

## (12) BREVET D'INVENTION

- (11) N° de publication : **MA 40474 B1**
- (43) Date de publication : **26.02.2021**
- (51) Cl. internationale : **A61K 39/395; A61P 35/00; A61P 37/04; C07K 16/28; G01N 33/577; C12N 1/21; C12N 15/13; C12N 15/63; C12N 5/10; C07K 19/00**
- 
- (21) N° Dépôt : **40474**
- (22) Date de Dépôt : **31.07.2015**
- (30) Données de Priorité : **01.08.2014 CN 201410377352**
- (86) Données relatives à la demande internationale selon le PCT: **PCT/CN2015/085721 31.07.2015**
- (71) Demandeur(s) : **Akeso Biopharma Inc., 6 Shennong Boulevard Torch Developmental Zone Zhongshan, Guangdong 528437 (CN)**
- (72) Inventeur(s) : **LI, Baiyong ; XIA, Yu ; WANG, Zhongmin ; ZHANG, Peng ; PANG, Xinghua**
- (74) Mandataire : **ATLAS INTELLECTUAL PROPERTY**
- 
- (54) Titre : **ANTICORPS MONOCLONAL ANTI-CTLA4 OU FRAGMENT DE CELUI-CI SE LIANT À L'ANTIGÈNE, COMPOSITION MÉDICINALE ET SON UTILISATION**
- (57) Abrégé : La présente invention appartient aux domaines de la thérapie tumorale et de l'immunologie moléculaire, et fournit un anticorps monoclonal anti-CTLA4 ou un fragment de liaison à l'antigène de celui-ci, une composition pharmaceutique de celui-ci et son utilisation. L'anticorps monoclonal de la présente invention peut bloquer la liaison de CLTA4 à B7, soulager l'immunosuppression sur le corps par CTLA4 et activer les lymphocytes T.

1. Anticorps monoclonal ou fragment de liaison à l'antigène de celui-ci, dans lequel l'anticorps monoclonal comprend les régions déterminantes complémentaires (CDR) choisies parmi les suivantes:
  - une. HCDR1 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO: 27,
  - b. HCDR2 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO: 28, et
  - c. HCDR3 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO: 29;et / ou
  - ré. LCDR1 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO: 30,
  - e. LCDR2 comprenant la séquence d'acides aminés de SEQ ID NO: 31, et
  - F. LCDR3 comprenant une séquence d'acides aminés choisie parmi SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 et SEQ ID NO: 34.
  
2. Anticorps monoclonal ou fragment de liaison à l'antigène de celui-ci selon la revendication 1, dans lequel la séquence d'acides aminés de la région variable de chaîne lourde (VH) de l'anticorps monoclonal est choisie parmi SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 14 et SEQ ID NO: 18; et / ou la séquence d'acides aminés de la région variable de la chaîne légère (VL) de l'anticorps monoclonal est choisie parmi SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, et SEQ ID NO: 24.
  
3. Anticorps monoclonal ou fragment de liaison à l'antigène de celui-ci selon la revendication 3, dans lequel l'anticorps monoclonal comprend
  - (1) VH comme indiqué dans SEQ ID NO: 6 et VL comme indiqué dans SEQ ID NO: 8;
  - (2) VH comme indiqué dans SEQ ID NO: 10 et VL comme indiqué dans SEQ ID NO: 12;
  - (3) VH comme indiqué dans SEQ ID NO: 14 et VL comme indiqué dans SEQ ID NO: 16;
  - (4) VH comme indiqué dans SEQ ID NO: 18 et VL comme indiqué dans SEQ ID NO: 20;
  - (5) VH comme indiqué dans SEQ ID NO: 14 et VL comme indiqué dans SEQ ID NO: 22; ou
  - (6) VH comme indiqué dans SEQ ID NO: 14 et VL comme indiqué dans SEQ ID NO: 24;spécifiquement, la méthionine en position 18 dans SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 10 et SEQ ID NO: 14 est indépendamment substitué par un acide aminé choisi parmi les suivants: leucine, valine, isoleucine ou alanine.
  
