

抗体药物偶联物的用途及联合用药物及其用途

技术领域

本发明涉及生物医药领域，具体地，涉及抗体药物偶联物的用途、联合用药物及其用途。

背景技术

表皮生长因子受体(Epidermal growth factor receptor, EGFR)是 EGF 受体家族中的一种跨膜受体酪氨酸激酶(tyrosine kinase, RTK)，由 4 个密切相关的 RTKs 组成：

10 ErbB1/EGFR、ErbB2/HER2/neu、ErbB3/HER3、ErbB4/HER4。EGFR 在多种人类肿瘤中过表达，包括结肠直肠癌、头颈癌、乳腺癌、肺癌、前列腺癌、肾癌、胰腺癌、卵巢癌、脑癌和膀胱癌。在这些肿瘤中，EGFR 参与调节癌细胞生长、信号传导、分化、粘附、迁移和存活信号级联。

由于其在癌症中的多维作用，EGFR 已成为一个有吸引力的治疗靶点。许多 EGFR
15 靶向小分子酪氨酸激酶抑制剂(TKIs，如吉非替尼、厄洛替尼、奥希替尼)和单克隆抗体(如西妥昔单抗、帕尼单抗)已被批准作为单一治疗或联合化疗的药物。尽管这些现有的靶向疗法取得了成功，但由于 EGFR 激酶结构域内的突变，患者往往对小分子 EGFR 抑制剂产生耐药。另外，截止目前，已上市的单克隆抗体如西妥昔单抗只被批准用于治疗
20 KRAS 野生型转移性结直肠癌(RAS wt mCRC)和/或头颈部鳞状细胞癌(SCCHN)，帕尼单抗被批准用于治疗转移结肠癌。

人 EGFR 基因位于染色体 7p12-14，由 24 个外显子组成，第 18~24 外显子编码 TK 功能区，第 18~20 外显子编码 N-lobe，第 21-24 外显子编码 C-lobe。TKI 药物敏感性相关突变集中于第 18~21 外显子。约 49%为第 19 外显子 746~752 位密码子区域的缺失突变(如 DelE746-A750)，其中 80%以上有亮氨酸(L)-精氨酸(R)-谷氨酸(E)-丙氨酸(A)基序缺
25 失。约 45%为第 21 外显子的点突变 L858R(858 位亮氨酸突变为精氨酸)，其他频率较低的突变包括 18 外显子 G719S 和 21 外显子 L861Q 等。

有研究表明，在获得性 TKI 耐药 NSCLC 病例中约 50-60%患者存在 T790M 突变，且对吉非替尼和厄洛替尼没有应答。即使使用专门针对 T790M 突变的第三代 TKI 奥希替尼，NSCLC 患者在治疗约 10 个月后仍会出现疾病进展。

对于非小细胞肺癌，虽然酪氨酸激酶抑制剂（TKI）的发明极大地变革了治疗景观，并使这些病人受益，但 EGFR 激酶结构域的突变速度远远快于为克服这些突变带来的耐药性而发明新酪氨酸激酶抑制剂的速度。EGFR 突变引起的耐药是当前 EGFR 靶向 TKIs 的主要挑战之一。因此，目前可用的 EGFR 靶向治疗方法并不能完全满足患者的需求，

5 对于具有新机制的治疗方法存在明显的未满足的医疗需求。

靶向 PD-1/PD-L1 通路的免疫检查点抑制剂在包括 NSCLC 在内的几种癌症患者中显示出显著而持久的临床反应。尽管 PD-1/PD-L1 检查点阻断可以导致显著的应答，但这种疗法只对一部分患者有效，而且许多患者对治疗的反应只是部分有效。有临床试验表明，鳞状 NSCLC 患者对抗 PD-1 抗体的客观响应率约为 33%，非鳞状 NSCLC 患者对抗 PD-

10 1 抗体的客观反应率为 12%。另外，目前 PD-1/PD-L1 抑制剂在携带 EGFR 激活突变的非小细胞肺癌中的应用尚不明确。目前尚不清楚 EGFR 突变的 NSCLC 是否能从 PD-1/PD-L1 抑制剂中获益。

鉴于上述现有靶向 EGFR-TKI 药物存在的耐药问题及 PD-1/PD-L1 检查点阻断治疗的局限性，提供一种疗效更好、毒副作用更低，且不容易产生耐药的治疗手段仍迫在眉

15 睫。

发明内容

发明人发现，本发明的抗体药物偶联物（如 MYK-3）在多种 EGFR 突变表达的 NSCLC 细胞株、以及多种 EGFR 突变表达的 AZD9291（即奥希替尼，Osimertinib）耐

20 药的人 NSCLC PDX 肿瘤模型中均表现了显著的抑制肿瘤细胞生长的药效作用。

另外，发明人还发现，本发明的抗体药物偶联物（如 MYK-3）与抗 PD-1 抗体（如 AK103）联合用药在 EGFR 突变表达的 AZD9291（即奥希替尼，Osimertinib）耐药的人 NSCLC PDX 肿瘤模型中表现出了显著的具有协同效应的抑制肿瘤细胞生长的药效作用。

为此，在本发明的第一方面，本发明提供了抗体药物偶联物、其药学上可接受的

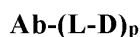
25 盐、溶剂合物或所述盐的溶剂合物的用途，所述用途选自以下的一种或多种：

- 1) 用于制备非小细胞肺癌抑制剂；
 - 2) 用于制备治疗和/或预防非小细胞肺癌的药物；
- 其中，所述非小细胞肺癌为选自以下的一种或多种：
- 1) EGFR-TKI 耐药性非小细胞肺癌；

2) EGFR 突变的非小细胞肺癌, 任选地, 所述 EGFR 突变的非小细胞肺癌还具有选自以下的一种或多种: CDKN2A/2B 突变、STK11 突变、c-Met 扩增、HER3 扩增;

其中, 所述抗体药物偶联物具有式 I 所示的结构,

5



式 I

其中:

Ab 代表抗表皮生长因子受体抗体, 其中所述抗表皮生长因子受体抗体包括重链和轻链, 其中重链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 分别包含如 SEQ ID NO: 5~7 所示的序列或其突变体, 轻链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 分别包含如 SEQ ID NO: 12~14 所示的序列或其突变体;

10

L 代表接头;

D 代表细胞毒剂;

p 代表 1-9 (如 1、2、3、4、5、6、7、8 或 9, 或者如 1-7), 例如 2-6, 例如 3-5, 具体例如 3.9、4.0 或 4.1。

15

在本发明的第二方面, 本发明提供了抗体药物偶联物、其药学上可接受的盐、溶剂合物或所述盐的溶剂合物, 其用于选自以下的一种或多种:

1) 抑制非小细胞肺癌肿瘤的生长;

2) 治疗和/或预防非小细胞肺癌,

20

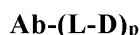
其中, 所述非小细胞肺癌为选自以下的一种或多种:

1) EGFR-TKI 耐药性非小细胞肺癌;

2) EGFR 突变的非小细胞肺癌, 任选地, 所述 EGFR 突变的非小细胞肺癌还具有选自以下的一种或多种: CDKN2A/2B 突变、STK11 突变、c-Met 扩增、HER3 扩增;

25

其中, 所述抗体药物偶联物具有式 I 所示的结构,



式 I

其中:

Ab 代表抗表皮生长因子受体抗体, 其中所述抗表皮生长因子受体抗体包括重链

和轻链，其中重链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 分别包含如 SEQ ID NO: 5~7 所示的序列或其突变体，轻链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 分别包含如 SEQ ID NO: 12~14 所示的序列或其突变体；

L 代表接头；

5 D 代表细胞毒剂；

p 代表 1-9（如 1、2、3、4、5、6、7、8 或 9，或者如 1-7），例如 2-6，例如 3-5，具体例如 3.9、4.0 或 4.1。

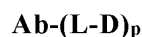
在本发明的第三方面，本发明提供了抑制非小细胞肺癌肿瘤生长的方法，和/或，治疗和/或预防非小细胞肺癌的方法，其包括：给予有需要的受试者有效量的抗体药物偶联物、其药学上可接受的盐、溶剂合物或所述盐的溶剂合物，

其中，所述非小细胞肺癌为选自以下的一种或多种：

1) EGFR-TKI 耐药性非小细胞肺癌；

2) EGFR 突变的非小细胞肺癌，任选地，所述 EGFR 突变的非小细胞肺癌还具有选自以下的一种或多种：CDKN2A/2B 突变、STK11 突变、c-Met 扩增、HER3 扩

其中，所述抗体药物偶联物具有式 I 所示的结构，



式 I

其中：

Ab 代表抗表皮生长因子受体抗体，其中所述抗表皮生长因子受体抗体包括重链和轻链，其中重链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 分别包含如 SEQ ID NO: 5~7 所示的序列或其突变体，轻链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 分别包含如 SEQ ID NO: 12~14 所示的序列或其突变体；

L 代表接头；

25 D 代表细胞毒剂；

p 代表 1-9（如 1、2、3、4、5、6、7、8 或 9，或者如 1-7），例如 2-6，例如 3-5，具体例如 3.9、4.0 或 4.1。

在一些实施方案中，所述抗体药物偶联物、其药学上可接受的盐、溶剂合物或所述盐的溶剂合物的给药剂量为 0.1-10.0 mg/kg（例如 0.1 mg/kg、0.2 mg/kg、0.3

mg/kg、0.4 mg/kg、0.5 mg/kg、0.6 mg/kg、0.7 mg/kg、0.8 mg/kg、0.9 mg/kg、1.0 mg/kg、1.1 mg/kg、1.2 mg/kg、1.3 mg/kg、1.4 mg/kg、1.5 mg/kg、1.6 mg/kg、1.7 mg/kg、1.8 mg/kg、1.9 mg/kg、2.0 mg/kg、2.1 mg/kg、2.2 mg/kg、2.3 mg/kg、2.4 mg/kg、2.5 mg/kg、2.6 mg/kg、2.7 mg/kg、2.8 mg/kg、2.9 mg/kg、3.0 mg/kg、3.2 mg/kg、3.4 mg/kg、3.6 mg/kg、3.8 mg/kg、4.0 mg/kg、4.2 mg/kg、4.4 mg/kg、4.6 mg/kg、4.8 mg/kg、5.0 mg/kg、6.2 mg/kg、6.4 mg/kg、6.6 mg/kg、6.8 mg/kg、7.0 mg/kg、7.2 mg/kg、7.4 mg/kg、7.6 mg/kg、7.8 mg/kg、8.0 mg/kg、8.2 mg/kg、8.4 mg/kg、8.6 mg/kg、8.8 mg/kg、9.0 mg/kg、9.2 mg/kg、9.4 mg/kg、9.6 mg/kg、9.8 mg/kg 或 10.0 mg/kg，或者 0.1-0.3 mg/kg、0.3-0.5 mg/kg、0.5-0.7 mg/kg、0.7-0.9 mg/kg、0.9-1.0 mg/kg、1.0-1.3 mg/kg、1.3-1.5 mg/kg、1.5-1.7 mg/kg、1.7-1.9 mg/kg、1.9-2.0 mg/kg、2.0-2.3 mg/kg、2.3-2.5 mg/kg、2.5-2.7 mg/kg、2.7-2.9 mg/kg、2.9-3.0 mg/kg、3.0-3.3 mg/kg、3.3-3.5 mg/kg、3.5-3.7 mg/kg、3.7-3.9 mg/kg、3.9-4.0 mg/kg、4.0-4.3 mg/kg、4.3-4.5 mg/kg、4.5-4.7 mg/kg、4.7-4.9 mg/kg 或 4.9-5.0 mg/kg）。

