



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115350276 A

(43) 申请公布日 2022.11.18

(21) 申请号 202210926503.6

(51) Int.Cl.

(22) 申请日 2017.04.14

A61K 39/395 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61P 35/00 (2006.01)

62/323,330 2016.04.15 US

G01N 33/68 (2006.01)

62/427,679 2016.11.29 US

(62) 分案原申请数据

201780029157.9 2017.04.14

(71) 申请人 小利兰·斯坦福大学托管委员会

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 欧文·L·唔斯曼 马克·P·超

拉温德拉·玛吉特 刘勍

延斯-皮特·福尔克默

(74) 专利代理机构 北京弘权知识产权代理有限

公司 11363

专利代理人 许伟群 李少丹

权利要求书2页 说明书25页 附图11页

(54) 发明名称

用于确定和实现抗CD47药剂治疗癌症的治疗有效剂量的方法

(57) 摘要

提供用于用抗CD47药剂治疗受试者的方法。

1. 一种用治疗剂量的抗CD47药剂治疗人受试者的方法,所述方法包括:
 - (a) 向所述受试者施用引发剂量的所述抗CD47药剂,其中所述引发剂量是约0.5至约5mg/kg,和
 - (b) 向所述受试者施用治疗有效剂量的抗CD47药剂,其中步骤(b)在开始步骤(a)之后至少约3天之后。
2. 如权利要求1所述的方法,其进一步包括在步骤(a)之后以及在步骤(b)之前:确定施用所述引发剂量是否有效的步骤。
3. 如权利要求2所述的方法,其中所述确定步骤包括进行网织红细胞计数,其中如果所述网织红细胞计数是每L约100X 10⁹个网织红细胞至每L约-1000X 10⁹个网织红细胞,那么施用所述引发剂被确定为已有效。
4. 如权利要求2所述的方法,其中所述确定步骤包括进行网织红细胞计数,其中如果网织红细胞在血液中的百分比大于约1.5%,那么施用所述引发剂被确定为已有效。
5. 如权利要求2所述的方法,其中所述确定步骤包括进行网织红细胞计数,其中如果网织红细胞指数大于约2%,那么施用所述引发剂被确定为已有效。
6. 如权利要求1-5中任一项所述的方法,其中所述抗CD47药剂是结合CD47的抗体。
7. 如权利要求1-5中任一项所述的方法,其中所述抗CD47药剂是SIRPa多肽。
8. 如权利要求1-7中任一项所述的方法,其中所述引发剂量以具有约0.05mg/ml至约0.5mg/ml的抗CD47药剂的浓度的输注物形式向所述人受试者施用。
9. 如权利要求8所述的方法,其中所述输注物历经至少约2小时的时期递送。
10. 如权利要求8所述的方法,其中所述输注物历经至少约3小时的时期递送。
11. 如权利要求8所述的方法,其中所述输注物历经约2.5小时至约6小时的时期递送。
12. 如权利要求1-7中任一项所述的方法,其中所述引发剂量通过连续泵历经6小时至3天的时期递送。
13. 如权利要求1-7中任一项所述的方法,其中所述引发剂量经皮下递送。
14. 如权利要求1-13中任一项所述的方法,其中所述引发剂量被确定为使红血细胞的至少约50%的CD47位点饱和。
15. 如权利要求14所述的方法,其中所述剂量通过受体占据测定来确定,其中在向所述受试者施用一定剂量的未标记抗CD47药剂之后,获得血液样品,并且与饱和剂量的以可检测方式标记的抗CD47抗体组合;以及测定结合的水平。
16. 一种确定抗CD47药剂的有效剂量的方法,所述方法包括:
使细胞群体与目标剂量的未标记抗CD47药剂接触;
使所述细胞群体与饱和剂量的以可检测方式标记的抗CD47药剂接触;
将受体占据测定为
$$R0\% = 100 - ((MFI_{测试} - MFI_{未染色}) / (MFI_{饱和STD} - MFI_{未染色})) \times 100.$$
17. 如权利要求1-16中任一项所述的方法,其中(b)的所述治疗有效剂量足以实现所述抗CD47药剂的大于100μg/ml的循环水平维持一段持续时期。
18. 如权利要求17所述的方法,其中所述持续时期是约1周至约2周。
19. 如权利要求17或18所述的方法,其中所述治疗有效剂量是约10mg/kg至约25mg/ml。
20. 如权利要求17或18所述的方法,其中所述治疗有效剂量是约17.5mg/kg至约20mg/ml。

kg。

21. 如权利要求17-20中任一项所述的方法,其中约每7天至约每14天施用所述治疗有效剂量。

用于确定和实现抗CD47药剂治疗癌症的治疗有效剂量的方法

[0001] 分案说明

[0002] 本申请是2018年11月12日提交的申请号为201780029157.9的中国专利申请“用于确定和实现抗CD47药剂治疗癌症的治疗有效剂量的方法”的分案申请。

[0003] 交叉引用

[0004] 本申请要求2016年4月15日提交的美国临时专利申请号62/323,330和2016年11月29日提交的美国临时专利申请号62/427,679的权益，所述申请以引用的方式整体并入本文。

技术领域

[0005] 本公开总体上涉及一种用治疗剂量的抗CD47药剂治疗受试者的方法。

背景技术

[0006] 全世界大多数癌症是实体肿瘤。在2016年，据估计在美国有超过1,600,000人将被新诊断有恶性实体肿瘤(Siegel等(2016),*Cancer statistics, 2016. CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 66:7-30)。对于实体肿瘤的当前护理标准包括手术切除、放射疗法、细胞毒性化学治疗以及分子靶向小分子和单克隆抗体(mAb)。尽管存在这些疗法，但患有转移性癌症的大多数患者将死于疾病和/或治疗并发症。由于预先存在或突现的抗性，所以靶向癌症的小分子作为单一药剂具有有限功效，并且通常展现对正常细胞的毒性。

[0007] 对治疗性mAb的开发已实质上影响对一些类型的癌症的治疗。按照惯例，这些重组蛋白特异性结合癌细胞，并且阻断信号传导路径或对它们进行标记以达成由免疫系统进行破坏。然而，针对仅少许癌症存在靶向mAb，甚至大多数有效的mAb也可能需要与常规化学疗法进行组合治疗，并且经常产生不完全治疗响应。在许多患者中，由于丧失抗体靶标(当分子不为肿瘤细胞存活所必需时)或由于产生对肿瘤杀灭的抗性，疾病变得对mAb治疗具有抗性。通常，患者经历他们的疾病的复发。

[0008] CD47已被鉴定为介导癌细胞逃避由先天性免疫系统达成的吞噬的关键分子。CD47似乎是包括癌干细胞在内的癌细胞克服内在表达它们的促吞噬“吃我”信号所采用的必不可少的手段。从正常细胞进展至癌细胞涉及触发程序化细胞死亡(PCD)和程序化细胞移除(PCR)的基因和/或基因表达变化。癌症进展中的许多步骤破坏PCD的多种机理，并且显性抗吞噬信号CD47的表达可代表重要检查点。

[0009] CD47在来自许多不同人肿瘤类型的癌细胞的表面上的表达增加，所述肿瘤类型包括以下原发性恶性肿瘤：头颈部恶性肿瘤、黑素瘤、乳腺恶性肿瘤、肺恶性肿瘤、卵巢恶性肿瘤、胰腺恶性肿瘤、结肠恶性肿瘤、膀胱恶性肿瘤、前列腺恶性肿瘤、平滑肌肉瘤、胶质母细胞瘤、神经管母细胞瘤、少突神经胶质瘤、神经胶质瘤、淋巴瘤、白血病和多发性骨髓瘤。在鼠异种移植研究中，已显示CD47阻断抗体通过使得能够达成对来自各种血液恶性肿瘤和若干实体肿瘤的癌干细胞和癌细胞的吞噬和消除来抑制人癌生长和转移。

[0010] CD47充当在包括巨噬细胞和树突细胞的吞噬细胞上表达的SIRPa的配体。当SIRPa

通过CD47结合而活化时,它引发导致抑制吞噬的信号转导级联。以这种方式,CD47通过将显性抑制信号递送至吞噬细胞来充当抗吞噬信号。已证明阻断抗CD47 mAb使得能够达成对癌干细胞和癌细胞的吞噬消除。

[0011] 在小鼠异种移植植物中,CD47阻断mAb通过使得能够达成对来自各种血液恶性肿瘤和实体肿瘤的癌细胞的吞噬和消除来抑制人异种移植肿瘤生长和转移。此外,CD47阻断mAb与确立的癌细胞靶向mAb利妥昔单抗(rituximab)、曲妥珠单抗(trastuzumab)和西妥昔单抗(cetuximab)协同以使在一些肿瘤类型中的治疗功效增强。

[0012] 用于有效递送阻断CD47与SIRPa相互作用的抗体的方法受到临床关注,并且在本文中提供。

发明内容

[0013] 提供用于用治疗剂量的抗CD47药剂治疗个体的方法。本发明方法施用有效引发和治疗剂量的结合CD47的药剂,所述CD47存在于癌细胞上,并且可存在于红血细胞(RBC)上。用于本发明方法中的抗CD47药剂干扰存在于癌细胞上的CD47与存在于吞噬细胞上的SIRPa之间的结合。通常,两种所述细胞均存在于所治疗个体中。在促吞噬信号存在下,所述方法可使对靶标癌细胞的吞噬增加,同时降低对RBC群体的不合需要的副作用。

[0014] 主题方法可用于用包括抗CD47抗体的结合CD47的药剂治疗受试者的癌症,其中术语抗体涵盖抗体片段及其变体以及SIRPa多肽,例如包含SIRPa序列的多价多肽。适合的药剂包括但不限于Hu5F9,包括Hu5F9-G4;CC-9002;TTI-621和二价、四价等高亲和力SIRPa多肽。

[0015] 如先前已描述,治疗剂量的CD47结合剂可导致红细胞(RBC)损失和贫血。由于使老化红细胞损失同时不伤害幼早红细胞,所以施用引发剂量(priming dose)的CD47结合剂使毒性显著降低。在不受理论束缚下,据信引发剂使网织红细胞(幼早RBC)的产生增加,所述网织红细胞可对CD47介导的吞噬更加具有抗性,因此在后续施用抗CD47药剂期间较不易经受损失。提供用于通过测定例如RBC和WBC的血细胞的CD47的受体占据来确定适于临床前使用或临床使用的时机剂量(timing dose)的方法。本文显示适合的引发剂量提供RBC上大于约50%受体占据。确定引发剂量的方法可应用于任何CD47结合剂。

[0016] 在本发明的一些实施方案中,提供Hu-5F9G4的有效引发剂量,其中用于人的有效引发剂量是约1mg/kg左右,例如至少约0.5mg/kg直至不超过约5mg/kg;至少约0.75mg/kg直至不超过约1.25mg/kg;至少约0.95mg/kg直至不超过约1.05mg/kg;并且可为约1mg/kg左右。

[0017] CD47结合剂的初始剂量(initial dose)(包括但不限于引发剂量)也可在输注之后立刻导致血凝集持续一段时期。在不受理论束缚下,据信初始剂量的多价CD47结合剂可导致结合于所述结合剂的RBC的交联。在本发明的某些实施方案中,将CD47结合剂以初始剂量,以及任选以后续剂量,历经一定时期和/或浓度向患者输注,所述时期和/或浓度使其中存在高局部浓度的RBC和所述结合剂的血液微环境的可能性降低。

[0018] 在本发明的一些实施方案中,历经至少约2小时、至少约2.5小时、至少约3小时、至少约3.5小时、至少约4小时、至少约4.5小时、至少约5小时、至少约6小时或更久的时期输注初始剂量的CD47结合剂。在一些实施方案中,历经约2.5小时至约6小时;例如约3小时至约4小时的时期输注初始剂量。在一些所述实施方案中,输注物中的药剂的剂量是约0.05mg/ml

至约0.5mg/ml；例如约0.1mg/ml至约0.25mg/ml。

[0019] 在一些实施方案中，将引发剂量分成两次或更多次子剂量，历经约1天、约2天、约3天、约4天、约1周、约10天、约2周的时期递送。

[0020] 在其他实施方案中，CD47结合剂的初始剂量（例如引发剂量）通过连续输注，例如以渗透泵、递送贴片等形式来施用，其中所述剂量历经至少约6小时、至少约12小时、至少约24小时、至少约2天、至少约3天的时期施用。

[0021] 在一些实施方案中，引发剂量可通过如本领域中已知的注射、贴片、渗透泵等方式，通过皮下途径来递送。

[0022] 在施用引发剂以及允许有一段时期来有效达成网织红细胞产生增加之后，施用治疗剂量的抗CD47药剂。治疗剂量可以许多不同方式施用。在一些实施方案中，在施用引发剂之后，施用两次或更多次治疗有效剂量，例如以每周给药时程施用。在一些实施方案中，抗CD47药剂的治疗有效剂量以浓度逐步升高的两次或更多次剂量施用，在其他实施方案中，剂量是相等的。

[0023] 在本发明的一些实施方案中，治疗（维持）剂量足以实现大于100 μ g/ml的循环水平维持一段持续时期。在一些所述实施方案中，抗CD47药剂是抗体5F9。在一些实施方案中，持续时期多达约1周。在一些实施方案中，持续时期多达约10天。在一些实施方案中，持续时期多达约2周。在一些实施方案中，维持剂量是约10mg/kg至约25mg/ml、约12.5mg/kg至约22.5mg/kg、约15mg/kg至约20mg/kg、约17.5mg/kg至约20mg/kg、约10mg/kg至约20mg/kg。维持剂量可在提供大于约100 μ g/ml的持续血清水平的周期下施用，其中施用可每周、每8天、每9天、每10天、每11天、每12天、每13天、每2周、每3周进行，并且可提供以较小频率施用的追踪疗法，例如每月一次、每月两次、两月一次等。

[0024] 在某一实施方案中，用于治疗癌症的治疗方案包括施用负荷剂量（loading dose）的包括不限于5F9-G4的抗CD47抗体，其中所述负荷剂量以10mg/kg至40mg/kg的剂量每周两次施用；并且可以20mg/kg至30mg/kg的剂量每周两次施用。接着以10mg/kg至40mg/kg的剂量；并且可以20mg/kg至30mg/kg的剂量，每周或每半周向患者施用维持剂量。在一些所述实施方案中，癌症是实体肿瘤。在一些所述实施方案中，癌症是血液癌症，例如白血病，包括但不限于急性骨髓性白血病。

附图说明

[0025] 当与附图联合阅读时，本发明根据以下详细描述而得以最佳了解。本专利或申请文件含有至少一个以彩色制作的附图。需要强调的是，根据惯例，附图的各种特征并非按比例绘制。相反，各种特征的尺寸为明晰起见而任意扩大或缩减。附图中包括下图。

[0026] 图1. 红血细胞被抗体在低剂量下饱和。图描绘用Hu5F9-G4在指示剂量下给药的患者中的RBC上的CD47的受体占据。1mg/kg的剂量足以使RBC结合位点饱和。

[0027] 图2. WBC CD47受体占据随剂量浓度而增加。图描绘用Hu5F9-G4在指示剂量下给药的患者中的WBC上的CD47的受体占据。

[0028] 图3. WBC CD47受体占据随剂量浓度而增加。图描绘在不同抗体剂量下，WBC上的CD47的受体占据。

[0029] 图4提供显示抗CD47抗体用于临床使用的目标谷底水平的图。

- [0030] 图5是显示目标谷底水平的抗CD47抗体的药代动力学的图。
- [0031] 图6是显示目标谷底水平以10mg/kg在人患者中重复给药来达到的图。
- [0032] 图7是显示在施用抗CD47抗体之后伴有代偿性网织红细胞增多的贫血的图。
- [0033] 图8A-8B. 血凝集以延长引发剂量的输注时间来缓和。显示外周涂片显微照片和与初始输注抗CD47抗体相关的血凝集的图。A. 在治疗前以及在第一1mg/kg(引发)剂量的Hu5F9-G4后4小时从患者获取的代表性外周涂片显微照片。在1小时输注的情况下观察到显著血凝集,此在3小时输注的情况下显著降低。B. 使引发剂量输注持续时间从1小时延长至3小时使血凝集的频率和严重性显著降低。1+至3+代表在治疗后4小时在外周涂片上观察到的凝集红血细胞的百分比。N=以各输注时长治疗的患者的数目。
- [0034] 图9.Hu5F9-G4可以临床可行剂量实现目标PK水平。数据显示Hu5F9-G4可以临床可行剂量使内部CD47组织集合(sink)饱和;并且在已发生组织集合饱和之后,抗体半衰期得以延长。

