



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119421723 A

(43) 申请公布日 2025. 02. 11

(21) 申请号 202380046439.5

(22) 申请日 2023.05.15

(30) 优先权数据

63/342,548 2022.05.16 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.12.11

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2023/022243 2023.05.15

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/224912 EN 2023.11.23

(71) 申请人 瑞泽恩制药公司

地址 美国

(72) 发明人 E·米勒 S·桑迪古尔斯基

I·洛伊 F·塞巴赫

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

专利代理师 高飞 黄革生

(51) Int.Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/04 (2006.01)

A61P 13/08 (2006.01)

权利要求书4页 说明书35页

序列表(电子公布) 附图3页

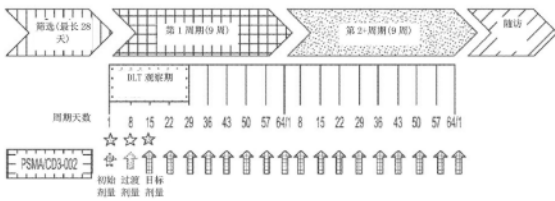
(54) 发明名称

用双特异性抗PSMA x抗CD3抗体单独或与抗PD-1抗体组合治疗转移性去势抵抗性前列腺癌的方法

(57) 摘要

本公开提供了用于治疗癌症(例如,前列腺癌或转移性去势抵抗性前列腺癌)、降低其严重性或抑制其生长的方法。本公开的方法包括向有需要的受试者单独施用或与特异性结合程序性死亡1(PD-1)受体的抗体或其抗原结合片段组合施用治疗有效量的特异性结合前列腺特异性膜抗原(PSMA)和CD3的双特异性抗体或其抗原结合片段。

模块1的患者-水平研究方案(QW 给药)



★ 住院皮下注射: 患者将住院 72 小时或直到 CRS 消退

★ 如果在至少 10 名患者按照确定的给药方案给药之后未观察到 ≥2 级 CRS, 则不再需要住院接受初始注射和过置注射。

1. 一种治疗有需要的受试者的表达PSMA的癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用双特异性抗体,所述双特异性抗体包含特异性结合靶肿瘤细胞上的前列腺特异性膜抗原(PSMA)的第一抗原结合结构域以及特异性结合T细胞上的人CD3的第二抗原结合结构域,其中所述双特异性抗体以至少0.03mg的剂量向所述受试者施用。

2. 如权利要求1所述的方法,其中所述表达PSMA的癌症是前列腺癌。

3. 如权利要求1或2所述的方法,其中所述表达PSMA的癌症是转移性前列腺癌。

4. 如权利要求1至3中任一项所述的方法,其中所述表达PSMA的癌症是去势抵抗性前列腺癌。

5. 如权利要求1至4中任一项所述的方法,其中所述受试者已接受至少两种针对转移性和/或去势抵抗性前列腺癌的既往疗法。

6. 如权利要求5所述的方法,其中所述受试者已接受至少一种抗雄激素疗法。

7. 如权利要求6所述的方法,其中所述抗雄激素疗法选自阿比特龙、恩扎鲁胺、阿帕鲁胺或达洛鲁胺。

8. 如权利要求1至7中任一项所述的方法,其中所述受试者患有组织学上或细胞学上确认的前列腺腺癌,而没有纯小细胞癌。

9. 如权利要求1至8中任一项所述的方法,其中所述受试者在用所述双特异性抗体治疗之前患有转移性去势抵抗性前列腺癌,其前列腺特异性抗原(PSA)值 $\geq 4\text{ng/ml}$ 。

10. 如权利要求9所述的方法,其中所述受试者的癌症在用所述双特异性抗体治疗之前的6个月的时间段内已经进展,其中癌症进展通过以下方式确定:(a)每次评估之间间隔 ≥ 1 周确认的PSA水平升高;(b)软组织中的放射影像学疾病进展,伴有或不伴有PSA升高;和/或(c)骨中放射影像学疾病进展,在骨扫描中出现两个或更多个骨病变,伴有或不伴有PSA升高。

11. 如权利要求1至10中任一项所述的方法,其中所述受试者已进行睾丸切除术。

12. 如权利要求1至10中任一项所述的方法,其中所述受试者正在接受促黄体生成素释放激素(LHRH)激动剂或拮抗剂疗法,并且在用所述双特异性抗体治疗之前具有 $< 50\text{ng/ml}$ 的血清睾酮水平。

13. 如权利要求1至12中任一项所述的方法,其中所述第一抗原结合结构域包含:

(a) 三个重链互补决定区(HCDR1、HCDR2和HCDR3),所述三个重链互补决定区包含在具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)内;和

(b) 三个轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2和LCDR3),所述三个轻链互补决定区包含在具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)内。

14. 如权利要求13所述的方法,其中所述第一抗原结合结构域包含具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HCDR1、具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HCDR2和具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HCDR3。

15. 如权利要求13或权利要求14所述的方法,其中所述第一抗原结合结构域包含具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的LCDR1、具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的LCDR2和具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的LCDR3。

16. 如权利要求13至15中任一项所述的方法,其中所述第一抗原结合结构域包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的LCVR。

17. 如权利要求1至16中任一项所述的方法,其中所述第二抗原结合结构域包含:

(a) 三个重链互补决定区(HCDR1、HCDR2和HCDR3),所述三个重链互补决定区包含在具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)内;和

(b) 三个轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2和LCDR3),所述三个轻链互补决定区包含在具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)内。

18. 如权利要求17所述的方法,其中所述第二抗原结合结构域包含具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的HCDR1、具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HCDR2和具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HCDR3。

19. 如权利要求17或权利要求18所述的方法,其中所述第二抗原结合结构域包含具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的LCDR1、具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的LCDR2和具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的LCDR3。

20. 如权利要求17至19中任一项所述的方法,其中所述第二抗原结合结构域包含具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的LCVR。

21. 如权利要求1至16中任一项所述的方法,其中所述第二抗原结合结构域包含:

(a) 三个重链互补决定区(HCDR1、HCDR2和HCDR3),所述三个重链互补决定区包含在具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)内;和

(b) 三个轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2和LCDR3),所述三个轻链互补决定区包含在具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)内。

22. 如权利要求21所述的方法,其中所述第二抗原结合结构域包含具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HCDR1、具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的HCDR2和具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的HCDR3。

23. 如权利要求21或权利要求22所述的方法,其中所述第二抗原结合结构域包含具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的LCDR1、具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的LCDR2和具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的LCDR3。

24. 如权利要求21至23中任一项所述的方法,其中所述第二抗原结合结构域包含具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的LCVR。

25. 如权利要求1至24中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体包含人IgG重链恒定区。

26. 如权利要求25所述的方法,其中所述人IgG重链恒定区是同种型IgG1。

27. 如权利要求25所述的方法,其中所述人IgG重链恒定区是同种型IgG4。

28. 如权利要求26或权利要求27所述的方法,其中所述双特异性抗体包含嵌合铰链,与相同同种型的野生型铰链相比,所述嵌合铰链减少Fc γ 受体结合。

29. 如权利要求25至28中任一项所述的方法,其中所述第一重链或所述第二重链,但不是两者都,包含含有H435R(EU编号)修饰和Y436F(EU编号)修饰的CH3结构域。

30. 如权利要求1至24中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体包含第一重链,所述第一重链具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列。

31. 如权利要求1至24中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体包含第二重链,所述第二重链具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

32. 如权利要求1至24中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体包含第二重链,所

述第二重链具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列。

33. 如权利要求1至24中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体包含具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的第一重链、具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的第二重链和具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的共同轻链。

34. 如权利要求1至24中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体包含具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的第一重链、具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的第二重链和具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的共同轻链。

35. 如权利要求1至34中任一项所述的方法,还包括施用第二治疗剂或治疗方案。

36. 如权利要求35所述的方法,其中所述第二治疗剂或治疗方案包含抗PD-1抗体或其抗原结合片段。

37. 如权利要求36所述的方法,其中所述抗PD-1抗体或抗原结合片段包含:

(a) 三个重链互补决定区(HCDR1、HCDR2和HCDR3),所述三个重链互补决定区包含在具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)内;和

(b) 三个轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2和LCDR3),所述三个轻链互补决定区包含在具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)内。

38. 如权利要求37所述的方法,其中所述抗PD-1抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HCDR1、具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HCDR2和具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HCDR3。

39. 如权利要求37或权利要求38所述的方法,其中所述抗PD-1抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的LCDR1、具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的LCDR2和具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的LCDR3。

40. 如权利要求37至39中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的LCVR。

41. 如权利要求40所述的方法,其中所述抗PD-1抗体或抗原结合片段是包含具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的轻链的抗PD-1抗体。

42. 如权利要求1至41中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体以每周0.01mg至1000mg的剂量向所述受试者施用。

43. 如权利要求42所述的方法,其中所述双特异性抗体以每周0.03mg至30mg的剂量向所述受试者施用。

44. 如权利要求42所述的方法,其中所述双特异性抗体以每周3mg至900mg的剂量向所述受试者施用。

45. 如权利要求1至41中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体以每三周一次0.01mg至1000mg的剂量向所述受试者施用。

46. 如权利要求45所述的方法,其中所述双特异性抗体以每三周一次0.03mg至30mg的剂量向所述受试者施用。

47. 如权利要求45所述的方法,其中所述双特异性抗体以每三周一次3mg至900mg的剂量向所述受试者施用。

48. 如权利要求36至47中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体以每三周一次300至400mg的剂量向所述受试者施用。

49. 如权利要求48所述的方法,其中所述抗PD-1抗体以每三周一次350mg的剂量向所述受试者施用。

50. 如权利要求1至49中任一项所述的方法,其中在以0.03mg至900mg的剂量施用所述双特异性抗体至少一周之后,所述受试者病情稳定、部分缓解或完全缓解。

51. 如权利要求1至50中任一项所述的方法,其中在施用一个或多个剂量的所述双特异性抗体之后,对所述受试者进行放射影像学成像。

52. 如权利要求51所述的方法,其中所述放射影像学成像包括氟F18DCFPyL PET/CT扫描。

用双特异性抗PSMA x抗CD3抗体单独或与抗PD-1抗体组合治疗转移性去势抵抗性前列腺癌的方法

对序列表的提及

本申请以引用的方式并入ST.26XML格式的计算机可读序列表,其名称为11050W001_Sequence,创建于2023年5月15日,并且包含38,992字节。

技术领域

本发明涉及用于治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的受试者单独施用或与特异性结合至程序性死亡1 (PD-1) 受体的抗体组合施用治疗有效量的与前列腺特异性膜抗原 (PSMA) 和CD3特异性结合的双特异性抗体。

背景技术

前列腺特异性膜抗原 (PSMA),也称为FOLH1、谷氨酸羧肽酶II (GCPII)、N-乙酰基-L-天冬氨酰-L-谷氨酸肽酶I (NAALADase I) 或N-乙酰基-天冬氨酰谷氨酸 (NAAG) 肽酶,是由叶酸水解酶1 (FOLH1) 基因编码的同二聚体、酶促II型跨膜蛋白。PSMA是一种在恶性前列腺组织中高度表达的完整非脱落膜糖蛋白,并且是前列腺癌的细胞表面标志物,但在正常组织中显示有限的表达。它的表达在去势抵抗性前列腺癌中保持不变,去势抵抗性前列腺癌是一种结局较差并且治疗选择有限的病症。已经研究了通过靶向PSMA来治疗前列腺癌的方法。例如,钇-90单抗是一种包含针对PSMA的胞内表位的单克隆抗体的放射治疗剂。在另一个实例中,J591是一种针对PSMA的胞外表位的单克隆抗体,是放射治疗剂镭-177 J591的一部分,并且在其中类美登素1 (DM1,抗微管剂) 缀合至J591的MLN2704中。这些疗法与毒性相关。PSMA还在其他肿瘤(诸如,膀胱癌、肾癌、胃癌和结肠直肠癌)的新血管系统内表达。

CD3是与T细胞受体复合物 (TCR) 相关的在T细胞上表达的同源二聚体或异源二聚体抗原,是T细胞活化所必需的。功能性CD3由四种不同的链中的两种的二聚体缔合形成: ϵ 、 ζ 、 δ 和 γ 。CD3二聚体排列方式包括 γ/ϵ 、 δ/ϵ 和 ζ/ζ 。已经显示出针对CD3的抗体使CD3聚集在T细胞上,从而以类似于负载有肽的MHC分子接合TCR的方式引起T细胞活化。因此,已经提出抗CD3抗体用于涉及T细胞活化的治疗目的。此外,已经提出能够结合CD3和靶抗原的双特异性抗体用于涉及使T细胞免疫应答靶向表达靶抗原的组织和细胞的治疗用途。

肿瘤微环境中的程序性死亡-1 (PD-1) 受体信号传递在允许肿瘤细胞逃避宿主免疫系统的免疫监视方面起着关键作用。PD-1信号传导通路的阻断已在患有多种肿瘤类型的患者中显示出临床活性,阻断PD-1的抗体疗法(例如,纳武单抗 (nivolumab) 和派姆单抗 (pembrolizumab)) 已被批准用于治疗转移性黑色素瘤和转移性鳞状非小细胞肺癌。最近的数据证明了PD-1阻断在患有侵袭性NHL和霍奇金淋巴瘤 (Hodgkin's lymphoma) 的患者中的临床活性 (Lesokhin, 等人2014, Abstract 291, 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, Calif.; Ansell等人2015, N.Engl.J.Med.372(4):311-9)。

在美国,前列腺癌是新癌症诊断的主要原因,也是男性癌症相关死亡的第二大常见原因。2018年,全球估计有130万例前列腺癌新发病例和358,989例死亡。几十年来,阻断

雄激素相关途径的疗法一直是治疗前列腺癌的标准疗法。然而,患者会进展到雄激素耗竭和/或手术去势,并发展为去势抵抗性前列腺癌。对于患有转移性去势抵抗性前列腺癌(mCRPC)的男性,预后尤其差。目前,转移性前列腺癌仍然是不可治愈的,并且改善长期存活率仍然是高度未满足的需求。

发明内容

根据某些实施方案,本公开提供了用于治疗、改善受试者中表达PSMA的癌症的至少一种症状或指征或抑制其生长的方法。根据本公开的这一方面的方法包括向有需要的受试者单独施用或与特异性结合至程序性死亡1(PD-1)的抗体或其抗原结合片段组合施用治疗有效量的与前列腺特异性膜抗原(PSMA)和CD3特异性结合的双特异性抗体。

在本公开的某些实施方案中,提供了用于治疗、改善受试者中表达PSMA的癌症的至少一种症状或指征或抑制其生长的方法。在本公开的某些实施方案中,提供了用于延缓肿瘤生长或预防肿瘤复发的方法。根据本公开的这一方面和其他方面,所述方法包括向有需要的受试者依次施用单独的或与一个或多个剂量的治疗有效量的抗PD-1抗体或其抗原结合片段组合的一个或多个剂量的治疗有效量的双特异性抗PSMA x抗CD3抗体。

在一个方面,本公开提供了治疗有需要的受试者的表达PSMA的癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用双特异性抗体,所述双特异性抗体包含特异性结合肿瘤靶细胞上的前列腺特异性膜抗原(PSMA)的第一抗原结合结构域和特异性结合T细胞上的人CD3的第二抗原结合结构域,其中以至少0.03mg的剂量向所述受试者施用双特异性抗体。

在一些实施方案中,表达PSMA的癌症是前列腺癌。在一些情况下,表达PSMA的癌症是转移性前列腺癌。在一些情况下,表达PSMA的癌症是去势抵抗性前列腺癌。

在一些实施方案中,受试者已经接受了至少两种针对转移性和/或去势抵抗性前列腺癌的既往疗法。在一些情况下,受试者已经接受了至少一种抗雄激素疗法。在一些实施方案中,抗雄激素疗法选自阿比特龙、恩扎鲁胺、阿帕鲁胺或达洛鲁胺。

在一些实施方案中,受试者患有组织学上或细胞学上确认的前列腺腺癌,而没有纯小细胞癌。

在一些实施方案中,在用双特异性抗体治疗之前,受试者已经患有转移性去势抵抗性前列腺癌,其前列腺特异性抗原(PSA)值 $\geq 4\text{ng/ml}$ 。在一些情况下,受试者的癌症在用双特异性抗体治疗之前的6个月的时间段内已经进展,其中癌症进展通过以下方式确定:(a)每次评估之间间隔 ≥ 1 周确认的PSA水平升高;(b)软组织中的放射影像学疾病进展,伴有或不伴有PSA升高;和/或(c)骨中放射影像学疾病进展,在骨扫描中出现两个或更多个骨病变,伴有或不伴有PSA升高。

在一些实施方案中,受试者已经进行了睾丸切除术。在一些实施方案中,受试者正在接受促黄体生成素释放激素(LHRH)激动剂或拮抗剂疗法,并且在用双特异性抗体治疗之前具有 $< 50\text{ng/ml}$ 的血清睾酮水平。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中,双特异性抗体的第一抗原结合结构域包含:(a)三个重链互补决定区(HCDR1、HCDR2和HCDR3),所述三个重链互补决定区包含在具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)内;和(b)三个轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2和LCDR3),所述三个轻链互补决定区包含在具有SEQ ID NO:2的氨