4. Anticorps monoclonal ou fragment de liaison à l'antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, dans lequel l'anticorps monoclonal ou son fragment de liaison à l'antigène est choisi parmi un Fab, un Fab', un F(ab')<sub>2</sub>, un Fd, un Fv, un dAb, un fragment de région déterminant la complémentarité, un anticorps monocaténaire (par exemple, un scFv), un anticorps humanisé, un anticorps chimérique et un diabody.
  
5. Anticorps monoclonal ou fragment de liaison à l'antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans lequel l'anticorps monoclonal se lie à la protéine CTLA4 avec un KD inférieur à environ 10<sup>-5</sup> M, par exemple inférieur à environ 10<sup>-6</sup> M, 10<sup>-7</sup> M, 10<sup>-8</sup> M, 10<sup>-9</sup> M ou 10<sup>-10</sup> M ou moins.
  
6. Anticorps monoclonal ou fragment de liaison à l'antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, dans lequel l'anticorps monoclonal comprend des régions non CDR et

les régions non CDR proviennent d'un anticorps d'une espèce autre que murine, par exemple un humain. .

7. Molécule d'acide nucléique isolée comprenant une séquence d'acide nucléique capable de coder la région variable de chaîne lourde d'un anticorps, dans laquelle la région variable de chaîne lourde de l'anticorps comprend: des CDR avec les séquences d'acides aminés de SEQ ID NO: 27-29; spécifiquement, la région variable de chaîne lourde de l'anticorps a la séquence d'acides aminés telle que présentée dans SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 14 ou SEQ ID NO: 18; plus spécifiquement, la molécule d'acide nucléique a la séquence nucléotidique telle que présentée dans SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 13 ou SEQ ID NO: 17.

8. Molécule d'acide nucléique isolée comprenant une séquence d'acide nucléique capable de coder la région variable de chaîne légère d'un anticorps, dans laquelle la région variable de la chaîne légère de l'anticorps comprend:  
1) CDR avec les séquences d'acides aminés de SEQ ID NO: 30-32;  
2) les CDR avec les séquences d'acides aminés de SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31 et SEQ ID NO: 33;  
3) CDR avec les séquences d'acides aminés de SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31 et SEQ ID NO: 34; spécifiquement, la région variable de chaîne légère de l'anticorps a la séquence d'acides aminés telle qu'indiquée dans SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22 ou SEQ ID NO: 24; plus spécifiquement, la molécule d'acide nucléique a la séquence nucléotidique telle que présentée dans SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21 ou SEQ ID NO: 23 .

9. Vecteur comprenant la molécule d'acide nucléique isolée selon la revendication 7 et / ou la revendication 8.

10. Cellule hôte comprenant la molécule d'acide nucléique isolée selon la revendication 7 et / ou la revendication 8, ou le vecteur selon la revendication 9.

11. Procédé de préparation de l'anticorps monoclonal ou de son fragment de liaison à l'antigène selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, comprenant les étapes de culture de la cellule hôte de la revendication 10 dans des conditions appropriées et de récupération de l'anticorps monoclonal ou de son fragment de liaison à l'antigène à partir du culture de cellules.

12. Conjugué comprenant un anticorps monoclonal ou un fragment de liaison à l'antigène de celui-ci et un fragment conjugué, dans lequel l'anticorps monoclonal est un anticorps monoclonal ou un fragment de liaison à l'antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, et ledit fragment conjugué est un marqueur détectable; spécifiquement, le fragment conjugué est un radio-isotope, une substance fluorescente, une substance luminescente, une substance chromogène ou une enzyme.

13. Kit comprenant l'anticorps monoclonal ou son fragment de liaison à l'antigène selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, ou le conjugué selon la revendication 12; spécifiquement, le kit comprend en outre un deuxième anticorps, qui reconnaît spécifiquement ledit anticorps monoclonal ou son fragment de liaison à l'antigène; facultativement, ledit second anticorps comprend en outre un marqueur détectable, par exemple, un radio-isotope, une

substance fluorescente, une substance luminescente, une substance chromogène ou une enzyme.

