



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 116249519 A

(43) 申请公布日 2023. 06. 09

(21) 申请号 202180053199.2

(22) 申请日 2021.08.27

(30) 优先权数据

63/072,113 2020.08.29 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.02.27

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2021/073816 2021.08.27

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/043538 EN 2022.03.03

(71) 申请人 阿根思有限公司

地址 比利时根特兹维纳尔德

申请人 科罗拉多大学董事会

(72) 发明人 乔纳斯·德哈德

安娜·胡尔特贝里

朱利耶·雅各布斯

彼得·扎布罗基 克莱顿·史密斯

克雷格·乔丹

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司

11227

专利代理师 张福誉 韩晓帆

(51) Int.Cl.

A61K 31/00 (2006.01)

权利要求书5页 说明书40页

序列表3页 附图8页

(54) 发明名称

治疗对BCL-2抑制剂具有降低的敏感性的患者的方法

(57) 摘要

提供了与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其用于在对BCL-2抑制剂治疗有抗性的人对象中治疗髓性恶性肿瘤,以及在对象中治疗髓性恶性肿瘤的方法,所述方法包括(a)选择患有髓性恶性肿瘤的对BCL-2抑制剂具有降低的敏感性或具有难治性的人对象;以及(b)向该对象施用与CD70结合的抗体或其抗原结合片段。在某些实施方案中,髓性恶性肿瘤为急性髓性白血病(AML)。在某些实施方案中,与CD70结合的抗体为库萨图珠单抗。在某些实施方案中,将BCL-2抑制剂与结合CD70的抗体或其抗原结合片段共施用。在某些实施方案中,BCL-2抑制剂为维奈托克。

1. 与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其用于在对BCL-2抑制剂治疗有抗性的人对象中治疗髓性恶性肿瘤。

2. 根据权利要求1所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述BCL-2抑制剂为维奈托克或其可药用盐。

3. 根据权利要求1或2所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述髓性恶性肿瘤选自:急性髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)、骨髓增殖性肿瘤(MPN)、慢性髓性白血病(CML)和慢性粒-单核细胞白血病(CMML)。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述髓性恶性肿瘤为AML。

5. 根据权利要求4所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述AML为单核细胞AML。

6. 根据权利要求1至3中任一项所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述髓性恶性肿瘤为MDS。

7. 根据权利要求5所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中基于不同的表达水平,将所述人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。

8. 根据权利要求7所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中在所述治疗之前进行包括以下步骤的选择:

(i) 测量所述人对象的髓样分化状态,以及

(ii) 确定所述人对象是否患有分化的单核细胞AML,以及

其中将治疗有效剂量的抗CD70抗体或其抗CD70结合片段施用于所述患有分化的单核细胞AML的人对象。

9. 根据权利要求6或权利要求7所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中基于所述人对象的恶性骨髓细胞中选自以下的至少一种标志物的差异表达水平,将所述人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML:BCL-2、CD117、CD11b、CD68、CD64、BCL2A1和MCL1。

10. 根据权利要求9所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中BCL-2和CD117中的至少一者的表达水平下调,以及CD11b、CD68、CD64、CD70、BCL2A1和MCL1中的至少一者的表达水平上调。

11. 根据权利要求5至10中任一项所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中测量所述人对象的恶性骨髓细胞的CD70表达水平。

12. 根据权利要求11所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中与BCL-2抑制剂治疗之前或期间测量的CD70表达水平相比,CD70上调。

13. 根据权利要求1至12中任一项所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述人对象具有包括以下的临床历史:

(a) 用BCL-2抑制剂进行治疗;以及

(b) 没有响应于用所述BCL-2抑制剂进行的治疗而缓解。

14. 根据权利要求13所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中用所述BCL-2抑制剂进行的历史治疗还包括用低甲基化剂(HMA)进行的治疗。

15. 根据权利要求1至12中任一项所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述人对象具有包括以下的临床历史:

- (a) 用BCL-2抑制剂进行治疗；
- (b) 部分或完全缓解；以及
- (c) 部分或完全复发。

16. 根据权利要求15所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段，其中用所述BCL-2抑制剂进行的历史治疗还包括用低甲基化剂(HMA)进行治疗。

17. 根据权利要求1至16中任一项所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段，其中将低甲基化剂(HMA)与所述与CD70结合的抗体或其抗原结合片段共施用。

18. 根据权利要求1至17中任一项所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段，其中将BCL-2抑制剂与所述与CD70结合的抗体或其抗原结合片段共施用。

19. 根据权利要求1至18中任一项所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段，其中所述与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3，其中

- HCDR1的氨基酸序列由SEQ ID NO:1组成；
- HCDR2的氨基酸序列由SEQ ID NO:2组成；
- HCDR3的氨基酸序列由SEQ ID NO:3组成；
- LCDR1的氨基酸序列由SEQ ID NO:4组成；
- LCDR2的氨基酸序列由SEQ ID NO:5组成；以及
- LCDR3的氨基酸序列由SEQ ID NO:6组成。

20. 根据权利要求1至19中任一项所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段，其中所述与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含可变重链结构域(VH)和可变轻链结构域(VL)，所述可变重链结构域(VH)包含与SEQ ID NO:7具有至少90%同一性的氨基酸序列，所述可变轻链结构域(VL)包含与SEQ ID NO:8具有至少90%同一性的氨基酸序列。

21. 根据权利要求20所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段，其中所述与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含可变重链结构域(VH)和可变轻链结构域(VL)，所述可变重链结构域(VH)包含与SEQ ID NO:7相同的氨基酸序列，所述可变轻链结构域(VL)包含与SEQ ID NO:8相同的氨基酸序列。

22. 根据权利要求20所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段，其中与由SEQ ID NO:7组成的VH具有至少90%同一性的氨基酸序列包含HCDR1、HCDR2和HCDR3，其中

- HCDR1的氨基酸序列由SEQ ID NO:1组成；
- HCDR2的氨基酸序列由SEQ ID NO:2组成；以及
- HCDR3的氨基酸序列由SEQ ID NO:3组成；以及

其中与由SEQ ID NO:8组成的VL具有至少90%同一性的氨基酸序列包含LCDR1、LCDR2和LCDR3，其中

- LCDR1的氨基酸序列由SEQ ID NO:4组成；
- LCDR2的氨基酸序列由SEQ ID NO:5组成；以及
- LCDR3的氨基酸序列由SEQ ID NO:6组成。

23. 根据权利要求16至22中任一项所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段，其中所述HMA选自阿扎胞苷、地西他滨和瓜德希他滨。

24. 根据权利要求18至23中任一项所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段，

其中所述BCL-2抑制剂为维奈托克或其可药用盐。

25. 根据权利要求1至24中任一项所述应用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中所述与CD70结合的抗体为库萨图珠单抗。

26. 在人对象中治疗髓性恶性肿瘤的方法,所述方法包括以下步骤:

(a) 选择患有髓性恶性肿瘤的对BCL-2抑制剂具有降低的敏感性或具有难治性的人对象;以及

(b) 向所述人对象施用与CD70结合的抗体或其抗原结合片段。

27. 根据权利要求26所述的方法,其中所述BCL-2抑制剂为维奈托克或其可药用盐。

28. 根据权利要求26或27所述的方法,其中所述髓性恶性肿瘤选自:急性髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)、骨髓增殖性肿瘤(MPN)、慢性髓性白血病(CML)和慢性粒-单核细胞白血病(CMML)。

29. 根据权利要求26至28中任一项所述的方法,其中所述髓性恶性肿瘤为AML。

30. 根据权利要求29所述的方法,其中所述AML为单核细胞AML。

31. 根据权利要求26至28中任一项所述的方法,其中所述髓性恶性肿瘤为MDS。

32. 根据权利要求26至31中任一项所述的方法,其中步骤(a)包括确定所述人对象的恶性骨髓细胞中选自以下的至少一种标志物的表达水平:BCL-2、CD117、CD11b、CD68、CD64、BCL2A1和MCL1。

33. 根据权利要求32所述的方法,其中BCL-2和CD117中的至少一者下调,以及CD11b、CD68、CD64、CD70、BCL2A1和MCL1中的至少一者上调。

34. 根据权利要求26至33中任一项所述的方法,其中步骤(a)包括确定所述人对象的恶性骨髓细胞的CD70表达水平。

35. 根据权利要求34所述的方法,其中与BCL-2抑制剂治疗之前或期间测量的CD70表达水平相比,CD70上调。

36. 根据权利要求26至35中任一项所述的方法,其中所述人对象具有包括以下的临床历史:

(a) 用BCL-2抑制剂进行治疗;以及

(b) 没有响应于用所述BCL-2抑制剂进行的治疗而缓解。

37. 根据权利要求36所述的方法,其中用所述BCL-2抑制剂进行的历史治疗还包括用低甲基化剂(HMA)进行的治疗。

38. 根据权利要求26至35中任一项所述的方法,其中所述人对象具有包括以下的临床历史:

(a) 用BCL-2抑制剂进行治疗;

(b) 部分或完全缓解;以及

(c) 部分或完全复发。

39. 根据权利要求38所述的方法,其中用所述BCL-2抑制剂进行的历史治疗还包括用低甲基化剂(HMA)进行的治疗。

40. 根据权利要求26至39中任一项所述的方法,其中将低甲基化剂(HMA)与所述与CD70结合的抗体或其抗原结合片段共施用。

41. 根据权利要求26至40中任一项所述的方法,其中将BCL-2抑制剂与所述与CD70结合

的抗体或其抗原结合片段共施用。

42. 根据权利要求26至41中任一项所述的方法,其中所述与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中

HCDR1的氨基酸序列由SEQ ID NO:1组成;

HCDR2的氨基酸序列由SEQ ID NO:2组成;

HCDR3的氨基酸序列由SEQ ID NO:3组成;

LCDR1的氨基酸序列由SEQ ID NO:4组成;

LCDR2的氨基酸序列由SEQ ID NO:5组成;以及

LCDR3的氨基酸序列由SEQ ID NO:6组成。

43. 权利要求26至42中任一项所述的方法,其中所述与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含可变重链结构域(VH)和可变轻链结构域(VL),所述可变重链结构域(VH)包含与SEQ ID NO:7具有至少90%同一性的氨基酸序列,所述可变轻链结构域(VL)包含与SEQ ID NO:8具有至少90%同一性的氨基酸序列。

44. 根据权利要求43所述的方法,其中所述与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含可变重链结构域(VH)和可变轻链结构域(VL),所述可变重链结构域(VH)包含与SEQ ID NO:7相同的氨基酸序列,所述可变轻链结构域(VL)包含与SEQ ID NO:8相同的氨基酸序列。

45. 根据权利要求43所述的方法,其中与由SEQ ID NO:7组成的VH具有至少90%同一性的氨基酸序列包含HCDR1、HCDR2和HCDR3,其中

HCDR1的氨基酸序列由SEQ ID NO:1组成;

HCDR2的氨基酸序列由SEQ ID NO:2组成;以及

HCDR3的氨基酸序列由SEQ ID NO:3组成;以及

其中与由SEQ ID NO:8组成的VL具有至少90%同一性的氨基酸序列包含LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中

LCDR1的氨基酸序列由SEQ ID NO:4组成;

LCDR2的氨基酸序列由SEQ ID NO:5组成;以及

LCDR3的氨基酸序列由SEQ ID NO:6组成。

46. 根据权利要求39至45中任一项所述的方法,其中所述HMA选自阿扎胞苷、地西他滨和瓜德希他滨。

47. 根据权利要求41至46中任一项所述的方法,其中所述BCL-2抑制剂为维奈托克或其可药用盐。

48. 根据权利要求26至47中任一项所述的方法,其中所述与CD70结合的抗体为库萨图珠单抗。

49. 鉴定和治疗将用抗CD70抗体或其抗原结合片段治疗的患者的方法,其中所述患者患有髓性恶性肿瘤,所述方法包括以下步骤:

(i) 测量所述患者的髓样分化状态;

(ii) 确定所述患者是否患有分化的单核细胞AML,其中将患有分化的单核细胞AML的患者鉴定为将用所述抗CD70抗体或其CD70结合片段治疗的患者;以及

(iii) 向被鉴定为将用所述抗CD70抗体或其CD70结合片段治疗的患者的所述患者施用所述抗CD70抗体或其CD70结合片段。

50. 根据权利要求49所述的方法, 其中所述患者的骨髓样品包含 $CD45^{\text{亮}}/SSC^{\text{高}}/CD38^{+}/CD34^{-}/CD33^{+}/CD11b^{+}/CD70^{+}$ 表型细胞或 $CD45^{\text{亮}}/SSC^{\text{高}}/CD34^{-}/CD117^{-}/CD11b^{+}/CD68^{+}/CD14^{+}/CD64^{+}$ 表型细胞。

治疗对BCL-2抑制剂具有降低的敏感性的患者的方法

[0001] 序列表

[0002] 本申请包含已经以ASCII格式电子提交并且在此通过引用整体并入的序列表。

技术领域

[0003] 本发明涉及用于治疗癌症,特别是复发性或难治性髓性恶性肿瘤的疗法,包括组合疗法。该疗法特别适用于治疗急性髓性白血病(acute myeloid leukemia,AML),包括单核细胞AML。组合疗法包括与CD70结合的抗体或其抗原结合片段和BCL-2抑制剂,例如维奈托克或其可药用盐。

背景技术

[0004] 近年来,新的癌症治疗的开发致力于涉及癌症进展的分子靶标,特别是蛋白质。涉及肿瘤生长、侵袭和转移的分子靶标的列表在继续扩大,并且包含由肿瘤细胞过表达的蛋白质以及与支持肿瘤生长的系统(例如脉管系统和免疫系统)相关的靶标。被设计为与这些分子靶标相互作用的治疗剂或抗癌剂的数目也继续增多。现在,大量靶向癌症药物已被批准用于临床应用,并且还有更多的药物正在开发中。

[0005] 由于CD70在许多类型的血液系统恶性肿瘤和实体癌上的组成型表达,因此其已被鉴定为特别感兴趣的分子靶标。Junker et al. (2005) J Urol.173:2150-3; Sloan et al. (2004) Am J Pathol.164:315-23; Held-Feindt and Mentlein (2002) Int J Cancer 98:352-6; Hishima et al. (2000) Am J Surg Pathol.24:742-6; Lens et al. (1999) Br J Haematol.106:491-503; Boursalian et al. (2009) Adv Exp Med Biol.647:108-119; Wajant H. (2016) Expert Opin Ther Targets 20(8):959-973。CD70是属于肿瘤坏死因子(tumour necrosis factor, TNF)超家族的II型跨膜糖蛋白,其通过与其同源细胞表面受体CD27结合来介导其作用。CD70和CD27二者均由免疫系统的多种细胞类型表达,并且CD70-CD27信号传导途径已涉及免疫应答的数个不同方面的调节。这反映在以下事实中:CD70过表达发生在多种自身免疫病中,包括类风湿关节炎和银屑病关节炎和狼疮。Boursalian et al. (2009) Adv Exp Med Biol.647:108-119; Han et al. (2005) Lupus 14(8):598-606; Lee et al. (2007) J Immunol.179(4):2609-2615; Oelke et al. (2004) Arthritis Rheum.50(6):1850-1860。

[0006] CD70的表达与包括B细胞淋巴瘤、肾细胞癌和乳腺癌在内的数种癌症的不良预后相关。Bertrand et al. (2013) Genes Chromosomes Cancer 52(8):764-774; Jilaveanu et al. (2012) Hum Pathol.43(9):1394-1399; Petrau et al. (2014) J Cancer 5(9):761-764。在高百分比的病例中,在转移组织上也已发现CD70表达,表明该分子在癌症进展中的关键作用。Jacobs et al. (2015) Oncotarget 6(15):13462-13475。CD70及其受体CD27在造血系统谱系的肿瘤细胞上的组成型表达与CD70-CD27信号传导轴在直接调节肿瘤细胞的增殖和存活中的作用相关。Goto et al. (2012) Leuk Lymphoma 53(8):1494-1500; Lens et al. (1999) Br J Haematol.106(2):491-503; Nilsson et al. (2005) Exp Hematol.33(12):

1500-1507;van Doorn et al (2004)Cancer Res.64(16):5578-5586。

[0007] 在未共表达CD27的肿瘤(特别是实体瘤)上的上调的CD70表达也以多种方式促进肿瘤微环境中的免疫抑制。例如,已示出在小鼠中,在调节性T细胞(Treg)上与CD27结合的CD70提高Treg的频率,降低肿瘤特异性T细胞应答并促进肿瘤生长。Claus et al. (2012)Cancer Res.72(14):3664-3676。如在肾细胞癌、胶质瘤和胶质母细胞瘤细胞中所示出的,CD70-CD27信号传导还可通过肿瘤诱导的T淋巴细胞的凋亡来抑制免疫应答。Chahlavi et al. (2005)Cancer Res.65(12):5428-5438;Diegmann et al. (2006)Neoplasia 8(11):933-938;Wischusen et al. (2002)Cancer Res 62(9):2592-2599。最后,CD70的表达也与T细胞衰竭(T cell exhaustion)相关,从而使淋巴细胞采取更分化的表型并且无法杀伤肿瘤细胞。Wang et al. (2012)Cancer Res 72(23):6119-6129;Yang et al. (2014)Leukemia 28(9):1872-1884。

[0008] BCL-2(B细胞淋巴瘤2)是整合的外线粒体膜蛋白,其阻断一些细胞例如淋巴细胞的凋亡死亡。BCL-2在癌细胞中的过表达赋予针对凋亡的抗性,并因此对该蛋白质的抑制可促进肿瘤细胞死亡。最近临床试验报道,将高度特异性BCL-2抑制剂维奈托克添加到急性髓性白血病(AML)的当前标准护理疗法(例如低甲基化剂(hypomethylating agent,HMA))中可大大提高新诊断患有AML的被强化诱导化学治疗排除在外的患者(75岁或更年长或患有合并症)的响应率和总存活(Dinardo(2020),New England Journal of Medicine)。这些发现使得FDA最近批准了将该方案用于该群体,并且现在其被认为是护理的标准。

[0009] 维奈托克和HMA阿扎胞苷的组合在AML中引起约70%的缓解率。然而,相当一部分患者未实现缓解并且具有难治性。此外,大多数实现缓解的患者最终复发。

[0010] 因此,仍然需要治疗癌症的改进疗法,包括表达CD70的癌症,例如髓性恶性肿瘤。

发明内容

[0011] 在第一方面,本发明提供了抗CD70抗体或其CD70结合片段,其用于在对BCL-2抑制剂治疗有抗性的人对象中治疗髓性恶性肿瘤。

[0012] 本发明的另一方面是在人对象中治疗髓性恶性肿瘤的方法。所述方法包括以下步骤:

[0013] (a) 选择患有髓性恶性肿瘤的对BCL-2抑制剂具有降低的敏感性或具有难治性的人对象;以及

[0014] (b) 向人对象施用与CD70结合的抗体或其抗原结合片段。

[0015] 在某些实施方案中,BCL-2抑制剂为维奈托克或其可药用盐。

[0016] 在某些实施方案中,髓性恶性肿瘤选自:急性髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes,MDS)、骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasms,MPN)、慢性髓性白血病(chronic myeloid leukemia,CML)和粒-单核细胞白血病(myelomonocytic leukemia,CMML)。

[0017] 在某些实施方案中,髓性恶性肿瘤为AML。

[0018] 在某些实施方案中,AML为单核细胞AML。

[0019] 在某些实施方案中,髓性恶性肿瘤为MDS。

[0020] 在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞中选自以下的至少

一种标志物的表达水平:BCL-2、CD117、CD11b、CD68、CD64、BCL2A1和MCL1。

[0021] 在某些实施方案中,BCL-2和CD117中的至少一者下调,以及CD11b、CD68、CD64、CD70、BCL2A1和MCL1中的至少一者上调。

[0022] 在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD70表达水平。

[0023] 在某些实施方案中,与BCL-2抑制剂治疗之前或期间测量的CD70表达水平相比,CD70上调。

[0024] 在某些实施方案中,人对象具有包括以下的临床历史:

[0025] (a) 用BCL-2抑制剂进行治疗;以及

[0026] (b) 没有响应于用BCL-2抑制剂进行的治疗而缓解。

[0027] 在某些实施方案中,用BCL-2抑制剂进行的历史治疗还包括用低甲基化剂(HMA)进行治疗。

[0028] 在某些实施方案中,人对象具有包括以下的临床历史:

[0029] (a) 用BCL-2抑制剂进行治疗;

[0030] (b) 部分或完全缓解;以及

[0031] (c) 部分或完全复发。

[0032] 在某些实施方案中,用BCL-2抑制剂进行的历史治疗还包括用低甲基化剂(HMA)进行治疗。

[0033] 在某些实施方案中,将低甲基化剂(HMA)和与CD70结合的抗体或其抗原结合片段共施用。

[0034] 在某些实施方案中,将BCL-2抑制剂和与CD70结合的抗体或其抗原结合片段共施用。

[0035] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中

[0036] HCDR1的氨基酸序列由SEQ ID NO:1组成;

[0037] HCDR2的氨基酸序列由SEQ ID NO:2组成;