氨基酸序列的轻链可变区 (LCVR) 内。在一些情况下, 第一抗原结合结构域包含具有 SEQ ID NO:5 的氨基酸序列的 HCDR1、具有 SEQ ID NO:6 的氨基酸序列的 HCDR2 和具有 SEQ ID NO:7 的氨基酸序列的 HCDR3。在一些情况下, 第一抗原结合结构域包含具有 SEQ ID NO:8 的氨基酸序列的 LCDR1、具有 SEQ ID NO:9 的氨基酸序列的 LCDR2 和具有 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列的 LCDR3。在一些实施方案中, 第一抗原结合结构域包含具有 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列的 HCVR 和具有 SEQ ID NO:2 的氨基酸序列的 LCVR。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中, 双特异性抗体的第二抗原结合结构域包含: (a) 三个重链互补决定区 (HCDR1、HCDR2 和 HCDR3), 所述三个重链互补决定区包含在具有 SEQ ID NO:4 的氨基酸序列的重链可变区 (HCVR) 内; 和 (b) 三个轻链互补决定区 (LCDR1、LCDR2 和 LCDR3), 所述三个轻链互补决定区包含在具有 SEQ ID NO:2 的氨基酸序列的轻链可变区 (LCVR) 内。在一些情况下, 第二抗原结合结构域包含具有 SEQ ID NO:14 的氨基酸序列的 HCDR1、具有 SEQ ID NO:15 的氨基酸序列的 HCDR2 和具有 SEQ ID NO:16 的氨基酸序列的 HCDR3。在一些情况下, 第二抗原结合结构域包含具有 SEQ ID NO:8 的氨基酸序列的 LCDR1、具有 SEQ ID NO:9 的氨基酸序列的 LCDR2 和具有 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列的 LCDR3。在一些实施方案中, 第二抗原结合结构域包含具有 SEQ ID NO:4 的氨基酸序列的 HCVR 和具有 SEQ ID NO:2 的氨基酸序列的 LCVR。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中, 双特异性抗体的第二抗原结合结构域包含: (a) 三个重链互补决定区 (HCDR1、HCDR2 和 HCDR3), 所述三个重链互补决定区包含在具有 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列的重链可变区 (HCVR) 内; 和 (b) 三个轻链互补决定区 (LCDR1、LCDR2 和 LCDR3), 所述三个轻链互补决定区包含在具有 SEQ ID NO:2 的氨基酸序列的轻链可变区 (LCVR) 内。在一些情况下, 第二抗原结合结构域包含具有 SEQ ID NO:11 的氨基酸序列的 HCDR1、具有 SEQ ID NO:12 的氨基酸序列的 HCDR2 和具有 SEQ ID NO:13 的氨基酸序列的 HCDR3。在一些情况下, 第二抗原结合结构域包含具有 SEQ ID NO:8 的氨基酸序列的 LCDR1、具有 SEQ ID NO:9 的氨基酸序列的 LCDR2 和具有 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列的 LCDR3。在一些实施方案中, 第二抗原结合结构域包含具有 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列的 HCVR 和具有 SEQ ID NO:2 的氨基酸序列的 LCVR。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中, 双特异性抗体可以包含人 IgG 重链恒定区。在一些情况下, 人 IgG 重链恒定区是同种型 IgG1。在一些情况下, 人 IgG 重链恒定区是同种型 IgG4。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中, 双特异性抗体可以包含嵌合铰链, 所述嵌合铰链相对于相同同种型的野生型铰链降低 Fc γ 受体结合。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中, 双特异性抗体的第一重链或双特异性抗体的第二重链 (但不是两者) 可以包含含有 H435R (EU 编号) 修饰和 Y436F (EU 编号) 修饰的 CH3 结构域。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中, 双特异性抗体包含具有 SEQ ID NO:17 的氨基酸序列的第一重链。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中 (除了序列相互排斥的情况), 双特异性抗体包含具有 SEQ ID NO:20 的氨基酸序列的第二重链。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中 (除了序列相互排斥

的情况),双特异性抗体包含具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的第二重链。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中,双特异性抗体包含具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的轻链。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中(除了序列相互排斥的情况),双特异性抗体包含具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的第一重链、具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的第二重链和具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的共同轻链。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中(除了序列相互排斥的情况),双特异性抗体包含具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的第一重链、具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的第二重链和具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的共同轻链。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中,所述方法还可以包括施用第二治疗剂或治疗方案。在一些实施方案中,第二治疗剂或治疗方案包含抗PD-1抗体或其抗原结合片段。

在一些实施方案中,抗PD-1抗体或抗原结合片段包含:(a)三个重链互补决定区(HCDR1、HCDR2和HCDR3),所述三个重链互补决定区包含在具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)内;和(b)三个轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2和LCDR3),所述三个轻链互补决定区包含在具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)内。在一些情况下,抗PD-1抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HCDR1、具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HCDR2和具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HCDR3。在一些情况下,抗PD-1抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的LCDR1、具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的LCDR2和具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的LCDR3。在一些实施方案中,抗PD-1抗体或抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的LCVR。在一些实施方案中,抗PD-1抗体或抗原结合片段是包含具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的轻链的抗PD-1抗体。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中,可以将双特异性抗体以每周0.01mg至1000mg的剂量向受试者施用。在一些情况下,双特异性抗体以每周0.03mg至30mg的剂量向受试者施用。在一些情况下,双特异性抗体以每周3mg至900mg的剂量向受试者施用。在一些情况下,双特异性抗体以每周30mg至900mg的剂量向受试者施用。在一些情况下,双特异性抗体以每周300mg至900mg的剂量向受试者施用。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中,可以将双特异性抗体以每三周一次0.01mg至1000mg的剂量向受试者施用。在一些情况下,将双特异性抗体以每三周一次0.03mg至30mg的剂量向受试者施用。在一些情况下,将双特异性抗体以每三周一次3mg至900mg的剂量向受试者施用。在一些情况下,将双特异性抗体以每三周一次30mg至900mg的剂量向受试者施用。在一些情况下,将双特异性抗体以每三周一次300mg至900mg的剂量向受试者施用。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中,可以将抗PD-1抗体以每三周一次300mg至400mg的剂量向受试者施用。在一些情况下,将抗PD-1抗体以每三周一次350mg的剂量向受试者施用。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中,在以0.03mg至

900mg的剂量施用双特异性抗体至少一周之后,受试者病情稳定、部分缓解或完全缓解。

在上文或本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中,受试者可以在施用一个或多个剂量的双特异性抗体之前和/或之后接受放射影像学成像。在一些情况下,放射影像学成像包括氟F18 DCFPyL PET/CT扫描。

本公开还涵盖双特异性抗体和/或抗PD-1抗体在制备用于治疗表达PSMA的癌症的药物中的用途,如上文或本文所讨论的方法的任何实施方案中所述。本公开还涵盖用于在上文或本文所讨论的方法的任何实施方案中使用的双特异性抗体和/或抗PD-1抗体。本公开还涵盖包含用于在上文或本文所讨论的方法的任何实施方案中使用的双特异性抗体和/或抗PD-1抗体的药物组合物。

在各种实施方案中,上文或本文讨论的实施方案的任何特征或组件可以组合,并且此类组合涵盖在本公开的范围內。上文或本文讨论的任何指定值可以与上文或本文中讨论的另一相关值组合,以列举一个范围,所述值代表所述范围的上限和下限,并且此类范围涵盖在本公开的范围內。

通过阅读随后的详细描述,本发明的其他实施方案将变得显而易见。

附图说明

图1示出了模块1(QW给药)的患者水平研究方案的实施方案,如实施例6中所讨论。

图2示出了模块1(Q3W给药)的患者水平研究方案的实施方案,如实施例6中所讨论。

图3示出了模块2的患者水平研究方案的实施方案,如实施例6中所讨论。

具体实施方式

在描述本发明前,应当理解,本发明不限于所述的特定方法和实验条件,因为这类方法和条件可以变化。还应当理解,本文所用的术语仅用于描述具体实施方案的目的,而无意进行限制,因为本发明的范围将仅由所附权利要求书限制。任何实施方案或实施方案的特征可以彼此组合,并且此类组合明确涵盖在本发明的范围內。上文或本文讨论的任何指定值可以与上文或本文中讨论的另一相关值组合,以列举一个范围,所述值代表所述范围的上限和下限,并且此类范围涵盖在本公开的范围內。

除非另外定义,否则本文使用的所有技术和科学术语都具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解相同的含义。如本文所用,在提到具体列举的数值中使用时,术语“约”意指所述值可以从列举的值变动不大于1%。举例来说,如本文所用,表述“约100”包括99和101以及它们之间的全部值(例如,99.1、99.2、99.3、99.4等)。

尽管与本文中描述的那些方法和材料类似或等效的任何方法和材料均可用于本发明的实践或检验,但现在描述优选的方法和材料。本说明书中提及的所有专利、申请和非专利出版物全文以引用的方式并入本文中。

用于治疗或抑制癌症生长的方法

本公开包括用于治疗、改善或降低受试者中至少一种症状或指征的严重性,或抑制癌症(例如,转移性去势抵抗性前列腺癌)生长的方法。根据本公开的这个方面的方法包括向有需要的受试者施用单独或与治疗有效量的特异性结合PD-1的抗体或其抗原结合片

段组合的治疗有效量的针对PSMA和CD3的双特异性抗体。本文中使用的术语“治疗”等意指减轻症状,暂时地或永久地消除症状的原因,延迟或抑制肿瘤生长,减少肿瘤细胞负载或肿瘤负荷,促进肿瘤消退,造成肿瘤收缩、坏死和/或消失,防止肿瘤复发,和/或增加受试者的存活持续时间。

如本文所用,表述“有需要的受试者”意指展现癌症的一种或多种症状或指征,和/或已诊断患有癌症(包括前列腺癌(例如,转移性去势抵抗性前列腺癌))以及需要对所述癌症进行治疗的人类或非人类哺乳动物。在许多实施方案中,术语“受试者”可以与术语“患者”互换使用。例如,人受试者可能被诊断出原发性或转移性肿瘤和/或一种或多种症状或指征,包括但不限于,扩大的淋巴结、腹部肿胀、不明原因的疼痛、不明原因的体重减轻、发热、盗汗、持续疲劳、食欲不振和/或脾肿大。所述表述包括患有原发性或确定的前列腺肿瘤的受试者。在具体实施方案中,所述表述包括患有前列腺癌或表达PSMA的另一种肿瘤并需要治疗的人类受试者。在其他具体实施方案中,所述表述包括患有PSMA+肿瘤的受试者(例如,通过流式细胞术测定的具有PSMA表达的肿瘤)。在某些实施方案中,表述“有需要的受试者”包括患有前列腺癌的患者,所述前列腺癌对既往疗法(例如,用常规抗癌剂进行的治疗,包括抗雄激素疗法)具有抗性或难以用既往疗法治疗,或不能由既往疗法充分控制。例如,所述表述包括已经用化学疗法或抗雄激素疗法治疗的受试者,所述抗雄激素疗法例如阿比特龙、恩扎鲁胺、阿帕鲁胺或达洛鲁胺。所述表述还包括患有前列腺肿瘤的受试者,对于这些受试者,常规抗癌疗法是不可取的,例如,由于毒副作用。例如,所述表述包括已经接受一个或多个周期的化学疗法或其他具有毒副作用的抗癌疗法的患者。在某些实施方案中,表述“有需要的受试者”包括患有前列腺肿瘤的患者,所述患者已经接受治疗但随后复发或转移。例如,可能已经接受用一种或多种抗癌剂治疗导致肿瘤消退的患有前列腺肿瘤的患者;然而,随后用本公开的方法治疗对一种或多种抗癌剂具有抗性的癌症(例如,去势抵抗性前列腺癌)。

在某些实施方案中,本公开的方法可以用于治疗患有组织学上或细胞学上确认的前列腺腺癌而没有纯小细胞癌的患者。在某些实施方案中,本公开的方法可以用于治疗患有转移性去势抵抗性前列腺癌的患者,所述患者在用双特异性抗体治疗之前的前列腺特异性抗原(PSA)值为 $\geq 4\text{ng/ml}$ (例如,4ng/ml、4.5ng/ml、5ng/ml、5.5ng/ml、6ng/ml、6.5ng/ml、7ng/ml、7.5ng/ml、8ng/ml、8.5ng/ml、9ng/ml、9.5ng/ml或10ng/ml或更高)。在某些实施方案中,本公开的方法可以用于治疗在用双特异性抗体治疗之前的一段时间(例如,1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月或更长时间)内已经进展的前列腺癌患者,其中癌症进展由例如以下因素确定:(a)每次评估之间间隔 ≥ 1 周(例如,1周、2周、3周、4周或更长时间)确认的PSA水平升高;(b)软组织中的放射影像学疾病进展,伴有或不伴有PSA升高;和/或(c)骨中放射影像学疾病进展,在骨扫描中出现两个或更多个骨病变,伴有或不伴有PSA升高。在某些实施方案中,本公开的方法可以用于治疗已经进行睾丸切除术的患者。在某些实施方案中,本公开的方法可以用于治疗已经或正在接受促黄体生成素释放激素(LHRH)激动剂或拮抗剂疗法并且在用双特异性抗体治疗之前其血清睾酮水平为 $< 50\text{ng/ml}$ (例如,1ng/ml至49ng/ml、约45ng/ml、约40ng/ml、约35ng/ml、约30ng/ml、约25ng/ml、约20ng/ml、约15ng/ml、约10ng/ml或约5ng/ml)的患者。

在某些实施方案中,本公开的方法可用于患有前列腺癌的受试者。术语“肿瘤”、

“癌症”和“恶性肿瘤”在本文中可互换地使用。如本文所用,术语“前列腺癌”是指前列腺肿瘤,包括源自前列腺的转移性肿瘤。

根据某些实施方案,本公开包括用于治疗或延迟或抑制肿瘤生长的方法。在某些实施方案中,本公开包括促进肿瘤消退的方法。在某些实施方案中,本公开包括降低肿瘤细胞负荷或降低肿瘤负荷的方法。在某些实施方案中,本公开内容包括防止肿瘤复发的方法。根据本公开的这个方面,所述方法包括向有需要的受试者施用单独或与抗PD-1抗体组合的治疗有效量的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体,其中每种抗体以多剂量形式,例如,作为特定治疗性给药方案的一部分向受试者施用。例如,治疗性给药方案可以包括以约每天一次、每两天一次、每三天一次、每四天一次、每五天一次、每六天一次、每周一次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、每月一次、每两个月一次、每三个月一次、每四个月一次或更低频率的频率向受试者施用一个或多个剂量的抗PSMA $\times$ CD3抗体。在某些实施方案中,抗PSMA $\times$ 抗CD3抗体每周施用一次。在某些实施方案中,抗PSMA $\times$ 抗CD3抗体每三周施用一次。在某些实施方案中,将一个或多个剂量的抗PD-1抗体与一个或多个剂量的治疗有效量的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体组合施用,其中以约每天一次、每两天一次、每三天一次、每四天一次、每五天一次、每六天一次、每周一次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、每月一次、每两个月一次、每三个月一次、每四个月一次或更低频率的频率向受试者施用一个或多个剂量的抗PD-1抗体。在某些实施方案中,向受试者每三周施用一次抗PD-1抗体。

[0001] 在某些实施方案中,在给定的给药周期内,每个剂量的抗PSMA/抗CD3抗体以两个或更多个部分施用,例如以2-5个部分施用(“分次给药”)。抗PSMA/抗CD3双特异性抗体可以分次剂量施用,以减少或消除响应抗体施用而诱导的细胞因子“尖峰”。细胞因子尖峰是指细胞因子释放综合征(“细胞因子风暴”)和输液相关反应的临床症状。在某些实施方案中,本公开的方法包括将一个或多个剂量的抗PD-1抗体与一个或多个剂量的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体组合施用于向有需要的受试者,其中在给定的给药期内,一定剂量的双特异性抗体以分次剂量施用,或以多于1个部分施用,例如作为2个部分、作为3个部分、作为4个部分或作为5个部分施用。在某些实施方案中,将一定剂量的双特异性抗体分成2个或更多个部分,其中每个部分包含的抗体量与其他部分相等。在某些实施方案中,将一定剂量的双特异性抗体分成2个或更多个部分施用,其中所述部分包含不等量的抗体,例如比第一部分多或少。

在某些实施方案中,本公开包括抑制、延缓或停止肿瘤转移或肿瘤浸润至外周器官的方法。根据这个方面,所述方法包括向有需要的受试者施用单独或与抗PD-1抗体组合的治疗有效量的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体。

在具体实施方案中,本公开内容提供了用于增加抗肿瘤效力或增加肿瘤抑制的方法。根据本公开的这个方面,所述方法包括在施用治疗有效量的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体之前,向患有前列腺癌的受试者施用治疗有效量的抗PD-1抗体,其中可以在所述双特异性抗体之前约1天、超过1天、超过2天、超过3天、超过4天、超过5天、超过6天、超过7天或超过8天施用所述抗PD-1抗体。在某些实施方案中,与单独施用双特异性抗体的受试者相比,所述方法提供了增加的肿瘤抑制,例如增加约20%、超过20%、超过30%、超过40%、超过50%、超过60%、超过70%或超过80%。

在某些实施方案中,本公开的方法用于治疗患有MRD阳性疾病的患者。最小残留疾

病(MRD)表示在治疗期间或治疗后在患者体内残留的少量癌细胞,其中所述患者可能表现出或不表现出疾病的症状或征象。这样的残留癌细胞如果不消除,往往导致疾病的复发。本公开内容包括在MRD测试后抑制和/或消除患者体内的残留癌细胞的方法。MRD可以根据本领域已知的方法进行测定(例如,MRD流式细胞术)。根据本公开的这个方面,所述方法包括向有需要的受试者施用单独或与抗PD-1抗体组合的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体。

