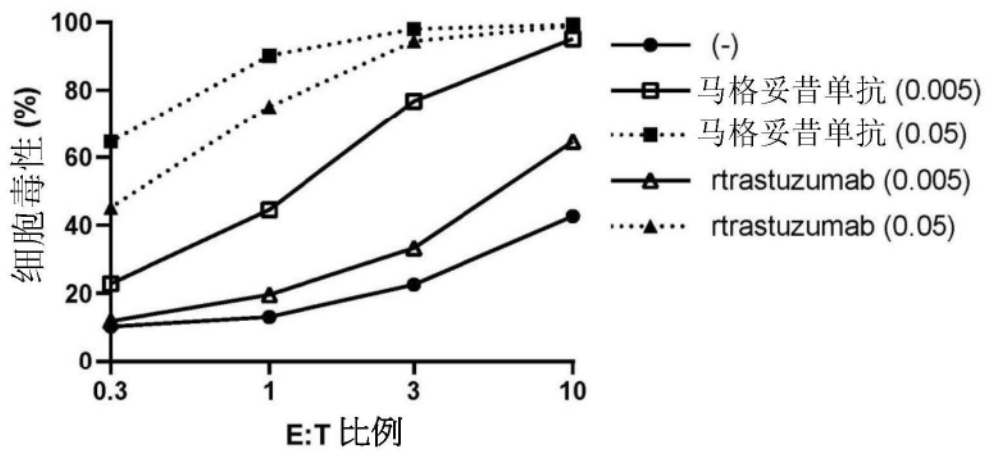


图10

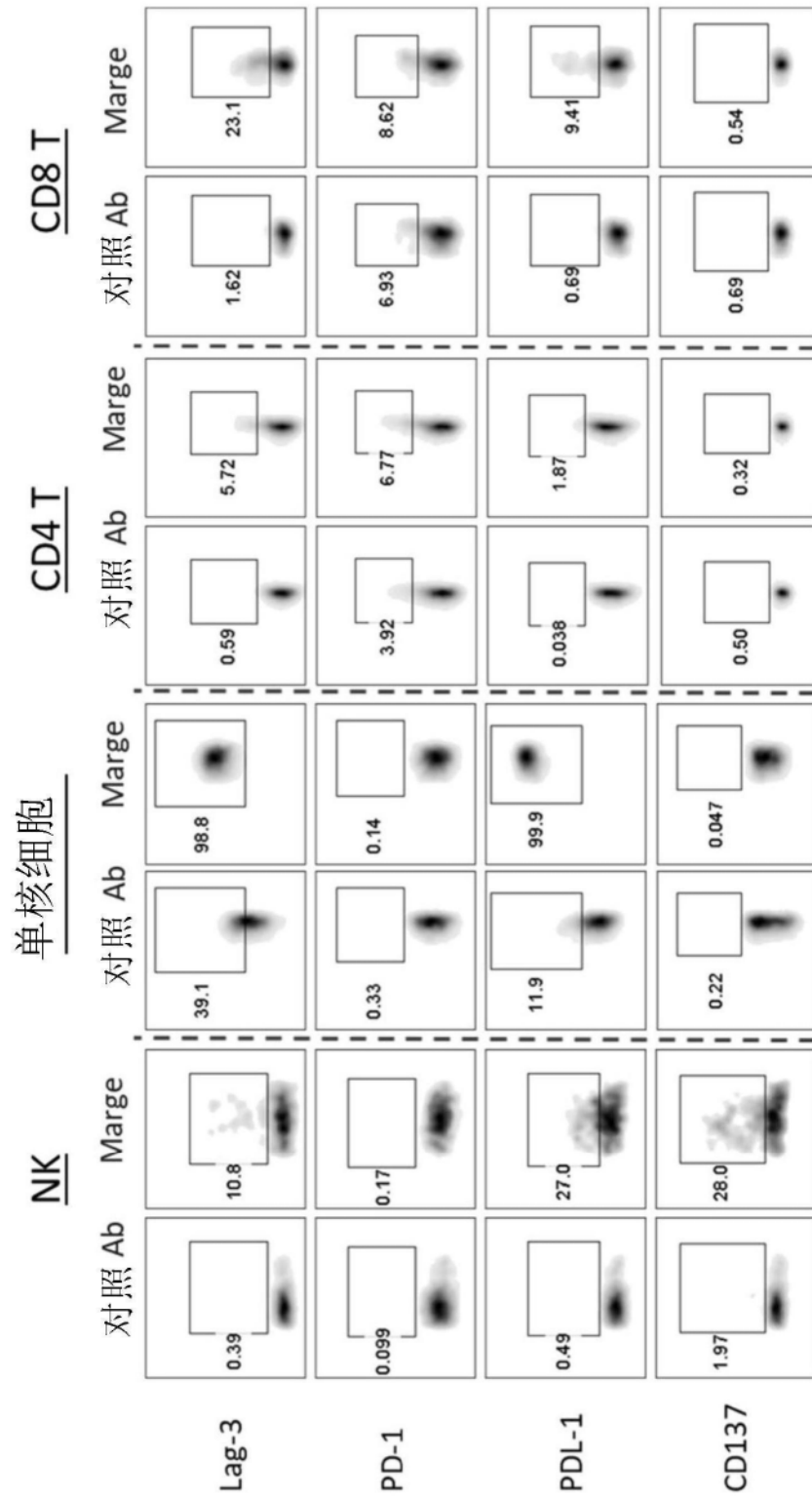


