



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106170300 A

(43)申请公布日 2016. 11. 30

(21)申请号 201580019099.2

(74)专利代理机构 上海专利商标事务所有限公
司 31100

(22)申请日 2015.04.07

代理人 陶启长 杨昀

(30)优先权数据

61/976,790 2014.04.08 US

(51)Int.Cl.

A61K 39/395(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

C07K 16/28(2006.01)

2016.10.10

A61K 47/42(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2015/024732 2015.04.07

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/157297 EN 2015.10.15

(71)申请人 西雅图基因公司

地址 美国华盛顿州

(72)发明人 B·赵 T·艾伯特森 T·韩

权利要求书1页 说明书11页

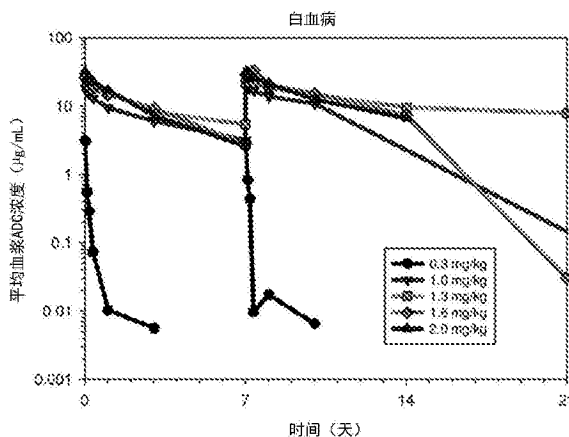
序列表2页 附图18页

(54)发明名称

CD19-抗体药物偶联物的优化给药

(57)摘要

本发明公开了CD19-抗体药物偶联物的优化给药方法。



1. 治疗患有急性淋巴细胞白血病的对象的方法,所述方法包括步骤:
 - a) 给予CD19-抗体药物偶联物的加载剂量,其中所述CD19-抗体药物偶联物(CD19-ADC)是偶联至mcMMAF分子的人源化BU12抗体,然后
 - b) 给予所述CD19-抗体药物偶联物的维持剂量,其中所述CD19-抗体药物偶联物的维持剂量是2.0mg/kg体重并且每三周给予。
2. 如权利要求1所述的方法,其中所述患者具有高疾病负荷并且对用CD19ADC的治疗敏感。
3. 如权利要求2所述的方法,其中所述加载剂量是2.0mg/kg体重并且在三周循环的第一天和第八天给予。
4. 如权利要求3所述的方法,其中所述加载剂量的给予持续一个三周循环。
5. 如权利要求3所述的方法,其中所述加载剂量的给予持续两个三周循环。
6. 如权利要求3所述的方法,其中所述加载剂量的给予持续1-4个三周循环。
7. 如权利要求3所述的方法,其中所述维持剂量的给予持续多个三周循环。
8. 如权利要求3所述的方法,其中所述维持剂量的给予持续1-10个三周循环。
9. 治疗患有急性淋巴细胞白血病的对象的方法,所述方法包括步骤:

给予固定剂量的CD19-抗体药物偶联物,其中所述CD19-抗体药物偶联物(CD19-ADC)是偶联至mcMMAF分子的人源化BU12抗体,其中所述剂量的强度为约1mg/kg/周。
10. 如权利要求9所述的方法,其中所述固定剂量是1.6mg/kg体重并且在三周循环的第一天和第七天给予。
11. 如权利要求9所述的方法,其中所述固定剂量是2.2mg/kg体重并且每两周给予。
12. 如权利要求9所述的方法,其中所述固定剂量是3.0mg/kg体重并且每三周给予。

CD19-抗体药物偶联物的优化给药

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2014年4月8日提交的美国临时专利申请号61/976,790的权益和优先权。

[0003] 序列表

[0004] 名称为0019-00411PC ST25.txt的3KB的序列表于2015年4月1日生成,其通过引用纳入本文。

技术领域

[0005] 本发明涉及使用CD19-抗体药物偶联物治疗B系急性淋巴细胞白血病(B-ALL或ALL)的优化剂量方案。

[0006] 发明背景

[0007] CD19是免疫球蛋白超家族成员。参见例如,Tedder和Isaacs,J Immunol,143:712-717(1989)以及DeI Nagro等,Immunol Res,31:119-131(2005)。其是未知由B谱系以外的任何细胞表达的B细胞特异性标记物。CD19表达在恶性转化后维持,因此,CD19发现于大多数B-细胞白血病或非霍奇金淋巴瘤患者的恶性细胞上。参见例如,Nadler等,J Immunol,131:244-250(1983);Anderson等,Blood,63:1424-1433(1984);以及Scheuermann和Racila,Leuk Lymphoma,18:385-397(1995)。

[0008] SGN-CD19A是一种由三种组分组成的CD19-引导的抗体-药物偶联物(ADC):1)人源化抗体hBU12,特异性结合人CD19,2)微管破坏剂单甲基澳瑞他汀F(MMAF),和3)稳定的接头,马来酰亚胺己酰基,其将MMAF共价接合至hBU12。提出的作用机理(MOA)是由SGN-CD19A结合至细胞表面上的CD19引发,之后是ADC的内化。在转运至溶酶体之后,递送的药物(cysmcMMAF)通过抗体运载体的蛋白水解降解释放。释放的药物结合至微管蛋白破坏了微管网络,导致细胞周期阻滞和凋亡。

[0009] 近期在治疗患有B系急性淋巴细胞白血病(B-ALL)的患者的1期临床试验中评估了SGN-CD19A的活性。试验目的在于提供SGN-CD19A分子在人类患者群体中的安全性信息。临床试验还提供了SGN-CD19A分子在治疗B-ALL中的药代动力学和功效的数据。为了最优地使用药物,优化的给药方案对处方医生非常有用。本发明解决了这个和其他问题。

发明内容

[0010] 本文提供治疗患有急性淋巴细胞白血病(ALL)的对象的方法,包括先给予CD19-抗体药物偶联物的加载剂量,其中所述CD19-抗体药物偶联物(CD19-ADC)是偶联至mcMMAF分子的人源化BU12抗体,然后给予所述CD19-抗体药物偶联物的维持剂量,其中所述维持剂量是每三周给予2.0mg/kg体重。人源化hBU12抗体具有SEQ ID NO:1的轻链可变区和SEQ ID NO:2的重链可变区。在一些实施方式中,对象具有高疾病负荷并且对用CD19ADC的治疗敏感;这类对象的加载剂量是2.0mg/kg体重并且在三周循环的第一天和第八天给予。在维持剂量开始前可给予2、3或4个加载剂量或者可在单一三周循环给予加载剂量。2.0mg/kg维持

剂量在三周循环的第一天给予,持续多个三周循环。在一些实施方式中,维持剂量的给予持续1-10个三周循环。在其他实施方式中,维持剂量的给予持续10-20个三周循环。在优选实施方式中,给予CD19ADC是静脉内给予。在其他实施方式中,CD19ADC维持剂量以维持胚细胞上CD19受体90%占据的剂量进行给予。

[0011] 在一个实施方式中,本发明提供治疗患有ALL、具有高疾病负荷并对用CD19ADC的治疗敏感的对象的方法,所述方法使用加载剂量然后用维持剂量。该对象用5mg/kg加载剂量的CD19-ADC治疗,所述CD19-ADC是偶联至mcMMAF分子的人源化BU12抗体,其在三周循环的第一天和第八天给予。在维持剂量开始前可给予2、3或4个加载剂量或者可在单一三周循环给予加载剂量。3mg/kg维持剂量在三周循环的第一天给予,持续多个三周循环。在一些实施方式中,维持剂量的给予持续1-10个三周循环。在其他实施方式中,维持剂量的给予持续10-20个三周循环。在优选实施方式中,给予CD19ADC是静脉内给予。在其他实施方式中,CD19ADC维持剂量以维持胚细胞上CD19受体90%占据的剂量进行给予。

[0012] 在一个实施方式中,本文提供治疗患有急性淋巴细胞白血病(ALL)的对象的方法,所述方法包括给予固定剂量的CD19-抗体药物偶联物,其中所述CD19-抗体药物偶联物(CD19-ADC)是偶联至mcMMAF分子的人源化BU12抗体,其中所述剂量的强度为约1mg/kg/周。人源化hBU12抗体具有SEQ ID NO:1的轻链可变区和SEQ ID NO:2的重链可变区。在一个实施方式中,所述固定剂量是1.6mg/kg体重并且在三周循环的第一天和第七天给予。在其他实施方式中,所述固定剂量是2.2mg/kg体重并且每两周给予。在其他实施方式中,所述固定剂量是3.0mg/kg体重并且每三周给予。在一些实施方式中,固定剂量的给予持续1-10个循环。在其他实施方式中,固定剂量的给予持续10-20个循环。在其他实施方式中,固定剂量的给予持续多至50个循环。在优选实施方式中,给予CD19ADC是静脉内给予。在其他实施方式中,CD19ADC维持剂量以维持胚细胞上CD19受体90%占据的剂量进行给予。

[0013] 定义

[0014] 术语“CD19”表示“分化蛋白19的簇”,一种在人B细胞上表达的人蛋白。人CD19的氨基酸序列是已知的并且公开于,例如,NCBI参考序列:NP_001171569.1。

[0015] 本文所用“紊乱”和术语“CD19相关紊乱”和“CD19相关疾病”表示能从本文所述CD19-抗体药物偶联物(CD19-ADC)(例如SGN-CD19A)的治疗中受益的任何病症。这些疾病包括慢性和急性疾病或失调,包括使哺乳动物倾向于发生所提及疾病的病理状况。本文治疗的非限制性示例或紊乱包括CD19表达性癌症,包括恶性血液病、良性和恶性的肿瘤、白血病和淋巴系恶性肿瘤,以及炎症、血管和免疫紊乱。紊乱的具体示例如上文所述。

[0016] B细胞恶性肿瘤,还称为B细胞系恶性肿瘤,可用本发明方法治疗。术语B细胞恶性肿瘤包括衍生自B细胞谱系的细胞的任何恶性肿瘤。

[0017] 本文所用术语“治疗”和“处理”等旨在包括能导致任何临床所需效果或有益效果的针对疾病或紊乱的治疗性或抑制性措施,包括但不限于缓解或缓和一种或多种症状、回复、减缓或停止疾病或紊乱的进展。例如,治疗可包括在临床或诊断症状发作后通过给予对象抗CD19抗体或其他CD19结合剂来减少或消除CD19表达紊乱的临床或诊断症状。治疗可通过症状严重性、症状数量或复发频率的降低来得到证实。

[0018] 除非另有说明,术语“对象”或“患者”可互换使用,表示哺乳动物例如人类患者和非人类灵长类,以及实验室动物例如兔、狗、猫、大鼠、小鼠和其他动物。因此,术语“对象”或

“患者”表示可给予本发明CD19结合剂的任何哺乳动物患者或对象。在优选实施方式中，术语对象或患者表示人类患者。本发明对象包括诊断患有CD19表达性癌症，包括例如B细胞淋巴瘤或B细胞白血病，包括但不限于非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病和急性淋巴细胞白血病的那些。在一些实施方式中，所述对象具有难治性或复发的CD19表达性癌症。

[0019] 患有难治性CD19表达性癌症的对象是对治疗不响应的对象，即虽然治疗但仍持续经历疾病进展的对象。

[0020] 复发的CD19表达性癌症的对象是一度对治疗响应但在响应后疾病复发或疾病进一步进展的对象。

[0021] 术语“有效量”表示CD19-ADC(例如SGN-CD19A)的量，该量足以抑制患者中CD19相关紊乱的一种或多种临床或诊断症状的发生或使其改善。根据本发明方法以“有效方案”给予有效量的试剂。术语“有效方案”表示足以维持高CD19占据的试剂的量和剂量频率的组合，其可实现对CD19相关紊乱的治疗或阻止。在优选实施方式中，有效方案维持给药间隔期间CD19表达细胞上几乎完全例如大于90%的CD19占据。

[0022] 本文中所述的术语“药学上可接受的”是指合理医疗判断范围内的这些化合物、材料、组合物和/或剂型，其适用于接触人体和动物组织、与合理的效益/风险比相适应的、不会产生过度毒性、刺激性、过敏反应或其它问题或并发症。术语“药学上相容的成分”表示与CD19-ADC例如SGN-CD19A一起给予的药学上可接受的稀释剂、佐剂、赋形剂或载剂。

[0023] 术语“药学上相容的成分”表示与CD19-ADC例如SGN-CD19A一起给予的药学上可接受的稀释剂、佐剂、赋形剂或载剂。

[0024] 本文所用术语“约”表示具体值加减10%的大致范围。例如，表述“约20%”包括18-22%的范围。本文所用的约也包括准确量。因此“约20%”表示“约20%”和“20%”。

[0025] 附图的简要说明

[0026] 图1提供SGN-CD19A的结构。人源化抗体hBU12偶联至mcMMAF药物接头。

[0027] 图2A和2B提供白血病(图2A)和淋巴瘤(图2B)患者在1循环治疗中的CD19-ADC的平均药代动力学概况。给予患者CD19-ADC的剂量并测量CD19-ADC的血浆浓度。显示各剂量水平下随着时间的平均CD19-ADC血浆浓度。患者患有急性淋巴细胞白血病(B-ALL)或高度侵袭性淋巴瘤。患者接受每周计划的指示剂量的CD19-ADC。

[0028] 图3A-3D提供通过比较观测值和模型预测值进行的模型拟合的诊断，图3A：血浆ADC浓度，图3B：胚上未结合的CD19平均荧光强度(MFI)，图3C：胚上结合的ADC MFI，和图3D：含胚的骨髓百分比。线性回归线为实线，统一线(unity line)为虚线。

[0029] 图4A-4D提供ALL患者的个体拟合诊断的案例研究。提供实际值和预测值，图4A：血浆CD19-ADC浓度，图4B：胚细胞上未结合的CD19MFI，图4C：胚细胞上结合的CD19-ADC MFI，和图4D：含胚的骨髓百分比。