具体实施方式

- [0035] 本发明涉及用治疗剂量的抗CD47药剂治疗受试者的方法。
- [0036] 在描述本发明方法和组合物之前,应了解本发明不限于描述的特定方法或组合物,因为所述方法或组合物当然可变化。也应了解本文所用的术语仅出于描述特定实施方案的目的,并且不意图具有限制性,因为本发明的范围将仅受限于随附权利要求。
- [0037] 当提供数值范围时,应了解除非上下文另外明确规定,否则也明确公开在那个范围的上限与下限之间的达到下限单位的十分之一的各间插值。陈述范围内的任何陈述值或间插值与那个陈述范围内的任何其他陈述值或间插值之间的各较小范围都涵盖在本发明内。这些较小范围的上限和下限可在范围内独立地包括或排除,并且其中任一界限、两个界限均不或两个界限均包括在较小范围内的各范围也涵盖在本发明内,取决于陈述范围内任何明确排除的界限。当陈述范围包括一个或两个界限时,排除那些所包括界限中的任一者或两者的范围也包括在本发明中。
- [0038] 除非另外定义,否则本文所用的所有技术和科学术语都具有与由本发明所属领域中的普通技术人员通常理解相同的含义。尽管与本文所述的那些方法和材料类似或等效的任何方法和材料都可用于实施或测试本发明,但现时描述一些潜在和优选方法和材料。本文提及的所有出版物都以引用的方式并入本文以公开和描述与引用所述出版物有关的方法和/或材料。应了解就存在矛盾来说,本公开替代所并入出版物的任何公开内容。
- [0039] 如将为本领域技术人员在阅读本发明后显而易知,本文描述和说明的各个别实施方案都具有离散组成部分和特征,其可在不脱离本发明的范围或精神下易于与任何其他若干实施方案的特征分开或组合。任何叙述的方法都可以叙述的事件的顺序或以在逻辑上可能的任何其他顺序进行。
- [0040] 必须注意,除非上下文另外明确规定,否则如本文以及随附权利要求中所用,单数形式“一个(种)(a/an)”和“这个(种)”包括复数个(种)指示物。因此,举例来说,提及“一个(种)细胞”包括复数个(种)所述细胞,并且提及“这个(种)肽”包括提及一个(种)或多个(种)肽及其为本领域技术人员所知的等效物例如多肽,诸如此类。
- [0041] 本文讨论的出版物仅由于它们的公开内容在本申请的提交日期之前而加以提供。

本文中没有内容应解释为承认本发明无权借助先前发明而先于所述出版物。此外，提供的公开日期可不同于可能需要独立确认的实际公开日期。

[0042] 定义

[0043] 抗CD47药剂。如本文所用，术语“抗CD47药剂”是指使CD47(例如在靶标细胞上)与SIRPa(例如在吞噬细胞上)的结合降低的任何药剂。对于本发明的特定方法，结合CD47的药剂受到关注。适合的抗CD47试剂的非限制性实例包括SIRPa试剂(包括不限于高亲和力SIRPa多肽)和抗CD47抗体或抗体片段。相较于在不存在药剂下的吞噬，用于本发明方法中的药剂将使吞噬上调至少10% (例如至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少100%、至少120%、至少140%、至少160%、至少180%或至少200%)。在一些实施方案中，抗CD47药剂在结合后不使CD47活化。当CD47活化时，可发生与凋亡(即程序化细胞死亡)类似的过程(Manna和Frazier, Cancer Research, 64, 1026-1036, 2004年2月1日)。因此，在一些实施方案中，抗CD47药剂不直接诱导表达CD47细胞的细胞死亡。

[0044] 抗CD47抗体。在一些实施方案中，主题抗CD47药剂是特异性结合CD47(即抗CD47抗体)以及使一种细胞(例如受感染细胞)上的CD47与另一细胞(例如吞噬细胞)上的SIRPa之间的相互作用降低的抗体。在一些实施方案中，适合的抗CD47抗体在结合后不使CD47活化。适合的抗体的非限制性实例包括克隆B6H12、5F9、8B6和C3(例如如以引用的方式明确并入本文的国际专利公布WO 2011/143624中所述)。克隆CC-9002公开于以引用的方式明确并入本文的W02013119714中。适合的抗CD47抗体包括所述抗体的完全人形式、人源化形式或嵌合形式。人源化抗体(例如hu5F9-G4)由于它们的低抗原性而尤其适用于在人中进行体内应用。类似地，犬源化抗体、猫源化抗体等分别尤其适用于在狗、猫和其他物种中进行应用。目标抗体包括人源化抗体或犬源化抗体、猫源化抗体、马源化抗体、牛源化抗体、猪源化抗体等及其变体。

[0045] SIRPa试剂。SIRPa试剂包含SIRPa的足以以可辨别亲和力结合CD47，通常位于信号序列与跨膜结构域之间的部分，或其保留结合活性的片段。对于本发明的特定方法，多价SIRPa多肽受到关注。

[0046] 适合的SIRPa试剂使天然蛋白SIRPa与CD47之间的相互作用降低(例如阻断、阻止等)。SIRPa试剂将通常至少包含SIRPa的d1结构域。在一些实施方案中，SIRPa试剂是融合蛋白，例如与第二多肽同框融合。在一些实施方案中，第二多肽能够使融合蛋白的大小增加，例如以使融合蛋白将不被从循环快速清除。在一些实施方案中，第二多肽是免疫球蛋白Fc区的一部分或整体。Fc区通过提供“吃我”信号而有助于吞噬，此使由高亲和力SIRPa试剂提供的对“别吃我”信号的阻断增强。在其他实施方案中，第二多肽是大致上类似于Fc的任何适合的多肽，例如提供大小增加、多聚化结构域和/或与Ig分子的额外结合或相互作用。目标SIRPa药剂包括TTI-621，参见以引用的方式明确并入本文的临床试验标识符NCT02663518。

[0047] 在一些实施方案中，主题抗CD47药剂是“高亲和力SIRPa试剂”，其包括SIRPa源性多肽及其类似物。高亲和力SIRPa试剂描述于国际申请PCT/US13/21937中，所述申请据此以引用的方式明确并入本文。高亲和力SIRPa试剂是天然SIRPa蛋白的变体。在一些实施方案中，高亲和力SIRPa试剂是可溶性的，其中多肽缺乏SIRPa跨膜结构域，并且相对于野生型

SIRPa序列包含至少一个氨基酸变化，并且其中所述氨基酸变化使SIRPa多肽结合CD47的亲和力增加，例如通过使解离速率降低至少10倍、至少20倍、至少50倍、至少100倍、至少500倍或更多而达成。

[0048] 高亲和力SIRPa试剂包含SIRPa的足以以可辨别亲和力例如高亲和力结合CD47，通常位于信号序列与跨膜结构域之间的部分，或其保留结合活性的片段。高亲和力SIRPa试剂将通常至少包含SIRPa的具有经改变氨基酸残基以增加亲和力的d1结构域。在一些实施方案中，本发明的SIRPa变体是融合蛋白，例如与第二多肽同框融合。在一些实施方案中，第二多肽能够使融合蛋白的大小增加，例如以使融合蛋白将不被从循环快速清除。在一些实施方案中，第二多肽是免疫球蛋白Fc区的一部分或整体。Fc区通过提供“吃我”信号而有助于吞噬，此使由高亲和力SIRPa试剂提供的对“别吃我”信号的阻断增强。在其他实施方案中，第二多肽是大致上类似于Fc的任何适合多肽，例如提供大小增加、多聚化结构域和/或与Ig分子的额外结合或相互作用。提供亲和力增加的氨基酸变化定位在d1结构域中，因此，高亲和力SIRPa试剂包含人SIRPa的d1结构域，所述结构域相对于d1结构域内的野生型序列具有至少一个氨基酸变化。这种高亲和力SIRPa试剂任选包含额外氨基酸序列，例如抗体Fc序列；野生型人SIRPa蛋白的除d1结构域以外的部分，包括不限于天然蛋白的残基150至374或其片段，通常是与d1结构域邻接的片段；等。高亲和力SIRPa试剂可为单体或多聚体，即二聚体、三聚体、四聚体等。

[0049] 术语“治疗(treatment/treating/treat)”在本文中用于一般性指代获得所需药理学和/或生理学效果。效果就完全或部分预防疾病或其症状来说可为防治性的，和/或就部分或完全稳定或治愈疾病和/或可归因于疾病的不利影响来说可为治疗性的。术语“治疗”涵盖对特别是人的哺乳动物的疾病的任何治疗，并且包括：(a) 预防疾病和/或症状在可易患疾病或症状，但尚未被诊断为患有它的受试者中发生；(b) 抑制疾病和/或症状，即遏止它们的发展；或 (c) 减轻疾病症状，即导致疾病和/或症状的消退。需要治疗的受试者包括已遭受疾病的受试者(例如患有癌症的受试者、具有感染的受试者等)以及其中需要预防的受试者(例如对癌症的易感性增加的受试者、感染的可能性增加的受试者、被怀疑患有癌症的受试者、被怀疑具有感染的受试者等)。

[0050] 如本文所用，“靶标细胞”是在表面上表达CD47的细胞，其中掩蔽或另外改变CD47阳性表型(例如通过施用抗CD47药剂)导致吞噬增加。通常，靶标细胞是哺乳动物细胞，例如人细胞。

[0051] 术语“接受者”、“个体”、“受试者”、“宿主”和“患者”在本文中可互换使用，并且是指其需要诊断、治疗或疗法的任何哺乳动物受试者，特别是人。出于治疗的目的，“哺乳动物”是指分类为哺乳动物的任何动物，包括人、家养动物和农场动物、以及动物园动物、运动动物或宠物动物，诸如狗、马、猫、母牛、绵羊、山羊、猪等。优选地，哺乳动物是人。

[0052] “治疗有效剂量”或“治疗剂量”是以实现所需临床结果(即实现治疗功效)的量。治疗有效剂量可以一次或多次施用来施用。出于本发明的目的，抗CD47药剂的治疗有效剂量是足以通过使对靶标细胞(例如靶标细胞)的吞噬增加来缓和、改善、稳定、逆转、预防、减缓或延迟疾病状态(例如癌症)的进展的量。因此，治疗有效剂量的抗CD47药剂以有效用于使对靶标细胞的吞噬增加的剂量使靶标细胞上的CD47与吞噬细胞上的SIRPa的结合降低。

[0053] 在一些实施方案中，治疗有效剂量导致抗CD47药剂(例如抗CD47抗体)的持续血清

水平,即谷底水平为约40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 或更大(例如约50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 或更大、约60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 或更大、约75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 或更大、约100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 或更大,约125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 或更大、或约150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 或更大)。在一些实施方案中,治疗有效剂量导致抗CD47药剂(例如抗CD47抗体)的持续血清水平在约40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (例如约40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、约40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、约40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、约40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、约50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、约50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、约50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、约50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、约75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、约75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、约75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、约75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、约100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、约100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约250 $\mu\text{g}/\text{ml}$,或约100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约200 $\mu\text{g}/\text{ml}$)的范围内。在一些实施方案中,用于治疗实体肿瘤的治疗有效剂量导致抗CD47药剂(例如抗CD47抗体)的持续血清水平为约100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 或更大,例如持续血清水平在约100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、约100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、约100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、约100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至约200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的范围内。

[0054] 因此,一系列治疗有效剂量将能够实现和维持抗CD47药剂的血清水平。抗CD47药剂的治疗有效剂量可取决于所用特定药剂,但通常是约5 mg/kg 体重或更大(例如约8 mg/kg 或更大、约10 mg/kg 或更大、约15 mg/kg 或更大、约20 mg/kg 或更大、约25 mg/kg 或更大、约30 mg/kg 或更大、约35 mg/kg 或更大、或约40 mg/kg 或更大),或是约10 mg/kg 至约40 mg/kg (例如约10 mg/kg 至约35 mg/kg 、或约10 mg/kg 至约30 mg/kg)。为实现和/或维持特定血清水平所需的剂量与剂量之间的时间量成正比,并且与施用的剂量次数成反比。因此,当给药频率增加时,所需剂量降低。对给药策略的优化将易于由本领域普通技术人员了解和实施。

[0055] 在一些实施方案中,引发剂量被定义为足以导致代偿性网织红细胞增多而无过度贫血的剂量(即量)。在一些实施方案中,引发剂量被定义为导致不由后续剂量恶化的贫血的剂量。抗CD47药剂的引发剂量可取决于所用特定药剂,但通常是约0.5至约5 mg/kg 。

[0056] 术语“引发剂量”或如本文所用的“引发剂量”是指抗CD47药剂的对受试者进行引发以达成施用治疗有效剂量的抗CD47药剂的剂量,以使所述治疗有效剂量不导致重度RBC损失(血细胞比容降低或血红蛋白降低)。抗CD47药剂的特定适当的引发剂量可视所用药剂的性质和众多受试者特异性因素(例如年龄、重量等)而变化。抗CD47药剂的适合的引发剂量的实例包括约0.5 mg/kg 至约5 mg/kg 、约0.5 mg/kg 至约4 mg/kg 、约0.5 mg/kg 至约3 mg/kg 、约1 mg/kg 至约5 mg/kg 、约1 mg/kg 至约4 mg/kg 、约1 mg/kg 至约3 mg/kg 、约1 mg/kg 、约2 mg/kg 、约3 mg/kg 、约4 mg/kg 、约5 mg/kg 。

[0057] “维持剂量”是意图是治疗有效剂量的剂量。举例来说,在用以确定治疗有效剂量的实验中,可向不同受试者施用多种不同维持剂量。因此,一些维持剂量可为治疗有效剂量,而其他维持剂量可为亚治疗剂量。

[0058] “负荷剂量”可用于在转换成维持剂量之前实现抗体的治疗水平。相比于维持剂量,负荷剂量可相同或较高或较低,但通常将历经给定时期提供药剂的较高总体递送。举例来说,相比于维持剂量,负荷剂量可相同或较低,但更频繁递送,例如每日、每隔一天、每三天、每周两次、每周递送等。或者,负荷剂量可为高于维持剂量的剂量,并且在相同周期下或更频繁递送,例如每日、每隔一天、每三天、每周两次、每周递送等。

[0059] 术语“特异性结合(specific binding/specifically binds)”是指相对于溶液或反应混合物中的其他分子或部分,非共价或共价优先结合某一分子(例如相对于其他可用多肽,抗体特异性结合特定多肽或表位,或SIRP α 多肽的结合)。在一些实施方案中,一种分

子对它特异性结合的另一分子的亲和力通过 K_D (解离常数)来表征, K_D 为 $10^{-5}M$ 或更小(例如 $10^{-6}M$ 或更小、 $10^{-7}M$ 或更小、 $10^{-8}M$ 或更小、 $10^{-9}M$ 或更小、 $10^{-10}M$ 或更小、 $10^{-11}M$ 或更小、 $10^{-12}M$ 或更小、 $10^{-13}M$ 或更小、 $10^{-14}M$ 或更小、 $10^{-15}M$ 或更小、或 $10^{-16}M$ 或更小)。“亲和力”是指结合强度,结合亲和力增加与 K_D 较低相关联。

[0060] 如本文所用的术语“特异性结合成员”是指特异性结合对(即两个分子,通常是两个不同分子,其中所述分子中的一者例如第一特异性结合成员通过非共价手段来特异性结合另一分子例如第二特异性结合成员)的成员。适合的特异性结合成员包括特异性结合CD47和/或SIRPa的药剂(即抗CD47药剂),或以另外方式阻断CD47与SIRPa之间的相互作用的药剂。

[0061] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可互换用于指代氨基酸残基的聚合物。所述术语也适用于其中一个或多个氨基酸残基是相应天然存在的氨基酸的人工化学模拟物的氨基酸聚合物,以及天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物。

[0062] 术语“吞噬细胞(phagocytic cell)”和“吞噬细胞(phagocyte)”在本文中可互换用于指代能够进行吞噬的细胞。存在三个主要种类的吞噬细胞:巨噬细胞、单核细胞(组织细胞和单核细胞);多形核白细胞(嗜中性粒细胞)和树突细胞。

[0063] 关于患者的术语“样品”涵盖血液和其他生物来源液体样品、固体组织样品诸如活检试样或组织培养物或由其获得或分离的细胞及其子代。所述定义也包括在取得样品之后已以任何方式,诸如通过用试剂处理;洗涤;或使诸如癌细胞的某些细胞群体富集加以操作的样品。所述定义也包括特定类型的分子例如核酸、多肽等已被富集的样品。

[0064] 术语“生物样品”涵盖临床样品,并且也包括通过手术切除获得的组织、通过活检获得的组织、培养物中的细胞、细胞上清液、细胞溶解产物、组织样品、器官、骨髓、血液、血浆、血清等。“生物样品”包括包含靶标细胞或正常对照细胞,或被怀疑包含所述细胞的样品或由所述细胞(例如癌细胞、受感染细胞等)获得的生物液体,例如从所述细胞获得的包含多核苷酸和/或多肽的样品(例如包含多核苷酸和/或多肽的细胞溶解产物或其他细胞提取物)。包含来自患者的受害细胞的生物样品也可包括非受害细胞。

[0065] 术语“抗体”在最广泛意义上使用,并且明确涵盖单克隆抗体(包括全长单克隆抗体)、多克隆抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)和抗体片段,只要它们展现所需生物活性即可。“抗体”(Ab)和“免疫球蛋白”(Ig)是具有相同结构特征的糖蛋白。尽管抗体展现对特定抗原的结合特异性,但免疫球蛋白包括抗体与缺乏抗原特异性的其他抗体样分子两者。后述种类的多肽例如由淋巴系统以低水平以及由骨髓瘤以增加水平产生。

[0066] 如本文所用的“抗体片段”及其所有语法变化形式定义为完整抗体的包含所述完整抗体的抗原结合位点或可变区的部分,其中所述部分不含所述完整抗体的Fc区的恒定重链结构域(即CH2、CH3和CH4,视抗体同种型而定)。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂和Fv片段;双功能抗体;是具有由一个不间断连续氨基酸残基序列组成的一级结构的多肽的任何抗体片段(在本文中称为“单链抗体片段”或“单链多肽”),包括不限于(1)单链Fv(scFv)分子;(2)仅含有一个轻链可变结构域的单链多肽或其含有轻链可变结构域的三个CDR的片段,而无相关重链部分;(3)仅含有一个重链可变区的单链多肽或其含有重链可变区的三个CDR的片段,而无相关轻链部分;和(4)包含来自非人物种的单一Ig结构域的纳米体或其他特异性单结构域结合模块;以及由抗体片段形成的多特异性或多价结构。在

