

(12) BREVET D'INVENTION

- (11) N° de publication : **MA 49823 B1** (51) Cl. internationale : **C07K 16/28; C07K 16/10**
- (43) Date de publication : **30.08.2024**

-
- (21) N° Dépôt : **49823**
- (22) Date de Dépôt : **09.03.2018**
- (30) Données de Priorité : **09.03.2017 DK PA201700164**
- (86) Données relatives à la demande internationale selon le PCT: **PCT/EP2018/055977 09.03.2018**
- (71) Demandeur(s) : **Genmab A/S, Carl Jacobsens Vej 30 2500 Valby (DK)**
- (72) Inventeur(s) : **SATIJN, David ; VAN DEN BRINK, Edward ; PARREN, Paul ; RADEMAKER, Rik ; DE GOEIJ, Bart ; ALTINTAS, Isil ; VERZIJL, Dennis**
- (74) Mandataire : **CABINET DIANI**
- (86) N° de dépôt auprès de l'organisme de validation :18712124.9

(54) Titre : **ANTICORPS DIRIGÉS CONTRE PD-L1**

- (57) Abrégé : La présente invention concerne de nouveaux anticorps et leur utilisation en médecine. L'invention concerne particulièrement, des anticorps bispécifiques capables de se lier à PD-L1 humain et capables de se lier à CD3 humain. L'invention concerne également de nouvelles classes d'anticorps capables de se lier à PD-L1 humain. L'invention concerne en outre des utilisations des anticorps de l'invention et des procédés, des constructions d'acide nucléique et des cellules hôtes pour produire des anticorps de l'invention.

Revendications.

1. Anticorps comprenant une région de liaison à l'antigène capable de se lier à PD-L1 humain, dans lequel ladite région de liaison à l'antigène capable de se lier à PD-L1 humain comprend une séquence de VH qui a un degré d'identité de séquence d'acides aminés de 100 % avec la séquence de VH présentée dans : SEQ ID NO: 18 et une séquence de VL qui a un degré d'identité de séquence d'acides aminés de 100 % avec la séquence de VL présentée dans : SEQ ID NO: 22.
2. Anticorps selon la revendication 1, dans lequel ledit anticorps est monovalent.
3. Anticorps selon la revendication 1, dans lequel ledit anticorps est un anticorps bivalent ayant deux régions de liaison à l'antigène capables de se lier à PD-L1 humain et dans lequel lesdites deux régions de liaison à l'antigène ont des séquences identiques de régions variables.
4. Anticorps selon la revendication 1 ou 3, dans lequel ledit anticorps est un anticorps bivalent bispécifique qui, en plus de ladite (première) région de liaison à l'antigène capable de se lier à PD-L1 humain, comprend une (seconde) région de liaison à l'antigène capable de se lier à un second antigène ou à un différent épitope de PD-L1 humain, ledit second antigène n'étant pas CD3e humain.
5. Anticorps bispécifique comprenant une région de liaison à l'antigène capable de se lier à PD-L1 humain et une région de liaison à l'antigène capable de se lier à CD3e (epsilon) humain, dans lequel la région de liaison à l'antigène capable de se lier à PD-L1 humain comprend une séquence de VH qui a un degré d'identité de séquence d'acides aminés de 100 % avec la séquence de VH présentée dans : SEQ ID NO: 18 et une séquence de VL qui a un degré d'identité de séquence d'acides aminés de 100 % avec la séquence de VL présentée dans : SEQ ID NO: 22.
6. Anticorps bispécifique selon la revendication 5, dans lequel la région de liaison à l'antigène capable de se lier à CD3e humain comprend (a) une région variable de chaîne lourde (VH) comprenant CDR1, CDR2, et CDR3 ayant les séquences telles que présentées dans les séquences SEQ ID NO: 26, 27, et 28, respectivement, et une région variable de chaîne légère (VL) comprenant CDR1, CDR2, et CDR3 ayant les séquences telles que présentées dans la séquence SEQ ID NO: 30, la séquence GTN, et la séquence telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 31, respectivement.
7. Anticorps bispécifique selon l'une quelconque des revendications 5 et 6, dans lequel la région de liaison à l'antigène capable de se lier à CD3e humain comprend une séquence de VH telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 25 et une séquence de VL telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 29.
8. Anticorps bispécifique selon la revendication 5, dans lequel ledit anticorps bispécifique :
 - (i) a une plus faible affinité pour la liaison à CD3e humain en comparaison d'un anticorps ayant une région de liaison à l'antigène comprenant une séquence de VH telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 25 et une séquence de VL telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 29, de préférence dans lequel ladite affinité est au moins 2 fois plus faible, par exemple au moins 5 fois plus faible, telle qu'au moins 10 fois plus faible, par exemple au moins 25 fois plus faible, telle qu'au moins 50 fois plus faible, et
 - (ii) est capable d'induire une cytotoxicité, dépendant de la concentration, de cellules MDA-MB-231, cellules PC 3 et/ou cellules HELA lorsque sont utilisées comme cellules effectrices des cellules mononuclées de sang périphérique ou des lymphocytes T purifiés, par exemple lorsque cela est testé comme décrit dans l'exemple 11 de la présente description.