[0030] 图5A和5B提供就ALL的CD19-ADC治疗的固定剂量计划的模型预测的CD19占据。模拟情形包括高基线CD19表达和100%骨髓胚和细胞过多。图5A提供对治疗敏感的癌症的结果，图5B提供对治疗敏感性较弱的癌症的结果。

[0031] 图6A和6B提供就ALL的CD19-ADC治疗的固定剂量计划的模型预测的CD19占据。模拟情形包括高基线CD19表达和10%骨髓胚和胚细胞过多。图6A提供对治疗敏感的癌症的结果，图6B提供对治疗敏感性较弱的癌症的结果。

[0032] 图7A和7B提供就ALL的CD19-ADC治疗的固定剂量计划的模型预测的CD19占据。模拟情形包括低基线CD19表达和100%骨髓胚和胚细胞过多。图7A提供对治疗敏感的癌症的结果,图7B提供对治疗敏感性较弱的癌症的结果。

[0033] 图8A和8B提供通过模型预测的CD19占据,针对给予更频繁剂量的CD19-ADC然后给予低频率CD19-ADC维持剂量用于治疗ALL。模拟情形包括高基线CD19表达和100%骨髓胚和细胞过多。起始循环为每周第1天和第8天给予2mg/kg;每三周给予不同维持剂量。图8A提供对治疗敏感的癌症的结果,图8B提供对治疗敏感性较弱的癌症的结果。

[0034] 图9A和9B提供通过模型预测的CD19占据,针对给予加载剂量的CD19-ADC然后给予CD19-ADC维持剂量用于治疗ALL。模拟情形包括高基线CD19表达和100%骨髓胚和细胞过多。加载剂量为5mg/kg;维持剂量变化。图9A提供对治疗敏感的癌症的结果,图9B提供对治疗敏感性较弱的癌症的结果。

[0035] 图10A和10B提供通过模型预测的CD19占据,针对给予更频繁剂量的CD19-ADC然后给予低频率CD19-ADC维持剂量用于治疗ALL。模拟情形包括低基线CD19表达和100%骨髓胚和细胞过多。起始循环为每周第1天和第8天给予2mg/kg,每三周给予不同维持剂量。图10A提供对治疗敏感的癌症的结果,图10B提供对治疗敏感性较弱的癌症的结果。

[0036] 图11A和11B提供通过模型预测的CD19占据,针对给予加载剂量的CD19-ADC然后给予CD19-ADC维持剂量用于治疗ALL。模拟情形包括低基线CD19表达和100%骨髓胚和细胞过多。加载剂量为每三周5mg/kg;维持剂量变化。图11A提供对治疗敏感的癌症的结果,图11B提供对治疗敏感性较弱的癌症的结果。

[0037] 图12提供模型结构。

[0038] 发明详述

[0039] 本发明提供给予患有急性淋巴细胞白血病(ALL)的患者SGN-CD19A药物的优化剂量计划。早期临床试验的结果表明SGN-CD19A表现出药代动力学(PK)和药效学(PD)之间的复杂关系。生成模型来描述SGN-CD19A清除率与其对ALL肿瘤细胞效果之间的关系。使用该模型,SGN-CD19A给药计划可设计为使肿瘤细胞毒性最大并使患者的脱靶毒性最小。

[0040] SGN-CD19A是一种抗体药物偶联物(ADC),其通过将药物-接头中间体马来酰亚胺己酰基单甲基澳瑞他汀F(mcMMAF)偶联至人源化抗体hBU12来产生(图1)。接合点是通过还原链间二硫键产生的半胱氨酸。SGN-CD19A具有平均四个药物/抗体分子。

[0041] 在例如美国专利号7,968,687中公开了制备hBU12抗体的方法。hBU12的轻链可变区的氨基酸序列在本文中SEQ ID NO:1提供。hBU12的重链可变区的氨基酸序列在本文中SEQ ID NO:2提供。hBU12是IgG1抗体并且可变区连接至人重链和轻链恒定区。美国专利号7,968,687也提供了合成mcMMAF及其偶联至hBU12的方法。

[0042] 因此,SGN-CD19A是将mcMMAF递送至CD19-阳性细胞的ADC。mcMMAF是微管蛋白-结合分子。SGN-CD19A具有提出的多步作用机制,其由结合至细胞表面上的靶标和随后的内化引发。在细胞表面结合、内化、和SGN-CD19A通过内吞作用通路转运之后,溶酶体中hBU12的蛋白水解降解以cys-mcMMAF的形式释放药物接头的半胱氨酸加合物,其然后变得可被微管蛋白结合。参见例如,Doronina等,Nat Biotechnol 21:778-84(2003)和Doronina等,Bioconjug Chem 17:114-24(2006)。cys-mcMMAF和mcMMAF在本文中互换使用。释放的药物与微管蛋白的结合破坏了细胞微管网络,导致靶细胞中G2/M期细胞周期阻滞和随后发生凋

亡。

[0043] 本文所述模型用于优化用于治疗急性淋巴细胞白血病(ALL)的SGN-CD19A给药。ALL还称为B-系急性淋巴细胞白血病(B-ALL),两种名称可互换使用。ALL是白细胞的癌症,其特征为淋巴母细胞或未成熟的白细胞的生长失控。淋巴母细胞本文还称为“胚”。胚通常在骨髓中生长并排挤正常血细胞。胚细胞可在血液中发现,但诊断通常通过观察骨髓活检来完成。

[0044] 基于患者在给予SGN-CD19A后的PK和PD值,生成模型来描述观察到的PK和PD数据,并随后基于CD19占据来确定SGN-CD19A的优化剂量。参见例如图12。根据该模型,SGN-CD19A先通过静脉输注至中央室来给予。中央室包括血浆、骨髓和快速灌注组织。然后以“CL”的速率从中央室中清除SGN-CD19A,并还可弥散至更慢速灌注的组织外周室或从其弥散,二者均通过线性动力学。中央室中的SGN-CD19A结合癌细胞(列如白血病或淋巴瘤细胞)上表达的CD19,以形成CD19-SGN-CD19A复合物。复合物内化入癌细胞,其中细胞毒素cys-mcMMAF在SGN-CD19A代谢后释放。细胞内的cys-mcMMAF以浓度依赖的方式引起癌细胞生长阻滞和死亡。假定大多数白血病胚细胞位于骨髓中,并且以戈珀兹(Gompertz)生长法则所支配的速率进行复制,该速率在低疾病负荷时更快并随着疾病负荷的增加而减缓。还假定给定的患者中所有白血病胚细胞具有相同的CD19表达水平并且患者中的总CD19由任何给定时间的细胞表达水平和疾病负荷所确定。

[0045] 一些假定构成模型的基础。首先,未结合的SGN-CD19A(药物)相对组织的分布动力学是线性的并且可通过室间速率常数来描述。第二,SGN-CD19A高度特异并且不结合除了CD19以外的靶标。第三,药物-CD19结合仅在中央室发生,不在外周(组织)室发生。第四,药物-CD19结合为快速过程,产生简单的一对一药物-靶标复合物。第五,SGN-CD19A与CD19蛋白的结合导致药物-CD19复合物的内化和降解,这引起小分子细胞毒素(cys-mcMMAF)的释放。第六,CD19合成和降解速率在给定患者的所有胚细胞中恒定并且不受治疗的影响。第七,大多数胚细胞位于骨髓空间。

[0046] 模型结构示于图12。

[0047] 用于患者的SGN-CD19A在无菌药学上可接受的赋形剂中配制,然后给予患者。通常,给药通过静脉方法。优选的SGN-CD19A的药学上可接受制剂为10mM磷酸钾、pH 6.0、0.02%w/v聚山梨酯80、和60mg/ml蔗糖中的15mg/ml。

[0048] 本发明方法提供用于治疗ALL的SGN-CD19A的优化给药计划。优化剂量和计划根据多种患者疾病特征例如疾病负荷和CD19表达水平来确定。该模型中的高疾病负荷定义为堆积的(100%替代)、细胞数目显著增多的骨髓,如骨髓活检或抽吸所评估。低疾病负荷定义为10%的骨髓被胚替代,如骨髓活检或抽吸所评估。高CD19表达定义为基线的CD19MFI值为45并且低表达为基线的值为4.5。其他相关特征为癌症对抗CD19治疗例如SGN-CD19A的敏感度(药效的相关系数0.00019)或不敏感(相关系数0.00006)。

[0049] SGN-CD19A可以固定剂量计划给予ALL患者。固定剂量计划是不随时间变化的计划。对于固定剂量计划的SGN-CD19A给予,重要的是维持剂量强度,即SGN-CD19A量/单位患者体重/单位时间为约1mg/kg/周。该剂量强度有利于患者,无论其疾病负荷或对治疗的敏感度。因此,可接受的SGN-CD19A固定剂量计划包括三周循环的第一天和第八天给予1.6mg/kg、每两周2.2mg/kg、或每三周3.0mg/kg。

[0050] 还可以较高加载剂量和/或更频繁的加载剂量、然后以较低和/或较不频繁的维持剂量将SGN-CD19A给予ALL患者。通常,加载剂量大于维持剂量。对于具有高疾病负荷并且对治疗敏感的患者,在三周循环的第一天和第八天给予2mg/kg的一个循环后每三周给予2mg/kg是可接受的维持剂量。通常给予单循环的更频繁给药的加载剂量,但根据需要可给予更多,以降低疾病负荷并在切换到维持剂量计划前诱发缓解。因此可在开始维持剂量之前给予1、2、3或4个加载剂量。以2mg/kg剂量水平给予维持剂量例如持续2-20个三周循环。

[0051] 对于具有高疾病负荷并且对治疗较不敏感的患者,每三周给予5mg/kg加载剂量后每三周给予3mg/kg是可接受的维持剂量。通常给予单加载剂量,但根据需要可给予更多,以降低疾病负荷并诱发缓解。对于一些患者,可在开始维持剂量之前给予多加载剂量例如1、2、3或4加载剂量。以3mg/kg剂量水平给予维持剂量例如持续2-20个三周循环。

实施例

[0052] 提供以下实施例用于说明而非限制本发明所要求的权利。

[0053] 实施例1:用于治疗ALL的基于半机械PK/PD模型的SGN-CD19A给药模型

[0054] 方法

[0055] 临床试验

[0056] 以每周计划(21天循环的前两周的第1天和第8天)静脉内(IV)给予SGN-CD19A。逐渐增加剂量水平。成年患者最初以2名一组招募,以剂量水平1开始。对于前6名患者,在招募下一个患者组之前获得完整的剂量限制性毒性信息。在前6名患者之后,可一次招募3名患者并处于DLT阶段。一旦一名患者完成DLT阶段,可招募另一面患者。通过连续重新估计模型确定安全性评估,并且算法重新分配患者剂量水平。剂量水平示于表1。

[0057] 表1:剂量递增计划

[0058]

剂量水平	计划A:每周剂量(mg/kg)	计划B:Q3周剂量(mg/kg)
1	0.3	0.5
2	0.6	1
3	1	2
4	1.3	3
5	1.6	4
6	2	5
7	2.3	6
8	3	-
9	3.8	-
10	4.5	-

[0059] PK和PD测量

[0060] 血浆SGN-CD19A水平-在指示剂量水平处于21天循环的第1天和第8天给予SGN-CD19A。在计划时间从患者中抽取血液用于PK和PD测量(表2)。用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血浆SGN-CD19A的浓度。简言之,对抗体-药物偶联物的MMAF部分特异的单克隆抗体用于从血液中捕获SGN-CD19A抗体。通过生物素偶联的抗ID19A检测抗体然后加入偶联链霉亲

的聚合辣根过氧化物酶(聚HRP-SA)来检测结合的SGN-CD19A。TMB(3,3',5,5'四甲基联苯胺)用于检测,其从无色TMB转变为有色TMB衍生物。

[0061] 胚上未结合的CD19受体蛋白-从冷藏的患者血液中分离胚并孵育标记的hBU12抗体(hBU12-AF488)。孵育后通过流式细胞术分析细胞的荧光强度,表示为平均荧光强度(MFI)。

[0062] 结合胚细胞的SGN-CD19A-从患者血液中分离胚细胞并与标记的MMAF特异抗体孵育(SG15.22-AF647)。清洗去除未结合的标记抗体后,通过流式细胞术分析细胞的荧光强度,表示为MFI。

[0063] 表2 PK/PD样品收集时间点

[0064]

循环	研究日	时间	窗口	相对时间	成人 PK	儿童 PK	PD
1 ^c	第 1 天	给药前	24 小时内	输注开始	X	X	X
		输注结束	15 分钟内	输注结束	X	X	X
		2 小时	+/- 15 分钟	输注结束	X	X	
		4 小时	+/- 15 分钟	输注结束	X	X	
		8 小时	+/- 15 分钟	输注结束	X	X	X
	第 2 天	24 小时	+/- 4 小时	输注开始	X	X	
	第 4 天	72 小时	+/- 4 小时	输注开始	X	X	X
	第 8 天	给药前	4 小时内	输注开始	X	X	X
		输注结束	15 分钟内	输注结束	X	X	
		2 小时	+/- 15 分钟	输注结束	X	X	
		4 小时	+/- 15 分钟	输注结束	X	X	
		8 小时	+/- 15 分钟	输注结束	X	X	
	第 9 天	24 小时	+/- 4 小时	输注开始	X	X	
	第 11 天	72 小时	+/- 4 小时	输注开始	X	X	
第 15 天	168 小时	+/- 24 小时	输注开始	X	X		
第 22 天 ^a	336 小时	+/- 24 小时	输注开始	X	X	X	
2 和 4	第 1 天	给药前	4 小时内	输注开始	X	X	X
		输注结束	15 分钟内	输注结束	X	X	
	第 8 天	给药前	4 小时内	输注开始	X	X	
		输注结束	15 分钟内	输注结束	X	X	
		2 小时	+/- 15 分钟	输注结束	X	X	
		4 小时	+/- 15 分钟	输注结束	X	X	
		8 小时	+/- 15 分钟	输注结束	X	X	
	第 9 天	24 小时	+/- 4 小时	输注开始	X	X	
	第 11 天	72 小时	+/- 4 小时	输注开始	X	X	X ^b
第 15 天	168 小时	+/- 24 小时	输注开始	X	X		
第 22 天 ^a	336 小时	+/- 24 小时	输注开始	X	X		
循环 3 和 所有其他 循环	第 1 天	给药前	4 小时内	输注开始	X	X	X
		输注结束	15 分钟内	输注结束	X	X	
	第 8 天	给药前	4 小时内	输注开始	X		
		输注结束	15 分钟内	输注结束	X		
	第 15 天	168 小时	+/- 24 小时	输注开始	X		
第 22 天 ^a	336 小时	+/- 24 小时	输注开始	X	X		
	EOT				X	X	X

