



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115667311 A

(43) 申请公布日 2023. 01. 31

(21) 申请号 202180039219.0

(22) 申请日 2021.04.27

(30) 优先权数据

63/016,247 2020.04.27 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.11.30

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/029315 2021.04.27

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2021/222188 EN 2021.11.04

(71) 申请人 思进公司

地址 美国华盛顿州

申请人 MSD国际有限公司

(72) 发明人 迈克尔·施密特 希拉·加尔道伊

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限
责任公司 11219

专利代理师 杨青 郭翠霞

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/00 (2006.01)

权利要求书11页 说明书36页
序列表8页 附图7页

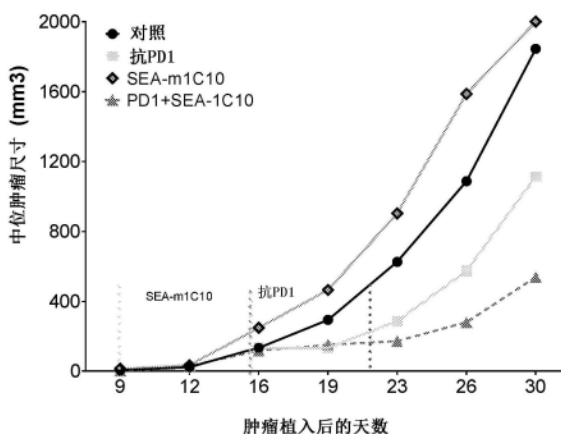
(54) 发明名称

抗CD40抗体组合治疗癌症

(57) 摘要

本公开涉及使用抗CD40抗体如SEA-CD40和抗PD-1抗体如派姆单抗的组合治疗癌症的方法。所述治疗还可以包括化学疗法。

CT26模型交错给药



1. 一种治疗胰腺癌的方法,所述方法包括向患有所述胰腺癌的患者:

- (i) 在每个28天周期的第1天、第8天和第15天施用化学疗法,
- (ii) 在每个28天周期的第3天施用包含抗CD40抗体的组合物,以及
- (iii) 在每个42天周期的第8天施用抗PD-1抗体;

其中所述抗CD40抗体:1) 包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸1-113的重链可变区和含有SEQ ID NO:2的氨基酸1-113的轻链可变区,以及人类恒定区;其中所述人类恒定区在根据EU索引的残基N297处具有N-糖苷连接糖链;并且其中所述组合物中少于20%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基;和/或2) 是SEA-CD40变体;并且

其中所述抗PD-1抗体包含含有SEQ ID NO:3-5的CDR的轻链和含有SEQ ID NO 8-10的CDR的重链。

2. 如权利要求1所述的方法,其中所述组合物中少于10%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

3. 如权利要求1或2所述的方法,其中所述组合物中少于5%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的方法,其中所述组合物中少于3%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的方法,其中所述组合物中少于2%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

6. 如权利要求1-5中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:1的重链和含有氨基酸序列SEQ ID NO:2的轻链。

7. 如权利要求1-6中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体是SEA-CD40。

8. 如权利要求1-5中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体是SEA-CD40变体。

9. 如权利要求1-8中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体的轻链具有包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的轻链可变区,并且其中所述抗PD-1抗体的重链具有包含氨基酸序列SEQ ID NO:11的重链可变区。

10. 如权利要求1-9中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体的轻链包含氨基酸序列SEQ ID NO:7,并且其中所述抗PD-1抗体的重链包含氨基酸序列SEQ ID NO:12。

11. 如权利要求1-10中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体是派姆单抗。

12. 如权利要求1-9中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体是派姆单抗变体。

13. 如权利要求1-12中任一项所述的方法,其中所述化学疗法包含吉西他滨和/或紫杉醇。

14. 如权利要求13所述的方法,其中紫杉醇是nab-紫杉醇。

15. 如权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体以10 μ g/kg施用。

16. 如权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体以30 μ g/kg施用。

17. 如权利要求1-16中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体以400mg施用。

18. 如权利要求1-17中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体是静脉内施用的。

19. 如权利要求1-18中任一项所述的方法,其中所述胰腺癌是胰腺导管腺癌(PDAC)。

20. 如权利要求1-19中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体是静脉内施用的。

21. 如权利要求1-19中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体是皮下施用的。

22. 一种治疗癌症的方法,所述方法包括:

- (i) 以每4周的周期向患有所述癌症的患者施用化学疗法,
- (ii) 以每4周的周期向所述患者施用包含抗CD40抗体的组合物,以及
- (iii) 以每3周或6周的周期向所述患者施用抗PD-1抗体,

其中所述化学疗法在每个4周周期的第1天、第8天、第15天施用,所述抗CD40抗体在每个4周周期的第3天施用,并且所述抗PD-1抗体在每个3周周期或6周周期的第8天施用;

其中所述抗CD40抗体:1) 包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸1-113的重链可变区和含有SEQ ID NO:2的氨基酸1-113的轻链可变区,以及人类恒定区;其中所述人类恒定区在根据EU索引的残基N297处具有N-糖苷连接糖链;并且其中所述组合物中少于20%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基;和/或2) 是SEA-CD40变体;并且

其中所述抗PD-1抗体包含含有SEQ ID NO:3-5的CDR的轻链和含有SEQ ID NO 8-10的CDR的重链。

23. 如权利要求22所述的方法,其中所述组合物中少于10%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

24. 如权利要求22或23所述的方法,其中所述组合物中少于5%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

25. 如权利要求22-24中任一项所述的方法,其中所述组合物中少于3%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

26. 如权利要求22-25中任一项所述的方法,其中所述组合物中少于2%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

27. 如权利要求22-26中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:1的重链和含有氨基酸序列SEQ ID NO:2的轻链。

28. 如权利要求22-27中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体是SEA-CD40。

29. 如权利要求22-26中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体是SEA-CD40变体。

30. 如权利要求22-29中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体的轻链具有包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的轻链可变区,并且其中所述抗PD-1抗体的重链具有包含氨基酸序列SEQ ID NO:11的重链可变区。

31. 如权利要求22-30中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体的轻链包含氨基酸序列SEQ ID NO:7,并且其中所述抗PD-1抗体的重链包含氨基酸序列SEQ ID NO:12。

32. 如权利要求22-31中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体是派姆单抗。

33. 如权利要求22-30中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体是派姆单抗变体。

34. 如权利要求22-33中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体以每3周的周期施用,并且所述抗PD-1抗体在每个3周周期的第8天以200mg的剂量施用。

35. 如权利要求22-33中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体以每6周的周期施用,并且所述抗PD-1抗体在每个6周周期的第8天以400mg的剂量施用。

36. 如权利要求22-35中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体是静脉内施用的。

37. 一种治疗癌症的方法,所述方法包括:

(i) 以每周、每2周、每3周、每4周、每5周、每6周、每7周或每8周的周期向患有所述癌症的患者施用抗CD40抗体,其中所述周期包含所述抗CD40抗体的第一施用周期,

(ii) 以每3周或每6周的周期向所述患者施用抗PD-1抗体,其中所述周期包含所述抗PD-1抗体的第一施用周期,

其中所述抗CD40抗体的所述第一施用周期中的所述抗CD40抗体的第一次施用是在所述抗PD-1抗体的所述第一施用周期中的所述抗PD-1抗体的第一次施用之前1天、2天、3天、4天、5天、6天或7天;

其中所述抗CD40抗体:1) 包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸1-113的重链可变区和含有SEQ ID NO:2的氨基酸1-113的轻链可变区,以及人类恒定区;其中所述人类恒定区在根据EU索引的残基N297处具有N-糖苷连接糖链;并且其中所述组合物中少于20%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基;和/或2) 是SEA-CD40变体;并且

其中所述抗PD-1抗体包含含有SEQ ID NO:3-5的CDR的轻链和含有SEQ ID NO 8-10的CDR的重链。

38. 如权利要求37所述的方法,其中所述组合物中少于10%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

39. 如权利要求37或38所述的方法,其中所述组合物中少于5%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

40. 如权利要求37-39中任一项所述的方法,其中所述组合物中少于3%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

41. 如权利要求37-40中任一项所述的方法,其中所述组合物中少于2%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

42. 如权利要求37-41中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:1的重链和含有氨基酸序列SEQ ID NO:2的轻链。

43. 如权利要求37-42中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体是SEA-CD40。

44. 如权利要求37-41中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体是SEA-CD40变体。

45. 如权利要求37-44中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体的轻链具有包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的轻链可变区,并且其中所述抗PD-1抗体的重链具有包含氨基酸序列SEQ ID NO:11的重链可变区。