[0038] HCDR3的氨基酸序列由SEQ ID NO:3组成;

[0039] LCDR1的氨基酸序列由SEQ ID NO:4组成;

[0040] LCDR2的氨基酸序列由SEQ ID NO:5组成;以及

[0041] LCDR3的氨基酸序列由SEQ ID NO:6组成。

[0042] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含可变重链结构域(VH)和可变轻链结构域(VL),所述可变重链结构域(VH)包含与SEQ ID NO:7具有至少90%同一性的氨基酸序列,所述可变轻链结构域(VL)包含与SEQ ID NO:8具有至少90%同一性的氨基酸序列。

[0043] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含可变重链结构域(VH)和可变轻链结构域(VL),所述可变重链结构域(VH)包含与SEQ ID NO:7相同的氨基酸序列,所述可变轻链结构域(VL)包含与SEQ ID NO:8相同的氨基酸序列。

[0044] 在某些实施方案中,与由SEQ ID NO:7组成的VH具有至少90%同一性的氨基酸序列包含HCDR1、HCDR2和HCDR3,其中

[0045] HCDR1的氨基酸序列由SEQ ID NO:1组成;

- [0046] HCDR2的氨基酸序列由SEQ ID NO:2组成;以及
- [0047] HCDR3的氨基酸序列由SEQ ID NO:3组成;以及
- [0048] 其中与由SEQ ID NO:8组成的VL具有至少90%同一性的氨基酸序列包含LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中
- [0049] LCDR1的氨基酸序列由SEQ ID NO:4组成;
- [0050] LCDR2的氨基酸序列由SEQ ID NO:5组成;以及
- [0051] LCDR3的氨基酸序列由SEQ ID NO:6组成。
- [0052] 在某些实施方案中,HMA选自阿扎胞苷、地西他滨和瓜德希他滨(guadecitabine)。
- [0053] 在某些实施方案中,BCL-2抑制剂为维奈托克或其可药用盐。
- [0054] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体为库萨图珠单抗。
- [0055] 本发明的一个方面是鉴定和治疗将用抗CD70抗体或其抗原结合片段治疗的患者的方法,其中患者患有髓性恶性肿瘤,所述方法包括以下步骤:
- [0056] (i) 测量患者的髓样分化状态;
- [0057] (ii) 确定患者是否患有分化的单核细胞AML,其中将患有分化的单核细胞AML的患者鉴定为将用抗CD70抗体或其CD70结合片段治疗的患者;以及
- [0058] (iii) 向被鉴定为将用抗CD70抗体或其CD70结合片段治疗的患者的患者施用抗CD70抗体或其CD70结合片段。
- [0059] 本发明的一个方面是抗CD70抗体或其CD70结合片段,其用于在对BCL-2抑制剂治疗有抗性的患者中治疗髓性恶性肿瘤。
- [0060] 本发明的另一个方面是与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其用于在对BCL-2抑制剂治疗有抗性的患者中治疗髓性恶性肿瘤。
- [0061] 在某些实施方案中,患者已接受过用BCL-2抑制剂或用BCL-2抑制剂加去甲基化剂(HMA)进行的先前治疗。
- [0062] 在某些实施方案中,髓性恶性肿瘤选自:急性髓性白血病(AML);骨髓增生异常综合征(MDS);骨髓增殖性肿瘤(MPN);慢性髓性白血病(CML);和粒-单核细胞白血病(CMML)。
- [0063] 在某些实施方案中,髓性恶性肿瘤为AML或MDS。
- [0064] 在某些实施方案中,基于不同的表达水平,将患者鉴定为患有分化的单核细胞AML。
- [0065] 在某些实施方案中,在治疗之前进行包括以下步骤的选择:
- [0066] (i) 测量患者的髓样分化状态,以及
- [0067] (ii) 确定患者是否患有分化的单核细胞AML,以及
- [0068] 其中将治疗有效剂量的抗CD70抗体或其抗CD70结合片段施用于所述患有分化的单核细胞AML的患者。
- [0069] 在某些实施方案中,基于选自以下中的至少一种单核细胞标志物的差异表达水平,将患者鉴定为患有分化的单核细胞AML:BCL-2、CD117、CD11b、CD68、CD64、BCL2A1和MCL1。
- [0070] 在某些实施方案中,患者表现出BCL-2和CD117中的至少一者的表达下调,以及CD11b、CD68、CD64、BCL2A1和MCL1中的至少一者的表达上调。
- [0071] 在某些实施方案中,人对象具有包括以下的临床历史:

- [0072] (a) 用BCL-2抑制剂进行治疗;以及
- [0073] (b) 没有响应于用BCL-2抑制剂进行的治疗而缓解。
- [0074] 在某些实施方案中,用BCL-2抑制剂进行的历史治疗还包括用低甲基化剂(HMA)进行的治疗。
- [0075] 在某些实施方案中,人对象具有包括以下的临床历史:
- [0076] (a) 用BCL-2抑制剂进行治疗;
- [0077] (b) 部分或完全缓解;以及
- [0078] (c) 部分或完全复发。
- [0079] 在某些实施方案中,用BCL-2抑制剂进行的历史治疗还包括用低甲基化剂(HMA)进行的治疗。
- [0080] 在某些实施方案中,将低甲基化剂(HMA)和与CD70结合的抗体或其抗原结合片段共施用。
- [0081] 在某些实施方案中,将BCL-2抑制剂和与CD70结合的抗体或其抗原结合片段共施用。
- [0082] 在某些实施方案中,将BCL-2抑制剂和低甲基化剂(HMA)和与CD70结合的抗体或其抗原结合片段共施用。
- [0083] 在某些实施方案中,测量患者中的CD70表达水平。
- [0084] 在某些实施方案中,与BCL-2抑制剂治疗之前或期间测量的CD70表达水平相比,CD70上调。
- [0085] 在某些实施方案中,BCL-2抑制剂抗性患者是对BCL-2抑制剂具有复发性或难治性的患者。
- [0086] 在某些实施方案中,BCL-2抑制剂为维奈托克或其可药用盐。
- [0087] 在某些实施方案中,去甲基化剂(HMA)为阿扎胞苷、地西他滨和瓜德希他滨。
- [0088] 在某些实施方案中,患者对用BCL-2抑制剂加HMA的组合治疗有抗性。
- [0089] 在某些实施方案中,患者对维奈托克加阿扎胞苷组合治疗有抗性。
- [0090] 在某些实施方案中,抗CD70抗体或其CD70结合片段包含可变重链结构域(VH)和可变轻链结构域(VL),其中VH和VL结构域包含以下CDR序列:
- [0091] 由SEQ ID NO:1组成的HCDR1;
- [0092] 由SEQ ID NO:2组成的HCDR2;
- [0093] 由SEQ ID NO:3组成的HCDR3;
- [0094] 由SEQ ID NO:4组成的LCDR1;
- [0095] 由SEQ ID NO:5组成的LCDR2;以及
- [0096] 由SEQ ID NO:6组成的LCDR3。
- [0097] 在某些实施方案中,抗CD70抗体或其抗CD70结合片段包含可变重链结构域(VH)和可变轻链结构域(VL),所述可变重链结构域(VH)由SEQ ID NO:7组成或与其具有至少90%同一性,所述可变轻链结构域(VL)由SEQ ID NO:8组成或与其具有至少90%同一性。
- [0098] 在某些实施方案中,与由SEQ ID NO:7组成的VH具有至少90%同一性的氨基酸序列中的氨基酸差异不在VH的CDR序列中;以及由SEQ ID NO:8组成的VL具有至少90%同一性的氨基酸序列中的氨基酸差异不在VL的CDR序列中。

- [0099] 在某些实施方案中,抗CD70抗体为库萨图珠单抗。
- [0100] 在某些实施方案中,将去甲基化剂(HMA)与抗CD70抗体或其抗CD70结合片段共施用。
- [0101] 在某些实施方案中,将BCL-2抑制剂与抗CD70抗体或其CD70结合片段共施用。
- [0102] 本发明的一个方面是对将用抗CD70抗体或其抗原结合片段治疗的患者进行鉴定的方法,其中患者患有髓性恶性肿瘤并且根据包括以下步骤的方法进行选择:
- [0103] (i) 测量患者的髓样分化状态,以及
- [0104] (ii) 确定患者是否患有分化的单核细胞AML,
- [0105] 其中患有分化的单核细胞AML的患者被鉴定为将用抗CD70抗体或其CD70结合片段治疗的患者。
- [0106] 在某些实施方案中,步骤(i)和(ii)在获自患有髓性恶性肿瘤的患者的样品中进行。
- [0107] 在某些实施方案中,患者的骨髓样品包含CD45^亮/SSC^高/CD38⁺/CD34⁻/CD33⁺/CD11b⁺/CD70⁺表型细胞或CD45^亮/SSC^高/CD34⁻/CD117⁻/CD11b⁺/CD68⁺/CD14⁺/CD64⁺表型细胞。

附图说明

- [0108] 图1A描述了患者Pt-51的治疗史和诊断时骨髓(bone marrow, BM)试样的流式分析。在CD45/SSC图中, Mono、Prim和Lym门分别表示单核细胞、原始细胞和淋巴细胞亚群。CD34/CD117和CD68/CD11b图示出了设门原始细胞亚群的免疫表型。箭头突出显示了目标群体。图1改编自Pei et al. 2020。
- [0109] 图1B描述了患者Pt-72的治疗史和诊断时骨髓(BM)试样的流式分析。在CD45/SSC图中, Mono、Prim和Lym门分别表示单核细胞、原始细胞和淋巴细胞亚群。CD34/CD117和CD68/CD11b图示出了设门单核细胞亚群的免疫表型。箭头突出显示了目标群体。图1改编自Pei et al. 2020。
- [0110] 图1C描绘了示出CD117、CD11b、CD68和CD64在mano-AML (N=5) 和prim-AML (N=7) 中的通过流式细胞术分析量化的中值荧光强度(median fluorescence intensity, MFI)的小提琴图。每个点代表独特的AML。使用Mann-Whitney检验来确定显著性。图1改编自Pei et al. 2020。
- [0111] 图1D描绘了单独用VEN或用VEN与固定剂量的1.5 μ mol/L AZA组合进行24小时体外处理之后, mano-AML (N=5) 和prim-AML (N=7) 中的分选的ROS低的LSC的生存力。一式三份技术重复的平均值 $\pm$ SD。所有生存力数据均相对于未经处理的(UNT)对照归一化。VEN, 维奈托克。AZA, 阿扎胞苷。图1改编自Pei et al. (2020)。
- [0112] 图2A是示出BCL2在ROS低的prim-AML (N=7) 和ROS低的mono-AML (N=5) 中的表达的条形图。每个点代表独特的AML。平均值 $\pm$ SD。图2改编自Pei et al. (2020)。
- [0113] 图2B是示出BCL2在来自TCGA(The Cancer Genome Atlas, 癌症基因组图谱)数据集的AML的FAB-M0 (N=16)、M1 (N=44)、M2 (N=40)、M0/1/2 (N=100) 和M5 (N=21) 亚类中的表达的条形图。每个点代表独特的AML。图2改编自Pei et al. (2020)。
- [0114] 图2C是示出BCL-2在prim-AML (N=5) 和mono-AML (N=4) 中的蛋白质水平表达的Western印迹结果图。肌动蛋白被用作上样对照。图2改编自Pei et al. (2020)。

[0115] 图3A描绘了患者Pt-12的治疗史及其诊断(Dx)和复发(R1)试样的流式分析。在CD45/SSC图中, Mono、Prim和Lym门分别表示单核细胞、原始细胞和淋巴细胞群体。CD34/CD117和CD68/CD11b图示出了设门原始细胞亚群(P-AML)和单核细胞亚群(M-AML)的免疫表型。在CD45/SSC图中, 箭头突出显示了目标群体, 特别是单核细胞亚群。图3改编自Pei et al. (2020)。

[0116] 图3B描绘了患者Pt-65的治疗史及其诊断(Dx)和复发(R1)试样的流式分析。在CD45/SSC图中, Mono、Prim和Lym门分别表示单核细胞、原始细胞和淋巴细胞群体。CD34/CD117和CD68/CD11b图示出了设门原始细胞亚群(P-AML)和单核细胞亚群(M-AML)的免疫表型。在CD45/SSC图中, 箭头突出显示了目标群体, 特别是单核细胞亚群。图3改编自Pei et al. (2020)。

[0117] 图4是示出CD70在AML的FAB-M0 (N=13)、M1 (N=39)、M2 (N=37)、M3 (N=14)、M4 (N=32)和M5 (N=18)亚类中的mRNA表达水平的条形图。具有最高CD70表达的患者属于M5亚型, 其在骨髓中含有超过80%的单核细胞AML细胞。

[0118] 图5是来自VEN+AZA难治性单核细胞病(A)以及含有单核AML细胞和原始AML细胞混合表型的VEN+AZA难治性病(B)的骨髓样品的流式细胞术分析。CD34、CD11b、CD14和CD64对单核细胞的设门显示出相对于单核AML细胞的CD70表达水平相对于原始细胞更高(A和B)。原始细胞也显示出CD70表达(B)。

[0119] 图6A描绘了CD70在原始AML细胞和单核AML细胞上的中值荧光强度(MFI)在条形图中的比较(左), 以及每个样品的配对表达分析, 其示出了存在于同一患者样品中的单核AML细胞上的CD70表达水平高于原始AML细胞上的CD70表达水平(右)。

[0120] 图6B描绘了CD70呈阳性的原始AML细胞和单核AML细胞的百分比在条形图中的比较(左), 以及每个样品中CD70呈阳性的恶性细胞的配对分析, 其示出了单核AML细胞群体中表达CD70的细胞的百分比更高(右)。单核恶性AML细胞上的CD70表达水平高于原始AML细胞上的CD70表达水平。

[0121] 图7A是用于评估库萨图珠单抗的NK依赖性杀伤的混合表型和单核细胞AML样品的流式细胞术分析。在两个样品中, 单核细胞CD38+/CD33+/CD11b+亚群在质膜上表达高水平的CD70。

[0122] 图7B是示出施用库萨图珠单抗、41D12 FcDead抗体和载体对照之后对单核AML细胞和原始AML细胞的影响的条形图。库萨图珠单抗能够显著介导具有单核AML细胞和原始AML细胞的VEN+AZA敏感性混合表型AML的NK依赖性细胞杀伤。使用单因素ANOVA检验来确定显著性。 $*p<0.05$ 。

[0123] 图7C是示出施用库萨图珠单抗、41D12 FcDead抗体和载体对照之后对单核AML细胞的影响的条形图。库萨图珠单抗能够显著介导VEN+AZA抗性单核AML细胞的NK依赖性细胞杀伤。使用单因素ANOVA检验来确定显著性。 $***p<0.001$ 。

[0124] 图8是示出来自对来自骨髓的AML样品中的ROS低的原始LSC和单核LSC进行的基因表达的转录组学分析的中值CD70表达的条形图。使用未配对的Wilcoxon检验来比较两个LSC亚群。 $*p<0.05$ 。

[0125] 图9是示出抗体处理对来自CD70呈阳性的VEN+AZA抗性单核细胞AML骨髓样品的白血病干细胞的影响的条形图。对于同种型对照阻断抗CD70抗体、41D12 FcDead和库萨图珠

单抗,数据相对于无抗体对照集落形成单位(colony forming units,CFU)被归一化。在抗体(10 μ g/ml)的存在下将VEN+AZA抗性单核细胞AML骨髓样品与NK细胞(1:5T:E比率)一起孵育,然后在CFU培养基中培养以确定LSC是否也被库萨图珠单抗介导的NK依赖性ADCC有效靶向。仅库萨图珠单抗能够显著减少在培养基中产生集落的LSC的数量,而对照或阻断抗体不能。该图示出了来自3个独立实验的数据,这3个独立实验使用来自VEN+AZA抗性单核细胞AML的3个不同的AML骨髓样品。使用单因素ANOVA检验来确定显著性。***p<0.0001。

[0126] 图10是示出在患者来源的异种移植小鼠模型中在NK细胞的存在下抗CD70抗体处理的效力的条形图。将VEN+AZA抗性单核细胞AML骨髓样品植入NSGS小鼠。当骨髓的植入水平达到约25%的白血病细胞时,在单次输注或不输注 1.5×10^6 个NK细胞的情况下,每3天用库萨图珠单抗或VEN+AZA将动物处理3次。9天之后将动物处死,从股骨分离骨髓并确定骨髓中恶性单核细胞的数量。用库萨图珠单抗与NK细胞的组合(而不是单独的库萨图珠单抗)、VEN+AZA或VEN+AZA与NK细胞处理动物,显示出小鼠骨髓中单核AML细胞水平显著降低。使用Mann-Whitney检验来确定显著性。*p<0.05,**p<0.01,***p<0.001,****p<0.0001。

具体实施方式

[0127] A. 定义

[0128] 除非另有定义,否则本文中使用的所有技术术语和科学术语具有与本发明的技术领域本领域技术人员通常理解相同含义。

[0129] 急性髓性白血病-本文中使用的“急性髓性白血病”或“AML”是指涉及髓样细胞的造血系统肿瘤(haematopoietic neoplasm)。AML的特征在于具有降低的分化能力的髓样前体的克隆性增殖。AML患者表现出骨髓中母细胞的积累。本文中使用的“母细胞(blast cell)”或其简称“母细胞(blast)”是指表现出被破坏的分化潜能的克隆性髓样祖细胞。母细胞通常还在AML患者的外周血中积累。通常来说,如果患者表现出骨髓或外周血中20%或更多的母细胞,则诊断为AML。本文中使用的术语“患者”和“人对象”可互换使用。

[0130] 根据世界卫生组织(World Health Organization,WHO)分类方案,AML通常涵盖以下亚型:AML伴复发性遗传异常;AML伴骨髓发育不良相关变化;治疗相关的髓性肿瘤;髓性肉瘤;与唐氏综合征(Down syndrome)相关的髓性增生;成浆细胞样树突状细胞肿瘤(blastic plasmacytoid dendritic cell meoplasm);以及未另外分类的AML(例如,急性原巨核细胞白血病、急性嗜碱性粒细胞白血病)。

[0131] AML也可根据法国-美国-英国(French-American-British,FAB)分类体系进行分类,涵盖以下亚型:M0(最低分化的急性粒细胞白血病(acute myeloblastic leukemia));M1(未成熟的急性粒细胞白血病);M2(粒细胞成熟的急性粒细胞白血病);M3(早幼粒细胞白血病或急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia,APL));M4(急性粒-单核细胞白血病);M4eo(粒-单核细胞连同骨髓嗜酸性粒细胞增多症);M5(急性单核细胞白血病(acute monoblastic leukemia,M5a)或急性单核细胞白血病(acute monocytic leukemia,M5b));M6(急性红白血病(acute erythroid leukemia),包括红白血病(M6a)和非常罕见的纯红白血病(M6b));或M7(急性原始巨核细胞白血病(acute megakaryoblastic leukemia))。

[0132] 抗体-本文中使用的术语“抗体”旨在涵盖全长抗体及其变体,包括但不限于经修

饰的抗体、人源化抗体、种系抗体。术语“抗体”在本文中通常用于指具有两条重链和两条轻链的组合的免疫球蛋白多肽,其中该多肽对目标抗原(本文中为CD70)具有显著的特异性免疫反应活性。对于IgG类的抗体,抗体包含分子量为约23,000道尔顿的两条相同的轻多肽链和分子量为53,000至70,000的两条相同的重链。四条链通过二硫键以“Y”构型连接,其中轻链将重链从“Y”的口部开始并继续通过可变区并列在一起(bracket)。抗体的轻链被分类为kappa或lambda(κ 、 λ)。每个重链类别可与 κ 或 λ 轻链结合。通常来说,轻链和重链彼此共价键合,并且当由杂交瘤、B细胞或经遗传改造的宿主细胞产生免疫球蛋白时,两条重链的“尾”部分通过共价二硫键联或非共价键联而彼此键合。在重链中,氨基酸序列从Y构型的叉状末端的N端延续至每条链底部的C端。

[0133] 本领域技术人员将理解,重链被分类为gamma、mu、alpha、delta或epsilon(γ 、 μ 、 α 、 δ 、 ϵ),其中有一些亚类(例如, γ 1至 γ 4)。该链的性质决定了抗体的“类别”,分别为IgG、IgM、IgA、IgD或IgE。免疫球蛋白亚类(同种型)例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1等是良好表征的,并且已知赋予功能特化性。本文中使用的术语“抗体”涵盖来自抗体的任何类别或亚类的抗体。

[0134] 抗原结合片段-本文中使用的术语“抗原结合片段”是指为全长抗体或抗体链的部分或份的片段,其包含比完整或完全的抗体更少的氨基酸残基,同时保留了抗原结合活性。抗体的抗原结合片段包含对与该抗体相同的抗原(例如CD70)表现出特异性免疫反应活性的肽片段。本文中使用的术语“抗原结合片段”旨在涵盖选自以下的抗体片段:抗体轻链可变结构域(VL);抗体重链可变结构域(VH);单链抗体(scFv);F(ab')₂片段;Fab片段;F_d片段;Fv片段;单臂(单价)抗体;通过这样的抗原结合片段的组合、组装或缀合形成的双链抗体、三链抗体、四链抗体或任何抗原结合分子。本文中使用的术语“抗原结合片段”还可涵盖选自以下的抗体片段:单抗体(unibody);结构域抗体;以及纳米抗体(nanobody)。片段可例如通过对完整或完全的抗体或抗体链进行化学或酶处理或者通过重组方式获得。