9. Anticorps bispécifique selon la revendication 8, dans lequel la région de liaison à l'antigène capable de se lier à CD3e humain comprend :

- (i) une région variable de chaîne lourde (VH) comprenant CDR1, CDR2, et CDR3 ayant les séquences telles que présentées dans les séquences SEQ ID NO: 99, 27, et 28, respectivement, et une région variable de chaîne légère (VL) comprenant CDR1, CDR2, et CDR3 ayant les séquences telles que présentées dans la séquence SEQ ID NO: 30, la séquence GTN, et la séquence telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 31, respectivement, ou
- (ii) une région variable de chaîne lourde (VH) comprenant CDR1, CDR2, et CDR3 ayant les séquences telles que présentées dans les séquences SEQ ID NO: 100, 27, et 28, respectivement, et une région variable de chaîne légère (VL) comprenant CDR1, CDR2, et CDR3 ayant les séquences telles que présentées dans la séquence SEQ ID NO: 30, la séquence GTN, et la séquence telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 31, respectivement, ou
- (iii) une région variable de chaîne lourde (VH) comprenant CDR1, CDR2, et CDR3 ayant les séquences telles que présentées dans les séquences SEQ ID NO: 26, 27, et 101, respectivement, et une région variable de chaîne légère (VL) comprenant CDR1, CDR2, et CDR3 ayant les séquences telles que présentées dans la séquence SEQ ID NO: 30, la séquence GTN, et la séquence telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 31, respectivement, ou
- (iv) une région variable de chaîne lourde (VH) comprenant CDR1, CDR2, et CDR3 ayant les séquences telles que présentées dans les séquences SEQ ID NO: 26, 27, et 102, respectivement, et une région variable de chaîne légère (VL) comprenant CDR1, CDR2, et CDR3 ayant les séquences telles que présentées dans la séquence SEQ ID NO: 30, la séquence GTN, et la séquence telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 31, respectivement, ou
- (v) une région variable de chaîne lourde (VH) comprenant CDR1, CDR2, et CDR3 ayant les séquences telles que présentées dans les séquences SEQ ID NO: 26, 27, et 103, respectivement, et une région variable de chaîne légère (VL) comprenant CDR1, CDR2, et CDR3 ayant les séquences telles que présentées dans la séquence SEQ ID NO: 30, la séquence GTN, et la séquence telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 31, respectivement, ou
- (vi) une région variable de chaîne lourde (VH) comprenant CDR1, CDR2, et CDR3 ayant les séquences telles que présentées dans les séquences SEQ ID NO: 26, 27, et 104, respectivement, et une région variable de chaîne légère (VL) comprenant CDR1, CDR2, et CDR3 ayant les séquences telles que présentées dans la séquence SEQ ID NO: 30, la séquence GTN, et la séquence telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 31, respectivement, ou
- (vii) une région variable de chaîne lourde (VH) comprenant CDR1, CDR2, et CDR3 ayant les séquences telles que présentées dans les séquences SEQ ID NO: 26, 27, et 105, respectivement, et une région variable de chaîne légère (VL) comprenant CDR1, CDR2, et CDR3 ayant les séquences telles que présentées dans la séquence SEQ ID NO: 30, la séquence GTN, et la séquence telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 31, respectivement.