46. 如权利要求37-45中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体的轻链包含氨基酸序列SEQ ID NO:7,并且其中所述抗PD-1抗体的重链包含氨基酸序列SEQ ID NO:12。

47. 如权利要求37-46中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体是派姆单抗。

48. 如权利要求37-45中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体是派姆单抗变体。

49. 如权利要求37-48中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体以每2周、每4周、每6周或每8周的周期施用。

50. 如权利要求37-49中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体以每4周或每8周的周期施用。

51. 如权利要求37-50中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体以每4周的周期施用。

52. 如权利要求37-51中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体以每3周的周期以200mg的剂量施用。

53. 如权利要求37-51中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体以每6周的周期以400mg的剂量施用。

54. 如权利要求37-53中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体是静脉内施用的。

55. 如权利要求37-54中任一项所述的方法,其中在第一周期中所述抗CD40抗体的第一次施用是在第一周期中所述抗PD-1抗体的第一次施用之前2天、3天、4天、5天或6天。

56. 如权利要求37-55中任一项所述的方法,其中在第一周期中所述抗CD40抗体的第一次施用是在第一周期中所述抗PD-1抗体的第一次施用之前3天、4天或5天。

57. 如权利要求37-56中任一项所述的方法,其中在第一周期中所述抗CD40抗体的第一次施用是在第一周期中所述抗PD-1抗体的第一次施用之前5天。

58. 如权利要求37-48中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体和所述抗PD-1抗体是根据选自自由以下组成的组的治疗方案在它们的第一周期中施用:

所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第2天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第3天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第4天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第5天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第6天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第7天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第3天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第4天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第5天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第6天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第7天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第3天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第4天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第3天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第5天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第3天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第6天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第3天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第7天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第3天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第4天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第5天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第4天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第6天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第4天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第7天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第4天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第5天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第6天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第5天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第7天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第5天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第6天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第7天第一次施用;

所述抗CD40抗体在第6天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用;以及

所述抗CD40抗体在第7天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用。

59. 如权利要求58所述的方法,其中所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第3天第一次施用。

60. 如权利要求58所述的方法,其中所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第5天第一次施用。

61. 如权利要求58所述的方法,其中所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用。

62. 如权利要求58所述的方法,其中所述抗CD40抗体在第3天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第5天第一次施用。

63. 如权利要求58所述的方法,其中所述抗CD40抗体在第3天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用。

64. 如权利要求58所述的方法,其中所述抗CD40抗体在第5天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用。

65. 一种治疗癌症的方法,所述方法包括:

(i) 以每3周、每4周、每5周或每6周的周期向患有所述癌症的患者施用化学疗法,

(ii) 以每周、每2周、每3周、每4周、每5周、每6周、每7周或每8周的周期向患有所述癌症的患者施用抗CD40抗体,以及

(iii) 以每3周或每6周的周期向所述患者施用抗PD-1抗体,

其中在所述化学疗法的第一施用周期中的所述化学疗法的第一次施用是在所述抗CD40抗体的第一施用周期中的所述抗CD40抗体的第一次施用之前1天、2天、3天、4天、5天、6天或7天,

其中在所述抗CD40抗体的第一施用周期中的所述抗CD40抗体的第一次施用是在所述抗PD-1抗体的第一施用周期中的所述抗PD-1抗体的第一次施用之前1天、2天、3天、4天、5天、6天或7天;

其中所述抗CD40抗体:1) 包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸1-113的重链可变区和含有SEQ ID NO:2的氨基酸1-113的轻链可变区,以及人类恒定区;其中所述人类恒定区在根据EU索引的残基N297处具有N-糖苷连接糖链;并且其中所述组合中少于20%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基;和/或2) 是SEA-CD40变体;并且

其中所述抗PD-1抗体包含含有SEQ ID NO:3-5的CDR的轻链和含有SEQ ID NO 8-10的CDR的重链。

66. 如权利要求65所述的方法,其中所述组合中少于10%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

67. 如权利要求65或66所述的方法,其中所述组合中少于5%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

68. 如权利要求65-67中任一项所述的方法,其中所述组合中少于3%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

69. 如权利要求65-68中任一项所述的方法,其中所述组合中少于2%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

70. 如权利要求65-69中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:1的重链和含有氨基酸序列SEQ ID NO:2的轻链。

71. 如权利要求65-70中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体是SEA-CD40。

72. 如权利要求65-69中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体是SEA-CD40变体。

73. 如权利要求65-72中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体的轻链具有包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的轻链可变区,并且其中所述抗PD-1抗体的重链具有包含氨基酸序列SEQ ID NO:11的重链可变区。

74. 如权利要求65-73中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体的轻链包含氨基酸序列SEQ ID NO:7,并且其中所述抗PD-1抗体的重链包含氨基酸序列SEQ ID NO:12。

75. 如权利要求65-74中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体是派姆单抗。

76. 如权利要求65-73中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体是派姆单抗变体。

77. 如权利要求65-76中任一项所述的方法,其中所述化学疗法包含吉西他滨和紫杉醇中的一种或两种。

78. 如权利要求65-77中任一项所述的方法,其中所述化学疗法包含吉西他滨和紫杉醇两者。

79. 如权利要求65-78中任一项所述的方法,其中所述化学疗法由吉西他滨和紫杉醇组成。

80. 如权利要求77-79中任一项所述的方法,其中紫杉醇是nab-紫杉醇。

81. 如权利要求77-79中任一项所述的方法,其中紫杉醇是白蛋白结合型紫杉醇。

82. 如权利要求65-81中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体以每2周、每4周、每6周或每8周的周期施用。

83. 如权利要求65-82中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体以每4周或每8周的周期施用。

84. 如权利要求65-83中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体以每4周的周期施用。

85. 如权利要求65-84中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体以每3周的周期以200mg的剂量施用。

86. 如权利要求65-85中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体以每6周的周期以400mg的剂量施用。

87. 如权利要求65-86中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体是静脉内施用的。

88. 如权利要求65-87中任一项所述的方法,其中在第一周期中所述化学疗法的第一次施用是在第一周期中所述抗CD40抗体的第一次施用之前2天、3天、4天、5天或6天,并且

其中在第一周期中所述抗CD40抗体的第一次施用是在第一周期中所述抗PD-1抗体的第一次施用之前2天、3天、4天、5天或6天。

89. 如权利要求65-88中任一项所述的方法,其中在第一周期中所述化学疗法的第一次施用是在第一周期中所述抗CD40抗体的第一次施用之前2天、3天或4天,并且

其中在第一周期中所述抗CD40抗体的第一次施用是在第一周期中所述抗PD-1抗体的第一次施用之前3天、4天或5天。

90. 如权利要求33-45中任一项所述的方法,其中在第一周期中所述化学疗法的第一次施用是在第一周期中所述抗CD40抗体的第一次施用之前2天,并且

其中在第一周期中所述抗CD40抗体的第一次施用是在第一周期中所述抗PD-1抗体的第一次施用之前5天。

91. 如权利要求65-87中任一项所述的方法,其中所述化学疗法、所述抗CD40抗体和所述抗PD-1抗体是根据选自以下组成的组的治疗方案在它们的第一周期中施用:

PD-1抗体在第11天第一次施用；

所述化学疗法在第1天第一次施用，所述抗CD40抗体在第7天第一次施用，并且所述抗PD-1抗体在第12天第一次施用；

所述化学疗法在第1天第一次施用，所述抗CD40抗体在第7天第一次施用，并且所述抗PD-1抗体在第13天第一次施用；

所述化学疗法在第1天第一次施用，所述抗CD40抗体在第7天第一次施用，并且所述抗PD-1抗体在第14天第一次施用；

所述化学疗法在第1天第一次施用，所述抗CD40抗体在第7天第一次施用，并且所述抗PD-1抗体在第15天第一次施用；

所述化学疗法在第1天第一次施用，所述抗CD40抗体在第8天第一次施用，并且所述抗PD-1抗体在第9天第一次施用；

所述化学疗法在第1天第一次施用，所述抗CD40抗体在第8天第一次施用，并且所述抗PD-1抗体在第10天第一次施用；

所述化学疗法在第1天第一次施用，所述抗CD40抗体在第8天第一次施用，并且所述抗PD-1抗体在第11天第一次施用；

所述化学疗法在第1天第一次施用，所述抗CD40抗体在第8天第一次施用，并且所述抗PD-1抗体在第12天第一次施用；

所述化学疗法在第1天第一次施用，所述抗CD40抗体在第8天第一次施用，并且所述抗PD-1抗体在第13天第一次施用；

所述化学疗法在第1天第一次施用，所述抗CD40抗体在第8天第一次施用，并且所述抗PD-1抗体在第14天第一次施用；以及

所述化学疗法在第1天第一次施用，所述抗CD40抗体在第8天第一次施用，并且所述抗PD-1抗体在第15天第一次施用。

92. 如权利要求91所述的方法，其中所述化学疗法在第1天第一次施用，所述抗CD40抗体在第3天第一次施用，并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用。

