



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111973739 A

(43)申请公布日 2020.11.24

(21)申请号 202010407559.1

(22)申请日 2020.05.14

(66)本国优先权数据

201910435321.7 2019.05.23 CN

(71)申请人 正大天晴药业集团股份有限公司

地址 222062 江苏省连云港市郁州南路369号

申请人 正大天晴药业集团南京顺欣制药有限公司

(72)发明人 杨朝强 苏楠 张喜全 王训强

(51)Int.Cl.

A61K 39/395(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书27页

序列表11页

(54)发明名称

抗PD-L1单克隆抗体治疗癌症的用途

(57)摘要

本发明提供抗PD-L1单克隆抗体治疗癌症的用途,具体为治疗纵膈大B细胞淋巴瘤的用途,其包括向所述主体施用治疗有效量的PD-1受体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂,其中抑制剂是抗PD-L1单抗,临床试验结果显示显著控制了疾病进展。

1. 治疗主体中的纵膈大B细胞淋巴瘤的方法,其包括向所述主体施用治疗有效量的抗PD-L1抗体,其中所述抗PD-L1抗体包含如下氨基酸序列:与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列有至少80%同源性的重链CDR1区;与SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列有至少80%同源性的重链CDR2区;与SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列有至少80%同源性的重链CDR3区;与SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列有至少80%同源性的轻链CDR1区;与SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列有至少80%同源性的轻链CDR2区;与SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列有至少80%同源性的轻链CDR3区。

2. 根据前述权利要求所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体以1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg体重的剂量施用,持续给药。

3. 根据前述任一项权利要求所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体以可以有效治疗所述纵膈大B细胞淋巴瘤的一个或多个统一剂量施用。

4. 根据前述任一项权利要求所述的方法,其中所述统一剂量在大约20mg至大约2000mg抗PD-L1抗体范围内。

5. 根据前述任一项权利要求所述的方法,其中大约每周(q1w)、大约每2周(q1w)、大约每3周(q1w)、或者大约每4周(q1w)施用抗PD-L1抗体。

6. 根据前述任一项权利要求所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体作为静脉输注施用。

7. 根据前述任一项权利要求所述的方法,其中所述主体先前已接受化疗和/或放射治疗。

8. 根据前述任一项权利要求所述的方法,其中所述纵膈大B细胞淋巴瘤是复发性和/或难治性纵膈大B细胞淋巴瘤。

9. 包括含有固定剂量抗PD-L1抗体的容器的制品,其中所述固定剂量选自大约300mg、大约600mg、大约900mg、大约1000mg、大约1200mg、大约1500mg、大约1800mg、大约2100mg和大约2400mg的抗PD-L1抗体,其中所述抗PD-L1抗体包含如下氨基酸序列:与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列有至少80%同源性的重链CDR1区;与SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列有至少80%同源性的重链CDR2区;与SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列有至少80%同源性的重链CDR3区;与SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列有至少80%同源性的轻链CDR1区;与SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列有至少80%同源性的轻链CDR2区;与SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列有至少80%同源性的轻链CDR3区。

## 抗PD-L1单克隆抗体治疗癌症的用途

### 技术领域

[0001] 本发明提供治疗主体中的癌症的方法,其包括向所述主体施用治疗有效量的PD-1受体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂。

### 背景技术

[0002] 包含T淋巴细胞天然免疫系统具有强大的抗癌能力,其具有广泛的能力和精细的特异性,从而对各种肿瘤抗原做出响应。新兴的癌症免疫疗法通过激活的效应细胞的过继转移、针对相关抗原的免疫接种或提供非特异性免疫刺激剂来增强抗肿瘤免疫应答。在过去的十余年中,研究者努力开发特异性免疫检查点抑制剂并期望提供用于治疗癌症的新免疫治疗方案,包括开发结合并抑制CTLA-4的抗体(Antibody)伊匹单抗(Ipilimumab)(YERVOY®)用于治疗具有晚期黑素瘤的患者(Hodi等人(2010)N Engl J Med 363:711-23),和开发抗体诸如纳武利尤单抗(Nivolumab)(Opdivo®)和帕博利珠单抗(Pembrolizumab)(Keytruda®),它们特异性地结合程序性死亡受体-1(PD-1)并阻断抑制性PD-1/PD-1配体途径(Topalian等人(2012a)N Engl J Med 366:2443-54)。其中,PD-1(programmed death-1,PD-1)是一种由活化的T淋巴细胞和B淋巴细胞表达的关键免疫检验点受体并介导免疫抑制,其配体至少包括PD-L1和PD-L2。

[0003] PD-L1(Programmed death-ligand 1)又称为CD274和B7-H1,是由CD274基因编码的40kDa的1型跨膜蛋白,是PD-1的一个配体。PD-L1和PD-1两者都属于免疫球蛋白超家族并且都由两个细胞外Ig结构域,即N末端V结构域和C末端恒定结构域组成。PD-L1与程序性死亡受体1(PD-1)和B7-1(CD80)的结合界面是在IgV样结构域上(Lin等(2008)PNAS 105:3011-3016)。虽然PD-L1含有保守的短的细胞内尾区(约30个氨基酸),但PD-1含有两个基于细胞质酪氨酸的信号基序,即基于免疫受体酪氨酸的抑制基序(ITIM)和基于免疫受体酪氨酸的转换基序(ITSM)。在T细胞刺激之后,PD-1将酪氨酸磷酸酶SHP-2募集到其胞质尾区内的ITSM基序,导致参与CD3 T细胞信号传导级联的效应分子(诸如CD3 $\zeta$ 、PKC $\theta$ 和ZAP70)的去磷酸化(Freeman等(2000)J Exp Med 192:1027-34;Latchman等(2001)Nat Immunol 2:261-8;Carter等(2002)Eur J Immunol 32:634-43)。PD-L1不仅在淋巴和非淋巴组织中的白细胞和非造血细胞上广泛分布,而且还在各种癌细胞中广泛分布,在多种肿瘤细胞表面高表达,而且肿瘤的恶性程度以及不良预后与PD-L1的表达水平密切相关。有临床数据表明PD-L1的高肿瘤表达与增加的肿瘤侵袭性和较差的预后相关联。PD-1/PD-L1复合物的形成传输抑制信号并负调节T细胞免疫应答;它抑制TCR介导的T细胞活化、细胞因子产生和T细胞增殖(Fife等(2011)Nature Immunology 10:1185-1193);诱导同源抗原特异性T细胞之中的衰竭或无反应性(Hofmeyer等(2011)Journal of Biomedicine and Biotechnology 2011:1-9);促进Th1细胞分化成Foxp3<sup>+</sup>调节性T细胞(Armanath等(2011)Science TransMed 3:1-13;Francisco等(2009)J.Exp.Med. 206:3015-3029);并诱导效应T细胞的凋亡。PD-L1基因的破坏导致上调的T细胞应答和自身反应性T细胞的产生(Latchman等(2004)PNAS 101:10691-10696)。PD-1或PD-L1的抗体阻断导致增加的抗肿瘤免疫性(Iwai等(2002)

PNAS99:12293-12297)。

[0004] 抗PD-L1抗体可以通过阻断PD-L1与PD-1及CD80的相互作用,使得相关的负调控信号不能被启动与传导,从而避免了在肿瘤微环境中的效应T细胞的活性被抑制,使T细胞可以发挥杀伤和抑制肿瘤细胞的功能。由于抗PD-L1抗体能够直接作用于肿瘤组织,因而具有较高的特异性和安全性。目前主要的抗PD-L1单抗药物产品包括罗氏的Atezolizumab、阿斯利康的Durvalumab和默克&辉瑞的Avelumab等。专利W02016022630也公开了抗PD-L1抗体,对PD-L1具有较高的亲和力,能够显著抑制细胞表面的PD-L1和PD-1的相互作用,并显著促进T细胞分泌IL-2和IFN- $\gamma$ 。

[0005] 恶性淋巴瘤是淋巴结和结外部位淋巴组织的免疫细胞肿瘤,来源于淋巴细胞或组织细胞的恶变。恶性淋巴瘤分为霍奇金病(HD)和非霍奇金淋巴瘤(NHL)两大类。在我国,恶性淋巴瘤的发病率居于恶性肿瘤11-13位,近年来发病率有增长的趋势,每年至少超过25000例。在欧洲、美洲和澳大利亚等西方国家的发病率可高达11/10万-18/10万,略高于各类白血病的总和。在美国每年至少发现新病例3万以上。目前恶性淋巴瘤的治疗正在从以往的非特异性的细胞毒性药物化疗和放疗为主的治疗转变为包含生物靶向治疗等多种模式的多学科综合治疗。NHL又分为侵袭性淋巴瘤和惰性淋巴瘤。原发纵膈大B细胞淋巴瘤(PMBCL)为侵袭性NHL组织学亚型,约占侵袭性淋巴瘤的5%,全部淋巴瘤的2%。与弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)相比,PMBCL具有独特的分子学标记,与结节硬化型非霍奇金淋巴瘤有共同之处。PMBCL主要见于女性,肿物多好发于前纵膈,生长速度较快,肿块直径大于10cm的情况较多见,多伴有呼吸系统及局部胸腔内(肺、胸壁、胸膜、心包)浸润症状。50%患者在发病时可有上腔静脉综合征的症状及体征,如面部水肿,颈静脉怒张,有时伴有上肢水肿和/或深静脉血栓。近20%的患者伴有全身症状,主要为发热及体重减轻,70%的患者可出现乳酸脱氢酶(LDH)升高。大部分患者在初治时处于I-II期,只有20%的患者分期为III-IV期。初治患者中,胸腔以外的远处转移播散并不常见,但在复发的患者中,易累及肾脏、肾上腺、肝脏、卵巢和中枢神经系统,但骨髓浸润少见。复发/难治性原发纵膈大B细胞淋巴瘤(rrPMBCL)治疗通常参考复发/难治性弥漫大B细胞淋巴瘤,对于自体干细胞移植治疗后复发或不适合大剂量治疗的患者推荐参加临床试验或接受二线化疗方案、姑息性放疗或支持性护理。一项106例PMBCL患者治疗的研究中(Lazzarino M,Orlandi E,Paulli M,et al.Treatment outcome and prognostic factors for primary mediastinal(thymic)B-cell lymphoma:a multicenter study of 106patients.J Clin Oncol.1997;15(4):1646-1653.),含阿霉素治疗rrPMBCL结果较差,35例难治性PMBCL的有效率为0%,18例复发性PMBCL患者中仅4例有效(22%);另一项治疗rrPMBCL/rrDLBCL的研究(Kuruvilla J,Pintilie M,Tsang R,Nagy T,Keating A,Crump M.Salvage chemotherapy and autologous stem cell transplantation are inferior for relapsed or refractory primary mediastinal large B-cell lymphoma compared with diffuse large B-cell lymphoma.Leuk Lymphoma.),rrPMBCL挽救性化疗的总有效率为25%。

## 发明内容

[0006] 本发明的概述

[0007] 本发明提供治疗主体中的癌症的方法,其包括向所述主体施用治疗有效量的PD-1

受体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂,其中,所述抑制剂是PD-L1抗体。

[0008] 本发明也提供抗PD-L1抗体治疗癌症的用途,其包括向所述主体施用治疗有效量的PD-1受体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂,其中,所述抑制剂是抗PD-L1抗体。

[0009] 本发明还提供抗PD-L1抗体在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

[0010] 在一些方案中,所述抗PD-L1抗体包含如下氨基酸序列:与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列有至少80%同源性的重链CDR1区;与SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列有至少80%同源性的重链CDR2区;与SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列有至少80%同源性的重链CDR3区;与SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列有至少80%同源性的轻链CDR1区;与SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列有至少80%同源性的轻链CDR2区;与SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列有至少80%同源性的轻链CDR3区。

[0011] 在一些方案中,所述抗PD-L1抗体以1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、9mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、30mg/kg体重的剂量施用,持续给药。

[0012] 在一些方案中,所述抗PD-L1抗体以可以有效治疗所述癌症的一个或多个统一剂量施用。在一些具体实施方式中,其中所述统一剂量在大约20mg至大约2000mg抗PD-L1抗体范围内。在一些具体实施方式中,其中所述统一剂量选自大约300mg、大约600mg、大约900mg、大约1000mg、大约1200mg、大约1500mg、大约1800mg、大约2100mg或大约2400mg抗PD-L1抗体。在一些具体实施方式中,所述统一剂量选自大约1200mg抗PD-L1抗体。

[0013] 在一些方案中,大约每周(q1w)、大约每2周(q1w)、大约每3周(q1w)、或者大约每4周(q1w)施用抗PD-L1抗体。在一些具体实施方式中,大约每3周为病人施用统一剂量的抗PD-L1抗体。在一些具体实施方式中,所述抗PD-L1抗体以每个患者1200mg的剂量施用,大约每3周施用一次,持续施用。

[0014] 在一些方案中,所述抗PD-L1抗体作为静脉输注施用。在一些具体实施方式中,所述抗PD-L1抗体作为约1-2小时静脉输注施用,优选约1小时静脉输注施用。