根据某些实施方案,本公开的方法包括向受试者施用单独或与抗PD-1抗体以及任选地第三治疗剂组合的治疗有效量的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体。第三治疗剂可以是选自以下组成的组的药剂:例如,放射、化学疗法、手术、癌症疫苗、溶瘤病毒、PD-L1抑制剂(例如,抗PD-L1抗体)、LAG3抑制剂(例如,抗LAG3抗体)、CTLA-4抑制剂(例如,抗CTLA-4抗体)、TIM3抑制剂、BTLA抑制剂、TIGIT抑制剂、CD47抑制剂、吡啶胺-2,3-双加氧酶(IDO)抑制剂、血管内皮生长因子(VEGF)拮抗剂、Ang2抑制剂、转化生长因子 β (TGF. β .)抑制剂、表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂、针对肿瘤特异性抗原的抗体、细胞毒素、化学治疗剂、IL-6R抑制剂、IL-4R抑制剂、IL-10抑制剂、细胞因子(诸如IL-2、IL-7、IL-21和IL-15)、抗炎药(诸如皮质类固醇和非甾体抗炎药)和膳食补充剂(诸如抗氧化剂)。在某些实施方案中,抗体可以与包括化学治疗剂、放射和手术的疗法组合施用。本文中使用的短语“与……组合”是指,在施用第三治疗剂的同时、恰好之前或恰好之后向受试者施用所述抗体。在某些实施方案中,抗体和第三治疗剂以单独的制剂施用。

在本文所讨论的各种实施方案中的任一个实施方案中,本公开的方法还可以包括施用类固醇(例如,地塞米松或等同的类固醇)或抗IL-6受体抗体。在一些情况下,抗IL-6受体抗体是托珠单抗或沙利鲁单抗。在一些情况下,可以将类固醇(例如,地塞米松)以1mg至20mg(例如,5mg至10mg)的剂量IV或PO施用。在一些情况下,可以在施用双特异性抗体(例如,REGN4336)之前将这些药剂作为前药施用。

在某些实施方案中,本公开的方法包括向有需要的受试者施用单独或与抗PD-1抗体组合的治疗有效量的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体。在施用双特异性抗体或组合的情况下,施用抗体导致对肿瘤生长的抑制增加。在某些实施方案中,与未治疗的受试者或施用任一种抗体作为单一疗法的受试者相比,肿瘤生长分别被抑制至少约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%或约80%。在某些实施方案中,施用双特异性抗体或组合导致增加的肿瘤消退、肿瘤缩小和/或消失。在某些实施方案中,施用双特异性抗体或组合导致肿瘤生长和发展延迟,例如,与未经治疗的受试者或用任一抗体作为单一疗法治疗的受试者相比,肿瘤生长可以分别延迟约3天、超过3天、约7天、超过7天、超过15天、超过1个月、超过3个月、超过6个月、超过1年、超过2年或超过3年。在某些实施方案中,双特异性抗体或组合的施用防止了肿瘤复发和/或增加了受试者的存活持续时间,例如,相对于未治疗的受试者或施用任一抗体作为单一疗法的受试者,分别将存活持续时间增加了超过15天、超过1个月、超过3个月、超过6个月、超过12个月、超过18个月、超过24个月、超过36个月或超过48个月。在某些实施方案中,双特异性抗体或组合的施用会增加无进展存活期或总存活期。在某些实施方案中,双特异性抗体或组合的施用会增加受试者的反应和反应持续时间,例如,分别比未治疗的受试者或接受任一抗体作为单一疗法的受试者增加了超过2%、超过3%、超过4%、超过5%、超过6%、超过7%、超过8%、超过9%、超过10%、超过20%、超过30%、超过40%或超过50%。在某些实施方案中,向患有前列腺癌的受试者施用双特异性抗体或组

合导致肿瘤细胞的所有迹象完全消失(“完全缓解”)。在某些实施方案中,向患有前列腺癌的受试者施用双特异性抗体或组合导致肿瘤细胞或肿瘤大小减少了至少30%或更多(“部分缓解”)。在某些实施方案中,向患有前列腺癌的受试者施用双特异性抗体或组合导致肿瘤细胞/病变(包括新的可测量病变)完全或部分消失。肿瘤减少可以通过本领域已知的任何方法来测量,例如X射线、正电子发射断层扫描(PET)、计算机断层扫描(CT)、磁共振成像(MRI)、细胞学、组织学或分子遗传分析。在某些实施方案中,双特异性抗体和抗PD-1抗体的施用产生了协同抗肿瘤作用,所述协同抗肿瘤作用胜过了两种药物在单独施用时的组合作用。

在某些情况下,受试者对疗法的缓解被归类为完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、疾病进展(PD)或病情稳定(SD)。CR被定义为所有目标病变的消失,并且任何病理性淋巴结(无论是目标还是非目标)的短轴减小至 $<10\text{mm}$ ($<1\text{cm}$)。PR被定义为以基线总和直径作为参考,目标病变的直径总和减少至少30%。PD被定义为以研究的最小总和作为参考,目标病变的直径总和增加至少20%(如果基线总和是研究的最小值,则包括基线总和)。除相对增加20%之外,总和必须还显示出绝对增加至少 5mm (0.5cm)。(注:一个或多个新病变的出现也视为进展)。SD被定义为以研究期间的最小总和直径作为参考,缩小不足以符合PR的要求,增加也不足以符合PD的要求。

在某些情况下,基于免疫的疗法反应标准可以用于评估反应。基于免疫的疗法反应标准与RECIST(1.1版)的不同之处在于,进行性疾病的确证稍微更具挑战性,因为其必须在未确认的进行性疾病扫描后立即进行扫描。这种差异是基于这样的理解,即免疫疗法可能导致基于炎症的假性进展,直至并包括新病变的发展。因此,间隔不少于4周的两次扫描必须一致认为已确认的进行性疾病正在进展。下面讨论用于评价目标病变和非目标病变的标准。

目标病变的评价

免疫完全缓解(iCR):所有目标病变消失。任何病理淋巴结(无论是目标还是非目标)在短轴上必须减小至 $<10\text{mm}$ ($<1\text{cm}$)

免疫部分缓解(iPR):以基线直径总和作为参考,目标病变的直径总和减小至少30%。

免疫未确认的进行性疾病(iUPD):以研究中的最小总和(如果基线总和是研究中的最小总和,则这包括基线总和)作为参考,自进行上次成像以来新的目标病变的直径总和增加至少20%。除相对增加20%之外,总和必须还显示出绝对增加至少 5mm (0.5cm)。

免疫确认的进行性疾病(iCPD):如果iUPD后的下一次成像评估(4至8周后)确认iUPD的目标疾病的总和或测量值进一步增加,增加至少 5mm ,则确认目标病变类别出现进展。

免疫稳定性疾病(iSD):将研究期间的最小直径总和作为参考并包括新病变的测量值,既没有足够的缩小以符合iPR的要求,也没有足够的增加以符合iUPD或iCPD的要求

非目标病变的评价

免疫完全缓解(iCR):所有非目标病变的消失和肿瘤标志物水平的归一化。所有淋巴结的大小必须是非病理性的($<10\text{mm}$ [$<1\text{cm}$]短轴)。如果肿瘤标志物最初高于正常上限,则它们必须对患者进行归一化以在完全临床反应中被考虑

非iCR/非iUPD或非iCPD:一个或多个非目标病变的持续和/或肿瘤标志物水平维持在正常限度以上

免疫未确认的进行性疾病(iUPD):在紧接前一次扫描中没有iUPD的现有非目标病变的明确进展。明确的进展通常不应超过目标病变状态。其必须代表总体疾病状态变化,而不是单个病变的增加。

免疫确认的进行性疾病(iCPD):在紧接前一次扫描中伴有iUPD的现有非目标病变的明确进展。如果在iUPD后4-8周进行的后续成像显示iUPD的进一步增加,则确认非目标病变类别中的进行性疾病。明确的进展通常不应超过目标病变状态。其必须代表总体疾病状态变化,而不是单个病变的增加。

在某些情况下,成像可以用于评价受试者对疗法的反应(单独或结合PSA水平的评价)。已经证明PSMA PET/CT提供了对前列腺癌患者中PSMA表达和肿瘤负荷的灵敏测量。与目前用于肿瘤病变检测的常规成像模式相比,PSMA PET/CT具有更高的灵敏度和特异性,已被证明可提高肿瘤反应评估和治疗策略的有效性。

氟F18 DCFPyL (18F-DCFPyL)是一种放射性标记的小分子,其以高亲和力结合至PSMA的胞外结构域。来自酶抑制测定的数据显示,DCFPyL以1.1nM的Ki竞争性结合至表达PSMA的LNCaP细胞。18F-DCFPyL已经在多项1至3期研究中进行了测试,并且发现在前列腺癌患者中耐受性良好。¹⁸F-DCFPyL于2021年5月26日获得FDA批准,用于对作为初始确定性疗法的候选人怀疑转移并且根据血清前列腺特异性抗原(PSA)水平的升高而怀疑复发的前列腺癌男性进行PSMA阳性病变的PET扫描。

在施用18F-DCFPyL注射液后,确定生物分布和最佳成像时间点。研究中使用的辐射剂量在PET诊断用放射性示踪剂的限值范围内。发现18F-DCFPyL的生理积累对应于PSMA表达器官的分布。在原发性肿瘤和转移性病变中的积累非常高,表明18F-DCFPyL注射液可以用于以高灵敏度和特异性检测残留肿瘤以及区域或远处转移。总之,这些发现强烈支持在mCRPC患者中使用18F-DCFPyL PSMA PET/CT评估全身肿瘤负荷和REGN4336单独和与西米普利单抗组合的抗肿瘤活性。

静脉内注射约 9 ± 1 mCi的预期剂量的¹⁸F-DCFPyL总体上是可行和安全的。¹⁸F-DCFPyL PET/CT扫描的辐射剂量为约7.4mSv。相比之下,胸部、腹部和骨盆的典型CT扫描剂量估计为约25mSv,一次骨骼扫描为约4.4mSv,并且美国的年天然背景辐射剂量为约3.1mSv。一年内三次¹⁸F-DCFPyL PET/CT扫描的方案最大值将导致约22.2mSv的大致剂量,这是一名成人研究患者一年中推荐最大允许剂量50mSv的约45%(21CRF361.1)。对于可能接受4次PSMA PET扫描(3次计划内加1次计划外)的患者,这些扫描的总辐射剂量为约29.6mSv,这是成人研究患者推荐最大允许年剂量的约59%。包括¹⁸F-DCFPyL辐射暴露的风险将在PET成像知情同意书中向患者披露。

可选的氟脱氧葡萄糖(FDG) PET/CT可以用于评估患者的代谢活性肿瘤负荷。已经通过FDG PET/CT在前列腺癌患者中检测到表达和不表达PSMA的肿瘤。互补的FDG和PSMA PET/CT数据预期提供对疗法(例如,REGN4336)的肿瘤反应的见解。

抗PD-1抗体及其抗原结合片段

根据本公开的某些示例性实施方案,所述方法包括施用治疗有效量的抗PD-1抗体或其抗原结合片段。如本文中所用,术语“抗体”包括包含通过二硫键相互连接的四个多肽

链(两个重(H)链和两个轻(L)链)的免疫球蛋白分子及其多聚体(例如,IgM)。在典型抗体中,每个重链包含重链可变区(在本文中缩写为HCVR或 V_H)和重链恒定区。重链恒定区包含三个结构域: C_H1 、 C_H2 和 C_H3 。每条轻链包含轻链可变区(在本文中缩写为LCVR或 V_L)和轻链恒定区。轻链恒定区包含一个结构域(C_L1)。 V_H 区和 V_L 区可以进一步细分为被称为互补决定区(CDR)的高变区,其散布有更保守的被称为框架区(FR)的区。每个 V_H 和 V_L 由从氨基末端到羧基末端按照以下次序排列的三个CDR和四个FR构成:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本公开的不同实施方案中,抗PD-1抗体(或其抗原结合部分)的FR可以与人种系序列相同,或者可以是经天然或人工修饰的。可以基于两个或更多个CDR的并排(side-by-side)分析来定义氨基酸共有序列。

本文中使用的术语“抗体”也包括完整抗体分子的抗原结合片段。本文中使用的术语“抗体的抗原结合部分”、“抗体的抗原结合片段”等包括特异性地结合抗原以形成复合物的任何天然存在的、酶促可获得的、合成的或遗传工程改造的多肽或糖蛋白。可以例如使用任何合适的标准技术(诸如蛋白水解消化或涉及编码抗体可变结构域和任选地抗体恒定结构域的DNA的操作和表达的重组基因工程技术)从全抗体分子衍生出抗体的抗原结合片段。这样的DNA是已知的,和/或可以容易地从例如商业来源、DNA文库(包括,例如噬菌体-抗体文库)获得,或者可以被合成。可以对DNA测序,并化学地或通过使用分子生物学技术进行操作,例如,以将一个或多个可变结构域和/或恒定结构域排列为合适的构型,或导入密码子,产生半胱氨酸残基,修饰、添加或删除氨基酸等。

抗原结合片段的非限制性实例包括:(i) Fab片段;(ii) F(ab')₂片段;(iii) Fd片段;(iv) Fv片段;(v) 单链Fv(scFv)分子;(vi) dAb片段;和(vii) 由模拟抗体的高变区的氨基酸残基组成的最小识别单位(例如,分离的互补决定区(CDR),诸如CDR3肽),或约束性FR3-CDR3-FR4肽。在本文中使用的表述“抗原结合片段”内还涵盖其他经工程改造的分子,诸如结构域-特异性抗体、单结构域抗体、结构域缺失的抗体、嵌合抗体、CDR-移植抗体、双体、三体、四体、微体、纳米抗体(例如,单价纳米抗体、二价纳米抗体等)、小模块免疫药物(SMIP)和鲨鱼可变IgNAR结构域。

抗体的抗原结合片段通常包括至少一个可变结构域。可变结构域可以具有任何尺寸或氨基酸组成并且通常将包括与一个或多个框架序列毗邻或符合读框的至少一个CDR。在具有 V_H 结构域与 V_L 结构域缔合的抗原结合片段中, V_H 和 V_L 结构域可相对于彼此以任何合适的布置定位。例如,可变区可以是二聚体并且含有 V_H - V_H 、 V_H - V_L 或 V_L - V_L 二聚体。可替代地,抗体的抗原结合片段可含有单体 V_H 或 V_L 结构域。

在某些实施方案中,抗体的抗原结合片段可含有与至少一个恒定结构域共价连接的至少一个可变结构域。在本公开内容的抗体的抗原结合片段内可以发现的可变结构域和恒定结构域的非限制性示例性构型包括:(i) V_H - C_H1 ;(ii) V_H - C_H2 ;(iii) V_H - C_H3 ;(iv) V_H - C_H1 - C_H2 ;(v) V_H - C_H1 - C_H2 - C_H3 ;(vi) V_H - C_H2 - C_H3 ;(vii) V_H - C_L ;(viii) V_L - C_H1 ;(ix) V_L - C_H2 ;(x) V_L - C_H3 ;(xi) V_L - C_H1 - C_H2 ;(xii) V_L - C_H1 - C_H2 - C_H3 ;(xiii) V_L - C_H2 - C_H3 ;和(xiv) V_L - C_L 。在可变结构域和恒定结构域的任何构型(包括上面列出的任何示例性构型)中,可变结构域和恒定结构域可以彼此直接连接或者可以通过全长或部分铰链或接头区相连。铰链区可以由至少2个(例如5、10、15、20、40、60或更多个)氨基酸组成,其导致在单个多肽分子中的相邻可变结构域和/或恒定结构域之间的柔性的或半柔性的连接。此外,本公开的抗体的抗原结合片段可以包含

具有上文所列的可变结构域和恒定结构域构型中的任一个的彼此和/或与一个或多个单体 V_H 或 V_L 结构域(例如,通过二硫键)呈非共价缔合的同二聚体或异二聚体(或其他多聚体)。

本文中使用的术语“抗体”也包含多特异性的(例如,双特异性的)抗体。多特异性抗体或抗体的抗原结合片段通常包括至少两个不同的可变结构域,其中每个可变结构域能够特异性地结合单独的抗原或相同抗原上的不同表位。使用本领域可获得的常规技术,任何多特异性抗体形式都可以适用于本公开的抗体或抗体的抗原结合片段的上下文中。例如,本公开包括包含使用双特异性抗体的方法,其中免疫球蛋白的一个臂对PD-1或其片段具有特异性,并且免疫球蛋白的另一个臂对第二治疗靶标具有特异性或与治疗部分缀合。可以在本公开的上下文中使用的示例性双特异性形式包括但不限于例如基于scFv的或双体双特异性形式、IgG-scFv融合体、双可变结构域(DVD)-Ig、四源杂交瘤、钮入孔、共同轻链(例如,具有钮入孔的共同轻链等)、CrossMab、CrossFab、(SEED)体、亮氨酸拉链、Duobody、IgG1/IgG2、双重作用Fab(DAF)-IgG和Mab.sup.2双特异性形式(关于前述形式的综述,参见例如,Klein等人,2012,mAbs 4:6,1-11,以及其中引用的参考文献)。还可以使用肽/核酸缀合构建双特异性抗体,例如,其中使用具有正交化学反应性的非天然氨基酸来产生位点特异性抗体-寡核苷酸缀合物,然后将其自组装成具有确定组成、价数和几何形状的多聚体复合物。(参加,例如,Kazane等人,J.Am.Chem.Soc.[电子版:2012年12月4日])。