[0135] BCL-2-本文中使用的“BCL-2”或“BCL-2蛋白”或“BCL2”是指人中待鉴定的BCL-2蛋白家族的第一个成员,即B细胞淋巴瘤2。编码人BCL-2的cDNA于1986年被克隆,并且该蛋白在抑制凋亡中的关键作用于1988年被阐明。已发现BCL-2在数种不同类型的癌症中均上调。例如,BCL-2被滤泡性淋巴瘤中的t(14;18)染色体易位激活。还已经报道了在包括以下的不同癌症中的BCL-2基因扩增:白血病(例如CLL)、淋巴瘤(例如B细胞淋巴瘤)和一些实体瘤(例如小细胞肺癌)。人BCL-2是由BCL2基因(UniProtKB-P10415)编码的,并且具有根据NCBI参考序列NP_000624.2和NP_000648.2所示的氨基酸序列。

[0136] BCL-2家族-本文中使用的术语“BCL-2家族”或“BCL-2蛋白家族”是指与BCL-2相关的促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白的集合,参见Delbridge et al. (2016) Nat Rev Cancer. 16 (2):99-109。该家族有至少16个成员,被分为三个功能组:(i) BCL-2样蛋白(例如BCL-2、BCL-X_L、BCL2L1、BCLW、BCL2L2、MCL2、BFL1/BCL2A1);(ii) BAX和BAK;以及(iii) 仅BH3蛋白质(例如BIM、PUMA、BAD、BMF、BID、NOXA、HRK、BIK)。BCL-2蛋白家族在调节内在的凋亡途径中发挥不可或缺的作用,其中该家族的抗凋亡成员(例如BCL-2、BCL-X_L)通常拮抗促凋亡成员(例如BAX和BIM)。在许多癌症中,例如通过基因易位、扩增、过表达和突变,已经观察到BCL-2家族成员的失调。这种失调的下游效应时常具有凋亡抗性,其促进了癌症的生长。

[0137] BCL2A1-本文中使用的BCL2A1或B细胞淋巴瘤2相关蛋白A1是指发挥重要促存活功

能的抗凋亡BCL2蛋白。已经报道了BCL2A1在AML中上调并与对维奈托克的抗性相关。Zhang et al. (2020) Nat Cancer 1:826-839。

[0138] BCL-2抑制剂-本文中使用的BCL-2抑制剂是指能够特异性抑制BCL-2活性的任何药剂、化合物或分子,特别是能够抑制BCL-2的抗凋亡活性的药剂、化合物或分子。适用于本文中所述组合的BCL-2抑制剂的一些实例包括B细胞淋巴瘤源性3 (BH3) 模拟化合物 (Merino et al. (2018) Cancer Cell 34(6):879-891)。一些特别的BCL-2抑制剂包括但不限于:维奈托克、ABT-737 (Oltersdorf, T. et al. (2005) Nature 435:677-681)、纳威托克斯 (navitoclax)/ABT-263 (Tse, C. et al. (2008) Cancer Res. 68:3421-3428)、BM-1197 (Bai, L. et al. (2014) PLoS ONE 9:e99404)、S44563 (Nemati, F. et al. (2014) PLoS ONE 9:e80836)、BCL2-32 (Adam, A. et al. (2014) Blood 124:5304)、AZD4320 (Hennessey, E. J. et al. (2015) ACS Medicinal Chemistry annual meeting https://www.acsmedchem.org/ama/orig/abstracts/mediabstractf2015.pdf_abstr.24) 和S55746 (International Standard Randomised Controlled Trial Number Registry. ISRCTN <http://www.isrctn.com/ISRCTN04804337> (2016))。BCL-2抑制剂的另一些实例描述于Ashkenazi, A et al. (2017) Nature Reviews Drug Discovery 16:273-284中,其通过引用并入本文。

[0139] CD70-本文中使用的术语“CD70”或“CD70蛋白”或“CD70抗原”可互换使用,并且是指TNF配体家族的成员,其是TNFRSF7/CD27的配体。CD70也称为CD27L或TNFSF7。术语“人CD70”或“人CD70蛋白”或“人CD70抗原”可互换使用以具体地指在人体内和/或在经培养的人细胞系表面上天然表达的人同源物(包括天然人CD70蛋白),以及其重组形式和片段。人CD70的一些具体实例包括具有根据NCBI参考序列登录号NP_001243所示的氨基酸序列的多肽,或其胞外结构域。

[0140] 库萨图珠单抗-本文中使用的“库萨图珠单抗”,也称为ARGX-110,是单克隆IgG1抗CD70抗体。已显示ARGX-110抑制CD70与其受体CD27的相互作用 (Silence et al. (2014) MAbs. Mar-Apr; 6(2):523-32,通过引用并入本文)。特别地,已显示ARGX-110抑制CD70诱导的CD27信号传导。CD27信号传导的水平可通过例如如在Riether et al. (2017) J. Exp. Med. 214(2):359-380中描述的测量血清可溶性CD27或如在Silence et al. (2014) MAbs 6(2):523-32中描述的测量IL-8表达来确定。不受理论的束缚,认为抑制CD27信号传导降低了Treg细胞的激活和/或增殖,从而降低了对抗肿瘤效应T细胞的抑制。还已示出ARGX-110耗尽了表达CD70的肿瘤细胞。特别地,已显示ARGX-110通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (antibody dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC) 和补体依赖性细胞毒性 (complement dependent cytotoxicity, CDC) 裂解表达CD70的肿瘤细胞,并且还提高表达CD70的细胞的抗体依赖性细胞吞噬作用 (antibody dependent cellular phagocytosis, ADCP) (Silence et al., 同上)。ARGX-110无岩藻糖基化以增强ADCC。

[0141] ARGX-110或库萨图珠单抗的六个CDR、VH和VL的氨基酸序列在表1中示出。

[0142] 表1

[0143]

ARGX-110	序列	SEQ ID NO.
HCDR1	VYYMN	1
HCDR2	DINNEGTTYYADSVKG	2
HCDR3	DAGYSNHVPIFDS	3
LCDR1	GLKSGSVTSDNFPT	4
LCDR2	NTNTRHS	5
LCDR3	ALFISNPSVE	6
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSVYYMNW VRQAPGKGLEWVSDINNEGTTYYADSVKGRFTISR NSKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDAGYSNHVPIFD SWGQGTTLTVSS	7
VL	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGLKSGSVTSDNFPTW YQQTPGQAPRLLIYNTNTRHSGVPDRFSGSILGNKAAL TITGAQADDEAEYFCALFISNPSVEFGGGTQLTVLG	8

[0144] AML的发育阶段-大多数癌症基于肿瘤的大小和扩散来分阶段。AML的阶段通常以血细胞计数和白血病细胞在其他器官(如肝或脾)中的积累为特征。AML的阶段或进展是评估治疗方案的重要因素。患有AML的患者中对BCL-2抑制剂(或BCL-2抑制剂加低甲基化剂)的响应与发育阶段密切相关,在发育阶段中原始细胞AML敏感,但单核细胞AML或“分化的单核细胞AML”(这些术语在本文中可互换使用)对BCL-2抑制剂治疗更具抗性。与更分化的单核AML细胞相比,原代AML细胞具有不同的特性,并因此对治疗表现出不同的响应。单核细胞标志物的表达可用于区分原代AML细胞和单核AML细胞。这样的单核细胞标志物包括BCL-2、CD117、CD11b、CD68、CD64、CD70、BCL2A1、MCL1和其他标志物。其他单核细胞标志物的一些非限制性实例包括CD38、CD34、CD33和CD14。单核AML细胞也可被表征为CD45^亮和SSC^高细胞。根据AML的发育阶段,这些单核细胞标志物的基因表达水平在单核肿瘤细胞之上更多上调或下调。髓样分化状态与患有AML的患者中减少的BCL2表达相关。因此,越分化的单核细胞AML越有可能对基于BCL-2抑制剂的治疗具有难治性。

[0145] 下调的表达水平-本文中使用的“下调的表达水平”是指降低的表达水平。这意味着单核细胞标志物的表达水平呈下降趋势。单核细胞标志物的下调的表达水平是与早期表达水平相比降低的表达水平。早期表达水平可以是在BCL-2抑制剂治疗之前或期间(或在用BCL-2抑制剂和低甲基化剂治疗之前或期间)在患者中测量的表达水平。早期表达水平也可以是单核肿瘤细胞上的单核细胞标志物的基线表达水平。

[0146] 历史治疗-本文中使用的“历史治疗”是指先前的治疗,例如,用与CD70结合的抗体或其抗原结合片段治疗之前的早期治疗。

[0147] 白血病干细胞-本文中使用的“白血病干细胞”或“LSC”是与AML相关的母细胞的亚群。LSC是这样的母细胞:其具有干细胞特性,使得如果将其移植到免疫缺陷的接受者中,其

能够引发白血病。LSC可通过引起白血病而自我更新,并且也可部分地分化为与原始疾病类似但不能自我更新的非LSC常规母细胞。LSC作为原代AML母细胞的一部分以1:10,000至1:1百万范围内的频率发生(Pollyea and Jordan(2017)Blood 129:1627-1635,通过引用并入本文)。LSC可被表征为是CD34+、CD38-,任选地还是CD45-和/或CD123+的细胞。LSC也可被表征为CD45dim、SSC低、CD90+CD34+细胞。

[0148] 髓性恶性肿瘤-本文中使用的术语“髓性恶性肿瘤”是指造血干细胞或祖细胞的任何克隆性疾病。髓性恶性肿瘤或髓性恶性疾病包括慢性和急性病症。慢性病症包括骨髓增生异常综合征(MDS)、骨髓增殖性肿瘤(MPN)和慢性粒-单核细胞白血病(CMML),并且急性病症包括急性髓性白血病(AML)。

[0149] NK依赖性ADCC-本文中使用的“NK依赖性抗体依赖性细胞毒性(ADCC)”是由自然杀伤(natural killer,NK)细胞介导的适应性免疫应答。NK依赖性ADCC通过抗体激活NK细胞来启动。NK依赖性ADCC可通过抗CD70抗体激活NK细胞来启动。

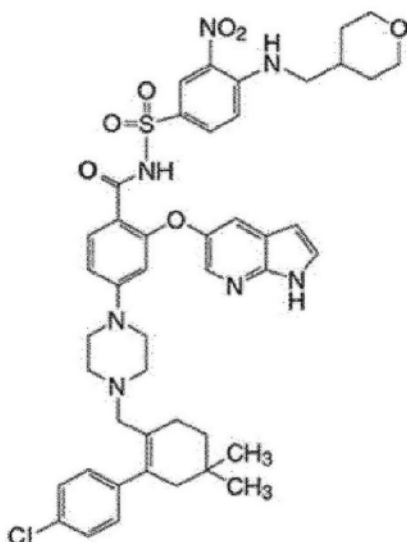
[0150] 抗性-本文中使用的短语“对治疗有抗性”或“对治疗的抗性”,例如对BCL-2抑制剂治疗的抗性,是指人对象对治疗的敏感性降低。术语“抗性”包括对治疗的前期抗性或对治疗初始响应之后的复发。患者可能复发,这意味着患者最初对治疗响应但最终复发;因此患者不再对治疗显示出积极响应。除了复发患者之外,术语“抗性”还包括难治性患者。难治性响应意指患者对给定治疗完全不显示出响应。患者未实现缓解并且是难治性的。

[0151] 标准强化化学治疗-本文中使用的短语“标准强化化学治疗”(在本文中也称为“强化诱导治疗”或“诱导治疗”)是指以施用高剂量的阿糖胞苷7天,随后施用蒽环类(例如柔红霉素或伊达比星)3天为特征的所谓的“7+3”诱导化学治疗。可向合适的新诊断的AML患者给予标准强化化学治疗,目的是引起AML的完全缓解,通常旨在在成功的化学治疗之后使患者经历干细胞移植。如本文中所说明的,并非所有新诊断的AML患者均适合于该标准强化化学治疗。

[0152] 上调的表达水平-本文中使用的短语“上调的表达水平”是指升高的或更高的表达水平。这意味着单核细胞标志物的表达水平呈上升趋势。单核细胞标志物的上调的表达水平是与早期表达水平相比更高的表达水平。早期表达水平可以是在BCL-2抑制剂治疗之前或期间(或在用BCL-2抑制剂和低甲基化剂治疗之前或期间)在患者中测量的表达水平。早期表达水平也可以是单核肿瘤细胞上的单核细胞标志物的基线表达水平。

[0153] 维奈托克-本文中使用的术语“维奈托克”是指具有如下所示化学结构的化合物:

[0154]



[0155] 维奈托克是BCL-2蛋白的高效的选择性可经口生物利用的抑制剂。它的经验式为 $C_{45}H_{50}ClN_7O_7S$,并且分子量为868.44。它具有非常低的水溶性。维奈托克在化学上可描述为4-(4-{[2-(4-氯苯基)-4,4二甲基环己-1-烯-1-基]甲基}哌嗪-1-基)-N-({3-硝基-4-[(4-氢-2H-吡喃-4基甲基)氨基]苯基}磺酰基)-2-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基氧基)苯甲酰胺。维奈托克的替代名称包括ABT-199;化学名称1257044-40-8;GDC-0199。

[0156] 维奈托克于2015年获得美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)的批准,用于治疗患有慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL)或小淋巴细胞白血病(small lymphocytic leukemia, SLL)的已接受至少一种先前治疗的成年患者。维奈托克由AbbVie Inc.以商品名**VENCLEXTA®**分销和销售。维奈托克在美国还被批准用于与阿扎胞苷或地西他滨或低剂量的阿糖胞苷组合用于在排除了使用强化诱导化学治疗的年龄为75岁或更年长或者患有合并症的成人中治疗新诊断的急性髓性白血病(AML)。

[0157] B. 方法

[0158] BCL-2蛋白是BCL-2家族的抗凋亡成员,并且在许多不同类型的癌症中上调。BCL-2的过表达允许肿瘤细胞通过隔离促凋亡蛋白来逃避凋亡。BCL-2在许多血液系统恶性肿瘤中高度表达,并且是例如慢性淋巴细胞白血病(CLL)、滤泡性淋巴瘤和套细胞淋巴瘤的疾病中占优势的促存活蛋白。BCL-2的抑制抑制了该蛋白的抗凋亡或促存活活性。

[0159] 已经报道了包括BCL-2在内的BCL-2家族的抗凋亡成员在原代AML样品中过表达(Bogenberger et al. (2014) Leukemia 28(2):1657-65)。也已经报道了在从AML患者获得的白血病干细胞(LSC)中的BCL-2过表达(Lagadinou et al. (2013) Cell Stem Cell 12(3):329-341)。在离体LSC群体中BCL-2的抑制导致休眠LSC(quiescent LSC)的选择性根除(Lagadinou et al. (2013) Cell Stem Cell 12(3):329-341)。

[0160] 不希望受理论的束缚,由于CD70抗体或其抗原结合片段和BCL-2抑制剂的组合治疗作用,特别是LSC水平的组合作用,认为本发明的方法对AML的治疗特别有效。LSC的自我更新能力意味着这些细胞的持久性是导致疾病复发的主要因素。

[0161] 此外,本发明人惊奇地发现,在难以用BCL-2抑制剂维奈托克和高甲基化剂(hypermethylating agent, HMA)阿扎胞苷治疗的髓性恶性肿瘤患者中,单核细胞AML细胞

的比例增加。因此,已发现单核细胞AML细胞的存在会增加疾病复发的风险。本发明人还确定,相对于分化较低的原始AML细胞,单核细胞AML细胞表达显著更高的CD70水平。在体外和体内小鼠疾病模型中,耐维奈托克和阿扎胞苷的单核细胞AML细胞对抗CD70抗体治疗敏感。不希望受理论的束缚,认为单核细胞AML细胞被抗CD70抗体介导的NK细胞依赖性ADCC靶向。因此,认为本文所述的抗CD70抗体对治疗耐BCL-2抑制剂(如维奈托克)的髓性恶性肿瘤特别有效。一方面,本发明提供了治疗人对象的髓性恶性肿瘤的方法。该方法特别用于治疗患有髓性恶性肿瘤的对BCL-2抑制剂(如维奈托克)具有降低的敏感性或具有难治性的人对象。该方法包括以下步骤

[0162] (a) 选择患有髓性恶性肿瘤的对BCL-2抑制剂具有降低的敏感性或具有难治性的人对象;以及

[0163] (b) 向所述人对象施用与CD70结合的抗体或其抗原结合片段。

[0164] 在某些实施方案中,人对象具有失败的用BCL-2抑制剂的髓性恶性肿瘤的治疗。在某些实施方案中,人对象对用BCL-2抑制剂治疗髓性恶性肿瘤具有临床响应,但随后遭受髓性恶性肿瘤复发。临床响应可以是任何临床响应,包括完全响应、部分响应或最小响应。在某些实施方案中,人对象对用BCL-2抑制剂治疗髓性恶性肿瘤具有临床响应,但随后对BCL-2抑制剂的临床响应降低。在某些实施方案中,人对象对用BCL-2抑制剂治疗髓性恶性肿瘤具有临床响应,但随后变得难以用BCL-2抑制剂治疗。在某些另外的实施方案中,人对象对用BCL-2抑制剂治疗髓性恶性肿瘤无临床上的显著响应。

[0165] 在某些实施方案中,人对象具有失败的用维奈托克或其可药用盐的髓性恶性肿瘤的治疗。在某些实施方案中,人对象对用维奈托克或其可药用盐治疗髓性恶性肿瘤具有临床响应,但随后遭受髓性恶性肿瘤复发。临床响应可以是任何临床响应,包括完全响应、部分响应或最小响应。在某些实施方案中,人对象对用维奈托克或其可药用盐治疗髓性恶性肿瘤具有临床响应,但随后对维奈托克或其可药用盐的临床响应降低。在某些实施方案中,人对象对用维奈托克或其可药用盐治疗髓性恶性肿瘤具有临床响应,但随后变得难以用维奈托克或其可药用盐治疗。在某些另外的实施方案中,人对象对用维奈托克或其可药用盐治疗髓性恶性肿瘤无临床上的显著响应。

[0166] 用于本文所述方法中的维奈托克可以以任何合适的形式提供,使得其有效地抑制BCL-2蛋白。这样的形式包括但不限于任何合适的多晶型、无定形或结晶形式或者任何异构或互变异构形式。在某些实施方案中,本文所述的联合治疗包括根据US2010/0305122(通过引用并入本文)中所述方法合成的维奈托克。在替代实施方案中,本文所述方法包括根据CN107089981(A)、CN107648185(A)、EP3333167、W02017/156398、W02017/212431、W02018/009444、W02018/029711、W02018/069941、W02018/157803和W02018/167652(各自通过引用并入本文)中任一项描述的形式的维奈托克或者根据CN107089981(A)、CN107648185(A)、EP3333167、W02017/156398、W02017/212431、W02018/009444、W02018/029711、W02018/069941、W02018/157803和W02018/167652(各自通过引用并入本文)中任一项描述的方法合成的维奈托克。在某些实施方案中,本文所述的方法包括W02012/071336(通过引用并入本文)中所述的任何结晶或盐形式的维奈托克。

[0167] 根据本发明使用的可药用盐包括酸性或碱性基团的盐。可药用酸加成盐包括但不限于:盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硝酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸式磷酸盐、异烟酸

盐、乙酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、龙胆酸盐、富马酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、蔗糖盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐和扑酸盐 (pamoate) (即, 1,1'-亚甲基-双-(2-羟基-3-萘甲酸盐) 盐。可药用盐可用多种氨基酸形成。合适的碱盐包括但不限于铝盐、钙盐、锂盐、镁盐、钾盐、钠盐、锌盐和二乙醇胺盐。

[0168] 在某些实施方案中, 人对象具有失败的用维奈托克的髓性恶性肿瘤的治疗。在某些实施方案中, 人对象对用维奈托克治疗髓性恶性肿瘤具有临床响应, 但随后遭受髓性恶性肿瘤复发。临床响应可以是任何临床响应, 包括完全响应、部分响应或最小响应。在某些实施方案中, 人对象对用维奈托克治疗髓性恶性肿瘤具有临床响应, 但随后对维奈托克的临床响应降低。在某些实施方案中, 人对象对用维奈托克治疗髓性恶性肿瘤具有临床响应, 但随后变得难以用维奈托克治疗。在某些另外的实施方案中, 人对象对用维奈托克治疗髓性恶性肿瘤无临床上的显著响应。

[0169] 该方法包括向人对象施用与CD70结合的抗体或其抗原结合片段的步骤。可以使用任何合适的施用途径来实现施用, 包括但不限于口服、其他肠胃外、静脉内、腹膜内、肺部和皮下施用。对于肠胃外施用途径 (例如, 静脉内、腹膜内、肺部和皮下), 与CD70结合的抗体或其抗原结合片段可以作为注射或输注施用于人对象。