[0015] 在一些方案中,所述抗PD-L1抗体为裸抗体、完整抗体或包含抗原结合区的抗体片段。

[0016] 在一些方案中,所述方法导致客观反应,优选完全反应或部分反应。

[0017] 在一些方案中,所述主体先前已接受手术、化疗和/或放射治疗。在一些具体实施方式中,所述主体经手术后获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,所述主体经手术后未能完全缓解或未能部分缓解。在一些具体实施方式中,所述主体经化疗后获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,所述主体经化疗后未能完全缓解或未能部分缓解。在一些具体实施方式中,所述主体经放射治疗后获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,所述主体经放射治疗后未能完全缓解或未能部分缓解。在一些方案中,所述主体先前已接受手术和化疗。在一些具体实施方式中,所述主体经手术和化疗后获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,所述主体经手术和化疗后未能完全缓解或未能部分缓解。在一些方案中,所述主体先前已接受手术和放射治疗。在一些具体实施方式中,所述主体经手术和放射治疗后获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,所述主体经手术和放射治疗后未能完全缓解或未能部分缓解。在一些方案中,所述主体先前已接受化疗和放射治疗。在一些具体实施方式中,所述主

体经化疗和放射治疗后获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,所述主体经化疗和放射治疗后未能完全缓解或未能部分缓解。在一些方案中,所述主体先前已接受手术、化疗和放射治疗。在一些具体实施方式中,所述主体经手术、化疗和放射治疗后获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,所述主体经手术、化疗和放射治疗后未能完全缓解或未能部分缓解。

[0018] 在一些方案中,所述主体接受手术、化疗和/或放射治疗后接受过自体干细胞移植。在一些具体实施方式中,所述主体经手术、化疗和/或自体干细胞移植后获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,所述主体经手术、化疗和/或自体干细胞移植后未能完全缓解或未能部分缓解。在一些方案中,所述主体接受手术后接受过自体干细胞移植。在一些具体实施方式中,所述主体经手术和自体干细胞移植后获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,所述主体经手术和自体干细胞移植后未能完全缓解或未能部分缓解。在一些方案中,所述主体接受化疗后接受过自体干细胞移植。在一些具体实施方式中,所述主体经化疗和自体干细胞移植后获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,所述主体经化疗和自体干细胞移植后未能完全缓解或未能部分缓解。在一些方案中,所述主体接受放射治疗后接受过自体干细胞移植。在一些具体实施方式中,所述主体经放射治疗和自体干细胞移植后获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,所述主体经放射治疗和自体干细胞移植后未能完全缓解或未能部分缓解。在一些方案中,所述主体接受手术和化疗后接受过自体干细胞移植。在一些具体实施方式中,所述主体经手术、化疗和自体干细胞移植后获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,所述主体经手术、化疗和自体干细胞移植后未能完全缓解或未能部分缓解。在一些方案中,所述主体接受手术和放射治疗后接受过自体干细胞移植。在一些具体实施方式中,所述主体经手术、放射治疗和自体干细胞移植后获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,所述主体经手术、放射治疗和自体干细胞移植后未能完全缓解或未能部分缓解。在一些方案中,所述主体接受化疗和放射治疗后接受过自体干细胞移植。在一些具体实施方式中,所述主体经化疗、放射治疗和自体干细胞移植后获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,所述主体经化疗、放射治疗和自体干细胞移植后未能完全缓解或未能部分缓解。

[0019] 在一些方案中,所述主体接受手术后接受过自体干细胞移植。在一些具体实施方式中,所述主体经自体干细胞移植后获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,所述主体经自体干细胞移植后未能完全缓解或未能部分缓解。

[0020] 在一些方案中,所述癌症是非霍奇金淋巴瘤(non Hodgkin's lymphoma)。在一些具体实施方式中,所述癌症是纵膈大B细胞淋巴瘤。在一些具体实施方式中,所述纵膈大B细胞淋巴瘤在化疗和/或放射治疗后已进展。在一些具体实施方式中,所述癌症是复发性或难治性纵膈大B细胞淋巴瘤。在一些具体实施方式中,所述纵膈大B细胞淋巴瘤是复发性的。在一些具体实施方式中,所述纵膈大B细胞淋巴瘤是难治性的。在一些具体实施方式中,所述纵膈大B细胞淋巴瘤是转移性的。在一些具体实施方式中,所述癌症治疗是复发性或难治性纵膈大B细胞淋巴瘤的二线治疗。在一些具体实施方式中,所述癌症治疗是转移性纵膈大B细胞淋巴瘤的二线治疗。在一些具体实施方式中,所述复发性或难治性纵膈大B细胞淋巴瘤在完成一线治疗期间和/或放射治疗之后没有进展。在一些具体实施方式中,所述转移性纵

膈大B细胞淋巴瘤在完成一线治疗期间和/或放射治疗之后没有进展。在一些具体实施方式中,所述复发性或难治性纵膈大B细胞淋巴瘤在化疗和/或放射治疗后已进展。在一些具体实施方式中,所述转移性纵膈大B细胞淋巴瘤在化疗和/或放射治疗后已进展。

[0021] 本发明提供包括含有固定剂量抗PD-L1抗体的容器的制品。本发明还提供抗PD-L1抗体在制备用于治疗癌症的包括固定剂量的抗PD-L1抗体的容器的制品中的用途。在一些具体实施方式中,所述容器是管形瓶。所述固定剂量选自大约300mg、大约600mg、大约900mg、大约1000mg、大约1200mg、大约1500mg、大约1800mg、大约2100mg和大约2400mg的抗PD-L1抗体。在一些具体实施方式中,所述制品进一步包括指导用户为癌症病人施用所述固定剂量的包装插页或药品说明书。在一些具体实施方式中,所述制品包括1个或1个以上的管形瓶,所述管形瓶含有大约300mg或600mg抗PD-L1抗体。在一些具体实施方式中,所述制品包括1个管形瓶,所述管形瓶含有大约300mg抗PD-L1抗体。在一些具体实施方式中,所述制品包括1个管形瓶,所述管形瓶含有大约600mg抗PD-L1抗体。

[0022] 本发明的详细内容及优选的实施方案

[0023] 本发明提供了一种用于治疗患有癌症或肿瘤的主体的方法,其包括向所述主体施用治疗有效量的PD-1受体和其配体PD-L1之间的相互作用的抑制剂。

[0024] 本发明还提供了一种用于治疗患有癌症或肿瘤的主体的方法,所述方法包括给所述主体施用治疗有效量的:结合程序性死亡配体1 (PD-L1) 和/或抑制PD-L1活性的抗体或其抗原结合部分。

[0025] 本发明也提供了一种用于治疗患有癌症或肿瘤的主体的单一疗法,所述方法包括给所述主体单独施用治疗有效量的:结合程序性死亡配体1 (PD-L1) 和/或抑制PD-L1活性的抗体或其抗原结合部分。

[0026] 本发明也提供了一种治疗患有癌症或肿瘤的主体的方法,所述癌症或肿瘤是纵膈大B细胞淋巴瘤,所述方法包括:(i) 测量所述主体的样品中的PD-L1水平,其中所述主体是PD-L1阳性的,和(ii) 给所述主体施用治疗有效量的抗PD-L1抗体或其抗原结合部分。

[0027] 本发明提供了一种用于治疗患有癌症或肿瘤的主体的方法。在另一些实施方案中,所述主体是经组织病理学确诊为纵膈大B细胞淋巴瘤 (MBCL) 的患者。在另一些实施方案中,所述主体是复发性或难治性的原发纵膈大B细胞淋巴瘤 (PMBCL) 的患者。在另一些实施方案中,所述主体是复发或难治性的原发纵膈大B细胞淋巴瘤的患者。在另一些实施方案中,所述主体是复发性原发纵膈大B细胞淋巴瘤的患者,所述复发性是指经治疗获完全缓解后再次出现疾病进展。在另一些实施方案中,所述主体是难治性原发纵膈大B细胞淋巴瘤的患者,所述难治性是指经治疗后未能获得完全缓解或部分缓解。在另一些实施方案中,所述主体是转移性纵膈大B细胞淋巴瘤的患者。在一些具体实施方案中,所述转移性是淋巴转移。在另一些具体实施方案中,所述转移性是胸膜和/或局部胸壁转移。

[0028] 在一些方案中,所述主体是复发和难治性的原发纵膈大B细胞淋巴瘤 (PMBCL) 的患者。在一些方案中,所述主体是转移性的复发和难治性的纵膈大B细胞淋巴瘤的患者。在一些方案中,所述主体是转移性的复发或难治性的纵膈大B细胞淋巴瘤的患者。

[0029] 本发明也提供了一种用于鉴别患有纵膈大B细胞淋巴瘤的主体的方法,所述主体对于抗PD-L1抗体疗法而言是适合的,所述方法包括测量所述主体的样品中的PD-L1水平,且其中给所述主体施用治疗有效量的抗PD-L1抗体或其抗原结合部分。

[0030] 本发明也提供了一种用于治疗患有从纵膈大B细胞淋巴瘤的主体的试剂盒,所述试剂盒包含:(a)抗PD-L1抗体或其抗原结合部分;(b)关于治疗所述肿瘤的说明书。

[0031] 本发明提供了使用一种或多种免疫检验点抑制剂,例如抗PD-L1抗体或其抗原结合部分或抗PD-L1抗体或其抗原结合部分,治疗癌症的方法。在一个实施方案中,所述癌症是原发癌。在一个实施方案中,所述癌症是转移性或复发性癌症。在一个实施方案中,所述癌症是复发性或难治性癌症。在一个实施方案中,所述癌症是原发纵膈大B细胞淋巴瘤。在一个实施方案中,所述癌症是复发或难治性原发纵膈大B细胞淋巴瘤。

[0032] 本发明也提供一种抗PD-L1抗体在原发纵膈大B细胞淋巴瘤一线治疗中的用途。本发明也提供一种抗PD-L1抗体在原发纵膈大B细胞淋巴瘤二线治疗中的用途。本发明也提供一种抗PD-L1抗体在原发纵膈大B细胞淋巴瘤三线治疗中的用途。在一些方案中,所述抗PD-L1抗体用于复发性或难治性原发纵膈大B细胞淋巴瘤的二线治疗。在一些方案中,所述抗PD-L1抗体用于复发性或难治性原发纵膈大B细胞淋巴瘤的三线治疗。在一些方案中,所述抗PD-L1抗体单独用于复发性或难治性原发纵膈大B细胞淋巴瘤的二线或三线治疗。在一些方案中,所述抗PD-L1抗体用于复发性或难治性原发纵膈大B细胞淋巴瘤的后续治疗。在一些具体实施方式中,所述抗PD-L1抗体单独用于复发性或难治性原发纵膈大B细胞淋巴瘤患者的二线或三线治疗。

[0033] 原发纵膈大B细胞淋巴瘤的治疗可以参考NCCN指南2017年底5版。最佳一线治疗较其他NHL亚型更具争议,但是,这些治疗方案包括:剂量调整的DA-EPOCH-R([依托泊苷、强的松、长春新碱、环磷酰胺、多柔比星]+利妥昔单抗)×6周期;RCHOP(利妥昔单抗、环磷酰胺、多柔比星、长春新碱、强的松)×6周期+放疗;RCHOP 4×继以ICE(异环磷酰胺、卡铂、依托泊苷)×3周期±放疗等。

[0034] 在某些实施方案中,所述主体是人患者。在某些实施方案中,所述主体已经接受另一种癌症治疗(例如,化学疗法),但是是另一种癌症治疗抗性的或难治的。

[0035] 在一些方案中,所述主体先前已接受EPOCH-R或RCHOP治疗。在一些具体实施方式中,所述主体经EPOCH-R或RCHOP治疗后获完全缓解后再次出现疾病进展。在一些具体实施方式中,所述主体经EPOCH-R或RCHOP治疗后未能完全缓解或未能部分缓解。

[0036] 在某些实施方案中,本发明提供了一种用于治疗患有肿瘤的主体的方法,所述方法包括给所述主体施用治疗有效量的免疫检验点抑制剂,例如,抗PD-L1抗体。在某些实施方案中,本发明涉及一种治疗患有肿瘤的主体的方法,所述是复发或难治性的原发纵膈大B细胞淋巴瘤,所述方法包括:(i)测量所述主体的样品中的PD-L1水平,其中所述主体表达PD-L1,和(ii)给所述主体施用治疗有效量的免疫检验点抑制剂,例如,抗PD-L1抗体或其抗原结合部分。在某些实施方案中,所述抗PD-1抗体是13C5、5G11、ch13C5-hIgG1、ch13C5-hIgG4、ch5G11-hIgG1、ch5G11-hIgG4、hu13C5-hIgG1、hu13C5-hIgG4、hu5G11-hIgG1或hu5G11-hIgG4单抗。在其它实施方案中,所述抗PD-1抗体与5G11单抗竞争结合。

[0037] 在一些方案中,所述癌症或肿瘤表达PD-L1。在施用任何组合物或利用本文公开的任何方法之前,可以测量主体中肿瘤的PD-L1状态。在一个实施方案中,肿瘤的PD-L1表达水平是至少约至少约0.5%、至少约0.6%、至少约0.7%、至少约0.8%、至少约0.9%、1%、至少约2%、至少约3%、至少约4%、至少约5%、至少约6%、至少约7%、至少约8%、至少约9%、至少约10%、至少约11%、至少约12%、至少约13%、至少约14%、至少约15%、至少约



20%或大于至少约20%。在另一个实施方案中,肿瘤的PD-L1状态是至少约1%。在其它实施方案中,主体的PD-L1状态是至少约5%。在一个特定实施方案中,肿瘤的PD-L1状态是至少约10%。使用抗体、原位mRNA杂交、自动化的IHC等方法,可以执行PD-L1状态的测量。