本公开方法中使用的抗体可以是人抗体。如本文所用,术语“人抗体”旨在包括具有源自人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体。然而,本公开的人抗体可以包含不由人生殖系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如通过体外随机或定点诱变或通过体内细胞突变引入的突变),例如在CDR特别是CDR3中。然而,如本文所用,术语“人抗体”不旨在包括已经将衍生自另一个哺乳动物物种(诸如小鼠)的种系的CDR序列植入到人框架序列上的抗体。

本公开方法中使用的抗体可以是重组人抗体。如本文所用,术语“重组人抗体”意在包括通过重组手段所制备、表达、产生或分离的全部人抗体,如使用转染至宿主细胞(在下文进一步描述)中的重组表达载体表达的抗体、从重组人抗体组合文库(在下文进一步描述)分离的抗体、从相对于人免疫球蛋白基因而言转基因的动物(例如,小鼠)分离的抗体(参见例如,Taylor等人,(1992)Nucl.Acids Res.20:6287-6295)或通过涉及将人免疫球蛋白基因序列剪接至其他DNA序列的任何其他手段所制备、表达、产生或分离的抗体。这样的重组人抗体具有从人种系免疫球蛋白序列衍生出的可变区和恒定区。然而,在某些实施方案中,此类重组人抗体经历体外诱变(或,使用就人Ig序列而言为转基因的动物时,经历体内细胞诱变)并且因此重组抗体的 V_H 和 V_L 区的氨基酸序列是尽管源自人种系 V_H 和 V_L 序列并且与之相关,但可能在体内人抗体种系库内部不天然存在的序列。

根据某些实施方案,本公开方法中使用的抗体特异性结合PD-1。术语“特异性结合”等意指抗体或其抗原结合片段与抗原形成在生理条件下相对较稳定的复合物。用于确定抗体是否特异性地结合抗原的方法是本领域众所周知的,且包括,例如,平衡透析、表面等离子体共振等。例如,如在本公开的上下文中使用的,“特异性地结合”PD-1的抗体包括以小于约500nM、小于约300nM、小于约200nM、小于约100nM、小于约90nM、小于约80nM、小于约70nM、小于约60nM、小于约50nM、小于约40nM、小于约30nM、小于约20nM、小于约10nM、小于约5nM、小于约4nM、小于约3nM、小于约2nM、小于约1nM或小于约0.5nM的 K_D 结合PD-1或其部分

的抗体,如在表面等离子体共振测定中所测得的。但是,分离的特异性地结合人PD-1的抗体可能与其它抗原(诸如来自其它(非人)物种的PD-1分子)具有交叉反应性。

根据本公开的某些示例性实施方案,抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(HCVR)、轻链可变区(LCVR)和/或互补决定区(CDR),其包含美国专利号9,987,500中列出的抗PD-1抗体的任何氨基酸序列。在某些示例性实施方案中,可用于本公开方法的上下文中的抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)的重链互补决定区(HCDR)和具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)的轻链互补决定区(LCDR)。根据某些实施方案,抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含三个HCDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个LCDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),其中HCDR1包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列;HCDR2包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列;HCDR3包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列;LCDR1包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列;LCDR2包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列;并且LCDR3包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列。在其他实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:21的HCVR和具有SEQ ID NO:22的LCVR。在某些实施方案中,本公开的方法包括使用抗PD-1抗体,其中抗体包含具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的重链。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包含具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的轻链。包含具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区的示例性抗体是称为REGN2810(也称为西米普利单抗;LIBTAYO®)的完全人抗PD-1抗体。根据某些示例性实施方案,本公开内容的方法包括使用REGN2810或其生物等效物。本文中使用的术语“生物等效物”表示抗-PD-1抗体或PD-1-结合蛋白或其作为药物等效物或药物替代物的片段,当在类似实验条件下以相同摩尔剂量施用(无论单剂量还是多剂量)时,其吸收速率和/或程度没有表现出与REGN2810的吸收速率和/或程度的显著差异。在本公开的上下文中,该术语表示结合PD-1的抗原结合蛋白,其在安全性、纯度和/或效能方面不具有与REGN2810的临床上有意义的差异。

可以用于本公开方法的上下文中的其他抗PD-1抗体包括例如本领域提及和已知的抗体,如纳武单抗(美国专利8,008,449)、帕博利珠单抗(美国专利8,354,509)、MEDI0608(美国专利8,609,089)、匹地利珠单抗(美国专利8,686,119)或美国专利号6,808,710、7,488,802、8,168,757、8,354,509、8,779,105或8,900,587所述的任何一种抗PD-1抗体。

本公开方法的上下文中使用的抗PD-1抗体可能具有pH依赖性结合特征。例如,与中性pH相比,用于本公开内容的方法中的抗-PD-1抗体在酸性pH可以表现出降低的与PD-1的结合。可替换地,与中性pH相比,本公开内容的抗-PD-1抗体在酸性pH可以表现出增强的与其抗原的结合。表述“酸性pH”包括小于约6.2的pH值,例如,约6.0、5.95、5.9、5.85、5.8、5.75、5.7、5.65、5.6、5.55、5.5、5.45、5.4、5.35、5.3、5.25、5.2、5.15、5.1、5.05、5.0或更少。本文中使用的表述“中性pH”是指约7.0至约7.4的pH。表述“中性pH”包括约7.0、7.05、7.1、7.15、7.2、7.25、7.3、7.35和7.4的pH值。

在某些情况下,“与中性pH相比在酸性pH下减少的与PD-1结合”以在酸性pH下抗体与PD-1结合的 K_D 值与在中性pH下抗体与PD-1结合的 K_D 值的比率来表述(反之亦然)。例如,为了本公开内容的目的,如果抗体或其抗原结合片段表现出约3.0或更大的酸性/中性 K_D 之比,可以将抗体或其抗原结合片段视作表现出“与中性pH相比,在酸性pH降低的与PD-1的结合”。在某些示例性实施方案中,本公开内容的抗体或抗原结合片段的酸性/中性 K_D 之比可

以是约3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0、10.5、11.0、11.5、12.0、12.5、13.0、13.5、14.0、14.5、15.0、20.0、25.0、30.0、40.0、50.0、60.0、70.0、100.0或更大。

可以例如通过就与中性pH相比在酸性pH与特定抗原结合减少(或增强)而筛选抗体群体,来获得具有pH依赖性结合特征的抗体。另外,在氨基酸水平修饰抗原结合结构域可以产生具有pH依赖性特征的抗体。例如,通过将抗原结合结构域的一个或多个氨基酸(例如,在CDR内部)置换为组氨酸残基,可以获得相对于中性pH在酸性pH时抗原结合作用减少的抗体。本文中使用的表述“酸性pH”是指6.0或更小的pH。

双特异性抗PSMA×抗CD3抗体

根据本公开的某些示例性实施方案,所述方法包括施用治疗有效量的特异性结合CD3和PSMA的双特异性抗体。此类抗体在本文中可以称为例如“抗PSMA/抗CD3”或“抗PSMA x CD3”或“PSMA x CD3”双特异性抗体或其他类似术语。

如本文所用,表述“双特异性抗体”指包含至少第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域的免疫球蛋白。在本公开的上下文中,第一抗原结合结构域特异性结合第一抗原(例如,PSMA),并且第二抗原结合结构域特异性结合第二不同的抗原(例如,CD3)。双特异性抗体的每个抗原结合结构域包含重链可变结构域(HCVR)和轻链可变结构域(LCVR),每个结构域包含三个CDR。在双特异性抗体的语境下,第一抗原结合结构域的CDR可以用前缀“A”表示,第二抗原结合结构域的CDR可以用前缀“B”表示。因此,第一抗原结合结构域的CDR在本文中可以称为A-HCDR1、A-HCDR2和A-HCDR3;并且第二抗原结合结构域的CDR在本文中可以称为B-HCDR1、B-HCDR2和B-HCDR3。

第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域各自连接到单独的多聚化结构域。如本文使用的,“多聚结构域”是任何大分子、蛋白质、多肽、肽或氨基酸,其具有与相同或相似结构或构造的第二多聚结构域结合的能力。在本公开的上下文中,多聚化组分是免疫球蛋白的Fc部分(包含C_{H2}-C_{H3}结构域),例如选自同种型IgG1、IgG2、IgG3和IgG4以及每个同种型组内任何同种异型的IgG的Fc结构域。本公开的双特异性抗体通常包含两个多聚化结构域,例如两个Fc结构域,它们分别是单独抗体重链的部分。第一多聚结构域和第二多聚结构域可以具有相同的IgG同种型,例如IgG1/IgG1、IgG2/IgG2、IgG4/IgG4。可替代地,第一多聚结构域和第二多聚结构域可以具有不同的IgG同种型,例如IgG1/IgG2、IgG1/IgG4、IgG2/IgG4等。

任何双特异性抗体形式或技术都可以用于制备本公开的双特异性抗体。例如,具有第一抗原结合特异性的抗体或其片段可以与一种或多种其他分子实体,例如具有第二抗原结合特异性的另一种抗体或抗体片段功能性连接(例如,通过化学偶联、遗传融合、非共价结合或其他方式),以产生双特异性抗体。可以在本公开的上下文中使用的具体示例性双特异性形式包括但不限于例如基于scFv的或双体双特异性形式、IgG-scFv融合体、双可变结构域(DVD)-Ig、四源杂交瘤、钮入孔、共同轻链(例如,具有钮入孔的共同轻链等)、CrossMab、CrossFab、(SEED)体、亮氨酸拉链、Duobody、IgG1/IgG2、双重作用Fab(DAF)-IgG和Mab₂双特异性形式(关于前述形式的综述,参见例如,Klein等人,2012,mAbs 4:6,1-11,以及其中引用的参考文献)。

在本公开的双特异性抗体的上下文中,与野生型、天然存在的Fc结构域相比,Fc结

构域可以包含一个或多个氨基酸变化(例如,插入、缺失或取代)。例如,本公开包括在Fc结构域中包含一个或多个修饰的双特异性抗体,其导致经修饰的Fc结构域在Fc和FcRn之间具有经修饰的结合相互作用(例如,增强或减弱)。在一个实施方案中,双特异性抗体在C_{H2}或C_{H3}区中包含修饰,其中所述修饰在酸性环境下(例如,在pH范围为从约5.5至约6.0的胞内体中)增加了Fc结构域与FcRn的亲合力。这种Fc修饰的非限制性实例公开于美国专利公开号20150266966中,其全文并入本文。

本公开还包括包含第一C_{H3}结构域和第二Ig C_{H3}结构域的双特异性抗体,其中所述第一和第二Ig C_{H3}结构域的至少一个氨基酸彼此不同,并且其中与缺乏氨基酸差异的双特异性抗体相比,至少一个氨基酸差异减少了双特异性抗体与蛋白A的结合。在一个实施方案中,第一Ig C_{H3}结构域结合蛋白A并且第二Ig C_{H3}结构域含有降低或消除蛋白A结合的突变,例如H95R修饰(根据IMGT外显子编号;根据EU编号的H435R)。第二C_{H3}还可以包含Y96F修饰(按照IMGT;按照EU的Y436F)。参见,例如,美国专利号8,586,713。可以存在于第二C_{H3}内的其他修饰包括:在IgG1抗体的情况下,D16E、L18M、N44S、K52N、V57M和V82I(按照IMGT;按照EU的D356E、L358M、N384S、K392N、V397M和V422I);在IgG2抗体的情况下,N44S、K52N和V82I(IMGT;按照EU的N384S、K392N和V422I);以及在IgG4抗体的情况下,Q15R、N44S、K52N、V57M、R69K、E79Q和V82I(按照IMGT;按照EU的Q355R、N384S、K392N、V397M、R409K、E419Q和V422I)。

在某些实施方案中,Fc结构域可以是嵌合的,其组合了源自多于一种免疫球蛋白同种型的Fc序列。例如,嵌合Fc结构域可以包含来源于人IgG1、人IgG2或人IgG4 C_{H2}区的C_{H2}序列的部分或全部,以及来源于人IgG1、人IgG2或人IgG4的C_{H3}序列的部分或全部。嵌合Fc结构域也可以含有嵌合铰链区。例如,嵌合铰链可以包含源自人IgG1、人IgG2或人IgG4铰链区的“上铰链”序列,其与源自人IgG1、人IgG2或人IgG4铰链区的“下铰链”序列组合。可以包括在本文所述的任何抗体中的嵌合Fc结构域的特定实例从N末端到C末端包含:[IgG4 C_{H1}]-[IgG4上铰链]-[IgG2下铰链]-[IgG4 CH2]-[IgG4 CH3]。可以包括在本文所述的任何抗体中的嵌合Fc结构域的另一实例从N末端到C末端包含:[IgG1 C_{H1}]-[IgG1上铰链]-[IgG2下铰链]-[IgG4 CH2]-[IgG1 CH3]。在美国专利公开号20140243504中描述了可以包含在本公开的任何抗体中的嵌合Fc结构域或嵌合重链恒定区的这些和其他实例,所述专利公开号全文并入本文。具有这些一般结构安排的嵌合Fc结构域和嵌合重链恒定区及其变体可以具有改变的Fc受体结合,其依次又影响Fc效应子功能。

根据本公开的某些示例性实施方案,双特异性抗PSMA/抗CD3抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(A-HCVR和B-HCVR)、轻链可变区(A-LCVR和B-LCVR)和/或互补决定区(CDR),其包含美国专利公开号20170051074中列出的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体的任何氨基酸序列。在某些示例性实施方案中,可用于本公开方法的上下文中的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体或其抗原结合片段包含:(a)第一抗原结合臂,其包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区(A-HCVR)的重链互补决定区(A-HCDR1、A-HCDR2和A-HCDR3)和含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链互补决定区(A-LCDR1、A-LCDR2和A-LCDR3);以及(b)第二抗原结合臂,其包含含有SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HCVR(B-HCVR)的重链CDR(B-HCDR1、B-HCDR2和B-HCDR3)和含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的LCVR(B-LCVR)的轻链CDR(B-LCDR1、B-LCDR2和B-LCDR3)。根据某些实施方案,A-HCDR1包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;A-HCDR2包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;A-HCDR3包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列;A-

LCDR1包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;A-LCDR2包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列;A-LCDR3包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列;B-HCDR1包含SEQ ID NO:11或SEQ ID NO:14的氨基酸序列;B-HCDR2包含SEQ ID NO:12或SEQ ID NO:15的氨基酸序列;并且B-HCDR3包含SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:16的氨基酸序列;并且B-LCDR1包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;B-LCDR2包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列;B-LCDR3包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列。在其他实施方案中,双特异性抗PSMA/抗CD3抗体或其抗原结合片段包含:(a)第一抗原结合臂,其包含具有SEQ ID NO:1的HCVR(A-HCVR)和具有SEQ ID NO:2的LCVR(A-LCVR);以及(b)第二抗原结合臂,其包含具有SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:4的HCVR(B-HCVR)和具有SEQ ID NO:2的LCVR(B-LCVR)。在某些示例性实施方案中,双特异性抗PSMA $\times$ CD3抗体包含:PSMA结合臂,其包含具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的轻链;CD3结合臂,其包含具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的轻链。在某些示例性实施方案中,双特异性抗PSMA $\times$ CD3抗体包含:PSMA结合臂,其包含具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的轻链;CD3结合臂,其包含具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的轻链。用于本公开的方法中的包含以下各项的示例性的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体是REGN4336(本文称为“PSMA/CD3-002”):(a)第一抗原结合臂,其包含具有SEQ ID NO:1的HCVR(A-HCVR)和具有SEQ ID NO:2的LCVR(A-LCVR);以及(b)第二抗原结合臂,其包含具有SEQ ID NO:4的HCVR(B-HCVR)和具有SEQ ID NO:2的LCVR(B-LCVR)。

组合疗法

根据某些实施方案,本公开的方法包括将抗PSMA/抗CD3双特异性抗体与抗PD-1抗体组合施用于受试者。在某些实施方案中,本公开的方法包括施用具有附加或协同活性的抗体来治疗表达PSMA的癌症,优选地前列腺癌。如本文所用,表述“与……组合”是指在施用抗PD-1抗体之前、之后或同时施用抗PSMA/抗CD3双特异性抗体。术语“与……组合”还包括依次或伴随施用抗PD-1抗体和双特异性抗PSMA/抗CD3抗体。例如,当在双特异性抗PSMA/抗CD3抗体“之前”施用时,抗PD-1抗体可在施用双特异性抗PSMA/抗CD3抗体之前超过150小时、约150小时、约100小时、约72小时、约60小时、约48小时、约36小时、约24小时、约12小时、约10小时、约8小时、约6小时、约4小时、约2小时、约1小时、约30分钟、约15分钟或约10分钟施用。当在双特异性抗PSMA/抗CD3抗体“之后”施用时,抗PD-1抗体可在施用双特异性抗PSMA/抗CD3抗体之后约10分钟、约15分钟、约30分钟、约1小时、约2小时、约4小时、约6小时、约8小时、约10小时、约12小时、约24小时、约36小时、约48小时、约60小时、约72小时或超过72小时施用。与双特异性抗PSMA/抗CD3抗体“同时”施用是指在双特异性抗PSMA/抗CD3抗体施用后少于5分钟内(之前、之后或同时)将抗PD-1抗体以单独的剂型施用于受试者,或以包含抗PD-1抗体和双特异性抗PSMA/抗CD3抗体两者的单一组合剂型施用于受试者。

在某些实施方案中,本公开的方法包括施用第三治疗剂,其中第三治疗剂是抗癌药物。在某些实施方案中,本公开的方法包括施用抗PD-1抗体和抗PSMA/抗CD3双特异性抗体与放射疗法、手术或其他抗癌疗法的组合,以产生长期持久的抗肿瘤反应和/或增加患有表达PSMA的癌症的患者的存活期。