15 在一些实施方案中，所述抗体药物偶联物、其药学上可接受的盐、溶剂合物或所述盐的溶剂合物的给药剂量为 0.5~2.5 mg/kg。

在一些实施方案中，所述抗体药物偶联物、其药学上可接受的盐、溶剂合物或所述盐的溶剂合物的给药剂量为 2.0~2.5 mg/kg。

需要说明的是，上述“抗体药物偶联物”指的是含有相同或不同 DAR 值的 ADC 分子的组合物。

具体地，本发明提供了包含多个抗表皮生长因子受体（EGFR）ADC 分子的组合物。在某些情况下，本文所述的组合物中的每个 ADC 包含相同数目的一个或多个细胞毒剂。在其他情况下，本文所述的组合物中的每个 ADC 包含不同数目的一个或多个细胞毒剂。

25 本文所述的抗体药物偶联物中，每个抗表皮生长因子受体（EGFR）抗体可以偶联有 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个或更多细胞毒剂。

上述药物抗体比（DAR）是指偶联到抗表皮生长因子受体（EGFR）抗体的细胞毒剂的分子数。本文所述的 ADC 中包含的细胞毒剂的分子数通常是整数，当本文所述的 ADC 中包含的细胞毒剂的分子数（例如，式 I 中的 p）是分数时，该分数指的

是包含多个 ADC 分子的组合物中，每个抗表皮生长因子受体（EGFR）抗体偶联的细胞毒剂的平均数量。

在一些实施方案中，所述接头选自 6-马来酰亚氨基己酰基(MC)、马来酰亚氨基丙酰基(MP)、N-琥珀酰亚氨基 4-(2-吡啶基硫代)戊酸酯(SPP)、4-(N-马来酰亚氨基甲

5 基)-环己烷-1-甲酰基（MCC）、N-琥珀酰亚氨基(4-碘-乙酰基)氨基苯甲酸酯(SIAB)、和 6-马来酰亚氨基己酰基-缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苄氧羰基(MC-vc-PAB)。

在一些实施方案中，所述接头为 6-马来酰亚氨基己酰基-缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苄氧羰基(MC-vc-PAB)。

在一些实施方案中，所述细胞毒剂选自 SN-38、吉西他滨（Gemcitabine）、

10 Monomethyl auristatin E（MMAE）、Monomethyl auristatin F（MMAF）、美登木素生物碱（例如 Maytansine DM1、Maytansine DM4）、卡奇霉素(calicheamicin)、MGBA（如 duocarmycin）、阿霉素(doxorubicin)、蓖麻毒素、白喉毒素等毒素、I131、白介素类、肿瘤坏死因子、趋化因子和纳米颗粒。

在一些实施方案中，所述细胞毒剂为 Monomethyl auristatin E（MMAE）。

在一些实施方案中，所述抗表皮生长因子受体抗体的重链可变区 FR1、FR2、

15 FR3、FR4 区分别包含如 SEQ ID NO: 8~11 所示的序列或其突变体。

在一些实施方案中，所述抗表皮生长因子受体抗体轻链可变区 FR1、FR2、FR3、FR4 区分别包含如 SEQ ID NO: 15~18 所示的序列或其突变体。

在一些实施方案中，所述抗表皮生长因子受体抗体的重链恒定区选自人源性

20 IgG、IgM、IgA、IgD、IgA 恒定区或上述恒定区的突变体。

在一些实施方案中，所述 IgG 选自 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4。

在一些实施方案中，所述抗表皮生长因子受体抗体的轻链恒定区为人源性 lambda 恒定区、kappa 恒定区、或上述恒定区的突变体。

在一些实施方案中，所述抗表皮生长因子受体抗体的重链可变区的序列包含如

25 SEQ ID NO: 1 所示的序列，或者包含与 SEQ ID NO: 1 所示序列的同源性大于 70%，优选大于 75%、80%、85%、90%、95%、99% 的序列。

在一些实施方案中，所述抗表皮生长因子受体抗体的重链可变区的序列如 SEQ ID NO: 1 所示。

在一些实施方案中，所述抗表皮生长因子受体抗体的轻链可变区的序列包含如

SEQ ID NO: 2 所示的序列, 或者包含与 SEQ ID NO: 2 所示序列的同一性大于 70%, 优选大于 75%、80%、85%、90%、95%、99% 的序列。

在一些实施方案中, 所述抗表皮生长因子受体抗体的轻链可变区的序列如 SEQ ID NO: 2 所示。

- 5 在一些实施方案中, 所述抗表皮生长因子受体抗体的重链恒定区的序列包含如 SEQ ID NO: 3 所示的序列, 或者包含与 SEQ ID NO: 3 所示序列的同一性大于 70%, 优选大于 75%、80%、85%、90%、95%、99% 的序列。

在一些实施方案中, 所述抗表皮生长因子受体抗体的重链恒定区的序列如 SEQ ID NO: 3 所示。

- 10 在一些实施方案中, 所述抗表皮生长因子受体抗体的轻链恒定区的序列包含如 SEQ ID NO: 4 所示的序列, 或者包含与 SEQ ID NO: 4 所示序列的同一性大于 70%, 优选大于 75%、80%、85%、90%、95%、99% 的序列。

在一些实施方案中, 所述抗表皮生长因子受体抗体的轻链恒定区的序列如 SEQ ID NO: 4 所示。

- 15 在一些实施方案中, 所述 EGFR-TKI 耐药性非小细胞肺癌具有选自以下的一种或多种: EGFR 突变、CDKN2A/2B 突变、STK11 突变、c-Met 扩增、HER3 扩增。

在一些实施方案中, 所述 EGFR 突变选自以下的一个或多个位点的突变: 外显子 18、外显子 19、外显子 20、外显子 21。

- 20 在一些实施方案中, 所述 EGFR 突变选自以下的一种或多种: DelE746-A750、L858R、T790M、C797S、G719S、L861Q、G719C、G719A、T854A、D761Y。

在一些实施方案中, 所述 EGFR 突变选自以下的一种或多种: DelE746-A750、L858R、T790M、C797S。

在一些实施方案中, 所述 EGFR 突变选自以下的一种或多种: DelE746-A750、L858R、T790M。

- 25 在一些实施方案中, 所述 EGFR 突变为 DelE746-A750、L858R、T790M、C797S 或 L858R/T790M 双突变。

在一些实施方案中, 所述 EGFR 突变为 DelE746-A750、L858R、T790M 或 L858R/T790M 双突变。

在一些实施方案中, 所述 EGFR-TKI 选自以下的一种或多种: 奥希替尼

(AZD9291)、吉非替尼、厄洛替尼、埃克替尼、阿法替尼、达克替尼、伊马替尼、拉帕替尼、纳扎替尼、rociletinib、naquotinib、vandetanib、neratinib、pelitinib、canertinib、brigatinib、PKC412、Go6976、mavelertinib、olmutinib、WZ4002、TAS2913、西妥昔单抗、帕尼单抗、avitinib、HS-10296、TQB3804。

5 在一些实施方案中，所述 EGFR-TKI 为奥希替尼(AZD9291)。

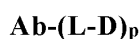
在一些实施方案中，所述非小细胞肺癌选自肺腺癌（优选支气管肺泡癌）、肺鳞癌、肺腺鳞癌、肺大细胞癌。

在本发明的第四方面，本发明提供了联合用药物，其包括：

10 第一药物，所述第一药物为抗体药物偶联物、其药学上可接受的盐、溶剂合物或所述盐的溶剂合物；和

第二药物，所述第二药物为 PD-1/PD-L1 抑制剂；

其中，所述抗体药物偶联物具有式 I 所示的结构，



式 I

15 其中：

Ab 代表抗表皮生长因子受体抗体，其中所述抗表皮生长因子受体抗体包括重链和轻链，其中重链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 分别包含如 SEQ ID NO: 5~7 所示的序列或其突变体，轻链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 分别包含如 SEQ ID NO: 12~14 所示的序列或其突变体；

20 L 代表接头；

D 代表细胞毒剂；

p 代表 1-9（如 1、2、3、4、5、6、7、8 或 9，或者如 1-7），例如 2-6，例如 3-5，具体例如 3.9、4.0 或 4.1。

25 在一些实施方案中，所述第一药物和所述第二药物相互分离。需要说明的是，所述相互分离指的是所述第一药物和所述第二药物并非作为混合物的形式进行应用，而是以分离的状态进行应用，例如，所述第一药物和所述第二药物用于联合用药（如同时给药或顺序给药或交叉给药）。

在一些实施方案中，所述接头选自 6-马来酰亚氨基己酰基(MC)、马来酰亚氨基丙酰基(MP)、N-琥珀酰亚氨基 4-(2-吡啶基硫代)戊酸酯(SPP)、4-(N-马来酰亚氨基甲

基)-环己烷-1-甲酰基(MCC)、N-琥珀酰亚氨基(4-碘-乙酰基)氨基苯甲酸酯(SIAB)、和 6-马来酰亚氨基己酰基-缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苄氧羰基(MC-vc-PAB)。

在一些实施方案中,所述接头为 6-马来酰亚氨基己酰基-缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苄氧羰基(MC-vc-PAB)。

5 在一些实施方案中,所述细胞毒剂选自 SN-38、吉西他滨(Gemcitabine)、Monomethyl auristatin E(MMAE)、Monomethyl auristatin F(MMAF)、美登木素生物碱(例如 Maytansine DM1、Maytansine DM4)、卡奇霉素(calicheamicin)、MGBA(如 duocarmycin)、阿霉素(doxorubicin)、蓖麻毒素、白喉毒素等毒素、I131、白介素类、肿瘤坏死因子、趋化因子和纳米颗粒。

10 在一些实施方案中,所述细胞毒剂为 Monomethyl auristatin E(MMAE)。

在一些实施方案中,所述抗表皮生长因子受体抗体的重链可变区 FR1、FR2、FR3、FR4 区分别包含如 SEQ ID NO: 8~11 所示的序列或其突变体。

在一些实施方案中,所述抗表皮生长因子受体抗体轻链可变区 FR1、FR2、FR3、FR4 区分别包含如 SEQ ID NO: 15~18 所示的序列或其突变体。

15 在一些实施方案中,所述抗表皮生长因子受体抗体的重链恒定区选自人源性 IgG、IgM、IgA、IgD、IgA 恒定区或上述恒定区的突变体。

在一些实施方案中,所述 IgG 选自 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4。

在一些实施方案中,所述抗表皮生长因子受体抗体的轻链恒定区为人源性 lambda 恒定区、kappa 恒定区、或上述恒定区的突变体。

20 在一些实施方案中,所述抗表皮生长因子受体抗体的重链可变区的序列包含如 SEQ ID NO: 1 所示的序列,或者包含与 SEQ ID NO: 1 所示序列的同一性大于 70%,优选大于 75%、80%、85%、90%、95%、99%的序列。

在一些实施方案中,所述抗表皮生长因子受体抗体的重链可变区的序列如 SEQ ID NO: 1 所示。

25 在一些实施方案中,所述抗表皮生长因子受体抗体的轻链可变区的序列包含如 SEQ ID NO: 2 所示的序列,或者包含与 SEQ ID NO: 2 所示序列的同一性大于 70%,优选大于 75%、80%、85%、90%、95%、99%的序列。