[0170] 如本文其他地方所述, CD70已经被表征为抗癌治疗的有吸引力的靶点。CD70在许多类型的血液恶性肿瘤和实体瘤上构成性地表达, 并且其表达与几种癌症的不良预后有关。已经开发了靶向CD70的抗体, 并且一些已经进入临床开发。

[0171] 已经发现靶向CD70的抗体对于髓性恶性肿瘤的治疗特别有效, 特别是对于急性髓性白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 对象的治疗特别有效。来自患有AML的患者中测试CD70抗体ARGX-110 (库萨图珠单抗) 的I/II期临床试验的结果显示了该适应症的惊人疗效, 特别是在被分类为不适合标准强化化学治疗的新诊断患者中 (参见W02018/229303)。特别值得注意的是, 在临床研究中, 当CD70抗体与阿扎胞苷联合使用时, 有效地减少AML患者中的白血病干细胞 (leukemic stem cell, LSC)。对试验中分离自患者的LSC的测试揭示了LSC不对称分裂增加的证据, 表明向骨髓细胞的分化。总之, 这些结果表明CD70抗体消耗了AML患者的LSC库, 从而增加了缓解的可能性并降低了复发的风险。

[0172] 在某些实施方案中, 与CD70结合的抗体是库萨图珠单抗。

[0173] 可用于本文所述方法的另外的CD70抗体或其抗原结合片段包括抗体药物缀合物 (antibody drug conjugate, ADC)。ADC是与活性剂 (例如奥瑞他汀 (auristatin) 和美登素 (maytansine) 或其他细胞毒性剂) 连接的抗体。某些ADC维持抗体阻断和/或效应功能 (例如ADCC、CDC、ADCP), 同时还将缀合的活性剂递送至表达靶标 (例如CD70) 的细胞。抗CD70 ADC的实例包括vorsetuzumab mafodotin (也称为SGN-75, Seattle Genetics)、SGN-70A (Seattle Genetics) 和MDX-1203/BMS936561 (Bristol-Myers Squibb), 其中的每一个可以根据本发明使用。一些合适的抗CD70 ADC也描述于W02008074004和W02004073656中, 其各自通过引用并入本文。

[0174] 在某些实施方案中, 与CD70结合的抗体的抗原结合片段独立地选自: 抗体轻链可变结构域 (VL); 抗体重链可变结构域 (VH); 单链抗体 (scFv); F(ab')₂ 片段; Fab片段; Fd片段; Fv片段; 单臂 (单价) 抗体; 通过这样的抗原结合片段的组合、装配或缀合形成的二体、三

体、四体或任何抗原结合分子。

[0175] 在某些实施方案中,髓性恶性肿瘤选自急性髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome,MDS)、骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasm,MPN)、慢性髓性白血病(chronic myeloid leukemia,CML)和慢性粒单核细胞白血病;(chronic myelomonocytic leukemia,CMML)。在某些实施方案中,髓性恶性肿瘤为AML。在某些实施方案中,髓性恶性肿瘤为MDS。在某些实施方案中,髓性恶性肿瘤为MPN。在某些实施方案中,髓性恶性肿瘤为CML。在某些实施方案中,髓性恶性肿瘤为CMML。

[0176] 如上所述,在某些实施方案中,髓性恶性肿瘤为AML。急性髓性白血病也被称为急性髓细胞白血病、急性骨髓性白血病、急性粒细胞白血病和急性非淋巴细胞白血病。美国癌症协会对2020年美国白血病的估计包括约19,940例新的AML病例,大多数在成人中;约11,180人死于AML,几乎都是成人。AML是成人中最常见的白血病类型之一。尽管如此,总的来说,AML相当罕见,仅占有所有癌症的约1%。AML通常是老年人的疾病,在45岁之前并不常见。首次被诊断为AML的人的平均年龄为约68岁,但AML也可以在儿童中发生。

[0177] 在某些实施方案中,髓性恶性肿瘤是单核细胞AML。急性单核细胞白血病(AMoL或AML-M5)也被称为单核细胞性AML,被认为是急性髓性白血病(AML)的一种。为了满足世界卫生组织(WHO)对AML-M5的标准,患者的骨髓中必须有大于20%的母细胞,其中大于80%必须是单核细胞谱系。

[0178] 如上所述,在某些实施方案中,髓性恶性肿瘤是MDS。骨髓增生异常综合征(MDS)是骨髓无法产生足够的健康血细胞的不同骨髓障碍(癌症)的组。MDS通常被称为“骨髓衰竭障碍”。在骨髓增生异常综合征患者中,血液干细胞(不成熟的细胞)不会在骨髓中变成成熟的红细胞、白细胞或血小板。这些不成熟的血细胞被称为母细胞,无法正常工作,要么在骨髓中死亡,要么在进入血液之后不久死亡。这使得健康的白细胞、红细胞和血小板在骨髓中形成的空间减少。当存在较少的健康血细胞时,可能会发生感染、贫血或容易出血。各种类型的MDS包括但不限于难治性贫血、环状铁粒幼红细胞难治性贫血、伴有过量母细胞的难治性贫血、伴有多系发育不良的难治性血细胞减少症、伴有单系发育不良的难治性血细胞减少症、与孤立的del(5q)染色体异常相关的骨髓增生异常综合征、慢性粒单核细胞白血病;(CMML)和未分类的骨髓增生异常综合征。

[0179] 在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞中选自BCL-2、CD117、CD11b、CD68、CD64、BCL2A1和MCL1的至少一种标志物的表达水平。相关的表达水平可以使用任何合适的方法来确定,包括但不限于荧光激活细胞分选(fluorescence-activated cell sorting,FACS)、使用对相关细胞表面分子特异的可检测的(例如,荧光标记的)抗体的荧光显微术、和mRNA表达分析。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞中选自BCL-2、CD117、CD11b、CD68、CD64、BCL2A1和MCL1的至少一种标志物的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞中选自BCL-2、CD117、CD11b、CD68、CD64、BCL2A1和MCL1的至少一种标志物的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的BCL-2的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD117的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD11b的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD68的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶

性骨髓细胞的CD64的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的BCL2A1的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的MCL1的表达水平。

[0180] 在某些实施方案中,BCL-2和CD117中的至少一者下调,CD11b、CD68、CD64、CD70、BCL2A1和MCL1中的至少一者上调。在某些实施方案中,BCL-2下调,CD11b上调。在某些实施方案中,BCL-2下调,CD68上调。在某些实施方案中,BCL-2下调,CD64上调。在某些实施方案中,BCL-2下调,CD70上调。在某些实施方案中,BCL-2下调,BCL2A1上调。在某些实施方案中,BCL-2下调,MCL1上调。在某些实施方案中,CD117下调,CD11b上调。在某些实施方案中,CD117下调,CD68上调。在某些实施方案中,CD117下调,CD64上调。在某些实施方案中,CD117下调,CD70上调。在某些实施方案中,CD117下调,BCL2A1上调。在某些实施方案中,CD117下调,MCL1上调。

[0181] 在另外的实施方案中,步骤(a)包括确定选自CD117、CD11b和CD68的至少一种标志物的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD117的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD11b的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD68的表达水平。在某些实施方案中,CD117下调。在某些实施方案中,CD11b上调。在某些实施方案中,CD68上调。在某些实施方案中,CD11b上调,CD68上调。在某些实施方案中,CD117下调,CD11b上调,CD68上调。

[0182] 在另外的实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞中选自CD64、CD34、CD117、CD11b、CD68和CD14的至少一种标志物的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD64的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD34的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD117的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD11b的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD68的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD14的表达水平。在某些实施方案中,CD64上调。在某些实施方案中,CD34下调。在某些实施方案中,CD117下调。在某些实施方案中,CD11b上调。在某些实施方案中,CD68上调。在某些实施方案中,CD14上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD34下调。在某些实施方案中,CD64上调,CD117下调。在某些实施方案中,CD64上调,CD11b上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD68上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD34下调,CD117下调。在某些实施方案中,CD34下调,CD11b上调。在某些实施方案中,CD34下调,CD68上调。在某些实施方案中,CD34下调,CD14上调。在某些实施方案中,CD117下调,CD14上调。在某些实施方案中,CD68上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD34下调,CD117下调。在某些实施方案中,CD64上调,CD34下调,CD11b上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD34下调,CD68上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD34下调,CD14上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD117下调,CD14上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD68上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD34下调,CD117下调,CD11b上调。在某些实施方案中,CD34下调,CD117下调,CD68上调。在某些实施方案中,CD34下调,CD11b上调,CD68上调。在某些实施方案中,CD34下调,CD117下调,CD14上调。在某些实施方案中,CD34下调,CD11b上调,CD14上调。在某些实施方

案中,CD117下调,CD11b上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD34下调,CD68上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD117下调,CD68上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD11b上调,CD68上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD34下调,CD117下调,CD11b上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD34下调,CD117下调,CD68上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD34下调,CD11b上调,CD68上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD34下调,CD117下调,CD14上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD34下调,CD11b上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD117下调,CD11b上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD34下调,CD68上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD117下调,CD68上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD11b上调,CD68上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD34下调,CD117下调,CD11b上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD34下调,CD117下调,CD68上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD34下调,CD11b上调,CD68上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD117下调,CD11b上调,CD68上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD34下调,CD117下调,CD11b上调,CD68上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD34下调,CD117下调,CD11b上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD34下调,CD117下调,CD68上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD34下调,CD11b上调,CD68上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD117下调,CD11b上调,CD68上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD34下调,CD117下调,CD11b上调,CD68上调,CD14上调。在某些实施方案中,CD64上调,CD34下调,CD117下调,CD11b上调,CD68上调,CD14上调。

[0183] 在另外的实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞中选自CD34、CD38、CD11b、CD33和CD70的至少一种标志物的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD34的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD38的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD11b的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD33的表达水平。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD70的表达水平。在某些实施方案中,CD34下调。在某些实施方案中,CD38上调。在某些实施方案中,CD11b上调。在某些实施方案中,CD33上调。在某些实施方案中,CD70上调。在某些实施方案中,CD34下调,CD38上调。在某些实施方案中,CD34下调,CD33上调。在某些实施方案中,CD34下调,CD70上调。在某些实施方案中,CD38上调,CD33上调。在某些实施方案中,CD38上调,CD11b上调。在某些实施方案中,CD38上调,CD70上调。在某些实施方案中,CD33上调,CD11b上调。在某些实施方案中,CD38上调,CD33上调,CD70上调。在某些实施方案中,CD38上调,CD34下调,CD70上调。在某些实施方案中,CD33上调,CD34下调,CD70上调。在某些实施方案中,CD38上调,CD11b上调,CD70上调。在某些实施方案中,CD33上调,CD11b上调,CD70上调。在某些实施方案中,CD34下调,CD11b上调,CD70上调。在某些实施方案中,CD38上调,CD33上调,CD34下调,CD11b上调。在某些实施方案中,CD38上调,CD33上调,CD34下调,CD70上调。在某些实施方案中,CD38上调,CD33上调,CD11b上调,CD70上调。在某些实施方案中,CD38上调,CD34下

调,CD11b上调,CD70上调。在某些实施方案中,CD33上调,CD34下调,CD11b上调,CD70上调。在某些实施方案中,CD38上调,CD33上调,CD34下调,CD11b上调,CD70上调。

[0184] 在另外的实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞中选自CD38、CD11b和CD33的至少一种标志物的表达水平。在某些实施方案中,CD38上调,CD33上调,CD11b上调。

[0185] 在另外的实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞中选自CD45、CD11b和CD117的至少一种标志物的表达水平。在某些实施方案中,CD45上调。在某些实施方案中,CD45上调,CD11b上调。在某些实施方案中,CD45上调,CD117下调。在某些实施方案中,CD45上调,CD11b上调,CD117下调。

[0186] 在另外的实施方案中,步骤(a)包括确定CD45的表达水平以及确定SSC值。在某些实施方案中,所述细胞的特征为CD45^亮和SSC^高。

[0187] 在特定的实施方案中,BCL-2抑制剂的历史治疗(例如,维奈托克)使骨髓细胞上的CD70表达上调。然后可以用与CD70结合的抗体或其抗原结合片段(例如,库萨图珠单抗)治疗BCL-2治疗失败的髓性恶性肿瘤患者。用与CD70结合的抗体或其抗原结合片段治疗反过来使骨髓细胞上的BCL-2表达上调。因此,使用BCL-2抑制剂(例如,维奈托克)以及与CD70结合的抗体或其抗原结合片段(例如,库萨图珠单抗)进行治疗对髓性恶性肿瘤患者具有互惠效应,并改善了这些患者的治疗响应。在特定的实施方案中,抗CD70抗体或其CD70结合片段与BCL-2抑制剂组合(共同施用),用于治疗对BCL-2抑制剂治疗有抗性的患者的髓性恶性肿瘤。在某些实施方案中,步骤(a)包括确定人对象的恶性骨髓细胞的CD70表达水平。相关表达水平可以使用任何合适的方法确定,包括但不限于荧光激活细胞分选(FACS)和使用对CD70特异的(例如,荧光标记的)抗体的荧光显微术。

[0188] 在某些实施方案中,与BCL-2抑制剂治疗之前或期间测量的CD70表达水平相比,CD70上调。在某些实施方案中,BCL-2抑制剂治疗包括用维奈托克治疗。在某些实施方案中,BCL-2抑制剂治疗包括用除维奈托克之外的BCL-2抑制剂治疗。

[0189] 在某些实施方案中,人对象具有包括以下的临床历史:

[0190] (a) 用BCL-2抑制剂进行治疗;和

[0191] (b) 没有响应于用BCL-2抑制剂进行的治疗而缓解。在某些实施方案中,没有缓解是没有完全缓解。在另外的实施方案中,没有缓解是没有至少部分缓解。在某些实施方案中,使用BCL-2抑制剂的历史治疗是使用维奈托克进行治疗。在某些另外的实施方案中,使用BCL-2抑制剂的历史治疗是使用除维奈托克之外的BCL-2抑制剂进行治疗。

[0192] 在某些实施方案中,使用BCL-2抑制剂的历史治疗还包括用低甲基化剂(HMA)进行治疗。低甲基化剂抑制DNA和/或RNA的正常甲基化。低甲基化剂的非限制性实例为阿扎胞苷、地西他滨和瓜德希他滨(guadecitabine)。

[0193] 阿扎胞苷是胞苷的类似物,地西他滨是其脱氧衍生物。瓜德希他滨是耐胞苷脱氨酶的地西他滨前药。阿扎胞苷和地西他滨是通过启动子低甲基化的已知可使基因表达上调的DNA甲基转移酶(DNMT)的抑制剂。这样的低甲基化破坏细胞功能,从而导致细胞毒性作用。

[0194] 在某些实施方案中,人对象具有包括以下的临床历史:

[0195] (a) 用BCL-2抑制剂进行治疗;

[0196] (b)部分或完全缓解;以及

[0197] (c)部分或完全复发。

[0198] 在某些实施方案中,人对象具有包括以下的临床历史:用BCL-2抑制剂进行治疗;部分缓解;和部分复发。

[0199] 在某些实施方案中,人对象具有包括以下的临床历史:用BCL-2抑制剂进行治疗;部分缓解;和完全复发。

[0200] 在某些实施方案中,人对象具有包括以下的临床历史:用BCL-2抑制剂进行治疗;完全缓解;和部分复发。

[0201] 在某些实施方案中,人对象具有包括以下的临床历史:用BCL-2抑制剂进行治疗;完全缓解;和完全复发。

[0202] 此外,根据这些实施方案,在某些实施方案中,用BCL-2抑制剂的历史治疗还包括用低甲基化剂(HMA)的治疗。在某些实施方案中,用BCL-2抑制剂的历史治疗是用维奈托克或其可药用盐进行治疗。在某些另外的实施方案中,用BCL-2抑制剂的历史治疗是用除维奈托克或其可药用盐之外的BCL-2抑制剂进行治疗。如上所述,低甲基化剂的非限制性实例是阿扎胞苷、地西他滨和瓜德希他滨。

[0203] 根据上述每个实施方案,在某些实施方案中,低甲基化剂(HMA)和与CD70结合的抗体或其抗原结合片段共同施用。在某些实施方案中,HMA选自阿扎胞苷、地西他滨、瓜德希他滨及其任意组合。在某些实施方案中,HMA是阿扎胞苷。在某些实施方案中,HMA是地西他滨。在某些实施方案中,HMA瓜德希他滨。

[0204] HMA可以按照与CD70结合的抗体或其抗原结合片段的相同方案或基本相同的方案施用,或者可以按照与CD70结合的抗体或其抗原结合片段的不同的方案施用。此外,HMA的施用途径可以是与CD70结合的抗体或其抗原结合片段的相同的施用途径,或者其可以不同于与CD70结合的抗体或其抗原结合片段的施用途径。

[0205] 根据上述每个实施方案,在某些实施方案中,BCL-2抑制剂和与CD70结合的抗体或其抗原结合片段共同施用。BCL-2抑制剂可以按照与CD70结合的抗体或其抗原结合片段的相同或基本相同的方案施用,或者可以按照与CD70结合的抗体或其抗原结合片段的不同的方案施用。此外,BCL-2抑制剂的施用途径可以和与CD70结合的抗体或其抗原结合片段的施用途径相同,或者可以不同于与CD70结合的抗体或其抗原结合片段的施用途径。

[0206] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或其抗原结合片段与BCL-2抑制剂和低甲基化剂(HMA)共同施用。在某些实施方案中,与CD70结合的抗体是库萨图珠单抗。在某些实施方案中,BCL-2抑制剂是维奈托克或其可药用盐。在某些实施方案中,HMA是阿扎胞苷。在某些实施方案中,库萨图珠单抗与维奈托克和阿扎胞苷共同施用。

[0207] 根据上述每个实施方案,在某些实施方案中,维奈托克或其可药用盐和与CD70结合的抗体或其抗原结合片段共同施用。维奈托克或其可药用盐可以按照与CD70结合的抗体或其抗原结合片段的相同的方案或基本相同的方案施用,或者可以按照与CD70结合的抗体或其抗原结合片段的不同的方案施用。此外,维奈托克或其可药用盐的施用途径可以和与CD70结合的抗体或其抗原结合片段的施用途径相同,或者可以不同于与CD70结合的抗体或其抗原结合片段的施用途径。

[0208] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包括HCDR1、HCDR2、HCDR3、

LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中

[0209] HCDR1的氨基酸序列由SEQ ID NO:1组成;

[0210] HCDR2的氨基酸序列由SEQ ID NO:2组成;

[0211] HCDR3的氨基酸序列由SEQ ID NO:3组成;

[0212] LCDR1的氨基酸序列由SEQ ID NO:4组成;

[0213] LCDR2的氨基酸序列由SEQ ID NO:5组成;以及

[0214] LCDR3的氨基酸序列由SEQ ID NO:6组成。

[0215] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少90%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH)。

[0216] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少91%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH)。

[0217] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少92%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH)。

[0218] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少93%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH)。

[0219] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少94%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH)。

[0220] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少95%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH)。

[0221] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少96%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH)。

[0222] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少97%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH)。

[0223] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少98%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH)。

[0224] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少99%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH)。

[0225] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有100%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH)。

[0226] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:8具有至少90%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0227] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:8具有91%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0228] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:8具有至少92%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0229] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:8具有至少93%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0230] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:8具有至少94%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0231] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:8具有至少95%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0232] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:8具有至少96%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0233] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:8具有至少97%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0234] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:8具有至少98%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0235] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:8具有至少99%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0236] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:8具有100%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0237] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少90%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH),和包含与SEQ ID NO:8具有至少90%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0238] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少91%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH),和包含与SEQ ID NO:8具有至少91%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0239] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少92%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH),和包含与SEQ ID NO:8具有至少92%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0240] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少93%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH),和包含与SEQ ID NO:8具有至少93%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0241] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少94%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH),和包含与SEQ ID NO:8具有至少94%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0242] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少95%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH),和包含与SEQ ID NO:8具有至少95%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0243] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少96%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH),和包含与SEQ ID NO:8具有至少96%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0244] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少97%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH),和包含与SEQ ID NO:8具有至少97%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0245] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少98%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH),和包含与SEQ ID NO:8具有至少98%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0246] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有至少99%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH),和包含与SEQ ID NO:8具有至少99%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0247] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体或抗体结合片段包含:包含与SEQ ID NO:7具有100%同一性的氨基酸序列的可变重链结构域(VH),和包含与SEQ ID NO:8具有100%同一性的氨基酸序列的可变轻链结构域(VL)。

[0248] 在某些实施方案中,与由SEQ ID NO:7组成的VH具有至少90%同一性的氨基酸序列包含HCDR1、HCDR2和HCDR3,其中

[0249] HCDR1的氨基酸序列由SEQ ID NO:1组成;

[0250] HCDR2的氨基酸序列由SEQ ID NO:2组成;以及

[0251] HCDR3的氨基酸序列由SEQ ID NO:3组成;以及

[0252] 与由SEQ ID NO:8组成的VL具有至少90%同一性的氨基酸序列包含LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中

[0253] LCDR1的氨基酸序列由SEQ ID NO:4组成;