在一些实施方案中,本公开的方法包括在向患有癌症的患者施用抗PD-1抗体和双特异性抗PSMA/抗CD3抗体之前、同时或之后施用放射疗法。例如,可以在施用一个或多个剂

量的抗体以后在一个或多个剂量中对肿瘤病灶施用辐射疗法。在一些实施方案中,在全身施用抗PD-1抗体和/或双特异性抗PSMA/抗CD3抗体之后,可对肿瘤病灶局部施用放射疗法以增强患者肿瘤的局部免疫原性(辅助放射)和/或杀死肿瘤细胞(消融放射)。

药物组合物和施用

本公开包括这样的方法:所述方法包括向受试者施用单独或与抗PD-1抗体组合的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体,其中一种或多种抗体包含在单独或组合(单一)的药物组合物中。可以用合适的载体、赋形剂和提供合适的转移、递送、耐受性等的其它试剂配制本公开内容的药物组合物。众多的适当配制物可以见于所有医药化学家已知的处方集中:Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa. 这些配制物包括例如散剂、糊剂、软膏、凝胶剂、蜡、油、脂质、含脂质(阳离子或阴离子脂质)的囊泡(诸如LIPOFECTINTM)、DNA结合物、无水吸收糊剂、水包油和油包水乳液、乳液卡波蜡(carbowax)(各种分子量的聚乙二醇)、半固体凝胶和含有卡波蜡的半固体混合物。还参见Powell等人, "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA(1998) J PharmSci Technol 52:238-311。

各种递送系统是已知的,并且可以用于施用本公开的药物组合物,例如包封在脂质体、微粒、微胶囊、能够表达突变病毒的重组细胞、受体介导的内吞体中(参见例如Wu等人, 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432)。施用方法包括但不限于真皮内、肌肉内、腹膜内、静脉内、皮下、鼻内、硬膜外和口服途径。所述组合物可以通过任何方便的途径(例如通过输注或团注或通过注射)施用,并且可以与其他生物活性剂一起施用。

可以用标准针头和注射器皮下或静脉内地递送本公开内容的药物组合物。此外,对于皮下递送,笔式递送装置易于应用于递送本公开的药物组合物。这种笔式递送装置可以重复使用或是一次性的。可重复使用的笔式递送装置一般利用含有药物组合物的可更换的筒。一旦筒内的所有药物组合物都已施用并且筒变空时,就可以容易地丢弃空筒并且更换为含有药物组合物的新筒。然后可以再使用笔式递送装置。在一次性笔式递送装置中,没有可更换的筒。实际上,一次性笔式递送装置在装置内的储集器中预填充有药物组合物。一旦清空储集器中的药物组合物,就丢弃整个装置。

多种可重复使用的笔式递送装置和自动注射器递送装置应用于皮下递送本公开的药物组合物。实例包括但不限于AUTOPENTM (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK)、DISETRONICTM笔 (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25TM笔、HUMALOGTM笔、HUMALIN 70/30TM笔 (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN)、NOVOPENTMI、II和III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、NOVOPEN JUNIORTM (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、BDTM笔 (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)、OPTIPENTM、OPTIPEN PROTM、OPTIPEN STARLETTM和OPTICLIKTM (sanofi-aventis, Frankfurt, Germany)等等。可用于本公开的药物组合物的皮下递送的一次性笔递送装置的实例包括但不限于SOLOSTARTM笔 (sanofi-aventis)、FLEXPENTM (Novo Nordisk)、和KWIKPENTM (Eli Lilly)、SURECLICKTM自动注射器 (Amgen, Thousand Oaks, CA)、PENLETTM (Haselmeier, Stuttgart, Germany)、EPIPEN (Dey, L.P.)、和HUMIRATM笔 (Abbott Labs, Abbott Park IL)等等。

在某些情形下,可以在控释系统中递送药物组合物。在一个实施方案中,可以使用

泵。在另一个实施方案中,可以使用聚合材料;参见,Medical Applications of Controlled Release,Langer和Wise(编),1974,CRC Pres.,Boca Raton,Fla.在又一个实施方案中,可以将控释系统放置于组合物靶标附近,因此只需要全身剂量的一小部分(参见例如,Goodson,1984,载于Medical Applications of Controlled Release,同上,第2卷,第115-138页)。在Langer,1990,Science 249:1527-1533的综述中讨论了其他控释系统。

所述可注射制剂可以包括用于静脉内、皮下、皮内和肌肉内注射、点滴输注等的剂型。这些可注射制剂可以通过已知方法制备。举例来说,可注射制剂可以例如将上文所描述的抗体或其盐溶解、悬浮或乳化于常规地用于注射的无菌水性介质或油性介质中来制备。作为注射用水性介质,有例如生理盐水、含有葡萄糖和其他助剂的等渗溶液等,其可以与适当的增溶剂组合使用。由此制备的注射剂优选地填充于适当安瓿中。

有利地,将用于上文所述用途的药物组合物制备成适合于符合活性成分剂量的单位剂量的剂型。此类呈单位剂量的剂型包括例如小瓶或预装注射器。

施用方案

本公开包括这样的方法,所述方法包括以约每周四次、每周两次、每周一次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、每五周一次、每六周一次、每八周一次、每十二周一次或更低频率的给药频率向受试者施用单独或与抗PD-1抗体组合的双特异性抗PSMA x CD3抗体,只要达到治疗应答即可。

根据本公开的某些实施方案,可以在规定的时间过程中向受试者施用单独或与抗PD-1抗体组合的多剂量的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体。根据本公开的这个方面的方法包括向受试者依次施用单独或与一个或多个剂量的抗PD-1抗体组合的一个或多个剂量的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体。如本文所用,“依次施用”是指将每个剂量的抗体在不同的时间点,例如由预定间隔(例如,数小时、数天、数周或数月)隔开的不同天施用于受试者。本公开包括这样的方法:所述方法包括将单一初始剂量的抗体,然后是一个或多个第二剂量的抗体,以及任选地随后是一个或多个第三剂量的抗体按顺序施用于患者。术语“初始剂量”、“第二剂量”和“第三剂量”表示施用的时间顺序。因此,“初始剂量”为在治疗方案的开始时施用的剂量(也称为“基线量”);“第二剂量”为在初始剂量之后施用的剂量;并且“第三级剂量”为在第二剂量之后施用的剂量。初始剂量、第二剂量和第三剂量可以都含有相同量的抗体(抗PD-1抗体或双特异性抗体)。然而,在某些实施方案中,在初始剂量、第二剂量和/或第三剂量中所含的量在治疗过程中彼此不同(例如,在适当时向上或向下调整)。在某些实施方案中,在治疗方案开始时施用一个或多个(例如,1个、2个、3个、4个或5个)剂量作为“负荷剂量”,然后是以更低的频率施用的后续剂量(例如,“维持剂量”)。

在本公开的一个示例性实施方案中,每个第二剂量和/或第三剂量在紧接前一剂量后1/2至14周(例如,1/2、1、11/2、2、21/2、3、31/2、4、41/2、5、51/2、6、61/2、7、71/2、8、81/2、9、91/2、10、101/2、11、111/2、12、121/2、13、131/2、14、141/2周或更长时间)施用。如本文所用,短语“紧接前一剂量”是指在多次施用的顺序中,双特异性抗PSMA/抗CD3(和/或抗PD-1抗体)的剂量在顺序中紧接着的下一剂量施用之前向患者施用,而没有中间剂量。

根据本公开的这个方面的方法可以包括向将任意数量的第二和/或第三剂量的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体(和/或抗PD-1抗体)向患者施用。举例来说,在某些实施方案中,仅向患者施用单个第二剂量。在其他实施方案中,向患者施用两个或更多个(例如,2个、3

个、4个、5个、6个、7个、8个或更多个)第二剂量。同样,在某些实施方案中,仅向患者施用单个第三剂量。在其他实施方案中,向患者施用两个或更多个(例如,2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个或更多)第三剂量。

在涉及多个第二剂量的实施方案中,每个第二剂量可以与其他第二剂量相同的频率施用。例如,每个第二剂量可以在前一剂量后1周、2周或3周(例如,1周或3周)施用于患者。类似地,在涉及多个第三剂量的实施方案中,每个第三剂量可以与其他第三剂量相同的频率施用。例如,每个第三剂量可以在前一剂量后1至4周(例如1周或3周)施用于患者。或者,在治疗方案的过程中,向患者施用的第二和/或第三剂量的频率可以变化。医师也可以在治疗过程中调节施用频率,取决于在临床检查以后各个患者的需要。

在某些实施方案中,在治疗方案开始时更频繁地(每周两次、每周一次、每2周一次或每3周一次)施用一个或多个剂量的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体(例如,抗PD-1抗体)作为“诱导剂量”,随后以相同频率或不太频繁地(例如,每4-12周一次)施用后续剂量(“巩固剂量”或“维持剂量”)。

本公开包括这样的方法,所述方法包括向患者依次施用单独的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体或与抗PD-1抗体的组合,以治疗前列腺癌(例如,转移性去势抵抗性前列腺癌)。在一些实施方案中,本发明的方法包括施用一个或多个剂量的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体,任选地先前或随后施用一个或多个剂量的抗PD-1抗体。在某些实施方案中,本方法包括施用单个剂量的抗PD-1抗体,然后施用一个或多个剂量的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体。在一些实施方案中,可以施用一个或多个剂量的约0.1mg/kg至约20mg/kg(例如,100mg至600mg)的抗PD-1抗体,然后施用一个或多个剂量的约0.1mg/kg至约20mg/kg(例如,0.01mg至1000mg)的双特异性抗体,以抑制患有前列腺癌的患者肿瘤生长和/或预防肿瘤复发。在一些实施方案中,双特异性抗体或组合导致抗肿瘤功效增加(例如,分别与未治疗的受试者或施用任一抗体作为单一疗法的受试者相比,对肿瘤生长的抑制更大,对肿瘤复发的预防增加)。本公开的替代实施方案涉及抗PD-1抗体和双特异性抗体的伴随施用,所述双特异性抗体以与抗PD-1抗体相似或不同的频率以单独剂量施用。在一些实施方案中,双特异性抗体在抗PD-1抗体之前、之后或同时施用。在某些实施方案中,双特异性抗体作为单剂量制剂与抗PD-1抗体一起施用。

剂量

根据本公开的方法向受试者施用的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体,以及任选地抗PD-1抗体的量通常是治疗有效量。如本文所用,短语“治疗有效量”是指导致以下中的一者或多者的抗体(抗PD-1抗体或双特异性抗PSMA/抗CD3抗体)的量:(a)降低癌症(例如,前列腺癌)症状的严重性或持续时间;(b)抑制肿瘤生长,或增加肿瘤坏死、肿瘤缩小和/或肿瘤消失;(c)延缓肿瘤生长和发展;(d)抑制或延缓或停止肿瘤转移;(e)预防肿瘤复发;(f)增加患有癌症(例如,前列腺癌)的受试者的存活期;和/或(g)与未经治疗的受试者或施用任一抗体作为单一疗法的受试者相比,减少常规抗癌疗法的使用或需要(例如,减少或消除化疗剂或细胞毒性剂的使用)。

在双特异性抗PSMA/抗CD3抗体的情况下,治疗有效量可以为约0.01毫克(mg)至约2000mg,例如约0.01mg、约0.03mg、约0.09mg、约0.1mg、约0.2mg、约0.3mg、约0.4mg、约0.5mg、约0.6mg、约0.7mg、约0.8mg、约0.9mg、约1mg、约3mg、约4mg、约5mg、约6mg、约7mg、约

8mg、约9mg、约10mg、约20mg、约30mg、约40mg、约50mg、约75mg、约100mg、约125mg、约150mg、约200mg、约250mg、约300mg、约350mg、约400mg、约450mg、约500mg、约550mg、约600mg、约650mg、约700mg、约750mg、约800mg、约850mg、约900mg、约950mg或约1000mg的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体。在某些实施方案中,将0.03mg、0.09mg、0.1mg、0.3mg、0.9mg、1mg、3mg、9mg、10mg、30mg、90mg、100mg、300mg或900mg的双特异性抗PSMA x抗CD3抗体(例如,每周一次或每三周一次)施用于受试者,以治疗表达PSMA的癌症或前列腺癌(例如,转移性和/或去势抵抗性前列腺癌)。

在抗PD-1抗体的情况下,治疗有效量可以为约0.05mg至约600mg,例如,约0.05mg、约0.1mg、约1.0mg、约1.5mg、约2.0mg、约10mg、约20mg、约30mg、约40mg、约50mg、约60mg、约70mg、约80mg、约90mg、约100mg、约110mg、约120mg、约130mg、约140mg、约150mg、约160mg、约170mg、约180mg、约190mg、约200mg、约210mg、约220mg、约230mg、约240mg、约250mg、约260mg、约270mg、约280mg、约290mg、约300mg、约310mg、约320mg、约330mg、约340mg、约350mg、约360mg、约370mg、约380mg、约390mg、约400mg、约410mg、约420mg、约430mg、约440mg、约450mg、约460mg、约470mg、约480mg、约490mg、约500mg、约510mg、约520mg、约530mg、约540mg、约550mg、约560mg、约570mg、约580mg、约590mg或约600mg抗PD-1抗体。在某些实施方案中,将300mg至400mg的抗PD-1抗体与双特异性抗体组合(例如,每三周一次)施用于受试者,以治疗表达PSMA的癌症或前列腺癌(例如,转移性和/或去势抵抗性前列腺癌)。在某些实施方案中,将350mg的抗PD-1抗体与双特异性抗体组合(例如,每三周一次)施用于受试者,以治疗表达PSMA的癌症或前列腺癌(例如,转移性和/或去势抵抗性前列腺癌)。

单个剂量中所含的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体以及任选地抗PD-1抗体的量可以以每千克受试者体重的抗体的毫克数(即,mg/kg)表示。在某些实施方案中,本公开的方法中使用的双特异性抗PSMA/抗CD3抗体,以及任选地抗PD-1抗体可以以约0.0001至约100mg/kg受试者体重的剂量向受试者施用。例如,双特异性抗PSMA/抗CD3抗体可以以约0.1mg/kg至约20mg/kg患者体重的剂量施用,并且任选地抗PD-1抗体可以以约0.1mg/kg至约20mg/kg患者体重的剂量施用。

本文引用的序列和相应的SEQ ID NO的汇总显示在下表1中。

表1:序列汇总

SEQ ID NO:	描述
1	抗 PSMA 重链可变区
2	抗 PSMA 和抗 CD3 轻链可变区
3	抗 CD3-G5 重链可变区
4	抗 CD3-G20 重链可变区
5	抗 PSMA HCDR1
6	抗 PSMA HCDR2
7	抗 PSMA HCDR3
8	抗 PSMA 和抗 CD3 LCDR1
9	抗 PSMA 和抗 CD3 LCDR2
10	抗 PSMA 和抗 CD3 LCDR3
11	抗 CD3-G5 HCDR1
12	抗 CD3-G5 HCDR2
13	抗 CD3-G5 HCDR3
14	抗 CD3-G20 HCDR1
15	抗 CD3-G20 HCDR2
16	抗 CD3-G20 HCDR3
17	抗 PSMA 重链
18	抗 PSMA 和抗 CD3 轻链
19	抗 CD3-G5 重链
20	抗 CD3-G20 重链
21	抗 PD-1 重链可变区
22	抗 PD-1 轻链可变区
23	抗 PD-1 HCDR1
24	抗 PD-1 HCDR2
25	抗 PD-1 HCDR3
26	抗 PD-1 LCDR1
27	抗 PD-1 LCDR2
28	抗 PD-1 LCDR3
29	抗 PD-1 重链
30	抗 PD-1 轻链

实施例

提供以下实施例是为了向本领域普通技术人员提供关于如何制备和使用本发明的方法和组合物的完整公开和描述,而非旨在限制发明人认为是其发明的范围。已努力确保有关所用的数字(例如,量、温度等)的准确性,但应考虑某些实验误差和偏差。除非另外指明,否则份数是重量份,分子量是平均分子量,温度是按摄氏度计并且压力是大气压或接近大气压。

实施例1:结合前列腺特异性膜抗原(PSMA)和CD3的双特异性抗体的产生

本公开提供了结合CD3和前列腺特异性膜抗原(PSMA)的双特异性抗体;此类双特异性抗体在本文中也称为抗PSMA x抗CD3双特异性抗体或抗PSMA xCD3双特异性抗体。抗PSMA x抗CD3双特异性抗体的抗PSMA部分可用于靶向表达PSMA的肿瘤细胞,并且所述双特异性抗体的抗CD3部分可用于活化T细胞。PSMA结合在肿瘤细胞上和CD3结合在T细胞上促进

了活化的T细胞对被靶向的肿瘤细胞的定向杀死(细胞裂解)。

使用标准方法构建包含抗PSMA特异性结合结构域和抗CD3特异性结合结构域的双特异性抗体,其中抗PSMA抗原结合结构域和抗CD3抗原结合结构域各自包含不同的、独特的HCVR对与共同LCVR。所述双特异性抗体利用来自抗CD3抗体的重链、来自抗PSMA抗体的重链和共同轻链来构建。

所构建的各种抗PSMA x CD3双特异性抗体的抗原结合结构域的组成部分的汇总如表2所示。

表2:PSMAxCD3双特异性抗体的组成部分的汇总

双特异性抗体标识符	抗 PSMA	抗 CD3	共同轻链可变区
	抗原结合结构域 重链可变区	抗原结合结构域 重链可变区	
PSMA/CD3-001	SEQ ID NO: 1	CD3-VH-G5 (SEQ ID NO: 3)	SEQ ID NO: 2
PSMA/CD3-002	SEQ ID NO: 1	CD3-VH-G20 (SEQ ID NO: 4)	SEQ ID NO: 2