[0065] a仅针对不继续治疗或在第22天不开始下一循环的患者所获的样品。

[0066] b仅循环2。

[0067] c再治疗循环1应遵循该计划。

[0068] 测量疾病负荷

[0069] 通过指示时间处的骨髓抽吸和/或活检来监控患者疾病。病理学家参考患者的骨髓切片并评估成为恶性胚的骨髓细胞的百分比,以及被细胞占据的骨髓中的总空间量(细胞性)。疾病负荷为细胞性和被恶性胚替代的骨髓百分比的乘积(product)。

[0070] 结果

[0071] ALL和淋巴瘤中的PK

[0072] 在21天循环的第1和第8天以多至2.0mg/kg的水平给予ALL患者SGN-CD19A。测量每个方案规定计划的SGN-CD19A血浆浓度(表2)。结果见图2A。在静脉输注给予后,血浆SGN-CD19A水平在输注结束时逐渐达到C_{max},并以多指数方式降低。PK概况显示SGN-CD19A血浆浓度在较低剂量水平发生更快的下降,表明非线性PK。相反,当SGN-CD19A给予淋巴瘤患者时,PK概况在不同剂量水平之间相似,如图2B所示。

[0073] 半机械整合PK-PD模型

[0074] 基于SGN-CD19A作用机制和临床PK和PD数据开发半机械整合PK-PD模型,所述临床PK和PD数据来自仍在进行中的首次在人类中进行的复发或难治性B细胞白血病或高侵袭性B细胞淋巴瘤的成人和儿童患者的剂量递增研究(CT.gov NCT01786096)。通过具有线性和非线性清除通路的两室PK模型描述SGN-CD19A ADC血浆浓度-时间概况。非线性清除设计为通过结合至细胞膜CD19进行的靶标介导的处置以及复合物内化。在降低骨髓疾病负荷形式中的抗肿瘤效果使用由内化的cys-mcMMAF浓度驱动的细胞杀伤PK-PD模型进行设计。PK和PD数据均用NONMEM® 7.1.2版进行同时拟合。低水平给药时,SGN-CD19A表现出双相PK曲线,表明药物的快速清除。随着SGN-CD19A的剂量增加,PK曲线变为单相,表明药物清除变慢。SGN-CD19A清除通过两种机制发生:通过全身代谢的清除和被肿瘤细胞摄取的清除。随着时间的推移,SGN-CD19A被ALL肿瘤细胞摄取,杀伤肿瘤细胞并降低肿瘤负荷。因此,随着时间的推移,通过肿瘤摄取的清除速率降低并且杀伤肿瘤细胞所需的SGN-CD19A减少。

[0075] 模型诊断

[0076] 为了确定模型拟合的优度,将模型预测值与患者样品的观测值进行比较。结果见图3A-3D。在图3A中,观测的SGN-CD19A血浆浓度相对模型的预测值作图。进行线性回归分析与统一线进行比较。图3B中,胚细胞上观测的未结合CD19MFI水平相对模型的预测值作图。进行线性回归分析与统一线进行比较。图3C中,结合至胚细胞的SGN-CD19A的观测MFI水平相对模型的预测值作图。进行线性回归分析与统一线进行比较。图3D中,骨髓中观测的胚细胞百分比水平相对模型的预测值作图。进行线性回归分析与统一线进行比较。对于所有比较,线性回归和统一线接近相同,表明观测值和预测值相似并且模型能很好的描述观测数据。

[0077] 图4A-4D显示单一ALL患者一段时间内的观测值和预测值。在所有图形中,循环1-4的第1和第8天给予0.3mg/kg SGN-CD19A;循环5-8的第1和第8天给予1.0mg/kg SGN-CD19A;并且循环9的第1和第8天给予1.3mg/kg。图4A中,观测的SGN-CD19A(ADC)血浆浓度相对时间进行作图,然后与模型的预测值进行重叠。图4B中,胚细胞上观测的未结合CD19MFI水平相对时间进行作图,然后与模型的预测值进行重叠。图4C中,结合至胚细胞的SGN-CD19A的观测MFI水平相对时间进行作图,然后与模型的预测值进行重叠。图4D中,骨髓中观测的胚细胞百分比水平相对时间进行作图,然后与模型的预测值进行重叠。对于所有这些比较,模型的预测图案与患者样品中的观测值匹配良好。

[0078] 基于模型的CD19占据的模拟

[0079] 对其他剂量和计划进行模型模拟,包括更频繁的剂量或加载剂量方案然后是维持剂量方案,以及对具有不同基线疾病特征的ALL患者进行模型模拟。

[0080] 第一模拟针对具有高基线CD19表达和100%骨髓胚并且骨髓中细胞过多的ALL患者。以固定剂量计划给予SGN-CD19A:21天循环的第1和第8天1.6mg/kg;每两周2.2mg/kg;或每三周3mg/kg。模型用于预测胚细胞上结合至SGN-CD19A的CD19的百分比(CD19占据)。假定若胚上90%的CD19蛋白被占据,则发生高靶标饱和度。图5A提供对治疗敏感的癌症的结果,图5B提供对治疗不敏感的癌症的结果。模拟结果表明在剂量强度为约1mg/kg/周时,所有剂量计划看起来都在循环1之后实现较高并且相当的靶标被SGN-CD19A占据;然而,靶标饱和度和可在循环1中减低到较低水平。

[0081] 针对具有高基线CD19表达和10%骨髓胚并且细胞过多的ALL患者运行模拟。以固定剂量计划给予SGN-CD19A:21天循环的第1和第7天1.6mg/kg;每两周2.2mg/kg;或每三周3mg/kg。模型用于预测胚细胞上结合至SGN-CD19A的CD19的百分比(CD19占据)。假定若胚上90%的CD19蛋白被占据,则发生高靶标饱和度。图6A提供对治疗敏感的癌症的结果,图6B提供对治疗不敏感的癌症的结果。模拟结果表明在剂量强度为约1mg/kg/周时,所有剂量计划看起来都实现较高并且相当的靶标被SGN-CD19A占据。

[0082] 针对具有低基线CD19表达和100%骨髓胚并且胚细胞过多的ALL患者运行模拟。如上,以固定剂量计划给予SGN-CD19A:21天循环的第1和第7天1.6mg/kg;每两周2.2mg/kg;或每三周3mg/kg。模型用于预测胚细胞上结合至SGN-CD19A的CD19的百分比(CD19占据)。假定若胚上90%的CD19蛋白被占据,则发生高靶标饱和度。图7A提供对治疗敏感的癌症的结果,图7B提供对治疗不敏感的癌症的结果。模拟结果表明在剂量强度为约1mg/kg/周时,所有剂量计划看起来都实现较高并且相当的靶标被SGN-CD19A占据。

[0083] 剩余的模拟测试给予SGN-CD19A的更频繁剂量或加载剂量然后给予低频率和/或低维持剂量。针对具有高基线CD19表达和100%骨髓胚并且细胞过多的ALL患者运行模拟。对于整个测试期间,剂量情况使用21天循环的第1和第8天给予2mg/kg剂量。其他剂量以在21天循环的第1和第8天给予2mg/kg开始,然后每三周给予2、1或0.5mg/kg。图8A提供对治疗敏感的癌症的结果,图8B提供对治疗敏感性较弱的癌症的结果。模拟结果表明当每三周给予时,对于敏感疾病,需要2mg/kg的剂量来实现在维持期间SGN-CD19A对CD19的高占据,而对于敏感性较弱的疾病,需要大于2mg/kg。

[0084] 针对具有高基线CD19表达和100%骨髓胚并且细胞过多的ALL患者运行加载剂量模拟。对于整个测试期间,该加载剂量情况使用21天循环的第1天给予5mg/kg。其他剂量以在21天循环的第1天给予5mg/kg开始,然后每三周给予3、2、或1mg/kg。图9A提供对治疗敏感的癌症的结果,图9B提供对治疗敏感性较弱的癌症的结果。模拟结果表明当每三周给予时,对于敏感疾病,需要2mg/kg的剂量来实现在维持期间SGN-CD19A对CD19的高占据,而对于敏感性较弱的疾病,需要3mg/kg。

[0085] 针对具有低基线CD19表达和100%骨髓胚并且胚细胞过多的ALL患者运行加载剂量模拟。对于整个测试期间,剂量情况使用21天循环的第1和第8天给予2mg/kg。其他剂量以在21天循环的第1和第8天给予2mg/kg开始,然后每三周给予2、1或0.5mg/kg。图10A提供对治疗敏感的癌症的结果,图10B提供对治疗敏感性较弱的癌症的结果。模拟结果表明当每三周给予时,对于敏感疾病和敏感性较弱的疾病,需要2mg/kg的剂量来实现在维持期间SGN-CD19A对CD19的高占据。

[0086] 针对具有低基线CD19表达和100%骨髓胚并且胚细胞过多的ALL患者运行加载剂

量模拟。对于整个测试期间,该加载剂量情况使用21天循环的第1天给予5mg/kg。其他剂量以在21天循环的第1天给予5mg/kg开始,然后每三周给予3、2、或1mg/kg。图11A提供对治疗敏感的癌症的结果,图11B提供对治疗敏感性较弱的癌症的结果。模拟结果表明当每三周给予时,对于敏感疾病和敏感性较弱的疾病,需要2mg/kg的剂量来实现在维持期间SGN-CD19A对CD19的高占据。

[0087] 应理解,本文所述的实施例和实施方式仅用于说明目的,本领域技术人员应了解据此作出的各种修饰或改变,且它们包括在本申请的主旨和权益以及所附权利要求书的范围内。本文引用的所有发表物、专利和专利申请通过引用全文纳入本文以用于所有目的。

序列表

<110> 西雅图基因公司 (SEATTLE GENETICS, INC.)

<120> CD19-抗体药物偶联物的优化给药

<130> 0019-0041 IPC

<150> US 61/976,790

<151> 2014-04-08

<160> 2

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> hBU12 轻链可变区

<400> 1

[0001] Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
 65 70 75 80

Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Val Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 2

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> hBU12 重链可变区

<400> 2

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Thr Ser
 20 25 30

Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45

[0002]

Trp Ile Gly His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg Met Glu Leu Trp Ser Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