[0038] 本发明提供治疗癌症或肿瘤的主体的方法,该方法包含对该主体施用治疗有效量的抗PD-L1抗体或其抗原结合部分,其中自该患者获得的肿瘤样品已经确定构成约1%或更多(例如约1%,约2%,约3%,或约4%或更多)的细胞中具有可检测的PD-L1的表达水平。在一些实施方案中,自该患者获得的肿瘤样品已经确定构成约1%至约65%或更多(例如约1%至约5%,约5%至约10%,约10%至约20%,约20%至约30%,约30%至约40%,约40%至约50%,或约50%至约65%)的细胞中具有可检测的PD-L1的表达水平。本发明也提供确定罹患原发纵膈大B细胞淋巴瘤的患者是否有可能响应包含抗PD-L1抗体的治疗剂的治疗的方法,该方法包含测定自该患者获得的肿瘤样品中的肿瘤细胞中PD-L1的表达水平,其中构成约1%或更多的该肿瘤样品的细胞中可检测的PD-L1的表达水平指示该患者有可能响应包含抗PD-L1抗体的治疗剂的治疗。本发明还提供用于预测罹患原发纵膈大B细胞淋巴瘤的患者对包含抗PD-L1抗体的治疗剂的治疗的响应性的方法,该方法包含测定自该患者获得的肿瘤样品中的细胞中PD-L1的表达水平,其中构成约1%或更多的该肿瘤样品的肿瘤细胞中可检测的PD-L1的表达水平指示该患者有可能响应包含抗PD-L1抗体的治疗剂的治疗。本发明还提供用于为罹患原发纵膈大B细胞淋巴瘤的患者选择疗法的方法,该方法包含测定自该患者获得的肿瘤样品中的肿瘤细胞中PD-L1的表达水平,和基于构成约1%或更多的该肿瘤样品的肿瘤细胞中可检测的PD-L1的表达水平为该患者选择包含抗PD-L1抗体的治疗剂的疗法。在一些实施方案中,自该患者获得的肿瘤样品已经确定构成约5%或更多的该肿瘤样品的肿瘤细胞中具有可检测的PD-L1的表达水平。在一些实施方案中,自该患者获得的肿瘤样品已经确定构成至少约10%的该肿瘤样品的肿瘤细胞中具有可检测的PD-L1的表达水平。本发明还提供用于确定罹患原发纵膈大B细胞淋巴瘤的患者是否有可能响应包含抗PD-L1抗体或其抗原结合部分的治疗剂治疗的方法,该方法包含根据自该患者获得的肿瘤样品确定该肿瘤的亚型,其中复发性的和/或难治性的原发纵膈大B细胞淋巴瘤指示该患者有可能响应包含抗PD-L1抗体的治疗剂的治疗。本发明提供用于预测罹患原发纵膈大B细胞淋巴瘤的患者对包含抗PD-L1抗体的治疗剂的治疗的响应性的方法,该方法包含根据自该患者获得的肿瘤样品确定该肿瘤的亚型,其中复发性的和/或难治性的原发纵膈大B细胞淋巴瘤指示该患者有可能响应包含抗PD-L1抗体的治疗剂的治疗。本发明提供用于为罹患原发纵膈大B细胞淋巴瘤的患者选择疗法的方法,该方法包含根据自该患者获得的肿瘤样品确定该肿瘤的亚型,和基于该肿瘤确定是复发性的和/或难治性的原发纵膈大B细胞淋巴瘤为该患者选择包含抗PD-L1抗体的治疗剂的疗法。在一些具体实施方案中,该方法进一步包含基于该肿瘤样品中的肿瘤细胞中PD-L1的表达水平对该患者施用治疗有效量的抗PD-L1抗体的治疗剂。

[0039] 在某些实施方案中,自该患者获得的肿瘤样品或血液组织样品中CD15、CD30、PAX5、CD20、EBV-EBER、CCL17和/或CCL22至少一项的表达水平已经确定相对于该至少一种基因的参照水平发生改变,所述改变例如是发生升高;和/或,自该患者获得的肿瘤样品中CD15、CD45、CD20、CD99和/或CD3至少一项的表达水平已经确定相对于该至少一种基因的参照水平发生改变,所述改变例如是降低。在其它实施方案中,自该患者获得的肿瘤样品中

miR135a的表达水平已经确定相对于该微小RNA (micro RNA) 的参照水平发生改变, 在一些具体实施例中, 所述改变是表达水平的降低。在一些具体实施方式中, 所述参照水平是以非患病主体的非肿瘤样品或血液组织样品作为参照。在一些具体实施方式中, 所述参照水平是以患者的非肿瘤样品作为参照。

[0040] 在某些实施方案中, 自该患者获得的肿瘤样品或血液组织样品中PD-L1、TMB、MSI、9p24.1至少一项的基因突变水平、基因修饰水平、转录水平和/或表达水平已经确定相对于该至少一种基因的参照水平发生改变。在一些具体实施方式中, 所述参照水平是以非患病主体的非肿瘤样品或血液组织样品作为参照。在一些具体实施方式中, 所述参照水平是以患者的非肿瘤样品作为参照。

[0041] 在某些实施方案中, 施用治疗有效量的抗PD-L1抗体的主体的客观响应率介于约10%至约40% (例如约10%至约20%, 约20%至约30%, 约30%至约40%) 之间。在还有另一个实施方案中, 施用治疗有效量的抗PD-L1抗体或其抗原结合部分的患者的客观响应率介于约15%至约25%之间。在其它实施方案中, 施用治疗有效量的抗PD-L1抗体的治疗剂的患者客观响应率是至少约15%。在其它实施方案中, 施用治疗有效量的抗PD-L1抗体的治疗剂的患者客观响应率是至少约20%。

[0042] 在某些实施方案中, 本发明的疗法 (例如, 抗PD-L1抗体) 有效地增加主体的存活的持续时间。在某些实施方案中, 与护理标准疗法相比, 本发明的抗PD-L1抗体疗法增加主体的存活的持续时间。在某些实施方案中, 本发明的疗法增加主体的总存活。在某些实施方案中, 所述主体表现出在施用以后至少约6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、至少约11个月、至少约12个月、至少约13个月、至少约14个月至少约15个月、至少约16个月、至少约17个月、至少约18个月、至少约19个月、至少约20个月、至少约21个月、至少约22个月、至少约23个月、至少约2年、至少约3年、至少约4年或至少约5年的总存活。在某些实施方案中, 当与另一位仅用护理标准疗法治疗的主体对比时, 所述主体的存活或总存活的持续时间增加了至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%或至少约75%。在其它实施方案中, 当与另一位仅用护理标准疗法治疗的主体对比时, 所述主体的存活或总存活的持续时间增加了至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约6个月、至少约1年、至少约18个月、至少约2年、至少约3年、至少约4年或至少约5年。

[0043] 在某些实施方案中, 本发明的疗法有效地增加主体的无进展存活的持续时间。例如, 与另一位仅用护理标准疗法治疗的主体对比时, 主体的无进展存活增加了至少约2周、至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约6个月或至少约1年。在某些实施方案中, 在施用抗PD-L1抗体疗法以后, 所述主体表现出与施用护理标准疗法以后的应答率相比至少约30%、35%、36%、37%、39%、40%、45%或50%的总应答率。

[0044] 适合用在公开的方法中的免疫检验点抑制剂包括抗PD-L1抗体, 其以高特异性和亲和力结合PD-L1、阻断PD-L1的结合和抑制PD-1信号传递途径的免疫抑制作用。在本文公开的任何治疗方法中, 抗PD-1或抗PD-L1“抗体”包括抗原结合部分, 其分别结合PD-1或PD-L1受体, 并在抑制配体结合和上调免疫系统中表现出与完整抗体的功能性质类似的功能性质。在一些实施方案中, 所述抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合部分是嵌合的、人源化的或人的单克隆抗体或其部分。在某些关于治疗人主体的实施方案中, 所述抗体是人源化

抗体。在其它关于治疗人主体的实施方案中,所述抗体是人抗体。可以使用IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型的抗体。

[0045] 在某些实施方案中,所述抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合部分包含人IgG1或IgG4同种型的重链恒定区。在某些其它实施方案中,抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合部分的IgG4重链恒定区的序列含有S228P突变,其用通常在IgG1同种型抗体的对应位置处发现的脯氨酸残基替代铰链区中的丝氨酸残基。存在于单抗中的该突变阻止与内源性IgG4抗体的Fab臂交换,同时保留低亲和力用于活化与野生型IgG4抗体有关的Fc受体(Wang等人,2014Cancer Immunol Res.2(9):846-56)。在其它实施方案中,所述抗体包含轻链恒定区,其为人 $\kappa$ 或 $\lambda$ 恒定区。在其它实施方案中,所述抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合部分是mAb或其抗原结合部分。

[0046] 在W02016022630中已经公开了抗PD-L1抗体,对PD-L1具有较高的亲和力,能够显著抑制细胞表面的PD-L1和PD-1的相互作用,并显著促进T细胞分泌IL-2和IFN- $\gamma$ 。

[0047] 在某些实施方案中,所述抗PD-L1抗体或其片段与5G11或13C5单抗交叉竞争。在其它实施方案中,所述抗PD-L1抗体或其片段与5G11或13C5单抗结合相同或相近的表位。在某些实施方案中,所述抗PD-L1抗体具有与5G11或13C5单抗相同的CDR。

[0048] 在某些实施方案中,与5G11或13C5单抗交叉竞争对人PD-L1的相同表位区域。对于施用给人主体,这些交叉竞争性抗体是嵌合抗体或人源化抗体或人抗体。这样的嵌合、人源化或人mAb可以通过本领域众所周知的方法制备和分离。

[0049] 在公开的发明方法中有用的抗PD-L1抗体还包括上述抗体的抗原结合部分。已经充分证实,抗体的抗原结合功能可以由全长抗体的片段执行。被术语抗体的“抗原结合部分”包含的结合片段的例子包括:(i) Fab片段,即由VL、VH、CL和CH1结构域组成的单价片段;(ii) F(ab<sup>2</sup>) 2片段,即包含2个Fab片段的二价片段,所述Fab片段在铰链区通过二硫键连接;(iii) 由VH和CH1结构域组成的Fd片段;和(iv) 由抗体的单臂的VL和VH结构域组成的Fv片段。

[0050] 适合用于所公开的组合物中的抗PD-L1抗体是以高特异性和亲和力结合PD-L1、阻断PD-1的结合并抑制PD-L1/PD-1信号传递途径的免疫抑制作用的抗体。在本文公开的任何组合物或方法中,抗PD-L1“抗体”包括结合PD-L1配体并在抑制受体结合和上调免疫系统中表现出与完整抗体的功能性质类似的功能性质的抗原结合部分或片段。在某些实施方案中,所述抗PD-L1抗体或其抗原结合部分与5G11或13C5单抗交叉竞争对人PD-L1的结合。在其它实施方案中,所述抗PD-L1抗体或其抗原结合部分是嵌合、人源化或人单克隆抗体或其部分。在某些实施方案中,所述抗体是人源化抗体。在其它实施方案中,所述抗体是人抗体。可以使用IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型的抗体。

[0051] 在某些实施方案中,在所述方法中使用的抗PD-L1抗体可以用另一种PD-1或抗PD-L1拮抗剂替换。例如,因为抗PD-L1抗体阻止PD-1和PD-L1之间的相互作用,由此对PD-1的信号传递途径发挥类似的作用,抗PD-1抗体可以替代抗PD-L1抗体在本文公开的方法中的应用。因此,在一个实施方案中,本发明涉及一种用于治疗患有肿瘤的主体的方法,所述肿瘤原发纵膈大B细胞淋巴瘤,所述方法包括给所述主体施用治疗有效量抗PD-L1抗体。

[0052] 在某些实施方案中,所述抗PD-L1抗体或其抗原结合片段是13C5、5G11、ch13C5-hIgG1、ch13C5-hIgG4、ch5G11-hIgG1、ch5G11-hIgG4、hu13C5-hIgG1、hu13C5-hIgG4、

hu5G11-hIgG1或hu5G11-hIgG4单克隆抗体或其抗原结合片段(参见W02016022630或CN107001463A)。

[0053] 本发明提供了用于治疗癌症或肿瘤的抗原结合多肽或包含抗原结合多肽的药物组合物。在一些方案中,所述抗原结合多肽是结合程序性死亡配体1(PD-L1)和/或抑制PD-L1活性的抗体或其抗原结合部分。在一些方案中,所述抗原结合多肽是抗PD-L1抗体。

[0054] 本发明提供了结合PD-L1的分离的抗体或其片段,其中所述抗体由可以杂交瘤产生,所述杂交瘤选自由本文称为13C5、5G11的杂交瘤组成的组。因此,本发明还包括杂交瘤13C5、5G11,以及产生本文公开的抗体的任何杂交瘤。本发明还提供了编码本文提供的抗体和其片段的分离的多核苷酸。本发明还包括包含分离的多核苷酸的表达载体,和包含所述表达载体的宿主细胞。