实施例2:如通过FACS分析所测量的示例性双特异性抗体的结合亲和力

在本实施例中,通过FACS确定了实施例1中所述的抗PSMA x抗CD3双特异性抗体与人PSMA表达细胞系以及与人食蟹猴CD3表达细胞系结合的能力。

简而言之,将 2×10^5 个细胞/孔的表达人CD3的Jurkat细胞、食蟹猴T细胞或表达人PSMA特异性的细胞与双特异性抗体的系列稀释液在4℃处温育30分钟。温育之后,洗涤细胞,并将山羊F(ab')₂抗人FcγPE标记的第二抗体(Jackson Immunolabs)添加到细胞中,再温育30分钟。接下来,洗涤细胞,重悬于冷的PBS+1% BSA中,并在BD FACS Canto II上通过流式细胞术进行分析。

对于FACS分析,细胞通过单个事件选择的前向散射高度对前向散射面积进行门控,然后是侧向和前向散射。使用Prism软件确定细胞结合滴定的EC₅₀。使用4参数非线性回归分析计算值。

表3:CD3和PSMA特异性细胞系上的FACS结合

双特异性抗体标识符	抗 CD3 结合臂	Jurkat	食蟹猴 T 细胞	B16F10.9/PSMA	22RV1
		EC ₅₀ [M]	EC ₅₀ [M]	EC ₅₀ [M]	EC ₅₀ [M]
PSMA/CD3-001	CD3-VH-G5	约 1.0E-06	NB	1.31E-09	NT
PSMA/CD3-002	CD3-VH-G20	2.10E-07	6.14E-06	2.09E-09	NT

NB=无结合;NT=未测试

如表2所示,所测试的抗PSMA x抗CD3双特异性抗体通过FACS证明了与表达人PSMA的B16F10.9/hPSMA和22RV1细胞系结合的特异性。FACS结合的检测限为1μM EC₅₀。

如表2所示,每种PSMA x CD3双特异性抗体的CD3结合臂对表达人CD3的Jurkat细胞显示出一定范围的细胞结合亲和力(15nM至300nM EC₅₀范围)。重要的是,通过表面等离子体共振(参见下表4)显示与人CD3异二聚体蛋白的微弱至不可检测的结合的CD3臂也与Jurkat细胞上微弱至不可观察的结合相关(即CD3-VH-G5)。两种测试的双特异性抗体在各

自的表达PSMA的细胞系上显示出相似的细胞结合,证实了与单独CD3臂的双特异性配对不影响或减少PSMA特异性结合。

实施例3:如通过表面等离子体共振结合测定所测量的示例性抗体的结合亲和力和抗PSMA x抗CD3双特异性抗体与可溶性异二聚体hCD3 mFc蛋白的结合亲和力和动力学常数通过表面等离子体共振在37℃处使用抗原捕获形式确定(表4)。在Sierra Sensors MASS-1仪器上进行测量。

在抗原捕获形式中,用山羊抗小鼠IgG2a多克隆抗体(Southern Biotech)衍生MASS-1高密度胺传感器表面。捕获可溶性异二聚体CD3蛋白,并在捕获的抗原上注射相应的抗体。

动力学结合速率常数(k_a)和解离速率常数(k_d)通过使用MASS-1分析仪R2曲线拟合软件将数据处理并拟合到1:1结合模型来确定。从动力学速率常数计算结合解离平衡常数(K_D)和解生活($t_{1/2}$)的计算公式恒定为: $K_D(M) = k_d/k_a$;并且 $t_{1/2}(min) = (ln2/(60*k_d))$ 。

表4:抗CD3双特异性抗体对可溶性人CD3的亲和力

双特异性抗体标识符	在 37° C 处的结合/抗原捕获形式				
	对应的抗 CD3 抗原结合 HCVR 标识符	$k_a (M s^{-1})$	$k_d (s^{-1})$	$K_D (M)$	$T_{1/2} (min)$
PSMA/CD3-001	CD3-VH-G5	NB	NB	NB	NB
PSMA/CD3-002	CD3-VH-G20	1.73E+04	5.77E-03	3.34E-07	2.0
对照 1	CD3-L2K	3.68E+05	2.66E-03	7.22E-09	4.3

如表4所示,抗PSMA x抗CD3双特异性抗体要么在表面等离子体共振结合测定中保持与可溶性CD3非常弱的结合,例如具有334nM的 K_D 值,要么不表现出任何可检测的结合。

实施例4:如体外所测量的由双特异性抗体表现出的T细胞活化和肿瘤特异性细胞毒性

在该实施例中,通过流式细胞术监测在抗PSMA x抗CD3双特异性抗体的存在下对表达PSMA的靶细胞的特异性杀伤。如先前所报告的,双特异性抗体显示出对CD3蛋白和CD3表达细胞系的一定范围的亲和力。测试了这一对双特异性抗体诱导初始人T细胞重新定向杀伤表达靶标的细胞的能力。

简而言之,将表达PSMA的(C4-2、22Rv1和TRAMPC2_PSMA)细胞系用1μM的荧光追踪染料紫色细胞示踪剂(Violet Cell Tracker)进行标记。在标记后,将细胞在37℃处铺板过夜。另外,将人PBMC以 1×10^6 个细胞/mL铺板于补充RPMI培养基中,并在37℃处温育过夜,以通过剔除贴壁的巨噬细胞、树突状细胞和一些单核细胞来富集淋巴细胞。第二天,在37℃处,将靶细胞与剔除贴壁细胞的初始PBMC(效应细胞/靶细胞比率为4:1)和相关双特异性抗体或同种型对照的系列稀释液一起共温育48小时。使用无酶细胞解离缓冲液从细胞培养板移除细胞,并通过FACS进行分析。

对于FACS分析,将细胞用死/活远红细胞示踪剂(Invitrogen)染色。在FACS分析之前,立即将 5×10^5 个计数珠添加到每个孔中。对于每个样品,收集 1×10^4 个珠。为了评估杀死的特异性,在活的紫色标记的群体上对细胞进行门控。记录活的群体的百分比,并用于计算归一化存活率。

通过将细胞与针对CD2和CD69的直接缀合抗体一起温育,并且报告活化的(CD69+)

T细胞占总T细胞 (CD2+) 的百分比来评估T细胞活化。

如表5中的结果所示,用抗PSMA x抗CD3双特异性抗体观察到表达PSMA的细胞的耗竭。所测试的双特异性抗体活化并指导人T细胞以皮摩尔范围的EC₅₀耗竭靶细胞。另外,观察到的靶细胞裂解与CD69细胞对CD2+T细胞的上调相关,具有pM EC₅₀。

重要的是,该实施例的结果表明,利用对CD3蛋白或CD3表达细胞显示出微弱至不可观察的结合的CD3结合臂的双特异性抗体 (即CD3-VH-G5) 仍然保留了活化T细胞的能力,并表现出对肿瘤抗原表达细胞的有效细胞毒性。

表5:选定的PSMAxCD3
双特异性抗体的细胞毒性和T细胞活化特性

双特异性抗体标识符	抗 CD3 结合臂	C4-2 细胞耗竭 EC ₅₀ [M]	22RV1 细胞耗竭 EC ₅₀ [M]	TrampC2. PSMA 细胞耗竭 EC ₅₀ [M]	T 细胞活化 EC ₅₀ [M]
PSMA/CD3-001	CD3-VH-G5	2.15E-11	6.31E-12	1.15E-11	1.34E-11
PSMA/CD3-002	CD3-VH-G20	1.39E-11	8.32E-12	NT	6.11E-12

NT=未测试

实施例5:抗PSMA/抗CD3双特异性抗体在体内显示出有效的抗肿瘤功效

为了确定示例性抗PSMA/抗CD3双特异性抗体的体内功效,在携带人前列腺癌异种移植物的免疫受损小鼠中进行研究。还在携带经工程改造以表达人PSMA的小鼠前列腺癌异种移植物的免疫活性小鼠中进行了附加研究。

抗PSMA/抗CD3双特异性抗体在人肿瘤异种移植模型中的功效

为了评估抗PSMA/抗CD3双特异性抗体在人肿瘤异种移植研究中的体内功效,用人外周血单核细胞 (PBMC) 以及内源性表达PSMA的C4-2人前列腺肿瘤细胞共同植入NOD scidy (NSG) 小鼠 (Jackson Laboratories,Bar Harbor,Maine) 中。

简而言之,将5x10⁶个C4-2细胞 (MD Anderson,TX) 与1x10⁶个人PBMC (ReachBio, LLC.,Seattle,WA) 一起在基质胶基质 (BD Biosciences) 的50:50混合物中皮下共同植入到雄性NSG小鼠的右肋腹。在肿瘤植入后的第0天、第4天和第7天,用0.1mg/kg的PSMA/CD3-002对小鼠进行腹膜内治疗。

在另一个异种模型中,在移植了人造血CD34+干细胞的小鼠中测试了抗PSMA x抗CD3双特异性抗体。简而言之,向新生的SIRPαBALB/c-Rag2-IL2rγ- (BRG) 幼崽植入hCD34+胎儿肝细胞。3-6个月后,然后向移植过hCD34的SIRPα BRG小鼠植入C4-2细胞 (5x10⁶个,皮下,在基质胶中)。8天后,用10ug PSMA/CD3-001或同种型对照抗体治疗小鼠,随后在整个研究中每周给药2次。

在所有研究中,使用卡尺每周测量2次肿瘤大小,并且肿瘤体积计算为体积= (长x宽)²。

如表6中的结果所示,与用同种型对照治疗相比,在上文所述的异种模型中测试的双特异性抗体在抑制肿瘤生长方面都是有效的。

抗PSMA/抗CD3双特异性抗体在免疫活性肿瘤模型中的功效

另外,在免疫活性模型中评估抗PSMA x抗CD3双特异性抗体的抗肿瘤活性。向针对CD3的三条链 (δγε) 以及针对PSMA人源化的小鼠植入用人PSMA转染的变体鼠前列腺癌细胞

系TRAMP-C2。

在研究开始之前,产生了致瘤细胞系变体TRAMP-C2_hPSMAv#1。简而言之,将 7.5×10^6 个TRAMP-C2_hPSMA细胞皮下植入到针对CD3和PSMA人源化的雄性小鼠的右肋腹。将肿瘤切除并切成3mm的碎片,随后植入到新的雄性人源化小鼠的右肋腹。然后收获由植入的肿瘤碎片产生的肿瘤,并将其分解成单细胞悬浮液。然后在G418选择下体外培养这些细胞(TRAMP-C2_hPSMAv#1)。然后将 4.10^6 个该变体细胞系的细胞植入到雄性PSMA/CD3人源化小鼠的肋腹,用于双特异性抗体功效研究。

将用TRAMPC2_hPSMAv#1移植的人源化PSMA/CD3小鼠用100ug或10ug抗PSMA x抗CD3双特异性抗体PSMA/CD3-001或同种型对照从肿瘤植入当天开始每周治疗2次。还检查了注射后4h的血清细胞因子水平以及脾脏T细胞水平。在第27天终止研究。

如表7中的结果所示,抗PSMA x抗CD3双特异性抗体在各治疗组中显示出显著延缓肿瘤生长的功效。在施用PSMA/CD3-001后观察到最小细胞因子释放,可能是由于抗CD3的弱结合。

值得注意的是,在不存在表达PSMA的肿瘤细胞的情况下,没有观察到T细胞活化。

另外,在未携带肿瘤的小鼠中,在PSMAxCD3双特异性抗体治疗后4小时收集血液样品,并确定血清细胞因子水平。确定细胞因子(即干扰素- γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素-2(IL-2)和白细胞介素-6(IL-6))水平的瞬时增加,并且瞬时增加是剂量依赖性的(数据未显示)。

表6:抗PSMA/抗CD3双特异性抗体在免疫受损异种移植模型中的功效

异种模型: 肿瘤生长的抑制				
肿瘤模型 / 小鼠品系	N # 小鼠 / 治疗组	双特异性抗体标识符	剂量	最终肿瘤体积 (mm ³) 平均值 $\pm$ SD
C4-/2 NSG	5	PSMA/CD3-002	在第 0 天、第 4 天和第 7 天 0.1 mg/kg	0 $\pm$ 0
	5	同种型对照		960 $\pm$ 660
用 hCD34+ HSC 移植的 C4-2/ SIRP α Balb/c- Rag2- IL2 γ - BRG	5	PSMA/CD3-001	1.0 ug/ 小鼠 2 次/周	70 $\pm$ 60
	5	同种型对照		260 $\pm$ 180
	4	同种型对照	1170 $\pm$ 600	(-)

表7:抗PSMA/抗CD3双特异性抗体在免疫活性同基因模型中的功效 (TRAMP-C2/PSMA^{Hum/hum}CD3^{Hum/Hum})

双特异性抗体标识符	剂 量 (ug/ 小 鼠) 2 次/周 *	N # 小 鼠 / 治疗组	在第 27 天 的 肿 瘤 体 积 (mm ³) (平 均 值 ±SD)	平均血清细胞因子浓度, (pg/mL)					脾脏 T 细胞水 平%, (平均值±SD) [†]	
				IFN γ	TNF α	IL-2	IL-12p70	IL-6	CD4+	CD8+
PSMA/C D3-001	100	4	50 ± 60	30	60	60	40	370	8.0 ± 1.0	12.0 ±2.0
	10	5	380 ± 650	10	50	50	10	330	8.0 ± 3.0	14.0 ± 4.0
同种型 对照	100	5	1740 ± 560	4	30	30	10	230	5.0 ± 1.0	8.0 ±2.0

*从肿瘤植入当天开始,每周向小鼠给药2次抗体或同种型对照

†测量为脾脏中CD4+或CD8+细胞占活的mCD45+细胞的百分比

实施例6:在患有转移性去势抵抗性前列腺癌的患者中单独或与抗PD-1抗体组合施用的双特异性抗PSMA x抗CD3抗体的1/2期研究

这是一项开放标签、1/2期、首次在人类中进行的多中心剂量递增研究,通过群组扩展评价了单独皮下施用和与静脉内西米普利单抗组合施用的PSMA/CD3-002在患有转移性去势抵抗性前列腺癌(mCRPC)患者中的安全性、耐受性、药代动力学(PK)和抗肿瘤活性。患者必须接受过至少两个既往线的被批准用于转移性和/或去势抵抗性疾病的系统疗法,包括第二代抗雄激素疗法。PSMA/CD3-002作为单一疗法每周施用一次,但在鉴定最低药理活性剂量后可以延长至每3周施用一次。在4周PSMA/CD3-002单一疗法导入周期之后,将PSMA/CD3-002与西米普利单抗(350mg)的组合每3周施用一次。施用研究疗法直到疾病进展、不可耐受的不良事件、撤回同意书或满足研究撤回标准。

剂量递增的主要目的是评价单独和与西米普利单抗组合的PSMA/CD3-002的安全性、耐受性、PK和推荐的2期给药方案(RP2DR)。一旦确定了RP2DR,将招募扩展群组。在扩展阶段期间,主要目的是评估临床活性,如根据修改的前列腺癌工作组3标准通过单独或与西米普利单抗组合的PSMA/CD3-002的客观缓解率(ORR)所测量的。在选定的地点,将在研究的预定时间点进行PSMA正电子发射断层扫描/计算机断层扫描。下文提供了另外的详情。

研究目的

本研究的主要目的是:为了评估PSMA/CD3-002单独作为单一疗法或与西米普利单抗组合的安全性、耐受性和PK并且确定其RP2DR(在剂量递增中);并且评估PSMA/CD3-002作为单一疗法或与西米普利单抗组合的初步抗肿瘤活性,如根据修改的前列腺癌工作组(PCWG3)标准通过客观反应率(ORR)所测量的(在剂量扩展中)。

本研究的次要目的是:为了评估PSMA/CD3-002作为单一疗法或与西米普利单抗组合的初步抗肿瘤活性,如根据修改的PCWG3标准通过ORR所测量的(在剂量递增中);在每个扩展群组中表征安全性特征(在剂量扩展中);表征PSMA/CD3-002作为单一疗法或与西米普利单抗组合的PK(在剂量扩展中);评估PSMA/CD3-002作为单一疗法或与西米普利单抗组合

的初步抗肿瘤活性,如通过PSA下降所测量(在剂量递增和剂量扩展中);并且在模块1中评价PSMA/CD3-002的免疫原性和在模块2中评价PSMA/CD3-002和西米普利单抗的免疫原性(在剂量递增和剂量扩展中)。

本研究的探索性目的是:

- 为了评估PSMA/CD3-002作为单一疗法或与西米普利单抗组合的初步抗肿瘤活性,如通过PSA的百分比变化、疾病控制率(DCR)、反应持续时间(DOR)、放射影像学无进展存活期(rPFS)、PSA无进展存活期、总存活期(OS)、到反应的时间和到进展的时间所测量的
- 为了评价用于评估单独或与西米普利单抗组合的PSMA/CD3-002影响的探索性分子生物标志物,以了解PSMA/CD3-002的作用机制、观察到的毒性、疾病/靶标以及患者群体中疾病和反应性的潜在基因组因素
- 为了表征血清细胞因子水平与PSMA/CD3-002单一疗法或与西米普利单抗组合的临床耐受性之间的关系
- 为了鉴定肿瘤及其病变组织微环境的特征,这些特征可预测抗肿瘤活性或对PSMA/CD3-002疗法作出药效学反应
- 为了鉴定可预测抗肿瘤活性或毒性或对PSMA/CD3-002疗法作出药效学反应的外周免疫细胞群的特征
- 为了评价PSMA/CD3-002单独或与西米普利单抗组合对PSMA阳性和氟脱氧葡萄糖(FDG)阳性肿瘤的影响,如通过PET/CT所评估的
- 为了评价简明疼痛量表(Brief Pain Inventory-Short Form,BPI-SF)的每日活动量表中最严重疼痛、平均疼痛和疼痛干扰相对于基线的变化
- 为了根据BPI-SF第3项“过去24小时内最严重的疼痛”评价到疼痛进展的时间
- 为了评价PSMA/CD3-002单独或与西米普利单抗组合对患者报告的疾病特异性症状、功能和健康相关生活质量量度(QLQ-C30、QLQ-PR25、PGIC、PGIS)的影响。
- 为了评价患者群体中阿片类药物使用的变化

研究设计

这是一项1/2期、首次在人类中进行(FIH)的开放性、多中心研究,其在经历过治疗的转移性去势抵抗性前列腺癌(mCRPC)患者中评价作为单一疗法(模块1)或与静脉内(IV)施用的西米普利单抗组合(模块2)皮下(SC)施用的PSMA/CD3-002(一种抗PSMA x抗CD3双特异性抗体(bsAb))的安全性、耐受性、功效和PK。模块1将首先开始;在模块1中鉴定出最低药理活性剂量水平之后将开始模块2。

研究有两个部分,即剂量递增和剂量扩展。在达到目标剂量之前,本研究中的所有患者将用2个连续“递增”剂量(初始剂量和过渡剂量)的PSMA/CD3-002进行治疗。在剂量递增中确定的RP2DR(包括递增给药方案和PSMA/CD3-002的目标剂量)将在剂量扩展中进行进一步评价。

剂量递增:剂量水平由PSMA/CD3-002的目标剂量定义。设计了五个(或最多八个)潜在剂量水平,其中PSMA/CD3-002的目标剂量将以1/2(半)对数增量递增。根据在任何给定剂量水平下观察到的毒性,可以实施<100%的剂量增量。

模块1-单一疗法PSMA/CD3-002的递增给药方案和剂量递增的确定;递增给药方案的初始剂量从0.03mg SC剂量开始。所有三个剂量将以1/2对数增量/剂量水平递增,直到特

定不良事件 (AE) 的发生导致修改给药方案 (对于初始剂量和过渡剂量) 或定义出最大耐受剂量 (MTD) /RP2DR (对于目标剂量)。目标剂量的施用将按照每周一次 (QW) 的时间表开始, 并且在已经达到如通过PSA或肿瘤反应所评估的最低药理活性剂量之后, 转变为每3周一次 (Q3W)。

模块2-与西米普利单抗组合的PSMA/CD3-002的剂量递增: 招募到模块2中的患者将接受4周PSMA/CD3-002单一疗法导入周期 (周期0; QW SC, 包括“递增”剂量)。在模块2期间, PSMA/CD3-002将与西米普利单抗350mg Q3W IV一起以Q3W SC施用 (周期1+)。模块2中PSMA/CD3-002的剂量递增将从低于在模块1中确定的PSMA/CD3-002的最低药理活性剂量水平至少1个剂量水平开始。

剂量递增中剂量限制性毒性的评估: 剂量限制性毒性 (DLT) 是可能阻止向更高剂量水平前进的任何不良事件 (AE)。DLT标准纳入了使用其他bsAb和检查点抑制剂报告的AE。除了将根据当前美国移植和细胞疗法学会 (American Society for Transplantation and Cellular Therapy, ASTCT) 标准进行分级的细胞因子释放综合征 (CRS) 以外, 毒性将根据NCI-CTCAE v5.0进行分级。

在这两个模块中, 剂量水平递增 (即, 目标剂量递增) 将遵循BOIN (贝叶斯最优区间) 设计规则, 该规则适用于以下条件: 1) 将考虑与先前未测试的PSMA/CD3-002剂量相关的DLT, 2) 将递增剂量水平, 直到观察到PSMA/CD3-002目标剂量的MTD (毒性率为30%); 以及3) 在一个剂量水平下治疗的患者的最大数量为12。

在模块1中, 因为递增给药方案由在既往递增群组 (在模块1中的DL1之后) 中已被作为目标剂量测试并被视为可耐受的剂量组成, 因此将根据细胞因子释放综合征 (CRS) 和其他DLT的发生率和严重性应用单独的规则来修改递增给药方案。

DLT观察期:

模块1: 模块1中的DLT观察期 (最短持续时间为28天) 从施用第一剂量的研究药物时开始。在首次以给定剂量水平施用PSMA/CD3-002目标剂量后, 对DLT的监测将持续至少2周。由于在首次施用目标剂量之前的递增给药期间允许最多2周的剂量延迟, 所以DLT期的最长持续时间为42天。在递增给药期间观察到的DLT将与在目标剂量下观察到的DLT分开考虑, 并考虑用于递增给药方案的修改。在目标剂量下观察到的DLT将决定目标剂量的耐受性, 并考虑用于剂量水平递增。

模块2: DLT观察期被定义为在第1周期第1天开始的第一剂量的组合疗法 (PSMA/CD3-002和西米普利单抗) 后的21天。

剂量扩展: 在剂量扩展期间, 患者将以指定的DL (例如, RP2DR) 接受单一疗法PSMA/CD3-002 (模块1) 或与西米普利单抗350mg IV Q3W的组合疗法 (模块2)。如果多个DL揭示药效活性且耐受性良好, 则可以开放最多2个扩展群组。在剂量递增和剂量扩展中, 将在每次研究药物给药访视时进行安全性评价。在整个研究过程中, 将每9周 (Q9W) 进行一次放射影像学反应评估。研究者应继续使用研究药物治疗患者, 直到根据修改的PCWG3的临床或经确认的放射影像学疾病进展、不可耐受的AE、因临床反应而选择性停药、撤回同意书或满足其他研究撤回标准。未撤回同意书的患者然后将预期继续非治疗随访程序。

研究持续时间

所有患者都将经历三个连续的试验阶段: 筛选、治疗和随访。筛选期为最多28天。

根据肿瘤评估的频率,将治疗期分为多个周期。在治疗期期间,两个模块中的治疗周期通常为9周,肿瘤评估计划在每个周期开始时进行。模块2包括2个较短的周期(第0周期和第1周期),其将在下面详细描述。治疗将继续,直到疾病进展、不可耐受的AE、因临床反应而选择性停药、撤回同意书或满足其他研究撤回标准。

模块1-单一疗法PSMA/CD3-002:模块1治疗期由9周的周期组成。在第1周期期间,在达到目标剂量之前,个体患者将接受PSMA/CD3-002的至少2个递增的“递增”剂量(即,初始剂量和过渡剂量)。在初始剂量和/或过渡剂量期间,第一目标剂量的PSMA/CD3-002的施用可能会延迟最多2周以使CRS症状消退。

模块1的患者水平研究方案如图1(QW)和图2(Q3W)所提供。如图1和图2所描绘,在PSMA/CD3-002的前三次施用期间,将在受监测的环境中对患者进行至少72小时的观察,或者如果出现CRS,则观察直到CRS的全身症状消退。如果在施用之后观察到 ≥ 2 级CRS,则在每次后续施用时应继续在受监测的环境中观察患者,直到注射后CRS为 ≤ 1 级,此时他们的后续治疗施用可以在门诊环境中进行。

在鉴定最低药理活性剂量水平之后,对于随后招募的患者,下一个剂量水平将以PSMA/CD3-002目标剂量的Q3W时间表开始。根据图2,初始、过渡和前两次连续目标给药间隔将对招募到研究中的所有患者保持QW。所有剂量都将皮下施用。

对于在确定Q3W给药之后招募的患者以及在接受第一目标剂量之前需要延长的递增给药期以使CRS症状消退的患者,可以将第1周期延长以维持Q3W给药方案。

模块1的剂量递增方案和替代方案如下表8A和8B所示。

表8A:模块1的剂量递增方案(单一疗法PSMA/CD3-002)

DL ¹	初始剂量	过渡剂量	目标剂量
DL1	0.03 mg	0.1 mg	0.3 mg
DL2	0.09 mg	0.3 mg	0.9 mg
DL3	0.3 mg	0.9 mg	3 mg
DL4	0.9 mg	3 mg	9 mg

DL ¹	初始剂量	过渡剂量	目标剂量
DL5	3 mg	9 mg	30 mg

¹PSMA/CD3-002的目标剂量的给药方案可以是QW或Q3W。

表8B:模块1的替代剂量递增方案(单一疗法PSMA/CD3-002)

DL ¹	初始剂量	过渡剂量	目标剂量
DL1	0.03mg	0.1mg	0.3mg
DL2	0.1mg	0.3mg	1mg
DL3	0.3 mg	1mg	3mg
DL4	1mg	3mg	10mg
DL5	3mg	10mg	30mg
DL6	10mg	30mg	100mg
DL7	30mg	100mg	300mg
DL8	100mg	300mg	900mg

¹PSMA/CD3-002的目标剂量的给药方案可以是QW或Q3W。

模块2-使用PSMA/CD3-002和西米普利单抗的组合疗法:招募到模块2中的患者的

治疗期将从PSMA/CD3-002单一疗法导入周期(第0周期)开始,由每周递增给药组成。由于用组合疗法可能增强CRS,因此在开始与西米普利单抗的组合之前在单一疗法导入期间,患者必须耐受PSMA/CD3-002的目标剂量而没有CRS。

给药在第0周期期间将为QW,并将在第1周期过渡到Q3W。第0周期由PSMA/CD3-002作为初始、过渡和2个目标剂量的每周单一疗法给药组成。第0周期的计划长度为4周,但可能被延长至6周,以便允许来自初始剂量和过渡剂量的CRS的消退,或重复目标剂量以证明耐受性而没有CRS症状。当开始PSMA/CD3-002和西米普利单抗组合疗法时,第1周期为6周(42天),以适应首次治疗中肿瘤评估的时间。随后的周期(周期2+)将为9周(63天)。模块2的患者水平研究方案如图3所提供。

在模块2中,PSMA/CD3-002的目标剂量将不超过模块1中认为可耐受的PSMA/CD3-002目标剂量。所有PSMA/CD3-002剂量将通过SC施用,并且西米普利单抗将通过IV施用。如果对于相同剂量在模块1中观察到 ≥ 2 级CRS,将对于第0周期中的前三次注射,在受监测的环境中观察患者(图5)。对于第1周期中的首次组合治疗,将在受监测的环境中观察所有患者至少72小时,或直至所有CRS症状消退。另外,如果在开始组合施用时观察到 ≥ 2 级CRS,则对于每次后续施用,患者应在受监测的环境中继续接受治疗,直到注射后CRS为 ≤ 1 级,此时他们的后续治疗可以作为门诊患者进行。

表9A:模块2的剂量递增方案(PSMA/CD3-002与西米普利单抗组合)

DL ^{1,2}	初始剂量 ^{QW}	过渡剂量 ^{QW}	目标剂量 ^{Q3W}	西米普利单抗 ^{Q3W}
DL1	0.03	0.1	0.3mg	350mg
DL2	源自M1	源自M1	0.9mg	350mg
DL3	源自M1	源自M1	3mg	350mg
DL4	源自M1	源自M1	9mg	350mg
DL5	源自M1	源自M1	30mg	350mg

¹如果模块2从初始剂量和过渡剂量在模块1中定义的剂量水平开始,则这些定义的剂量将在模块2中实施。

²如果模块2在定义初始剂量和过渡剂量之前开始,那么如表8A中所规定的相同剂量的PSMA/CD3-002将用于模块2中的初始剂量和过渡剂量。

表9B:模块2的替代剂量递增方案(PSMA/CD3-002与西米普利单抗组合)

DL ^{1,2}	初始剂量 ^{QW}	过渡剂量 ^{QW}	目标剂量 ^{Q3W}	西米普利单抗 ^{Q3W}
DL1	0.03	0.1	0.3mg	350mg
DL2	源自M1	源自M1	1mg	350mg
DL3	源自M1	源自M1	3mg	350mg
DL4	源自M1	源自M1	10mg	350mg
DL5	源自M1	源自M1	30mg	350mg
DL6	源自M1	源自M1	100mg	350mg
DL7	源自M1	源自M1	300mg	350mg
DL8	源自M1	源自M1	900mg	350mg

¹如果模块2从初始剂量和过渡剂量在模块1中定义的剂量水平开始,则这些定义的剂量将在模块2中实施。

²如果模块2在定义初始剂量和过渡剂量之前开始,那么如表8B中所规定的相同剂量的PSMA/CD3-002将用于模块2中的初始剂量和过渡剂量。

研究人群

本研究将招募大约199名患者,具体如下:在剂量递增阶段,预计招募大约91名患者(模块1中43名患者,模块2中48名患者);以及在剂量扩展阶段,预计招募大约108名患者。样本量估计基于每个模块最多2个扩展群组,每个群组最多27名患者。

研究群体包括经历过治疗的mCRPC男性。为了纳入本研究,患者必须接受过至少2种批准用于转移性和/或去势抵抗性疾病的疗法,包括第二代抗雄激素疗法(例如,阿比特龙、恩扎鲁胺、阿帕鲁胺或达洛鲁胺)。

纳入标准:患者必须满足以下标准,才具备资格被纳入本研究:

1. 年龄 ≥ 18 岁的男性
2. 组织学上或细胞学上确认的前列腺腺癌,而没有纯小细胞癌
3. 在筛选时PSA值 $\geq 4\text{ng/mL}$ 的转移性去势抵抗性前列腺癌(mCRPC),其在筛选前6个月内根据以下中的1项已经进展:

a. 如通过确认的PSA水平上升所定义的PSA进展,每次评估之间的间隔 ≥ 1 周。

b. 基于RECIST 1.1版标准在软组织中放射影像学疾病进展(伴有或不伴有PSA进展)

c. 骨中的放射影像学疾病进展,其定义为在骨扫描中出现2个或更多个新的骨病变,伴有或不伴有PSA进展。注意:筛选时根据RECIST 1.1版根据本地读数的可测量病变不是入选的资格标准

4. 接受 ≥ 2 线的经批准用于转移性和/或去势抵抗性背景的既往系统疗法(除了雄激素剥夺疗法[ADT]以外)(包括至少1线第二代抗雄激素疗法(例如,阿比特龙、恩扎鲁胺、阿帕鲁胺或达洛鲁胺))后已经进展或对其不耐受

注意:对于具有混合组织学的转移性前列腺癌使用基于非紫杉烷的化学疗法方案是允许的,并且在评价疗法线时将包括在内

5. 能够并愿意提供肿瘤组织,无论是存档的还是新获得的。注意:仅对于剂量递增,如果存档的或新鲜的组织不可用,可以提交确认前列腺癌诊断的病理学报告

6. 接受过睾丸切除术或正在接受促黄体生成素释放激素(LHRH)激动剂或拮抗剂疗法(血清睾酮 $< 50\text{ng/dL}$),并同意在研究期间继续接受LHRH激动剂或拮抗剂疗法

7. ECOG体能状态为0或1

8. 以下数据记录的足够的器官和骨髓功能:

a. 血红蛋白 $\geq 8.5\text{g/dL}$

b. 绝对中性粒细胞计数 $\geq 1.0 \times 10^9/\text{L}$

c. 血小板计数 $\geq 100 \times 10^9/\text{L}$

9. 血清肌酐 $\leq 1.5 \times \text{ULN}$ 或估计肾小球滤过率 $> 50\text{mL/min/1.73m}^2$ 。24小时尿肌酐收集可以替代计算肌酐清除率,以满足资格标准。

10. 足够的肝功能:

(1) 总胆红素 $\leq 1.5 \times \text{ULN}$;对于患有已知的吉尔伯特综合征的患者, ≤ 3 倍机构ULN是允许的

(2) AST $\leq 2.5 \times$ ULN

(3) ALT $\leq 2.5 \times$ ULN

(4) ALP $\leq 2.5 \times$ ULN

11. 愿意并能够遵守临床访视和研究相关程序和要求

12. 愿意并能够提供如卫生当局和机构指南所规定的知情同意书

13. 能够理解并完成研究相关问卷

排除标准:符合以下标准中的任一条的患者将被排除在研究之外:

1. 目前正在另一项研究中接受治疗

2. 在第一剂量的研究疗法的4周内参与了研究药剂或研究装置的研究

3. 在给药的3周内接受了经批准的系统疗法(包括sipuleucel-T)的治疗或尚未从任何急性毒性中恢复(即, ≤ 1 级或基线),如在纳入标准中所述和如下所示的实验室变化除外:

a. 神经病变 ≤ 2 级的患者

4. 在首次施用研究药物的14天内接受了放射疗法或大手术,或未从AE中恢复(即 ≤ 1 级或基线),如在纳入标准中所述和如下所示的实验室变化除外:

a. 神经病变 ≤ 2 级的患者

5. 在第一剂量的研究疗法的5个半衰期内接受了任何先前的系统生物疗法。注意:如果自上次治疗后已过去至少30天,则在与发起人讨论后,先前接受过西妥昔单抗、利妥昔单抗或其他半衰期长于7天的非免疫调节抗体治疗的患者被允许纳入

6. 接受过既往PSMA靶向疗法

7. 剂量递增和模块1剂量扩展:在研究疗法前的5个半衰期内接受过抗癌免疫疗法(sipuleucel-T除外)。免疫调节剂的实例包括CTLA-4、4-1BB(CD137)或OX-40的阻断剂、治疗性疫苗、抗PD-1/PD-L1、磷酸肌醇3-激酶(PI3K) δ 抑制剂或细胞因子抗癌治疗。注意:排除接受过基于研究细胞的既往疗法(例如,CAR-T细胞)的患者