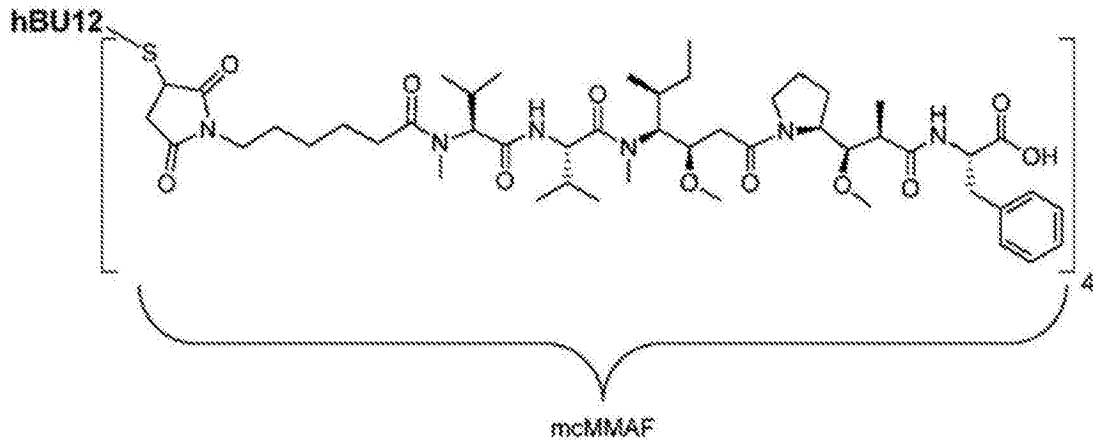


图1

白血病

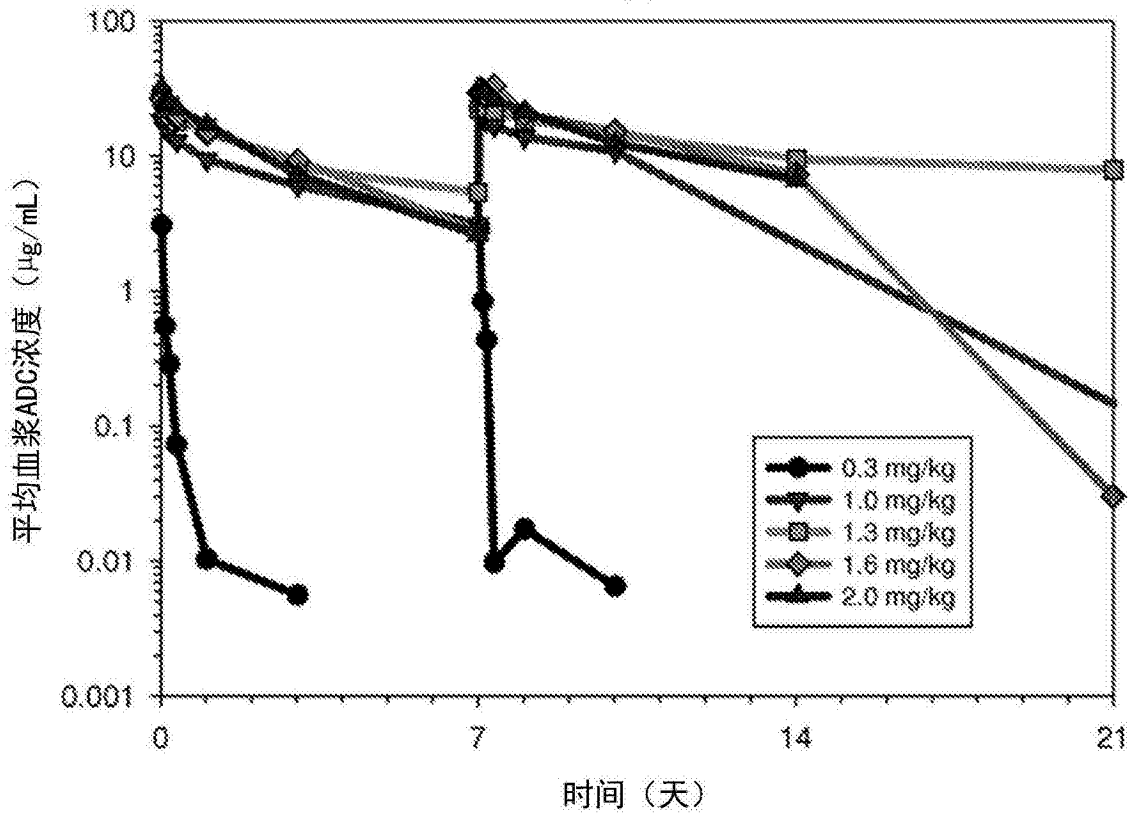


图2A

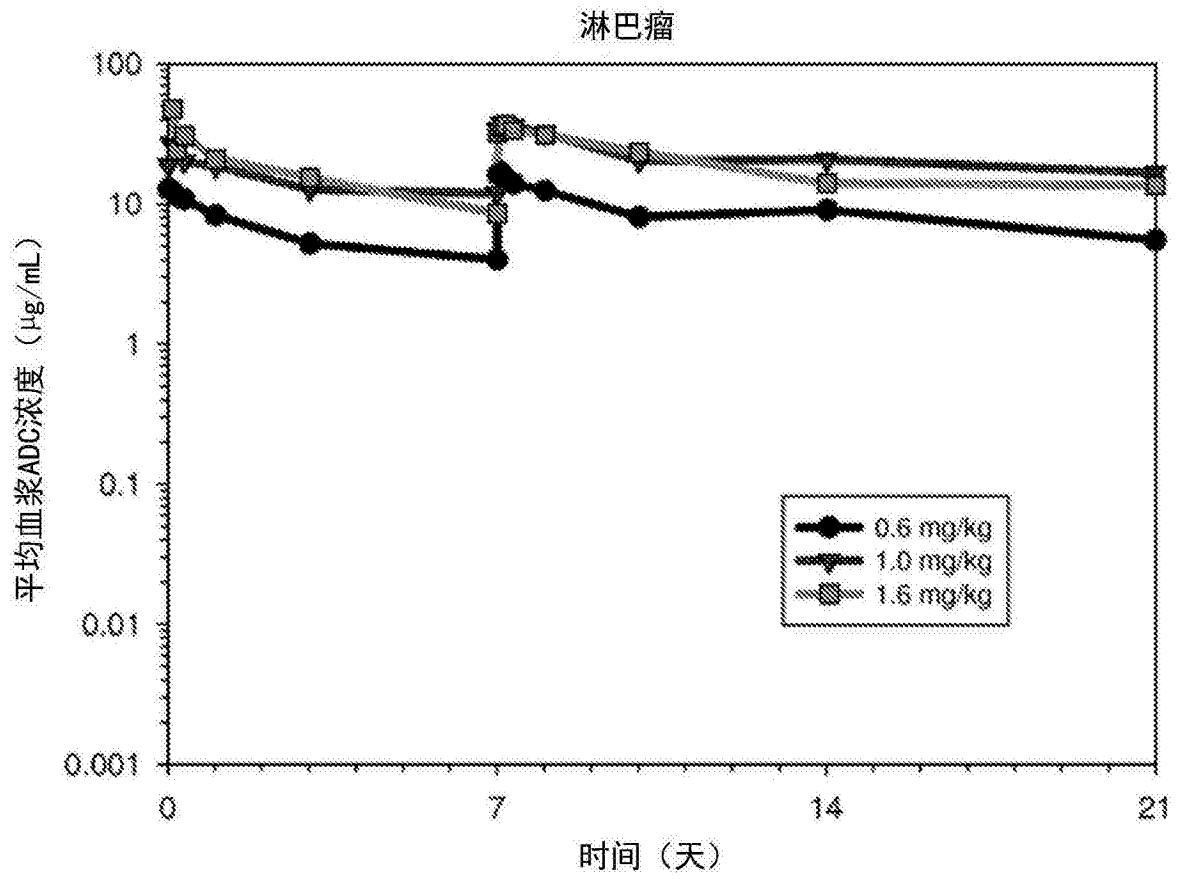


图2B

诊断图-血浆ADC浓度 ($\mu\text{g/mL}$)

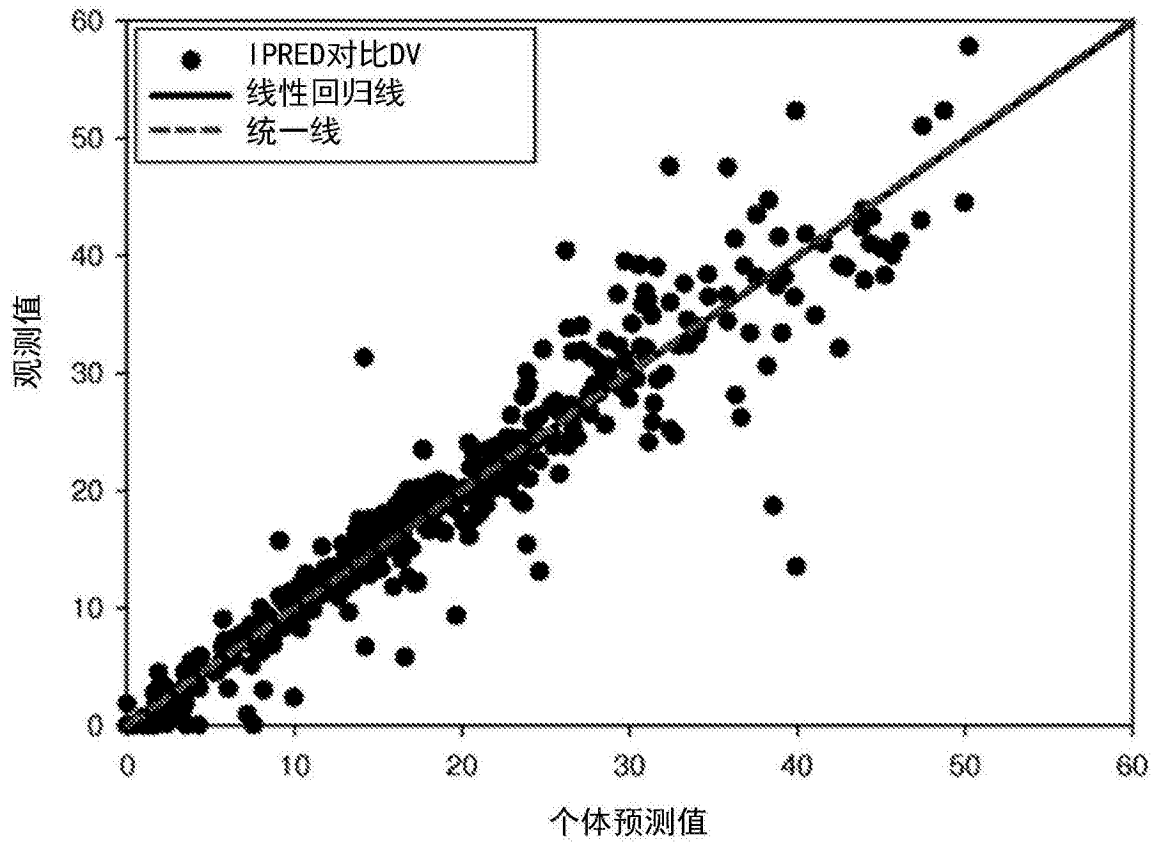


图3A

诊断图-胚上未结合的CD19 (MFI)

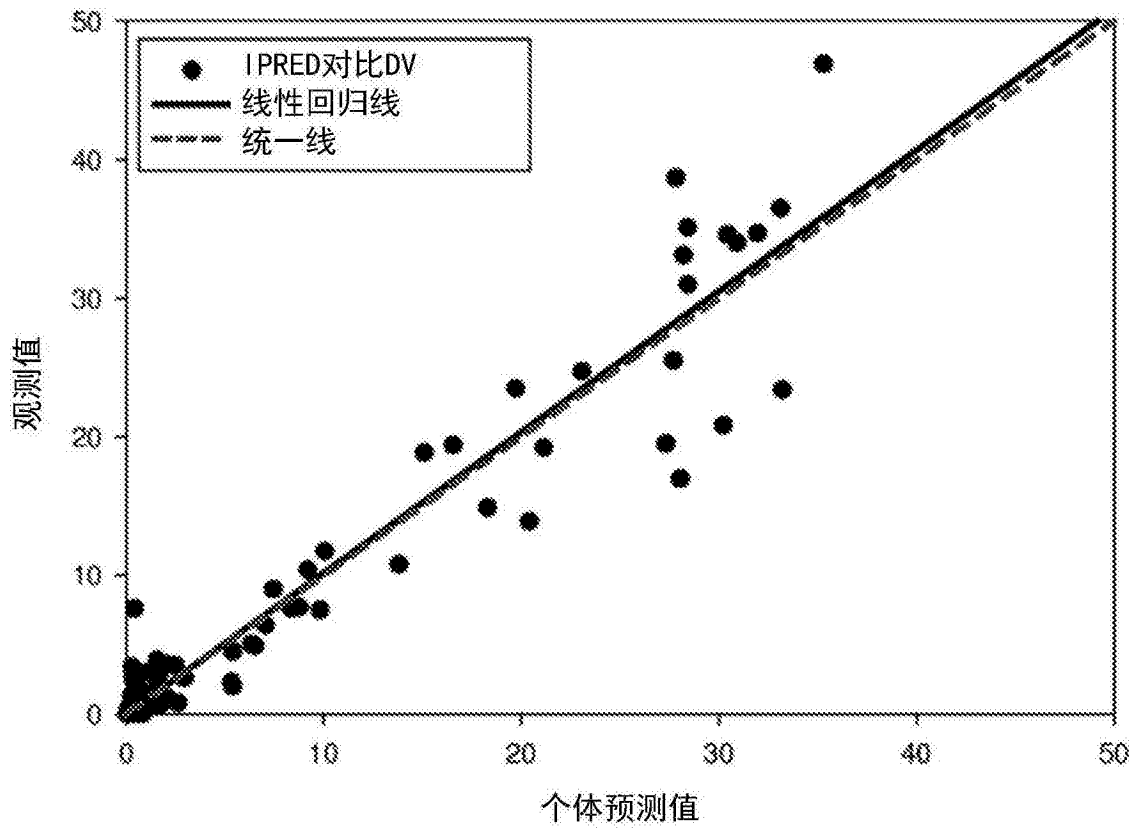


图3B

诊断图-胚上结合的ADC (MFI)