10. Anticorps bispécifique selon la revendication 8 ou 9, dans lequel la région de liaison à l'antigène capable de se lier à CD3e humain comprend :

- (i) une séquence de VH telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 39 et une séquence de VL telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 29, ou
- (ii) une séquence de VH telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 40 et une séquence de VL telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 29, ou
- (iii) une séquence de VH telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 41 et une séquence de VL telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 29, ou
- (iv) une séquence de VH telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 42 et une séquence de VL telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 29, ou
- (v) une séquence de VH telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 43 et une séquence de VL telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 29, ou
- (vi) une séquence de VH telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 44 et une séquence de VL telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 29, ou
- (vii) une séquence de VH telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 45 et une séquence de VL telle que présentée dans la séquence SEQ ID NO: 29.

11. Anticorps multispécifique comprenant une première région de liaison à l'antigène capable de se lier à PD-L1 humain et une deuxième région de liaison à l'antigène capable de se lier à un deuxième antigène ou à un différent épitope de PD-L1 humain, dans lequel ladite région de liaison à l'antigène capable de se lier à PD-L1 humain comprend une séquence de VH qui a un degré d'identité de séquence d'acides aminés de 100 % avec la séquence de VH présentée dans : SEQ ID NO: 18 et une séquence de VL qui a un degré d'identité de séquence d'acides aminés de 100 % avec la séquence de VL présentée dans : SEQ ID NO: 22.
12. Anticorps multispécifique selon la revendication 11, dans lequel l'anticorps est bispécifique.
13. Anticorps multispécifique selon la revendication 11 ou 12, dans lequel l'anticorps est capable de se lier à un deuxième antigène et ledit deuxième antigène n'est pas CD3e humain.
14. Anticorps selon l'une quelconque des revendications 1 et 3-13, dans lequel l'anticorps est un anticorps complet.
15. Anticorps selon la revendication 14, dans lequel l'anticorps est un anticorps IgG1 complet.
16. Anticorps selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel l'anticorps est un fragment d'anti corps.
17. Anticorps selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel l'anticorps comprend une première et une seconde chaîne lourde, dans lequel chacune des dites première et seconde chaînes lourdes comprend au moins une région charnière, une région CH2 et une région CH3, dans lequel dans ladite première chaîne lourde au moins un des acides aminés à une position correspondant à une position choisie dans l'ensemble constitué par T366, L368, K370, D399, F405, Y407, et K409 selon la numérotation UE a été remplacé, et dans ladite seconde chaîne lourde au moins un des acides aminés à une position correspondant à une position choisie dans l'ensemble constitué par T366, L368, K370, D399, F405, Y407, et K409 selon la numérotation UE a été remplacé, et dans lequel ladite première chaîne lourde et ladite seconde chaîne lourde ne sont pas substituées aux mêmes positions.
18. Anticorps selon la revendication 17, dans lequel (i) l'acide aminé à la position correspondant à F405 selon la numérotation UE est L dans ladite première chaîne lourde, et l'acide aminé à la position correspondant à K409 selon la numérotation UE est R dans ladite seconde chaîne lourde, ou (ii) l'acide aminé à la position correspondant à K409 selon la numérotation UE est R dans ladite première chaîne lourde, et l'acide aminé à la position correspondant à F405 selon la numérotation UE est L dans ladite seconde chaîne lourde
19. Anticorps selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel ledit anticorps comprend une première et une seconde chaîne lourde et dans lequel une ou les deux chaîne(s) lourde(s) est/sont modifiée(s) de sorte que l'anticorps induit à un moindre degré la fonction effectrice médiée par Fc par rapport à un anticorps qui est identique, hormis qu'il comprend des première et seconde chaînes lourdes non modifiées.
20. Anticorps selon la revendication 17, dans lequel ladite fonction effectrice médiée par Fc est mesurée par détermination de l'expression de CD69 médiée par Fc, par liaison à des récepteurs Fcγ, par liaison à C1q, ou par induction de liaison par pont de FcR médiée par Fc
21. Anticorps selon la revendication 17 ou 20, dans lequel les séquences constantes de chaînes légères et chaînes lourdes ont été modifiées de sorte que ledit anticorps réduit l'expression de CD69 médiée par Fc d'au moins 50 %, au moins 60 %, au moins 70 %, au moins 80 %, au moins 90 %, au moins 99 % ou 100 %, par comparaison avec un anticorps de type sauvage, ladite expression de CD69 médiée par Fc étant déterminée par un dosage fonctionnel à base de cellules mononuclées de sang périphérique.