包含一个或多个重链的抗体片段中,重链可含有见于完整抗体的非Fc区中的任何恒定结构域序列(例如IgG同种型中的CH1),和/或可含有见于完整抗体中的任何铰链区序列,和/或可含有融合于重链的铰链区序列或恒定结构域序列或位于所述铰链区序列或恒定结构域序列中的亮氨酸拉链序列。

[0067] 如本发明中所用,术语“表位”意指抗原上的由抗体的互补位结合的任何抗原决定簇。表位决定簇通常由各组化学活性表面分子诸如氨基酸或糖侧链组成,并且通常具有特定三维结构特征以及特定电荷特征。

[0068] 方法

[0069] 受体占据(R0)测定测量由CD47结合剂例如抗CD47抗体(Ab)达成的CD47占据水平。测量CD47 R0水平的目的在于确定CD47结合剂的剂量、CD47受体饱和度和药理学作用之间的关系。随时间的受体占据百分比可提供关于产生所需药理学作用所需的药物量或暴露持续时间的适用信息。这个测定可用于通过测量替代细胞上例如CD45阴性(-)红血细胞(RBC)和CD45阳性(+)白血细胞(WBC)或其他细胞群体(例如通过组织活检获得的骨髓或组织细胞)上的CD47 R0来测定身体内的总R0。对于CD47结合和/或阻断疗法,R0测定也可用于测定靶标细胞例如RBC、白血病细胞或实体肿瘤细胞上的CD47R0。

[0070] 所关注的是使用这个测定来确定与所需药理学作用相关的CD47受体占据的阈值。这个阈值可通过离体(体外)进行的测定或通过在体内给药/治疗期间分析样品来确定。

[0071] 在测定的一个实施方案中,通过使用各种浓度的荧光染料缀合抗体来制作关于目标细胞的CD47结合标准曲线。通过以下方式来测量受体占据:使靶标细胞与不同浓度的未标记抗体一起孵育,接着在体外吞噬中测定细胞,或使细胞与基于标准曲线的饱和浓度的经标记抗体一起孵育,并且通过流式细胞计量术来分析结合。如下计算受体占据:

$$[0072] R0\% = 100 - ((MFI_{\text{测试}} - MFI_{\text{未染色}}) / (MFI_{\text{饱和STD}} - MFI_{\text{未染色}})) \times 100$$

[0073] 在其他实施方案中,通过以下方式来进行测定:用确定剂量的抗体对患者输注,通常在输注抗体之前和之后从所述患者获得组织样品例如血液样品。使组织样品与饱和浓度的经标记抗体一起孵育,并且通过流式细胞计量术来分析。分析可例如针对红血细胞、白血细胞、癌细胞等进行设门。

[0074] 已发现实现RBC上CD47的至少约80%饱和的引发剂量足以诱导贫血代偿,并且降低在后续剂量的情况下的贫血程度。在人中,已发现引发剂量是如上讨论的引发剂量,即约0.5mg/kg至约5mg/kg。在本发明的一些实施方案中,受体占据测定用候选CD47结合剂进行以确定提供RBC上至少约50%饱和、至少约60%饱和、至少约70%饱和、至少约80%饱和、至少约90%饱和、至少约95%饱和、至少约99%饱和或更大饱和的引发剂量的水平。

[0075] 在本发明的一些实施方案中,进行受体占据测定以确定候选抗CD47药剂例如结合CD47的抗体、SIRPa多肽等的适当引发剂量。

[0076] 治疗方法

[0077] 提供用于用治疗剂量的抗CD47药剂治疗受试者的方法。主题方法包括向受试者施用引发剂的步骤,继之以向所述受试者施用治疗有效剂量的抗CD47药剂的步骤。在一些实施方案中,在开始施用引发剂之后,在至少约3天(例如至少约4天、至少约5天、至少约6天、至少约7天、至少约8天、至少约9天或至少约10天)之后进行施用治疗有效剂量的步骤。这个时期例如足以提供由个体达成增强的网织红细胞产生。

[0078] 施用治疗有效剂量的抗CD47药剂可以许多不同方式实现。在一些情况下，在施用引发剂之后，施用两次或更多次治疗有效剂量。适合的施用治疗有效剂量可需要施用单次剂量，或可需要每日、每半周、每周、每2周一次、一个月一次、每年施用剂量等。在一些情况下，治疗有效剂量以浓度逐步升高的两次或更多次剂量（即递增剂量）施用，其中(i)所有剂量都是治疗剂量，或其中(ii)初始给与亚治疗剂量（或两次或更多次亚治疗剂量），并且通过所述逐步升高来实现治疗剂量。作为一个用以说明逐步升高浓度（即递增剂量）的非限制性实例，治疗有效剂量可每周施用，以亚治疗剂量（例如5mg/kg的剂量）开始，并且各后续剂量可增加特定增量（例如增加5mg/kg）或可变增量，直至达到治疗剂量（例如30mg/kg），此时可停止或可继续施用（例如持续治疗剂量，例如30mg/kg的剂量）。作为另一用以说明逐步升高浓度（即递增剂量）的非限制性实例，治疗有效剂量可每周施用，以治疗剂量（例如10mg/kg的剂量）开始，并且各后续剂量可增加特定增量（例如增加10mg/kg）或可变增量，直至达到治疗剂量（例如30mg/kg、100mg/ml等），此时可停止或可继续施用（例如持续治疗剂量，例如30mg/kg、100mg/ml等的剂量）。在一些实施方案中，施用治疗有效剂量可为连续输注，并且剂量可随时间而改变（例如逐步升高）。

[0079] 剂量和频率可视抗CD47药剂在患者中的半衰期而变化。本领域技术人员将了解，所述指导方针将针对活性剂的分子量加以调整，例如在使用抗体片段时，在使用抗体缀合物时，在使用SIRPa试剂时，在使用可溶性CD47肽时等。剂量也可针对局部化施用例如鼻内、吸入等，或针对全身性施用例如肌肉内、腹膜内、静脉内、皮下等加以变化。

[0080] 有效施用引发剂。CD47结合剂的包括但不限于引发剂量的初始剂量可在输注之后立刻导致血凝集持续一段时期。在不受理论束缚下，据信初始剂量的多价CD47结合剂可导致结合于所述结合剂的RBC的交联。在本发明的某些实施方案中，将CD47结合剂以初始剂量，以及任选以后续剂量，历经使其中存在高局部浓度的RBC和所述结合剂的血液微环境的可能性降低的时期和/或浓度向患者输注。

[0081] 在本发明的一些实施方案中，历经至少约2小时、至少约2.5小时、至少约3小时、至少约3.5小时、至少约4小时、至少约4.5小时、至少约5小时、至少约6小时或更久的时期输注初始剂量的CD47结合剂。在一些实施方案中，历经约2.5小时至约6小时；例如约3小时至约4小时的时期输注初始剂量。在一些所述实施方案中，输注物中的药剂的剂量是约0.05mg/ml至约0.5mg/ml；例如约0.1mg/ml至约0.25mg/ml。

[0082] 在其他实施方案中，CD47结合剂的初始剂量例如引发剂量通过连续输注，例如以渗透泵、递送贴片等形式来施用，其中所述剂量历经至少约6小时、至少约12小时、至少约24小时、至少约2天、至少约3天的时期施用。许多所述系统在本领域中是已知的。举例来说，DUROS技术提供由活塞分隔的双区室系统。一个区室由以过量固体NaCl特定配制的渗透引擎组成，以使NaCl保持存在于整个递送时期期间，并且产生恒定渗透梯度。它在一端也由半透膜组成，水穿过所述半透膜被吸入渗透引擎中，并且在组织水与渗透引擎之间建立大型和恒定渗透梯度。另一区室由药物溶液组成，具有药物由于渗透梯度而从其释放的孔口。这有助于在植入人中时提供部位特异性和全身性药物递送。优选植入部位是皮下放置在上臂的内部中。

[0083] 在施用引发剂以及允许有一段时期来有效达成网织红细胞产生增加之后，施用治疗剂量的抗CD47药剂。治疗剂量可以许多不同方式施用。在一些实施方案中，在施用引发剂

之后，施用两次或更多次治疗有效剂量，例如以每周给药时程。在一些实施方案中，抗CD47药剂的治疗有效剂量以浓度逐步升高的两次或更多次剂量施用，在其他实施方案中，剂量是相等的。在引发剂量之后，血凝集降低，因此，不需要延长输注时间。

[0084] 试剂盒

[0085] 也提供用于方法中的试剂盒。主题试剂盒包括引发剂和抗CD47药剂。在一些实施方案中，试剂盒包括两种或更多种引发剂。在一些实施方案中，试剂盒包括两种或更多种抗CD47药剂。在一些实施方案中，引发剂以某一剂型（例如引发剂型）提供。在一些实施方案中，引发剂以两种或更多种不同剂型（例如两种或更多种不同引发剂型）提供。在一些实施方案中，抗CD47药剂以某一剂型（例如治疗有效剂型）提供。在一些实施方案中，抗CD47药剂以两种或更多种不同剂型（例如两种或更多种不同治疗有效剂型）提供。在试剂盒的情形下，引发剂和/或抗CD47药剂可以液体或固体形式提供在任何便利的包装（例如棒条包装、剂量包装等）中。

[0086] 除以上组成部分之外，主题试剂盒可进一步包括（在某些实施方案中）用于实施主题方法的说明书。这些说明书可以多种形式存在于主题试剂盒中，所述形式中的一者或者可存在于试剂盒中。这些说明书可存在所采用的一种形式是呈在适合介质或基底（例如一张或多张其上印刷有信息的纸）上，在试剂盒的包装中，在包装插页中等等的印刷信息形式。这些说明书的另一形式是其上已记录信息的计算机可读介质，例如磁盘、光盘（CD）、闪存驱动器等。这些说明书的可存在的另一形式是可通过因特网用于在远地获取信息的网站地址。

[0087] 效用。主题方法和试剂盒可用于治疗其中靶标细胞相对于相同类型的正常细胞展现CD47表达增加的任何加害。施用的抗CD47药剂抑制SIRPa（例如在吞噬细胞上）与靶标细胞上的CD47（例如在癌细胞上、在受感染细胞上等）之间的相互作用，由此使对所述靶标细胞的体内吞噬增加。主题方法包括向需要治疗的受试者施用治疗有效剂量的抗CD47药剂，包括不限于试剂与另一药物（例如抗癌药物等）的组合。

[0088] 如本文所用的术语“癌症”是指由异常、不受控制的细胞生长引起的多种疾患。能够导致癌症的细胞，被称为“癌细胞”，具有的特征性质，诸如增殖不受控制、永生性、转移潜力、快速生长和增殖速率、和/或某些典型形态特征。癌症可以许多方式中的任一者加以检测，包括但不限于检测一个或多个肿瘤的存在（例如通过临床或放射学手段），检查肿瘤内或来自另一生物样品（例如来自组织活检体）的细胞，测量指示癌症的血液标志物，以及检测指示癌症的基因型。然而，一种或多种以上检测方法中的阴性结果未必指示不存在癌症，例如已展现对癌症治疗的完全响应的患者可能仍然患有癌症，如由后续复发所证实。

[0089] 如本文所用的术语“癌症”包括癌瘤（例如原位癌瘤、侵袭性癌瘤、转移性癌瘤）和恶化前疾患，即独立于它们的组织学来源的新生形变化。术语“癌症”不限于受影响组织或细胞聚集物的任何时期、等级、组织形态学特征、侵袭性、侵略性或恶性。特定来说，包括0期癌症、I期癌症、II期癌症、III期癌症、IV期癌症、I级癌症、II级癌症、III级癌症、恶性癌症和原发性癌瘤。

[0090] 可治疗的癌症和癌细胞包括但不限于血液癌症，包括白血病、淋巴瘤和骨髓瘤；以及实体癌症，包括例如脑肿瘤（胶质母细胞瘤、神经管母细胞瘤、星形细胞瘤、少突神经胶质瘤、室管膜瘤）；癌瘤，例如肺癌、肝癌、甲状腺癌、骨癌、肾上腺癌、脾癌、肾癌、淋巴结癌、小

肠癌、胰腺癌、结肠癌、胃癌、乳腺癌、子宫内膜癌、前列腺癌、睾丸癌、卵巢癌、皮肤癌、头颈部癌和食道癌。

[0091] 在一实施方案中，癌症是血液癌症。在一实施方案中，血液癌症是白血病。在另一实施方案中，血液癌症是骨髓瘤。在一实施方案中，血液癌症是淋巴瘤。

[0092] 在一实施方案中，白血病选自急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴细胞性白血病(ALL)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)和慢性骨髓源性白血病(CML)。在一实施方案中，白血病是AML。在一实施方案中，白血病是ALL。在一实施方案中，白血病是CLL。在另一实施方案中，白血病是CML。在一实施方案中，癌细胞是白血病细胞，例如但不限于AML细胞、ALL细胞、CLL细胞或CML细胞。

[0093] 对使用抗CD47药剂进行的治疗起响应的适合癌症包括但不限于白血病；急性骨髓性白血病(AML)；急性淋巴母细胞性白血病(ALL)；转移；最小程度残余疾病；实体肿瘤癌症，例如乳腺癌、膀胱癌、结肠癌、卵巢癌、胶质母细胞瘤、平滑肌肉瘤和头颈部鳞状细胞癌；等。例如参见：(i) Willingham等, Proc Natl Acad Sci U S A. 2012年4月24日; 109 (17) :6662-7: “The CD47-signal regulatory protein alpha(SIRPa) interaction is a therapeutic target for human solid tumors”；(ii) Edris等, Proc Natl Acad Sci U S A. 2012年4月24日; 109 (17) :6656-61: “Antibody therapy targeting the CD47 protein is effective in a model of aggressive metastatic leiomyosarcoma”；和(iii) 美国专利申请20110014119；其全都整体并入本文。

[0094] 药物组合物。适合的抗CD47药剂和/或引发剂可以适于治疗使用，例如适于进行人治疗的药物组合物形式提供。在一些实施方案中，本发明的药物组合物包括一种或多种本发明的治疗性实体或其药学上可接受的盐、酯或溶剂合物。在一些其他实施方案中，使用抗CD47药剂或引发剂包括与另一治疗剂(例如另一抗感染剂或另一抗癌剂)组合使用。通过使具有所需纯度的抗CD47药剂或引发剂与任选生理上可接受的载体、赋形剂或稳定剂(Remington's Pharmaceutical Sciences第16版, Osol, A. 编 (1980))混合来以冻干制剂或水溶液形式制备包含一种或多种本发明的抗CD47药剂和/或引发剂的治疗性制剂以供储存。抗CD47药剂或引发剂组合物将以符合良好医学规范的方式配制、给药和施用。在这个情形下的考虑因素包括所治疗的特定病症、所治疗的特定哺乳动物、个别患者的临床状况、病症的原因、药剂递送部位、施用方法、施用时程和为医学从业者所知的其他因素。

[0095] 抗CD47药剂或引发剂经常以包含活性治疗剂和另一药学上可接受的赋形剂的药物组合物形式施用。优选形式取决于预定施用模式和治疗应用。视所需制剂而定，组合物也可包括药学上可接受的无毒载体或稀释剂，所述无毒载体或稀释剂定义为通常用于配制用于动物或人施用的药物组合物的媒介物。选择稀释剂以便不影响组合的生物活性。所述稀释剂的实例是蒸馏水、生理磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液(Ringer's solution)、右旋糖溶液和汉克氏溶液(Hank's solution)。此外，药物组合物或制剂也可包含其他载体、佐剂或无毒非治疗性非免疫原性稳定剂等。

[0096] 通常，组合物被制备成呈液体溶液或混悬液形式的可注射剂；也可制备适于在注射之前溶解或混悬于液体媒介物中的固体形式。也可将制剂乳化或囊封在脂质体或微粒诸如聚丙交酯、聚乙交酯或共聚物中以达成增强的辅助作用，如上所讨论。Langer, Science 249:1527, 1990以及Hanes, Advanced Drug Delivery Reviews 28:97-119, 1997。

本发明的药剂可以积存注射液或植入制剂形式施用,所述形式可以容许活性成分持续或脉冲释放的方式配制。药物组合物通常被配制成无菌大致上等张的药物组合物,并且完全符合美国食品与药物管理局的所有良好制造规范(GMP)规定。

[0097] 抗CD47药剂和/或引发剂的毒性可通过标准药物程序在细胞培养物或实验动物中来测定,例如通过测定LD₅₀(对于群体的50%具有致死性的剂量)或LD₁₀₀(对于群体的100%具有致死性的剂量)。毒性作用与治疗作用之间的剂量比率是治疗指数。从这些细胞培养测定和动物研究获得的数据可用于进一步优化用于在人中使用的治疗剂量范围和/或引发剂量范围。确切制剂、施用途径和剂量可由个别医师鉴于患者的状况加以选择。

[0098] 本发明现已被充分描述,将为本领域普通技术人员显而易知的是可在不脱离本发明的精神或范围下进行各种变化和修改。

[0099] 实验

[0100] 提出以下实施例以便向本领域普通技术人员提供对如何进行和使用本发明的完整公开和描述,并且不意图限制发明者所视为的他们的发明的范围,也不意图表示以下实验是进行的所有或仅有实验。已努力确保关于所用数值(例如量、温度等)的准确性,但应考虑一些实验误差和偏差。除非另外指示,否则份是重量份,分子量是重量平均分子量,温度以摄氏度计,并且压力处于或接近大气压。