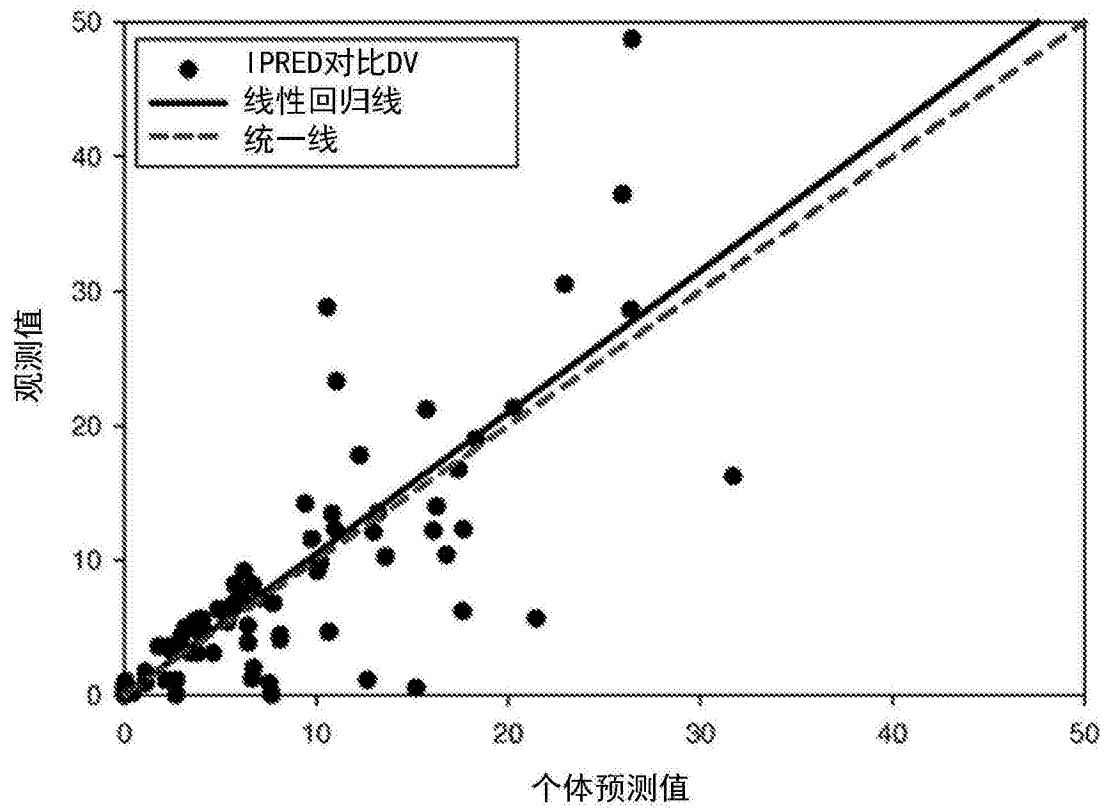


图3C

诊断图-具胚的BM%

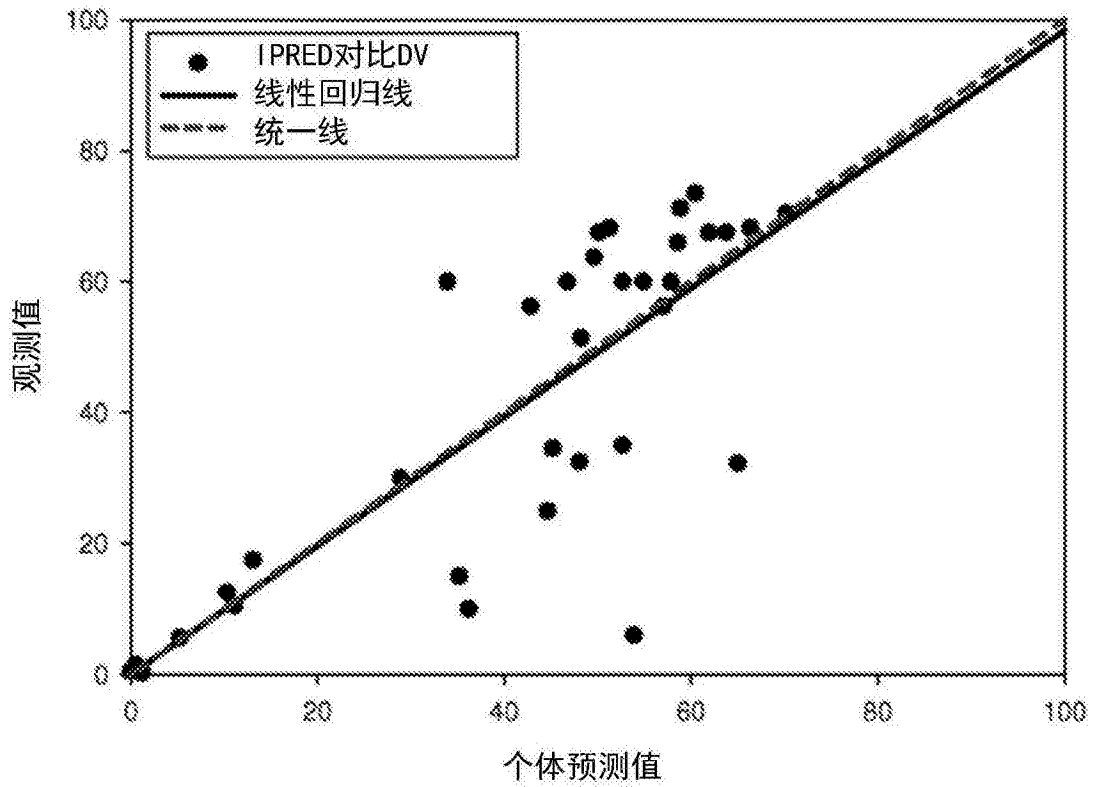


图3D

ADC-患者 10002-0002 (0.3, 1.0, 和1.3mg/kg)

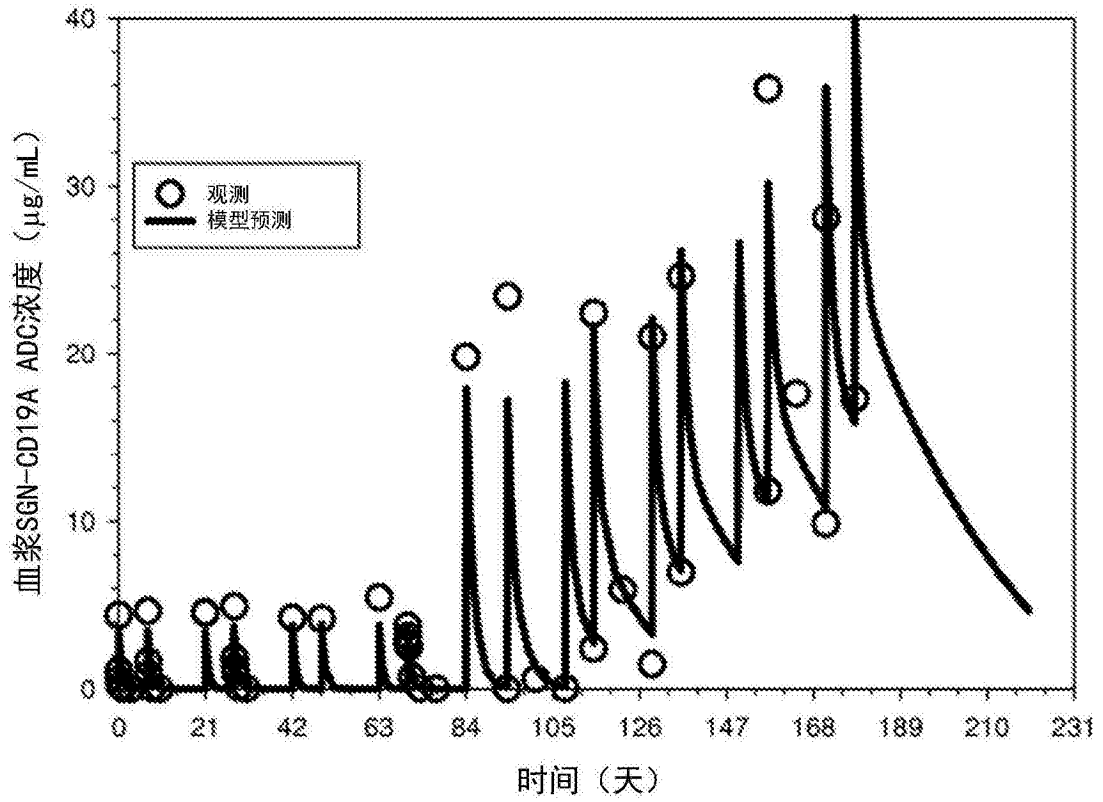


图4A

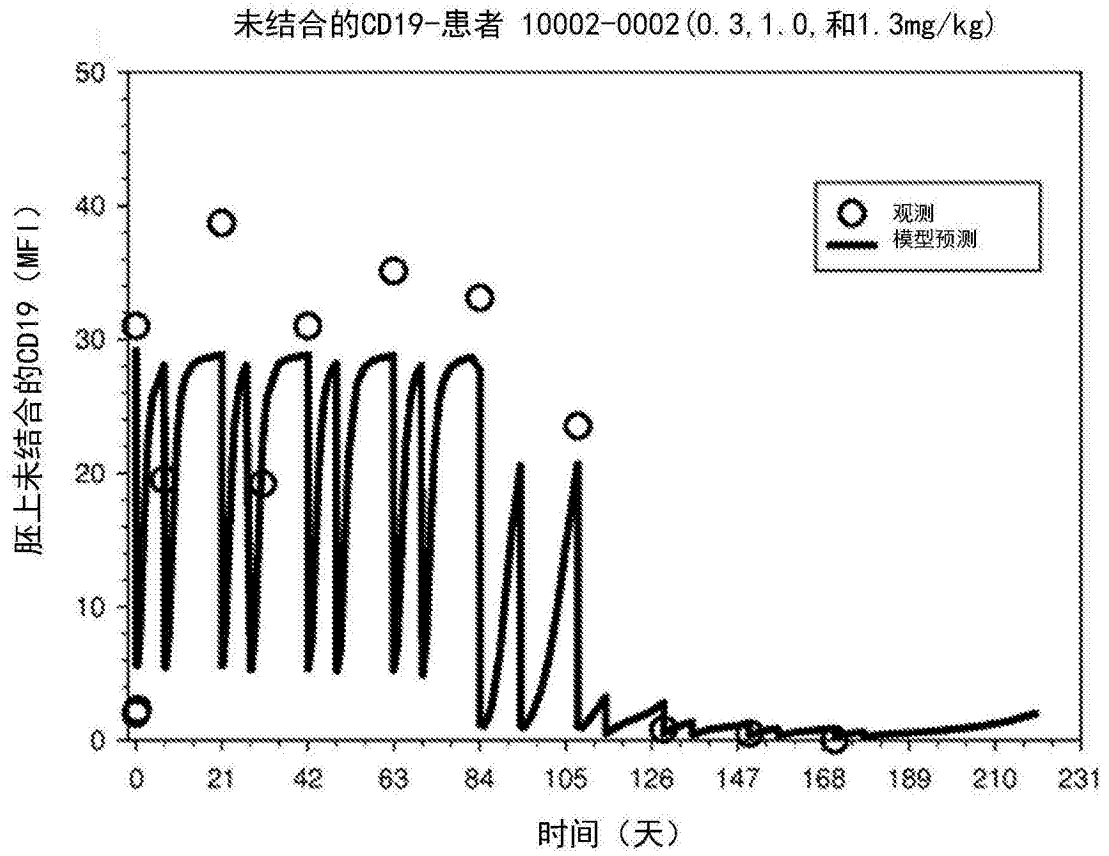


图4B

结合的ADC-患者 10002-0002 (0.3, 1.0, 和1.3mg/kg)

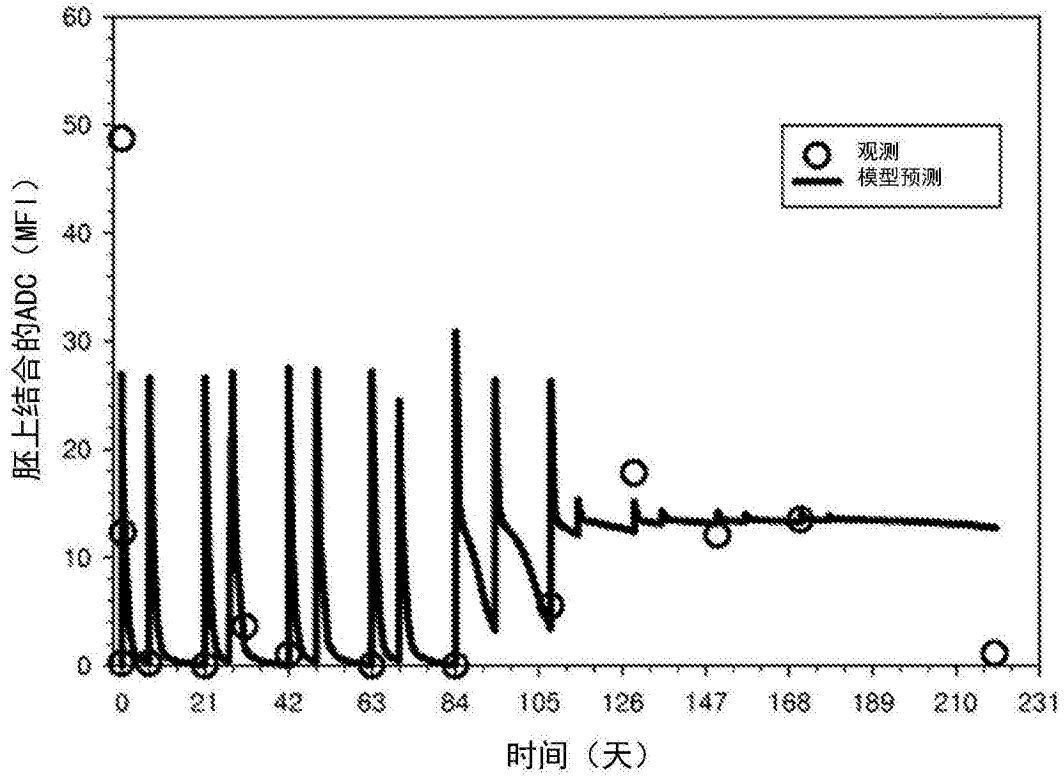


图4C

具胚的BM%-患者 10002-0002 (0.3, 1.0, 和1.3mg/kg)