93. 如权利要求91所述的方法，其中所述化学疗法在第1天第一次施用，所述抗CD40抗体在第5天第一次施用，并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用。

94. 如权利要求91所述的方法，其中所述化学疗法在第1天第一次施用，所述抗CD40抗体在第7天第一次施用，并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用。

95. 如权利要求91所述的方法，其中所述化学疗法在第1天第一次施用，所述抗CD40抗体在第7天第一次施用，并且所述抗PD-1抗体在第15天第一次施用。

96. 如权利要求91所述的方法，其中所述化学疗法在第1天第一次施用，所述抗CD40抗体在第8天第一次施用，并且所述抗PD-1抗体在第10天、第11天、第12天或第15天第一次施用。

97. 如权利要求91所述的方法，其中所述化学疗法在第1天第一次施用，所述抗CD40抗体在第8天第一次施用，并且所述抗PD-1抗体在第15天第一次施用。

98. 如权利要求65-97中任一项所述的方法，其中所述化学疗法以每4周的周期施用。

99. 如权利要求65-97中任一项所述的方法，其中所述化学疗法在每个周期的第1天、第5天和第8天施用。

100. 如权利要求65-99中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体以每4周的周期施用。

101. 如权利要求22-100中任一项所述的方法,其中所述抗CD40抗体以约3 μ g/kg、约10 μ g/kg、约30 μ g/kg、约45 μ g/kg或约60 μ g/kg患者体重的剂量施用。

102. 如权利要求101所述的方法,其中所述抗CD40抗体以约10 μ g/kg患者体重的剂量施用。

103. 如权利要求101所述的方法,其中所述抗CD40抗体以约30 μ g/kg患者体重的剂量施用。

104. 如权利要求22-103中任一项所述的方法,其中所述癌症是黑色素瘤;乳腺癌、转移性乳腺癌;肺癌、非小细胞肺癌(NSCLC),或胰腺癌。

105. 如权利要求22-104中任一项所述的方法,其中所述癌症是胰腺癌。

106. 如权利要求22-105中任一项所述的方法,其中所述癌症是胰腺导管腺癌(PDAC)。

107. 如权利要求22-106中任一项所述的方法,其中所述癌症是转移性胰腺导管腺癌。

抗CD40抗体组合治疗癌症

[0001] 优先权要求

[0002] 本申请要求于2020年4月27日提交的美国临时申请第63/016,247号的权益。前述的全部内容通过引用并入本文。

技术领域

[0003] 本公开涉及使用治疗剂的组合治疗癌症。

背景技术

[0004] 癌症的治疗可涉及施用多于一种治疗剂。各种治疗剂已作为单一药剂或作为组合法使用进行了测试。

[0005] 已测试抗CD40抗体作为治疗癌症的潜在治疗剂。CD40是肿瘤坏死因子(TNF)受体超家族的成员,在包括正常和赘瘤性B细胞、交叉指状细胞、基底上皮细胞和癌瘤的多种细胞类型上表达。CD40与其配体/抗原CD40L(也称为CD154、gp39和TRAP)的相互作用诱导免疫反应。一些抗CD40抗体已经在临床试验中进行了测试,但迄今为止还没有一种被FDA批准。

[0006] **KEYTRUDA[®]**(派姆单抗(pembrolizumab)),由Merck and Co., Inc. (Kenilworth NJ, USA) 开发,是被FDA批准的抗体治疗剂。迄今为止,**KEYTRUDA[®]**已被批准用于治疗多种肿瘤和癌症类型,包括某些黑色素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、小细胞肺癌(SCLC)、头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)和经典霍奇金淋巴瘤(cHL)等。**KEYTRUDA[®]**的处方标签可在例如FDA的批准药物数据库查阅。

[0007] **KEYTRUDA[®]**的活性成分派姆单抗是一种抗PD-1抗体,它结合于其配体/抗原程序死亡受体1(PD-1)并帮助免疫系统清除肿瘤细胞。PD-1是一种免疫球蛋白超家族成员,并且在与其配体PD-L1和/或PD-L2接合时负向调节抗原受体信号传导。然而,一些癌症对抗PD-1或抗PD-L1治疗没有反应(Danaher P等人, J Immunother Cancer. 2018年6月22日; 6(1):63; Algazi等人, Cancer. 2016年11月15日; 122(21):3344-3353)。

发明内容

[0008] 本文描述了使用抗CD40抗体如SEA-CD40和派姆单抗的组合治疗癌症的治疗方案。本文还描述了使用抗CD40抗体如SEA-CD40、派姆单抗和一种或多种化学治疗剂的组合治疗癌症的治疗方案。所述一种或多种化学治疗剂可以包括例如吉西他滨(gemcitabine)和/或紫杉醇(paclitaxel)(或Nab-紫杉醇)。**ABRAXANE[®]**是含有白蛋白结合型紫杉醇的紫杉醇商标名称。

[0009] SEA-CD40是一种非岩藻糖基化或最低限度岩藻糖基化(“非岩藻糖基化”和“最低限度岩藻糖基化”在本公开中可互换使用)抗CD40抗体,有效激活先天免疫系统。SEA-CD40正在临床试验NCT02376699中作为癌症治疗进行测试。

[0010] 使用抗CD40抗体如SEA-CD40和派姆单抗的组合治疗癌症的方法可以受益于协同

效应。例如,SEA-CD40可以刺激初始先天免疫反应,而PD-1/PD-L1轴的阻断可以允许持续的适应性免疫反应。

[0011] 使用抗CD40抗体如SEA-CD40和派姆单抗的组合物治疗癌症的方法还可以包括施用一种或多种化学治疗剂,例如吉西他滨和紫杉醇(或Nab-紫杉醇)。ABRAXANE[®]是含有白蛋白结合型紫杉醇的紫杉醇商标名称。

[0012] 在一个方面,本公开涉及一种治疗胰腺癌的方法,所述方法包括向患有所述胰腺癌的患者:(i)在每个28天周期的第1天、第8天和第15天施用化学疗法,(ii)在每个28天周期的第3天施用包含抗CD40抗体的组合物,和(iii)在每个42天周期的第8天施用PD-1抗体。

[0013] 在一些实施方式中,所述抗CD40抗体包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸1-113的重链可变区和含有SEQ ID NO:2的氨基酸1-113的轻链可变区,以及人类恒定区;其中所述人类恒定区在根据EU索引的残基N297处具有N-糖苷连接糖链;并且其中所述组合物中少于20%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体是SEA-CD40变体。

[0014] 在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体是派姆单抗、纳武单抗(nivolumab)、h409A11、h409A16、h409A17或AMP-514。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体是西米普利单抗(Cemiplimab)-rwlc、斯巴达珠单抗(Spartalizumab)、AK105、替雷利珠单抗(Tislelizumab)、多塔利单抗(Dostarlimab)、MEDI0680、匹利珠单抗(Pidilizumab)、AMP-224或SHR-1210。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体包含含有SEQ IDNO:3-5的CDR的轻链,和含有SEQ ID NO 8-10的CDR的重链。

[0015] 在一些实施方式中,包含抗CD40抗体的组合物中少于10%的N-糖苷连接糖链具有岩藻糖残基。在一些实施方式中,包含抗CD40抗体的组合物中少于5%的N-糖苷连接糖链具有岩藻糖残基。在一些实施方式中,包含抗CD40抗体的组合物中少于3%的N-糖苷连接糖链具有岩藻糖残基。在一些实施方式中,包含抗CD40抗体的组合物中少于2%的N-糖苷连接糖链具有岩藻糖残基。

[0016] 在一些实施方式中,所述抗CD40抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:1的重链和含有氨基酸序列SEQ ID NO:2的轻链。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体是SEA-CD40。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体是SEA-CD40变体。

[0017] 在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体的轻链具有包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的轻链可变区,并且所述抗PD-1抗体的重链具有包含氨基酸序列SEQ ID NO:11的重链可变区。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体的轻链包含氨基酸序列SEQ ID NO:7,并且所述抗PD-1抗体的重链包含氨基酸序列SEQ ID NO:12。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体是派姆单抗。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体是派姆单抗体。