[0101] 本说明书中引用的所有出版物和专利申请都以引用的方式并入本文,所述引用的程度就好像特定地和个别地指示将各个别出版物或专利申请以引用的方式并入一样。

[0102] 本发明已关于由本发明者发现或提出来包括用于实施本发明的优选模式的特定实施方案加以描述。本领域技术人员应了解,鉴于本公开,可在不脱离本发明的预定范围的情况下,在例示的特定实施方案中进行众多修改和变化。举例来说,归因于密码子冗余,可在基础DNA序列中进行变化而不影响蛋白质序列。此外,归因于生物功能等效性考虑,可在蛋白质结构中进行变化而不在种类或数量方面影响生物作用。所有所述修改都意图包括在随附权利要求的范围内。

[0103] 实施例1

[0104] 受体占据测定和确定有效剂量

[0105] 50-250μg/ml之间的Hu5F9-G4血清浓度与在异种移植小鼠模型中的AML和实体肿瘤的情况下的治疗功效相关联。10mg/kg的每周两次维持剂量在非人灵长类动物中实现在潜在具有治疗性的范围内的Hu5F9-G4血清浓度。10mg/kg的每周维持剂量在患者中实现在潜在具有治疗性的范围内的Hu5F9-G4血清浓度。

[0106] 通过以下方式来测量受体占据:使靶标细胞与不同浓度的未标记Hu5F9-G4一起孵育,接着在体外吞噬中测定细胞,或使细胞与基于标准曲线的饱和浓度的AF488-Hu5F9-G4一起孵育,并且通过流式细胞计量术来分析结合,针对APC/FITC双重群体进行设门,并且计算各样品的MFI。

[0107] 受体占据:

$$R0\% = 100 - ((MFI_{测} - MFI_{未染}) / (MFI_{饱和STD} - MFI_{未染})) \times 100$$

[0109] 我们首先评估以单次静脉内输注以0、0.1、0.3、1、3、10和30mg/kg在单独个体中向食蟹猴施用Hu5F9-G4。评估所有动物在临床征象、食物消耗、体重和临床病理学参数方面的变化。Hu5F9-G4的施用通常得以良好耐受,并且未在临床观察、食物消耗、体重或指示肾、肝

或心脏影响的临床化学参数的详尽清单上注意到治疗相关影响。临床血液学评估指示Hu5F9-G4在所有动物中都导致剂量依赖性贫血，伴有网织红细胞增多和球形红细胞增多。贫血的最低水平出现在输注之后约5-7天，并且通常与剂量相关联。贫血的严重性可变，因为被施用30mg/kg的两个动物展现不同应答。重要的是，在所有动物中，贫血都自发消除，在约2周之后返回至基线水平。在所有情况下，都未检测到游离血浆血红蛋白，从而指示不存在血管内溶血。未观察到白血细胞或血小板的其他异常。因此，与它在调控RBC吞噬方面的已知功能一致，Hu5F9-G4导致可能归因于噬红细胞作用的短暂贫血，但在其它方面得以良好耐受。

[0110] 在单次剂量施用Hu5F9-G4的情况下，药代动力学数据证明仅10和30mg/kg剂量水平能够短暂实现在与异种移植研究中的功效相关的范围内的血清水平。这可能归因于除其他非造血组织之外也在循环红血细胞和白血细胞上表达的CD47的大型抗原集合。基于先前描述的CD47在老化红血细胞的正常清除方面的作用，在这个研究中观察到的Hu5F9-G4相关贫血被视为与Hu5F9-G4结合在RBC上表达的CD47的药理学作用相关。RBC的过早损失由随后网织红细胞增多代偿，并且随着时间的推移，初始贫血随着由幼早细胞进行替代而得以消除。

[0111] 根据这些考虑事项，我们基于以下假设在NHP中进行单独剂量逐步升高研究：初始低剂量将减弱RBC损失以及刺激产生易感性较小的幼早RBC，由此促进对后续较大剂量的耐受。将2只动物招募至这个研究中，并且以1周间隔给药：1只动物进行EPO预处理（3、10、30、100和300mg/kg），并且1只动物不进行预处理（1、3、10、30和100mg/kg）。在两种情况下，NHP均随着初始给药而展现轻度贫血，其不随着重复施用而恶化。实际上，即使未进行EPO预处理，血红蛋白也只是达到在人中输血的上阈值。惊人地，动物良好耐受所有剂量，包括100和300mg/kg，不具有额外血液或代谢异常。在研究结束时，使2个动物安乐死，并且尸检和组织病理学分析揭示无异常。

[0112] 根据这个剂量逐步升高研究，我们测定了Hu5F9-G4在NHP中的药代动力学。与存在由正常组织表达的CD47的大型抗原集合一致，初始低剂量的Hu5F9-G4从血清快速清除。相比之下，较高剂量的Hu5F9-G4产生指示抗原集合饱和的持续血清水平。值得注意的是，以300mg/kg给药的动物具有5mg/ml的峰值水平，伴有超过1mg/ml的持续水平至少2周。这些数据表明引发剂量继之以较大维持剂量方案应能够实现与临床前异种移植模型中的强力功效相关的持续50-250 μ g/ml血清水平。

[0113] 这些结果引导我们使用引发-维持给药方法进行另一NHP试探性研究以对潜在临床给药策略进行建模。引发剂量的目的将在于刺激产生幼早RBC，其将接着有助于采用能够实现持续血清水平的较大维持剂量。我们在食蟹猴中进行研究，其中在第1天施用1或3mg/kg的引发剂量（PD），在1周后继之以30mg/kg每周维持给药（MD），持续6周。评估所有动物在临床观察、食物消耗、体重和临床病理学参数方面的变化。未注意到死亡或在指示肾、肝或心脏影响的关键临床化学参数方面的变化。历经整个给药过程，Hu5F9-G4的施用得以良好耐受。在两种情况下，引发剂量均导致轻度贫血和网织红细胞增多。如所假设，维持剂量得以良好耐受，在整个治疗过程中血红蛋白不进一步下降。截至研究结束，血红蛋白水平返回至正常范围。药代动力学分析指示在两只动物中如由C_{max}和血清浓度曲线下面积（AUC₀₋₄₃）度量的Hu5F9-G4暴露均持续维持给药时期的持续时间实现在潜在治疗范围内或高于潜在

治疗范围的持续血清Hu5F9-G4水平,在最终剂量之后,半衰期延长。这些结果表明PD1/MD30或PD3/MD30给药策略使CD47抗原集合饱和。总之,这些食蟹猴研究证明低引发剂量的Hu5F9-G4导致适度贫血和代偿性网织红细胞增多应答,其使得药物的后续较高维持剂量能够被良好耐受。

[0114] 通过使用AF488缀合Hu5F9-G4来制作在用不同引发剂量的Hu5F9-G4治疗之关于人患者的CD47结合标准曲线,如图1中所示。可见1mg/kg或更大的引发剂量能够在患者中采用第一剂量的情况下使红血细胞上大于80%的CD47分子饱和,并且防止在后续剂量的情况下RBC凝集。显示剂量浓度,借此1/3和1/10分别代表1mg/kg的第一引发剂量,继之以3mg/kg维持剂量,以及1mg/kg的第一引发剂量,继之以10mg/kg维持剂量。

[0115] 图2和图3中显示不同患者的受体占据结果,其显示使剂量增加的影响以及人患者的白血细胞上的受体的饱和。各线对应于不同患者。显示剂量浓度,借此1/3和1/10分别代表1mg/kg的第一引发剂量,继之以3mg/kg维持剂量,以及1mg/kg的第一引发剂量,继之以10mg/kg维持剂量。

[0116] 图4中显示在临床前异种移植小鼠模型中,在内源性CD47集合饱和的情况下,100-200 μ g/ml谷底水平是治疗范围。这些谷底水平与治疗性抗肿瘤功效相关联。在一非人灵长类动物(NHP)临床前模型中,在引发剂量之后,在10mg/kg群组中实现100 μ g/ml的目标谷底水平。药代动力学概况可预测临床药代动力学。

[0117] 在人实体肿瘤患者中以10mg/kg每周施用剂量的情况下,当使用FDA指导方针加以适当转换时,实现100 μ g/kg的目标谷底值,从而说明临床前NHP模型的预测效力。在非人灵长类动物中,给药是以10mg/kg每周两次(图5),而在人中,给药是每周10mg/kg(图6)。

[0118] 与施用抗CD47抗体相关的初始贫血伴有代偿性网织红细胞增多。图7中显示,在人患者中在每周施用Hu5F9-G4期间,存在网织红细胞%增加,其主要在第一(引发)剂量之后得见。Hu5F9-G4被每周施用。

[0119] 实施例2

[0120] 以延长输注时间使血凝集降低

[0121] 红细胞在细胞表面上表达CD47。然而,老化红细胞丧失CD47细胞表面表达,并且获得促吞噬信号的表达。细胞表面上的CD47的丧失或阻断联同促吞噬信号的获得导致对红细胞的吞噬清除。如实施例1中所讨论,历经数天至数周的时期,施用引发剂量的抗CD47抗体可通过清除老化红细胞以及诱导网织红细胞增多来补偿由施用抗CD47抗体引起的初始短暂贫血,其中血液红血细胞群体转变成表达CD47,但不具有促吞噬信号的幼早细胞。

[0122] 除延长的贫血和代偿效应之外,在施用抗CD47抗体之后立刻可能存在急性血凝集效应。在不受理论束缚下,这可归因于定位在施用部位处的极短期高浓度的抗体和RBC,直至正常血流动力学使细胞和抗体更平均分布。在高浓度下,抗体可结合不同RBC,由此导致不合需要的交联作用。

[0123] 为使急性血凝集降低,因此可合乎需要的是以使在输注部位处的即刻浓度降低至其中RBC不交联的水平的方式施用抗体。在初始方案中,对于0.1mg/kg和0.3mg/kg的剂量,以250ml的体积;并且对于1mg/kg的剂量,以500ml的体积,历经1小时的时期施用引发剂量的抗体。如图8中所示,这个方案可导致不合需要的血凝集。

[0124] 相比之下,当历经3小时的时期向患者施用相同剂量和浓度的抗体时,在凝集水平

方面存在显著改进,显示于图8中。延长施用可在完成引发之后对治疗性给药进行,但并非必需,因为在完成引发剂量之后,表达促吞噬信号的老化RBC降低。

[0125] 实施例3

[0126] 临床试验方案

[0127] 一新型治疗性mAb特异性结合CD47,并且阻断它与在吞噬细胞上的它的配体信号调控蛋白 α (SIRPa)相互作用。这导致通过促吞噬信号来吞噬和消除癌细胞,所述促吞噬信号可包括磷脂酰丝氨酸、钙网蛋白(calreticulin)和其他促吞噬信号。除红血细胞之外,正常细胞通常不表达促吞噬信号,并且不受抗CD47 mAb影响。人源化CD47阻断mAb Hu5F9-G4已被开发来用于临床测试,并且已以潜在具有治疗性的血清水平向非人灵长类动物(NHP)安全施用。在NHP(食蟹猴和恒河猴)中进行非临床毒理学研究以支持在临床环境中静脉内施用Hu5F9-G4。基于来自在食蟹猴中进行的GLP 8周毒理学研究的数据,用于人试验的估计安全起始剂量是0.1mg/kg。

[0128] 已与GLP毒理学研究联合在食蟹猴中研究Hu5F9-G4的药代动力学(PK)和毒物动力学(TK)。从这些研究收集的PK和TK指示在单次剂量和多次剂量之后,Hu5F9-G4展现在6.35至320小时的范围内的不同半衰期($t_{1/2}$)。分布体积接近猴血清体积,如对于单克隆抗体所预期。随着剂量增加以及随着重复给药,半衰期似乎增加,并且清除似乎降低,从而表明通过内源性CD47细胞集合达成的靶标介导的清除的饱和。在猴中显著出现经确认抗药物抗体(ADA),特别是对于处于或低于10mg/kg的剂量,此似乎与Hu5F9-G4的较低浓度相关联。然而,在重复剂量研究中,对于处于或高于10mg/kg的剂量,在整个治疗持续时间期间,暴露得以维持。

[0129] 在NHP(食蟹猴和恒河猴)中进行非临床研究以支持在临床试验中持续8周持续时间将Hu5F9-G4用于静脉内施用。在食蟹猴中进行GLP毒理学研究,其中给药期持续8周,继之以8周恢复时期。在GLP 8周毒理学研究中,使用引发/维持剂量时程,持续总计8周,通过1小时静脉内输注来向雄性和雌性食蟹猴施用Hu5F9-G4。在第1天,Hu5F9-G4以引发剂量(5mg/kg)施用,随后在第8、11、15、18、22、25、29、32、36、39、43、46、50和53天每周两次施用5、10、50或100mg/kg的维持剂量。

[0130] 在这个研究(以及先前试探性毒理学研究)中注意到的主要治疗相关研究结果是红细胞量降低,包括红血细胞(RBC)计数降低、血红蛋白降低和血细胞比容降低。在第1天施用引发剂量之后,在所有Hu5F9-G4治疗动物中都注意到血红蛋白降低,并且在第8天施用第一维持剂量之后,血红蛋白降低通常最显著。Hu5F9-G4相关贫血的严重性和发生在动物之间不同,并且尽管血红蛋白降低不以明确剂量依赖性方式发生,但高剂量维持组(100mg/kg)中在第11天血红蛋白水平 $\leq 10.0\text{g/dL}$ 的动物的出现率最高(90%)。重要的是,遍及所有动物,血红蛋白水平都显示朝向恢复的趋势(通常在第15-32天左右开始),并且持续恢复直至研究结束。归因于重度贫血(血红蛋白 $\leq 7.0\text{g/dL}$),将2只动物(1个在5/50mg/kg组中,并且1个在5/100mg/kg组中)置于剂量假期中以评估贫血的恢复以及一旦恢复给药,动物如何应答。在第15和18天,50mg/kg维持剂量组中的动物的血红蛋白水平降低至5.7g/dL,因此,在第25-36天(维持剂量6-9)获得剂量假期。这个动物的血红蛋白在第36天开始恢复,因此,在第39天恢复对这个动物给药(剂量10)。尽管恢复维持给药,但这个动物的血红蛋白水平持续恢复直至研究结束。在第18天,100mg/kg维持剂量组中的动物的血红蛋白水平下降

至6.9g/dL,因此在第25天被置于剂量假期中;这个动物持续处于剂量假期直至研究结束。这个动物的血红蛋白水平也显示朝向恢复的持续趋势直至研究结束。

[0131] 因此,尽管似乎少数动物可尤其对由Hu5F9-G4产生的贫血敏感,但在这些动物中未观察到临床毒性征象,并且此外,贫血是短暂的,并且血红蛋白水平随时间恢复。除红细胞量降低之外,在所有Hu5F9-G4治疗组中都观察到网织红细胞增加,此指示与RBC量降低相关的稳健红细胞生成应答。

[0132] 与先前研究一致,红细胞量降低也伴有平均红细胞体积(MCV)和结合珠蛋白(haptoglobin)降低以及平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、网织红细胞和红细胞分布宽度(RDW)增加。值得注意的是,在任何Hu5F9-G4治疗组中都未观察到游离血浆血红蛋白,此指示不存在血管内溶血。也观察到淋巴细胞最小程度至轻度增加,但这些增加在性质上是短暂的和散发的,并且不以剂量依赖性方式发生。血细胞形态变化被视为与红血细胞破坏/清除加速和红细胞生成增加相关,并且包括红细胞大小不均、球形红细胞(小红细胞)、偏心细胞、与红细胞损伤/清除一致的非典型红细胞片段、红细胞凝集和大型血小板、以及由红细胞大小不均和多染性大红细胞组成的与红细胞生成增加相关的变化。

[0133] 所有治疗相关的血液学参数(包括血细胞形态)变化都显示朝向恢复的持续趋势直至研究结束。骨髓涂片评估的变化局限于最小程度至轻度红系谱系形态变化(发育不良),其由具有异常核形状、多个核、核起泡和/或核成熟与细胞质成熟不同步(对于细胞质成熟来说是异常的核)的偶见细胞组成。显著网织红细胞增多与治疗相关的红细胞量降低相关,此指示红细胞生成加速。被视为与和Hu5F9-G4相关的红细胞生成应答加速相关的额外变化包括平均M:E比率轻度降低,以及与红细胞生成加速相关的向更不成熟红细胞样前体的适当最小程度至轻度转变。与先前研究一致,在GLP 8周研究中观察到的治疗相关的血液学参数变化(即血红蛋白降低;网织红细胞增加)伴有总胆红素增加和结合珠蛋白降低。

[0134] 其他临床化学参数变化仅在100mg/kg维持剂量组中观察到,并且包括白蛋白略微降低(2只雌性动物)、球蛋白略微增加以及相应白蛋白:球蛋白比率降低。在给药期结束时,所有治疗相关的临床化学参数变化都部分或完全可逆。

[0135] 基于CD47在老化红血细胞的正常清除方面的已知作用,在这个研究中观察到的Hu5F9-G4相关贫血被视为与Hu5F9-G4结合在RBC上表达的CD47的药理学作用相关。我们假设施用Hu5F9-G4会通过用即刻阻断老化RBC上的CD47替代CD47的逐渐损失来使老化RBC的消除过程加速。老化RBC的过早损失由随后网织红细胞增多(其遍及所有研究都被观察到)代偿,并且随着时间的推移,初始贫血随着老化RBC被幼早细胞替代而得以消除,因此,RBC集合的年龄分布向幼早细胞转变。