在一些实施方案中,所述抗表皮生长因子受体抗体的轻链可变区的序列如 SEQ ID NO: 2 所示。

在一些实施方案中，所述抗表皮生长因子受体抗体的重链恒定区的序列包含如 SEQ ID NO: 3 所示的序列，或者包含与 SEQ ID NO: 3 所示序列的同一性大于 70%，优选大于 75%、80%、85%、90%、95%、99% 的序列。

5 在一些实施方案中，所述抗表皮生长因子受体抗体的重链恒定区的序列如 SEQ ID NO: 3 所示。

在一些实施方案中，所述抗表皮生长因子受体抗体的轻链恒定区的序列包含如 SEQ ID NO: 4 所示的序列，或者包含与 SEQ ID NO: 4 所示序列的同一性大于 70%，优选大于 75%、80%、85%、90%、95%、99% 的序列。

10 在一些实施方案中，所述抗表皮生长因子受体抗体的轻链恒定区的序列如 SEQ ID NO: 4 所示。

在一些实施方案中，所述 PD-1/PD-L1 抑制剂为抗 PD-1 抗体。

15 在一些实施方案中，所述抗 PD-1 抗体选自 AK103(HX008)、特瑞普利单抗(JS-001)、信迪利单抗(ICI308)、卡瑞利珠单抗(Camrelizumab)、替雷利珠单抗(BGB-A317)、纳武利尤单抗 (Opdivo 或 Nivolumab)、帕博丽珠单抗 (Keytruda 或 Pembrolizumab)、CS1003、斯鲁利单抗 (serplulimab, HLX10)、AK104、杰诺单抗(GB226)、丽珠单抗(如 LZM009)、BAT-1306、SCT-I10A、F520、SG001、GLS-010、PDR001、REGN2810、STI-A1110 中的一种或多种。

在一些实施方案中，所述抗 PD-1 抗体为 AK103(HX008)。

在一些实施方案中，所述 PD-1/PD-L1 抑制剂为抗 PD-L1 抗体。

20 在一些实施方案中，所述抗 PD-L1 抗体选自度伐利尤单抗 (Durvalumab)、阿特珠单抗 (Atezolizumab) 或其组合。

25 在一些实施方案中，所述第一药物和所述第二药物的重量比为 15:1-1:15 (如 15:1、14:1、13:1、12:1、11:1、10:1、9:1、8:1、7:1、6:1、5:1、4:1、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14 或 1:15，或者 15:1-14:1、14:1-12:1、12:1-10:1、10:1-8:1、8:1-6:1、6:1-4:1、4:1-2:1、2:1-1:2、1:2-1:4、1:4-1:6、1:6-1:8、1:8-1:10、1:10-1:12、1:12-1:14 或 1:14-1:15)。

在一些实施方案中，所述第一药物和所述第二药物的重量比为 1:1-1:10。

在一些实施方案中，所述第一药物和所述第二药物的重量比为 1:1-1:9、1:2-1:8、1:3-1:7 或 1:4-1:6。

在一些实施方案中，所述第一药物和所述第二药物的重量比为 1:5。

在本发明的第五方面，本发明提供了前述的联合用药物的用途，所述用途选自以下的一种或多种：

1) 用于制备非小细胞肺癌抑制剂；

5 2) 用于制备治疗和/或预防非小细胞肺癌的药物；

其中，所述非小细胞肺癌为选自以下的一种或多种：

1) EGFR-TKI 耐药性非小细胞肺癌；

2) EGFR 突变的非小细胞肺癌，任选地，所述 EGFR 突变的非小细胞肺癌还具有选自以下的一种或多种：CDKN2A/2B 突变、STK11 突变、c-Met 扩增、HER3 扩
10 增。

在本发明的第六方面，本发明提供了前述的联合用药物，其用于选自以下的一种或多种：

1) 抑制非小细胞肺癌肿瘤的生长；

2) 治疗和/或预防非小细胞肺癌；

15 其中，所述非小细胞肺癌为选自以下的一种或多种：

1) EGFR-TKI 耐药性非小细胞肺癌；

2) EGFR 突变的非小细胞肺癌，任选地，所述 EGFR 突变的非小细胞肺癌还具有选自以下的一种或多种：CDKN2A/2B 突变、STK11 突变、c-Met 扩增、HER3 扩
20 增。

20 在一些实施方案中，所述 EGFR-TKI 耐药性非小细胞肺癌具有选自以下的一种或多种：EGFR 突变、CDKN2A/2B 突变、STK11 突变、c-Met 扩增、HER3 扩增。

在一些实施方案中，所述 EGFR 突变选自以下的一个或多个位点的突变：外显子 18、外显子 19、外显子 20、外显子 21。

25 在一些实施方案中，所述 EGFR 突变选自以下的一种或多种：DelE746-A750、L858R、T790M、C797S、G719S、L861Q、G719C、G719A、T854A、D761Y。

在一些实施方案中，所述 EGFR 突变选自以下的一种或多种：DelE746-A750、L858R、T790M。

在一些实施方案中，所述 EGFR 突变为 DelE746-A750、L858R、T790M 或 L858R/T790M 双突变。

在一些实施方案中，所述 EGFR-TKI 选自以下的一种或多种：奥希替尼 (AZD9291)、吉非替尼、厄洛替尼、埃克替尼、阿法替尼、达克替尼、伊马替尼、拉帕替尼、纳扎替尼、rociletinib、naquotinib、vandetanib、neratinib、pelitinib、canertinib、brigatinib、PKC412、Go6976、mavelertinib、olmutinib、WZ4002、TAS2913、西妥昔单抗、帕尼单抗、avitinib、HS-10296、TQB3804。

在一些实施方案中，所述 EGFR-TKI 为奥希替尼(AZD9291)。

在一些实施方案中，所述非小细胞肺癌选自肺腺癌（优选支气管肺泡癌）、肺鳞癌、肺腺鳞癌、肺大细胞癌。

在本发明的第七方面，本发明提供了抑制非小细胞肺癌肿瘤生长的方法，和/或，治疗和/或预防非小细胞肺癌的方法，其包括：给予有需要的受试者有效量的第一药物和第二药物，所述第一药物为抗体药物偶联物、其药学上可接受的盐、溶剂合物或所述盐的溶剂合物，所述抗体药物偶联物如前所述，所述第二药物为 PD-1/PD-L1 抑制剂；

其中，所述非小细胞肺癌为选自以下的一种或多种：

1) EGFR-TKI 耐药性非小细胞肺癌；

2) EGFR 突变的非小细胞肺癌，任选地，所述 EGFR 突变的非小细胞肺癌还具有选自以下的一种或多种：CDKN2A/2B 突变、STK11 突变、c-Met 扩增、HER3 扩增。

在一些实施方案中，所述 PD-1/PD-L1 抑制剂为抗 PD-1 抗体。

在一些实施方案中，所述抗 PD-1 抗体选自 AK103(HX008)、特瑞普利单抗(JS-001)、信迪利单抗(ICI308)、卡瑞利珠单抗(Camrelizumab)、替雷利珠单抗(BGB-A317)、纳武利尤单抗 (Opdivo 或 Nivolumab)、帕博利珠单抗 (Keytruda 或 Pembrolizumab)、CS1003、斯鲁利单抗 (serplulimab, HLX10)、AK104、杰诺单抗(GB226)、丽珠单抗(如 LZM009)、BAT-1306、SCT-I10A、F520、SG001、GLS-010、PDR001、REGN2810、STI-A1110 中的一种或多种。

在一些实施方案中，所述抗 PD-1 抗体为 AK103(HX008)。

在一些实施方案中，所述 PD-1/PD-L1 抑制剂为抗 PD-L1 抗体。

在一些实施方案中，所述抗 PD-L1 抗体选自度伐利尤单抗 (Durvalumab)、阿特珠单抗 (Atezolizumab) 或其组合。

在一些实施方案中，所述第一药物和所述第二药物的给药剂量比为 15:1-1:15（如 15:1、14:1、13:1、12:1、11:1、10:1、9:1、8:1、7:1、6:1、5:1、4:1、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14 或 1:15，或者 15:1-14:1、14:1-12:1、12:1-10:1、10:1-8:1、8:1-6:1、6:1-4:1、4:1-2:1、2:1-1:2、1:2-1:4、1:4-1:6、1:6-1:8、1:8-1:10、1:10-1:12、1:12-1:14 或 1:14-1:15）。

在一些实施方案中，所述第一药物和所述第二药物的给药剂量比为 1:1-1:10。

在一些实施方案中，所述第一药物和所述第二药物的给药剂量比为 1:1-1:9、1:2-1:8、1:3-1:7 或 1:4-1:6。

10 在一些实施方案中，所述第一药物和所述第二药物的给药剂量比为 1:5。

需要说明的是，本领域技术人员可以理解的是，所述第一药物和所述第二药物的给药剂量为防治疾病时的总的用药剂量，在总剂量不变的情况下，可以有不同的给药方式，例如每 X 天给药一次，给药 Y 次等。

15 在一些实施方案中，所述第一药物的给药剂量为 1mg/kg。在一些实施方案中，所述第二药物的给药剂量为 5mg/kg。

在一些实施方案中，所述第一药物和所述第二药物交叉给药。

在一些实施方案中，所述第一药物的给药方式为：第 0 天起，每 4 天给药 1 次，共给药 3 次。

20 在一些实施方案中，所述第二药物的给药方式为：第 0 天起，每 3 天给药 1 次，共给药 10 次。

在一些实施方案中，所述第一药物和所述第二药物的给药途径为静脉注射。

在一些实施方案中，所述 EGFR-TKI 耐药性非小细胞肺癌具有选自以下的一种或多种：EGFR 突变、CDKN2A/2B 突变、STK11 突变、c-Met 扩增、HER3 扩增。

25 在一些实施方案中，所述 EGFR 突变选自以下的一个或多个位点的突变：外显子 18、外显子 19、外显子 20、外显子 21。

在一些实施方案中，所述 EGFR 突变选自以下的一种或多种：Dele746-A750、L858R、T790M、C797S、G719S、L861Q、G719C、G719A、T854A、D761Y。

在一些实施方案中，所述 EGFR 突变选自以下的一种或多种：Dele746-A750、L858R、T790M。

在一些实施方案中，所述 EGFR 突变为 DelE746-A750、L858R、T790M 或 L858R/T790M 双突变。

在一些实施方案中，所述 EGFR-TKI 选自以下的一种或多种：奥希替尼 (AZD9291)、吉非替尼、厄洛替尼、埃克替尼、阿法替尼、达克替尼、伊马替尼、拉帕替尼、纳扎替尼、rociletinib、naquotinib、vandetanib、neratinib、pelitinib、canertinib、brigatinib、PKC412、Go6976、mavelertinib、olmutinib、WZ4002、TAS2913、西妥昔单抗、帕尼单抗、avitinib、HS-10296、TQB3804。

在一些实施方案中，所述 EGFR-TKI 为奥希替尼(AZD9291)。

在一些实施方案中，所述非小细胞肺癌选自肺腺癌（优选支气管肺泡癌）、肺鳞癌、肺腺鳞癌、肺大细胞癌。

有益效果：

1、本发明的抗体药物偶联物（如 MYK-3）在多种 EGFR 突变表达的 NSCLC 细胞株、以及多种 EGFR 突变表达的 AZD9291 耐药的人 NSCLC PDX 肿瘤模型中均表现了显著的抑制肿瘤细胞生长的药效作用。