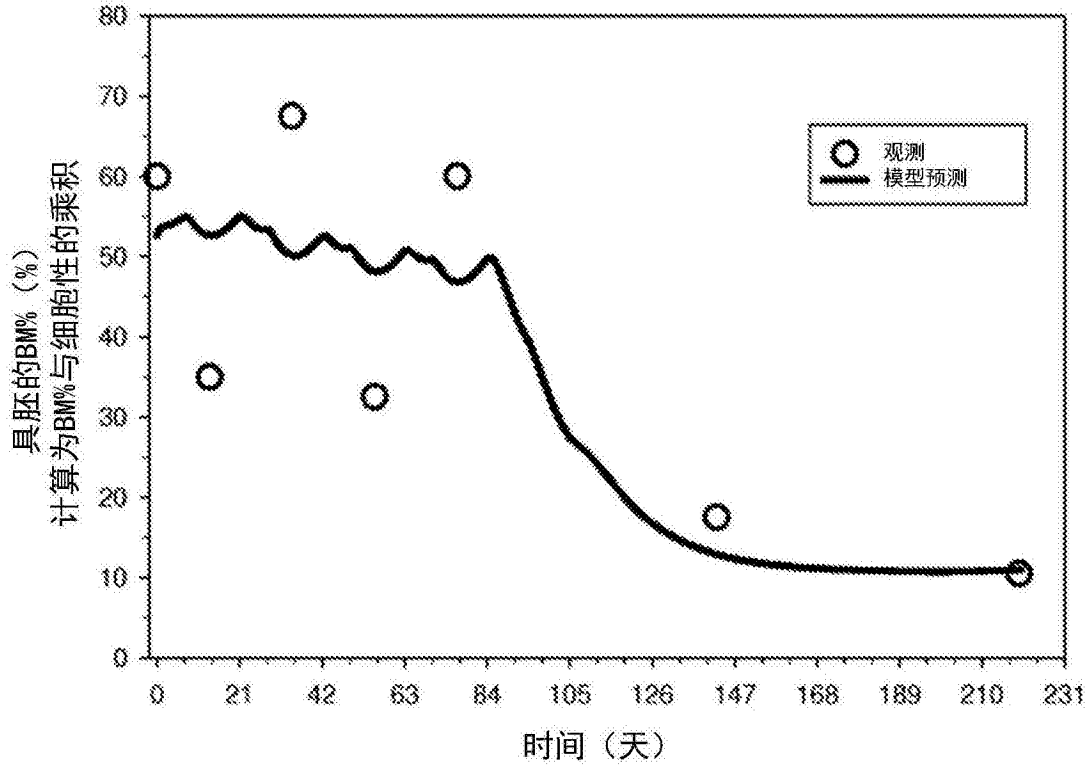


图4D

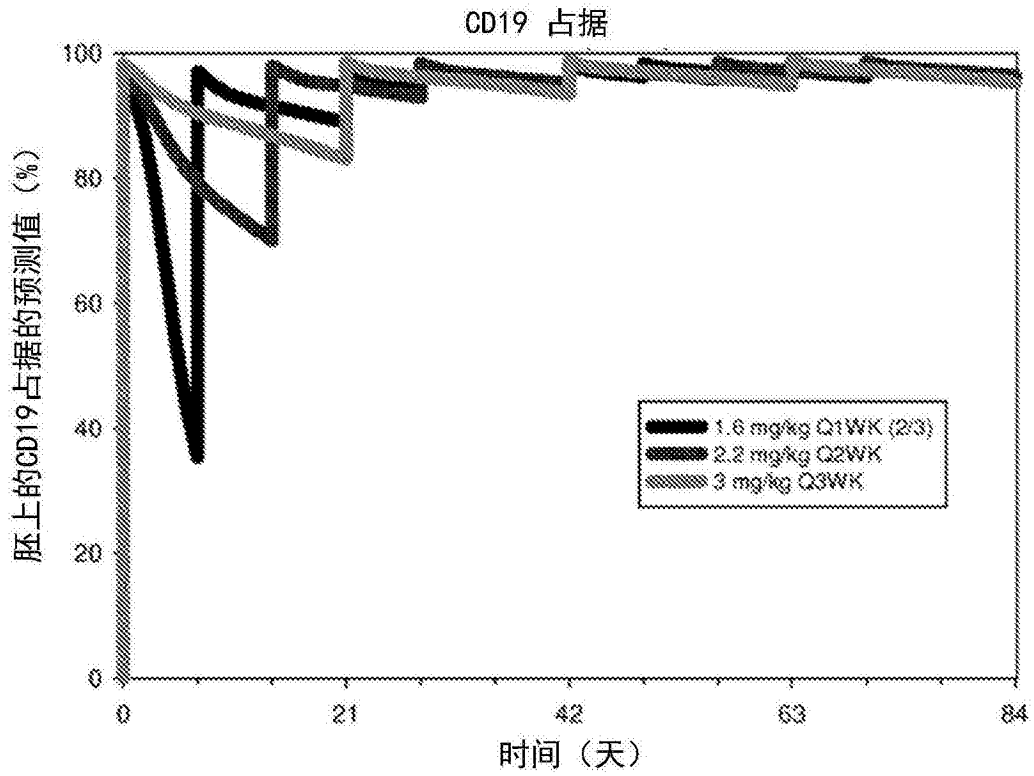


图5A

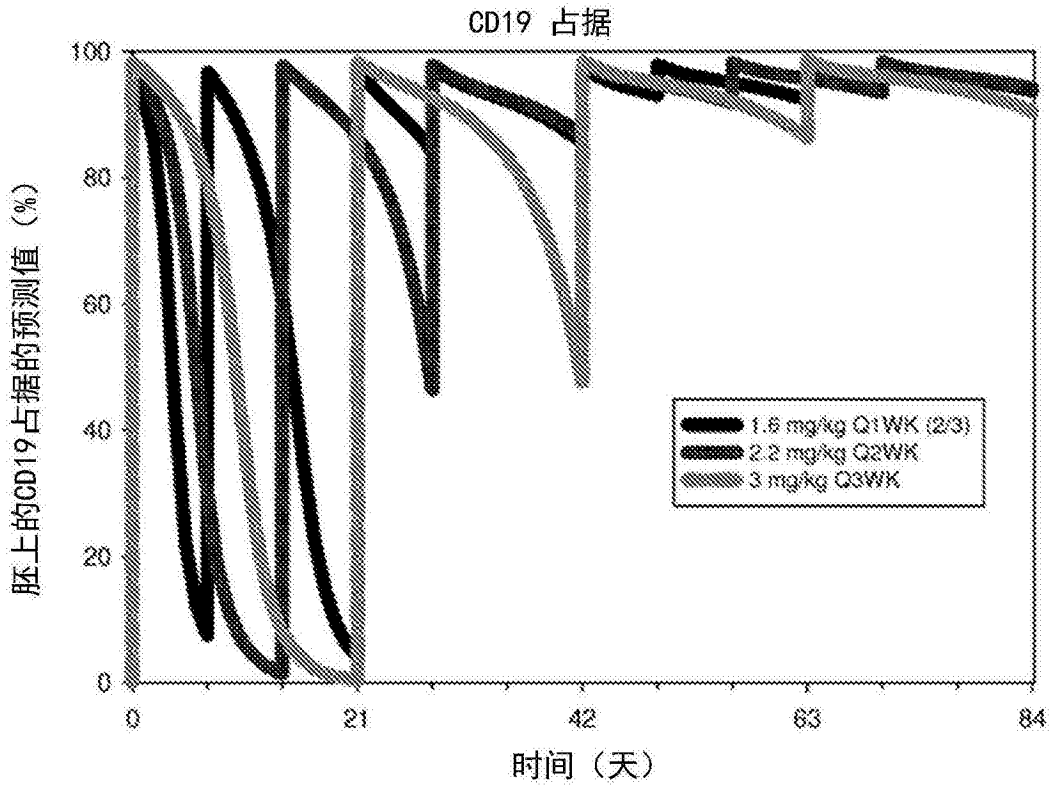


图5B

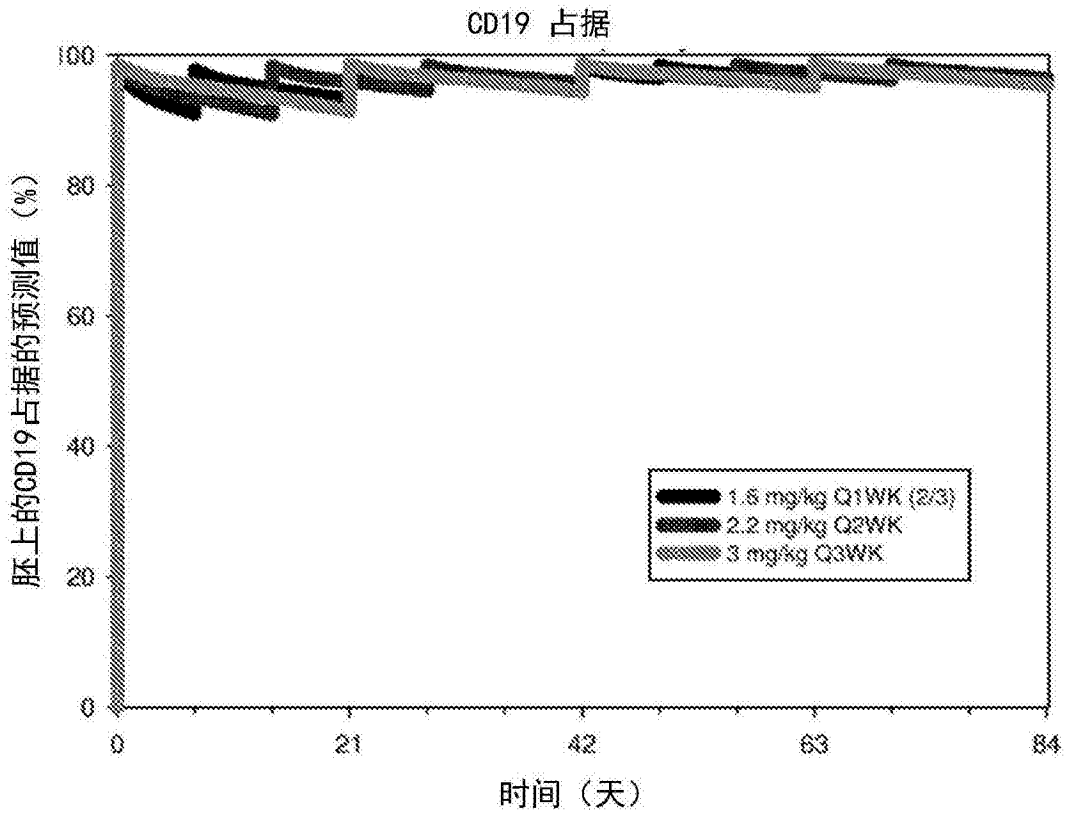


图6A

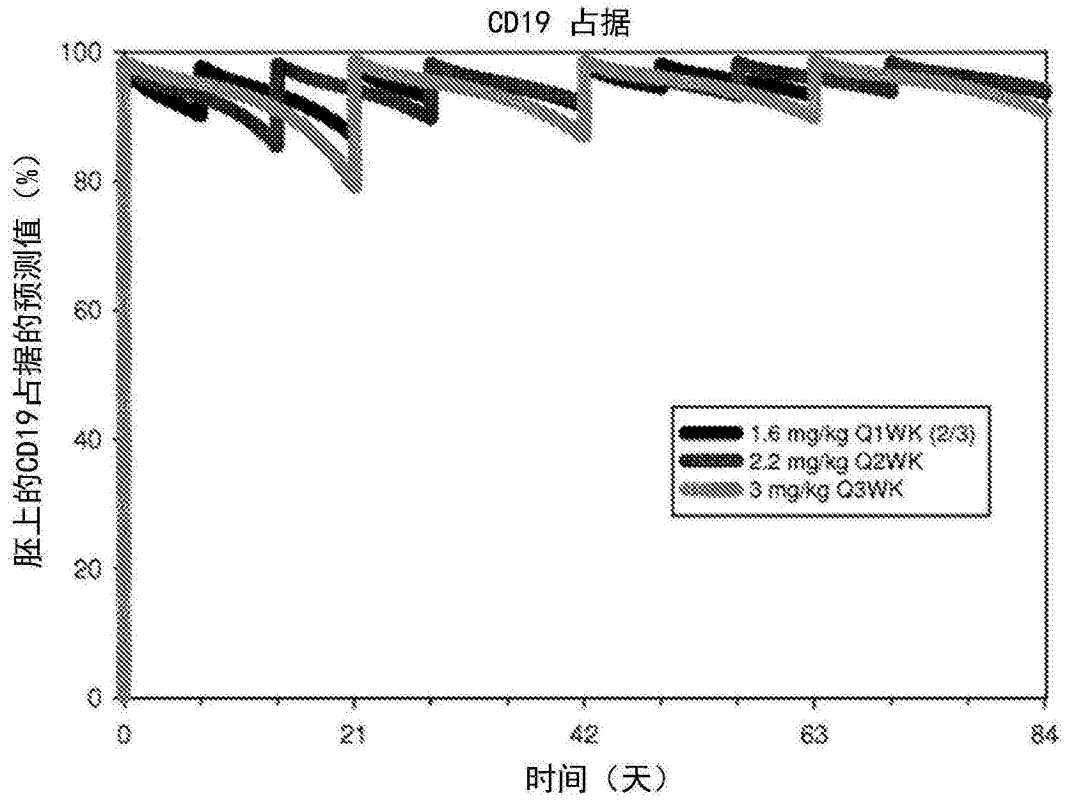


图6B