[0136] 总之,在第1周中(第1天)以5mg/kg的引发剂量通过1小时静脉内输注来施用Hu5F9-G4,随后在直至以100mg/kg的剂量连续7周每周两次施用维持剂量在食蟹猴中在临幊上得以良好耐受。尽管存在治疗相关贫血,但未观察到临床毒性征象,包括在由于观察到的重度贫血而获得剂量假期的动物中也是如此。在这个研究中观察到的血液学变化与先前研究一致,并且被视为与Hu5F9-G4在通过Hu5F9-G4与在RBC上表达的CD47结合来使老化RBC消除过程加速方面的药理学作用相关。截至研究结束,所有治疗相关的血液学和临床化学参数变化都部分或完全可逆。因此,基于总体数据,这个研究的最高非重度毒性剂量(HNSTD)被视为是5/100mg/kg的引发/维持剂量,即评估的最高剂量。由100mg/kg维持剂量

提供的预测安全界限(基于AUC)是绰绰有余的,并且在是提出的临床研究的起始剂量0.1mg/kg的766至803倍高的范围内。

[0137] 测试人源化抗CD47抗体Hu5F9-G4对在准备用于管理在Hu5F9-G4治疗期间可能需要输血的患者的策略时进行的输血前血型测定和交叉匹配的影响。结果显示Hu5F9-G4不干扰血浆抗体筛选,从而使得有可能检测同种异体抗体以及如果在医学上需要,那么继续进行包装红血细胞(PRBC)输注。然而,在全血的情况下,Hu5F9-G4干扰ABO血型测定、直接抗球蛋白测试(DAT)和红血细胞(RBC)免疫表型分析的结果。因此,在启动Hu5F9-G4治疗之前,对获得的血液样品进行ABO血型测定、DAT和RBC免疫表型分析将是重要的。使Hu5F9-G4与来自非人灵长类动物和人供体的RBC一起孵育。Hu5F9-G4不诱导体外人RBC溶血,即使在含补体血清存在下也是如此。研究未显示7个NHP试样中有血凝集(HA)迹象。然而,在10微克/毫升的Hu5F9-G4存在下,在所有14个人供体血液样品中都观察到HA。

[0138] 不同于其中HA由冷IgM凝集素引起的大多数凝集相关自体免疫溶血性贫血情况,由Hu5F9-G4(IgG4)引起的凝集发生在37°C下而非在4°C下。尽管RBC凝集可见于若干疾患(通常与感染物相关联,伴有和不伴有临床后遗症)中,但此处所见凝集的临床重要性是未确定的。

[0139] 这是CD47阻断抗体Hu5F9-G4的开放标签、非随机化、1期、首先在人中进行的剂量逐步升高群组研究。这个药物的预期DLT是归因于由巨噬细胞吞噬衰老红细胞的贫血。在食蟹猴中进行的试探性毒理学研究显示施用低引发剂量的抗体产生适度贫血和网织红细胞应答,其使得药物的后续较高维持剂量能够被良好耐受。因此,这个1期试验中的策略在于首先以剂量逐步升高群组设计确定最优引发剂量(A部分),在所述最优引发剂量下,6/6患者在不存在输血下维持8g/dL或更高的血红蛋白持续前4周,并且在至多1/6患者中产生除贫血以外的DLT。一旦在A部分中确定这个最优引发剂量,它就将在第1周的第1天施用,1周后继之以在B部分中每周维持给药,并且如果必要,那么继之以C部分(每周两次负荷给药持续第2-4周,继之以每周维持给药)。第一群组中的0.1mg/kg的初始剂量由相对于100mg/kg每周两次维持剂量是766倍至803倍的安全界限支持,所述维持剂量是关键性GLP毒理学研究中的HNSTD。基于这些研究,以及假定安全界限线性缩放(其可能不适用),我们预期Hu5F9-G4将在直至10mg/kg以及也许更高的剂量下在临幊上得以耐受。因此,选择0.1、0.3、1、3、10和20mg/kg的剂量逐步升高模式。

[0140] 对于A部分,对于各群组中的第一患者,将在招募群组的第二患者之前在第29天完成DLT评估。具有3名患者的群组中的第二患者将不能够开始治疗,直至在第一患者已开始DLT评估时期之后2周(从开始疗法算起的14天)。第三患者可在第一患者已开始DLT评估时期之后4周(从开始疗法算起的28天)开始。对于B部分和C部分,对于各群组中的第一患者,将在招募群组的第二患者之前在第29天完成DLT评估。各群组的后续患者可在先前患者开始疗法之后2周开始治疗。此外,群组中的第三患者在前进至下一群组中或扩充至具有6名患者的群组中之前将需要观察28天。如果群组从3名患者扩充至6名患者,那么那些患者可在第三患者已启动疗法之后28天进行治疗,而不在那个群组中的第四患者与第六患者之间具有额外观察时期。剂量水平分配将由CTMC决定。

[0141] 这是具有3个部分的单中心开放标签试验。以下适用于研究的所有部分:剂量逐步升高将通过所指定剂量水平来进行,并且关于剂量逐步升高的决定将基于当前群组中的前

4周治疗(被称为“剂量限制性毒性(DLT)评估时期”)以及对先前群组的继续采用疗法超过4周的患者的持续评估。关于额外群组的用以进一步细化MTD或RP2DS的决定将由CTMC作出，并且将需要研究修正。

[0142] 剂量限制性毒性(DLT)的定义。DLT如下定义为在疗法的前4周内发生的可能、或许或明确药物相关不利事件(AE):3级或更高等级的AE,伴有以下列出的例外;如果指示输血,那么不论血红蛋白水平如何,由于IMP所致的贫血都被视为3级毒性。任何输血或3级或更高等级严重性的贫血或需要利用红细胞生成刺激剂将被视为DLT,并且将导致从研究方案移除。以下将不被视为DLT,并且从DLT定义排除:尚未接受用抗呕吐剂进行的最优治疗的患者的3级恶心以及在48小时内转变为<2级的3级恶心;尚未接受用止吐剂进行的最优治疗的患者的3级呕吐以及在48小时内转变为<2级的3级呕吐;尚未接受用抗癫痫剂进行的最优治疗的患者的3级腹泻以及在48小时内转变为<2级的3级腹泻;在研究时在2周内消除的3级疲劳;在不存在预处理下的3级输注反应。在7天内或在下一预定Hu5F9-G4剂量之前(无论哪个更早)转变为基线或1级的3级间接/非结合血液胆红素增加,以及间接/非结合胆红素增加不在时间上伴有来自肝来源的AST、ALT和/或碱性磷酸酶(对碱性磷酸酶的用以确定来源的分母由探究者裁量)的2级或更高等级增加。间接/非结合胆红素和直接/结合胆红素的严重性分级准则将使用CTCAE 4.03准则,因为它将适用于血液胆红素。如果直接/结合胆红素是2级或更低等级,并且间接/非结合胆红素升高已被确定不是DLT,那么总胆红素增加将不是DLT。

[0143] 最大耐受剂量(MTD)的定义。将选择用于B部分和C部分中的第1周第1天的最优引发剂量作为A部分中的最大剂量,在所述最大剂量下,在前4周治疗期间,6/6患者不需要血液产品输注并维持大于或等于8g/dL的血红蛋白(0-2级贫血),并且至多1/6患者具有除贫血以外的DLT。B部分和C部分的MTD定义为至多1/6患者经受DLT所处的最大剂量水平,并且低于接受至少一次维持剂量的Hu5F9-G4的那些患者中有2名或更多名患者经受DLT所处的剂量水平。B部分和C部分中的未接受至少一次维持剂量(对于B部分)或至少一次负荷剂量(对于C部分)的患者发生的AE将不被包括在用于选择维持(B部分)或负荷(C部分)剂量的MTD评估中。有可能在B部分或C部分中将不实现MTD,在所述情况下,将确定最大施用耐受剂量。最大计划每周维持剂量是20mg/kg。

[0144] 患者可评估性。暴露于IMP Hu5F9-G4的所有患者都将可评估安全性,并且对剂量逐步升高决定贡献数据。(1)拒绝参与以及未经受DLT,或(2)由于不与Hu5F9-G4相关AE相关的原因而从研究移除,或(3)具有需要在完成前4周疗法之前从研究移除的不与Hu5F9-G4相关的AE的患者可通过将另一患者添加至那个群组中来替代。

[0145] 药物施用。Hu5F9-G4将在静脉内施用。对于A部分:静脉内输注Hu5F9-G4的持续时间对于0.1至1mg/kg的剂量将是60分钟(\pm 10分钟),并且对于大于1mg/kg的剂量将是2小时(\pm 10分钟)。

[0146] 对于B部分和C部分:引发剂量是B部分和C部分中的受试者将接受,并且在完成A部分时被确定为1mg/kg的第一剂量。对于B部分和C部分中的受试者,输注引发剂量即1mg/kg的持续时间将是3小时。在完成引发剂量之后,将施用维持剂量。对于大于1mg/kg的剂量,输注维持剂量的持续时间将是2小时。具有2周或更久的剂量延迟或药物假期的患者将被重新引发,在所述情况下,在恢复指定维持剂量之前,将历经3小时施用1mg/kg的引发剂量。对于

经受先前Hu5F9-G4施用的输注反应的患者,可在第二剂量或后续剂量之前施用前驱用药。建议的前驱用药方案可包括在输注Hu5F9-G4之前30分钟施用500mg口服乙酰胺酚(acetaminophen)、8mg静脉内地塞米松(dexamethasone)和25mg静脉内苯海拉明(diphenhydramine)的组合。在输注反应的情况下,用于后续治疗的前驱用药方案由探究者裁量。

[0147] 鉴定引发剂量

[0148] 研究的这个部分的总体目标在于鉴定在剂量确定群组的所有6名患者中在前4周内导致可接受水平的贫血(小于3级)的引发剂量。因此,最优引发剂量水平将是最大剂量水平,在所述最大剂量水平下,所有6名患者在不存在输血下都维持8g/dL或更高的血红蛋白持续前4周,并且在至多1/6患者中产生除贫血以外的DLT。将评估如下连续剂量群组中的患者:以静脉内输注形式施用的0.1、0.3、1、3、10和20mg/kg。对于低于3mg/kg的剂量水平,A部分中的剂量逐步升高将遵循经修改加速滴定设计,并且对于3mg/kg以及以上的剂量水平,A部分中的剂量逐步升高将遵循标准3加3剂量逐步升高设计。对于加速滴定设计,每个群组将招募1名患者直至在前4周内观察到与Hu5F9-G4相关的2级或更高等级AE。这种事件将导致群组扩充至3名患者。然而,对于A部分中的任何患者,在前4周中有3级贫血的任何发生都将导致停止向那个群组中进一步招募患者,并且将导致扩充下一较低剂量群组。对于除贫血以外的AE,前3名患者中有1名具有DLT(与Hu5F9-G4相关的3级或更高等级AE)的患者将导致群组扩充至6名患者。2名具有DLT的患者指示最大耐受引发剂量已被超过,向那个群组中进行进一步招募将不被容许,并且如果它含有3名或更少患者,那么下一较低剂量群组将扩充至6名患者。A部分中招募的患者将在指定剂量水平下继续每周治疗直至不可接受的毒性或文件记载进行性疾病(如通过针对实体肿瘤的RECIST v 1.1或针对淋巴瘤的IWG准则所确定)或志愿患者从研究退出。除B部分和C部分的在第1天的引发剂量,继之以更高维持和/或负荷剂量之外,在这个研究中将不存在患者内剂量逐步升高。请注意A部分的在前4周中的任何3级贫血都将触发群组停止以及扩充下一较低剂量群组。此外,加速滴定设计仅适用于低于3mg/kg的剂量水平。3mg/kg或更高的剂量水平将用标准3加3设计进行。在完成A部分之后以及根据方案修正4.0,引发剂量被鉴定为1mg/kg。此外,在A部分中用1mg/kg持续每周治疗确定1mg/kg作为维持剂量也是安全的。

[0149] 对B部分和C部分期间的引发剂量的扩充安全性评估。B部分和C部分中的患者将在第1周第1天接受由A部分确定的1mg/kg的最优引发剂量,随后在第8天开始每周维持剂量。如果在患者接受引发剂量之后,但在患者接受维持剂量之前发生AE或SAE,那么这个AE或SAE将归因于引发剂量,并且促成对引发剂量的扩充安全性评估。归因于引发剂量的SAE和AE将继续由CTMC以定期召开或如果必要那么更频繁召开的会议方式密切监测(根据CTMC章程)。

[0150] B部分:鉴定在单次引发剂量之后每周维持给药的MTD。B部分中的所有患者都将在第1周第1天接受由A部分确定的最优引发剂量,随后在第8天开始每周维持剂量。施用的每周维持剂量根据指定B部分剂量群组来确定。对于B部分提出的原始剂量群组是0.3、1、3、10和20mg/kg。每周维持剂量群组将在是一个高于最优引发剂量的剂量水平的剂量下开始。A部分1mg/kg剂量水平被确定为最优引发剂量,并且在1mg/kg下进行每周维持给药被确定为是安全的;因此,在B部分中指定的第一维持剂量水平将是3mg/kg静脉内每周剂量水平,并

且维持剂量水平0.3和1mg/kg将被省略。B部分中的剂量逐步升高将遵循标准3加3剂量逐步升高设计。B部分的MTD是至多1/6患者经受DLT所处的最大剂量水平，并且低于接受至少一次维持剂量的Hu5F9-G4的那些患者中有2名或更多名患者经受DLT所处的剂量水平。B部分中的未接受至少一次维持剂量的Hu5F9-G4的患者发生的AE将不被包括在用于选择维持剂量的DLT评估中。为进一步细化MTD，可测试介于标称MTD与下一较高剂量水平之间的剂量水平。举例来说，如果2个或更多个受试者在3mg/kg剂量水平下经受归因于维持剂量的DLT，那么可测试介于1mg/kg与3mg/kg之间的剂量水平即2mg/kg以进一步细化MTD，从而如果至多1/6受试者在2mg/kg下经受在2mg/kg下的DLT，那么使得最终MTD确定值从1mg/kg增加至2mg/kg。类似地，如果标称MTD分别是3mg/kg或10mg/kg，那么可添加6.5mg/kg和15mg/kg的剂量水平。有可能在B部分中将不实现维持剂量的MTD，在所述情况下，将确定最大施用耐受剂量，因为最大每周剂量将是20mg/kg。B部分的维持剂量的DLT评估时期将从施用第一维持剂量的时间（第2周第8天）开始直至完成第三维持剂量之后1周（第4周第29天）。B部分中招募的患者将在指定剂量水平下继续每周治疗直至不可接受的毒性或文件记载进行性疾病（如通过针对实体肿瘤的RECIST v1.1或针对淋巴瘤的IWG准则所确定）或志愿患者从研究退出。除B部分和C部分的在第1天的引发剂量，继之以更高维持和/或负荷剂量之外，在这个研究中将不存在患者内剂量逐步升高。关于RP2DS的PK目标是在RP2DS下在5/6患者中实现和维持Hu5F9-G4抗体在血浆中高于100微克/毫升的谷底水平。当已确定用于每周施用的MTD或最大施用耐受剂量（在不存在MTD下）或最优生物学（基于PK）剂量时，可对研究进行修正以将额外群组添加至B部分中，其中每周给药继之以Q14和/或Q21天给药。更加延长的时程将仅在详细审阅可用安全性、PK和药效学数据之后启动。举例来说，这可在PK参数指示靶标介导的清除饱和以及Hu5F9-G4半衰期延长时启动。如果20mg/kg得以良好耐受，那么在Q14或Q21天间隔群组期间的给药可通过方案修正来增加至30mg/kg。

[0151] C部分：如果足够PK参数未在B部分中通过每周给药加以实现，那么鉴定在初始引发剂量之后以及在每周维持给药之前每周两次负荷给药的MTD。如果未在B部分中实现足够暴露于Hu5F9-G4，那么可启动C部分。足够暴露定义为截至第57天在推荐2期剂量下在5/6患者中实现高于100微克/毫升的谷底抗体水平。C部分中的所有患者都将在第1周第1天接受在A部分中确定的最优引发剂量，随后根据指定C部分剂量群组接受每周两次负荷剂量。归因于引发剂量的SAE和AE将继续由CTMC以定期召开或根据需要如果必要那么更频繁召开的会议方式密切监测（根据CTMC章程）。对于C部分提出的原始剂量群组是0.3、1、3、10和20mg/kg。每周两次负荷剂量群组将在是一个低于B部分MTD或最大施用耐受剂量的水平的剂量水平下开始。因此，如果20mg/kg是B部分中的MTD，那么C部分中的每周两次负荷剂量将是10mg/kg。每周两次负荷剂量（在各每周时期的第1和第4天施用）将在第2、3和4周期间施用。这将继之以在第5-8周中每周维持剂量。在C部分中的提出群组内，在完成以及分析Hu5F9-G4血清浓度之后，以及在3周负荷（第2-4周）结束时未在每周两次施用期间实现足够暴露的情况下，可对方案进行修正以包括每周两次负荷给药再持续超过第4周的2周时期的群组。C部分中用于负荷或维持的高于20mg/kg的剂量水平将需要方案修正。类似于B部分，当已确定MTD或最大施用耐受剂量（在不存在MTD下）或最优生物学剂量时，可将额外群组添加至C部分中，其中每周两次负荷给药，接着每周维持给药，继之以基于安全性、PK和药效学数据的Q14或Q21天给药。举例来说，更加延长的时程将在PK参数指示靶标介导的清除饱和以及