14. Utilisation de l'anticorps monoclonal ou de son fragment de liaison à l'antigène selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 dans la préparation d'un kit destiné à être utilisé pour détecter la présence ou le taux de CTLA4 dans un échantillon.

15. Composition pharmaceutique comprenant l'anticorps monoclonal ou son fragment de liaison à l'antigène selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, ou le conjugué selon la revendication 12; éventuellement, il comprend en outre un support et / ou excipient pharmaceutiquement acceptable.

16. Utilisation de l'anticorps monoclonal ou de son fragment de liaison à l'antigène selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 ou du conjugué selon la revendication 12 dans la préparation d'un médicament à utiliser dans la prévention et / ou le traitement et / ou la thérapie adjuvante et / ou diagnostic d'une tumeur; spécifiquement, la tumeur est choisie parmi le mélanome, la tumeur rénale / tumeur rénale, le cancer de la prostate, le cancer de la vessie, le cancer colorectal, le cancer du tractus gastro-intestinal et le cancer du foie / hépatique.

17. Utilisation de l'anticorps monoclonal ou de son fragment de liaison à l'antigène selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 ou du conjugué selon la revendication 12 dans la préparation d'un agent suivant:

un agent qui détecte le niveau de CTLA4 dans un échantillon,  
un agent qui bloque la liaison de CTLA4 à B7,  
un agent qui régule (par exemple, régule à la baisse) l'activité de CTLA4 ou le niveau de CTLA4,  
un agent qui soulage l'immunosuppression sur l'organisme par CTLA4,  
un agent qui active les lymphocytes T, ou  
un agent qui augmente l'expression de l'IL-2 dans les lymphocytes T.

18. Méthode in vivo ou in vitro comprenant l'étape consistant à administrer aux cellules une quantité efficace de l'anticorps monoclonal ou de son fragment de liaison à l'antigène selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 ou du conjugué selon la revendication 12, dans laquelle la méthode est choisie parmi les suivantes:

une méthode de détection du niveau de CTLA4 dans un échantillon,  
une méthode de blocage de la liaison de CTLA4 à B7,  
une méthode de régulation (à la baisse) de l'activité de CTLA4 ou du taux de CTLA4,  
une méthode de soulagement de l'immunosuppression sur l'organisme par CTLA4,  
une méthode d'activation des lymphocytes T, ou  
une méthode pour augmenter l'expression d'IL-2 dans les lymphocytes T.

19. Méthode de prévention et / ou de traitement et / ou de thérapie adjuvante et / ou de diagnostic d'une tumeur, comprenant l'étape consistant à administrer une quantité efficace de l'anticorps monoclonal ou de son fragment de liaison à l'antigène selon l'une quelconque des revendications 1 à 6. ou le conjugué d'anticorps monoclonal selon la revendication 12; spécifiquement, la tumeur est choisie parmi le mélanome, la tumeur rénale / tumeur rénale, le cancer de la prostate, le cancer de la vessie, le cancer colorectal, le cancer du tractus gastro-intestinal et le cancer du foie / hépatique.

20. Anticorps monoclonal ou fragment de liaison à l'antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 destiné à être utilisé dans la prévention et / ou le traitement et / ou la thérapie adjuvante et / ou le diagnostic d'une tumeur; spécifiquement, la tumeur est choisie parmi le mélanome, la tumeur rénale / tumeur rénale, le cancer de la prostate, le cancer de la vessie, le cancer colorectal, le cancer du tractus gastro-intestinal et le cancer du foie / hépatique.

21. Anticorps monoclonal selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 à utiliser dans:  
bloquer la liaison de CTLA4 à B7,  
réguler (par exemple, réguler à la baisse) l'activité de CTLA4 ou le niveau de CTLA4,  
soulager l'immunosuppression sur l'organisme par CTLA4, ou  
un agent activant les lymphocytes T, ou augmentant l'expression de l'IL-2 dans les lymphocytes T.