2、本发明的抗体药物偶联物（如 MYK-3）与抗 PD-1 抗体（如 AK103）或抗 PD-L1 抗体联合用药在 EGFR 突变表达的 AZD9291 耐药的人 NSCLC PDX 肿瘤模型中表现出了显著的具有协同效应的抑制肿瘤细胞生长的药效作用。

附图说明

图 1：测定抗体药物偶联物的药物/抗体比例的 HIC-HPLC 图。

图 2：MYK-3 与 Erbitux[®]在人肺癌 NCI-H1975 细胞株中代表性的细胞杀伤作用曲线。

图 3：MYK-3 与 Erbitux[®]在人肺癌 NCI-H1650 细胞株中代表性的细胞杀伤作用曲线。

图 4：ADC-3、爱必妥[®]对人肺癌 NCI-H1975 裸小鼠皮下移植瘤的疗效。

图 5：各受试物对 AZD9291 耐药的人肺癌 PDX 模型 LUN#2005-143 肿瘤体积的影响。

图 6：各受试物对 AZD9291 耐药的人肺癌 PDX 模型 LUN#2210-4a 肿瘤体积的影响。

响。

图 7: 各受试物对 AZD9291 耐药的人肺癌 PDX 模型 LUN#2210-106 肿瘤体积的影响。

5 图 8: 各受试物对 AZD9291 耐药的人肺癌 PDX 模型 LUN#2355-128 肿瘤体积的影响。

图 9: 各受试物对 AZD9291 耐药的人肺癌 PDX 模型 LUN#2441-118 肿瘤体积的影响。

图 10: 各受试物对人肺癌 PDX 模型 LUN#2210-106 肿瘤体积的影响。

10 具体实施方式

下面将结合实施例对本发明的实施方案进行详细描述,但是本领域技术人员将会理解,下列实施例仅用于说明本发明,而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体条件者,按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市购获得的常规产品。

15 在本发明中,除非另有说明,否则本文中使用的科学和技术名词具有本领域技术人员所通常理解的含义。并且,本文中所用的蛋白质和核酸化学、分子生物学、细胞和组织培养、微生物学、免疫学相关术语和实验室操作步骤均为相应领域内广泛使用的术语和常规步骤。同时,为了更好地理解本发明,下面提供相关术语的定义和解释。

除非另有说明,在本发明中,任何浓度范围,百分比范围,比例范围或数值范围应理解为包括所述范围内的任何整数数值,以及在适当时包括所述范围内的分数数值。

在本发明中,术语“抗体”是指通常由两对相同的多肽链(每对具有一条“轻”(L)链和一条“重”(H)链)组成的免疫球蛋白分子。抗体的轻链可分为 κ 和 λ 两类。重链可分为 μ 、 δ 、 γ 、 α 或 ϵ 五种,依据重链的不同可将抗体分为 IgM、IgD、IgG、IgA 和 IgE 五类。在轻链和重链内,可变区和恒定区通过大约 12 或更多个氨基酸的“J”区连接,重链还包含大约 3 个或更多个氨基酸的“D”区。各重链由重链可变区(V_H)和重链恒定区(C_H)组成。重链恒定区由 3 个结构域(C_{H1} 、 C_{H2} 和 C_{H3})组成。各轻链由轻链可变区(V_L)和轻链恒定区(C_L)组成。轻链恒定区由一个结构域 C_L 组成。抗体的恒定区可介导免疫球蛋白与宿主组织或因子,包括免疫系统的各种细胞(例如,效应细胞)和补体系统的组分 C1q 的结合。 V_H 和 V_L 区还可被细分为具有高变性的区域(称为互补决定区(CDR)),其间散布有较

保守的称为骨架区 (FR) 的区域。各 V_H 和 V_L 由按下列顺序: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4 从氨基末端至羧基末端排列的 3 个 CDR 和 4 个 FR 组成。各重链/轻链对的可变区 (V_H 和 V_L) 分别形成抗体结合部位。氨基酸至各区域或结构域的分配遵循 Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991)), 或 Chothia & Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917; Chothia 等人 (1989) Nature 342:878-883 的定义。

本发明所述的单抗变异体可以通过传统的基因工程方法获得。本领域的技术人员完全知晓利用核酸突变改造 DNA 分子的方法。另外, 编码重链和轻链变异体的核酸分子也可以通过化学合成获得。

10 在本发明中, 用于确定序列同一性 (同源性) 和序列相似性百分数的算法是例如 BLAST 和 BLAST 2.0 算法, 它们分别描述在 Altschul 等 (1977) Nucl. Acid. Res. 25: 3389-3402 和 Altschul 等 (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410。采用例如文献中所述或者默认参数, BLAST 和 BLAST 2.0 可以用于确定本发明的氨基酸序列同一性百分数。执行 BLAST 分析的软件可以通过国立生物技术信息中心为公众所获得。

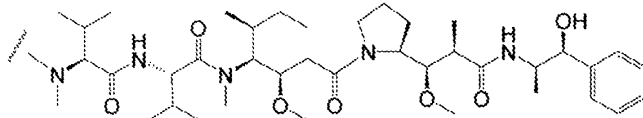
15 在本发明中, 所述与氨基酸序列具有至少 70% 的序列同一性的氨基酸序列包括与所述氨基酸序列基本同一的多肽序列, 例如当采用本文所述方法 (例如采用标准参数的 BLAST 分析) 时, 与本发明多肽序列相比含有至少 70% 序列同一性、优选至少 75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或更高的序列同一性的那些序列。

20 在本发明中, 所述氨基酸序列的突变体指的是与所述氨基酸序列的同一性大于 70%, 例如大于 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 的序列, 例如具有 3 个、2 个或 1 个取代、缺失或添加氨基酸的序列。优选的是, 取代、添加或缺失的氨基酸不超过 3 个氨基酸。更优选的是, 取代、添加或缺失的氨基酸不超过 2 个氨基酸。最优选的是, 取代、添加或缺失的氨基酸不超过 1 个氨基酸。

25 “取代型”变体是天然序列中至少一个氨基酸残基被除去并被不同的氨基酸插入其相同位置的变体。所述取代可为单个的, 其中该分子中仅有一个氨基酸被取代; 或可为多个的, 其中该相同分子有两个或更多的氨基酸被取代。多个取代可位于连续的位点。同样, 一个氨基酸可被多个残基取代, 其中这样的变体包括取代和插入二者。“插入型” (或“添加型”) 变体是一个或多个氨基酸被插入到紧邻一段天然序列某个特定位置处的氨基酸的

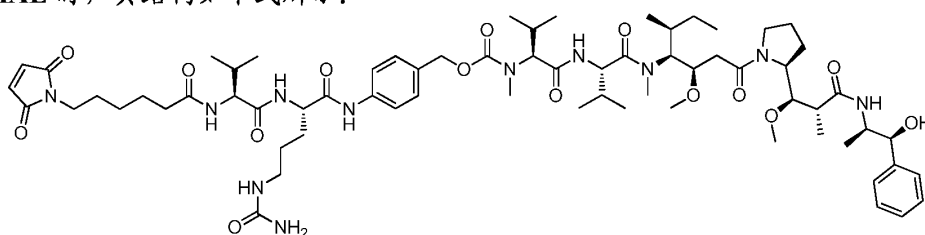
变体。紧邻氨基酸意指与该氨基酸的 α -羧基或 α -氨基官能团连接。“缺失型”变体是天然氨基酸序列中一个或多个氨基酸被除去的变体。通常情况下，缺失型变体在其分子的特定区域内有一个或两个氨基酸被缺失。

在本发明中，MMAE 的结构为：

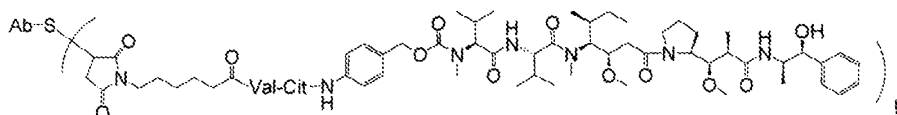


5

在本发明中，式 I 中的 L 为 MC-vc-PAB，D 为 MMAE，即 L-D 为 MC-vc-PAB-MMAE 时，其结构如下式所示：



在本发明中，抗表皮生长因子受体抗体 Ab 是通过其自身的二硫键被还原后生成的巯基与 L-D 进行连接。例如，L-D 为 MC-vc-PAB-MMAE 时，Ab 与 L-D 连接后的结构如下所示：



在本发明中，药物抗体比 (drug antibody ratio, DAR) 或药物载荷 (drug load) 由 p 表示，即式 I：Ab-(L-D)_p 的分子中每个抗体的平均药物模块 (即细胞毒剂) 数，可以为整数，也可以为分数。通式 I 的 ADC 包括偶联有一定范围药物模块的抗体的集合。来自偶联反应的 ADC 制备物中每个抗体的平均药物模块数可以通过常规手段来验证，诸如质谱、ELISA 测定法、HIC 和 HPLC。还可以测定 ADC 在 p 方面的定量分布。在有些情况中，将 p 为某数值的同质 ADC 从具有其它药物载荷的 ADC 中分离、纯化和验证可以通过诸如反相 HPLC 或电泳的手段来实现。

在某些实施方案中，在偶联反应中少于理论最大值的药物模块偶联至抗体。一般而言，抗体不包含许多游离的和反应性的半胱氨酸硫醇基，其可连接药物模块；事实上，抗体中的大多数半胱氨酸硫醇基以二硫桥形式存在。在某些实施方案中，可以在部分或完全还原性条件下用还原剂诸如二硫苏糖醇 (DTT) 或三羧基乙基膦 (TCEP) 还原抗体以产生反应

性半胱氨酸硫醇基。

在本发明中，“治疗”指试图改变所治疗个体或细胞的自然进程的临床干预，可以是为了预防或在临床病理学的进程中进行。治疗的期望效果包括预防疾病的发生或复发、缓解症状、削弱疾病的任何直接或间接病理学后果、预防转移、减缓疾病进展的速率、改善或减轻疾病状态、及免除或改善预后。在有些实施方案中，本发明的抗体药物偶联物用于延迟疾病或病症的发生，或用于减缓疾病或病症的进展。用于评估疾病的成功治疗和改善的上述参数可以容易的通过内科医师所熟悉的常规规程来测量。对于癌症治疗，可通过例如评估疾病进展前时间 (TTP)和/或测定反应率(RR)来测量功效。

在本发明中，“受试者”指脊椎动物。在某些实施方案中，脊椎动物指哺乳动物。哺乳动物包括，但不限于，牲畜(诸如牛)、宠物(诸如猫、犬、和马)、灵长类动物、小鼠和大鼠。在某些实施方案中，哺乳动物指人。

在本发明中，“有效量”指在必需的剂量和时间上有效实现期望的治疗或预防效果的量。本发明的物质/分子的“治疗有效量”可根据诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重及该物质/分子在个体中引发期望应答的能力等因素而变化。治疗有效量还涵盖该物质/分子的治疗有益效果胜过任何有毒或有害后果的量。“预防有效量”指在必需的剂量和时间上有效实现期望的预防效果的量。通常而非必然，由于预防剂量是在疾病发作之前或在疾病的早期用于受试者的，因此预防有效量会低于治疗有效量。在癌症的情况中，药物的治疗有效量可减少癌细胞数；缩小肿瘤体积；抑制(即一定程度的减缓，优选停止)癌细胞浸润到周围器官中；抑制(即一定程度的减缓，优选停止)肿瘤转移；一定程度的抑制肿瘤生长；和/或一定程度的减轻与癌症有关的一种或多种症状。