Hu5F9-G4半衰期延长时所处的时间点开始。如果20mg/kg得以良好耐受,那么用于Q14天或Q21天群组的剂量可通过方案修正来增加至30mg/kg。对于所有剂量水平,C部分中的剂量逐步升高都将遵循标准3加3设计。对于C部分的接受至少一次负荷剂量的那些患者,用以获得MTD的DLT评估将适用。C部分中的未接受至少一次负荷剂量的Hu5F9-G4的患者发生的DLT将不被包括在用于鉴定负荷剂量的MTD的DLT评估中。如果无患者经受DLT,那么剂量逐步升高可继续进行至下一较高剂量水平。如果1/3患者经受DLT,那么相同剂量水平群组将扩充至6名患者。如果2/6或更多患者经受DLT,那么将不容许在那个剂量水平下进一步招募,并且MTD将已被超过。C部分的MTD是至多1/6患者经受DLT所处的最大剂量水平,并且低于2/6或更多患者经受DLT所处的剂量水平。C部分的负荷剂量的DLT评估时期将从施用第一负荷剂量的时间(第2周第8天)开始直至第4周第29天。C部分中招募的患者将在指定剂量水平下继续治疗直至不可接受的毒性或文件记载进行性疾病(如通过针对实体肿瘤的RECIST v 1.1或通过针对淋巴瘤的IWG准则所确定)或志愿者从研究退出。

[0152] 患者内剂量逐步升高。除B部分和C部分的在第1天的引发剂量,继之以更高维持和/或负荷剂量之外,在这个研究中将不存在患者内剂量逐步升高。

[0153] 探究剂

[0154] 活性药物成分(API)是Hu5F9-G4,即一种IgG4κ同种型人源化单克隆抗体,在重链的铰链区中含有Ser-Pro(S-P)取代以降低Fab臂交换。它包含二硫键连接的糖基化四聚体,由两个相同含444个氨基酸的重γ链和两个相同含219个氨基酸的κ轻链组成。Hu5F9-G4靶向CD47。Hu5F9-G4药物产品以意图用于静脉内输注的液体剂型提供。Hu5F9-G4以单次使用10mL小瓶形式提供,所述小瓶含有于10mM乙酸钠、5% (w/v) 山梨糖醇、0.01% (w/v) 聚山梨醇酯20的制剂(pH 5.0)中的200mg抗体。

[0155] Hu5F9-G4药物物质已在Lonza Group, Ltd (Slough, UK) 制造,并且药物产品已由Patheon UK Limited (Swindon, UK) 制造。在整篇本文件中被称为IMP的药物产品将由这个试验的发起者斯坦福大学(Stanford University)通过与Fisher BioServices的储存和分发合同来提供。

[0156] 施用Hu5F9-G4的细节

[0157] 剂量计算。使用患者在招募时的实际体重(使用在筛选时或第1天获得的重量)计算个别剂量,并且剂量可在整个研究中保持恒定,除非观察到重量变化大于10%。下式应被用于计算来自含有20mg/mL(每个小瓶总计200mg Hu5F9-G4)的小瓶的Hu5F9-G4的为各次施用所需的体积:体重(kg) × 所需剂量(mg/kg) = 20mg/mL Hu5F9-G4的体积(mL)。

[0158] 对于A部分:对于需要1mg/kg或更小的剂量的剂量逐步升高患者,Hu5F9-G4将以连续静脉内输注形式以250mL历经60分钟(±10分钟)加以施用。剂量大于1mg/kg的所有其他输注都将以500mL历经2小时(±10分钟)加以施用。

[0159] 对于B部分和C部分:引发剂量是B部分和C部分中的患者将接受,并且在完成A部分时被确定为1mg/kg的第一剂量。归因于引发剂量的SAE和AE将继续由CTMC以定期召开或根据需要更频繁召开的会议方式密切监测(根据CTMC章程)。对于B部分和C部分中的受试者,输注引发剂量即1mg/kg的持续时间将是3小时。在B部分中,维持剂量将在第8天(即在完成引发剂量之后1周)开始施用。对于大于1mg/kg的剂量,输注维持剂量的持续时间将是2小时。在C部分中,负荷剂量将在第8天(即在完成引发剂量之后1周)开始施用,并且维持剂量

将在第29天开始施用。对于大于1mg/kg的剂量,输注负荷剂量和维持剂量的持续时间将是2小时。

[0160] B部分和C部分中的具有2周或更久的剂量延迟或药物假期的患者将被重新引发,在所述情况下,在恢复指定维持剂量之前,将历经3小时施用1mg/kg的引发剂量;对于A部分中的患者,重新引发输注持续时间根据方案将是1小时。Hu5F9-G4不应以团式注射形式施用。

[0161] 对于如下治疗相关毒性,将允许对给药时程进行调整:无治疗延迟可为前4周治疗所接受。此后,可使治疗延迟多达3周以允许有足够时间达成从非DLT治疗相关毒性恢复。显现2级贫血的患者可具有在第5周开始的多达3周的治疗延迟,以允许使贫血恢复至1级。然而,任何DLT都将需要将患者从研究移除。超过3周的治疗延迟(诸如对于具有预期恢复期的无关医学状况)必须由CTMC核准。另外,在第57天之后,由探究者裁量以及在书面发起者核准下,将允许有多达2周的药物假期。“药物假期”定义为脱离方案指定的治疗、评估和程序的假期。在A部分和B部分中,在Hu5F9-G4输注之间必须有最少6天,并且在通过每周两次输注递送的Hu5F9-G4输注之间必须有最少3天。B部分和C部分中的具有2周或更久的治疗延迟或假期的患者必须通过以下方式来被“重新引发”:在恢复指定维持治疗剂量之前,再次历经3小时静脉内接受1mg/kg的引发剂量;对于A部分中的患者,重新引发输注持续时间根据方案将是1小时。

[0162] 受体占据测定

[0163] 受体占据样品将根据评估时程进行抽取。将通过流式细胞计量术来分析血细胞的白血细胞和红血细胞级分中的CD47受体占据。将使在首先Hu5F9-G4抗体孵育之前收集的来自各患者的基线(第1天)样品与递增浓度的Hu5F9-G4抗体一起孵育以建立CD47分子/受体占据的标准曲线。此外,在红血细胞上的磷脂酰丝氨酸表达可通过在基线(第1天)时以及在第8天的膜联蛋白V表达来评估,此可作为受体占据测定的另一方面在不进行额外抽血下完成。

[0164] 将通过流式细胞计量术或从恶性渗出物或组织活检体获得的样品上的免疫荧光(当可用时)来测定原发性癌细胞上的CD47受体占据。

[0165] 当可用时,将在治疗之前和之后收集的肿瘤活检体的情况下测定肿瘤中的免疫细胞区室组成变化。

[0166] 体细胞癌突变与对Hu5F9-G4的响应的关联。举例来说,可分析结肠直肠肿瘤、肺肿瘤和头颈部肿瘤的KRAS、BRAF、NRAS和/或PIK3CA突变。

[0167] 利用体外测定和异种移植小鼠研究获得个别研究患者对Hu5F9-G4治疗的响应。

[0168] 评估对Hu5F9-G4的潜在抗性以及探索替代性CD47阻断策略以克服抗性(例如高亲和力SIRP- α Fc融合蛋白)。

[0169] 外周血液涂片评估:除标准细胞形态评估之外,也将评估外周涂片的血凝集存在性。如果可能,那么这些实验物应在药物输注对侧的手臂中抽取。对于A部分和B部分中的前2周治疗,将在第1和8天在给药前以及在各次IMP输注结束之后4小时(\pm 30分钟),在第2和9天在IMP输注后24小时(\pm 4小时),在第4和11天在72小时时间点(\pm 24小时)进行外周涂片。在A部分中,在第2周之后,将在第15天在给药前以及此后由探究者裁量进行外周涂片。在B部分中,在第2周之后,也将在第15和22天在给药前进行外周涂片,但对于第15天,也将在输

注结束之后4小时(±30分钟)进行外周涂片。对于第29天以及之后,将由探究者裁量以及在研究诊视结束时进行外周涂片。在C部分中,将在第1和8天在给药前以及在IMP输注结束之后4小时(±30分钟),在第2和9天在IMP输注后24小时(±4小时),在第4天在72小时时间点(±24小时)进行外周涂片,并且也将在第11、15、18、22、25和29天在给药前以及在IMP输注结束之后4小时(±30分钟)进行外周涂片。对于第30天以及之后,将由探究者裁量以及在研究诊视结束时进行外周涂片。对于经受输血的患者,将在输血之前以及在完成输血之后4小时(±30分钟)再次进行外周涂片。

[0170] 药代动力学分析

[0171] 如果数据可用于分析,那么安全性分析集将包括在用于考查PK、CD47受体占据、免疫原性和探索性生物标志物的群体中。此外,PK群体需要足够可测量浓度数据来估计PK参数,而PK浓度群体将包括具有Hu5F9-G4的任何可测量浓度的所有患者。在分析之前将以逐个患者为基础关于纳入在PK群体中来评估违背方案的患者的纳入。浓度相对于时间数据将以描述方式概述,包括N、平均值、SD、几何平均值、中值、最小值、最大值和CV%。个别Hu5F9-G4浓度和平均Hu5F9-G4浓度相对于时间曲线将以图解方式呈现。待使用非隔室方法计算的药代动力学参数包括以下: C_{max} 、 T_{max} 、 $t1/2$ 、从时间零点至末个可测量浓度的血清浓度时间曲线下面积(AUC_{0-t})、从时间零点至无穷的AUC($AUC_{0-\infty}$)、清除率(CL)和分布体积(V_{ss} 、 V_z)。将概述个别患者以及根据剂量群组的所有PK参数,包括向Hu-5F9-G4的暴露(C_{max} 、AUC)。可进行探索性分析以评估一个或多个PK参数与所选安全性和功效量度(例如血红蛋白、网织红细胞增多、通过流式细胞计量术测得的受体饱和、或免疫原性)之间的关系。

[0172] 免疫原性评估

[0173] 将评估个别患者、各A、B、C部分/剂量水平以及汇合患者群体的抗Hu5F9-G4抗体阳性的比率和量值。可进行探索性评估以确定免疫原性测定阳性与一个或多个安全性、PK或功效参数(例如药物清除率、AE、肿瘤响应)之间的关系。

[0174] 抗肿瘤活性

[0175] 将进行肿瘤评估集的可评估部分的肿瘤响应分析。将应用RECIST v 1.1或IWG准则,并且评估将由探究者决定。将计算在各时间点具有CR、PR、SD、持续6个月的稳定疾病(SD6)和PD的患者的比例。对于各A、B、C部分/剂量水平,客观响应将被计算为具有95%置信区间的CR+PR,并且将表列各测量时间点的总体情况。定义为实现临床益处的患者的比例将被计算为具有95%置信区间的CR+PR+SD6。也将评估最佳总体响应。将从首次鉴定初始响应的时间开始直至显现PD来计算响应持续时间。相对于最小肿瘤测量结果评估进展。关于分析抗肿瘤活性的细节将在SAP中指定。

[0176] 总之,基于来自毒理学研究的结果,非临床安全性评估程序支持用于临床试验的Hu5F9-G4(例如呈静脉内输注形式)施用。

[0177] 实施例4

[0178] 在临床前试验中,已显示大于100 μ g/mg的血清水平具有治疗有效性。图9中提供的数据说明在人患者中提供这个药物水平的剂量。

[0179] 图9中显示,各图代表用1mg/kg引发剂量的5F9和指示维持剂量治疗的患有实体肿瘤的人患者的给药群组。各线显示3名患者的血清样品中以 μ g/ml计的游离药物(Hu5F9-G4)浓度的平均值,以及误差线。下表中的值显示各群组在第2周的平均 C_{max} ,并且AUC终末显示

这些值已维持多久(小时)。

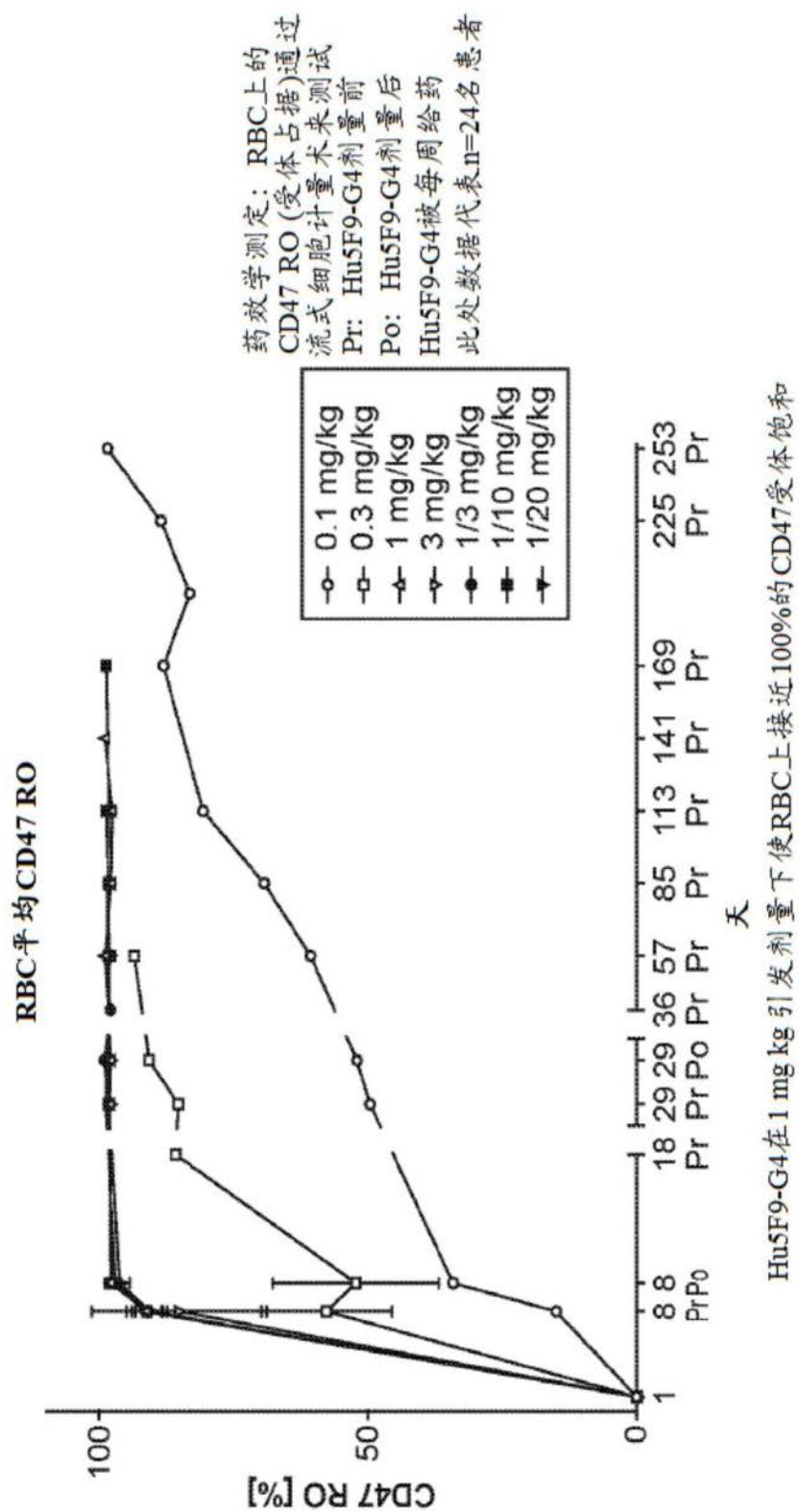
[0180] 图的X轴描绘相对于给药的样品时间,其中0指示在输注之前的样品,并且其余是根据输注后小时的时间点。

[0181] 标记为第2周的线描绘在3、10或20mg/ml的第一维持剂量之后的浓度曲线(第1周是引发剂量)。第5周的数据代表在第4维持剂量之后的值。各曲线的最高点确定C_{max},并且斜率曲线确定血清中药物的清除或维持。

[0182] 来自3mg/kg的第一维持剂量的数据显示从血清快速清除。甚至在第5周治疗之后,这个剂量也被相当快速清除。也可注意到3mg/kg的剂量不实现大于100μg/ml的目标血清水平,即使当达到C_{max}时也是如此。

[0183] 在10mg/kg的剂量下,实现处于/高于100μg/ml的C_{max},但水平不持续,而是它不完全持续高于100μg/ml,其中在第2周剂量之后观察到清除。10mg/kg剂量确实在第5周提供更持续水平,此可归因于用重复给药时程达成的CD47集合的饱和。