[0055] 本发明提供了抗PD-L1抗体,其包含选自13C5或5G11抗体的重链互补决定区(CDR),和选自13C5或5G11抗体的轻链互补决定区。在一个实施方案中,本发明提供了抗PD-L1抗体,其包含选自ch5G11-hIgG1、ch5G11-hIgG4、ch13C5-hIgG1、ch13C5-hIgG4嵌合抗体的可变重链,和选自ch5G11-hIgG1、ch5G11-hIgG4、ch13C5-hIgG1、ch13C5-hIgG4嵌合抗体的可变轻链。在一个实施方案中,本发明提供了抗PD-L1抗体,其包含选自hu13C5-hIgG1、hu13C5-hIgG4、hu5G11-hIgG1或hu5G11-hIgG4人源化抗体的可变重链,和选自hu13C5-hIgG1、hu13C5-hIgG4、hu5G11-hIgG1或hu5G11-hIgG4人源化抗体的可变轻链。可以参考专利文献W02016022630或CN107001463A的记载:13C5、ch13C5-hIgG1、ch13C5-hIgG4、hu13C5-hIgG1或hu13C5-hIgG4的HCDR1序列为SYGMS,HCDR2序列为SISSGGSTYYPDSVKG,HCDR3序列为GYDSGFAY,LCDR1序列为ASQSVSTSSSSFMH,LCDR2序列为YASNLES,LCDR3序列为QHSWEIPYT;5G11、ch5G11-hIgG1、ch5G11-hIgG4、hu5G11-hIgG1或hu5G11-hIgG4的HCDR1序列为TYGVH,HCDR2序列为VIWRGVTTDYNAAFMS,HCDR3序列为LGFYAMDY,LCDR1序列为KASQSVSNDVA,LCDR2序列为YAANRYT,LCDR3序列为QQDYTSPYT。

[0056] 在某些实施方案中,在本发明中使用的免疫检验点抑制剂(例如,抗PD-L1拮抗剂)是PD-L1 Fc融合蛋白。

[0057] 在某些实施方案中,本发明向主体施用治疗有效量的抗PD-L1抗体,其中,抗PD-L1抗体是单独施用。在一些具体实施方案中,所述单独施用是指抗PD-L1抗体可以不与其他抗癌药物联用,和/或不与其他抗癌药物同时施用。在一些具体实施方案中,所述单独施用是指抗PD-L1抗体可以不与化疗药物联用,和/或不与化疗药物同时施用。在一些具体实施方案中,所述单独施用是指抗PD-L1抗体可以不与其他靶向药物联用,和/或不与其他靶向药物同时施用。在一些具体实施方案中,所述单独施用是指抗PD-L1抗体可以不与其他抗癌抗体联用,和/或不与其他抗癌抗体同时施用。在一些具体实施方案中,所述单独施用是指抗PD-L1抗体可以不与放射治疗联用,和/或不与放射治疗同时施用。

[0058] 在某些实施方案中,本发明向主体施用治疗有效量的抗PD-L1抗体,其中,抗PD-L1抗体是联合施用。

[0059] 在某些实施方案中,与一种或多种其它抗癌药联合施用免疫检验点抑制剂(例如,抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体)。在某些实施方案中,在抗PD-1或抗PD-L1抗体的施用之前或与抗PD-1或抗PD-L1抗体的组合之前,已经将所述一种或多种抗癌药施用给所述主体。在某些实施方案中,所述一种或多种抗癌药在治疗所述癌症中不是有效的。在某些实施方案中,所

述其它抗癌药是本文描述的或本领域已知的任何抗癌药。

[0060] 在某些实施方案中,可以将抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体与另一种免疫疗法组合。在某些实施方案中,将涉及免疫检验点的阻断的免疫疗法作为单一疗法来施用。在其它实施方案中,将涉及免疫检验点的阻断的免疫疗法与其它疗法联合施用。

[0061] 可以将本发明的治疗剂构成在组合物中,例如,含有抗体和药学上可接受的载体的药物组合物。本文中使用的“药学上可接受的载体”包括生理学上相容的任意的和所有的溶剂、分散介质、包衣剂、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。在一个实施方案中,用于含有抗体的组合物的载体适合静脉内、肌肉内、皮下、胃肠外、脊柱或表皮施用(例如,通过注射或输注),而用于含有TKI的组合物的载体适合非胃肠外(例如,口服)施用。本发明的药物组合物可以包括一种或多种药学上可接受的盐、抗氧化剂、水性和非水性载体,和/或佐剂,诸如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。

[0062] 调节剂量方案以提供最适期望应答,例如,最大治疗应答和/或最小不良作用。在某些实施方案中,本发明的方法可以与统一剂量或基于重量的剂量一起使用。在其它实施方案中,将所述抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合部分作为统一剂量施用。在其它实施方案中,将所述抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合部分作为基于重量的剂量施用。为了施用抗PD-L1抗体(作为单一疗法或与另一种抗癌药组合),所述剂量可以在以下范围内:约0.01至约40mg/kg,约0.1至约30mg/kg,约0.1至约20mg/kg,约0.1至约15mg/kg,约0.1至约10mg/kg,约1至约15mg/kg,约1至约20mg/kg,约1至约3mg/kg,约3至约10mg/kg,约3至约15mg/kg,约3至约20mg/kg,约3至约30mg/kg,约10至约20mg/kg,或约15至约20mg/kg主体体重,或约60mg至至少2400mg,约90mg至至少约1800mg,约120mg至至少约1500mg,约300mg至至少约9000mg,约600mg至至少约900mg,约300mg至至少约1200mg,约600mg至至少约1200mg,或约900mg至至少约1200mg。例如,剂量可以是约0.1、约1、约2、约3、约5、约6、约9、约10、约15、约20或约30mg/kg体重;或约30mg、约60mg、约120mg、约150mg、约180mg、约300mg、约600mg、约900mg、约1200mg、约1800mg、约2100mg或约2400mg。通常设计给药计划以实现导致持续受体占用(R0)的暴露(基于抗体的典型药代动力学性质)。一种示例性治疗方案需要约每周一次(q1w)、约每2周一次(q2w)、约每3周一次(q3w)、约每4周一次(q4w)、约1个月一次(q1m)、约每3-6个月或更长一次的施用。在某些实施方案中,约每2周一次将抗PD-L1抗体诸如13C5、ch13C5-hIgG1、ch13C5-hIgG4、hu13C5-hIgG1、hu13C5-hIgG4、5G11、ch5G11-hIgG1、ch5G11-hIgG4、hu5G11-hIgG1或hu5G11-hIgG4单抗施用给主体。在其它实施方案中,约每3周一次施用所述抗体。所述剂量和调度可以在治疗过程中变化。考虑到IgG4抗体通常具有2-3周的半衰期,本发明的抗PD-L1抗体的剂量方案包含经由静脉内施用的至少约1至至少约30mg/kg体重、至少约3至至少约20mg/kg体重、至少约10至至少约15mg/kg体重、或至少约300至至少约1200mg,所述抗体在多达约6周或约12周周期中每约14-21天施用直到完全应答或证实进行性疾病。在某些实施方案中,每2周以3mg/kg施用抗PD-L1单一疗法直到进行性疾病或不可接受的毒性。在其它实施方案中,每3周以1200mg施用抗PD-L1单一疗法直到进行性疾病或不可接受的毒性。在某些实施方案中,所述抗体治疗或本文公开的任意组合治疗持续至少约1个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约9个月、至少约1年、至少约18个月、至少约24个月、至少约3年、至少约5年或至少约10年。

[0063] 当与其它癌症药剂联合使用时,抗PD-L1抗体的剂量可以相对于单一疗法剂量降

低。低于典型的20mg/kg,但是不小于0.001mg/kg的13C5、ch13C5-hIgG1、ch13C5-hIgG4、hu13C5-hIgG1、hu13C5-hIgG4、5G11、ch5G11-hIgG1、ch5G11-hIgG4、hu5G11-hIgG1或hu5G11-hIgG4单抗的剂量是亚治疗剂量。在本文方法中使用的抗PD-L1抗体的亚治疗剂量高于0.001mg/kg且低于20mg/kg。在某些实施方案中,亚治疗剂量是约0.001mg/kg至约3mg/kg,约0.01mg/kg至约3mg/kg,约0.001mg/kg至约10mg/kg,或约0.01mg/kg至约10mg/kg体重。在某些实施方案中,所述亚治疗剂量是至少约0.001mg/kg、至少约0.005mg/kg、至少约0.01mg/kg、至少约0.05mg/kg、至少约0.1mg/kg、至少约0.5mg/kg、至少约1.0mg/kg体重或至少约3.0mg/kg体重。在某些实施方案中,亚治疗统一剂量是每3周小于约600mg,例如每3周约300mg或约120mg。在某些实施方案中,3mg/kg给药可以允许足够的暴露以导致最大生物学活性。

[0064] 在某些实施方案中,抗PD-L1抗体或抗PD-1抗体的剂量是药物组合物中的固定剂量。在其它实施方案中,本发明的方法可以以统一剂量(不考虑患者的体重施用给患者的剂量)使用。例如,13C5、ch13C5-hIgG1、ch13C5-hIgG4、hu13C5-hIgG1、hu13C5-hIgG4、5G11、ch5G11-hIgG1、ch5G11-hIgG4、hu5G11-hIgG1或hu5G11-hIgG4单抗的统一剂量可以是约1200mg。在某些实施方案中,以约1200mg的剂量施用所述抗PD-L1抗体或其抗原结合部分。在某些实施方案中,以约900mg的剂量施用所述抗PD-L1抗体或其抗原结合部分。在某些实施方案中,以约600mg的剂量施用所述抗PD-L1抗体或其抗原结合部分。在一个实施方案中,每3周一次施用900mg所述抗PD-L1抗体或抗原结合片段。在另一个实施方案中,每4周一次施用1200mg所述抗PD-L1抗体或抗原结合片段。

[0065] 为了施用抗PD-L1抗体(作为单一疗法或与另一种抗癌药组合),所述剂量可以在以下范围内:约0.01至约20mg/kg,约0.1至约10mg/kg,约0.1至约5mg/kg,约3至约5mg/kg,约3至约10mg/kg,约3至约15mg/kg,或约0.1至约30mg/kg主体体重或约80mg至至少800mg,约80mg至至少约700mg,约80mg至至少约600mg,约80mg至至少约500mg,约80mg至至少约400mg,约80mg至至少约300mg,约100mg至至少约300mg,或约200mg至约300mg。例如,剂量可以是约0.1、约0.3、约1、约2、约3、约5或约10mg/kg体重,或约0.3、约1、约2、约3或约5mg/kg体重;或约80mg、约100mg、约160mg、约200mg、约240mg、约300mg、约320mg、约400mg、约500mg、约600mg、约700mg或约800mg。通常设计给药计划以实现导致持续受体占用(RO)的暴露(基于抗体的典型药代动力学性质)。一种示例性治疗方案需要约每周一次、约每2周一次、约每3周一次、约每4周一次、约每个月1次、约每3-6个月或更长时间一次的施用。

[0066] 在某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受约3mg/kg至约30mg/kg主体体重剂量静脉滴注,约21天为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。在某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受约3mg/kg至约20mg/kg体重剂量静脉滴注,约21天为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。在某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受3mg/kg剂量静脉滴注,约21天为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。在某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受约10mg/kg体重剂量静脉滴注,约21天为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。在某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受约15mg/kg体重剂量静脉滴注,约21天为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。在某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受约20mg/kg体重剂量静脉滴注,21天为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。在

某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受约30mg/kg体重剂量静脉滴注,21天为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。在某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受约3mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg或30mg/kg体重剂量静脉滴注,约2周、约3周或者约4周为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。在某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受约1200mg统一剂量静脉滴注,约2周、约3周或者约4周为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。

[0067] 在某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受约600mg至约1200mg统一剂量静脉滴注,约21天为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。在某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受约600mg至约900mg统一剂量静脉滴注,约21天为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。在某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受1200mg统一剂量静脉滴注,约21天为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。在某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受约900mg至约1200mg统一剂量静脉滴注,约21天为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。在某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受600mg统一剂量静脉滴注,21天为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。在某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受900mg统一剂量静脉滴注,21天为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。在某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受1200mg统一剂量静脉滴注,21天为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。在某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受约900mg统一剂量静脉滴注,约2周、约3周或者约4周为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。在某些实施方案中,每周期第1天(D1)接受约1200mg统一剂量静脉滴注,约2周、约3周或者约4周为1个周期,直至疗效评估为疾病进展、出现不可耐受的毒性反应。

[0068] 在某些实施方案中,抗PD-L1抗体或抗PD-1抗体的剂量是在药物组合物中的固定剂量。

[0069] 在某些实施方案中,抗PD-L1抗体或抗PD-1抗体的剂量是含有第二种抗癌药的药物组合物中的固定剂量。

[0070] 可以改变本发明的药物组合物中的一种或多种活性成分的实际剂量水平,从而获得对于特定患者、组合物和施用模式而言有效地实现期望的治疗应答的活性成分的量,而对患者没有不适当毒性。选择的剂量水平将取决于多种药代动力学因素,包括采用的本发明的特定组合物的活性,施用途径,施用时间,正在采用的特定化合物的排泄速率,治疗的持续时间,与所用特定组合物联合使用的其它药物、化合物和/或材料,所治疗的患者的年龄、性别、重量、状况、一般健康和先前医疗史,和医学领域中众所周知的类似因素。使用本领域众所周知的多种方法中的一种或多种,可以经由一种或多种施用途径施用本发明的组合物。技术人员将理解,施用的途径和/或模式将随所期望的结果而变化。