[0254] LCDR2的氨基酸序列由SEQ ID NO:5组成;以及

[0255] LCDR3的氨基酸序列由SEQ ID NO:6组成。

[0256] 在某些实施方案中,该方法还可以包括施用一种或更多种另外的治疗剂,例如至少一种另外的抗癌剂,优选用于治疗髓性恶性肿瘤的药剂。在某些实施方案中,另外的抗癌剂是用于治疗急性髓性白血病(AML)的药剂。

[0257] 在某些实施方案中,CD70抗体或其抗原结合片段以0.1mg/kg至25mg/kg,优选以10mg/kg的剂量施用。作为替代或补充,BCL-2抑制剂,优选维奈托克或其可药用盐可以以100mg至600mg的剂量施用。在优选实施方案中,本文所述的方法包括施用另外包含阿扎胞苷的组合,其中阿扎胞苷以75mg/m²的剂量施用。在进一步优选的实施方案中,本文所述的方法包括施用另外包含地西他滨的组合,其中地西他滨以20mg/m²的剂量施用。

[0258] 在某些实施方案中,该方法还包括监测患者的母细胞的计数。患者的外周血和/或骨髓计数可以减少,例如减少到小于25%,例如减少到5%,例如减少到小于5%,例如减少到微小残留疾病水平,例如减少到检测不到的水平。在某些实施方案中,与预处理相比,骨髓母细胞计数减少至5%至25%,骨髓母细胞百分比减少超过50%。

[0259] 在某些实施方案中,该方法诱导部分缓解。在某些实施方案中,该方法诱导完全缓解,任选伴有血小板恢复和/或嗜中性粒细胞恢复。所述方法可以诱导红细胞或血小板或两者的输注非依赖性(transfusion independence)持续8周或更长、10周或更长、12周或更长。在某些实施方案中,所述方法降低了30天之后或60天之后的死亡率。

[0260] 在某些实施方案中,所述方法延长存活。例如,相对于用于治疗用所述组合进行治疗的特定髓性恶性肿瘤的护理剂(care agent)的标准,所述方法可延长存活。所述方法可引起为阴性的微小残留病状态。

[0261] 在某些实施方案中,所述方法还包括使对象进行骨髓移植的步骤。作为替代或补充,所述方法还可包括施用一种或更多种另外的抗癌剂的步骤。所述一种或更多种另外的癌症药剂可以选自适合于治疗髓性恶性肿瘤(优选AML)的任何药剂。一些优选的药剂可以选自:选择素(selectin)抑制剂(例如GMI-1271);FMS样酪氨酸激酶受体3(FLT3)抑制剂(例

如米哌妥林(midostaurin));周期素依赖性激酶(cyclin-dependent kinase)抑制剂;氨肽酶抑制剂;JAK/STAT抑制剂;阿糖胞苷;葱环类化合物(例如柔红霉素、伊达比星);多柔比星;羟基脲;Vyxeos;IDH1或IDH2抑制剂,例如Idhifa(或恩西地平(Enasidenib))或Tibsovo(或艾伏尼布(ivosidenib));Smoothered抑制剂,例如格拉德吉(Glasdegib);BET布罗莫结构域(bromodomain)抑制剂;CD123或CD33靶向剂;HDAC抑制剂;LSC靶向剂;AML骨髓龕(bone marrow niche)靶向剂和NEDD8激活酶抑制剂,例如佩沃塔特(Pevonedistat)。

[0262] 根据本文所述方法的CD70抗体或抗原结合片段可以使用任何合适的药物载体、佐剂和/或赋形剂来配制。用于配制用于人类治疗用途的抗体的技术在本领域中是众所周知的,并且在例如Wang等(2007) Journal of Pharmaceutical Sciences, 96:1-26(其内容整体并入本文)中进行了综述。可以用于配制抗体组合物的可药用赋形剂包括但不限于:离子交换剂;氧化铝;硬脂酸铝;卵磷脂;血清蛋白,如人血清白蛋白;缓冲剂物质,如磷酸盐、甘氨酸;山梨酸;山梨酸钾;饱和植物脂肪酸的部分甘油酯混合物;水;盐或电解质,如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐;硅胶;三硅酸镁;聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质(例如,羧甲基纤维素钠);聚乙二醇;聚丙烯酸酯;蜡;聚乙二醇-聚氧丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇、羊毛脂肪和透明质酸酶(例如PH20酶)。

[0263] 可以使用任何合适的药用载体、佐剂和/或赋形剂来配制BCL-2抑制剂(优选维奈托克或其可药用盐)。合适的药剂包括例如包封材料或添加剂,例如吸收促进剂、抗氧化剂、黏合剂、缓冲剂、包衣剂、着色剂、稀释剂、崩解剂、乳化剂、增量剂(extender)、填充剂、矫味剂、保湿剂、润滑剂、香料、防腐剂、抛射剂、释放剂、消毒剂、甜味剂、增溶剂、润湿剂,及其混合物。

[0264] 已经发现,CD70抗体特别是ARGX-110在相对低的剂量下对治疗髓性恶性肿瘤特别是AML是有效的。因此,在本发明所有方法的某些实施方案中,CD70抗体或其抗原结合片段以每剂量0.1mg/kg至30mg/kg的剂量施用。在本发明所有方法的某些实施方案中,CD70抗体或其抗原结合片段以每剂量0.1mg/kg至25mg/kg例如0.1mg/kg至20mg/kg的剂量施用。在某些实施方案中,CD70抗体或其抗原结合片段以每剂量1mg/kg至20mg/kg的剂量施用。除非另有说明,否则本文所述的范围包括范围的端点,例如,以0.1mg/kg至25mg/kg的剂量施用包括以0.1mg/kg的剂量施用和以25mg/kg的剂量施用、以及以两个端点之间的所有剂量施用。

[0265] 在本发明方法的某些实施方案中,CD70抗体或其抗原结合片段以0.1mg/kg至15mg/kg的剂量施用。在某些实施方案中,CD70抗体或其抗原结合片段以0.5mg/kg至2mg/kg的剂量施用。在某些实施方案中,CD70抗体或其抗原结合片段以1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg或20mg/kg的剂量施用。在某些优选实施方案中,CD70抗体或其抗原结合片段以1mg/kg的剂量施用。在某些优选实施方案中,CD70抗体或其抗原结合片段以10mg/kg的剂量施用。

[0266] 在某些实施方案中,施用多剂量的CD70抗体或抗原结合片段。在某些这样的实施方案中,每剂量的CD70抗体或其抗原结合片段间隔10至20天,任选地12至18天。在某些实施方案中,每剂抗CD70抗体间隔14至17天。

[0267] BCL-2抑制剂(优选维奈托克或其可药用盐)可以根据被确定为对于该化合物有效的任何方案给药。FDA规定的关于**VENCLEXTA®**在治疗AML中的用途的信息提出了给药方案,该给药方案具有上升阶段,随后是维持阶段。在将**VENCLEXTA®**与阿扎胞苷或地西他滨组合开处方的情况下,推荐给药方案由以下组成:第1天时100mg

VENCLEXTA®; 第2天时200mg VENCLEXTA®; 第3天时400mg

VENCLEXTA®; 以及此后每天400mg VENCLEXTA®与75mg/m²阿扎胞苷或20mg/m²地西他滨组合,直至观察到疾病进展或不可接受的毒性。在将VENCLEXTA®与低剂量阿糖胞苷组合开处方的情况下,推荐给药方案由以下组成:第1天时100mg VENCLEXTA®; 第2天时200mg VENCLEXTA®; 第3天时400mg

VENCLEXTA®; 以及此后每天600mg VENCLEXTA®与20mg/m²阿糖胞苷组合,直至观察到疾病进展或不可接受的毒性。

[0268] 在某些实施方案中,维奈托克或其可药用盐的每个剂量(例如经口剂量)为100mg至600mg。在某些实施方案中,维奈托克或其可药用盐以400mg每天给药。在某些实施方案中,维奈托克或其可药用盐以600mg每天给药。如上所述,在维奈托克的每天固定给药之前可以是上升期(例如3天),在这段时间内向患者施用提高的剂量的维奈托克直至达到维持每日剂量。

[0269] 在某些实施方案中,本文中所述的方法包括监测患者的母细胞计数,即母细胞的数量。本文中使用的“母细胞”是指原粒细胞(myeloblast)或髓样母细胞,其是骨髓内的髓样祖细胞。在健康的个体中,在外周血循环中未发现母细胞,并且骨髓中的母细胞应小于5%。在患有髓性恶性肿瘤(尤其是AML和MDS)的对象中,具有被破坏的分化潜能的异常母细胞的产生增多,并且可通过监测患者外周血循环或骨髓或这二者中的母细胞计数来检测这些异常母细胞的过量产生。

[0270] 骨髓或外周血中母细胞的比例可通过本领域中已知的方法来评估,例如,通过对从对象的骨髓活检或从外周血涂片获得的细胞进行流式细胞术或细胞形态学评估来评估。相对于样品中的总细胞来确定母细胞的比例。例如,流式细胞术可用于使用CD45^{dim}、SSC^{low}细胞数目来确定相对于总细胞数目的母细胞的比例。作为另外的实例,细胞形态学评估可以用于确定相对于所检查的视野中的细胞总数的形态学鉴定的母细胞的数目。

[0271] 在某些实施方案中,提供了用于将骨髓中母细胞的比例降低至小于25%、小于20%、例如小于10%的方法。在某些实施方案中,提供了用于将骨髓中母细胞的比例降低至小于5%的方法。在某些实施方案中,提供了用于将骨髓中母细胞的比例降低至约5%至约25%的方法,其中与在进行所述方法之前(或治疗前)骨髓母细胞百分比相比,骨髓母细胞百分比同样降低了超过50%。

[0272] 在某些实施方案中,提供了用于将外周血中母细胞的比例降低至小于25%、小于20%,例如小于10%的方法。在某些实施方案中,提供了用于将外周血中母细胞的比例降低至小于5%的方法。在某些实施方案中,提供了用于将外周血中母细胞的比例降低至约5%至约25%的方法,其中与在进行所述方法之前(或治疗前)外周血母细胞百分比相比,外周血母细胞百分比也降低了超过50%。

[0273] 为了临床确定母细胞百分比,通常细胞形态学(也称为细胞形态学(cytomorphology))评估是优选的。

[0274] 在一些具体的实施方案中,本文中所述的方法引起完全响应。在AML治疗的背景下,完全响应或“完全缓解”被定义为:骨髓母细胞<5%;没有循环母细胞和具有棒状小体

(Auer rod)的母细胞;没有髓外疾病;ANC $\geq 1.0 \times 10^9$ 个/L(1000 μ L);血小板计数 $\geq 100 \times 10^9$ 个/L(100,000 μ L),参见Döhner et al. (2017)Blood 129(4):424-447。

[0275] 所述方法可以实现伴有血小板恢复的完全响应,即其中血小板计数 $\geq 100 \times 10^9$ 个/L(100,000个/ μ L)的响应。所述方法可以实现伴有中性粒细胞恢复的完全响应,即其中中性粒细胞计数 $\geq 1.0 \times 10^9$ 个/L(1000个/ μ L)的响应。作为替代或补充,所述方法可以引起红细胞或血小板或这二者的输注非依赖性,持续8周或更长时间、10周或更长时间、12周或更长时间。

[0276] 在一些特别的实施方案中,本文中所述的方法引起为阴性的微小残留病或可测量残留病(measurable residual disease,或MRD)状态,参见Schuurhuis et al. (2018)Blood.131(12):1275-1291。

[0277] 在某些实施方案中,本文中所述的方法引起完全响应而没有微小残留病(CR_{MRD-}),参见Döhner et al. (2017)Blood 129(4):424-447。

[0278] 所述方法可以实现部分响应或引起部分缓解。在AML治疗的情况下,部分响应或部分缓解包括将骨髓母细胞百分比降低5%至25%,并将治疗前骨髓母细胞百分比降低至少50%,参见Döhner et al.,同上。

[0279] 本文中所述的方法可以延长存活。本文中使用的术语“存活”可以指总体存活、1年存活、2年存活、5年存活、无事件存活、无进展存活。与针对治疗的特定疾病或病症的金标准治疗相比,本文中所述的方法可延长存活。金标准治疗也可被鉴定为最佳实践、护理标准、标准医学护理或标准治疗。对于任何给定的疾病,根据不同的临床实践(例如在不同的国家中),可以存在一种或更多种金标准治疗。已经可用于髓性恶性肿瘤的治疗是多样化的,并且包括化学治疗、放射治疗、干细胞移植和某些靶向治疗。此外,美国和欧洲的临床指南均规定了髓性恶性肿瘤(例如AML)的标准治疗,参见O'Donnell et al. (2017)Journal of the National Comprehensive Cancer Network 15(7):926-957和Döhner et al. (2017)Blood 129(4):424-447,二者均通过引用并入。

[0280] 相对于经历针对髓性恶性肿瘤的任一种标准治疗的患者,本发明的方法可提高或改善存活。

[0281] 本文中所述的方法可以包括使患者或对象进行骨髓移植的另外的步骤。本文中所述的方法还可用于使患有髓性恶性肿瘤的患者或对象准备进行骨髓移植。如上所述,可实施本发明的方法以降低骨髓或外周血中母细胞的绝对数或相对数。在某些实施方案中,实施所述方法以降低移植之前骨髓和/或外周血中的母细胞计数。所述方法可用于将母细胞计数降低至小于5%,以使患者或对象准备进行骨髓移植。

[0282] 本发明的一个方面是鉴定和治疗将用抗CD70抗体或其抗原结合片段治疗的患者的方法,其中该患者患有髓性恶性肿瘤,该方法包括以下步骤:

[0283] (i) 测量患者的髓样分化状态;

[0284] (ii) 确定患者是否患有分化的单核细胞性AML,其中将患有分化的单核细胞性AML的患者鉴定为将用抗CD70抗体或其CD70结合片段治疗的患者;以及

[0285] (iii) 向被鉴定为将用抗CD70抗体或其CD70结合片段治疗的患者的患者施用抗CD70抗体或其CD70结合片段。

[0286] 在某些实施方案中,步骤(i)和(ii)在获自患有髓性恶性肿瘤的患者的样品中进行。

[0287] 在某些实施方案中,患者的骨髓样品包含

[0288] CD45^亮/SSC^高/CD38⁺/CD34⁻/CD33⁺/CD11b⁺/CD70⁺表型细胞,或

[0289] CD45^亮/SSC^高/CD34⁻/CD117⁻/CD11b⁺/CD68⁺/CD14⁺/CD64⁺表型细胞。

[0290] C. 医疗用途

[0291] 在另一方面,本发明提供了用于治疗的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段。特别地,与CD70结合的抗体或其抗原结合片段用于治疗人对象的髓性恶性肿瘤。特别地,与CD70结合的抗体或其抗原结合片段用于治疗对BCL-2抑制剂治疗有抗性的人对象的髓性恶性肿瘤。

[0292] 在特定实施方案中,基于一种或更多种标志物的分化表达水平,将人对象鉴定为患有分化型单核细胞AML。

[0293] 在特定的实施方案中,治疗之前进行选择,包括以下步骤:

[0294] (i) 测量人对象的髓样分化状态,以及

[0295] (ii) 确定人对象是否患有分化的单核细胞AML,以及

[0296] 其中向患有分化的单核细胞AML的人对象施用治疗有效剂量的抗CD70抗体或其抗CD70结合片段。

[0297] 在另一方面,本发明提供了用于在治疗人对象的髓性恶性肿瘤的方法中使用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,所述方法包括以下步骤:

[0298] (a) 选择对BCL-2抑制剂具有降低的敏感性或是难治性的患有髓性恶性肿瘤的人对象;以及

[0299] (b) 向人对象施用与CD70结合的抗体或其抗原结合片段。

[0300] 在某些实施方案中,提供了用于如本文所述在治疗人对象的髓性恶性肿瘤的方法中使用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段与BCL-2抑制剂结合施用。

[0301] 在某些实施方案中,提供了用于如本文所述在治疗人对象的髓性恶性肿瘤的方法中使用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段与低甲基化剂(hypomethylating agent,HMA)结合施用。

[0302] 在某些实施方案中,提供了用于如本文所述在治疗人对象的髓性恶性肿瘤的方法中使用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段,其中抗体或其抗原结合片段与BCL-2抑制剂和低甲基化剂(HMA)结合施用。

[0303] 在某些实施方案中,提供了用于如本文所述在治疗人对象的髓性恶性肿瘤的方法中使用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段和BCL-2抑制剂的组合。

[0304] 在某些实施方案中,提供了用于如本文所述在治疗人对象的髓性恶性肿瘤的方法中使用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段和低甲基化剂(HMA)的组合。

[0305] 在某些实施方案中,提供了用于如本文所述在治疗人对象的髓性恶性肿瘤的方法中使用的与CD70结合的抗体或其抗原结合片段、BCL-2抑制剂和低甲基化剂(HMA)的组合。

[0306] 在某些实施方案中,与CD70结合的抗体为库萨图珠单抗。在某些实施方案中,BCL-2抑制剂为维奈托克或其药学上可接受的盐。在某些实施方案中,HMA为阿扎胞苷。在某些实

施方案中,组合为库萨图珠单抗、维奈托克和阿扎胞苷。

[0307] 在某些实施方案中,髓性恶性肿瘤为AML。在某些实施方案中,髓性恶性肿瘤为单核细胞AML。在某些实施方案中,基于一种或更多种标记物的差异表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。

[0308] 在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞中选自以下的至少一种标记物的差异表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML:BCL-2、CD117、CD11b、CD68、CD64、BCL2A1、和MCL1。相关表达水平可以使用任何合适的方法确定,包括但不限于荧光激活细胞分选法(fluorescence-activated cell sorting,FACS)、使用对相关细胞表面分子特异的可检测(例如,荧光标记)抗体的荧光显微术和mRNA表达分析。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞中选自以下的至少一种标记物的差异表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML:BCL-2、CD117、CD11b、CD68、CD64、BCL2A1、和MCL1。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞中选自以下的至少一种标记物的差异表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML:BCL-2、CD117、CD11b、CD68、CD64、BCL2A1、和MCL1。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的BCL-2的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的CD117的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的CD11b的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的CD68的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的CD64的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞BCL2A1的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的MCL1的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。

[0309] 在某些实施方案中,BCL-2和CD117中的至少一种的表达水平下调,以及CD11b、CD68、CD64、CD70、BCL2A1和MCL1中的至少一种上调。在某些实施方案中,BCL-2的表达水平下调,以及CD11b的表达水平上调。在某些实施方案中,BCL-2的表达水平下调,以及CD68的表达水平上调。在某些实施方案中,BCL-2的表达水平下调,以及CD64的表达水平上调。在某些实施方案中,BCL-2的表达水平下调,以及CD70的表达水平上调。在某些实施方案中,BCL-2的表达水平下调,以及BCL2A1的表达水平上调。在某些实施方案中,BCL-2的表达水平下调,以及MCL1的表达水平上调。在某些实施方案中,CD117的表达水平下调,以及CD11b的表达水平上调。在某些实施方案中,CD117的表达水平下调,以及CD68的表达水平上调。在某些实施方案中,CD117的表达水平下调,以及CD64的表达水平上调。在某些实施方案中,CD117的表达水平下调,以及CD70的表达水平上调。在某些实施方案中,CD117的表达水平下调,以及BCL2A1的表达水平上调。在某些实施方案中,CD117的表达水平下调,以及MCL1的表达水平上调。

[0310] 在另外的实施方案中,基于选自CD117、CD11b和CD68的至少一种标记物的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的CD117的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的CD11b的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的CD68的表达水平,将人对象鉴定为患有

分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,CD117的表达水平下调。在某些实施方案中,CD11b的表达水平上调。在某些实施方案中,CD68的表达水平上调。在某些实施方案中,CD11b的表达水平上调,以及CD68的表达水平上调。在某些实施方案中,CD117的表达水平下调,CD11b的表达水平上调,以及CD68的表达水平上调。