[0184] 在20mg/kg的维持剂量下,高于100μg/ml的目标水平的持续血清水平可用第一维持剂量(第2周)实现。如图9中所示,曲线是平坦的-几乎水平的。



Hu5F9-G4在1 mg/kg引发剂量下使RBC上接近100%的CD47受体饱和

图1

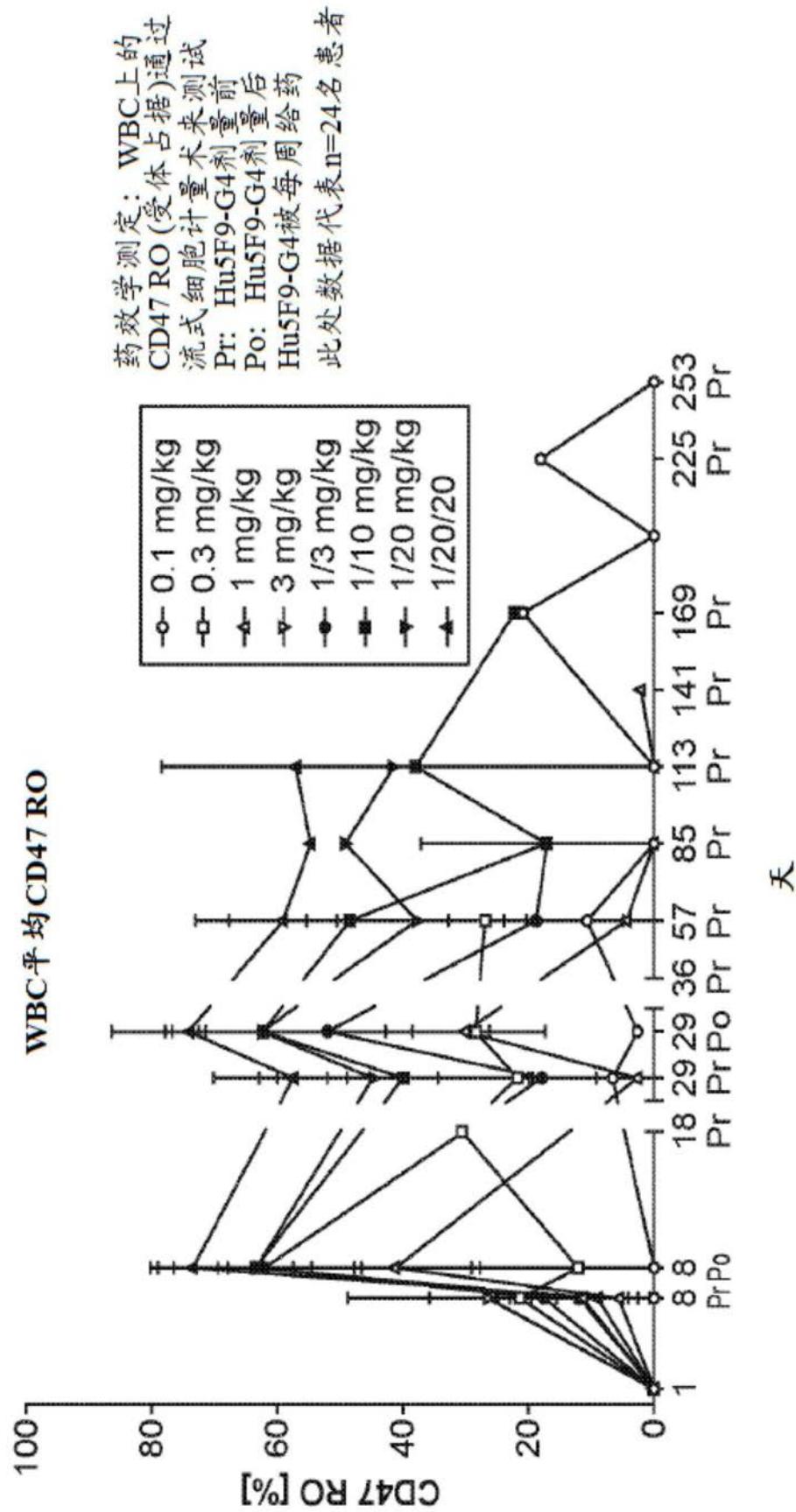


图2

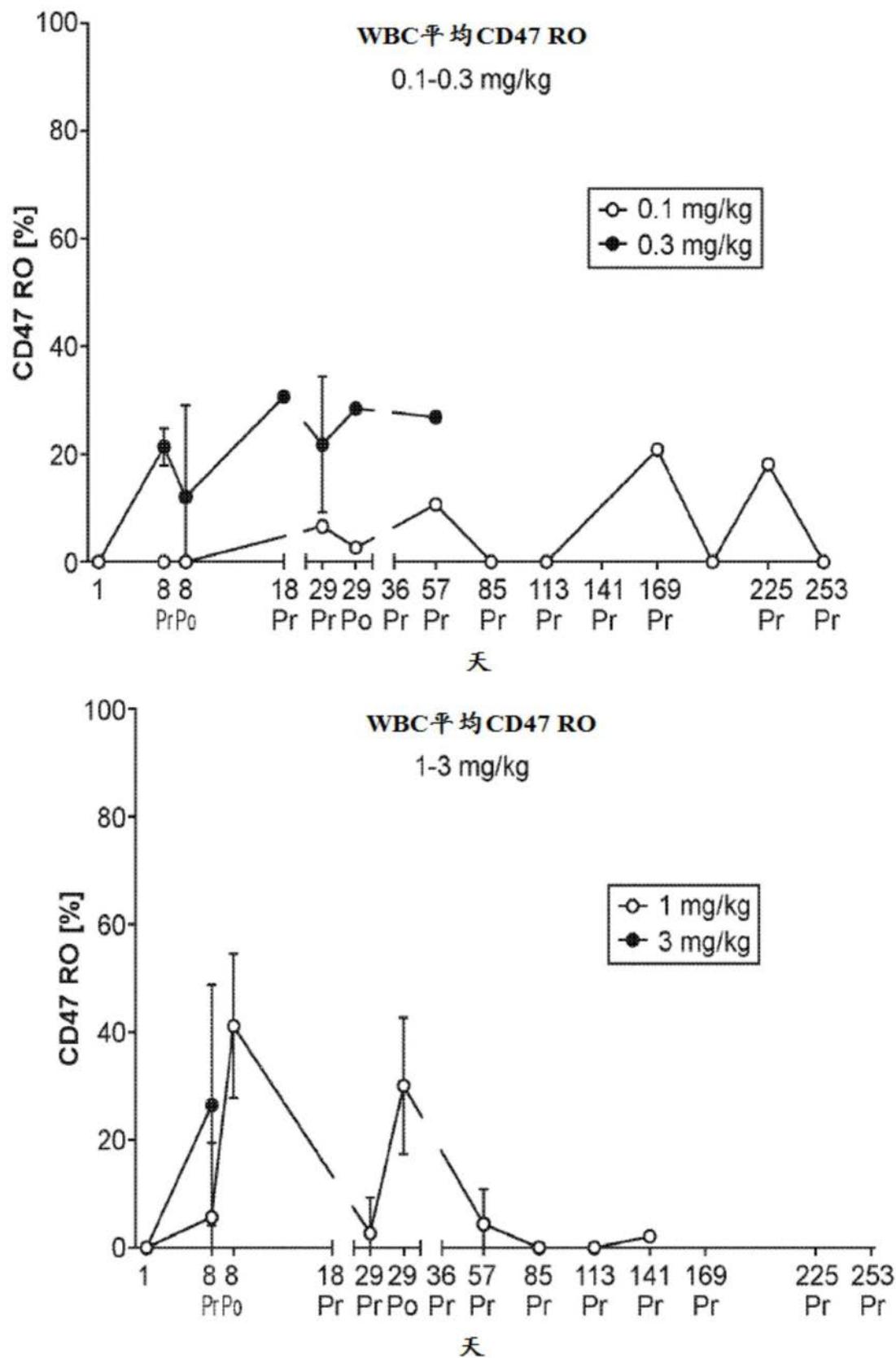


图3

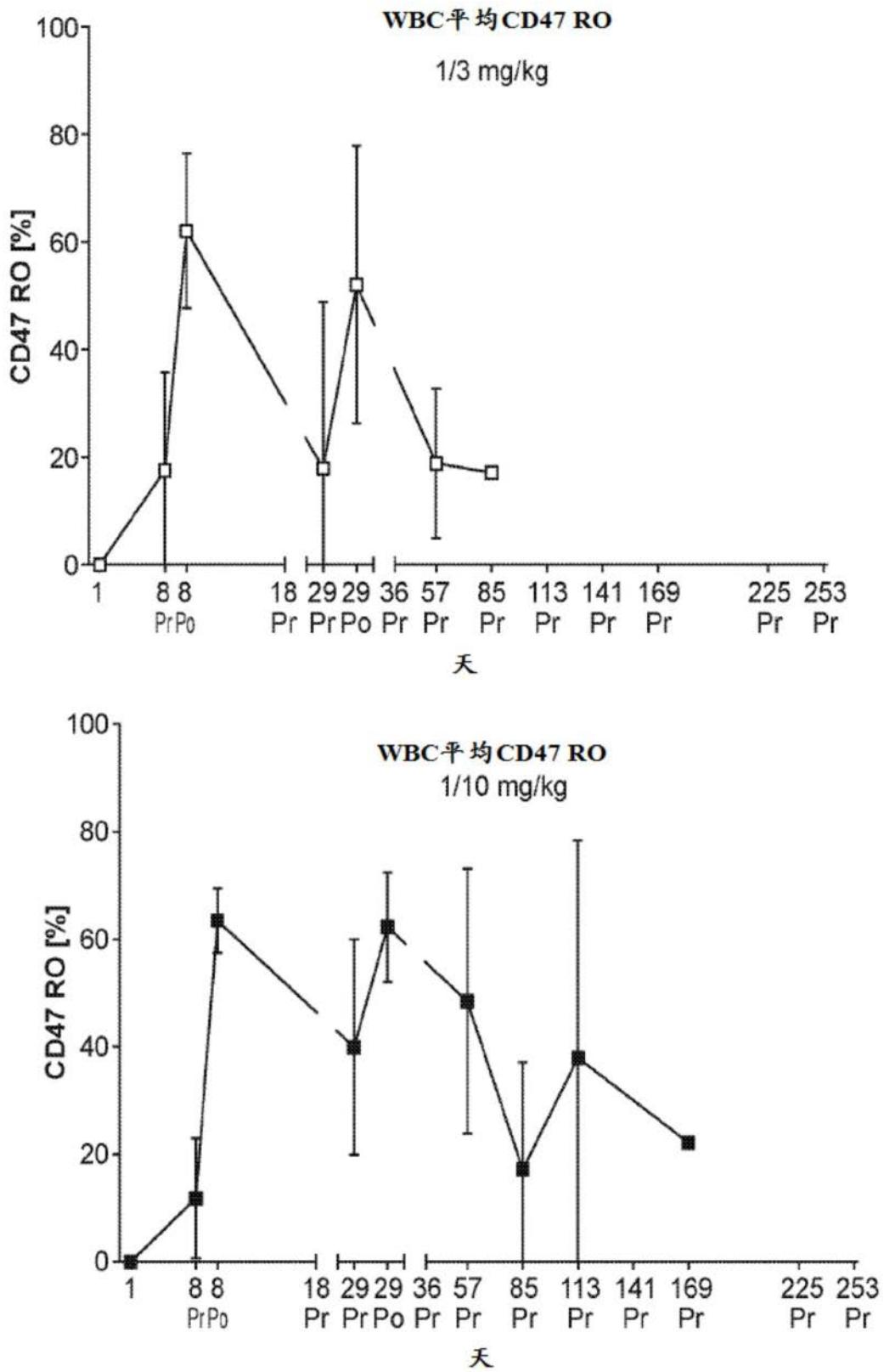


图3(续1)

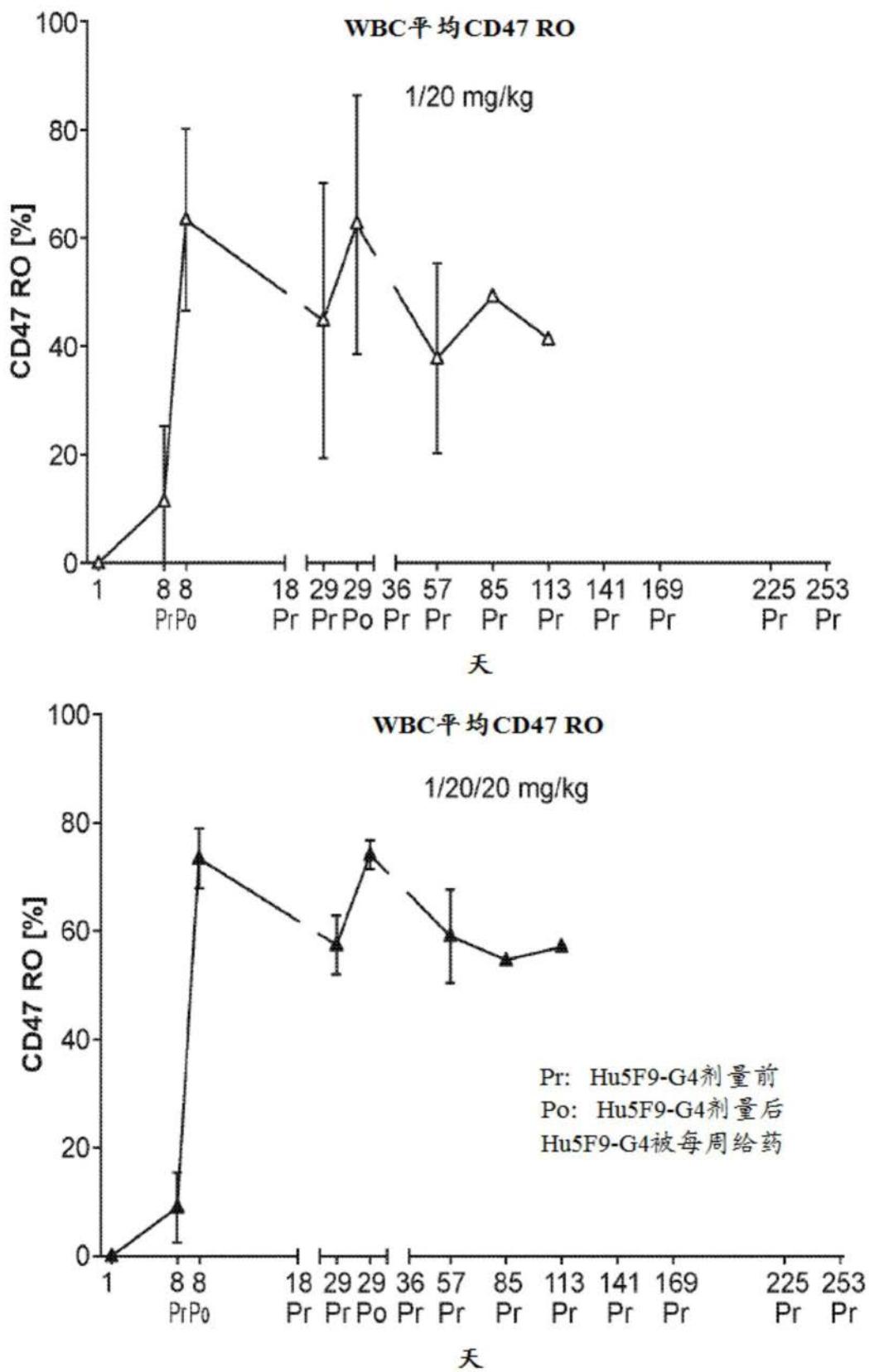
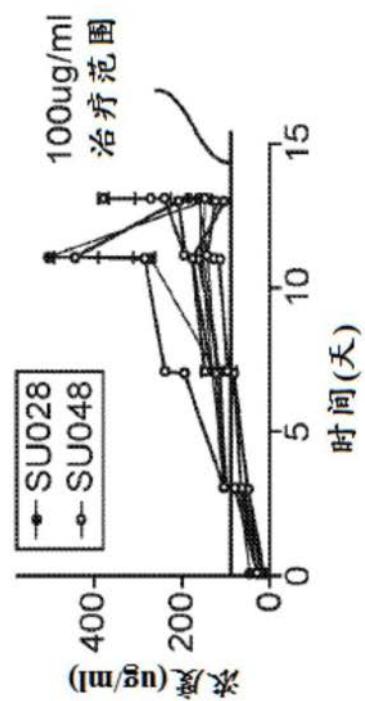


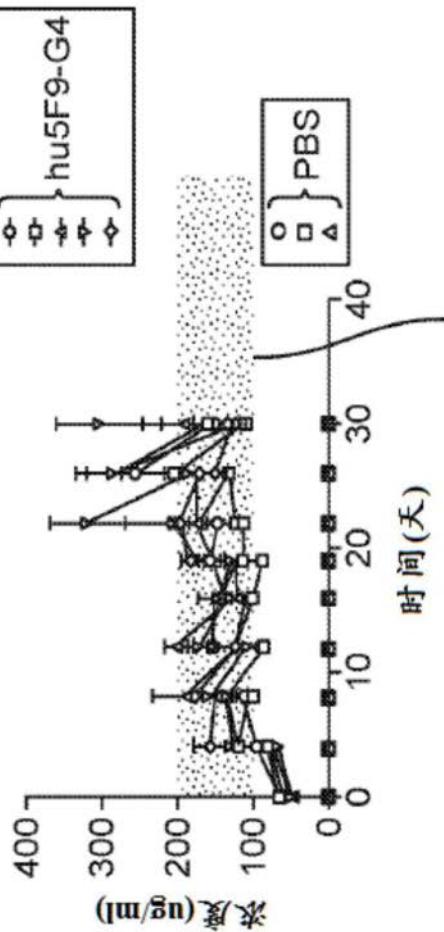
图3 (续2)

PK: 实现功效需要什么目标水平?