[0071] 本发明目的至少还在于提供一种药物组合物,其特征在于:所述药物组合物包含抗体,并至少包含缓冲液、等渗调节剂、稳定剂和/或表面活性剂中的一种或几种。特别地,所述药物组合物包含1-150mg/ml抗PD-L1人源化单克隆抗体(单抗)、3-50mM缓冲液、2-150mg/ml等渗调节剂/稳定剂和0.01-0.8mg/ml表面活性剂,且pH为约4.5-6.8。

[0072] 在一些方案中,以w/v计算,抗PD-L1人源化单抗浓度约为5-150mg/ml;优选为约

10-60mg/ml;更优选为约10-30mg/ml。在一些具体方案中,抗PD-L1人源化单抗质量体积浓度约10mg/ml、约20mg/ml、约30mg/ml、约40mg/ml、约50mg/ml、约60mg/ml、约70mg/ml、约80mg/ml、约90mg/ml、约100mg/ml、约110mg/ml或约120mg/ml,优选为约10mg/ml、约20mg/ml、约30mg/ml、约40mg/ml、约50mg/ml或约60mg/ml,更优选为约10mg/ml、约20mg/ml或约30mg/ml。在一些实施方案中,抗PD-L1人源化单抗质量体积浓度约10mg/ml。在另一些实施方案中,抗PD-L1人源化单抗质量体积浓度约30mg/ml。在另一些实施方案中,抗PD-L1人源化单抗质量体积浓度约60mg/ml。

[0073] 在一些方案中,所述缓冲液为组氨酸盐缓冲液。所述组氨酸盐缓冲液浓度约为5-30mM,优选约为10-25mM,更优选为约为10-20mM,最优选约为10-15mM。在一些具体方案中,所述组氨酸盐缓冲液约5mM、约10mM、约15mM、约20mM、约25mM或约30mM。在一些实施方案中,所述组氨酸盐缓冲液约10mM。在另一些实施方案中,所述组氨酸盐缓冲液约15mM。在另一些实施方案中,所述组氨酸盐缓冲液约20mM。其中,所述组氨酸盐缓冲液包含组氨酸和盐酸。

[0074] 在一些方案中,以w/v计算,所述等渗调节剂/稳定剂为约20-150mg/ml的蔗糖,优选约为40-100mg/ml的蔗糖,更优选约为60-80mg/ml的蔗糖。在一些具体方案中,所述蔗糖的浓度约为40mg/ml、50mg/ml、60mg/ml、70mg/ml、80mg/ml、90mg/ml或100mg/ml。在一些具体实施方案中,所述蔗糖的浓度约60mg/ml。在一些具体实施方案中,所述蔗糖的浓度约70mg/ml。在一些具体实施方案中,所述蔗糖的浓度约80mg/ml。在一些具体实施方案中,所述蔗糖的浓度约90mg/ml。

[0075] 在一些方案中,所述表面活性剂选自聚山梨酯80、聚山梨酯20、泊洛沙姆188;优选聚山梨酯80或聚山梨酯20;更优选为聚山梨酯80。在一些方案中,以w/v计算,所述表面活性剂的浓度约为0.05-0.6mg/ml,优选约为0.1-0.4mg/ml,更优选约为0.2-0.3mg/ml。

[0076] 在一些具体方案中,以w/v计算,所述表面活性剂为约0.01-0.8mg/ml的聚山梨酯80或聚山梨酯20。在一些具体方案中,所述表面活性剂为约0.05-0.6mg/ml的聚山梨酯80,优选约为0.1-0.4mg/ml的聚山梨酯80,更优选约为0.2-0.3mg/ml的聚山梨酯80,最优选约为0.2mg/ml的聚山梨酯80。在一些实施方案中,所述药物组合物中聚山梨酯80含量约为0.1mg/ml、0.2mg/ml、0.3mg/ml、0.4mg/ml、0.5mg/ml或0.6mg/ml;优选地,所述药物组合物中聚山梨酯80含量约为0.2mg/ml、0.3mg/ml、0.4mg/ml或0.5mg/ml;更优地,所述药物组合物中聚山梨酯80含量约为0.2mg/ml、0.3mg/ml或0.4mg/ml;最优地,所述药物组合物中聚山梨酯80含量约为0.2mg/ml。在一些实施方案中,所述药物组合物中聚山梨酯80含量约0.1mg/ml。在另一些实施方案中,所述药物组合物中聚山梨酯80含量约0.2mg/ml。在一些实施方案中,所述药物组合物中聚山梨酯80含量约0.3mg/ml。在另一些实施方案中,所述药物组合物中聚山梨酯80含量约0.4mg/ml。在一些实施方案中,所述药物组合物中聚山梨酯80含量约0.5mg/ml。

[0077] 在一些方案中,所述药物组合物的水溶液pH值选自4.0-6.8;优选为4.5-6.5;更优选为5.5-6.0;最优选5.5。在一些实施方案中,药物组合物水溶液的pH值为约4.5、约4.8、约5.0、约5.2、约5.4、约5.5、约5.6、约5.8或约6.0,优选为约5.0、约5.2、约5.4、约5.5或约5.6,更优选为约5.5。在一些实施方案中,药物组合物水溶液的pH值为约5.0。在一些实施方案中,药物组合物水溶液的pH值为约5.2。在一些实施方案中,药物组合物水溶液的pH值为约5.4。在一些实施方案中,药物组合物水溶液的pH值为约5.5。在一些实施方案中,药物组



合物水溶液的pH值为约5.6。在一些实施方案中,药物组合物水溶液的pH值为约5.8。在一些实施方案中,药物组合物水溶液的pH值为约6.0。

[0078] 本发明提供了结合PD-L1的分离的抗体或其片段。本发明提供的抗PD-L1人源化单抗包含如下氨基酸序列:与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列有至少80%(例如81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同源性的重链CDR1区;与SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列有至少80%(例如81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同源性的重链CDR2区;与SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列有至少80%(例如81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同源性的重链CDR3区;与SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列有至少80%(例如81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同源性的轻链CDR1区;与SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列有至少80%(例如81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同源性的轻链CDR2区;与SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列有至少80%(例如81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同源性的轻链CDR3区。

[0079] 在一个具体实施方案中,本发明提供的抗PD-L1人源化单抗包含如下氨基酸序列:选自SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:4的重链CDR1区;选自SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:5的重链CDR2区;选自SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:6的重链CDR3区;选自SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:10的轻链CDR1区;选自SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:11的轻链CDR2区;选自SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:12的轻链CDR3区。

[0080] 优选地,本发明提供的抗PD-L1人源化单抗包含如下氨基酸序列:与SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列有至少80%(例如81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同源性的重链可变区;与SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列有至少80%(例如81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同源性的轻链可变区。

[0081] 在一个具体实施方案中,本发明提供的抗PD-L1人源化单抗包含如下氨基酸序列,如SEQ ID NO:13所示的重链可变区;如SEQ ID NO:15所示的轻链可变区。

[0082] 在另一个具体实施方案中,本发明提供的抗PD-L1人源化单抗包含如下氨基酸序列,如SEQ ID NO:14所示的重链可变区;如SEQ ID NO:16所示的轻链可变区。

[0083] 在一个具体实施方案中,本发明提供的抗PD-L1人源化单抗包含如SEQ ID NO.17所示的重链氨基酸序列,和SEQ ID NO.18所示的轻链氨基酸序列。

[0084] 在另一个具体实施方案中,本发明提供的抗PD-L1人源化单抗包含如SEQ ID NO.19所示的重链氨基酸序列,和SEQ ID NO.20所示的轻链氨基酸序列。

[0085] 在另一个具体实施方案中,本发明提供的抗PD-L1人源化单抗包含如SEQ ID NO.21所示的重链氨基酸序列,和SEQ ID NO.18所示的轻链氨基酸序列。

[0086] 本发明提供的抗PD-L1人源化单抗可为IgG1或IgG4抗体,优选地,所述抗PD-L1人源化单抗为IgG1抗体,更优选为糖基化的IgG1抗体。

[0087] 本发明的一个具体实施方案中,所述药物组合物包含:(a)质量体积浓度约20mg/mL抗PD-L1人源化单抗,(b)质量体积浓度约70mg/mL的蔗糖,(c)质量体积浓度约0.1mg/ml的聚山梨酯80,(d)摩尔浓度约20mM的组氨酸,(e)任选盐酸适量,调节组合物的pH值为约5.0。

[0088] 在本发明的另一个具体实施方案中,所述药物组合物包含:(a)质量体积浓度约10mg/mL抗PD-L1人源化单抗,(b)质量体积浓度约80mg/mL的蔗糖,(c)质量体积浓度约0.2mg/ml的聚山梨酯80,(d)摩尔浓度约10mM的组氨酸,(e)任选盐酸适量,调节组合物的pH值为约5.5。

[0089] 在本发明的还一个具体实施方案中,所述药物组合物包含:(a)质量体积浓度约50mg/mL抗PD-L1人源化单抗,(b)质量体积浓度约80mg/mL的蔗糖,(c)质量体积浓度约0.3mg/ml的聚山梨酯80,(d)摩尔浓度约10mM的组氨酸,(e)任选盐酸适量,调节组合物的pH值为约5.5。

[0090] 在本发明的又一个更加具体实施方案中,所述药物组合物包含:(a)质量体积浓度约100mg/mL抗PD-L1人源化单抗,(b)质量体积浓度约80mg/mL的蔗糖,(c)质量体积浓度约0.5mg/ml的聚山梨酯80,(d)摩尔浓度约10mM的组氨酸,(e)任选盐酸适量,调节组合物的pH值为约5.5。

[0091] 在本发明的还一个具体实施方案中,所述药物组合物包含:(a)质量体积浓度约30mg/mL抗PD-L1人源化单抗,(b)质量体积浓度约80mg/mL的蔗糖,(c)质量体积浓度约0.2mg/ml的聚山梨酯80,(d)摩尔浓度约10mM的组氨酸,(e)任选盐酸适量,调节组合物的pH值为约5.5。

[0092] 在本发明的又一个具体实施方案中,所述药物组合物包含:(a)质量体积浓度约60mg/mL抗PD-L1人源化单抗,(b)质量体积浓度约80mg/mL的蔗糖,(c)质量体积浓度约0.2mg/ml的聚山梨酯80,(d)摩尔浓度约10mM的组氨酸,(e)任选盐酸适量,调节组合物的pH值为约5.5。

[0093] 在本发明的再一个具体实施方案中,所述药物组合物包含:(a)质量体积浓度约10mg/mL抗PD-L1人源化单抗,(b)质量体积浓度约70mg/mL的蔗糖,(c)质量体积浓度约0.4mg/ml的聚山梨酯80,(d)摩尔浓度约20mM的组氨酸,(e)任选醋酸适量,调节组合物的pH值为约6.5。

[0094] 在本发明的还一个具体实施方案中,所述药物组合物包含:(a)质量体积浓度约10mg/mL抗PD-L1人源化单抗,(b)质量体积浓度约80mg/mL的蔗糖,(c)质量体积浓度约0.2mg/ml的聚山梨酯80,(d)摩尔浓度约20mM的组氨酸,(e)任选盐酸适量,调节组合物的pH值为约5.5。

[0095] 在一些方案中,药物组合物为水溶性注射液,所述水溶性注射液包括但不限于未经冻干的水溶性制剂或冻干粉重构的水溶性制剂。在另一些方案中,药物组合物为冻干制剂。所述冻干制剂是指水溶液经历冻干过程制备制剂,冻干是一个稳定化过程,其中物质首先被冷冻,然后先通过升华降低溶剂数量(初级干燥过程),然后通过脱附作用降低溶剂数量(二级干燥过程),直到溶剂数量为不再支持生物学活性或化学反应的值。本发明的冻干

制剂还可以通过本领域已知的其它方法干燥,如喷雾干燥和鼓泡干燥(bubble drying)。

[0096] 本发明提供的制剂,其在2-8℃或25℃保存至少6个月的情况下聚合物不超过1.1%,优选地不超过0.9%,更优选为不超过0.5%。

[0097] 本发明还提供制备前述的药物组合物的方法,包括将抗PD-L1人源化单抗与其他试剂相混合,例如与缓冲液、等渗调节剂/稳定剂和/或表面活性剂中的一种或几种相混合。

[0098] 本发明还提供用于治疗受试者中瘤形成病状的方法,包括给所述受试者施用前述的药物组合物。

[0099] 本发明提供包括含有固定剂量抗PD-L1抗体的容器的制品。本发明还提供抗PD-L1抗体在制备用于治疗癌症的包括固定剂量的抗PD-L1抗体的容器的制品中的用途。在一些具体实施方式中,所述容器是管形瓶。所述固定剂量选自大约300mg、大约600mg、大约900mg、大约1000mg、大约1200mg、大约1500mg、大约1800mg、大约2100mg和大约2400mg的抗PD-L1抗体。在一些具体实施方式中,所述制品进一步包括指导用户为癌症病人施用所述固定剂量的包装插页或药品说明书。在一些具体实施方式中,所述制品包括1个或1个以上的管形瓶,所述管形瓶含有大约300mg或600mg抗PD-L1抗体。在一些具体实施方式中,所述制品包括1个管形瓶,所述管形瓶含有大约300mg抗PD-L1抗体。在一些具体实施方式中,所述制品包括1个或1个以上的管形瓶,每个所述管形瓶含有大约10mL含抗PD-L1抗体的药物组合物。在一些具体实施方式中,所述制品包括1个或1个以上的管形瓶,每个所述管形瓶含有大约20mL含抗PD-L1抗体的药物组合物。在一些具体实施方式中,所述药物组合物包含1-150mg/ml抗PD-L1人源化单克隆抗体(单抗)、3-50mM缓冲液、2-150mg/ml等渗调节剂/稳定剂和0.01-0.8mg/ml表面活性剂,且pH为约4.5-6.8。在一些具体实施方式中,所述制品包括1个或1个以上的管形瓶,每个所述管形瓶含有大约10mL含抗PD-L1抗体的药物组合物,其中所述药物组合物包含30mg/ml抗PD-L1人源化单克隆抗体。在一些具体实施方式中,所述制品包括1个或1个以上的管形瓶,每个所述管形瓶含有大约20mL含抗PD-L1抗体的药物组合物,其中所述药物组合物包含30mg/ml抗PD-L1人源化单克隆抗体。在一些具体实施方式中,所述药物组合物是本文中提供的任意一种药物组合物。