22. Anticorps selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel ledit anticorps comprend une première et une seconde chaîne lourde, dans lequel dans au moins l'une desdites première et seconde chaînes lourdes un ou plusieurs acides aminés aux positions correspondant aux positions L234, L235, D265, N297, et P331 dans une chaîne lourde d'IgG1 humaine, selon la numérotation UE, ne sont pas L, L, D, N, et P, respectivement.

23. Anticorps selon la revendication 22, dans lequel les positions correspondant aux positions L234 et L235 dans une chaîne lourde d'IgG1 humaine selon la numérotation UE sont F et E, respectivement, dans lesdites première et seconde chaînes lourdes.

24. Anticorps selon la revendication 23, dans lequel l'anticorps est un anticorps bispécifique comprenant une première et une seconde chaîne lourde et dans lequel les positions correspondant aux positions L234 et L235 dans une chaîne lourde d'IgG1 humaine selon la numérotation UE de l'une et l'autre de la première chaîne lourde et la seconde chaîne lourde sont F et E, respectivement, et dans lequel (i) la position correspondant à F405 dans une chaîne lourde d'IgG1 humaine selon la numérotation UE de la première chaîne lourde est L, et la position correspondant à K409 dans une chaîne lourde d'IgG1 humaine selon la numérotation UE de la seconde chaîne lourde est R, ou (ii) la position correspondant à K409 dans une chaîne lourde d'IgG1 humaine selon la numérotation UE de la première chaîne lourde est R, et la position correspondant à F405 dans une chaîne lourde d'IgG1 humaine selon la numérotation UE de la seconde chaîne lourde est L.

25. Anticorps selon la revendication 22, dans lequel les positions correspondant aux positions L234, L235, et D265 dans une chaîne lourde d'IgG1 humaine selon la numérotation UE sont F, E, et A, respectivement, dans lesdites première et seconde chaînes lourdes.

26. Anticorps selon la revendication 25, dans lequel l'anticorps est un anticorps bispécifique comprenant une première et une seconde chaîne lourde et dans lequel les positions correspondant aux positions L234, L235, et D265 dans une chaîne lourde d'IgG1 humaine selon la numérotation UE de l'une et l'autre de la première chaîne lourde et la seconde chaîne lourde sont F, E, et A, respectivement, et dans lequel (i) la position correspondant à F405 dans une chaîne lourde d'IgG1 humaine selon la numérotation UE de la première chaîne lourde est L, et la position correspondant à K409 dans une chaîne lourde d'IgG1 humaine selon la numérotation UE de la seconde chaîne lourde est R, ou (ii) la position correspondant à K409 dans une chaîne lourde d'IgG1 humaine selon la numérotation UE de la première chaîne lourde est R, et la position correspondant à F405 dans une chaîne lourde d'IgG1 humaine selon la numérotation UE de la seconde chaîne lourde est L.