对于疾病的预防或治疗，本发明的抗体药物偶联物的适宜剂量(在单独地或联合一种或多种其它别的治疗剂诸如化疗剂地使用)会取决于待治疗疾病的类型、抗体药物偶联物的类型、疾病的严重程度和进程、施用抗体药物偶联物是出于预防还是治疗目的、先前的疗法、患者的临床病史和对抗体药物偶联物的反应性、及主治医师的判断。合适的是，一次性或通过一系列治疗将抗体药物偶联物施用于患者。

在本发明中，术语“协同”指当给予组分或试剂的组合(例如，抗体药物偶联物如 MYK-3 与抗 PD-1 抗体如 AK103 或抗 PD-L1 抗体联合用药)时所观测到的产生这样效应(例如，抑制肿瘤生长，延长存活时间等)的结果，所述效应高于基于个别组分的累加性能或效应将预期到的效应。在一些实施方案中，协同作用通过进行 Bliss 分析确定(参见

例如, Foucquier 等 Pharmacol.Res.Perspect.(2015)3(3):e00149, 通过引用其全部内容纳入本文用于所有目的)。Bliss 独立模型 (Bliss Independence model) 假设药效是概率性过程的结果, 并假设药物完全独立作用 (即, 药物彼此之间互不干扰 (例如, 药物具有不同的作用位点), 但是各自有助于一个共同的结果)。根据 Bliss 独立模型, 使用下式计算两种

5 药物的组合的预期效应:

$$E_{AB} = E_A + E_B - E_A \times E_B,$$

其中, E_A 和 E_B 分别表示药物 A 和 B 的效应, 而 E_{AB} 表示药物 A 和 B 的组合的效应。当该组合的观测效应高于预期效应 E_{AB} 时, 认为两种药物的组合具有协同性。当组合的观测效应等于 E_{AB} 时, 认为两种药物的组合是累加的。或者, 当组合的观测效应小于

10 E_{AB} 时, 认为两种药物的组合是拮抗的。

药物组合的观测效应可以基于, 例如, 对象或对象群体的 TGI 指数, 肿瘤大小 (例如, 体积, 质量), 两个或更多个时间点之间 (例如, 给予治疗的第一天和首次给予治疗后特定天数之间) 肿瘤大小 (例如, 体积, 质量) 的绝对变化, 两个或更多个时间点之间 (例如, 给予治疗的第一天和首次给予治疗后特定天数之间) 肿瘤大小 (例如, 体积, 质量) 的变化率, 或存活时间。当将 TGI 指数作为药物组合观测效应的测量值时, TGI 指数可以在一个或多个时间点确定。当 TGI 指数在两个或更多个时间点确定时, 在一些情况下, 可以将多个 TGI 指数的平均值或中值用作观测效应的测量值。此外, TGI 指数可以在单个对象或对象群体中确定。当 TGI 指数在群体中确定时, 群体中的平均或中值 TGI 指数 (例如, 在一个或多个时间点) 可以用作观测效应的测量值。当将肿瘤大小或肿瘤生长速率用作观测效应的测量值时, 肿瘤大小或肿瘤生长速率可以在对象或对象群体中测量。在一些情况下, 在两个或更多个时间点针对一个对象, 或者在一个或多个时间点在对象群体中确定平均或中值肿瘤大小或肿瘤生长速率。当在群体中测量存活时间时, 平均或中值存活时间可以用作观测效应的测量值。

“药学上可接受的载体”在用于本发明时包括药学可接受的载体、赋形剂或稳定剂, 它们在所采用的剂量和浓度对暴露于其的细胞或哺乳动物是无毒的。通常, 生理学可接受的载体是 pH 缓冲水溶液。生理学可接受载体的例子包括缓冲剂, 诸如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸; 抗氧化剂, 包括抗坏血酸; 低分子量 (少于约 10 个残基) 多肽; 蛋白质, 诸如血清清蛋白、明胶或免疫球蛋白; 亲水性聚合物, 诸如聚乙烯吡咯烷酮; 氨基酸, 诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸; 单糖、二糖和其它碳水化合物, 包括葡

葡萄糖、甘露糖，蔗糖，海藻糖或糊精；螯合剂，诸如 EDTA；糖醇，诸如甘露醇或山梨醇；成盐反荷离子，诸如钠；和/或非离子表面活性剂，诸如 TWEEN™、聚乙二醇(PEG) 和 PLURONICS™。

5 在一些实施方案中，所述药学上可接受的盐为无机酸盐或有机酸盐，其中，所述无机酸盐为盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硝酸盐、碳酸氢盐和碳酸盐、硫酸盐或磷酸盐，所述有机酸盐为甲酸盐、乙酸盐、丙酸盐、苯甲酸盐、马来酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、抗坏血酸盐、 α -酮戊二酸盐、 α -甘油磷酸盐、烷基磺酸盐或芳基磺酸盐；优选地，所述烷基磺酸盐为甲基磺酸盐或乙基磺酸盐；所述芳基磺酸盐为苯磺酸盐或对甲苯磺酸盐。

10 药学上可以接受的盐可使用本领域熟知的标准程序获得，例如，通过将足量的碱性化合物和提供药学上可以接受的阴离子的合适的酸反应。

在本发明中，溶剂合物表示这些形式的本发明的抗体药物偶联物：所述抗体药物偶联物通过与溶剂分子配位而形成的固态或液态形式的复合物。水合物是溶剂合物的一种具体形式，其具有配位的水分子。在本发明中，水合物是优选的溶剂合物。

15 在本发明中，EGFR 过表达是指与正常上皮细胞表面的 EGFR 表达水平相比，EGFR 的表达水平提高；其具体又可以分为高表达、中表达和低表达 (Wild, R., et al., Mol. Cancer Ther 2006;5(1), p104-113, Cetuximab preclinical antitumor activity (monotherapy and combination based) is not predicted by relative total or activated epidermal growth factor receptor tumor expression levels)。

20 在本发明中，20 种常规氨基酸和其缩写遵从常规用法。参见 Immunology-A Synthesis (第 2 版, E.S. Golub 和 D.R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991)), 其通过引用合并入本文。

25 MYK-3 是一种抗体药物缀合物(ADC)，由抗 EGFR 单克隆抗体(BA03)和强效细胞毒的小分子药物 MMAE(甲基澳瑞他汀 E)通过 vc (即 6-马来酰亚氨基己酰基-缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苄氧羰基，也即 MC-vc-PAB) 接头偶联而成。MYK-3 通过与肿瘤细胞表面 EGFR 受体的结合、内吞、释放 MMAE，从而阻断微管蛋白参与的包括有丝分裂在内的各项细胞生理功能，进而抑制肿瘤细胞增殖并导致肿瘤细胞死亡。

AK103 是一种抗 PD-1 的单抗药物，为免疫检查点抑制剂。通过阻断 PD-1/PD-L1 信号通路使 T 细胞活化上调，激活内源性抗肿瘤免疫反应，从而发挥对肿瘤的治疗作用。

本发明中的抗体 BA03 即中国发明专利申请 CN 103772504A 中的 BA03，其制备方法参考该专利申请中的实施例 3，该抗体各部分的序列如下：

重链可变区序列为：

5 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLSNYDVHWVRQAPGKGLEWLGVIWS
GGNTDYNTPFTSRLTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARALDYYDYEFAYW
GQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 1)。

其中下划线部分分别为 CDR1 (SEQ ID NO: 5)、CDR2 (SEQ ID NO: 6)、
CDR3 (SEQ ID NO: 7)；

10 未下划线部分分别为 FR1 (SEQ ID NO: 8)、FR2 (SEQ ID NO: 9)、FR3 (SEQ
ID NO: 10)、FR4 (SEQ ID NO: 11)。

轻链可变区序列为：

15 EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGTNIHWYQQKPDQSPKLLIKYASESIS
GIPSRFSGSGGTDFLTINSLEAEDAATYYCQQNNEWPTSFGQGTKLEIK (SEQ ID
NO: 2)。

15 其中下划线部分分别为 CDR1 (SEQ ID NO: 12)、CDR2 (SEQ ID NO: 13)、
CDR3 (SEQ ID NO: 14)；

未下划线部分分别为 FR1 (SEQ ID NO: 15)、FR2 (SEQ ID NO: 16)、FR3
(SEQ ID NO: 17)、FR4 (SEQ ID NO: 18)。。

重链恒定区序列为：

20 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP
CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
25 VLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ
ID NO: 3)。

轻链恒定区序列为：

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

(SEQ ID NO: 4)。

下面结合具体实施例对本发明进行进一步的解释说明，但这些实施例并非限制本发明的范围。

5 需要说明的是，本发明中以及以下实施例中 ADC-3 或 MRG003 均指 MYK-3。

实施例 1 抗体药物偶联物的制备方法

取 10 毫克的 BA03 抗体，使用 15mL 的 30KD 超滤装置置换到还原缓冲液 (25mM 硼酸钠, pH8.0, 25mM NaCl, 5 mM EDTA) 中，共置换三次；终体积约为 1mL, 转移至新的 Eppendorf 离心管 (称重) 中，并称重；检测蛋白浓度，计算蛋白总量。向抗体中加入 2.5 倍摩尔数的 DTT，室温保温 2 小时，连续混匀；使用 15ml 的 30KD 超滤装置置换到偶联缓冲液 (50mM Tris, pH7.2, 150mM NaCl, 5 mM EDTA) 中，共置换三次。取浓缩液，以 A280 测定蛋白浓度，并称重，计算蛋白总量；取 10μl 样品，以 Ellman's 方法测定自由巯基数；

并以下列公式计算其自由巯基的摩尔浓度：

$$C_{\text{free}} = \frac{A_{412} \times 11.2}{b \times 14150} \text{ (M)}$$

b: 比色皿光路长度 (通常 1cm)。

根据自由巯基的摩尔浓度和总蛋白溶液体积计算自由巯基摩尔数。

向还原后的抗体中加入 1.1 倍于自由巯基摩尔数的 vc-MMAE (购自上海皓元化学科技有限公司，货号 HY-15575) (溶于 DMSO)，混匀后室温反应 2 小时，间断混匀。向反应体系中加入 20 倍于所投入之 vc-MMAE 摩尔数的 N-乙酰半胱氨酸于反应液中，混匀，静置 5 分钟。使用 15ml 的 30KD 超滤装置置换到偶联物储存液 (20mM 柠檬酸钠 (Na-citrate), 0.3% NaCl, 5% 海藻糖 (Trehalose), 0.05% Tween-80, pH6.0) 中，共置换三次，即得到抗体药物偶联物 MYK-3；样品于 4℃ 保存。

药物/抗体比例的测定：

25 将制备好的抗体药物偶联物 MYK-3 经过 HIC-HPLC 分析 (Jun Ouyang, Drug-To-Antibody(DAR) Ratio and Drug Distribution by Hydrophobic Interaction Chromatography and Reverse Phase High Performance Chromatography, Laurent Ducry(ed.), Antibody Drug Conjugates, Chapter 17, Methods in Molecular Biology, Vol 1045, p275-283) 以测定药物/抗体比例 (drug antibody ratio, DAR)，见图 1，根据图谱峰面积计算得到平均