[0311] 在另外的实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞中选自以下的至少一种标记物的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML:CD64、CD34、CD117、CD11b、CD68和CD14。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的CD64的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的CD34的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的CD117的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的CD11b的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的CD68的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的CD14的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,CD64的表达水平上调。在某些实施方案中,CD34的表达水平下调。在某些实施方案中,CD117的表达水平下调。在某些实施方案中,CD11b的表达水平上调。在某些实施方案中,CD68的表达水平上调。在某些实施方案中,CD14的表达水平上调。在某些实施方案中,CD64的表达水平上调,以及CD34的表达水平下调。在某些实施方案中,CD64的表达水平上调,以及CD117的表达水平下调。在某些实施方案中,CD64的表达水平上调,以及CD11b的表达水平上调。在某些实施方案中,CD64的表达水平上调,以及CD68的表达水平上调。在某些实施方案中,CD64的表达水平上调,以及CD14的表达水平上调。在某些实施方案中,CD34的表达水平下调,以及CD117的表达水平下调。在某些实施方案中,CD34的表达水平下调,以及CD11b的表达水平上调。在某些实施方案中,CD34的表达水平下调,以及CD68的表达水平上调。在某些实施方案中,CD34的表达水平下调,以及CD14的表达水平上调。在某些实施方案中,CD117的表达水平下调,以及CD14的表达水平上调。在某些实施方案中,CD68的表达水平上调,以及CD14的表达水平上调。在某些实施方案中,CD64的表达水平上调,CD34的表达水平下调,以及CD117的表达水平下调。在某些实施方案中,CD64的表达水平上调,CD34的表达水平下调,以及CD11b的表达水平上调。在某些实施方案中,CD64的表达水平上调,CD34的表达水平下调,以及CD68的表达水平上调。在某些实施方案中,CD64的表达水平上调,CD34的表达水平下调,以及CD14的表达水平上调。在某些实施方案中,CD64的表达水平上调,CD117的表达水平下调,以及CD14的表达水平上调。在某些实施方案中,CD64的表达水平上调,CD68的表达水平上调,以及CD14的表达水平上调。在某些实施方案中,CD34的表达水平下调,CD117的表达水平下调,以及CD11b的表达水平上调。在某些实施方案中,CD34的表达水平下调,CD117的表达水平下调,以及CD68的表达水平上调。在某些实施方案中,CD34的表达水平下调,CD11b的表达水平上调,以及CD68的表达水平上调。在某些实施方案中,CD34的表达水平下调,CD117的表达水平下调,以及CD14的表达水平上调。在某些实施方案中,CD34的表达水平下调,CD11b的表达水平上调,以及CD14的表达水平上调。在某些实施方案中,CD117的表达水平下调,CD11b的表达水平上调,以及CD14的表达水平上调。在某些实施方案中,CD34的表达水平下调,CD68的表达水平上调,以及CD14的表达水平上调。在某些实施方案中,CD117的表达水平下调,CD68的表达水平

[illegible]

[0312] 在另外的实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞中选自以下的至少一种标记物的表达水平:CD34、CD38、CD11b、CD33和CD70,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的CD34的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的CD38的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞的CD11b的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞CD33的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,基于人对象的恶性骨髓细胞CD70的表达水平,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞

AML。在某些实施方案中,CD34的表达水平下调。在某些实施方案中,CD38的表达水平上调。在某些实施方案中,CD11b的表达水平上调。在某些实施方案中,CD33的表达水平上调。在某些实施方案中,CD70的表达水平上调。在某些实施方案中,CD34的表达水平下调,以及CD38的表达水平上调。在某些实施方案中,CD34的表达水平下调,以及CD33的表达水平上调。在某些实施方案中,CD34的表达水平下调,以及CD70的表达水平上调。在某些实施方案中,CD38的表达水平上调,以及CD33的表达水平上调。在某些实施方案中,CD38的表达水平上调,以及CD11b的表达水平上调。在某些实施方案中,CD38的表达水平上调,以及CD70的表达水平上调。在某些实施方案中,CD33的表达水平上调,以及CD11b的表达水平上调。在某些实施方案中,CD33的表达水平上调,以及CD70的表达水平上调。在某些实施方案中,CD38的表达水平上调,CD33的表达水平上调,以及CD34的表达水平下调。在某些实施方案中,CD38的表达水平上调,CD33的表达水平上调,以及CD11b的表达水平上调。在某些实施方案中,CD38的表达水平上调,CD34的表达水平下调,以及CD11b的表达水平上调。在某些实施方案中,CD33的表达水平上调,CD34的表达水平下调,以及CD11b的表达水平上调。在某些实施方案中,CD38的表达水平上调,CD33的表达水平上调,以及CD70的表达水平上调。在某些实施方案中,CD38的表达水平上调,CD34的表达水平下调,以及CD70的表达水平上调。在某些实施方案中,CD33的表达水平上调,CD34的表达水平下调,以及CD70的表达水平上调。在某些实施方案中,CD38的表达水平上调,CD11b的表达水平上调,以及CD70的表达水平上调。在某些实施方案中,CD33的表达水平上调,CD11b的表达水平上调,以及CD70的表达水平上调。在某些实施方案中,CD34的表达水平下调,CD11b的表达水平上调,以及CD70的表达水平上调。在某些实施方案中,CD38的表达水平上调,CD33的表达水平上调,CD34的表达水平下调,以及CD11b的表达水平上调。在某些实施方案中,CD38的表达水平上调,CD33的表达水平上调,CD34的表达水平下调,以及CD70的表达水平上调。在某些实施方案中,CD38的表达水平上调,CD33的表达水平上调,CD11b的表达水平上调,以及CD70的表达水平上调。在某些实施方案中,CD38的表达水平上调,CD34的表达水平下调,CD11b的表达水平上调,以及CD70的表达水平上调。在某些实施方案中,CD33的表达水平上调,CD34的表达水平下调,CD11b的表达水平上调,以及CD70的表达水平上调。在某些实施方案中,CD38的表达水平上调,CD33的表达水平上调,CD34的表达水平下调,以及CD70的表达水平上调。

[0313] 在另外的实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞中选自以下的至少一种标记物的表达水平:CD38、CD11b和CD33,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,CD38的表达水平上调,CD33的表达水平上调,以及CD11b的表达水平上调。

[0314] 在另外的实施方案中,基于人对象的恶性髓系细胞中选自以下的至少一种标记物的表达水平:CD45、CD11b和CD117,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,CD45的表达水平上调。在某些实施方案中,CD45的表达水平上调,以及CD11b的表达水平上调。在某些实施方案中,CD45的表达水平上调,以及CD117的表达水平下调。在某些实施方案中,CD45的表达水平上调,CD11b的表达水平上调,以及CD117的表达水平下调。

[0315] 在另外的实施方案中,基于CD45的表达水平和确定SSC值,将人对象鉴定为患有分化的单核细胞AML。在某些实施方案中,细胞特征为CD45^亮和SSC^高。

[0316] 在一个特定的实施方案中,BCL-2抑制剂(例如,维奈托克)的历史治疗已经上调在髓系细胞上的CD70表达。BCL-2治疗失败的髓性恶性肿瘤患者然后可以用与CD70结合的抗

体或其抗原结合片段(例如库萨图珠单抗)治疗。用与CD70结合的抗体或其抗原结合片段治疗而上调在髓系细胞上的BCL-2表达。因此,用BCL-2抑制剂(例如,维奈托克)和与CD70结合的抗体或其抗原结合片段(例如,库萨图珠单抗)治疗在髓性恶性肿瘤患者中具有相互影响并改善这些患者的治疗反应。在一个特定的实施方案中,抗-CD70抗体或其CD70结合片段与BCL-2抑制剂结合(共同施用)用于治疗对BCL-2抑制剂治疗有抗性的患者的髓性恶性肿瘤。在某些实施方案中,测量人对象的恶性髓系细胞的CD70表达水平。相关表达水平可以使用任何合适的方法来确定,包括但不限于荧光激活细胞分选法(FACS)和使用对CD70特异的可检测(例如,荧光标记)抗体的荧光显微术。

[0317] 在某些实施方案中,患者的骨髓样本包括CD45^亮/SSC^高/CD38⁺/CD34⁻/CD33⁺/CD11b⁺/CD70⁺表型细胞或者CD45^亮/SSC^高/CD34⁻/CD117⁻/CD11b⁺/CD68⁺/CD14⁺/CD64⁺表型细胞。

[0318] 本文描述的与根据本发明前述方面的治疗方法相关的所有实施方案(特别参见部分B)同样适用于本发明的这些另外的方面和实施方案。

[0319] D. 用于制造药物的用途

[0320] 另一方面,本发明提供了与CD70结合的抗体或其抗原结合片段用于制造药物的用途。特别地,所述药物特别用于治疗人对象的髓性恶性肿瘤,其中所述对象是根据本文所述的方法鉴定的。

[0321] 在某些实施方案中,提供了与CD70结合的抗体或其抗原结合片段和BCL-2抑制剂的组合用于制造本文所述的用于治疗人对象的髓性恶性肿瘤的药物的用途。

[0322] 在某些实施方案中,提供了与CD70结合的抗体或其抗原结合片段和低甲基化剂(HMA)的组合用于制造本文所述的用于治疗人对象的髓性恶性肿瘤的药物的用途。

[0323] 在某些实施方案中,提供了与CD70结合的抗体或其抗原结合片段、BCL-2抑制剂和低甲基化剂(HMA)的组合用于制造本文所述的用于治疗人对象的髓性恶性肿瘤的药物的用途。

[0324] 本文描述的与根据本发明前述方面的治疗方法相关的所有实施方案(特别参见部分B和部分C)同样适用于本发明的这些另外的方面和实施方案。

[0325] E. 诊断方法

[0326] 本发明的另外的方面涉及诊断方法。因此,一方面,本发明提供了鉴定待用抗-CD70抗体或其抗原结合片段治疗的患者的方法,其中患者患有髓性恶性肿瘤并根据包括以下步骤的方法进行选择:

[0327] (i) 测量患者的髓样分化状态,以及

[0328] (ii) 确定患者是否患有分化的单核细胞AML,

[0329] 其中将患有分化的单核细胞AML的患者鉴定为待用抗-CD70抗体或其CD70结合片段治疗的患者。

[0330] 在某些实施方案中,该方法的步骤(i)和(ii)是在从患者获得的样本中测量和确定。

[0331] 如本文所用,样本包括可从患有髓性恶性肿瘤的患者获得的任何组织或液体样本。样本可以用于确定患者的髓样分化状态。样本可以包含可检测量的标记物,优选单核细胞标记物。术语样本包括从对象分离的组织、细胞和生物液体以及存在于对象中的组织、细胞和液体。因此,在一些实施方案中,该方法用于确定患者的髓样分化状态或者体外检测标

记物。如本文所用的“液体”包括例如唾液、粘液、尿液、血液、淋巴液等。在一些实施方案中，样本包括从患有髓性恶性肿瘤的患者获得的血液或血液的一部分或组分，例如血清、血浆或淋巴。在另一些实施方案中，样本包括从患有髓性恶性肿瘤的患者获得的骨髓。

[0332] 因此，在另外的实施方案中，提供了鉴定待用抗-CD70抗体或其抗原结合片段治疗的患者方法，其中患者患有髓性恶性肿瘤并且根据包括以下步骤的方法进行选择：

[0333] (i) 测量从患有髓性恶性肿瘤的患者获得的样本的髓样分化状态；

[0334] (ii) 确定样本是否患有分化的单核细胞AML；以及

[0335] 其中样本中存在分化的单核细胞AML，则将获得该样本的患者鉴定为待用抗-CD70抗体或其CD70结合片段治疗的患者。

[0336] 在某些实施方案中，髓样分化状态根据FAB分类系统确定。FAB系统是一种根据其分化状态分开患有AML的患者的充分描述且临床相关的方法。该系统根据白血病形成的细胞的类型和细胞的成熟程度对AML进行分类。在某些实施方案中，髓样分化状态为AML-M5。在另一些实施方案中，髓样分化状态为AML-M4。在另一些实施方案中，髓样分化状态根据WHO分类系统确定。

[0337] 在另外的方面，可以将从患有髓性恶性肿瘤的患者获得的样本中的分化的单核细胞AML的水平与对于分化的单核细胞AML的水平的预定截止值进行比较。这允许进行评估患者的分化的单核细胞AML的水平是否高于、低于、不高于或不低于预定截止值。这样的比较允许进行决定患者是否被选择用于用抗-CD70抗体或其抗原结合片段治疗。

[0338] 在另外的方面，提供了鉴定待用抗-CD70抗体或其抗原结合片段治疗的患者方法，其中患者患有髓性恶性肿瘤并且根据包括以下步骤的方法进行选择：

[0339] (i) 确定从患有髓性恶性肿瘤的患者获得的样本的分化的单核细胞AML的水平；

[0340] (ii) 将(i)中的分化的单核细胞AML的水平与对于分化的单核细胞AML的预定截止值进行比较，

[0341] 其中如果在患者样本中确定的分化的单核细胞AML的水平高于预定截止值，则患者被选择用于用抗-CD70抗体或其CD70结合片段治疗。

[0342] 在另一个方面，提供了鉴定待用抗-CD70抗体或其抗原结合片段治疗的患者方法，其中患者患有髓性恶性肿瘤并且根据包括以下步骤的方法进行选择：

[0343] (i) 确定从患有髓性恶性肿瘤的患者获得的样本的分化的单核细胞AML的水平；

[0344] (ii) 将(i)中的分化的单核细胞AML的水平与对于分化的单核细胞AML的预定截止值进行比较，

[0345] 其中如果在患者样本中确定的分化的单核细胞AML的水平不高于预定截止值，则患者被选择用于用抗-CD70抗体或其CD70结合片段治疗。

[0346] 在另一个方面，提供了鉴定待用抗-CD70抗体或其抗原结合片段治疗的患者方法，其中患者患有髓性恶性肿瘤并且根据包括以下步骤的方法进行选择：

[0347] (i) 确定从患有髓性恶性肿瘤的患者获得的样本的分化的单核细胞AML的水平；

[0348] (ii) 将(i)中的分化的单核细胞AML的水平与对于分化的单核细胞AML的预定截止值进行比较，

[0349] 其中如果在患者样本中确定的分化的单核细胞AML的水平低于预定截止值，则患者被选择用于用抗-CD70抗体或其CD70结合片段治疗。

[0350] 在另外的方面,提供了鉴定待用抗-CD70抗体或其抗原结合片段治疗的患者的方法,其中患者患有髓性恶性肿瘤并且根据包括以下步骤的方法进行选择:

[0351] (i) 确定从患有髓性恶性肿瘤的患者获得的样本的分化的单核细胞AML的水平;

[0352] (ii) 将(i)中的分化的单核细胞AML的水平与对于分化的单核细胞AML的预定截止值进行比较,

[0353] 其中如果在患者样本中确定的分化的单核细胞AML的水平不低于预定截止值,则患者被选择用于用抗-CD70抗体或其CD70结合片段治疗。

[0354] 在一些实施方案中,对于分化的单核细胞AML的预定截止值是对AML患者的对照组群的分化的单核细胞AML的平均水平。本文描述的与根据本发明前述方面的治疗方法相关的所有实施方案(特别参见部分B和部分C)同样适用于本发明的这些另外的方面和实施方案。

[0355] 引用并入

[0356] 在前面的描述和以下实施例通篇中引用了多种出版物,其各自通过引用整体并入本文。

[0357] 实施例

[0358] 实施例1. 患有单核细胞疾病AML的患者更可能对维奈托克+阿扎胞苷难治

[0359] 为了测试分化状态是否可以在临床上预测对维奈托克+阿扎胞苷(VEN+AZA)的反应性,回顾性研究了接受VEN+AZA的100名连续的、新诊断的、既往未治疗的患有AML的患者。对几个基线因素进行了分析以确定各自预测对由欧洲白血病网络定义的治疗难治的疾病的能力[ELN;没有完全缓解(CR)、伴有外周血计数不完全恢复的CR(CRi)、部分缓解(PR)或无形态学白血病状态(morphologic leukemia free state,MLFS);Dohner H et al., Blood 2017;129:424-47.].该组群的中位年龄为72岁;20名患者(20%)患有记录在案的先前血液学疾病;按照ELN标准,64名患者(64%)患有不良风险的疾病。

[0360] 为了具体检查与髓样分化相关的特征,最初采用了FAB(法国、美国、英国)分类系统。虽然该系统不再用于临床目的,但它提供了一种凭借髓样分化状态来分开患有AML的患者的充分描述和临床相关的方法。在经VEN+AZA治疗的患者组群中,将13名患者(13%)鉴定为FAB-M5亚型(其被定义为单核细胞AML的更加分化的表型),8名(8%)为FAB-M4,77名(77%)为FAB-M0或FAB-M1(表明更少分化的表型)。单变量分析显示性别($P=0.0495$)、存在RAS路径突变($P=0.0039$)和FAB-M5成熟状态($P<0.0001$)与对VEN+AZA难治的疾病相关(表2)。多变量分析显示仅FAB-M5成熟状态($P=0.0066$)可预测难治性反应(表2)。具体地,62%的FAB-M5患者对VEN+AZA是难治性的,而0%的FAB-M4患者和仅8%的非FAB-M5患者是难治性的。此外,与非FAB-M5患者的518天($P=0.0039$)相比,FAB-M5患者的中位总生存为89天。这些发现表明髓样分化状态与对基于维奈托克的治疗的抗性之间强的相关性。

[0361] 应注意,**Kuusanmäki** et al. (2020) Haematologica 105(3):708-720报道:基于离体测试,在总的单核的细胞级分中,在M0/1AML中观察到最高的BCL2/MCL1基因表达比例,并且在M4/5AML中最低。该小组还报道,基于离体表征和药物敏感性测试,富含单核的细胞的AML样本的基因表达数据表明M4/5AML具有低的BCL2表达但高的MCL1和BCL2A1表达,与在M4/5样本的总的单核的细胞级分的情况下所观察到的维奈托克敏感性降低一致。

[0362] 表2. 接受VEN+AZA治疗的患有新诊断的、既往未治疗的AML的100名连续患者的基

线特征以及单变量和多变量逻辑回归分析

[0363]

基线变量	值	作为难治性疾病的预测因子的单变量分析		作为难治性疾病的预测因子的多变量分析	
		OR (95% CI)	P值	OR (95% CI)	P值
年龄 (中位)	71.5 (22-89)	0.984 (0.947-1.022)	0.4028		
性别 (女)	51 (51%)	3.401 (1.002-11.539)	0.0495	2.096 (0.417-10.544)	0.3694
先前的血液学疾病	20 (20%)	0.573	0.4884		
复杂的细胞遗传学	28 (28%)	2.667 (0.863-8.237)	0.0883		
ELN预后组					
有利的	18 (18%)				
中间	17 (17%)	4.078 (0.494-33.643)	0.0697		
不利的	64 (64%)				
NA	1 (1%)				
RAS路径突变	14 (14%)	6.417 (1.813-22.708)	0.0039	2.266 (0.201-25.522)	0.5080
TP53	10 (10%)	1.481 (0.282-7.766)	0.6424		
IDH1/IDH2	27 27(%)	NE	0.9521		
NPM1	27 (27%)	0.162 (0.020-1.298)	0.0865	0.488 (0.034-6.966)	0.5967
FLT3-ITD	18 (18%)	0.663 (0.136-3.273)	0.6119		
ASXL1	24 (24%)	1.182 (0.339-4.122)	0.7932		
FAB分类					
M0/M1	77 (77%)	0.131 (0.040-0.428)	0.0008		
M2	1 (1%)				
M4	8 (8%)	NE	0.9745		
M5	13 (13%)	18.285 (4.701-71.129)	<0.0001	33.481 (2.657-421.90)	0.0066
M6a	1 (1%)				

[0364] NA,不可用

[0365] NE,不可估计

[0366] 实施例2.单核细胞AML对VEN+AZA本质是抗性的

[0367] 为了了解单核细胞AML对VEN+AZA缺乏反应是否由固有机理驱动,直接评估了VEN+AZA体外敏感性,其中对诸如微环境等的外在因素的保护最小。由于FAB系统不再用于临床目的,因此采用表型标记物充当FAB-M5亚型的替代物。既往的研究显示FAB-M5患者失去了原始标记物CD117的表达并上调了单核细胞标记物CD11b、CD68和CD64的表达。Xu Y et al. (2006) *Leukemia* 20:1321-4; Garcia C et al. (2008) *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 16:417-21; Cascavilla N et al. (1998) *Haematologica* 83:392-7; Di Noto R et al. (1996) *Br J Haematol* 92:562-4; Naeim F., *Atlas of Hematopathology: Morphology, Immunophenotype, Cytogenetics, and Molecular Approaches*. 1st ed. London: Academic Press; 2013. pxi, 743p。因此,设计包含CD117、CD11b、CD68和CD64的多色流式细胞术面板以区分患有单核细胞AML (FAB-M5) 的患者和患有原始AML (FAB-M0/M1/M2) 的患者。如图1所示,这种方法很容易区分患有AML的患者的两个主要细胞种群。例如,患者51 (Pt-51; 典型的FAB-M0/M1/M2) 呈现出如CD45-中等/SSC-低/CD117+/CD11b-/CD68-所证实的在表型上是原始的单一显性疾病种群 (图1A)。该患者经VEN+AZA治疗实现了完全缓解 (CR)。相比之下, Pt-72 (典型的FAB-M5) 对VEN+AZA是难治性的, 并呈现出为CD45-亮/SSC-高/CD117-/CD11b+/CD68+的显性单核细胞疾病 (图1B)。另外12个原发性AML样本的分析证实了原始样本与单核细胞样本的表型谱 (图1C)。此后,这些AML分别被称为“prim-AML”或“mono-AML”。