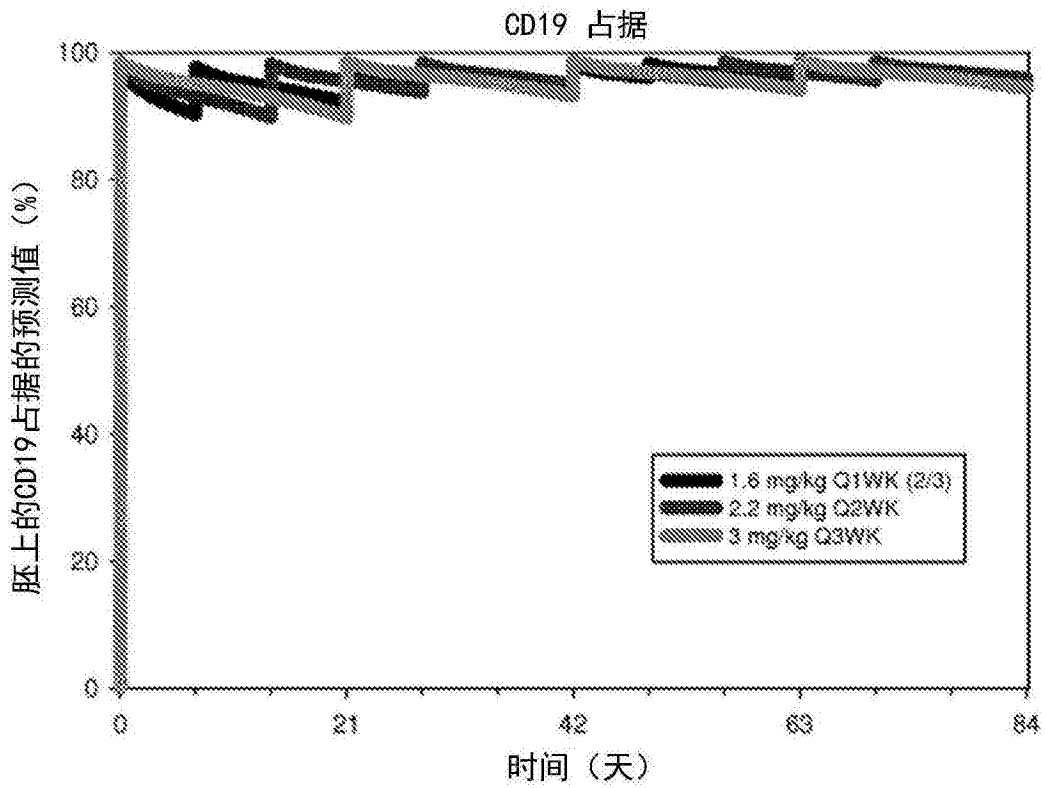


图7A

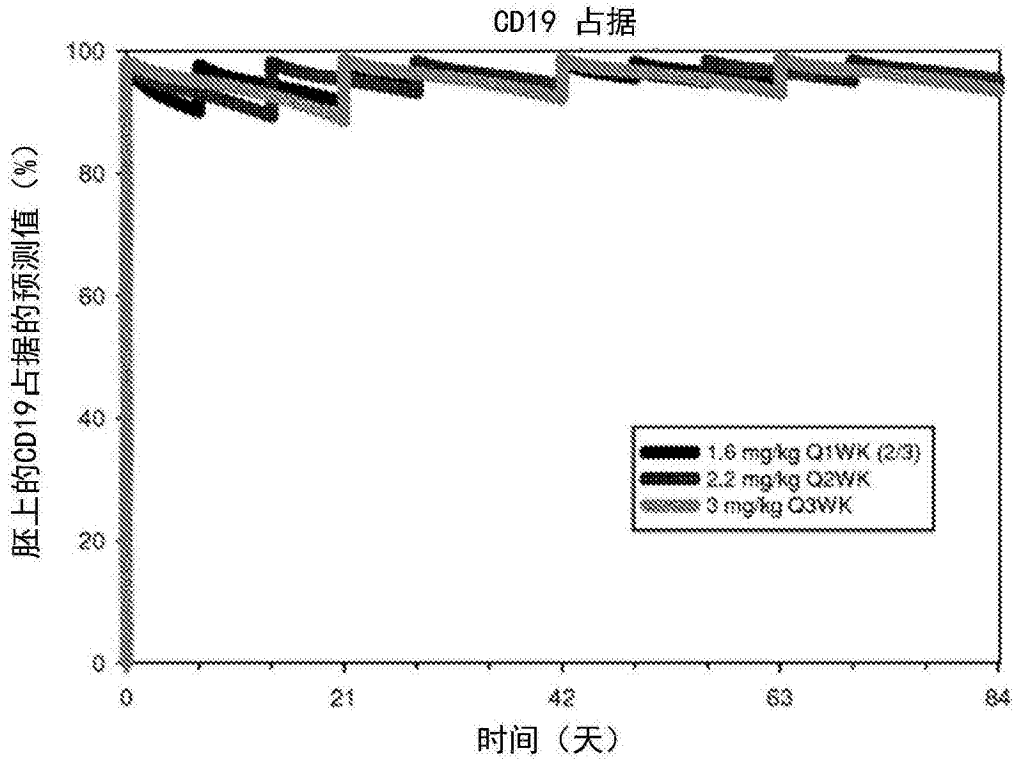


图7B

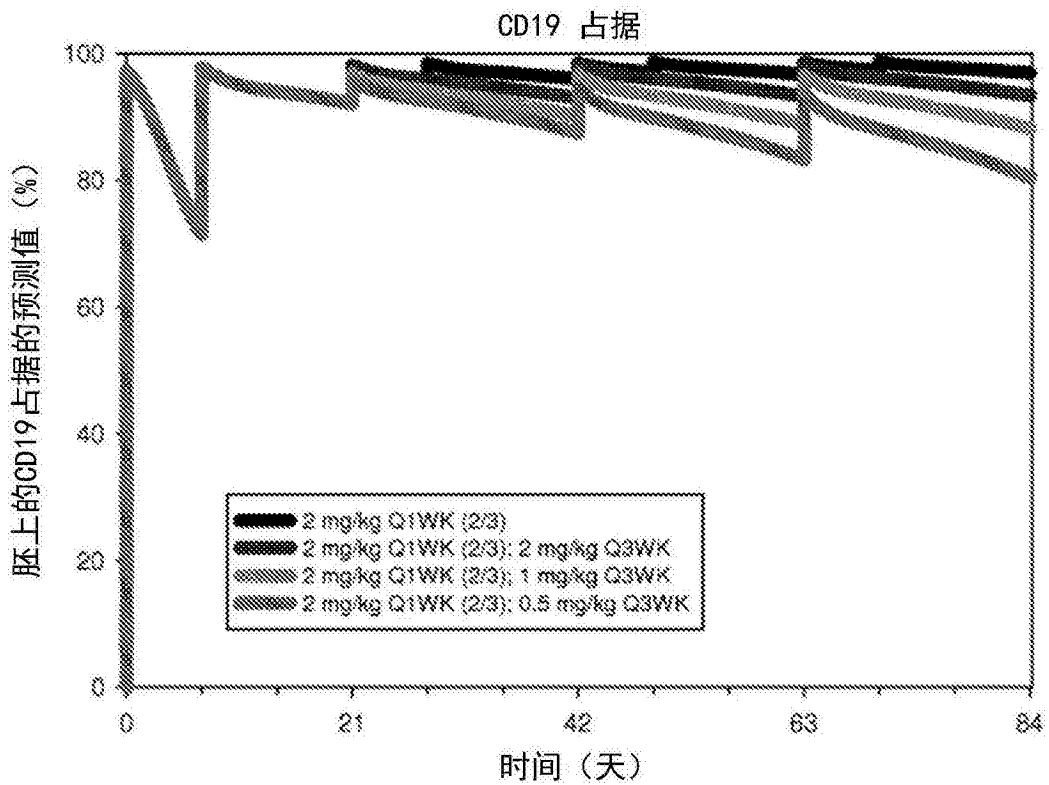


图8A

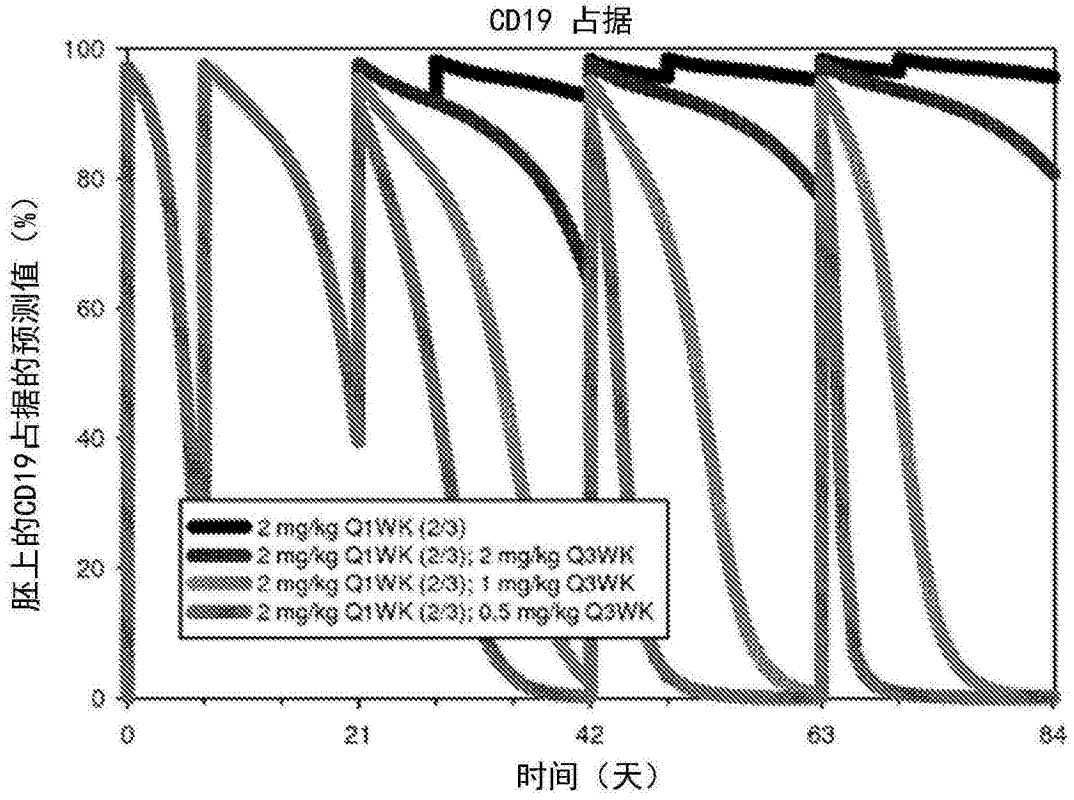


图8B

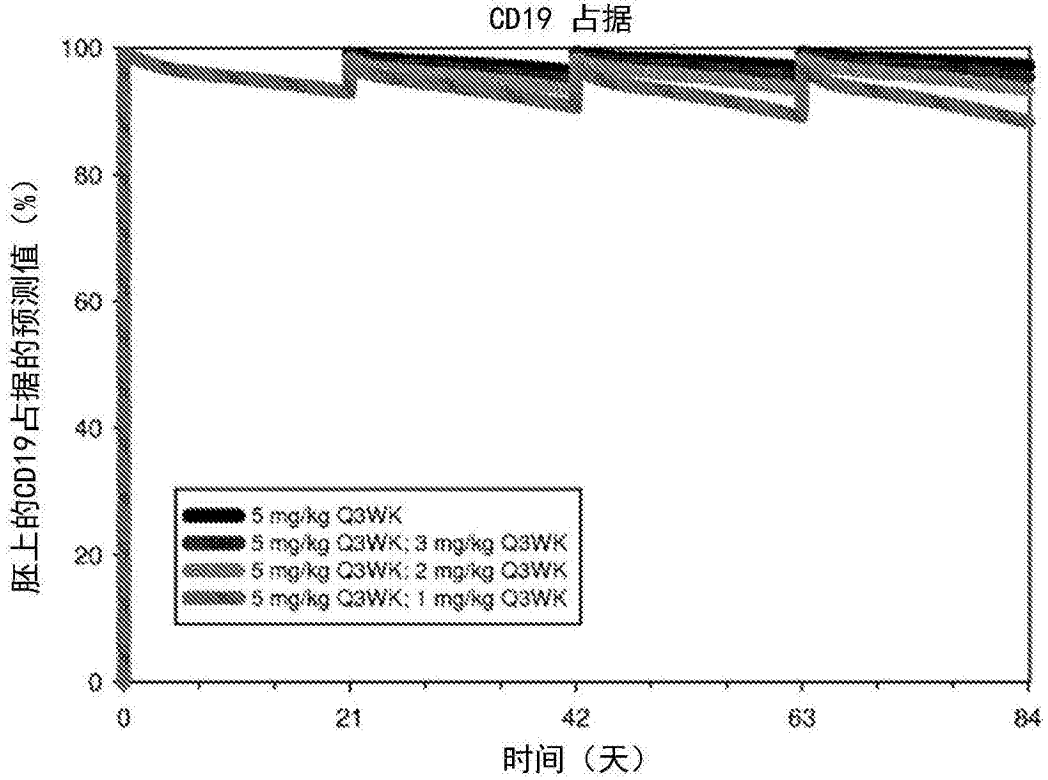


图9A

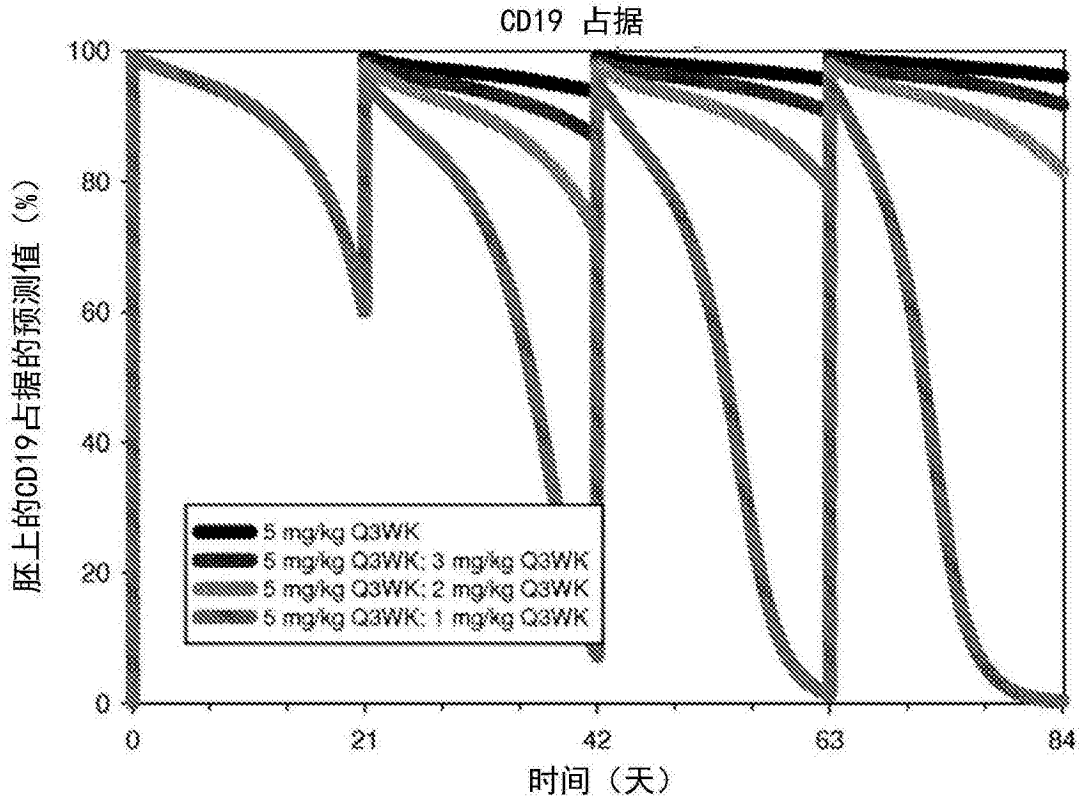