8. 模块2剂量扩展:接受过既往抗癌免疫疗法。免疫调节剂的实例包括CTLA-4、4-1BB(CD137)或OX-40的阻断剂、治疗性疫苗、抗PD-1/PD-L1、PI3K δ 抑制剂、CAR-T细胞或细胞因子抗癌治疗。注意:允许使用sipuleucel-T的既往治疗

9. 除了通过激素替代治疗充分管理的内分泌疾病以外在开始研究药物疗法前3个月尚未从免疫介导的AE中恢复(即, ≤ 1 级或基线)的患者

10. 由于免疫相关AE而永久停止抗癌免疫调节疗法的患者

11. 在第一剂量的研究药物前1周内,患有需要进行性/持续性皮质类固醇疗法($> 10\text{mg}$ 泼尼松/天或抗炎等效物)的任何病症。生理替代剂量是允许的,即使它们是 $> 10\text{mg}$ 泼尼松/天或等效物,只要它们不是出于免疫抑制目的而施用即可。吸入或局部类固醇被允许纳入,条件是它们不是用于治疗自身免疫性障碍。注意:需要短期使用类固醇(招募前一周最多2天)或生理替代治疗的患者可以被招募到本研究中

12. 目前或最近(5年内)有需要进行系统性免疫抑制治疗的明显自身免疫性疾病的证据。以下情况不排除:白癜风、已消退的儿童哮喘、仅需要激素替代治疗的内分泌病(诸如甲状腺功能减退或1型糖尿病)或不需要系统性治疗的银屑病。

13. 有肝脏转移

14. 患有另一种正在进展或需要积极治疗的恶性肿瘤,除了:
 - a. 经历了潜在治愈疗法的非黑色素瘤皮肤癌
 - b. 任何被认为通过明确的局部控制(有或没有持续的辅助激素疗法)得到有效治疗的肿瘤
15. 剂量递增:CNS转移(包括先前治疗过的转移)史
剂量扩展:未治疗的或活动性原发性脑肿瘤、CNS转移、软脑膜疾病或脊髓压迫。例外:先前接受过中枢神经系统转移或脊髓压迫治疗的患者可以参加,条件是:
 - a. 在第一剂量的研究药物之前至少6周内无进展的证据,并且任何神经系统症状已复原至基线
 - b. 没有新的或扩大的中枢神经系统转移的证据
 - c. 在第一剂量的研究药物前2周内,无需使用全身皮质类固醇来管理中枢神经系统转移或脊髓压迫
16. 在第一剂量的研究疗法前的一年中患有脑炎、脑膜炎、神经退行性疾病(不妨碍日常生活活动[ADL]的轻度痴呆除外)或无法控制的癫痫
17. 在第一剂量的研究药物前的5年内,有间质性肺病或活动性非感染性肺炎的已知病史或任何证据。有辐射场放射性肺炎史是允许的
18. 无法控制的人免疫缺陷病毒感染、乙型肝炎或丙型肝炎感染;或诊断为免疫缺陷
 - a. 患者将在筛选时接受丙型肝炎病毒(HCV)和乙型肝炎病毒(HBV)检测
 - b. 感染已得到控制(无法检测到病毒载量(HIV RNA PCR),并且CD4计数高于350,无论是自发产生还是在接受稳定的抗病毒方案时产生)的已知HIV感染患者被允许纳入。对于HIV感染得到控制的患者,将按照当地标准进行监测
 - c. 感染已得到控制(血清乙型肝炎病毒DNA PCR低于检测限并接受乙型肝炎抗病毒疗法)的乙型肝炎(HBsAg+)患者被允许纳入。具有受控感染的患者必须定期监测HBV DNA。患者必须继续接受抗病毒疗法持续到最后一个剂量的研究药物后至少6个月
 - d. 感染已得到控制(自发或作为既往成功的抗HCV疗法的响应,通过PCR检测不到HCV RNA)的丙型肝炎病毒抗体阳性(HCV Ab+)患者可以被招募到本研究中
19. 在第一剂量的研究药物后2周内需要住院治疗或静脉内注射抗感染药物治疗的任何感染
20. 在计划开始研究药物的28天内接受了活疫苗
21. 接受过同种异体干细胞移植或在任何时候接受过器官移植、或在开始研究药物的12周内接受过自体干细胞移植
22. 已知对研究药物的组分具有过敏反应或超敏反应。
23. 已知患有可能会干扰参与本研究的要求的精神疾病或物质滥用障碍
24. 具有研究者认为由于高安全性风险和/或影响研究结果解释的可能性而使患者不适合参与临床研究的任何医学病症、共病、体检结果或代谢功能障碍或临床实验室异常,包括但不限于严重的心血管疾病(例如,纽约心脏协会III级或IV级心脏病、前6个月内的心肌梗死、不稳定型心律失常或不稳定型心绞痛)和/或严重的肺部疾病(例如,阻塞性肺病和症状性支气管痉挛史)

25. 通过超声心动图或多门控采集扫描 (MUGA) 测量的心脏射血分数 < 40 % 研究治疗

将以 0.3mg 至 30mg (但可以为最多 900mg) QW 或 Q3W 的剂量作为目标剂量水平通过 SC 施用来施用 PSMA/CD3-002。

将在 30 分钟内通过静脉内输注以 350mg 的剂量伴随 Q3W 施用西米普利单抗。

当两种药物在同一天施用时, 将首先施用 PSMA/CD3-002, 然后应在 PSMA/CD3-002 施用完成后不少于 30 分钟进行西米普利单抗施用。

从 C1D1 开始, 所有招募的患者都将需要常规类固醇前驱用药, 详情如下:

- 在给药当天和给药后一天 10mg 地塞米松 IV/PO, 直至达到第 2 个全剂量 (例如, C1D22)

- 第二个全剂量后开始减量

第 3 个全剂量 (例如, C1D29) 时 10mg IV/PO

第 4 个全剂量 (例如, C1D36) 时 6mg IV/PO

研究端点

本研究的主要终点是: 剂量限制性毒性、其他治疗中出现的不良事件 (TEAE; 包括 irAE)、严重 AE (SAE)、特殊关注的不良事件 (AESI) 和实验室异常 (在剂量递增中); PSMA/CD3-002 单独或与西米普利单抗组合时的血清浓度 (在剂量递增中); 以及根据修改的前列腺癌工作组 3 (PCWG3) 标准的客观反应率 (ORR) (在剂量扩展中), 其被定义为基于以下因素实现反应的患者的百分比:

- PSA 从基线下降 $\geq 50\%$, 通过在 ≥ 4 周后的第二次 PSA 测试确认, 和/或

- 完全缓解 (CR) 或部分缓解 (PR) 的放射影像学确认的反应

关键的次要终点是: 根据修改的 PCWG3 标准的 ORR (在剂量递增中), 其定义为基于 PSA 从基线下降 $\geq 50\%$ (通过在 ≥ 4 周后的第二次 PSA 测试确认) 实现反应的患者的百分比, 和/或具有完全缓解 (CR) 或部分缓解 (PR) 的放射影像学确认的反应的患者百分比; 剂量限制性毒性、其他 TEAE (包括 irAE)、SAE、AESI 和实验室异常 (在剂量扩展中); PSMA/CD3-002 作为单一疗法或与西米普利单抗组合时的血清浓度 (在剂量扩展中); 通过在 ≥ 4 周后的第二次 PSA 检测确认的 PSA 从基线下降 $\geq 50\%$ 的患者百分比 (在剂量递增和剂量扩展中); 通过在 ≥ 4 周后的第二次 PSA 检测确认的 PSA 从基线下降 $\geq 90\%$ 的患者百分比 (在剂量递增和剂量扩展中); 以及免疫原性, 如通过在模块 1 中针对 PSMA/CD3-002 的抗药物抗体 (ADA) 和在模块 2 中针对 PSMA/CD3-002 和西米普利单抗的 ADA 所测量的 (在剂量递增和剂量扩展中)。

探索性终点是:

- PSA 的百分比变化
- 疾病控制率 (DCR) (通过修改的 PCWG3 和 iRECIST)
- 基于放射影像学反应 (rDOR) 的反应持续时间 (DOR) (通过修改的 PCWG3 和 iRECIST)

- 基于 PSA 反应的 DOR

- 放射影像学无进展存活期 (rPFS) (通过修改的 PCWG3 和 iRECIST 确定的)

- PSA 无进展存活期

- 总存活期 (OS)

- 基于放射影像学反应的到反应的时间 (通过修改的PCWG3和iRECIST)
- 基于PSA反应的到反应的时间
- 基于放射影像学进展的到进展的时间
- 基于PSA进展的到进展的时间
- 在基线时和疗法中随时间推移肿瘤组织样本中治疗靶标 (例如,PD-1/PD-L1、PSMA和CD3+T细胞) 的丰度和分布
- CTC丰度和分子特征与临床功效的关联
- ctDNA、CTC和/或肿瘤组织在基线时和在治疗中的肿瘤突变谱,包括评估个体体细胞变异、肿瘤突变负荷 (TMB)、DNA修复途径基因的改变,以及评价这些特征与药物反应之间的关系
- 在基线时和在治疗中循环T细胞亚群的丰度和表型,以及它们的药效学反应性与临床功效或毒性的关联
- 全身炎症标志物 (例如,血清细胞因子) 的浓度以及免疫活性和临床毒性
- 在疗法开始后肿瘤PSMA和FDG PET信号相对于基线的变化
- 基线PSMA PET肿瘤阳性与临床活性的关联
- 如通过简明疼痛量表 (BPI-SF) 第3项 (“24小时内最严重的疼痛”) 所评估的到疼痛进展的时间 (TTPP) 以及阿片类镇痛药的使用
- 如通过BPI-SF所测量的疼痛严重性和疼痛干扰相对于基线的变化
- 如通过EORTC QLQ-C30 GHS/QoL量表评分所测量的GHS/QoL相对于基线的变化
- 如通过EORTC QLQ-C30身体功能量表评分所测量的身体功能相对于基线的变化
- 如通过EORTC QLQ-PR25泌尿症状量表评分所测量的泌尿症状相对于基线的变化

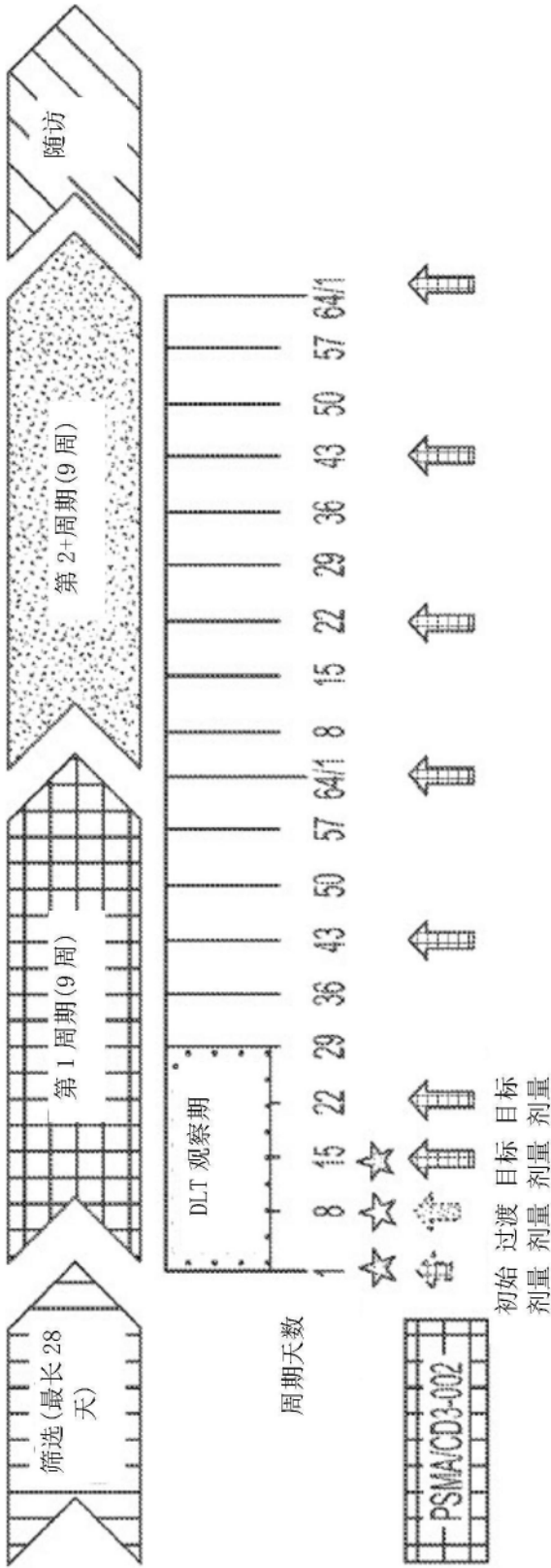
结果:预期在患有前列腺癌的患者中施用PSMA/CD3-002和西米普利单抗将导致完全缓解或部分缓解,并具有持久的疾病控制。

本发明的范围不受本文所述的具体实施方案限制。事实上,除本文所述的那些之外,本发明的各种修改根据前文描述书对于本领域技术人员将变得显而易见。此类修改旨在落在所附权利要求书的范围内。

表10:从ST.26格式序列表中排除的序列

SEQ ID NO:	序列
9	AAS
27	AAS

模块 1 的患者-水平研究方案 (Q3W 给药)



- ☆ 住院皮下注射：患者将住院 72 小时或直到 CRS 消退
- ☆ 如果在至少 10 名患者按照确定的给药方案给药之后未观察到 ≥ 2 级 CRS，则不再需要住院接受初始注射和过渡注射。

图2

模块2的患者-水平研究方案

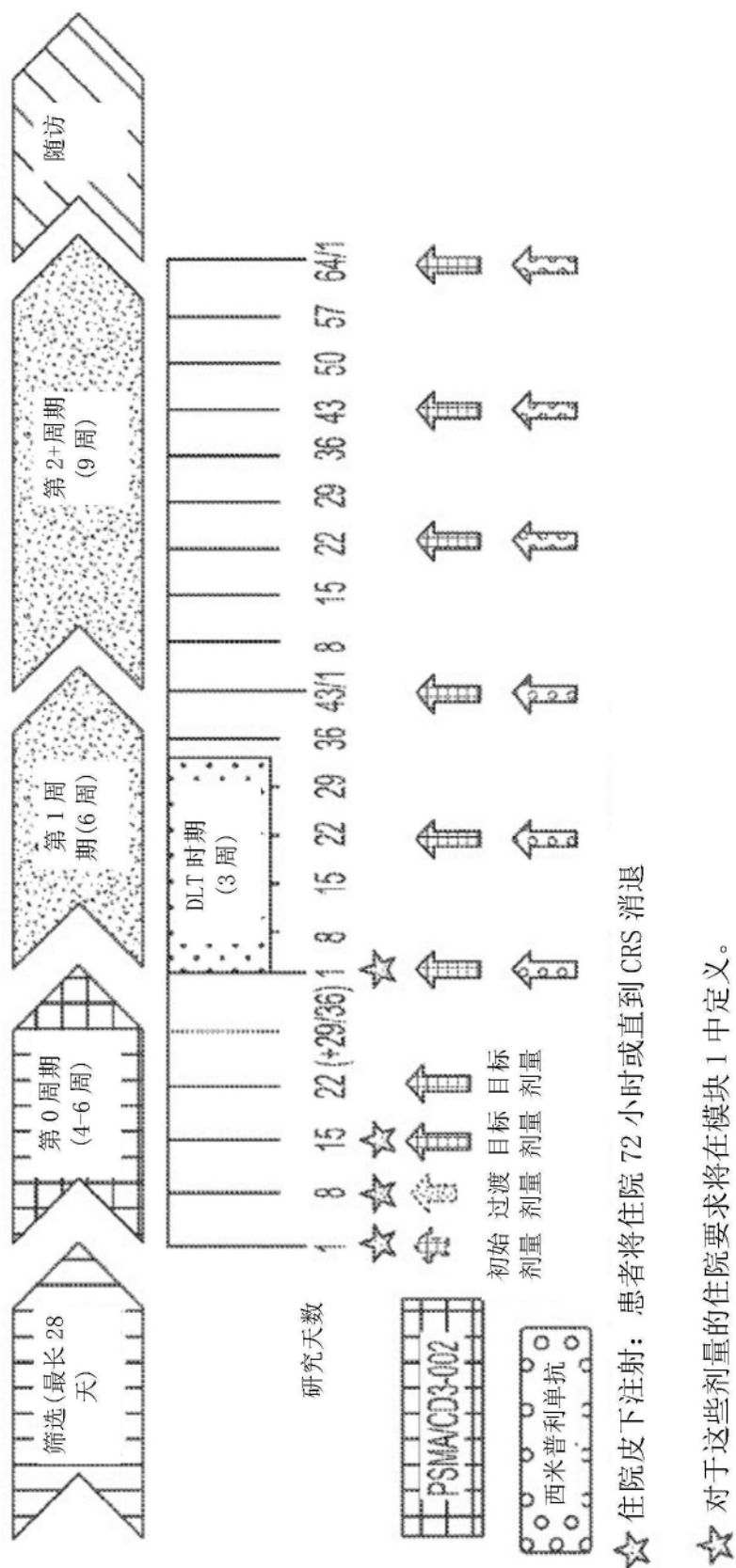


图3