[0100] 在一些实施方案中,本发明包括:

[0101] 1. 治疗主体中的纵膈大B细胞淋巴瘤的方法,其包括向所述主体施用治疗有效量的抗PD-L1抗体,其中所述抗PD-L1抗体包含如下氨基酸序列:与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列有至少80%同源性的重链CDR1区;与SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列有至少80%同源性的重链CDR2区;与SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列有至少80%同源性的重链CDR3区;与SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列有至少80%同源性的轻链CDR1区;与SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列有至少80%同源性的轻链CDR2区;与SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列有至少80%同源性的轻链CDR3区。

[0102] 2. 根据前述项所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体以1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg体重的剂量施用,持续给药。

[0103] 3. 根据前述任一项所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体以可以有效治疗所述纵膈大B细胞淋巴瘤的一个或多个统一剂量施用。

[0104] 4. 根据前述任一项所述的方法,其中所述统一剂量在大约20mg至大约2000mg抗

PD-L1抗体范围内。

[0105] 5. 据前述任一项所述的方法,其中所述统一剂量选自大约300mg、大约600mg、大约900mg、大约1000mg、大约1200mg、大约1500mg、大约1800mg、大约2100mg或大约2400mg抗PD-L1抗体。

[0106] 6. 据前述任一项所述的方法,其中所述统一剂量选自大约1200mg抗PD-L1抗体。

[0107] 7. 根据前述任一项所述的方法,其中大约每周(q1w)、大约每2周(q1w)、大约每3周(q1w)、或者大约每4周(q1w)施用抗PD-L1抗体。

[0108] 8. 根据前述项中任一项的方法,其中所述抗PD-L1抗体以每个患者大约1200mg的剂量施用,大约每3周施用一次,持续施用。

[0109] 9. 根据前述任一项所述的方法,其中大约每3周为病人施用统一剂量的抗PD-L1抗体。

[0110] 10. 根据前述任一项所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体作为静脉输注施用。

[0111] 11. 根据前述任一项所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体作为1-2小时静脉输注施用,优选1小时静脉输注施用。

[0112] 12. 根据前述任一项所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体为裸抗体、完整抗体或包含抗原结合区的抗体片段。

[0113] 13. 根据前述任一项所述的方法,其中所述方法导致客观反应,优选完全反应或部分反应。

[0114] 14. 根据前述任一项所述的方法,其中所述主体先前已接受化疗和/或放射治疗。

[0115] 15. 根据前述任一项所述的方法,其中所述主体接受化疗和/或放射治疗后接受过自体干细胞移植。

[0116] 16. 根据前述任一项所述的方法,其中所述主体经化疗和/或自体干细胞移植后获完全缓解后再次出现疾病进展。

[0117] 17. 根据前述任一项所述的方法,其中所述主体经化疗和/或自体干细胞移植后未能完全缓解或未能部分缓解。

[0118] 18. 根据前述任一项所述的方法,其中所述纵膈大B细胞淋巴瘤在化疗后已进展。

[0119] 19. 根据前述任一项所述的方法,其中所述纵膈大B细胞淋巴瘤是复发性和/或难治性纵膈大B细胞淋巴瘤。

[0120] 20. 根据前述任一项所述的方法,其中所述纵膈大B细胞淋巴瘤是复发性或难治性纵膈大B细胞淋巴瘤。

[0121] 21. 根据前述任一项所述的方法,其中所述纵膈大B细胞淋巴瘤是复发性的。

[0122] 22. 根据前述任一项所述的方法,其中所述纵膈大B细胞淋巴瘤是难治性的。

[0123] 23. 根据前述任一项所述的方法,其中所述纵膈大B细胞淋巴瘤治疗是复发性或难治性纵膈大B细胞淋巴瘤的治疗。

[0124] 24. 根据前述任一项所述的方法,其中所述复发性或难治性纵膈大B细胞淋巴瘤在完成一线治疗期间或之后没有进展。

[0125] 25. 根据前述任一项所述的方法,其中所述复发性或难治性纵膈大B细胞淋巴瘤在化疗后已进展。

[0126] 26. 根据前述任一项所述的方法,其中所述纵膈大B细胞淋巴瘤是转移性的。

[0127] 27. 根据前述任一项所述的方法, 其中所述转移性纵膈大B细胞淋巴瘤在完成一线治疗期间或之后没有进展。

[0128] 28. 根据前述任一项所述的方法, 其中所述转移性纵膈大B细胞淋巴瘤在一线治疗后已进展。

[0129] 29. 根据前述任一项所述的方法, 其中所述转移性纵膈大B细胞淋巴瘤是转移性的复发性和/或难治性纵膈大B细胞淋巴瘤。

[0130] 30. 包括含有固定剂量抗PD-L1抗体的容器的制品, 其中所述固定剂量选自大约300mg、大约600mg、大约900mg、大约1000mg、大约1200mg、大约1500mg、大约1800mg、大约2100mg和大约2400mg的抗PD-L1抗体, 其中所述抗PD-L1抗体包含如下氨基酸序列: 与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列有至少80%同源性的重链CDR1区; 与SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列有至少80%同源性的重链CDR2区; 与SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列有至少80%同源性的重链CDR3区; 与SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列有至少80%同源性的轻链CDR1区; 与SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列有至少80%同源性的轻链CDR2区; 与SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列有至少80%同源性的轻链CDR3区。

[0131] 31. 根据前述任一项所述的制品, 其包括1个或1个以上的管形瓶, 所述管形瓶含有大约300mg或600mg抗PD-L1抗体。

[0132] 32. 根据前述任一项所述的制品, 其包括1个管形瓶, 所述管形瓶含有大约300mg抗PD-L1抗体。

[0133] 33. 根据前述任一项所述的制品, 其包括1个管形瓶, 所述管形瓶含有大约600mg抗PD-L1抗体。

#### [0134] 定义和术语解释

[0135] 为了可以更容易地理解本发明, 定义某些术语。如在本申请中使用的, 除了在本文中另外明确地提供以外, 下述术语中的每一个应当具有下述的含义。另外的定义在本申请中阐述。

[0136] 如本文所用, 术语“抗体”是指具有至少一个抗原结合结构域的结合蛋白。本发明的抗体和其片段可以是整个抗体或其任何片段。因此, 本发明的抗体和片段包括单克隆抗体或其片段和抗体变体或其片段, 以及免疫缀合物。抗体片段的实例包括Fab片段、Fab'片段、F(ab)'片段、Fv片段、分离的CDR区、单链Fv分子(scFv)和本领域已知的其他抗体片段。抗体和其片段还可以包括重组多肽、融合蛋白和双特异性抗体。本文公开的抗PD-L1抗体和其片段可以是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。术语“同种型”是指由重链恒定区基因编码的抗体种类。在一个实施方案中, 本文公开的抗PD-L1抗体和其片段是IgG1或IgG4同种型。本发明的PD-L1抗体和其片段可以衍生自任何物种, 其包括但不限于小鼠、大鼠、兔、灵长类动物、美洲驼和人。PD-L1抗体和其片段可以是嵌合抗体、人源化抗体或完整的人抗体。在一个实施方案中, 抗PD-L1抗体是由源自小鼠的杂交瘤细胞系产生的抗体。因此, 在一个实施方案中, 抗PD-L1抗体是鼠类抗体。在另一个实施方案中, 抗PD-L1抗体是嵌合抗体。在另一个实施方案中, 嵌合抗体是小鼠-人嵌合抗体。在另一个实施方案中, 抗体是人源化抗体。在另一个实施方案中, 抗体衍生自鼠类抗体并且是人源化的。

[0137] “人源化抗体”是下述抗体: 所述抗体含有衍生自非人抗体的互补决定区(CDR); 和

衍生自人抗体的框架区以及恒定区。例如,本文提供的抗PD-L1抗体可以包含衍生自一种或多种鼠类抗体的CDR以及人框架区和恒定区。因此,在一个实施方案中,本文提供的人源化抗体与所述抗体的CDR所衍生自的鼠类抗体结合PD-L1上的相同表位。本文提供了示例性人源化抗体。包含本文提供的重链CDR和轻链CDR的另外的抗PD-L1抗体或其变体可以使用任何人框架序列产生,并且也包括在本发明中。在一个实施方案中,适用于在本发明中使用的框架序列包括在结构上与本文提供的框架序列类似的那些框架序列。可以在框架区中进行另外修饰以改进本文提供的抗体的特性。此类另外的框架修饰可以包括化学修饰;点突变以降低免疫原性或去除T细胞表位;或使突变回复为原始种系序列中的残基。在一些实施方案中,此类修饰包括对应于本文示例的突变的那些修饰,包括对种系序列的回复突变。例如,在一个实施方案中,本文提供的人源化抗体的VH和/或VL的人框架区中的一个或多个氨基酸被回复突变为亲本鼠类抗体中对应的氨基酸。例如,对于人源化5G11和人源化13C5的VH和VL,上述模板人抗体的框架氨基酸的几个位点被回复突变为小鼠5G11和13C5抗体中对应的氨基酸序列。在一个实施方案中,轻链可变区的位置53和/或60和/或67处的氨基酸被回复突变为在小鼠5G11或13C5轻链可变区中的所述位置处发现的对应的氨基酸。在另一个实施方案中,重链可变区的位置24和/或28和/或30和/或49和/或73和/或83和/或94处的氨基酸被回复突变为在小鼠5G11或13C5重链可变区中的所述位置处发现的对应的氨基酸。在一个实施方案中,人源化5G11抗体包含轻链可变区,其中在位置60处的氨基酸从Ser (S) 突变为Asp (D),并且在位置67处的氨基酸从Ser (S) 突变为Tyr (Y);以及重链可变区,其中在位置24处的氨基酸从Phe (F) 突变为Val (V),在位置49处的氨基酸从Ala (A) 突变为Gly (G),在位置73处的氨基酸从Thr (T) 突变为Asn (N),并且在位置83处的氨基酸从Thr (T) 突变为Asn (N)。在一个实施方案中,人源化13C5抗体包含轻链可变区,其中在位置53处的氨基酸从Tyr (Y) 突变为Lys (K);以及重链可变区,其中在位置28处的氨基酸从Thr (T) 突变为Ile (I),在位置30处的氨基酸从Ser (S) 突变为Arg (R),在位置49处的氨基酸从Ser (S) 突变为Ala (A),并且在位置94处的氨基酸从Tyr (Y) 突变为Asp (D)。另外的或另选的回复突变可以在本文提供的人源化抗体的框架区中进行以改进抗体的特性。本发明还包括下述人源化抗体,所述人源化抗体结合PD-L1并且包含对应于本文所述的相对于任何合适的框架序列的示例性修饰的框架修饰,以及以其他方式改进抗体特性的其他框架修饰。

[0138] “分离的抗体”表示这样的抗体:其基本上不含有具有不同抗原特异性的其它抗体(例如,分离的特异性地结合PD-1的抗体基本上不含有特异性地结合除PD-1以外的抗原的抗体)。但是,分离的特异性地结合PD-1的抗体可以具有与其它抗原(诸如来自不同物种的PD-1分子)的交叉反应性。此外,分离的抗体可以基本上不含有其它细胞材料和/或化学物质。

[0139] 术语“单克隆抗体”(“mAb”)表示单一分子组成的抗体分子(即,这样的抗体分子:其基本序列是基本上相同的,并且其表现出对特定表位的单一结合特异性和亲和力)的非天然存在的制备物。mAb是分离的抗体的一个例子。通过本领域技术人员已知的杂交瘤技术、重组技术、转基因技术或其它技术,可以生产mAb。

[0140] 抗体的“抗原结合部分”(也称为“抗原结合片段”)表示抗体的一个或多个片段,其保留特异性地结合被完整抗体结合的抗原的能力。

[0141] 如本文所用,术语“衍生的”当用于指相对于参考抗体或其他结合蛋白的分子或多

肽时,意指能够与参考抗体或其他结合蛋白特异性地结合相同表位的分子或多肽。

[0142] 本文公开的抗体和其抗原结合片段对PD-L1是特异性的。在一个实施方案中,抗体或和其片段对PD-L1是特异性的。在一个实施方案中,本文提供的抗体和片段结合人或灵长类动物PD-L1,但不结合来自任何其他哺乳动物的PD-L1。在另一个实施方案中,抗体或和其片段不结合小鼠PD-L1。术语“人PD-L1”、“hPD-L1”和“huPD-L1”等在本文中可互换使用,并且是指人PD-L1和人PD-L1的变体或同种型。“特异于”意指抗体和其片段以比任何其他靶标更大的亲和力结合PD-L1。