[0018] 在一些实施方式中,所述化学疗法包含吉西他滨和/或紫杉醇。换句话说,所述化学疗法包含吉西他滨或紫杉醇,或吉西他滨和紫杉醇两者。在一些实施方式中,紫杉醇是nab-紫杉醇。在一些实施方式中,紫杉醇是白蛋白结合型紫杉醇。

[0019] 在一些实施方式中,所述抗CD40抗体以10 μ g/kg施用。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体以30 μ g/kg施用。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体以400mg施用。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体是静脉内施用的。

[0020] 在一些实施方式中,胰腺治疗癌症是胰腺导管腺癌(PDAC)。

[0021] 在一些实施方式中,所述抗CD40抗体是静脉内施用的。在一些实施方式中,所述抗

CD40抗体是皮下施用的。

[0022] 在另一方面,本公开涉及一种治疗癌症的方法,所述方法包括:(i)以每4周的周期向患有所述癌症的患者施用化学疗法,(ii)以每4周的周期向所述患者施用包含抗CD40抗体的组合物,和(iii)以每3周或6周的周期向所述患者施用抗PD-1抗体。在一些实施方式中,所述化学疗法在每个4周周期的第1天、第8天、第15天施用,所述抗CD40抗体在每个4周周期的第3天施用,并且所述抗PD-1抗体在每个3周周期或6周周期的第8天施用。

[0023] 在一些实施方式中,所述抗CD40抗体包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸1-113的重链可变区和含有SEQ ID NO:2的氨基酸1-113的轻链可变区,以及人类恒定区;其中所述人类恒定区在根据EU索引的残基N297处具有N-糖苷连接糖链;并且其中所述组合物中少于20%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体是SEA-CD40变体。

[0024] 在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体是派姆单抗、纳武单抗、h409A11、h409A16、h409A17或AMP-514。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体是西米普利单抗-rwlc、斯巴达珠单抗、AK105、替雷利珠单抗、多塔利单抗、MEDI0680、匹利珠单抗、AMP-224或SHR-1210。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体包含含有SEQ ID NO:3-5的CDR的轻链和含有SEQ ID NO 8-10的CDR的重链。

[0025] 在一些实施方式中,包含抗CD40抗体的组合物中少于10%的N-糖苷连接糖链具有岩藻糖残基。在一些实施方式中,包含抗CD40抗体的组合物中少于5%的N-糖苷连接糖链具有岩藻糖残基。在一些实施方式中,包含抗CD40抗体的组合物中少于3%的N-糖苷连接糖链具有岩藻糖残基。在一些实施方式中,包含抗CD40抗体的组合物中少于2%的N-糖苷连接糖链具有岩藻糖残基。

[0026] 在一些实施方式中,所述抗CD40抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:1的重链和含有氨基酸序列SEQ ID NO:2的轻链。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体是SEA-CD40。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体是SEA-CD40变体。

[0027] 在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体的轻链具有包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的轻链可变区,并且所述抗PD-1抗体的重链具有包含氨基酸序列SEQ ID NO:11的重链可变区。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体的轻链包含氨基酸序列SEQ ID NO:7,并且所述抗PD-1抗体的重链包含氨基酸序列SEQ ID NO:12。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体是派姆单抗。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体是派姆单抗变体。

[0028] 在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体以每3周的周期施用,并且所述抗PD-1抗体在每个3周周期的第8天以200mg的剂量施用。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体以每6周的周期施用,并且所述抗PD-1抗体在每个6周周期的第8天以400mg的剂量施用。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体是静脉内施用的。

[0029] 在一些实施方式中,所述抗CD40抗体以约3 μ g/kg、约10 μ g/kg、约30 μ g/kg、约45 μ g/kg或约60 μ g/kg患者体重的剂量施用。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体以约10 μ g/kg患者体重的剂量施用。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体以约30 μ g/kg患者体重的剂量施用。

[0030] 在一些实施方式中,所治疗的癌症是黑色素瘤;膀胱癌;肺癌,例如小细胞肺癌和非小细胞肺癌;卵巢癌;肾癌;胰腺癌;乳腺癌;宫颈癌;头颈癌、前列腺癌;胶质母细胞瘤;非霍奇金淋巴瘤;慢性淋巴细胞白血病;肝细胞癌;或多发性骨髓瘤。在一些实施方式中,所治

疗的癌症是黑色素瘤；乳腺癌、转移性乳腺癌；肺癌、非小细胞肺癌 (NSCLC)，或胰腺癌。在一些实施方式中，所治疗的癌症是胰腺癌。在一些实施方式中，所治疗的癌症是胰腺导管腺癌 (PDAC)。在一些实施方式中，所治疗的癌症是转移性胰腺导管腺癌。

[0031] 在另一方面，本公开涉及一种治疗癌症的方法，所述方法包括：(i) 以每周、每2周、每3周、每4周、每5周、每6周、每7周或每8周的周期向患有所述癌症的患者施用抗CD40抗体，其中所述周期包括所述抗CD40抗体的第一施用周期，和(ii) 以每3周或每6周的周期向所述患者施用抗PD-1抗体，其中所述周期包括所述抗PD-1抗体的第一施用周期。在一些实施方式中，所述抗CD40抗体的第一施用周期中所述抗CD40抗体的第一次施用是在所述抗PD-1抗体的第一施用周期中所述抗PD-1抗体的第一次施用之前1天、2天、3天、4天、5天、6天或7天。

[0032] 在一些实施方式中，所述抗CD40抗体包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸1-113的重链可变区和含有SEQ ID NO:2的氨基酸1-113的轻链可变区，以及人类恒定区；其中所述人类恒定区在根据EU索引的残基N297处具有N-糖苷连接糖链；并且其中所述组合物中少于20%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。在一些实施方式中，所述抗CD40抗体是SEA-CD40变体。

[0033] 在一些实施方式中，所述抗PD-1抗体是派姆单抗、纳武单抗、h409A11、h409A16、h409A17或AMP-514。在一些实施方式中，所述抗PD-1抗体是西米普利单抗-rwlc、斯巴达珠单抗、AK105、替雷利珠单抗、多塔利单抗、MEDI0680、匹利珠单抗、AMP-224或SHR-1210。在一些实施方式中，所述抗PD-1抗体包含含有SEQ ID NO:3-5的CDR的轻链，和含有SEQ ID NO 8-10的CDR的重链。

[0034] 在一些实施方式中，包含抗CD40抗体的组合物中少于10%的N-糖苷连接糖链具有岩藻糖残基。在一些实施方式中，包含抗CD40抗体的组合物中少于5%的N-糖苷连接糖链具有岩藻糖残基。在一些实施方式中，包含抗CD40抗体的组合物中少于3%的N-糖苷连接糖链具有岩藻糖残基。在一些实施方式中，包含抗CD40抗体的组合物中少于2%的N-糖苷连接糖链具有岩藻糖残基。

[0035] 在一些实施方式中，所述抗CD40抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:1的重链和含有氨基酸序列SEQ ID NO:2的轻链。在一些实施方式中，所述抗CD40抗体是SEA-CD40。在一些实施方式中，所述抗CD40抗体是SEA-CD40变体。

[0036] 在一些实施方式中，所述抗PD-1抗体的轻链具有包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的轻链可变区，并且所述抗PD-1抗体的重链具有包含氨基酸序列SEQ ID NO:11的重链可变区。在一些实施方式中，所述抗PD-1抗体的轻链包含氨基酸序列SEQ ID NO:7，并且所述抗PD-1抗体的重链包含氨基酸序列SEQ ID NO:12。在一些实施方式中，所述抗PD-1抗体是派姆单抗。在一些实施方式中，所述抗PD-1抗体是派姆单抗变体。

[0037] 在一些实施方式中，所述抗CD40抗体以每2周、每4周、每6周或每8周的周期施用。在一些实施方式中，所述抗CD40抗体以每4周或每8周的周期施用。在一些实施方式中，所述抗CD40抗体以每4周的周期施用。

[0038] 在一些实施方式中，所述抗PD-1抗体以每3周的周期以200mg的剂量施用。在一些实施方式中，所述抗PD-1抗体以每6周的周期以400mg的剂量施用。在一些实施方式中，所述抗PD-1抗体是静脉内施用的。

[0039] 在一些实施方式中，第一周期中所述抗CD40抗体的第一次施用是在第一周期中所述抗PD-1抗体的第一次施用之前2天、3天、4天、5天或6天。在一些实施方式中，第一周期中