图11

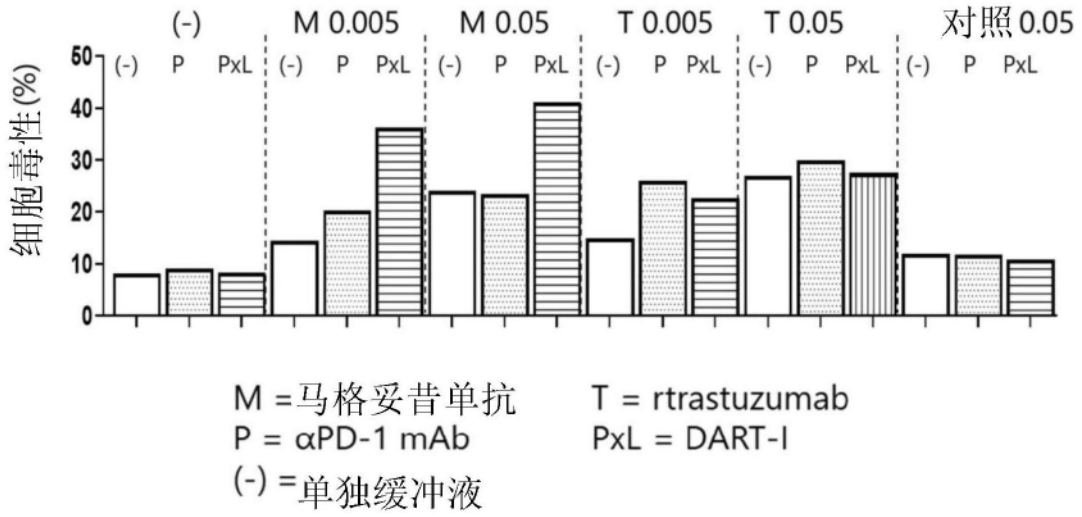


图12

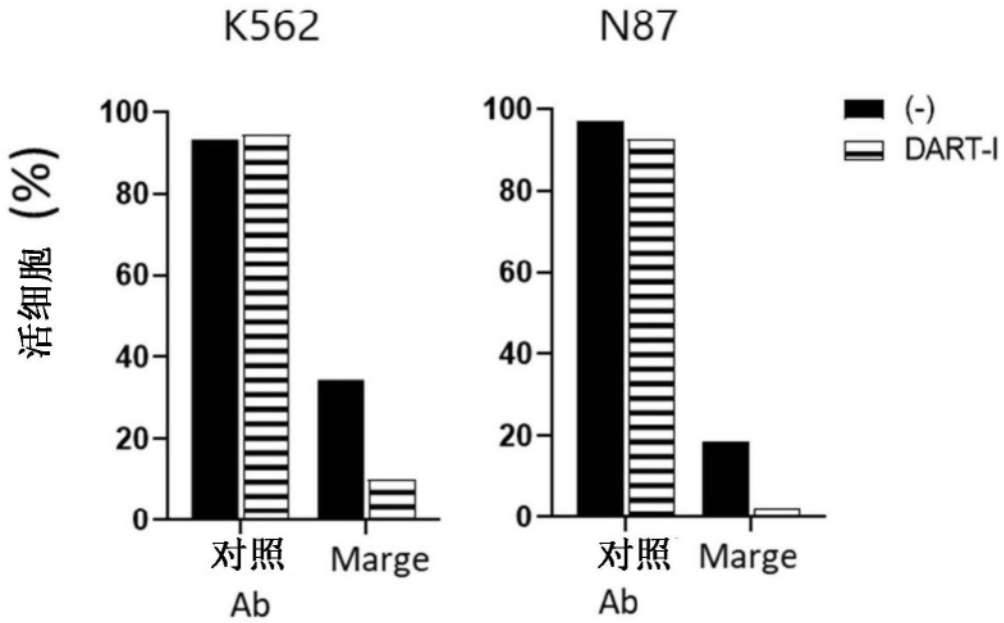