载药数 DAR 为 4.1。

实施例 2 MYK-3 对 EGFR 突变细胞株的体外杀伤活性

为了研究 MYK-3 对 EGFR 突变细胞株的杀伤作用，选用了 2 种不同 EGFR 突变的人
5 肺癌细胞株 NCI-H1975 和 NCI-H1650，采用细胞增殖抑制法，使用 CCK-8 检测试剂，测
定了 MYK-3 及市售参比药物 Erbitux®对以上 2 株细胞的杀伤作用，研究结果如表 1 和图
2-3 所示。

表 1: MYK-3 与 Erbitux®在 2 种不同 EGFR 突变的细胞株中的杀伤作用

细胞株	组织 来源	EGFR 表达水平	突变点	IC ₅₀ (Mean±SD, ng/mL)	
				MYK-3	Erbitux®
NCI- H1975	非小细 胞肺癌	中表达	L858R/T790M	3.0±0.7	ND
NCI- H1650	支气管 肺泡癌	中表达	DelE746-A750	3.0*10 ³ ±7. 9*10 ²	ND

注：EGFR 表达水平及突变点参考文献。IC₅₀ 值为 2 块 96 孔板中计算出的 IC₅₀ 的平均
10 值； ND 表示最高增殖抑制百分比（inhibition%）小于 50%，因而 IC₅₀ 值无法计算。

实验结果显示，MYK-3 对 2 种不同 EGFR 突变的人肺癌细胞株均有显著的细胞杀伤
作用，且效果都显著优于市售参比药物 Erbitux®。

实施例 3 MYK-3 在 CDX 模型中的抑瘤效果

15 人源性肿瘤细胞异种移植模型（CDX 模型）是利用人的肿瘤细胞在免疫缺陷小鼠中建
立的肿瘤模型，为了有效地评估 MYK-3 在未来临床适应症中的药效，在 1 个 EGFR 突变
的人非小细胞肺癌 CDX 模型中进行了实验。所有实验中，均同时使用市售 EGFR 靶向单
抗药物 Erbitux®作为参比药物来比较肿瘤抑制活性。

表 2: 体内药效学实验所用的 PDX 模型信息

模型号	EGFR 表达	突变
NCI-H1975	高表达	L858R/T790M

20 裸小鼠皮下接种人肺癌 H1975 细胞，待肿瘤生长至 100-200mm³ 后，将动物随机分组

(D0)。MYK-3 按 0.3、1 和 3 mg/kg 剂量给药后，第 14 天(D14)抑瘤率分别为 34%、128% 和 141%；1、3 mg/kg 剂量组分别有 7/8 和 7/8 肿瘤部分消退；至第 26 天(D25)，1 mg/kg 组仍有 5/8 肿瘤部分消退，3mg/kg 组仍有 5/8 肿瘤部分消退和 2/8 肿瘤完全消退；参比药物爱必妥® (3 mg/kg, IV)对 H1975 的抑瘤率为 82%(D14)。荷瘤小鼠对以上药物均能很好耐
5 受。ADC-3 1mg/kg 给药时对 H1975 的疗效明显强于爱必妥® 3 mg/kg 的疗效。实验结果如图 4 所示。

实施例 4 MYK-3 在 PDX 模型中的抑瘤效果

人源性肿瘤组织异种移植模型（PDX 模型）是利用人的肿瘤组织在免疫缺陷小鼠中建立
10 立的肿瘤模型，最大程度上保留了原代肿瘤的异质性、分子多样性和组织学特性，对药物的临床治疗效果具有较高的预测价值，近年来越来越多地被应用于癌症研究（Hidalgo-2014）。为了有效地评估 MYK-3 在未来临床适应症中的药效，在 5 个 AZD9291 耐药的人非小细胞肺癌 PDX 模型中进行了实验。在所有实验中，均同时使用市售第三代 EGFR 抑制剂 AZD9291 作为参比药物来比较肿瘤抑制活性。研究中使用的 5 个 PDX 模型信息如表
15 3 所示。

表 3: 体内药效学实验所用的 PDX 模型信息

模型号	性别	年龄	病理诊断	实验所用代数	EGFR mRNA	突变位点	AZD9291 耐药
LUN#2210-4a	男	53	肺腺鳞癌	P2	高表达	CDKN2A /2B, STK11	是
LUN#2210-106	男	53	肺腺鳞癌	P2	高表达	L858R, c-Met 扩增	是
LUN#2355-128	男	49	肺大细胞癌	P2	高表达	L858R/T790M	是
LUN#2441-118	女	49	肺腺鳞癌	P2	中表达	未知	是
LUN#2005-143	男	60	肺腺癌	P2	高表达	L858R, HER3 扩	是

增

1) MYK-3 在 AZD9291 耐药的人肺癌 PDX 模型 LUN#2005-143 中的疗效研究

LUN#2005-143 是一个 AZD9291 耐药的人肺腺癌 (属于 NSCLC 的一种) PDX 模型。本实验共设 4 组, 分别为 Vehicle 组 (ADC-3 溶媒), AZD9291 给药组 (5 mg/kg), ADC-3 给药组 (1 和 3 mg/kg)。整个实验过程, ADC-3 共给药 4 次, 分别于 Day 0, Day 4, Day 8, Day 12 通过尾静脉注射给药, AZD9291 共给药 29 次, 每天通过灌胃给药一次。实验结果如图 5 所示。Day 29 时, AZD9291 (5 mg/kg) 给药组的相对肿瘤增殖率 T/C (%) 为 36.90% ($P<0.0001$), 肿瘤生长抑制率 TGI% 为 63.10%; ADC-3 (1 mg/kg) 给药组的 T/C (%) 为 69.86% ($P<0.001$), TGI% 为 30.14%; ADC-3 (3 mg/kg) 给药组的 T/C (%) 为 25.27% ($P<0.0001$), TGI% 为 74.73%。Day 29 时, ADC-3 (3 mg/kg) 有 1 只 (共 8 只) 动物肿瘤完全消退。体重方面, 各受试药物组动物均有较好的耐受性, 实验结果表明, AZD9291 (5 mg/kg) 和 ADC-3 (3 mg/kg) 均能显著抑制肿瘤生长, ADC-3 (3 mg/kg) 对肿瘤的抑制作用优于 AZD9291 (5 mg/kg); ADC-3 (1 mg/kg) 显示一定的抗肿瘤活性, 但对肿瘤无显著抑制作用[T/C (%) > 40%]。在本实验中, 荷瘤小鼠对受试药物均有很好的耐受性。

2) MYK-3 在 AZD9291 耐药的人肺癌 PDX 模型 LUN#2210-4a 中的疗效研究

LUN#2210-4a 是一个 AZD9291 耐药的人肺腺鳞癌 PDX 模型。本实验共设 4 组, 分别为 Vehicle 组 (ADC-3 溶媒), AZD9291 给药组 (5 mg/kg), ADC-3 给药组 (1 和 3 mg/kg)。整个实验过程, ADC-3 共给药 4 次, 分别于 Day 0, Day 4, Day 8, Day 12 通过尾静脉注射给药, AZD9291 共给药 28 次, 每天通过灌胃给药一次。实验结果如图 6 所示。Day 28 时, AZD9291 (5 mg/kg) 给药组的相对肿瘤增殖率 T/C (%) 为 68.99% ($P<0.0001$), 肿瘤生长抑制率 TGI% 为 31.01%; ADC-3 (1 mg/kg) 给药组的 T/C (%) 为 13.10% ($P<0.0001$), TGI% 为 86.90%; ADC-3 (3 mg/kg) 给药组的 T/C (%) 为 0.31% ($P<0.0001$), TGI% 为 99.69%。Day 28 时, ADC-3 (1 mg/kg) 和 ADC-3 (3 mg/kg) 给药组分别有 1 只 (共 8 只) 动物和 7 只 (共 8 只) 动物肿瘤完全消退。荷瘤小鼠对受试药物均有很好的耐受性。

3) MYK-3 在 AZD9291 耐药的人肺癌 PDX 模型 LUN#2210-106 中的疗效研究

LUN#2210-106 是一个 AZD9291 耐药的人肺腺鳞癌 PDX 模型。本实验共设 4 组, 分别为 Vehicle 组 (ADC-3 溶媒), AZD9291 给药组 (5 mg/kg), ADC-3 给药组 (1 和 3 mg/kg)。

整个实验过程, ADC-3 共给药 4 次, 分别于 Day 0, Day 4, Day 8, Day 12 通过尾静脉注射给药, AZD9291 共给药 30 次, 每天通过灌胃给药一次。实验结果如图 7 所示。Day 30 时, AZD9291 (5 mg/kg) 给药组的相对肿瘤增殖率 T/C (%) 为 65.31% ($P < 0.0001$), 肿瘤生长抑制率 TGI% 为 34.69%; ADC-3 (1 mg/kg) 给药组的 T/C (%) 为 55.49% ($P < 0.0001$), TGI% 为 44.51%; ADC-3 (3 mg/kg) 给药组的 T/C (%) 为 0.0% ($P < 0.0001$), TGI% 为 100.00%。Day 30 时, ADC-3 (3 mg/kg) 给药组有 1 只 (共 8 只) 动物肿瘤完全消退。实验结果表明, ADC-3 (3 mg/kg) 在整个实验周期内能显著抑制肿瘤生长。ADC-3 (1 mg/kg) 在给药期间能显著抑制肿瘤生长; 给药 4 次后停止给药 (Day 12) 至实验结束时 (Day 30) 虽然有一定的抗肿瘤活性, 但对肿瘤无显著抑制作用 [$T/C (%) > 40\%$]。AZD9291 (5 mg/kg) 在整个实验周期内显示一定的抗肿瘤活性, 但对肿瘤无显著抑制作用 [$T/C (%) > 40\%$]。荷瘤小鼠对受试药物均有很好的耐受性。

4) MYK-3 在 AZD9291 耐药的人肺癌 PDX 模型 LUN#2355-128 中的疗效研究

LUN#2355-128 是一个 AZD9291 耐药的人肺大细胞癌 PDX 模型, 本实验共设 4 组, 分别为 Vehicle 组 (ADC-3 溶媒), AZD9291 给药组 (5 mg/kg), ADC-3 给药组 (1 和 3 mg/kg)。整个实验过程, ADC-3 共给药 4 次, 分别于 Day 0, Day 4, Day 8, Day 12 通过尾静脉注射给药, AZD9291 共给药 27 次, 每天通过灌胃给药一次。实验周期为 27 天。实验结果如图 8 所示。Day 16 时, AZD9291 (5 mg/kg) 给药组的相对肿瘤增殖率 T/C (%) 为 33.61% ($P < 0.0001$), 肿瘤生长抑制率 TGI% 为 66.39%; ADC-3 (1 mg/kg) 给药组的 T/C (%) 为 45.32% ($P < 0.0001$), TGI% 为 54.68%; ADC-3 (3 mg/kg) 给药组的 T/C (%) 为 3.60% ($P < 0.0001$), TGI% 为 96.40%。并有 1 只 (共 8 只) 动物的肿瘤完全消退; Day 27 时, ADC-3 (3 mg/kg) 给药组有 1 只 (共 8 只) 动物肿瘤完全消退。实验结果表明, AZD9291 (5 mg/kg) 和 ADC-3 (3 mg/kg) 均能显著抑制肿瘤生长, ADC-3 (3 mg/kg) 对肿瘤的抑制作用明显优于 AZD9291 (5 mg/kg); ADC-3 (1 mg/kg) 显示一定的抗肿瘤活性, 但对肿瘤无显著抑制作用 [$T/C (%) > 40\%$]。荷瘤小鼠对受试药物均有很好的耐受性。