所述抗CD40抗体的第一次施用是在第一周期中所述抗PD-1抗体的第一次施用之前3天、4天或5天。在一些实施方式中,第一周期中所述抗CD40抗体的第一次施用是在第一周期中所述抗PD-1抗体的第一次施用之前5天。

[0040] 在一些实施方式中,所述抗CD40抗体和所述抗PD-1抗体是根据选自由以下组成的组的治疗方案在它们的第一周期中施用:所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第2天第一次施用;所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第3天第一次施用;所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第4天第一次施用;所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第5天第一次施用;所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第6天第一次施用;所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第7天第一次施用;所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用;所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第3天第一次施用;所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第4天第一次施用;所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第5天第一次施用;所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第6天第一次施用;所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第7天第一次施用;所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用;所述抗CD40抗体在第3天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第4天第一次施用;所述抗CD40抗体在第3天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第5天第一次施用;所述抗CD40抗体在第3天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第6天第一次施用;所述抗CD40抗体在第3天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第7天第一次施用;所述抗CD40抗体在第3天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用;所述抗CD40抗体在第4天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第5天第一次施用;所述抗CD40抗体在第4天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第6天第一次施用;所述抗CD40抗体在第4天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第7天第一次施用;所述抗CD40抗体在第4天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用;所述抗CD40抗体在第5天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第6天第一次施用;所述抗CD40抗体在第5天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第7天第一次施用;所述抗CD40抗体在第5天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用;所述抗CD40抗体在第6天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第7天第一次施用;所述抗CD40抗体在第6天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用;以及所述抗CD40抗体在第7天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用。

[0041] 在一些实施方式中,所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第3天第一次施用。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第5天第一次施用。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体在第1天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体在第3天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第5天第一次施用。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体在第3天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体在第5天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用。

[0042] 在一些实施方式中,所述抗CD40抗体以约3 μ g/kg、约10 μ g/kg、约30 μ g/kg、约45 μ g/kg或约60 μ g/kg患者体重的剂量施用。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体以约10 μ g/kg患

者体重的剂量施用。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体以约30 μ g/kg患者体重的剂量施用。

[0043] 在一些实施方式中,所治疗的癌症是黑色素瘤;膀胱癌;肺癌,例如小细胞肺癌和非小细胞肺癌;卵巢癌;肾癌;胰腺癌;乳腺癌;宫颈癌;头颈癌、前列腺癌;胶质母细胞瘤;非霍奇金淋巴瘤;慢性淋巴细胞白血病;肝细胞癌;或多发性骨髓瘤。在一些实施方式中,所治疗的癌症是黑色素瘤;乳腺癌、转移性乳腺癌;肺癌、非小细胞肺癌(NSCLC),或胰腺癌。在一些实施方式中,所治疗的癌症是胰腺癌。在一些实施方式中,所治疗的癌症是胰腺导管腺癌(PDAC)。在一些实施方式中,所治疗的癌症是转移性胰腺导管腺癌。

[0044] 在另一方面,本公开涉及一种治疗癌症的方法,所述方法:(i)以每3周、每4周、每5周或每6周的周期向患有所述癌症的患者施用化学疗法,(ii)以每周、每2周、每3周、每4周、每5周、每6周、每7周或每8周的周期向患有所述癌症的患者施用抗CD40抗体,以及(iii)以每3周或每6周的周期向所述患者施用抗PD-1抗体。在一些实施方式中,所述化学疗法的第一施用周期中所述化学疗法的第一施用是在所述抗CD40抗体的第一施用周期中所述抗CD40抗体的第一施用之前1天、2天、3天、4天、5天、6天或7天。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体的第一施用周期中所述抗CD40抗体的第一施用是在所述抗PD-1抗体的第一施用周期中所述抗PD-1抗体的第一施用之前1天、2天、3天、4天、5天、6天或7天。

[0045] 在一些实施方式中,所述抗CD40抗体包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸1-113的重链可变区和含有SEQ ID NO:2的氨基酸1-113的轻链可变区,以及人类恒定区;其中所述人类恒定区在根据EU索引的残基N297处具有N-糖苷连接糖链;并且其中所述组合中少于20%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体是SEA-CD40变体。

[0046] 在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体是派姆单抗、纳武单抗、h409A11、h409A16、h409A17或AMP-514。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体是西米普利单抗-rwlc、斯巴达珠单抗、AK105、替雷利珠单抗、多塔利单抗、MEDI0680、匹利珠单抗、AMP-224或SHR-1210。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体包含含有SEQ ID NO:3-5的CDR的轻链,和含有SEQ ID NO 8-10的CDR的重链。

[0047] 在一些实施方式中,包含抗CD40抗体的组合中少于10%的N-糖苷连接糖链具有岩藻糖残基。在一些实施方式中,包含抗CD40抗体的组合中少于5%的N-糖苷连接糖链具有岩藻糖残基。在一些实施方式中,包含抗CD40抗体的组合中少于3%的N-糖苷连接糖链具有岩藻糖残基。在一些实施方式中,包含抗CD40抗体的组合中少于2%的N-糖苷连接糖链具有岩藻糖残基。

[0048] 在一些实施方式中,所述抗CD40抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO:1的重链和含有氨基酸序列SEQ ID NO:2的轻链。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体是SEA-CD40。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体是SEA-CD40变体。

[0049] 在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体的轻链具有包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的轻链可变区,并且所述抗PD-1抗体的重链具有包含氨基酸序列SEQ ID NO:11的重链可变区。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体的轻链包含氨基酸序列SEQ ID NO:7,并且所述抗PD-1抗体的重链包含氨基酸序列SEQ ID NO:12。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体是派姆单抗。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体是派姆单抗变体。

[0050] 在一些实施方式中,所述化学疗法包含吉西他滨和紫杉醇中的一种或两种。在一

些实施方式中,所述化学疗法包含吉西他滨和紫杉醇两者。在一些实施方式中,所述化学疗法由吉西他滨和紫杉醇组成。在一些实施方式中,紫杉醇是nab-紫杉醇。在一些实施方式中,紫杉醇是白蛋白结合型紫杉醇。

[0051] 在一些实施方式中,所述抗CD40抗体以每2周、每4周、每6周或每8周的周期施用。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体以每4周或每8周的周期施用。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体以每4周的周期施用。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体以每3周的周期以200mg的剂量施用。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体以每6周的周期以400mg的剂量施用。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体是静脉内施用的。

[0052] 在一些实施方式中,在第一周期中所述化学疗法的第一次施用是在第一周期中所述抗CD40抗体的第一次施用之前2天、3天、4天、5天或6天,并且在第一周期中所述抗CD40抗体的第一次施用是在第一周期中所述抗PD-1抗体的第一次施用之前2天、3天、4天、5天或6天。在一些实施方式中,在第一周期中所述化学疗法的第一次施用是在第一周期中所述抗CD40抗体的第一次施用之前2天、3天或4天,并且在第一周期中所述抗CD40抗体的第一次施用是在第一周期中所述抗PD-1抗体的第一次施用之前3天、4天或5天。在一些实施方式中,在第一周期中所述化学疗法的第一次施用是在第一周期中所述抗CD40抗体的第一次施用之前2天,并且在第一周期中所述抗CD40抗体的第一次施用是在第一周期中所述抗PD-1抗体的第一次施用之前5天。

[0053] 在一些实施方式中,所述化学疗法、所述抗CD40抗体和所述抗PD-1抗体是根据选自以下组成的组的治疗方案在它们的第一周期中施用:所述化学疗法在第1天第一次施用,所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第3天第一次施用;所述化学疗法在第1天第一次施用,所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第4天第一次施用;所述化学疗法在第1天第一次施用,所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第5天第一次施用;所述化学疗法在第1天第一次施用,所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第6天第一次施用;所述化学疗法在第1天第一次施用,所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第7天第一次施用;所述化学疗法在第1天第一次施用,所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第8天第一次施用;所述化学疗法在第1天第一次施用,所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第9天第一次施用;所述化学疗法在第1天第一次施用,所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第10天第一次施用;所述化学疗法在第1天第一次施用,所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第11天第一次施用;所述化学疗法在第1天第一次施用,所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第12天第一次施用;所述化学疗法在第1天第一次施用,所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第13天第一次施用;所述化学疗法在第1天第一次施用,所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第14天第一次施用;所述化学疗法在第1天第一次施用,所述抗CD40抗体在第2天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第15天第一次施用;所述化学疗法在第1天第一次施用,所述抗CD40抗体在第3天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第4天第一次施用;所述化学疗法在第1天第一次施用,所述抗CD40抗体在第3天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第5天第一次施用;所述化学疗法在第1天第一次施用,所述抗CD40抗体在第3天第一次施用,并且所述抗PD-1抗