27. Construction d'acide nucléique comprenant :

(i) une séquence d'acide nucléique codant une séquence de chaîne lourde d'un anticorps comprenant une région de liaison à l'antigène capable de se lier à PD-L1 humain telle que définie dans la revendication 1, et

(ii) une séquence d'acide nucléique codant une séquence de chaîne légère d'un anticorps comprenant une région de liaison à l'antigène capable de se lier à PD-L1 humain telle que définie dans la revendication 1.

28. Construction d'acide nucléique selon la revendication 27, comprenant en outre

(i) une séquence d'acide nucléique codant une séquence de chaîne lourde d'un anticorps comprenant une région de liaison à l'antigène capable de se lier à CD3e humain telle que définie dans l'une quelconque des revendications 6 à 10, et

(ii) une séquence d'acide nucléique codant une séquence de chaîne légère d'un anticorps comprenant une région de liaison à l'antigène capable de se lier à CD3e humain telle que définie dans l'une quelconque des revendications 6 à 10.

29. Vecteur d'expression comprenant une construction d'acide nucléique telle que définie dans la revendication 27 ou 28.
30. Cellule hôte comprenant une construction d'acide nucléique telle que définie dans la revendication 27 ou 28 ou un vecteur d'expression tel que défini dans la revendication 29
31. Cellule hôte selon la revendication 30, ladite cellule hôte étant une cellule mammalienne, telle qu'une cellule d'ovaire de hamster d'Asie.
32. Composition pharmaceutique comprenant un anticorps selon l'une quelconque des revendications 1 à 26 et un véhicule pharmaceutiquement acceptable.
33. Anticorps selon l'une quelconque des revendications 1 à 26 ou composition pharmaceutique selon la revendication 32 destiné(e) à l'utilisation en tant que médicament.
34. Anticorps selon l'une quelconque des revendications 1 à 26 ou composition pharmaceutique selon la revendication 32 destiné(e) à l'utilisation dans le traitement d'un cancer.
35. Anticorps selon l'une quelconque des revendications 1 à 26 ou composition pharmaceutique selon la revendication 32 destiné(e) à l'utilisation dans le traitement d'une maladie cancéreuse caractérisée par la présence de tumeurs solides.
36. Anticorps selon l'une quelconque des revendications 1 à 26 ou composition pharmaceutique selon la revendication 32 destiné(e) à l'utilisation dans le traitement d'une maladie cancéreuse choisie dans l'ensemble constitué par : mélanome, cancer de l'ovaire, cancer du poumon, cancer du côlon et cancer de la tête et du cou.
37. Anticorps ou composition pharmaceutique destiné(e) à l'utilisation selon l'une quelconque des revendications 33 à 36, l'utilisation comprenant l'association avec un ou plusieurs agent(s) thérapeutique(s) supplémentaire(s) tel(s) qu'un agent chimiothérapeutique.
38. Procédé pour produire un anticorps selon l'une quelconque des revendications 4 à 10 ou 12 à 26, comprenant les étapes consistant à :
- a) cultiver une cellule hôte produisant un premier anticorps comprenant une région de liaison à l'antigène capable de se lier à PD-L1 humain telle que définie dans la revendication 1 et purifier ledit premier anticorps à partir de la culture ;
 - b) cultiver une cellule hôte produisant un second anticorps comprenant une région de liaison à l'antigène capable de se lier à un différent épitope de PD-L1 ou à un antigène différent, par exemple une région de liaison à CD3e humain telle que définie dans l'une quelconque des revendications 6 à 10, et purifier ledit second anticorps à partir de la culture ;
 - c) mettre ledit premier anticorps à incuber conjointement avec ledit second anticorps dans des conditions réductrices suffisantes pour permettre aux cystéines dans la région charnière de subir une isomérisation de ponts disulfure, et
 - d) obtenir ledit anticorps bispécifique.