图13

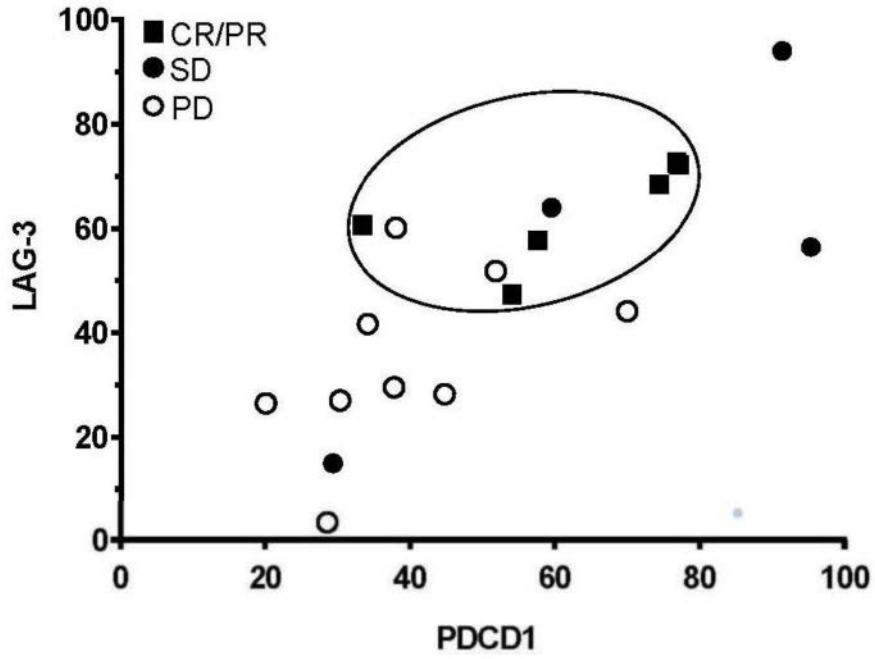


图15A