天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第10天、第11天、第12天或第15天第一次施用。在一些实施方式中,所述化学疗法在第1天第一次施用,所述抗CD40抗体在第8天第一次施用,并且所述抗PD-1抗体在第15天第一次施用。

[0055] 在一些实施方式中,所述化学疗法以每4周的周期施用。在一些实施方式中,所述化学疗法在每个周期的第1天、第5天和第8天施用。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体以每4周的周期施用。

[0056] 在一些实施方式中,所述抗CD40抗体以约3 μ g/kg、约10 μ g/kg、约30 μ g/kg、约45 μ g/kg或约60 μ g/kg患者体重的剂量施用。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体以约10 μ g/kg患者体重的剂量施用。在一些实施方式中,所述抗CD40抗体以约30 μ g/kg患者体重的剂量施用。

[0057] 在一些实施方式中,所治疗的癌症是黑色素瘤;膀胱癌;肺癌,例如小细胞肺癌和非小细胞肺癌;卵巢癌;肾癌;胰腺癌;乳腺癌;宫颈癌;头颈癌、前列腺癌;胶质母细胞瘤;非霍奇金淋巴瘤;慢性淋巴细胞白血病;肝细胞癌;或多发性骨髓瘤。在一些实施方式中,所治疗的癌症是黑色素瘤;乳腺癌、转移性乳腺癌;肺癌、非小细胞肺癌(NSCLC),或胰腺癌。在一些实施方式中,所治疗的癌症是胰腺癌。在一些实施方式中,所治疗的癌症是胰腺导管腺癌(PDAC)。在一些实施方式中,所治疗的癌症是转移性胰腺导管腺癌。

[0058] 本发明的其他特征和优点将从以下详细描述和权利要求中显而易见。

[0059] 定义

[0060] 术语“组合疗法”或“组合”是指包括施用多于一种治疗剂的治疗方案。组合疗法可以包括两种、三种、四种、五种、六种、七种、八种、九种、十种或多种治疗剂。每种治疗剂可以是相同或不同种类的分子,包括例如生物剂、小分子、抗体、化学治疗剂等。每种治疗剂可以在相同或不同周期中施用。一些或所有的治疗剂可以一起配制。一些或所有的治疗剂可以分开施用。

[0061] “多肽”或“多肽链”是通过肽键连接的氨基酸残基的聚合物,无论是天然产生的还是合成产生的。少于约10个氨基酸残基的多肽通常称为“肽”。

[0062] “蛋白质”是包含一条或多条多肽链的大分子。蛋白质还可以包含非肽成分,例如碳水化合物基团。碳水化合物和其他非肽取代基可以由产生蛋白质的细胞添加到蛋白质中,并且会随细胞类型而变化。本文根据其氨基酸骨架结构定义蛋白质;例如碳水化合物基团的取代基通常没有具体说明,但仍然可以存在。

[0063] 本文使用术语“氨基末端”和“羧基末端”来表示多肽内的位置。在上下文允许的情况下,这些术语关于多肽的特定序列或部分使用以表示接近或相对位置。例如,位于多肽内参考序列羧基末端的某个序列位于参考序列的羧基末端附近,但不一定位于完整多肽的羧基末端。

[0064] 术语“抗体”在本文中用于表示由身体响应于抗原的存在而产生并与所述抗原结合的免疫球蛋白,以及其抗原结合片段和工程化变体。因此,术语“抗体”包括例如包含全长免疫球蛋白重链和轻链的完整单克隆抗体(例如,使用杂交瘤技术产生的抗体)和抗原结合抗体片段,例如F(ab')₂和Fab片段。还包括基因工程化的完整抗体和片段,例如嵌合抗体、人源化抗体、单链Fv片段、单链抗体、双价抗体、微型抗体、线性抗体、多价或多特异性(例如,双特异性)杂合抗体等。因此,术语“抗体”广泛用于包括包含抗体的抗原结合位点并且

能够特异性结合其抗原的任何蛋白质。

[0065] “抗体的抗原结合位点”是抗体的足以结合其抗原的部分。最小的此类区域通常是可变区或其基因工程化变体。单结构域结合位点可以从骆驼科抗体产生(参见Muyldermans和Lauwereys, *J. Mol. Recog.* 12:131-140, 1999; Nguyen等人, *EMBO J.* 19:921-930, 2000)或来自其他物种的VH结构域以产生单结构域抗体(“dAb”;参见Ward等人, *Nature* 341:544-546, 1989; Winter等人的美国专利第6,248,516号)。在某些变化形式中,抗原结合位点是仅具有天然或非天然(例如,诱变)存在的重链可变区或轻链可变区或其组合的2个互补决定区(CDR)的多肽区(参见例如Pessi等人, *Nature* 362:367-369, 1993; Qiu等人, *Nature Biotechnol.* 25:921-929, 2007)。更常见的是,抗体的抗原结合位点包含结合于共同表位的重链可变(VH)结构域和轻链可变(VL)结构域。在本公开的上下文中,抗体可以包括除了抗原结合位点之外的一种或多种组分,例如,抗体的第二抗原结合位点(其可以结合于相同或不同表位或相同或不同抗原)、肽接头、免疫球蛋白恒定区、免疫球蛋白铰链、两亲性螺旋(参见Pack和Pluckthun, *Biochem.* 31:1579-1584, 1992)、非肽接头、寡核苷酸(参见Chaudri等人, *FEBS Letters* 450:23-26, 1999)、细胞抑制或细胞毒性药物等,并且可以是单体或多聚体蛋白。包含抗体的抗原结合位点的分子的实例是本领域已知的并且包括例如Fv、单链Fv(scFv)、Fab、Fab’、F(ab’)₂、F(ab)_c、双价抗体、dAb、微型抗体、纳米抗体、Fab-scFv融合体、双特异性(scFv)₄-IgG和双特异性(scFv)₂-Fab。(参见例如Hu等人, *Cancer Res.* 56:3055-3061, 1996; Atwell等人, *Molecular Immunology* 33:1301-1312, 1996; Carter和Merchant, *Curr. Opin. Biotechnol.* 8:449-454, 1997; Zuo等人, *Protein Engineering* 13:361-367, 2000; 和Lu等人, *J. Immunol. Methods* 267:213-226, 2002。)

[0066] 术语“癌症”、“癌性的”或“恶性的”是指或描述哺乳动物中通常以不受调节的细胞生长为特征的生理状况。癌症可以是实体瘤或血癌。癌症还可以是黑色素瘤、乳腺癌(包括转移性乳腺癌)、肺癌(包括非小细胞肺癌)、胰腺癌、淋巴瘤、结肠直肠癌或肾癌。在一些实施方式中,所述癌症是黑色素瘤;乳腺癌,包括转移性乳腺癌;肺癌,包括非小细胞肺癌;或胰腺癌。所述胰腺癌可以是胰腺导管腺癌(PDAC)。PDAC也可以是转移性的。

[0067] 如本文所用,术语“免疫球蛋白”是指由一种或多种基本上由免疫球蛋白基因编码的多肽组成的蛋白质。一种形式的免疫球蛋白构成脊椎动物中原生(即天然)抗体的基本结构单元。这种形式是四聚体并且由两对相同的免疫球蛋白链组成,每对具有一条轻链和一条重链。在每一对中,轻链和重链可变区(VL和VH)一起主要负责与抗原结合,而恒定区主要负责抗体效应功能。已在高等脊椎动物中鉴定出五类免疫球蛋白(IgG、IgA、IgM、IgD和IgE)。IgG为主要类别;它通常作为血浆中第二丰富的蛋白质存在。在人类中,IgG由四个亚类组成,称为IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。IgG种类的重链恒定区用希腊符号 γ 标识。例如,IgG1亚类的免疫球蛋白含有 $\gamma 1$ 重链恒定区。每个免疫球蛋白重链都具有一个恒定区,该恒定区由恒定区蛋白质结构域(CH1、铰链、CH2和CH3;IgG3还含有一个CH4结构域)组成,对于物种中的给定亚类而言,这些结构域基本上是不变的。编码人类和非人类免疫球蛋白链的DNA序列是本领域已知的。(参见例如Ellison等人, *DNA* 1:11-18, 1981; Ellison等人, *Nucleic Acids Res.* 10:4071-4079, 1982; Kenten等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79:6661-6665, 1982; Seno等人, *Nuc. Acids Res.* 11:719-726, 1983; Riechmann等人, *Nature* 332:323-327, 1988; Amster等人, *Nuc. Acids Res.* 8:2055-2065, 1980; Rusconi和Kohler, *Nature* 314:

330-334,1985;Boss等人,Nuc.Acids Res.12:3791-3806,1984;Bothwell等人,Nature 298:380-382,1982;van der Loo等人,Immunogenetics 42:333-341,1995;Karlin等人,J.Mol.Evol.22:195-208,1985;Kindsvogel等人,DNA 1:335-343,1982;Breiner等人,Gene 18:165-174,1982;Kondo等人,Eur.J.Immunol.23:245-249,1993;和GenBank登录号 J00228。)有关免疫球蛋白结构和功能的综述,参见Putnam,The Plasma Proteins,第V卷,Academic Press,Inc.,49-140,1987;和Padlan,Mol.Immunol.31:169-217,1994。术语“免疫球蛋白”在本文中用于其通常含义,表示完整的抗体、其组分链或链的片段,这取决于上下文。

[0068] 全长免疫球蛋白“轻链”(约25Kd或214个氨基酸)由氨基末端的可变区基因(编码约110个氨基酸)和羧基末端的 κ 或 λ 恒定区基因编码。全长免疫球蛋白“重链”(约50Kd或446个氨基酸)由可变区基因(编码约116个氨基酸)和 γ 、 μ 、 α 、 δ 或 ϵ 恒定区基因(编码约330个氨基酸)编码,后者将抗体的同种型分别定义为IgG、IgM、IgA、IgD或IgE。在轻链和重链中,可变区和恒定区由约12个以上氨基酸的“J”区连接,其中重链还包括约10个以上氨基酸的“D”区。(一般参见Fundamental Immunology (Paul编,Raven Press,N.Y.,第2版,1989),第7章)。

[0069] 免疫球蛋白轻链或重链可变区(本文也分别称为“轻链可变区”(“VL区”)或“重链可变区”(“VH区”))由被三个高变区(也称为“互补决定区”或“CDR”)中断的“框架”区组成。框架区用于对齐特异性结合于抗原表位的CDR。因此,术语“高变区”或“CDR”是指抗体的主要负责抗原结合的氨基酸残基。从氨基末端到羧基末端,VL和VH结构域均包含以下框架(FR)和CDR区域:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。每个结构域的氨基酸分配是根据以下定义:Kabat,Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health,Bethesda,MD,1987和1991),或Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.196:901-917,1987;Chothia等人,Nature 342:878-883,1989。Kabat还提供了一种广泛使用的编号惯例(Kabat编号),其中不同重链之间或不同轻链之间的相应残基被分配相同的编号。VL结构域的CDR 1、2和3在本文中也分别称为CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3;VH结构域的CDR 1、2和3在本文中也分别称为CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3。

[0070] 除非上下文另有说明,否则如本文使用的术语“单克隆抗体”不限于通过杂交瘤技术产生的抗体。术语“单克隆抗体”是指衍生自单个克隆的抗体,包括任何真核、原核或噬菌体克隆,而不是其生产方法。

[0071] 术语“嵌合抗体”是指具有源自第一物种的可变区和源自第二物种的恒定区的抗体。嵌合免疫球蛋白或抗体可以例如通过基因工程从属于不同物种的免疫球蛋白基因片段构建。如下文定义的术语“人源化抗体”不旨在涵盖嵌合抗体。尽管人源化抗体在其构造中是嵌合的(即,包含来自多于一种蛋白质的区域),但它们包括在如本文定义的嵌合免疫球蛋白或抗体中不存在的额外特征(即,包含供体CDR残基和受体框架残基的可变区)。

[0072] 术语“人源化VH结构域”或“人源化VL结构域”是指包含完全或基本上来自非人类供体免疫球蛋白(例如,小鼠或大鼠)的一些或所有CDR和完全或基本上来自人类免疫球蛋白序列的可变区框架序列的免疫球蛋白VH或VL结构域。提供CDR的非人类免疫球蛋白称为“供体”,并且提供框架的人类免疫球蛋白称为“受体”。在一些情况下,人源化抗体可以在人类可变框架区内保留非人类残基以增强适当的结合特性(例如,当抗体被人源化时,可能需

要框架中的突变来保持结合亲和力)。

[0073] “人源化抗体”是包含人源化VH结构域和人源化VL结构域中的一者或两者的抗体。不需要存在免疫球蛋白恒定区,但如果存在,它们完全或基本上来自人类免疫球蛋白恒定区。

[0074] 抗体与其靶抗原的特异性结合是指亲和力为至少 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 或 $10^{10}M^{-1}$ 。特异性结合在量级上可检测地更高,并且可与对于至少一种不相关靶标发生的非特异性结合相区分。特异性结合可以是特定官能团或特定空间配合(例如锁和钥匙类型)之间形成键的结果,而非特异性结合通常是范德华力的结果。然而,特异性结合并不一定意味着单克隆抗体结合一个且仅一个靶标。

[0075] 关于如本文所述的蛋白质,提及对应于由SEQ ID NO指定的那些的氨基酸残基包括此类残基的翻译后修饰。

[0076] 如本文所用的术语“稀释剂”是指适用于改变或实现如本文所述的示例性或适当浓度的溶液。

[0077] 术语“容器”是指可以放置或容纳物体或液体的东西,例如,用于储存(例如,保持器、接受器、器皿等)。

[0078] 术语“施用途径”包括本领域公认的用于递送治疗性蛋白质的施用途径,例如肠胃外、静脉内、肌肉内或皮下。对于用于治疗癌症的抗体的施用,可能需要通过静脉内或皮下施用进入体循环。对于以实体瘤为特征的癌症的治疗,如果需要,也可以将施用直接定位到肿瘤中。

[0079] 术语“治疗”是指向患有疾病的患者施用治疗剂,目的是治愈、痊愈、减轻、延迟、缓解、改变、补救、改善、改进或影响疾病。

[0080] 术语“紫杉醇”是指原始形式的化学治疗剂紫杉醇或各种制剂,例如“白蛋白结合型紫杉醇”和“ABRAXANE[®]”,其是含有白蛋白结合型紫杉醇的紫杉醇商标名称。

[0081] 术语“患者”包括接受预防性或治疗性治疗的人类和其他哺乳动物受试者。

[0082] 术语“有效量”、“有效用量”或“有效剂量”是指足以实现或至少部分实现所需效果,例如足以抑制疾病或病症的发生或改善疾病或病症的一种或多种症状的量。有效量的药物组合物以“有效方案”施用。术语“有效方案”是指组合物的施用量和足以实现疾病或病症的预防性或治疗性治疗的剂量频率的组合。

[0083] 如本文所用,术语“约”表示指定值 $\pm 10\%$ 的近似范围。例如,术语“约 $20\mu\text{g}/\text{kg}$ ”涵盖 $18\text{--}22\mu\text{g}/\text{kg}$ 的范围。如本文所用,约还包括确切量。因此,“约 $20\mu\text{g}/\text{kg}$ ”是指“约 $20\mu\text{g}/\text{kg}$ ”以及“ $20\mu\text{g}/\text{kg}$ ”。

[0084] 如本文所用,“派姆单抗变体”是指包含与派姆单抗中的那些基本相同的重链和轻链序列的单克隆抗体,不同之处在于在位于轻链CDR之外的位置处具有三个、两个或一个保守氨基酸替换以及在位于重链CDR之外的位置处具有六个、五个、四个、三个、两个或一个保守氨基酸替换,例如,变体位置位于可变区的FR(框架)区中或位于恒定区中,并且任选地具有重链C末端赖氨酸残基的缺失。换言之,派姆单抗和派姆单抗变体包含相同的CDR序列,但由于在其全长轻链和重链序列中分别在不超过三个或六个其他位置处具有保守氨基酸替换而彼此不同。派姆单抗变体在以下特性方面与派姆单抗基本相同:对PD-1的结合亲和力和阻断PD-L1和PD-L2中的每一者与PD-1结合的能力。