5) MYK-3 对 AZD9291 耐药的人肺癌 PDX 模型 LUN#2441-118 中的疗效研究

LUN#2441-118 是一个 AZD9291 耐药的人肺腺鳞癌 PDX 模型, 本实验共设 4 组, 分别为 Vehicle 组 (ADC-3 溶媒), AZD9291 给药组 (5 mg/kg), ADC-3 给药组 (1 和 3 mg/kg)。整个实验过程, ADC-3 共给药 4 次, 分别于 Day 0, Day 4, Day 8, Day 12 通过尾静脉

注射给药, AZD9291 共给药 28 次, 每天通过灌胃给药一次。实验周期为 28 天。实验结果如图 9 所示。Day 25 时, AZD9291 (5 mg/kg) 给药组的相对肿瘤增殖率 T/C (%) 为 29.35% ($P < 0.0001$), 肿瘤生长抑制率 TGI% 为 70.65%; ADC-3 (1 mg/kg) 给药组的 T/C (%) 为 5.68% ($P < 0.0001$), TGI% 为 94.32%; ADC-3 (3 mg/kg) 给药组的 T/C (%) 为 3.44% ($P < 0.0001$), TGI% 为 96.56%。实验结果表明, AZD9291 (5 mg/kg), ADC-3 (1 mg/kg) 以及 ADC-3 (3 mg/kg) 均能显著抑制肿瘤生长, 其中 ADC-3 (1 mg/kg) 与 ADC-3 (3 mg/kg) 抗肿瘤活性均明显优于 AZD9291 (5 mg/kg) ($P < 0.05$)。荷瘤小鼠对受试药物均有很好的耐受性。

6) MYK-3 和 AK103 以及 MYK-3 联合 AK103 对在 Hu-HSC-NPG 小鼠中对人肺癌 PDX 模型 LUN#2210-106 的疗效研究

LUN#2210-106 是一个 AZD9291 耐药的人肺腺癌 PDX 模型。本实验共设 4 组, 分别为 Vehicle 组 (ADC-3 溶媒), ADC-3 给药组 (1 mg/kg), AK103 给药组 (5 mg/kg) 以及 ADC-3 (1 mg/kg) 联合 AK103 (5 mg/kg) 给药组。整个实验过程中, ADC-3 单药给药组共给药 3 次, 分别于 Day 0, Day 4, Day 8 通过尾静脉注射 ADC-3; AK103 单药给药组共给药 8 次, 每 3 天通过尾静脉注射 1 次 AK103; ADC-3 联合 AK103 给药组 ADC-3 给药 3 次, AK103 给药共 10 次, 给药方式同单药给药组的给药方式。实验周期为 34 天。实验结果如图 10 所示。Day 20 时, ADC-3 (1 mg/kg) 给药组的相对肿瘤增殖率 T/C (%) 为 13.31% ($P < 0.05$), 肿瘤生长抑制率 TGI% 为 86.69%; AK103 (5 mg/kg) 给药组的 T/C (%) 为 93.61% ($P > 0.05$), TGI% 为 6.39%; ADC-3 (1 mg/kg) 联合 AK103 (5 mg/kg) 给药组的 T/C (%) 为 2.77% ($P < 0.005$), TGI% 为 97.23%, 并有 3/6 的动物肿瘤完全消退。Day 20 至 Day 34 期间, ADC-3 (1 mg/kg) 给药组动物平均肿瘤体积逐渐恢复增长 (184 mm^3 增长到 893 mm^3); ADC-3 (1 mg/kg) 联合 AK103 (5 mg/kg) 给药组动物平均肿瘤体积增长缓慢 (38 mm^3 增长到 126 mm^3), Day 34 时仍然有 1/6 的动物肿瘤完全消退。

利用前述公式 $E_{AB} = E_A + E_B - E_A \times E_B$ 来计算 ADC-3 联合 AK103 是否具有协同作用, 计算对象为 TGI%。预期 $TGI\% = 0.8669 + 0.0639 - 0.8669 \times 0.0639 = 87.54\%$, 显然可见, 预期 TGI% (87.54%) 低于实际观测 TGI% (97.23%)。因此可以确定, ADC-3 与 AK103 的联合用药具有协同作用。

以上结果表明, 与溶媒对照组相比, ADC-3 (1 mg/kg) 或 ADC-3 (1 mg/kg) 联合 AK103

(5 mg/kg) 均能显著抑制肿瘤生长, 而 AK103 (5 mg/kg) 对肿瘤生长无明显抑制作用。与 ADC-3 (1 mg/kg) 单独给药相比, 同等剂量的 ADC-3 联合 AK103 (5 mg/kg) 具有更显著的抑瘤效果 (Day20, $P < 0.05$), 且具有协同作用。荷瘤小鼠对受试药物均有很好的耐受性。

5 MYK-3 在 5 种 AZD9291 耐药的人肺癌 PDX 模型中的体内药效试验结果汇总如表 4。

表 4: MYK-3 (i.v., q4d×4) 在 AZD9291 耐药的人肺癌 PDX 模型中体内药效结果

药效 模型	受试物	剂量	统计 日期	相对肿瘤 增殖率	肿瘤生 长抑制 率	肿瘤消退 情况		抑瘤 活性
		(mg/kg)		T/C(%)	TGI%	部分 消退	完全 消退	
LUN#2005-143	Vehicle (MYK-3 溶媒)	/		100	0	/	/	/
	MYK-3	1	Day 29	69.86 ($P < 0.001$)	30.14	/	/	+
		3		25.27 ($P < 0.0001$)	74.73	/	1/8	+++
	AZD9291	5		36.90 ($P < 0.0001$)	63.10	/	/	++
	Vehicle (MYK-3 溶媒)	/		100	0	/	/	/
LUN#2210-4a	MYK-3	1	Day 28	13.10 ($P < 0.0001$)	86.90	/	1/8	+++
		3		0.31 ($P < 0.0001$)	99.69	/	7/8	++++
	AZD9291	3		68.99 ($P < 0.0001$)	31.01	/	/	+

药效 模型	受试物	剂量	统计 日期	相对肿瘤 增殖率	肿瘤生 长抑制 率	肿瘤消退 情况		抑瘤 活性
		(mg/kg)		T/C(%)	TGI%	部分 消退	完全 消退	
LUN#2210-106	Vehicle (MYK-3 溶媒)	/	Day 30	100	0	/	/	/
	MYK-3	1		55.49 (P<0.0001)	44.51	/	/	+
		3		0.0 (P<0.0001)	100.00	/	1/8	++++
	AZD9291	5		65.31 (P<0.0001)	34.69	/	/	+
	Vehicle (MYK-3 溶媒)	/	Day 16	100	0	/	/	/
LUN#2355-128	MYK-3	1		45.32 (P<0.0001)	54.68	/	/	+
		3		3.60 (P<0.0001)	96.40	/	1/8	++++
	AZD9291	5		33.61 (P<0.0001)	66.39	/	/	++
LUN#2441-118	Vehicle (MYK-3 溶媒)	/	Day 25	100	0	/	/	/
	MYK-3	1		5.68 (P<0.0001)	94.32	/	/	++++
		3		3.44 (P<0.0001)	96.56	/	/	

药效 模型	受试物	剂量	统计 日期	相对肿瘤 增殖率	肿瘤生 长抑制 率	肿瘤消退 情况		抑瘤 活性
		(mg/kg)		T/C(%)	TGI%	部分	完全	
						消退	消退	
				29.35				
	AZD9291	3		(P<0.0001	70.65	/	/	++
				)				

注：“/”表示不适用。肿瘤体积（Tumor Volume，TV）的计算公式为： $TV = l \times w^2 / 2$ 。其中 l、w 分别代表肿瘤测量长和宽。根据测量结果计算出相对肿瘤体积（relative tumor volume，RTV）， $RTV = V_f / V_0$ 。其中 V0 为分组给药时（即 Day 0）测量所得肿瘤体积，Vf 为最后一天测量的肿瘤体积。相对肿瘤增殖率 $T/C(\%) = (\text{给药组 RTV} / \text{Vehicle 组 RTV}) \times 100\%$ 。肿瘤生长抑制率 $TGI\% = (\text{Vehicle 组平均肿瘤体积} - \text{给药组平均肿瘤体积}) / \text{Vehicle 组平均肿瘤体积} \times 100\%$ 。“++++”表示 $T/C(\%) \geq 0$ 且 $\leq 10\%$ ，“+++”表示 $T/C(\%) > 10\%$ 且 $\leq 20\%$ ，“++”表示 $T/C(\%) > 20\%$ 且 $\leq 40\%$ ，“+”表示 $T/C(\%) > 40\%$ 。受试物抑瘤活性的强弱划分是根据在该模型中最高剂量的 T/C(%)值。

MYK-3 与抗 PD-1 抗体联合药用在 AZD9291 耐药的人肺癌 PDX 模型中的体内药效试验结果汇总如表 5。

表 5: MYK-3 (i.v., q4d×3) 和 AK103 以及 MYK-3 联合 AK103 在 AZD9291 耐药的人肺癌 PDX 模型中体内药效结果

药效 模型	受试物	剂量	统计 日期	相对肿瘤 增殖率	肿瘤生 长抑制 率	肿瘤消退 情况		抑瘤 活性
		(mg/kg)		T/C(%)	TGI%	部分	完全	
						消退	消退	
LUN#22210-106	Vehicle	/	Day	100	0	/	/	/
	(MYK-3 溶媒)							
	MYK-3	1		20	13.31	86.69	/	/
				(P<0.005)				

药效 模型	受试物	剂量	统计 日期	相对肿瘤 增殖率	肿瘤生 长抑制 率	肿瘤消退 情况		抑瘤 活性
		(mg/kg		T/C(%)	TGI%	部分 消退	完全 消退	
		)						
	AK103	5		93.61 (P>0.005)	6.39			+
	MYK-3	1		2.77	97.23	/	3/6	++++
	AK103	5		(P<0.005)				

注：“/”表示不适用。肿瘤体积（Tumor Volume，TV）的计算公式为： $TV= l \times w^2/2$ 。其中 l、w 分别代表肿瘤测量长和宽。根据测量结果计算出相对肿瘤体积（relative tumor volume，RTV）， $RTV=V_f/V_0$ 。其中 V0 为分组给药时（即 Day 0）测量所得肿瘤体积，Vf 为最后一天测量的肿瘤体积。相对肿瘤增殖率 $T/C(%)=(\text{给药组 RTV}/\text{Vehicle 组 RTV}) \times 100\%$ 。肿瘤生长抑制率 $TGI\%=(\text{Vehicle 组平均肿瘤体积}-\text{给药组平均肿瘤体积})/\text{Vehicle 组平均肿瘤体积} \times 100\%$ 。“++++”表示 $T/C(%) \geq 0$ 且 $\leq 10\%$ ，“+++”表示 $T/C(%) > 10\%$ 且 $\leq 20\%$ ，“++”表示 $T/C(%) > 20\%$ 且 $\leq 40\%$ ，“+”表示 $T/C(%) > 40\%$ 。受试物抑瘤活性的强弱划分是根据在该模型中最高剂量的 T/C(%)值。