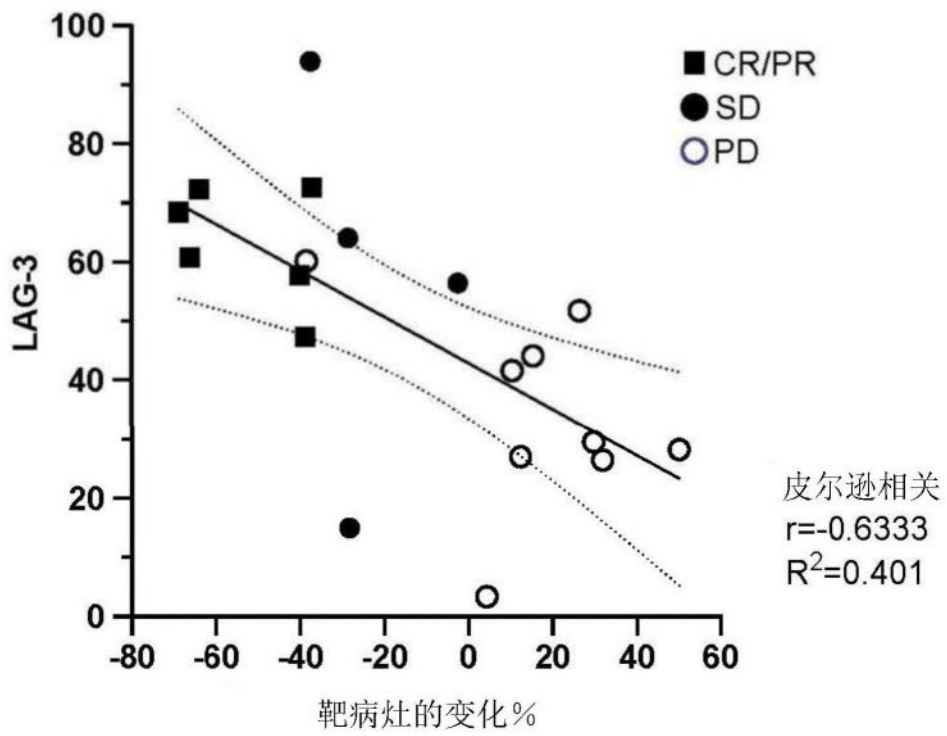


图15B

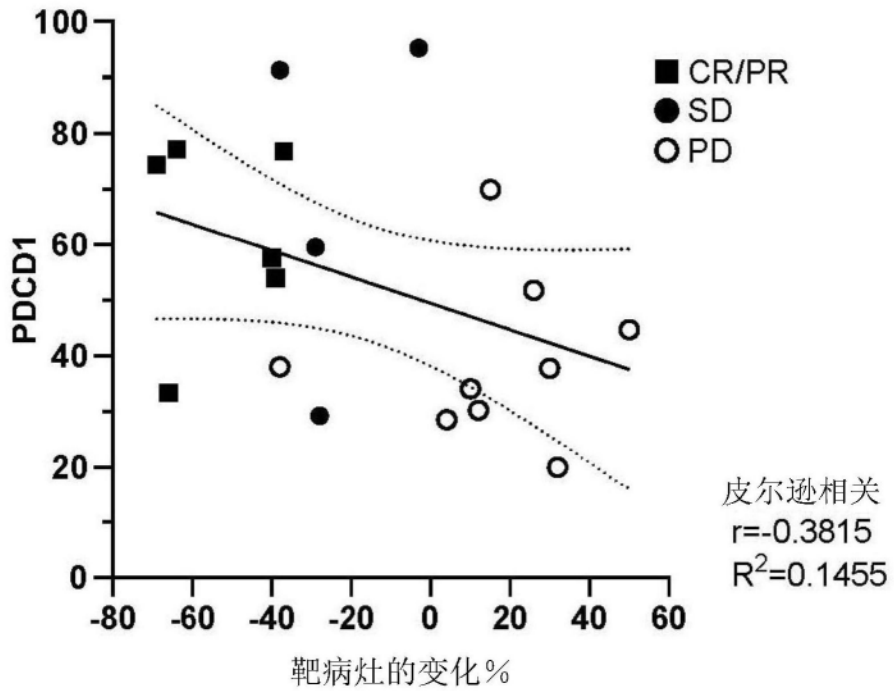


图15C