[0143] 如本文所用,术语“EC50”是指有效浓度,抗体的50%最大应答。如本文所用,术语“IC50”是指抑制浓度,抗体的50%最大应答。EC50和IC50两者均可以通过ELISA或FACS分析或本领域已知的任何其他方法进行测量。

[0144] 如本文所用,术语“治疗(treatment或treating)”是指治疗性治疗以及防范性或预防性措施。需要治疗的受试者包括那些已经患有疾病或病状的受试者,以及可能患疾病或病状并且其目的是预防、延迟或减弱疾病或病状的受试者。

[0145] 如本文所用,术语“受试者”表示哺乳动物,诸如啮齿动物、猫科动物、犬科动物和灵长类动物。优选地,根据本发明的受试者是人。

[0146] “施用”表示,使用本领域技术人员已知的多种方法和递送系统中的任一种,向主体物理引入包含治疗剂的组合物。免疫检验点抑制剂(例如,抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体)的施用途径包括静脉内、肌肉内、皮下、腹膜内、脊柱或其它胃肠外施用途径,例如通过注射或输注。本文中使用的短语“胃肠外施用”是指,通常通过注射进行的除了肠内和局部施用以外的施用模式,且包括、但不限于,静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、淋巴管内、病灶内、囊内、眶内、心内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外和胸骨内注射和输注、以及体内电穿孔。在某些实施方案中,所述免疫检验点抑制剂(例如,抗-PD-1抗体或抗-PD-L1抗体)通过非胃肠外途径施用,在某些实施方案中,口服施用。其它非胃肠外途径包括局部、表皮或粘膜施用途径,例如,鼻内地、阴道地、直肠地、舌下地或局部地。还可以执行施用,例如,一次、多次,和/或在一个或多个延长的时间段中。

[0147] 本文中使用的“不良反应”(AE)是与医学治疗的应用有关的任何不利的和通常非故意的或不希望的迹象(包括异常的实验室发现)、征状或疾病。例如,不利事件可以与响应于治疗的免疫系统的激活或免疫系统细胞(例如,T细胞)的扩增相关。医学治疗可以具有一种或多种相关的AE,并且每种AE可以具有相同或不同的严重性水平。对能够“改变不利事件”的方法的提及是指降低与不同治疗方案的应用相关的一种或多种AE的发生率和/或严重性的治疗方案。

[0148] 本文中使用的“给药间隔”是指在施用给主体的本文公开的制剂的多个剂量之间逝去的时间的量。因而可以将给药间隔指示为范围。

[0149] 本文中使用的术语“给药频率”表示在给定时间中本文公开的制剂的施用剂量的频率。可以将给药频率指示为每个给定时间的剂量的数目,例如,每周1次或2周1次。

[0150] 术语“统一剂量(flat dose)”的应用是指,不考虑患者的重量或体表面积(BSA)施用给患者的剂量。因此将统一剂量提供为mg/kg剂量,而不是提供为药剂(例如,抗-PD-1抗体)的绝对量。例如,60kg人和100kg人将接受相同剂量的抗体(例如,240mg抗-PD-1抗体)。

[0151] 关于本发明的组合物的术语“固定剂量”的应用是指,单一组合物中的两种或更多

种不同抗体彼此以特定(固定)比率存在于所述组合物中。在某些实施方案中,所述固定剂量是基于所述抗体的重量(例如,mg)。在某些实施方案中,所述固定剂量是基于所述抗体的浓度(例如,mg/ml)。在某些实施方案中,所述mg第一抗体:mg第二抗体的比率是至少约1:1、约1:2、约1:3、约1:4、约1:5、约1:6、约1:7、约1:8、约1:9、约1:10、约1:15、约1:20、约1:30、约1:40、约1:50、约1:60、约1:70、约1:80、约1:90、约1:100、约1:120、约1:140、约1:160、约1:180、约1:200、约200:1、约180:1、约160:1、约140:1、约120:1、约100:1、约90:1、约80:1、约70:1、约60:1、约50:1、约40:1、约30:1、约20:1、约15:1、约10:1、约9:1、约8:1、约7:1、约6:1、约5:1、约4:1、约3:1或约2:1。例如,第一抗体和第二抗体的3:1比率可以是指,瓶可以含有约240mg第一抗体和80mg第二抗体,或约3mg/ml的第一抗体和1mg/ml的第二抗体。

[0152] 本文提及的术语“基于重量的剂量”是指基于患者的重量计算出的、施用给患者的剂量。例如,当具有60kg体重的患者需要3mg/kg的抗PD-1抗体和1mg/kg的抗CTLA-4抗体时,人们可以从抗PD-1抗体和抗CTLA-4抗体的3:1比率固定剂量制剂中一次性抽取适当量的抗PD-1抗体(即,180mg)和抗CTLA-4抗体(即,60mg)。

[0153] 术语“免疫疗法”表示通过一定方法治疗患有疾病或处于感染或遭受疾病复发的风险的主体,所述方法包括诱导、增强、抑制或以其它方式改变免疫应答。主体的“治疗”或“疗法”表示在主体上执行的任何类型的干预或过程,或给主体施用活性剂,目的在于逆转、减轻、改善、抑制、减慢或阻止征状、并发症或病症的发作、进展、发展、严重程度或复发,或与疾病相关的生化指标。

[0154] 本文中使用的“PD-L1阳性的”可以与“至少约1%的PD-L1表达”互换使用。在一个实施方案中,通过本领域已知的任意方法可以使用PD-L1表达。在另一个实施方案中,通过自动化的IHC测量PD-L1表达。PD-L1阳性的肿瘤因而可以具有至少约1%、至少约2%、至少约5%、至少约10%或至少约20%的表达PD-L1的肿瘤细胞,如通过自动化的IHC测得的。在某些实施方案中,“PD-L1阳性的”是指,存在至少100个在细胞表面上表达PD-L1的细胞。

[0155] “程序性死亡受体-1 (PD-1)”表示属于CD28家族的免疫抑制性受体。PD-1主要在体内先前活化的T细胞上表达,并且结合两种配体PD-L1和PD-L2。本文使用的术语“PD-1”包括人PD-1 (hPD-1), hPD-1的变体、同种体和物种同系物,以及与hPD-1具有至少一个共同表位的类似物。

[0156] “程序性死亡配体-1 (PD-L1)”是针对PD-1的两种细胞表面糖蛋白配体(另一种是PD-L2)之一,其在结合PD-1后下调T细胞活化和细胞因子分泌。

[0157] “主体”包括任何人或非人动物。术语“非人动物”包括、但不限于脊椎动物诸如非人灵长类动物、绵羊、狗,和啮齿类动物诸如小鼠、大鼠和豚鼠。在某些实施方案中,所述主体是人。术语“主体”和“患者”在本文中的某些语境下可互换地使用。

[0158] 药物或治疗剂的“治疗有效量”或“治疗上有效的剂量”是当单独使用或与另一种治疗剂联合使用时保护主体免于疾病发作或促进疾病消退的药物的任何量,所述疾病消退通过疾病征状的严重程度的降低、无疾病征状阶段的频率和持续时间的增加、或由疾病折磨引起的损伤或失能的预防来证明。使用熟练的从业人员已知的多种方法可以评价治疗剂的促进疾病消退的能力,诸如在临床试验期间在人主体中,在预测对于人类的效力的动物模型系统中,或通过体外测定法中测定所述药剂的活性。

[0159] 本文中使用的“亚治疗剂量”是指,当单独施用用于治疗过度增殖性疾病(例如,癌



症)时低于治疗性化合物的常用或典型剂量的治疗性化合物(例如,抗体)的剂量。

[0160] 作为例子,“抗癌药”促进主体中的癌症消退或阻止进一步的肿瘤生长。在某些实施方案中,治疗有效量的药物将癌症消退促进至消除癌症的点。“促进癌症消退”是指,单独地或与抗肿瘤剂联合施用有效量的药物,导致肿瘤生长或大小的减小、肿瘤的坏死、至少一种疾病症状的严重程度的降低、无疾病症状阶段的频率和持续时间的增加、或由疾病折磨引起的损伤或失能的预防。此外,关于治疗的术语“有效的”和“有效性”包括药理学有效性和生理学安全性。药理学有效性表示药物在患者中促进癌症消退的能力。生理学安全性表示由药物施用引起的在细胞、器官和/或生物体水平的毒性水平或其它不利的生理效应(不良作用)。

[0161] 作为用于治疗肿瘤的例子,相对于未治疗的主体,或者,在某些实施方案中,相对于用护理标准疗法治疗的患者,治疗有效量的抗癌药可以将细胞生长或肿瘤生长抑制至少约10%、至少约20%、至少约40%、至少约60%或至少约80%。在本发明的其它实施方案中,可以观察到肿瘤消退并持续至少约20天、至少约40天或至少约60天的时间段。尽管存在治疗有效性的这些最终测量,免疫治疗药物的评价还必须考虑“免疫相关的”应答模式。

[0162] “免疫相关的”应答模式表示在用免疫治疗剂治疗的癌症患者中经常观察到的临床应答模式,所述免疫治疗剂通过诱导癌症特异性免疫应答或通过改变天然免疫过程而产生抗肿瘤作用。该应答模式的特征在于在肿瘤负荷的初始增加或新病变出现之后的有益的治疗效果,其在传统化学治疗剂的评价中将被分类为疾病进展并且将与药物失效同义。因此,免疫治疗剂的适当评价可以需要长期监测这些药剂对靶疾病的影响。

[0163] 药物的治疗有效量包括“预防有效量”,其为当单独地或与抗肿瘤剂联合施用给处于发生癌症的风险的主体(例如,具有恶化前病症的主体)或具有癌症复发的风险的主体时,抑制癌症的发生或复发的任何药物量。在某些实施方案中,预防有效量完全阻止癌症的发生或复发。“抑制”癌症的发生或复发是指减少癌症的发生或复发的可能性,或完全阻止癌症的发生或复发。

[0164] 备选方案(例如,“或”)的应用应当被理解是指备选方案中的任一个、两个或它们的任意组合。本文中使用的不定冠词“一个”或“一种”应当理解为表示任何列举或枚举的组分中的“一个或多个/一种或多种”。

[0165] 术语“约”、“大约”或“基本上包含”表示在本领域普通技术人员确定的特定值或组成的可接受误差范围内的值或组成,其将部分地取决于如何测量或测定值或组成,即,测量系统的限制。例如,“约”或“基本上包含”可以是指按本领域中的实践,在1个或超过1个标准差内。可替换地,“约”或“基本上包含”可以是指至多10%或20%(即,±10%或±20%)的范围。例如,约3mg可以包括2.7mg至3.3mg之间(对于10%)或2.4mg至3.6mg(对于20%)之间的任何数字。此外,特别是关于生物学系统或过程,该术语可以是指直到一个数量级或直到数值的至多5倍。当在本申请和权利要求中提供特定值或组成时,除非另有说明,否则“约”或“基本上包含”的含义应当假定在该特定值或组成的可接受误差范围内。

[0166] 本文中使用的术语“约每周一次”、“约每两周一次”或任意其它类似的给药间隔术语是指近似值。“约每周一次”可以包括每7天±1天,即,每6天至每8天。“约每两周一次”可以包括每14天±3天,即,每11天至每17天。类似的近似值适用于,例如,约每3周一次,约每4周一次,约每5周一次,约每6周一次,和约每12周一次。在某些实施方案中,约每6周一次或

约每12周一一次的给药间隔是指,可以在第一周的任意天施用第一剂,然后可以分别在第六周或第十二周的任意天施用第二剂。在其它实施方案中,约每6周一次或约每12周一一次的给药间隔是指,在第一周的特定天(例如,星期一)施用第一剂,并然后分别在第六周或第十二周的相同天(即,星期一)施用第二剂。类似的原则适用于包括、但不限于“约每2周1次”,“约每月1次”等……的短语。

[0167] 如本文中所述的,任何浓度范围、百分比范围、比率范围或整数范围应当理解为包括在列举的范围内的任意整数的值,且当适当时,包括其分数(诸如整数的十分之一和百分之一),除非另外指出。

[0168] 除特别声明外,本发明中的“约”或“大约”是指在所给定的具体数值范围 $\pm 5\%$ 范围内波动,优选在 $\pm 2\%$ 范围内波动,更优选在 $\pm 1\%$ 范围内波动。例如pH值为约5.5表示pH为 $5.5 \pm 5\%$ ,优选pH为 $5.5 \pm 2\%$ ,更优选pH为 $5.5 \pm 1\%$ 。

### 具体实施方式

[0169] 下面结合具体实施例对本发明进行进一步的描述,然而,本发明中这些实施例仅用于阐明而不限制本发明的范围。同样,本发明不限于本文描述的任何具体优选的实施方案。本领域技术人员应该理解,对本发明技术特征所作的等同替换,或相应的改进,仍属于本发明的保护范围之内。除特别说明的以外,以下实施例采用的试剂均为市售产品,溶液的配制可以采用本领域常规技术。实施例中抗PD-L1人源化单抗按W02016022630中所述方法制得,经亲和层析后,按常规的抗体纯化方法得到含有该抗体的洗脱液。

[0170] 表1. 缩略语表

[0171]