体内药效试验结果显示，在 5 个 AZD9291N 耐药的 PDX 模型（所有模型均为 NSCLC）中，MYK-3 均表现出显著的肿瘤生长抑制效果，且荷瘤鼠对 MYK-3 显示出很好的耐受性。值得指出的是，这 5 个 PDX 模型都为 EGFR 中高表达和 AZD9291 耐药，且其中有 2 个为 EGFR 突变耐药。

在 EGFR 突变的 AZD9291 耐药 PDX 模型中，MYK-3 与 AK103(抗 PD-1 抗体)联合用药显示出比同剂量单药（MYK-3 或 PD-1）更显著的肿瘤生长抑制效果，具有协同效应，且在停止给药后至实验结束，动物平均肿瘤体积增长缓慢，仍有 1/6 动物肿瘤完全消退。与单药治疗时达到治疗有效性所需的剂量相比，联合用药以较低的剂量施用 MYK-3 或 PD-1。

权 利 要 求

1、抗体药物偶联物、其药学上可接受的盐、溶剂合物或所述盐的溶剂合物的用途，所述用途选自以下的一种或多种：

1) 用于制备非小细胞肺癌抑制剂；

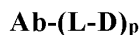
2) 用于制备治疗和/或预防非小细胞肺癌的药物；

其中，所述非小细胞肺癌为选自以下的一种或多种：

1) EGFR-TKI 耐药性非小细胞肺癌；

2) EGFR 突变的非小细胞肺癌，任选地，所述 EGFR 突变的非小细胞肺癌还具有选自以下的一种或多种：CDKN2A/2B 突变、STK11 突变、c-Met 扩增、HER3 扩增；

其中，所述抗体药物偶联物具有式 I 所示的结构，



式 I

其中：

Ab 代表抗表皮生长因子受体抗体，其中所述抗表皮生长因子受体抗体包括重链和轻链，其中重链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 分别包含如 SEQ ID NO: 5~7 所示的序列或其突变体，轻链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 分别包含如 SEQ ID NO: 12~14 所示的序列或其突变体；

L 代表接头；

优选地，所述接头选自 6-马来酰亚氨基己酰基(MC)、马来酰亚氨基丙酰基(MP)、N-琥珀酰亚氨基 4-(2-吡啶基硫代)戊酸酯(SPP)、4-(N-马来酰亚氨基甲基)-环己烷-1-甲酰基(MCC)、N-琥珀酰亚氨基(4-碘-乙酰基)氨基苯甲酸酯(SIAB)、和 6-马来酰亚氨基己酰基-缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苄氧羰基(MC-vc-PAB)；

更优选地，所述接头为 6-马来酰亚氨基己酰基-缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苄氧羰基(MC-vc-PAB)；

D 代表细胞毒剂；

优选地，所述细胞毒剂选自 SN-38、吉西他滨(Gemcitabine)、Monomethyl auristatin E(MMAE)、Monomethyl auristatin F(MMAF)、美登木素生物碱(例

如 Maytansine DM1、Maytansine DM4）、卡奇霉素(calicheamicin)、 MGBA （如 duocarmycin）、阿霉素(doxorubicin)、蓖麻毒素、白喉毒素等毒素、I131、白介素类、肿瘤坏死因子、趋化因子和纳米颗粒；

更优选地，所述细胞毒剂为 MMAE；

p 代表 1-9，优选 2-6，更优选 3-5。

2、根据权利要求 1 所述的用途，其中，所述抗表皮生长因子受体抗体具有以下特征中的一种或多种：

1) 所述抗表皮生长因子受体抗体的重链可变区 FR1、FR2、FR3、FR4 区分别包含如 SEQ ID NO: 8~11 所示的序列或其突变体；

2) 所述抗表皮生长因子受体抗体轻链可变区 FR1、FR2、FR3、FR4 区分别包含如 SEQ ID NO: 15~18 所示的序列或其突变体；

3) 所述抗表皮生长因子受体抗体的重链恒定区选自人源性 IgG、IgM、IgA、IgD、IgA 恒定区或上述恒定区的突变体；

优选地，所述 IgG 选自 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4；

4) 所述抗表皮生长因子受体抗体的轻链恒定区为人源性 lambda 恒定区、kappa 恒定区、或上述恒定区的突变体。

3、根据权利要求 1-2 任一项所述的用途，其中，所述抗表皮生长因子受体抗体具有以下特征中的一种或多种：

1) 所述抗表皮生长因子受体抗体的重链可变区的序列包含如 SEQ ID NO: 1 所示的序列，或者包含与 SEQ ID NO: 1 所示序列的同一性大于 70%，优选大于 75%、80%、85%、90%、95%、99% 的序列；

优选地，所述抗表皮生长因子受体抗体的重链可变区的序列如 SEQ ID NO: 1 所示；

2) 所述抗表皮生长因子受体抗体的轻链可变区的序列包含如 SEQ ID NO: 2 所示的序列，或者包含与 SEQ ID NO: 2 所示序列的同一性大于 70%，优选大于 75%、80%、85%、90%、95%、99% 的序列；

优选地，所述抗表皮生长因子受体抗体的轻链可变区的序列如 SEQ ID NO: 2 所

示；

3) 所述抗表皮生长因子受体抗体的重链恒定区的序列包含如 SEQ ID NO: 3 所示的序列，或者包含与 SEQ ID NO: 3 所示序列的同一性大于 70%，优选大于 75%、80%、85%、90%、95%、99% 的序列；

优选地，所述抗表皮生长因子受体抗体的重链恒定区的序列如 SEQ ID NO: 3 所示；

4) 所述抗表皮生长因子受体抗体的轻链恒定区的序列包含如 SEQ ID NO: 4 所示的序列，或者包含与 SEQ ID NO: 4 所示序列的同一性大于 70%，优选大于 75%、80%、85%、90%、95%、99% 的序列；

优选地，所述抗表皮生长因子受体抗体的轻链恒定区的序列如 SEQ ID NO: 4 所示。

4、根据权利要求 1-3 任一项所述的用途，其中，所述 EGFR-TKI 耐药性非小细胞肺癌具有选自以下的一种或多种：EGFR 突变、CDKN2A/2B 突变、STK11 突变、c-Met 扩增、HER3 扩增；

优选地，所述 EGFR 突变选自以下的一个或多个位点的突变：外显子 18、外显子 19、外显子 20、外显子 21；

更优选地，所述 EGFR 突变选自以下的一种或多种：DelE746-A750、L858R、T790M、C797S、G719S、L861Q、G719C、G719A、T854A、D761Y；

进一步优选地，所述 EGFR 突变选自以下的一种或多种：DelE746-A750、L858R、T790M；

最优选地，所述 EGFR 突变为 DelE746-A750、L858R、T790M 或 L858R/T790M 双突变。

5、根据权利要求 1-4 任一项所述的用途，其中，所述 EGFR-TKI 选自以下的一种或多种：奥希替尼(AZD9291)、吉非替尼、厄洛替尼、埃克替尼、阿法替尼、达克替尼、伊马替尼、拉帕替尼、纳扎替尼、rociletinib、naquotinib、vandetanib、neratinib、pelitinib、canertinib、brigatinib、PKC412、Go6976、mavelertinib、olmutinib、WZ4002、TAS2913、西妥昔单抗、帕尼单抗、avitinib、HS-10296、

TQB3804;

优选地, 所述 EGFR-TKI 为奥希替尼(AZD9291);

或者, 所述非小细胞肺癌选自肺腺癌(优选支气管肺泡癌)、肺鳞癌、肺腺鳞癌、肺大细胞癌。

6、联合用药物, 其包括:

第一药物, 所述第一药物为抗体药物偶联物、其药学上可接受的盐、溶剂合物或所述盐的溶剂合物; 和

第二药物, 所述第二药物为 PD-1/PD-L1 抑制剂;

其中, 所述抗体药物偶联物如权利要求 1-3 任一项所限定;

优选地, 所述第一药物和所述第二药物相互分离。

7、根据权利要求 6 所述的联合用药物, 其中, 所述 PD-1/PD-L1 抑制剂为抗 PD-1 抗体或抗 PD-L1 抗体;

优选地, 所述抗 PD-1 抗体选自 AK103、特瑞普利单抗(JS-001)、信迪利单抗(ICI308)、卡瑞利珠单抗(Camrelizumab)、替雷利珠单抗(BGB-A317)、纳武利尤单抗(Opdivo 或 Nivolumab)、帕博丽珠单抗(Keytruda 或 Pembrolizumab)、CS1003、斯鲁利单抗(serplulimab, HLX10)、AK104、杰诺单抗(GB226)、丽珠单抗(如 LZM009)、BAT-1306、SCT-H10A、F520、SG001、GLS-010、PDR001、REGN2810、STI-A1110 中的一种或多种;

更优选地, 所述抗 PD-1 抗体为 AK103;

优选地, 所述抗 PD-L1 抗体选自度伐利尤单抗(Durvalumab)、阿特殊单抗(Atezolizumab)或其组合。

8、根据权利要求 6-7 任一项所述的联合用药物, 其中, 所述第一药物和所述第二药物的重量比为 15:1-1:15;

优选地, 所述第一药物和所述第二药物的重量比为 1:1-1:10。

9、权利要求 6-8 任一项所述联合用药物的用途, 所述用途选自以下的一种或多

种:

- 1) 用于制备非小细胞肺癌抑制剂;
 - 2) 用于制备治疗和/或预防非小细胞肺癌的药物;
- 其中, 所述非小细胞肺癌为选自以下的一种或多种:

- 1) EGFR-TKI 耐药性非小细胞肺癌;
- 2) EGFR 突变的非小细胞肺癌, 任选地, 所述 EGFR 突变的非小细胞肺癌还具有选自以下的一种或多种: CDKN2A/2B 突变、STK11 突变、c-Met 扩增、HER3 扩增。

10、根据权利要求 9 所述的用途, 其中, 所述 EGFR-TKI 耐药性非小细胞肺癌具有选自以下的一种或多种: EGFR 突变、CDKN2A/2B 突变、STK11 突变、c-Met 扩增、HER3 扩增;

优选地, 所述 EGFR 突变选自以下的一个或多个位点的突变: 外显子 18、外显子 19、外显子 20、外显子 21;

更优选地, 所述 EGFR 突变选自以下的一种或多种: DelE746-A750、L858R、T790M、C797S、G719S、L861Q、G719C、G719A、T854A、D761Y;

进一步优选地, 所述 EGFR 突变选自以下的一种或多种: DelE746-A750、L858R、T790M;

最优选地, 所述 EGFR 突变为 DelE746-A750、L858R、T790M 或 L858R/T790M 双突变;

或者, 所述 EGFR-TKI 选自以下的一种或多种: 奥希替尼(AZD9291)、吉非替尼、厄洛替尼、埃克替尼、阿法替尼、达克替尼、伊马替尼、拉帕替尼、纳扎替尼、rociletinib、naquotinib、vandetanib、neratinib、pelitinib、canertinib、brigatinib、PKC412、Go6976、mavelertinib、olmutinib、WZ4002、TAS2913、西妥昔单抗、帕尼单抗、avitinib、HS-10296、TQB3804;

优选地, 所述 EGFR-TKI 为奥希替尼(AZD9291);

或者, 所述非小细胞肺癌选自肺腺癌(优选支气管肺泡癌)、肺鳞癌、肺腺鳞癌、肺大细胞癌。