图9B

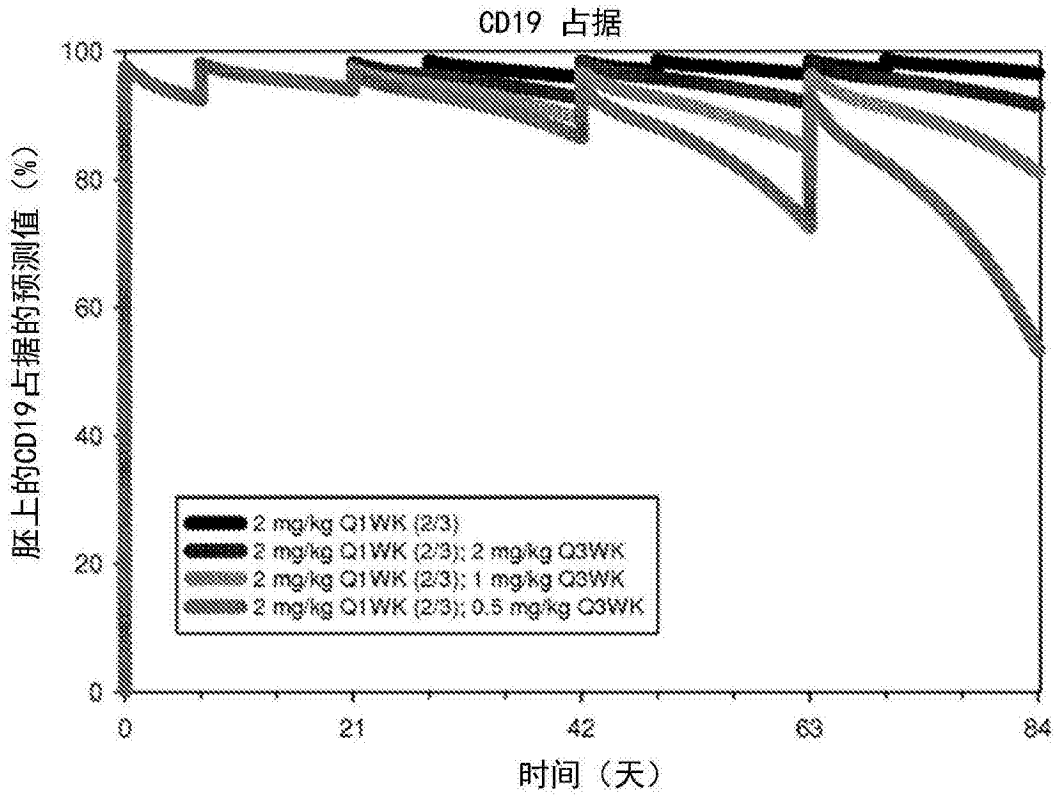


图10A

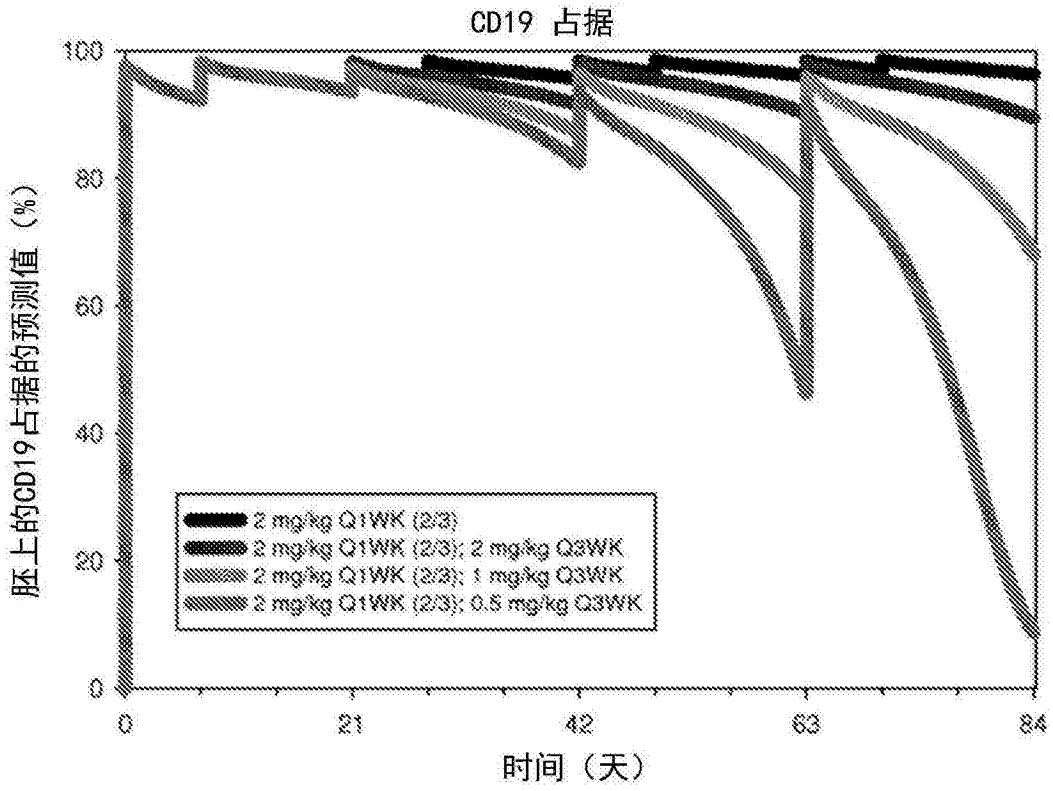


图10B

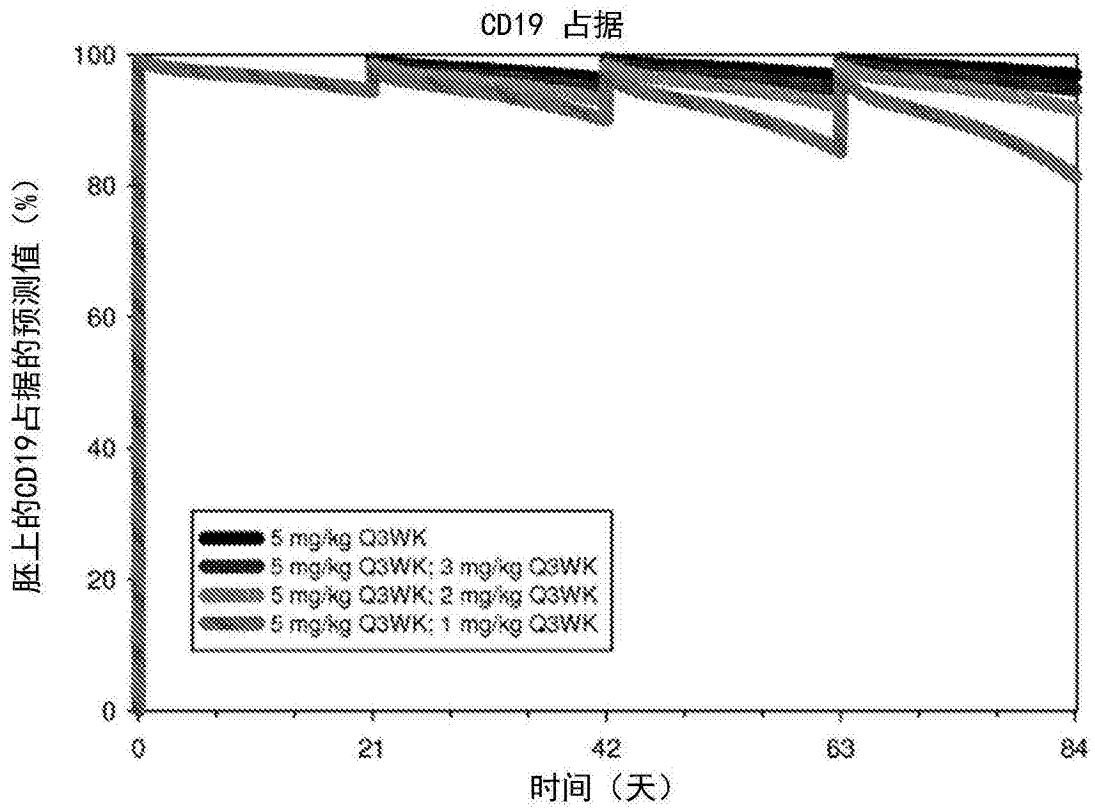


图11A

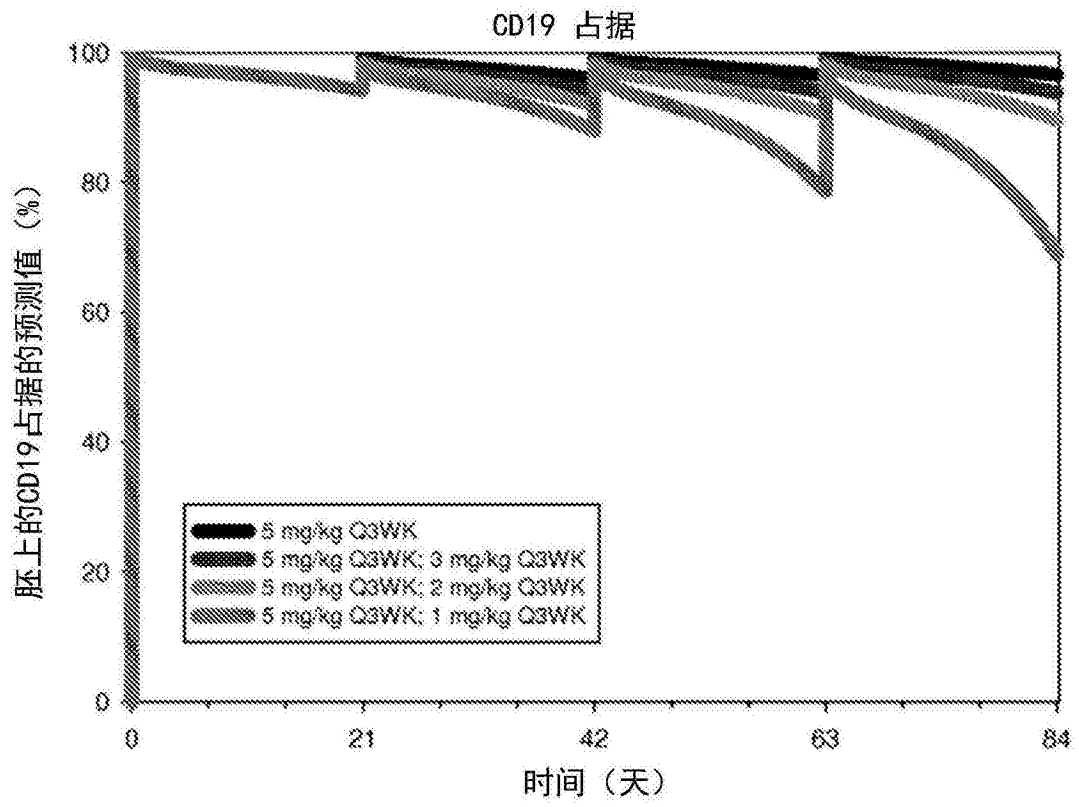


图11B

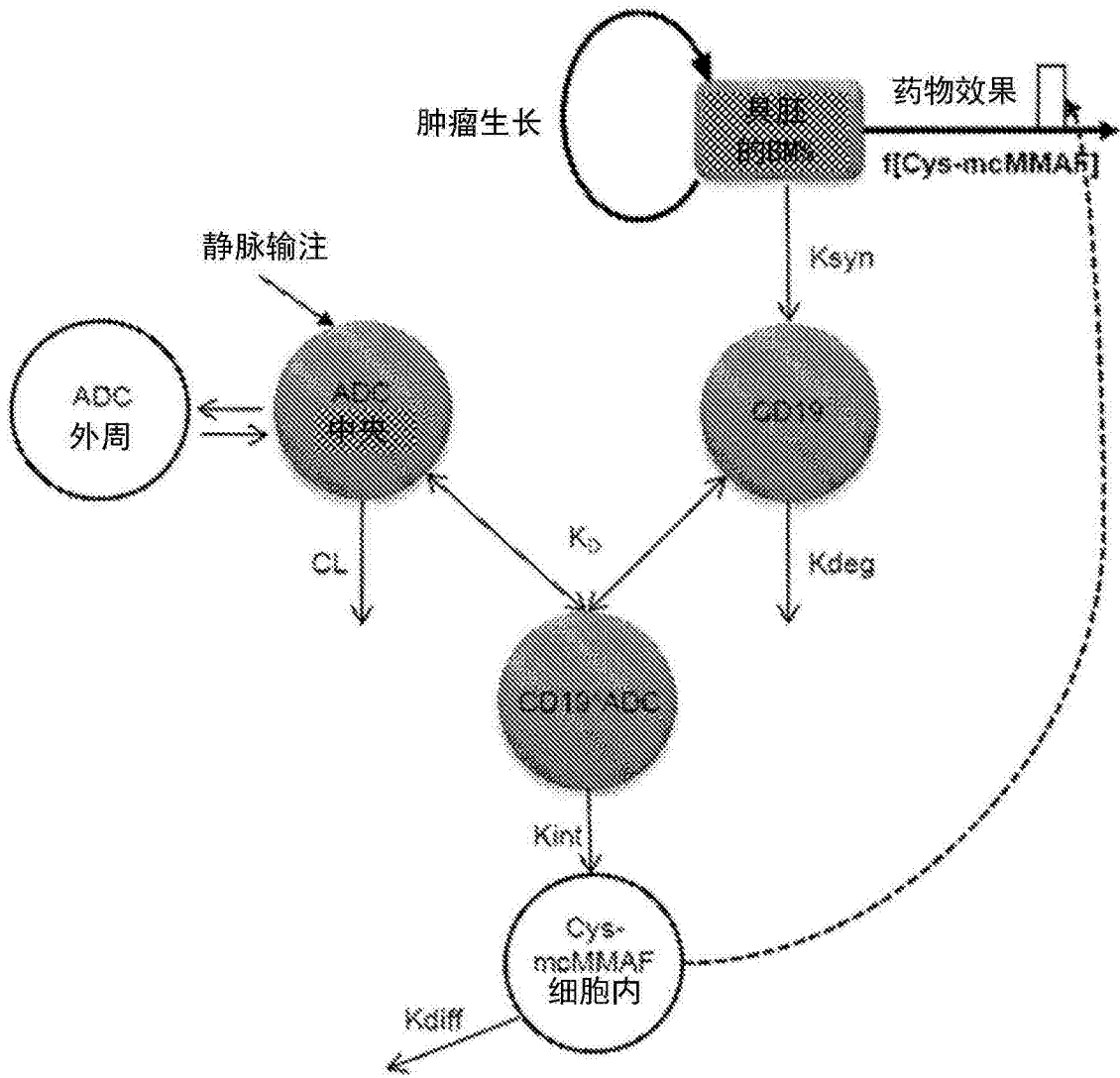


图12