[0368] 多项研究表明,白血病干细胞 (leukemic stem cell, LSC) 是AML治疗的重要目标。Pollyea DA et al. (2017) *Blood* 129:1627-35。既往的研究显示低反应性氧物质 (ROS低) 的表型丰富了功能定义的LSC。Lagadinou ED et al. (2013) *Cell Stem Cell* 12:329-41; Pei S et al. (2018) *Cell Stem Cell* 23:86-100.e6。因此,为了更直接地评估在LSC亚群中的药物反应性,从prim-AML和mono-AML样本中分离出ROS低的细胞。由于从未直接通过ROS水平来表征mono-AML,因此菌落形成单位 (CFU) 测定证实,ROS低的表型丰富了mono-AML中的干细胞/祖细胞潜力。这些数据表明ROS低的表型强有力地丰富了mono-AML中的干细胞/祖细胞潜力,类似于对prim-AML所报道的。然后在体外用VEN+AZA处理来自prim-AML或mono-AML的ROS低的亚群。结果显示mono-AML样本的ROS低的LSC比prim-AML样本的ROS低的LSC明显更具抗性 (图1D), 这表明在FAB-M5患者中看到的难治性反应可以至少部分归因于单核细胞AML细胞中独特存在的固有分子机制。图1改编自Pei et al. (2020)。

[0369] 实施例3.单核细胞AML丢失维奈托克靶向BCL-2的表达

[0370] 维奈托克是一种BCL-2特异性抑制剂,并且多项研究显示BCL-2表达与维奈托克体外敏感性密切相关。Souers AJ et al. (2013) *Nat Med* 19:202-8; Pan R et al. (2014) *Cancer Discov* 4:362-75。在与细胞凋亡调节相关的基因中,分析显示:与prim-AML (N=7; 图2A) 相比,mono-AML (N=5) 中BCL2的丢失显著且一致。TCGAAML数据集的分析还显示BCL2基因表达在AML形态成熟阶段 (FAB-M0至FAB-M5) 逐渐丢失。结果,在TCGAAML数据集中,相对于FAB-M0/M1/M2,在FAB-M5中观察到BCL2的表达显著降低 (图2B)。此外,在蛋白质水平上证实了mono-AML中BCL-2的表达降低 (图2C)。有趣的是,BCL-2的丢失也发生在正常的单核细胞发育期间。Novershtern N et al. (2011) *Cell* 144:296-309; Lara-Astiaso D et al. (2014) *Science* 345:943-9。在人和鼠系统二者的单核细胞阶段发现了BCL-2的一致丢失。

[0371] 总之,这些分析表明BCL-2丢失是正常单核细胞和恶性单核细胞二者发育期间的保守生物学特征。此外,数据表明单核细胞AML中BCL-2丢失可能会引起对基于维奈托克的治疗的抗性。图2改编自Pei et al. (2020)。

[0372] 实施例4. 维奈托克+阿扎胞苷 (VEN+AZA) 在复发时选择单核细胞疾病

[0373] 基于上述发现,研究了单核细胞疾病在最初对VEN+AZA治疗有反应但随后复发的患者中的明显程度。在对在VEN+AZA治疗之前的患有AML的患者进行分析时,注意到大多数患者实际上呈现出显示单核细胞表型和原始表型的混合的肿瘤,被称为“MMP-AML”(混合的单核细胞AML/原始AML)。在治疗过程期间分析了两名患有MMP-AML的患者(Pt-12、Pt-65)的特征(图3A和3B)。在初始完全缓解后复发时,两名患者都显示出原始亚群几乎完全丢失并且出现显性单核细胞表型(CD45^亮/SSC^高/CD117⁻/CD11b⁺/CD68⁺)。因此,VEN+AZA治疗似乎诱导每位患者中单核细胞亚群的异常体内选择(图3A和3B)。

[0374] 值得注意的是,这种单核细胞选择表型似乎是VEN+AZA治疗的独特临床特征。事实上,对经常规化疗治疗的患者的既往分析显示出更原始的LSC表型的一致丰富。Ho TC et al. (2016) Blood 128:1671-8。

[0375] 为了进一步证实该发现,对来自Shlush及其同事的不同研究的11对在常规化疗之后的诊断复发的样本的RNA-seq数据进行了分析。Shlush LI et al. (2017) Nature 547:104-8。在这种背景下,观察到LSC基因表达特征的增加、以及单核细胞标记物(CD11b和CD68)和复发时的单核细胞基因表达特征的丢失,这表明化疗后髓样表型受到抑制。

[0376] 最后,比较了来自6名经常规化疗治疗的患有AML的患者的配对诊断与复发样本。单核细胞表型在复发时在任何情况下都不明显。事实上,对于2名在诊断时患有单核细胞特征的患者,观察到在复发时转变为更原始的表型。

[0377] 总之,这些数据表明,常规化疗后的复发强烈倾向于原始表型,而复发时选择单核细胞表型似乎是VEN+AZA治疗的明显特征。图3改编自Pei et al. (2020)。

[0378] 实施例5. 对单独维奈托克-库萨图珠单抗具有降低的敏感性的患者的治疗

[0379] 选择两名或更多名患有对维奈托克具有降低的敏感性或是难治性的AML的成年人患者用于分析。患者每12至14天一次以约10mg/kg的剂量静脉(i.v.)施用库萨图珠单抗。在开始库萨图珠单抗(治疗前基线)之前测量患者的母细胞计数,然后至少在最后一次或最近一次剂量库萨图珠单抗后两周结束的时期每周监测。流式细胞术被用于使用CD45^{dim}、SSC^低细胞相对于总细胞数的数量来确定母细胞的比例。母细胞计数从治疗前基线减少至少5%表明干预成功。

[0380] 实施例6. 对维奈托克-库萨图珠单抗结合维奈托克具有降低的敏感性的患者的治疗

[0381] 选择两名或更多名患有对维奈托克具有降低的敏感性或是难治性的AML的成年人患者用于分析。患者每12至14天一次以约10mg/kg的剂量静脉(i.v.)施用库萨图珠单抗。从第二剂量库萨图珠单抗开始,患者还每天以400mg至600mg的剂量口服(p.o.)维奈托克,其中增加配药计划从第一剂量100mg开始,并以100mg/天增加直至达到400mg至600mg的目标日剂量。在开始库萨图珠单抗(治疗前基线)之前测量患者的母细胞计数,然后至少在最后一次或最近一次剂量库萨图珠单抗后两周结束的时期每周监测。流式细胞术被用于使用CD45^{dim}、SSC^低细胞相对于总细胞数的数量来确定母细胞的比例。母细胞计数从治疗前基线

减少至少5%表明干预成功。

[0382] 实施例7.对维奈托克-库萨图珠单抗结合维奈托克和阿扎胞苷具有降低的敏感性的患者的治疗

[0383] 选择两名或更多名患有对维奈托克具有降低的敏感性或是难治性的AML的成年人患者用于分析。患者每12至14天一次以约10mg/kg的剂量静脉(i.v.)施用库萨图珠单抗。从第二剂量库萨图珠单抗开始,患者还每天以400mg至600mg的剂量口服(p.o.)维奈托克,其中增加配药计划从第一剂量100mg开始,并以100mg/天增加直至达到400mg至600mg的目标日剂量。同样从第二剂量库萨图珠单抗开始,患者还每天皮下(s.c.)或静脉施用阿扎胞苷75mg/m²持续7天;一次重复周期是每4周施用一次。在开始库萨图珠单抗(治疗前基线)之前测量患者的母细胞计数,然后至少在最后一次或最近一次剂量库萨图珠单抗后两周结束的时期每周监测。流式细胞术被用于使用CD45^{dim}、SSC^低细胞相对于总细胞数的数量来确定母细胞的比例。母细胞计数从治疗前基线减少至少5%表明干预成功。

[0384] 实施例8.与较少分化的原始AML细胞相比,单核细胞AML细胞表达显著更高的CD70水平

[0385] CD70 mRNA表达的分析显示:在来自患有FAB M5亚型的AML患者的骨髓样本(包括至少80%的在单核细胞方向分化的细胞(单核细胞AML))中,CD70表达在转录水平上高平均至少6倍(图4)。单核细胞AML细胞在表型上不同于更少分化的AML细胞(原始AML和成熟AML, FAB M0-M2),并且被分类为CD45^亮/SSC^高/CD117⁻/CD11b⁺/CD68⁺。这与原始AML细胞形成对比,原始AML细胞在流式细胞术分析中显示CD45^{中等}/SSC^低/CD117⁺/CD11b⁻/CD68⁻表型(Pei et al. 2020)。在FAB AML亚型中对VEN+AZA组合的响应的分析显示来自FAB M5亚型的单核细胞母细胞与对VEN+AZA组合难治性的疾病相关。具体地,62%的FAB M5患者和仅8%的非FAB M5患者对VEN+AZA组合是难治性的(Pei et al 2020)。有趣的是,当与较少分化的亚型相比时,髓细胞单核细胞FAB M4亚型也具有增加的CD70水平。其他作者也描述了该亚型与对VEN+AZA的抗性相关(Zhang et al, 2020, Kuusanmäki et al 2017)。FAB M4亚型是一种混合表型白血病,因为它由具有不同髓样分化阶段的克隆和至少20%的单核细胞母细胞的组合组成。VEN+AZA药物组合在该亚组中显示出更好的功效,但该亚组中存在的单核细胞AML细胞也可能潜在增加早期复发的风险(Zhang et al. 2020)。此外,M4和M5亚型二者都具有最低的BCL2/MCL1基因表达比例,这与对Bcl-2抑制的抗性有关(Kuusanmäki et al. 2020)。

[0386] 对来自患有单核细胞表型AML和混合表型AML的患者的骨髓样本检测CD70表达,并通过流式细胞术确定CD70阳性细胞的表型(图5)。细胞计数分析证实恶性细胞的质膜上的高的CD70表达存在于具有CD45^亮/SSC^高/CD34⁻/CD117⁻/CD11b⁺/CD68⁺/CD14⁺/CD64⁺表型的VEN+AZA抗性单核细胞AML细胞上(图5)。通常,单核细胞疾病样本显示出最高的CD70表达(图5A),而原始母细胞仅显示出非常有限的CD70表达。偶尔,由单核细胞白血病细胞和原始白血病细胞组成的混合表型样本在单核细胞AML细胞和原始AML细胞二者上均显示出相对高的CD70表达,但通常原始细胞在细胞表面上显示出低的CD70表达。来自VEN+AZA难治性患者的原始AML细胞和单核细胞AML细胞上具有高的CD70表达的混合表型样本的实例呈现在图5B中。

[0387] 由于AML样本通常显示原始细胞和单核细胞恶性细胞的比例不同的混合表型,因此对在单核细胞和原始细胞亚群上的CD70表达进行了比较。流式细胞术分析显示:与原始AML细胞相比,在单核细胞AML细胞的情况下,CD70的中值荧光强度高约6倍。这证实了CD70在单核细胞AML细胞上的表达更高(图6A左侧)并且与从CD70 mRNA分析获得的数据相当(图4)。每个样本的配对分析还显示:CD70表达水平在单核细胞AML细胞上比在存在于同一患者样本中的原始AML细胞上更高(图6A右侧)。仅有限数量的样本显示在原始细胞和单核细胞上同等高的CD70表达。计算CD70阳性细胞的百分比也证实了来自蛋白质表达水平的数据。样本中存在的平均超过50%的单核细胞AML细胞显示高的CD70表达,而小于10%的原始AML细胞显示CD70表达(图6B左侧)。此外,95%的样本在单核细胞AML细胞上的CD70阳性细胞百分比高于原始AML细胞的平均值。配对分析还证实存在比原始AML细胞更高百分比的CD70阳性单核细胞恶性细胞的事实(图6B右侧)。

[0388] 实施例9.CD70阳性VEN+AZA抗性单核细胞AML细胞被库萨图珠单抗介导的ADCC有效杀死

[0389] 库萨图珠单抗是一种对介导NK依赖性抗体依赖性细胞毒性(antibody-dependent cellular cytotoxicity,ADCC)具有增强的特性的非岩藻糖基化的(afucosylated)抗人CD70抗体(Silence et al.2014)。对VEN+AZA抗性CD70阳性单核细胞AML($CD45^{\text{亮}}/SSC^{\text{高}}/CD38^{+}/CD34^{-}/CD33^{+}/CD11b^{+}/CD70^{+}$)与包含CD70阳性单核细胞($CD45^{\text{亮}}/SSC^{\text{高}}/CD38^{+}/CD34^{-}/CD33^{+}/CD11b^{+}/CD70^{+}$)和CD70阴性VEN+AZA敏感原始细胞(含有 $CD38^{+}$ 和 $CD38^{-}$ 种群二者的 $CD45^{\text{中等}}/SSC^{\text{低}}/CD34^{+}/CD33^{-}/CD11b^{-}/CD70^{-}$)的混合表型样本(图7A)测试了对库萨图珠单抗介导的ADCC的敏感性。将两种类型的原发性骨髓样本都用库萨图珠单抗以 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 的浓度处理,并与通过从健康供体PBMC阴性选择分离的人NK细胞共同培养。NK细胞分别以1:5和1:15靶标与效应细胞(T:E)比例添加到单核细胞AML和混合表型骨髓样本中。将细胞在细胞培养箱中在 37°C 下共培养24小时。进行流式细胞术分析以测量原始AML细胞和单核细胞AML细胞的数量并评估对于特定样本的ADCC水平。两个样本中的单核细胞均被库萨图珠单抗介导的NK细胞依赖性ADCC显著靶向(分别为图7B和7C)。效应子功能降低的阻断性抗-CD70 41D12FcDead抗体被用作阴性对照,并且对于阻断性抗体未检测到在靶向CD70阳性单核细胞时的显著抗体特异性效应(图7B和7C)。这支持库萨图珠单抗介导效应在靶向CD70阳性VEN+AZA抗性单核细胞AML细胞时的特异性。

[0390] 实施例10.库萨图珠单抗有效靶向来自VEN+AZA抗性单核细胞AML样本的CD70阳性LSC

[0391] 来自原始AML和单核细胞AML的富含ROS低的白血病干细胞(leukemic stem cell, LSC)在它们的特性方面明显不同,因为来自单核细胞AML的ROS低的LSC对于其生存较少依赖于BCL2蛋白,并且对维奈托克显示增加的抗性(Pei et al.2020)。来自原始AML和单核细胞AML的样本的转录组学分析,并且特别是在富含ROS低的LSC的亚群中的CD70表达的比较显示:当与来自原始AML样本的ROS低的LSC中的CD70的表达水平比较时,来自单核细胞疾病的ROS低的LSC中的CD70的表达水平显著更高(图8)。

[0392] 为了测试来自VEN+AZA抗性单核细胞AML骨髓样本的CD70阳性LSC是否可以被库萨图珠单抗靶向,将来自VEN+AZA抗性样本的骨髓样本首先与库萨图珠单抗($10\mu\text{g}/\text{ml}$)和来自健康供体的PBMC中分离出NK细胞(1:5T:E比率)培养。在24小时培养之后,将样品移至甲

基纤维素培养基(methocult medium)并进一步培养以检查LSC是否被库萨图珠单抗介导的ADCC靶向。未处理的人IgG1同种型对照和阻断性41D12FcDead抗体被用作阴性对照。将细胞在37℃的细胞培养箱中培养14天,并通过对生长的菌落进行计数来评估菌落形成单位(CFU)。在使用库萨图珠单抗的条件下,与未处理的对照相比,观察到生长的菌落的数量明显下降(图9)。未检测到同种型对照或阻断性抗-CD70抗体的显著影响。

[0393] 实施例11.库萨图珠单抗经由NK依赖机制显著减少源于患者的异种移植鼠模型中的CD70阳性VEN+AZA抗性单核细胞AML细胞

[0394] 将注射到NSGS鼠中的患者样本移植到鼠骨髓中。抗白血病的化合物的有效性可以在完全植入源于患者的样本之后使用治疗方法并通过确定鼠骨髓中的恶性细胞的减少来严格测量。每只NSGS鼠移植 2×10^6 个来自VEN+AZA抗性单核细胞AML的骨髓的细胞持续42天。一个组群的动物用载体(100mg/kg Ven和3mg/kg Aza或10mg/kg库萨图珠单抗的组合)治疗。将第二个组群首先注入从来自健康供体的PBMC中分离的 1.5×10^6 NK细胞,然后用与第一个组群相同的药物组合进行处理。每3天用载体(VEN+AZA组合或库萨图珠单抗)处理动物。第三次剂量后一天,处死动物,分离来自股骨的骨髓,并通过流式细胞术分析样本以确定单核细胞AML细胞的数量。流式细胞术分析显示在人NK细胞的存在下经库萨图珠单抗处理的动物中恶性的人CD45⁺CD11b⁺CD117⁻细胞显著减少,但在不存在人NK细胞的情况下对于VEN+AZA或库萨图珠单抗没有观察到显著效应或者在NK细胞的存在下对于VEN+AZA没有观察到显著效应(图10)。因此,库萨图珠单抗在NSGS鼠中体内经由NK依赖性ADCC消耗VEN+AZA抗性CD70阳性单核细胞AML细胞方面是有效的。

[0395] 参考文献

[0396] Silence et al.2014,ARGX—110,a highly potent antibody targeting CD70, eliminates tumors via both enhanced ADCC and immune checkpoint blockade,MAbs, Mar-Apr2014;6(2):523-32

[0397] Pei et al.2020,Monocytic Subclones Confer Resistance to Venetoclax-Based Therapy in Patients with Acute Myeloid Leukemia,Cancer Discov 2020;10:536-51

[0398] Zhang et al.2020,Integrated analysis of patient samples identifies biomarkers for venetoclax efficacy and combination strategies in acute myeloid leukemia,Nature Cancer,Vol 1 Aug 2020:826-839

[0399] Kuusanmäki et al 2020,Phenotype-based drug screening reveals association between venetoclax response and differentiation stage in acute myeloid leukemia,Haematologica 2020,Vol 105(3):708-720

[0400] Kuusanmäki et al 2017,Single-Cell Drug Profiling Reveals Maturation Stage-Dependent Drug Responses in AML,Blood(2017)130(Supplement 1):3821

序列表

<110> argenx BV
科罗拉多大学的试剂

<120> 治疗对BCL-2抑制剂敏感性降低的患者的方法

<130> P216916W000

<150> US63/072113

<151> 2020-08-29

<160> 8

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 1

Val Tyr Tyr Met Asn

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 2

Asp Ile Asn Asn Glu Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 3

Asp Ala Gly Tyr Ser Asn His Val Pro Ile Phe Asp Ser

1 5 10

<210> 4

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 4

Gly Leu Lys Ser Gly Ser Val Thr Ser Asp Asn Phe Pro Thr

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 5

Asn Thr Asn Thr Arg His Ser

1 5

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 6

Ala Leu Phe Ile Ser Asn Pro Ser Val Glu

1 5 10

<210> 7

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 7

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser	Asp	Ile	Asn	Asn	Glu	Gly	Gly	Thr	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
50						55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr
65					70					75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Asp	Ala	Gly	Tyr	Ser	Asn	His	Val	Pro	Ile	Phe	Asp	Ser	Trp
			100					105					110		
Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser						
			115					120							
<210>	8														
<211>	111														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	合成多肽														
<400>	8														
Gln	Ala	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly
1			5					10					15		
Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Leu	Lys	Ser	Gly	Ser	Val	Thr	Ser	Asp
			20					25					30		
Asn	Phe	Pro	Thr	Trp	Tyr	Gln	Gln	Thr	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu
			35					40					45		
Leu	Ile	Tyr	Asn	Thr	Asn	Thr	Arg	His	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe
			50					55					60		
Ser	Gly	Ser	Ile	Leu	Gly	Asn	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala
65					70					75					80
Gln	Ala	Asp	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Phe	Cys	Ala	Leu	Phe	Ile	Ser	Asn
				85					90					95	
Pro	Ser	Val	Glu	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Gln	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	
			100					105					110		