AML异种移植模型



乳腺癌异种移植模型

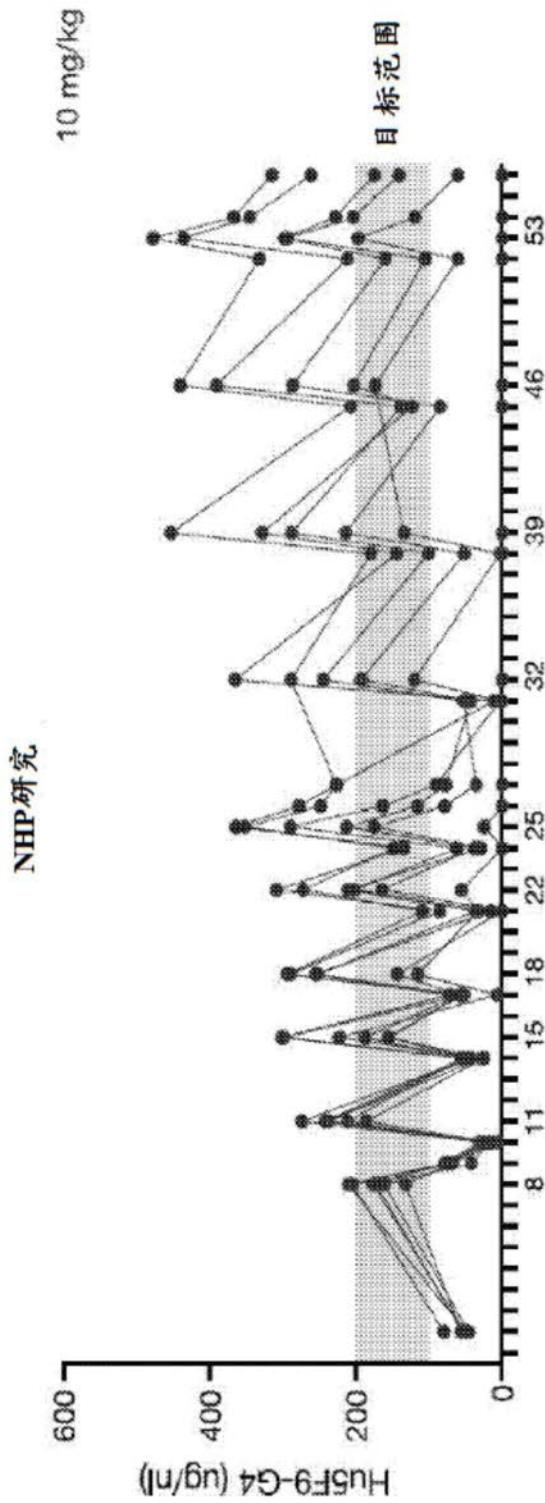


- 内源性CD47 sync的饱和为实现功效所必需
- 100-200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 谷底水平与临床前功效相关联，并且是临床试验的目标谷底水平

在实体肿瘤异种植植物的情况下治疗范围

图4

非人灵长类动物PK: 在 10 mg/kg 群组中达到目标谷底水平



- 在 10 mg/kg 群组中实现 $100 \mu\text{g/mL}$ 的目标谷底水平
- $T_{1/2}$ 随重复给药而增加(对于受试者122是66-111小时)
- NHP PK概况可预测临床PK

图5

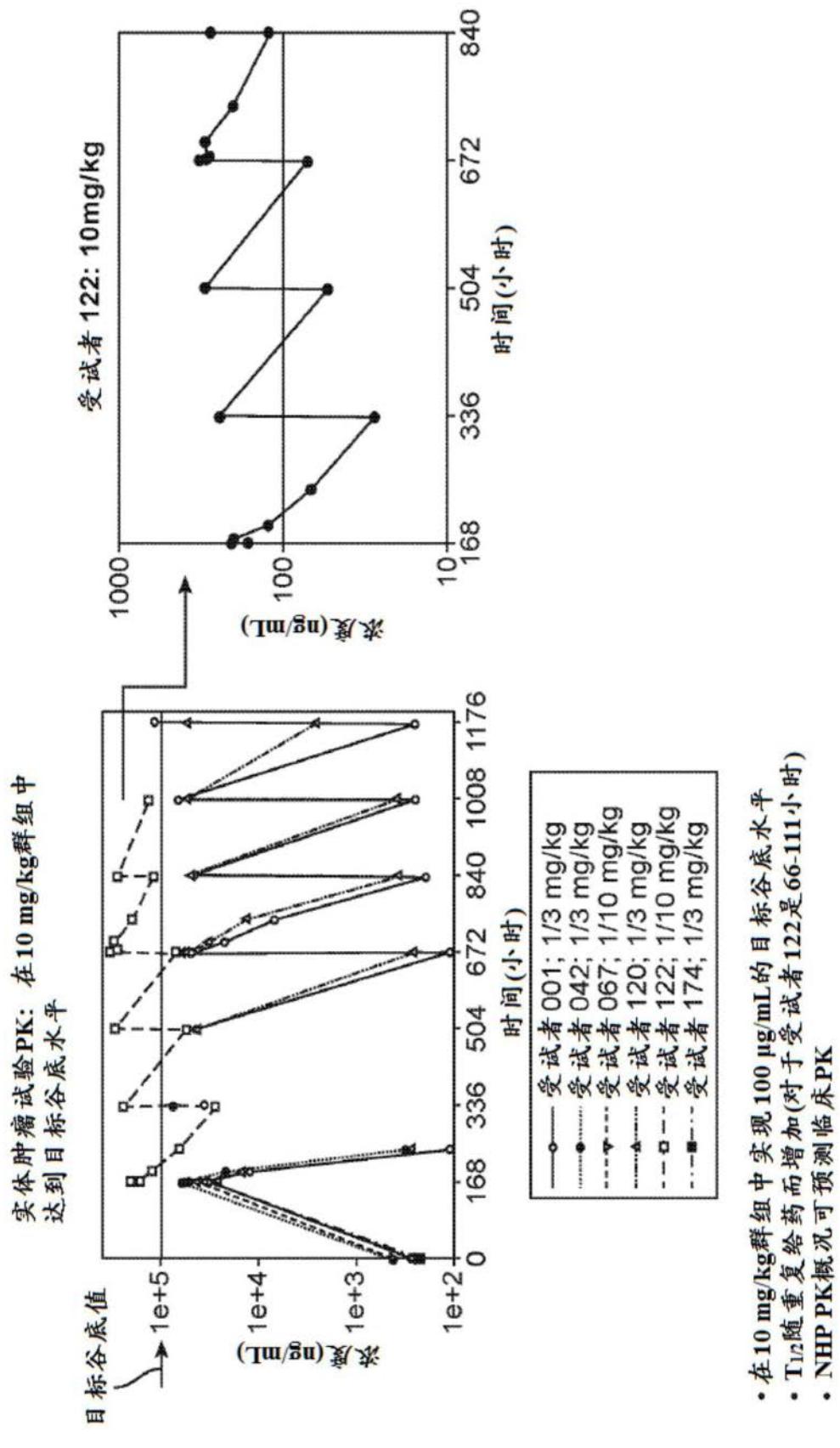


图6

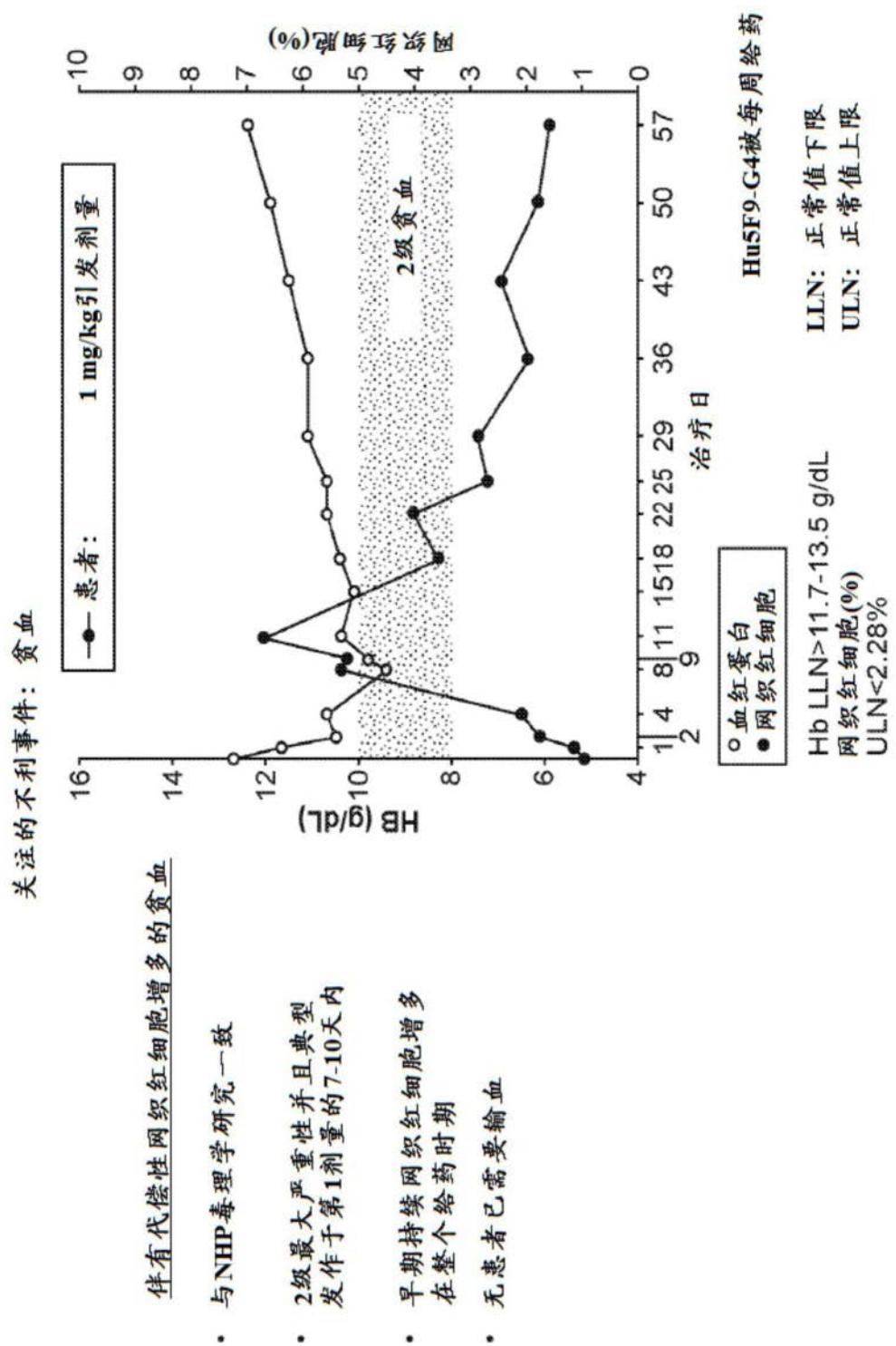


图 7

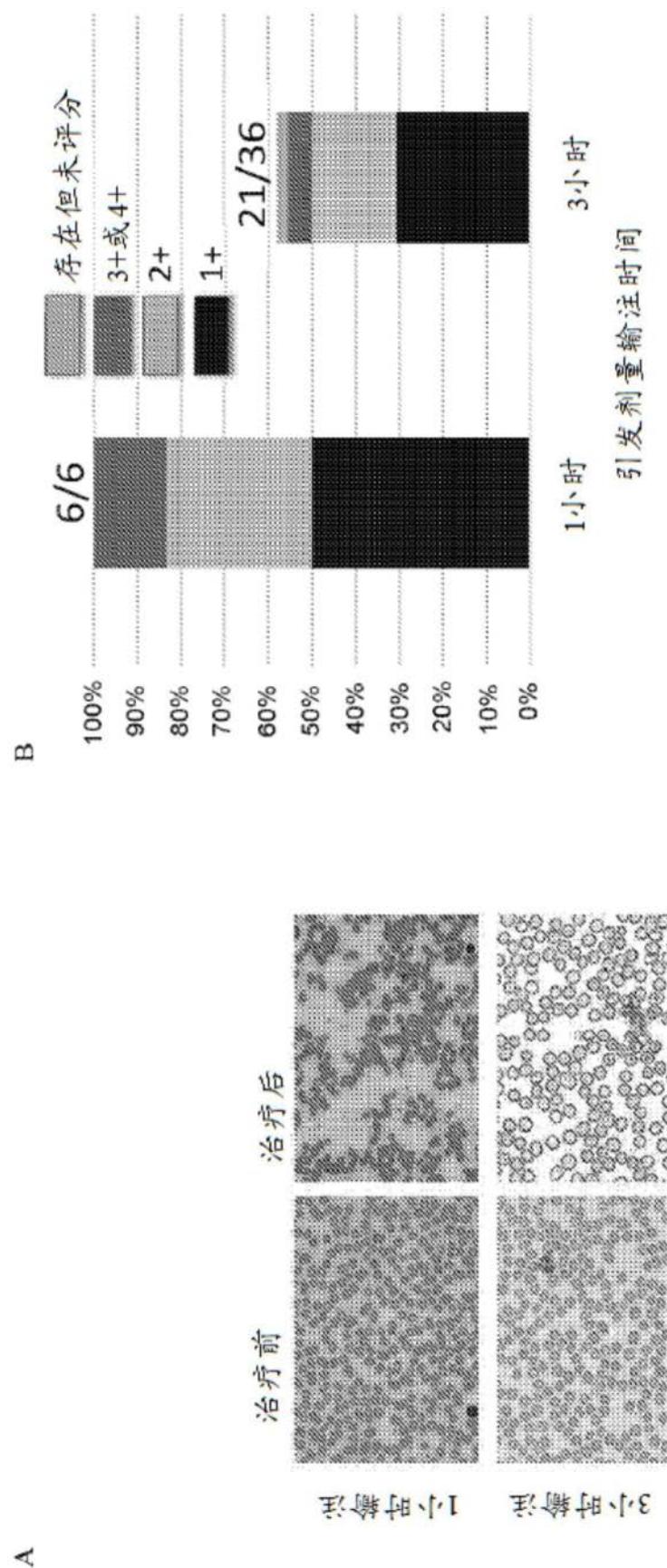


图8

超过2周给药的患者

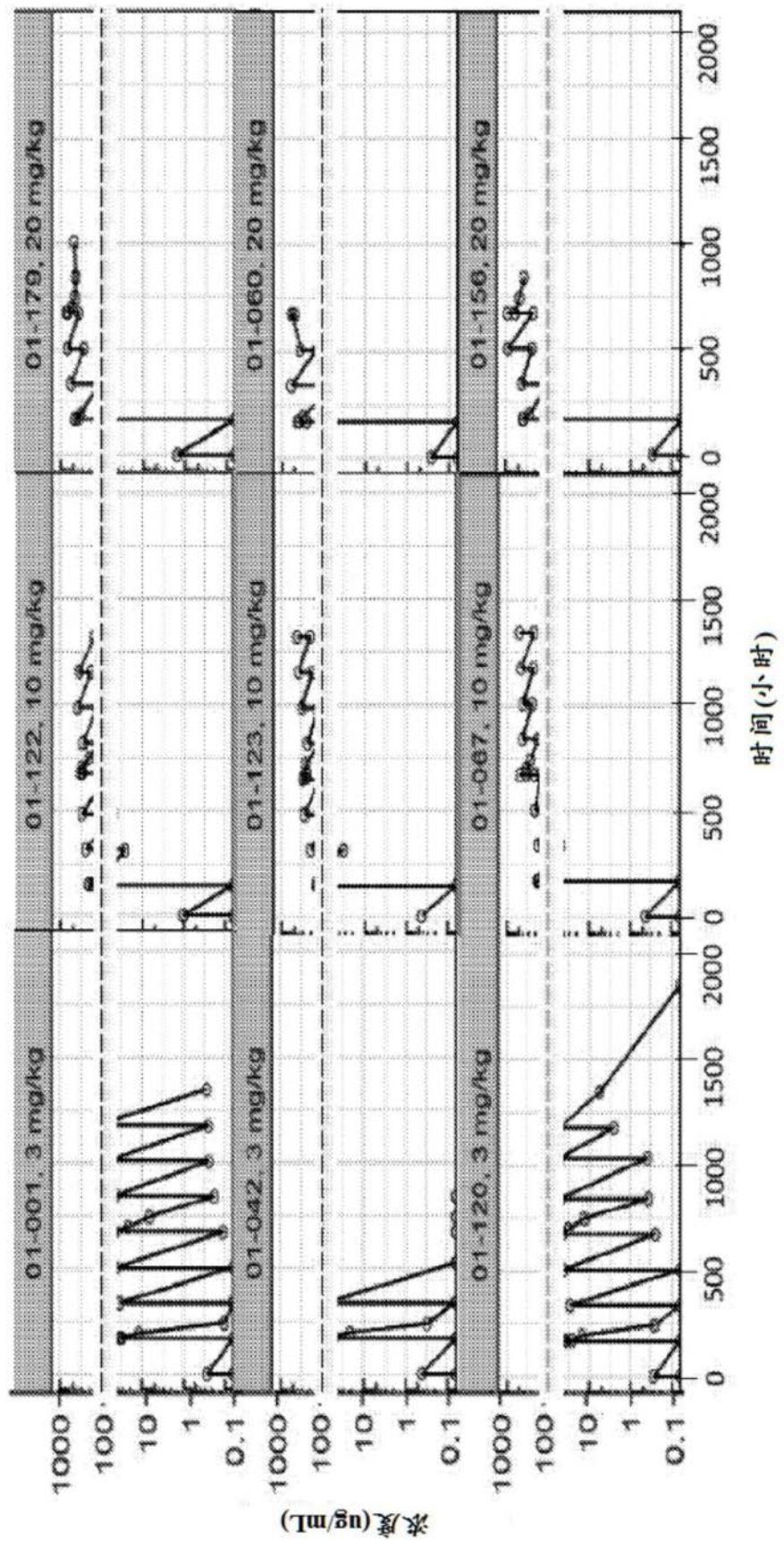


图9