缩略语	解释	缩略语	解释
ADA	抗药抗体	NCI	美国国立癌症研究所
ADCC	抗体依赖的细胞介导的细胞毒性作用	NYHA	纽约心脏病协会
AKT	蛋白激酶 B	Opdivo	欧狄沃
ANA	抗核抗体	PD-1	程序性死亡分子-1
APTT	活化部分凝血酶原时间	PD-L1	程序性死亡分子配体-1
ASCT	自体造血干细胞移植	PD-L2	程序性死亡分子配体-2
CAR-T	嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法	PET-CT	正电子发射计算机断层显像
CK-MB	肌酸激酶同工酶	PI3K	磷脂酰肌醇 3 激酶
CL	清除率	PKC	蛋白激酶 C
Cmax	峰浓度	PKCS	PK 浓度集
Cmin	谷浓度	PKPS	PK 参数分析集
CTLA-4	细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4	PPS	符合方案集
C <sub>ss</sub>	稳态血药浓度	PT	血浆凝血酶原时间
DC 细胞	树突状细胞	QTc	按心率校正的 QT 间期
D-Dimer	D-2 聚体	SLE	系统性红斑狼疮
EC50	半最大效应浓度	SS	安全数据集

[0172]

ECOG	美国东部肿瘤协作组	SUSAR	相关/可疑非预期严重不良事件
FDG	<sup>18</sup> F-脱氧葡萄糖	T1	肿瘤浸润基膜
HDT	高剂量化疗	T1/2	半衰期
IFN	干扰素	Ta	非浸润性肿瘤
Ig	免疫球蛋白	TCR	T 细胞表面受体
IL	白细胞介素	Tecentriq®	阿特殊单抗
ITSM	免疫受体酪氨酸转换基序	TEN	中毒性表皮坏死松解症
Keytruda	帕博利珠单抗	Tis	原位癌
MedDRA	药事管理的标准医学术语集	Tmax	达峰时间
NLPHL	结节性淋巴细胞为主型	TMB	肿瘤突变负荷
NOAEL	无毒性反应剂量	TNF	肿瘤坏死因子
MTD	最大耐受剂量	V <sub>ss</sub>	稳态分布容积

[0173] 实施例1.临床前药效学试验

[0174] 本实施例披露了抗PD-L1抗体在体外和小鼠体内的药效学研究的试验结果。

[0175] hu5G11-hIgG1与人PD-L1蛋白结合,其EC50为21.3ng/mL;hu5G11-hIgG1与人PD-L1

显著诱导CD4<sup>+</sup>:DC细胞MLR中IFN- $\gamma$ 的分泌,其作用呈明显的剂量依赖性,EC50为35.0 $\pm$ 11.3ng/mL,说明hu5G11-hIgG1与DC表达的PD-L1结合后,抑制PD-L1/PD-1信号通路,从而刺激CD4<sup>+</sup>T细胞中IFN- $\gamma$ 的分泌。

[0176] hu5G11-hIgG1 (15mg/kg, IP, Q2D $\times$ 11) 对MC-38/H-11小鼠皮下移植瘤的抑瘤率为91.7% (均根据中位肿瘤体积计算), 并明显延长腹腔接种小鼠MC-38/H-11细胞小鼠的存活时间, 中位存活时间均 $>$ 98天, 至实验结束时 (D98) 的存活率为80% ( $p<0.01$ , 与人IgG 15mg/kg组比较)。

[0177] 由此可见, 体内外药效学试验均证实hu5G11-hIgG1能够阻止PD-L1与T细胞表面的PD-1和B7.1受体结合, 使T细胞恢复活性, 从而增强免疫应答, 发挥抗肿瘤作用。

[0178] 实施例2. 临床前毒理学试验

[0179] 本实施例披露了抗PD-L1抗体在动物体内的急性毒性试验和长期毒性试验结果。

[0180] 使用食蟹猴6只, 分为2组, 每组3只, 雌雄兼有。分别按照hu5G11-hIgG1 200、400mg/kg的剂量给予10mg/mL的含hu5G11-hIgG1的本发明的药物组合物。以给药当天为试验第1天。给药后连续14天观察各组食蟹猴一般状况; 给药前及试验第4、9、14天测定体重; 试验第2~3、8~9、12~13天测定摄食量; 给药当日给药前、给药后约0~1小时及试验第14天测定体温、II导联心电图和血压; 试验第4、14天进行血液学、血生化检测; 试验第15天对各组所有食蟹猴麻醉后施以安乐死, 进行解剖观察。试验结果显示: 食蟹猴单次静脉注射200、400mg/kg的本品, 一般观察、体重、摄食、体温、心电图、血压、血液学、血生化、尿常规及大体解剖均未见明显异常, 最大耐受剂量 (MTD) 为400mg/kg。

[0181] 长期毒性试验结果显示食蟹猴静脉注射含hu5G11-hIgG1的本发明的药物组合物4周, 停药恢复4周, 无毒性反应剂 (NOAEL) 为200mg/kg。

[0182] 实施例3. 临床I期试验方案 and 安全性、耐受性结果

[0183] 本实施例披露了单中心、开放式、剂量递增临床I期试验的药代动力学及耐受性初步疗效结果。

[0184] 临床I期耐受性和药代动力学研究纳入诊断明确、经标准治疗失败或缺乏标准治疗的晚期恶性肿瘤患者, 观察使用含hu5G11-hIgG1的药物组合物安全性和耐受性, 确定最大耐受剂量 (MTD) 和剂量限制性毒性 (DLT)。

[0185] 主要终点: DLT; MTD。

[0186] 次要终点: 药代动力学评价; 初步考察抗肿瘤治疗效果。

[0187] 安全性和耐受性结果显示, 给予入组患者1、3、10、20、30mg/kg含hu5G11-hIgG1的药物组合物。每21天一个周期, 连续给药。结果显示, 当前已入组的患者在连续给药期间耐受性良好, 与药物相关的不良反应均不超过II级。目前剂量均可以耐受; 1-10mg/kg剂量组细胞因子检测, 未见细胞因子风暴; 也暂未发现与免疫相关严重不良反应。

[0188] 初步药代动力学评估显示, 首次静脉滴注不同剂量 (1, 3, 10mg/kg) 受试药物后, 当前已入组患者的血清药物暴露水平呈明显剂量依赖, 表现出线性药代动力学特征。

[0189] 实施例4. 针对经典型霍奇金淋巴瘤患者和原发纵膈大B细胞淋巴瘤患者的治疗结果

[0190] 本实施例披露了临床I期试验中入组的经典型霍奇金淋巴瘤患者和原发纵膈大B细胞淋巴瘤患者的初步疗效评估结果。

[0191] 截止2018年7月已入组2名经典霍奇金淋巴瘤受试者,和1名原发纵膈大B细胞淋巴瘤患者,包括:3号受试者,经组织病理学确诊为经典霍奇金淋巴瘤患者,病理组织获取途径为手术,发生淋巴结转移,先前经受手术治疗、放射治疗和化疗;5号受试者,经组织病理学确诊为原发纵膈大B细胞淋巴瘤患者;6号受试者,经组织病理学确诊为经典霍奇金淋巴瘤患者,病理组织获取途径为组织活检,发生胸膜及局部胸壁转移,先前经受化疗。

[0192] 疗效评估方面,3号受试者接受3mg/kg体重剂量,21天为1个周期,持续给药,在9周后初次肿瘤评价靶病灶较基线缩小73%,18周后靶病灶较基线缩小76%。5号受试者接受10mg/kg体重剂量,21天为1个周期,持续给药,至27周疾病稳定(SD)。6号受试者接受10mg/kg体重剂量,21天为1个周期,持续给药,在9周后初次肿瘤评价靶病灶较基线缩小55%,18周后靶病灶较基线缩小75%。同时,表2显示了已入组的cHL和rrPMBCL患者治疗进展。这些结果提示含hu5G11-hIgG1的药物组合物显著控制了cHL和rrPMBCL患者的疾病。

[0193] 表2入组cHL和rrPMBCL患者治疗进展

受试者 编号	疾病	剂量	病灶大小*和临床疗效评价			
			基线	9 周后	18 周后	27 周后
[0194] 3	cHL	3 mg/kg	2370	634 PR	569 PR	700 PR
5	rrPMBCL	10mg/kg	7331	7194.9 SD	6979.7 SD	5520.7 SD
6	cHL	10mg/kg	1285.1	671 PR	683.7 PR	775.4 PR

[0195] \*淋巴瘤单位为 $\text{mm}^2$

[0196] 根据本发明所公开的内容,虽然根据优选实施方案对本发明的组合物和方法进行了描述,但对本领域技术人员而言,在不背离本发明的概念、精神和范围的情况下,可对在此所述的组合物和/或方法以及所述方法的步骤或步骤的顺序进行改变。

[0197] 本文所引用的所有文献的公开内容通过引用结合于此,引用程度为,他们提供示例性的、程序上和其他的细节补充本文所述内容。



<213> Mus sp.

<400> 5

Ser Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly

1                    5                    10                    15

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 6

Gly Tyr Asp Ser Gly Phe Ala Tyr

1                    5

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 7

Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp Val Ala

1                    5                    10

<210> 8

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 8

Tyr Ala Ala Asn Arg Tyr Thr

1                    5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 9

Gln Gln Asp Tyr Thr Ser Pro Tyr Thr

1                    5

<210> 10

<211> 14

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 10

Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser Ser Ser Ser Phe Met His

1                    5                    10

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 11

Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1                    5

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 12

Gln His Ser Trp Glu Ile Pro Tyr Thr

1                    5

<210> 13

<211> 116

<212> PRT

<213> Synthetic sequence

<400> 13

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

1                    5                    10                    15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

Gly Val Ile Trp Arg Gly Val Thr Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met

                  50                    55                    60

Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Val Leu

65                    70                    75                    80

Thr Met Asn Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

                  85                    90                    95

Arg Leu Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

                  100                    105                    110

Thr Val Ser Ser

                  115

<210> 14

<211> 116

<212> PRT

<213> Synthetic sequence





<213> Synthetic sequence

<400> 16

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

<210> 17

<211> 446

<212> PRT

<213> Synthetic sequence

<400> 17

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

Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
145					150					155					160
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
				165					170						175
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
				180					185						190
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
				195			200							205	
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
						215						220			
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
225					230					235					240
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
				245					250						255
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Ala	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
				260					265					270	
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
				275			280							285	
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
						295								300	
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
305					310					315					320
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
				325						330					335
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
				340						345					350
Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
				355						360					365
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
				370						375					380
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
385					390										400
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
				405						410					415
Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
				420						425					430
Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys		
				435						440					445

&lt;210&gt; 18

<211> 214

<212> PRT

<213> Synthetic sequence

<400> 18

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	Ser	Val	Ser	Asn	Asp
			20					25						30	
Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
			35				40						45		
Tyr	Tyr	Ala	Ala	Asn	Arg	Tyr	Thr	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly
			50				55					60			
Ser	Gly	Tyr	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75					80
Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Asp	Tyr	Thr	Ser	Pro	Tyr
				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> 19

<211> 446

<212> PRT

<213> Synthetic sequence

<400> 19

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Arg Ser Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Ser Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys  
 50 55 60  
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu  
 65 70 75 80  
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Asp Cys Ala  
 85 90 95  
 Arg Gly Tyr Asp Ser Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 100 105 110  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 115 120 125  
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 130 135 140  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 145 150 155 160  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 165 170 175  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 180 185 190  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 195 200 205  
 Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 210 215 220  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 225 230 235 240  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 245 250 255  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 260 265 270  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 275 280 285  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 290 295 300  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 305 310 315 320  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

	325		330		335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro					
	340		345		350
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val					
	355		360		365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly					
	370		375		380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp					
385		390		395	400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp					
	405		410		415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His					
	420		425		430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
	435		440		445
<210> 20					
<211> 218					
<212> PRT					
<213> Synthetic sequence					
<400> 20					
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Pro Gly					
1	5		10		15
Gln Arg Ala Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser					
	20		25		30
Ser Ser Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro					
	35		40		45
Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala					
	50		55		60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn					
65		70		75	80
Pro Val Glu Ala Asn Asp Thr Ala Asn Tyr Tyr Cys Gln His Ser Trp					
	85		90		95
Glu Ile Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg					
	100		105		110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln					
	115		120		125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr					
	130		135		140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser					

145                      150                      155                      160  
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
    165                      170                      175  
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
    180                      185                      190  
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
    195                      200                      205  
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
    210                      215  
 <210> 21  
 <211> 442  
 <212> PRT  
 <213> Synthetic sequence  
 <400> 21  
 Gln Ile Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Gln  
 1                                      5                                      10                                      15  
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr  
    20                                      25                                      30  
 Gly Val His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu  
    35                                      40                                      45  
 Gly Val Ile Trp Arg Gly Val Thr Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met  
    50                                      55                                      60  
 Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Val Leu  
 65                                      70                                      75                                      80  
 Thr Met Asn Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala  
    85                                      90                                      95  
 Arg Leu Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
    100                                      105                                      110  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
    115                                      120                                      125  
 Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
    130                                      135                                      140  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 145                                      150                                      155                                      160  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
    165                                      170                                      175  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
    180                                      185                                      190  
 Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr

195	200	205
Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro		
210	215	220
Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro		
225	230	235
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr		
	245	250
Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn		
	260	265
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg		
	275	280
Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val		
	295	300
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser		
305	310	315
Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys		
	325	330
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu		
	340	345
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe		
	355	360
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu		
	375	380
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe		
385	390	395
Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly		
	405	410
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr		
	420	425
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly		430
	435	440