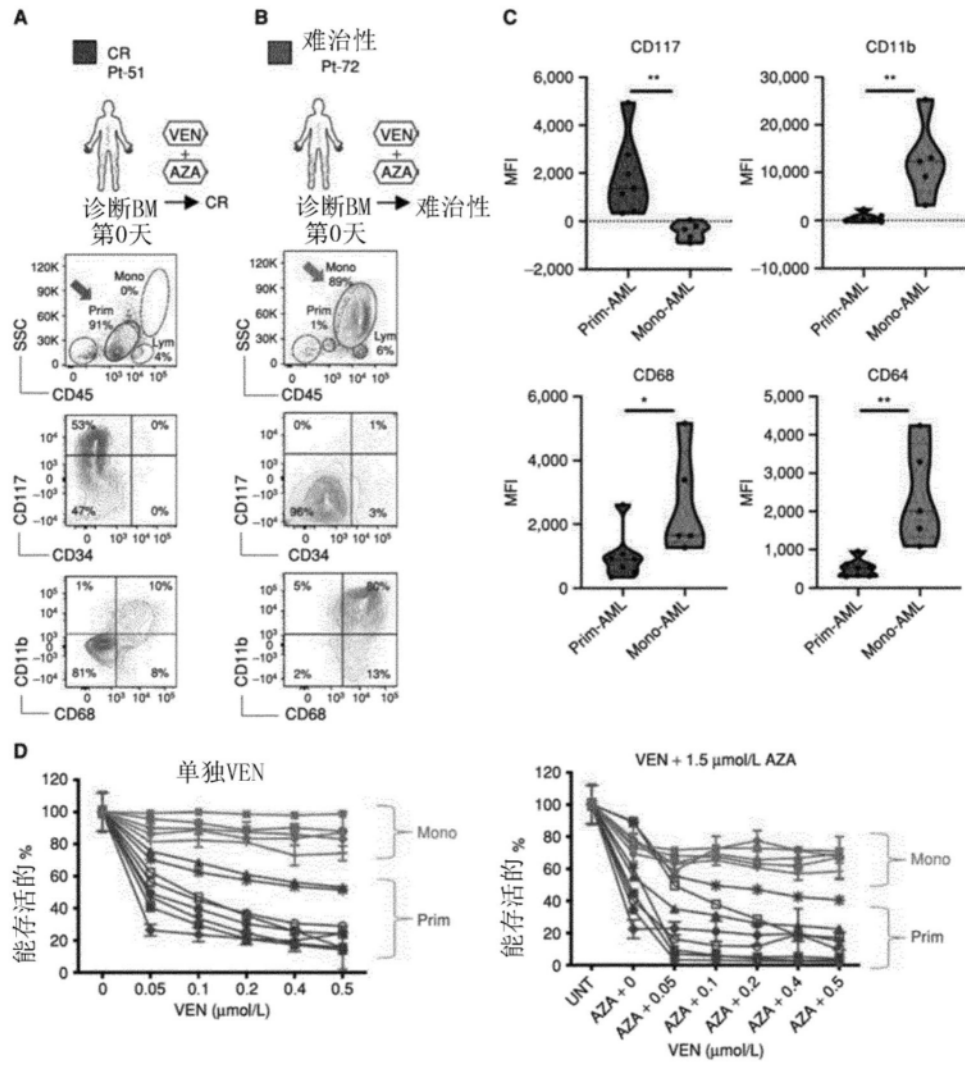


图1

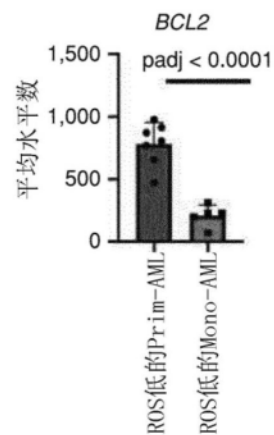


图2A

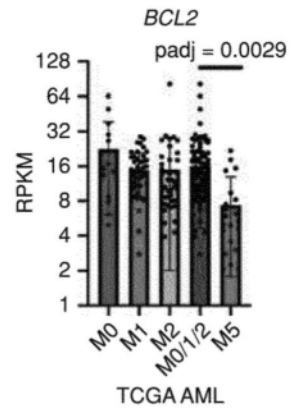


图2B

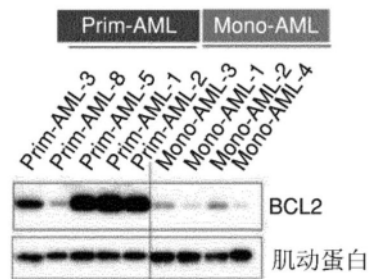


图2C

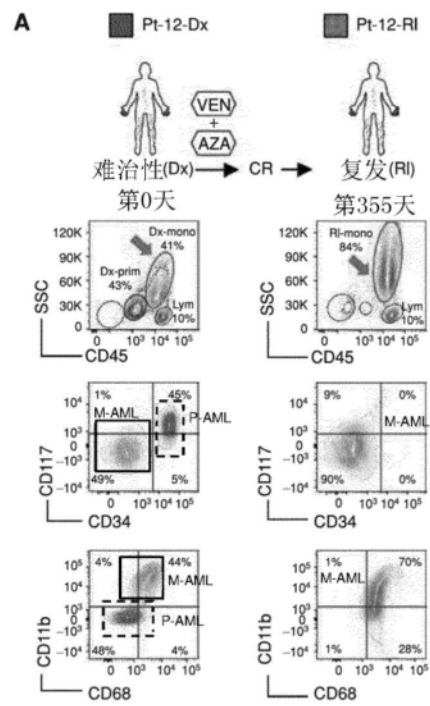


图3A

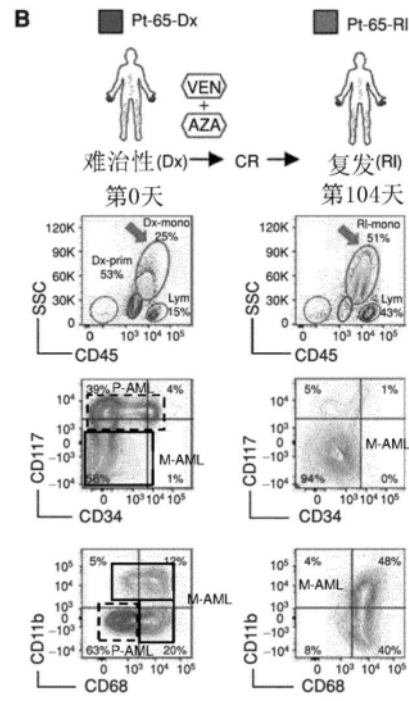


图3B

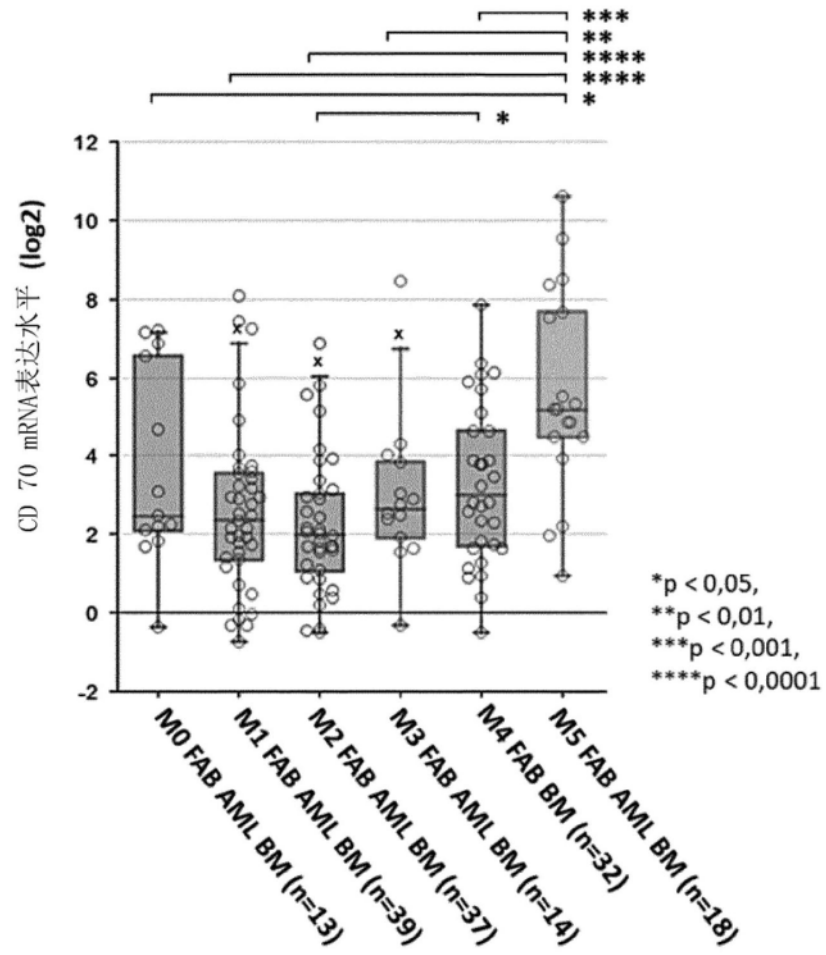


图4

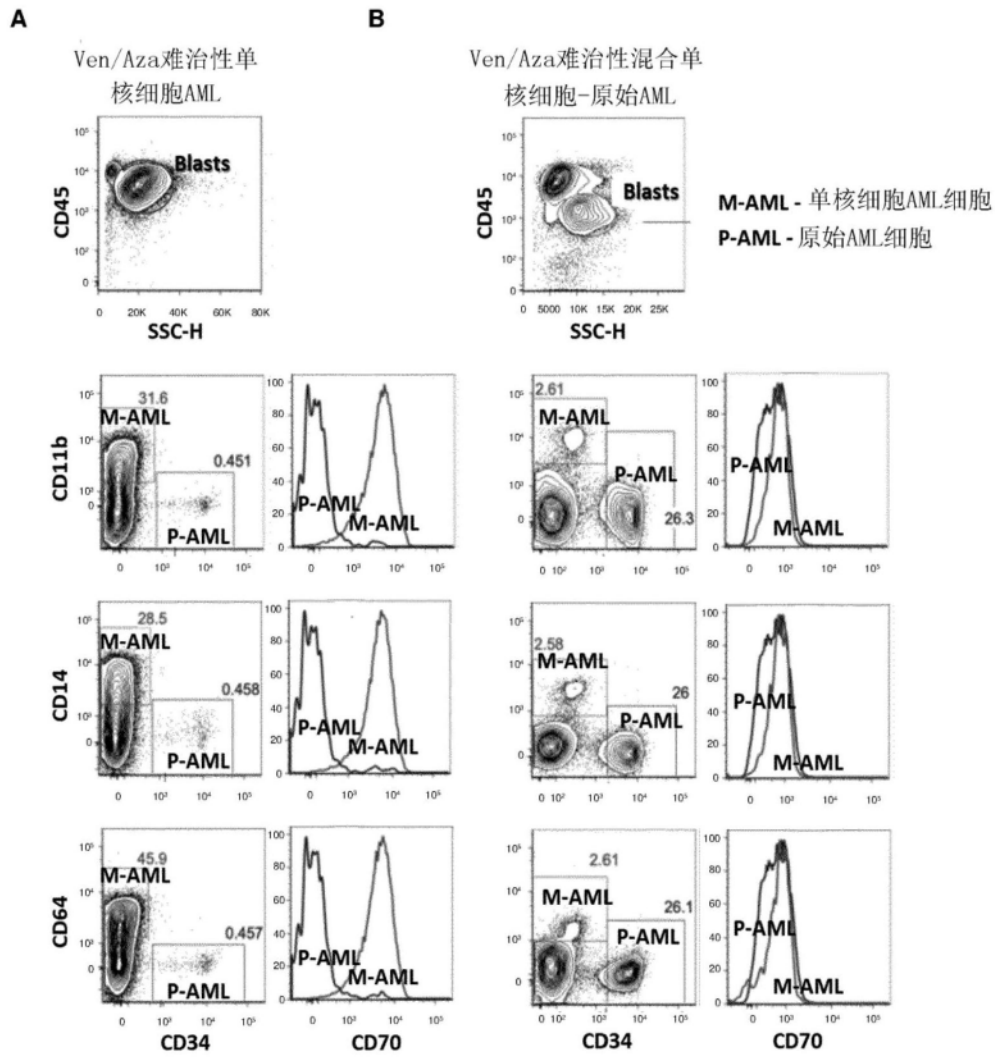


图5A

图5B

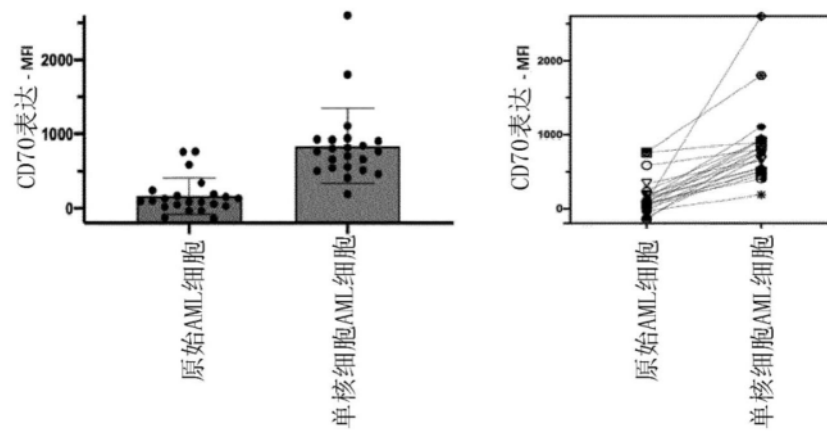


图6A

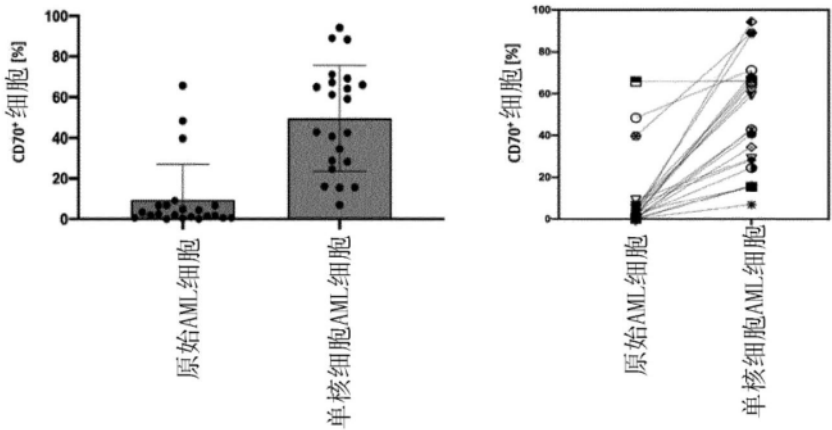


图6B

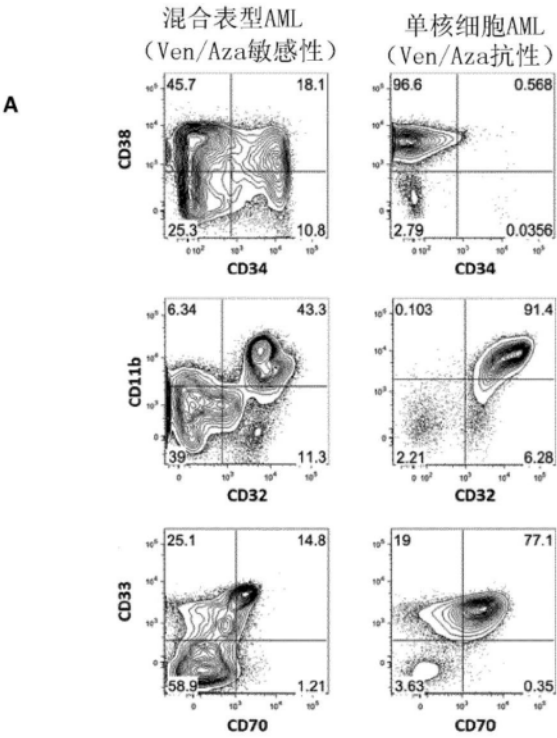


图7A

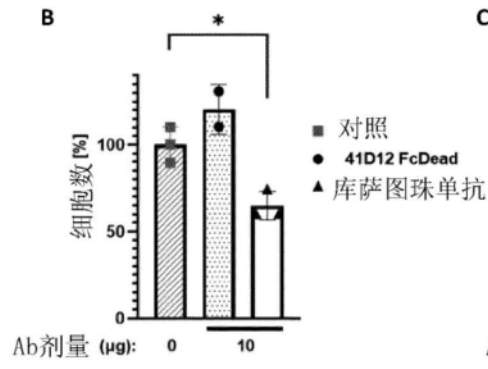


图7B

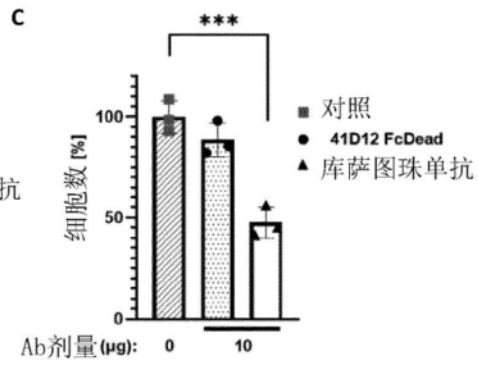


图7C

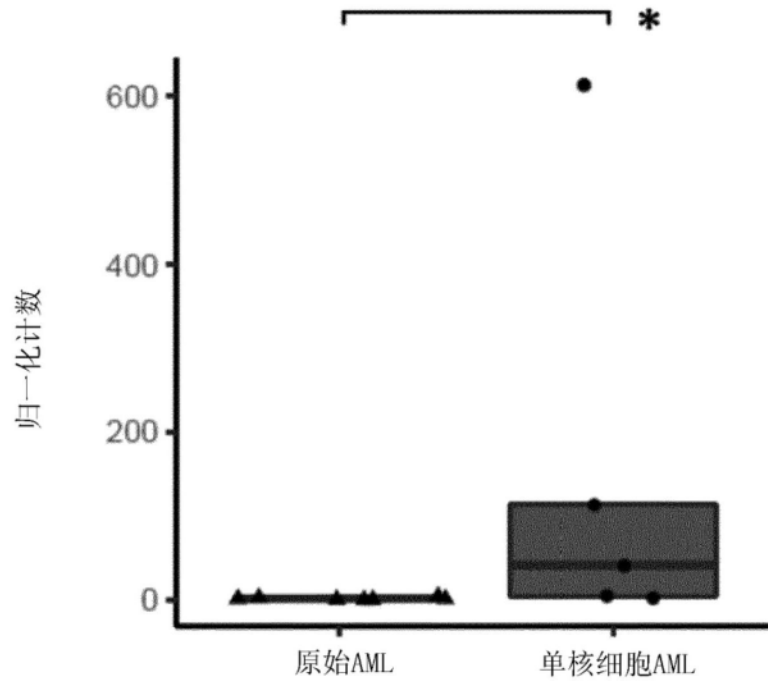


图8

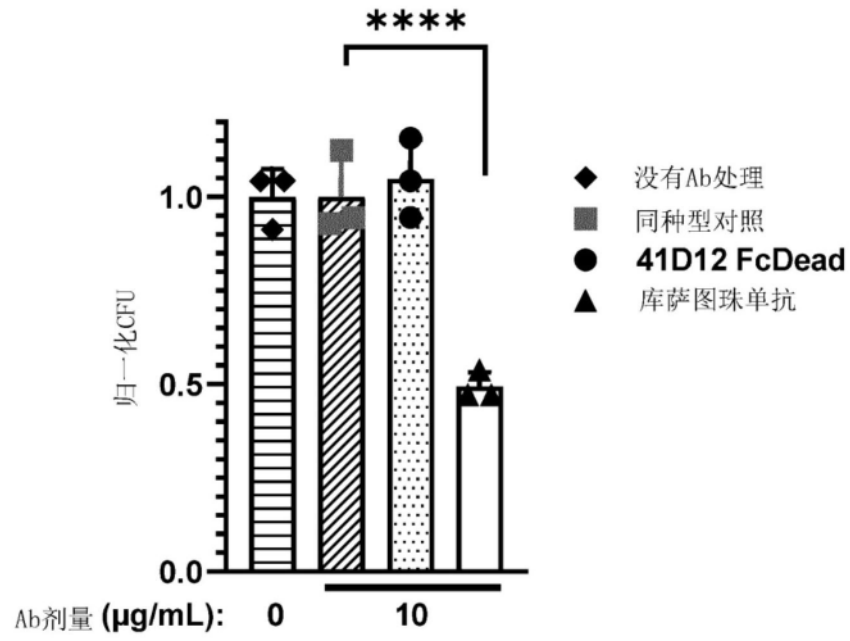


图9

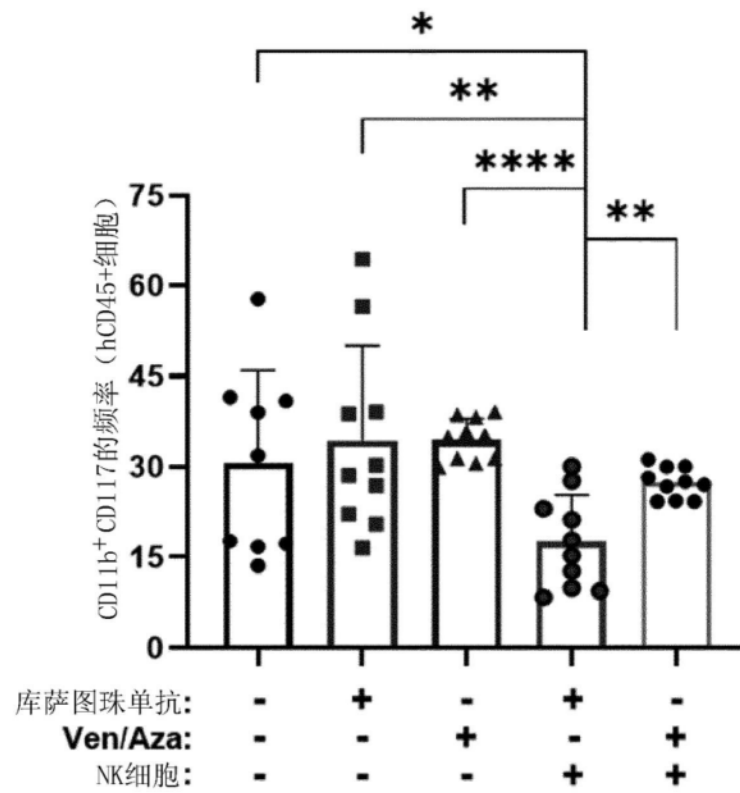


图10