[0085] “PD-1拮抗剂”是指阻断PD-L1 (例如,在癌细胞上表达) 与PD-1 (例如,在免疫细胞(T细胞、B细胞或NKT细胞上表达)) 结合的任何化学化合物或生物分子,并且优选还阻断PD-L2 (例如,在癌细胞上表达) 与PD-1 (例如,免疫细胞表达的PD-1) 的结合。PD-1及其配体的替代名称或同义词包括:PD-1的PDCD1、PD1、CD279和SLEB2;PD-L1的PDCD1L1、PDL1、B7H1、B7-4、CD274和B7-H;以及PD-L2的PDCD1L2、PDL2、B7-DC、Btdc和CD273。在治疗人类个体的本发明的任何治疗方法、药物和用途中,PD-1拮抗剂阻断人类PD-L1与人类PD-1的结合,并且优选阻断人类PD-L1和PD-L2与人类PD-1的结合。人类PD-1氨基酸序列可见于NCBI基因座编号:NP_005009。人类PD-L1和PD-L2氨基酸序列分别可见于NCBI基因座编号:NP_054862和NP_079515。

[0086] 如本文所用,“SEA-CD40变体”是指包含与SEA-CD40中的那些基本相同的重链和轻链序列的单克隆抗体,不同之处在于在位于轻链CDR之外的位置处具有三个、两个或一个保守氨基酸替换以及在位于重链CDR之外的位置处具有六个、五个、四个、三个、两个或一个保守氨基酸替换,例如,变体位置位于可变区的FR(框架)区中或位于恒定区中,并且任选地具有重链C末端赖氨酸残基的缺失。换言之,SEA-CD40和SEA-CD40变体包含相同的CDR序列,但由于在其全长轻链和重链序列中不超过三个或六个其他位置处分别具有保守氨基酸替换而彼此不同。SEA-CD40变体在以下特性方面与SEA-CD40基本相同:对CD40的结合亲和力和非岩藻糖基化特征。

[0087] “保守氨基酸替换”是指蛋白质中的氨基酸用具有相似特征(例如电荷、侧链大小、疏水性/亲水性、骨架构象和刚性等)的其他氨基酸替换,使得可以在不改变蛋白质的生物活性或其他所需特性(例如抗原亲和力和/或特异性)的情况下进行常规改变。本领域技术人员认识到,一般来说,多肽的非必需区域中的单个氨基酸替换不会实质改变生物活性(参见例如Watson等人,(1987)Molecular Biology of the Gene,The Benjamin/Cummings Pub.Co.,第224页(第4版))。此外,结构或功能相似的氨基酸的替换不太可能破坏生物活性。示例性保守替换示于表1中。

[0088] 表1. 示例性保守氨基酸替换

原始残基	保守替换
Ala (A)	Gly; Ser
Arg (R)	Lys; His
Asn (N)	Gln; His

[0089]

[0090]	Asp (D)	Glu; Asn
	Cys (C)	Ser; Ala
	Gln (Q)	Asn
	Glu (E)	Asp; Gln
	Gly (G)	Ala
	His (H)	Asn; Gln
	Ile (I)	Leu; Val
	Leu (L)	Ile; Val
	Lys (K)	Arg; His
	Met (M)	Leu; Ile; Tyr
	Phe (F)	Tyr; Met; Leu
	Pro (P)	Ala
	Ser (S)	Thr
	Thr (T)	Ser
	Trp (W)	Tyr; Phe
	Tyr (Y)	Trp; Phe
	Val (V)	Ile; Leu

[0091] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解相同含义。本文描述了用于本发明的方法和材料;也可以使用本领域已知的其他合适的方法和材料。所述材料、方法和实施例仅是说明性的而不旨在具限制性。本文提及的所有出版物、专利申请、专利、序列、数据库条目和其他参考文献均通过引用整体并入。在冲突的情况下,以本说明书(包括定义)为准。

附图说明

[0092] 图1A显示以下CT26结肠癌模型小鼠的中位肿瘤体积:未经治疗(G1;对照);施用抗mPD-1替代抗体(G2;“抗PD1”);施用SEA-m1C10(G3;“SEA-m1C10”);或通过同时给药施用SEA-m1C10和抗mPD1替代抗体(G4;“SEA-m1C10+抗PD1”)。

[0093] 图1B显示以下CT26结肠癌模型小鼠的中位肿瘤体积:未经治疗(G1;对照);施用抗mPD-1替代抗体(G2;“抗PD1”);施用SEA-m1C10(G3;“SEA-m1C10”);或通过交错给药施用SEA-m1C10和抗mPD1替代抗体(G4;“SEA-m1C10+抗PD1”)。SEA-m1C10给药和抗PD1给药的时间段由X轴上的垂直线标记。

[0094] 图2A显示以下A20播散性淋巴瘤模型小鼠的存活曲线:未经治疗(G1;对照);施用抗mPD-1替代抗体(G2;“抗PD1”);施用SEA-m1C10(G3;“SEA-m1C10”);或通过同时给药施用SEA-m1C10和抗mPD1替代抗体(G4;“SEA-m1C10+抗PD1”)。

[0095] 图2B显示以下A20播散性淋巴瘤模型小鼠的平均肿瘤体积:未经治疗(G1;对照);施用抗mPD-1替代抗体(G2;“抗PD1”);施用SEA-m1C10(G3;“SEA-m1C10”);或通过交错给药施用SEA-m1C10和抗mPD1替代抗体(G4;“SEA-m1C10+抗PD1”)。SEA-m1C10给药和抗PD1给药的时间段由X轴上的垂直线标记。

[0096] 图3A显示以下RENCA肾细胞癌模型小鼠的平均肿瘤体积:未经治疗(G1;对照);施

用抗mPD-1替代抗体(G2;“抗PD1”);施用SEA-m1C10(G3;“SEA-m1C10”);或通过同时给药施用SEA-m1C10和抗mPD1替代抗体(G4;“SEA-m1C10+抗PD1”)。

[0097] 图3B显示以下RENCA肾细胞癌模型小鼠的平均肿瘤体积:未经治疗(G1;对照);施用抗mPD-1替代抗体(G2;“抗PD1”);施用SEA-m1C10(G3;“SEA-m1C10”);或通过交错给药施用SEA-m1C10和抗mPD1替代抗体(G4;“SEA-m1C10+抗PD1”)。SEA-m1C10给药和抗PD1给药的时间段由X轴上的垂直线标记。

[0098] 图4列出了本公开中讨论的序列。可变区以粗体和下划线显示。

具体实施方式

[0099] 本公开涉及使用抗CD40抗体如SEA-CD40和抗PD-1抗体如派姆单抗的组合治疗癌症的方法。在一个方面,本公开还提供了使用抗CD40抗体、抗PD-1抗体和化学疗法的组合治疗癌症的方法。

[0100] CD40

[0101] CD40是肿瘤坏死因子(TNF)受体超家族的成员。它是一种单链I型跨膜蛋白,表观MW为50kDa。其成熟多肽核心由237个氨基酸组成,其中173个氨基酸构成胞外结构域(ECD),所述结构域组织成4个富含半胱氨酸的重复序列,所述重复序列是TNF受体家族成员的特征。ECD的膜近端区域中存在两个潜在的N-连接糖基化位点,而潜在的O-连接糖基化位点不存在。22个氨基酸的跨膜结构域将ECD与CD40的42个氨基酸的胞质尾部连接起来。已在CD40胞质尾部中鉴定出参与CD40介导的信号转导的序列基序。这些基序与称为TNF-R相关因子(TRAF)的细胞质因子相互作用以触发多种下游事件,包括激活MAP激酶和NF κ B,其转而调节多种炎症、存活和生长相关基因的转录活性。参见例如van Kooten和Banchereau, *J.Leukoc.Biol.* 67:2-17 (2000); Elgueta等人, *Immunol.Rev.* 229:152-172 (2009)。

[0102] 在造血系统中,CD40可以在处于多个分化阶段的B细胞、单核细胞、巨噬细胞、血小板、滤泡树突细胞、树突细胞(DC)、嗜酸性粒细胞和活化的T细胞上发现。在正常的非造血组织中,已在肾上皮细胞、角质形成细胞、滑膜和真皮来源的成纤维细胞以及活化的内皮中检测到CD40。可溶性形式的CD40从表达CD40的细胞中释放出来,这可能是通过初级转录物的差异剪接或金属蛋白酶TNF α 转化酶的有限蛋白水解。脱落的CD40可以通过干扰CD40/CD40L相互作用来潜在地调节免疫反应。参见例如van Kooten和Banchereau, *J.Leukoc.Biol.* 67:2-17 (2000); Elgueta等人, *Immunol.Rev.* 229:152-172 (2009)。

[0103] CD40的内源性配体(CD40L)是39kDa的II型膜糖蛋白,也称为CD154。CD40L是一种TNF超家族成员并且在细胞表面上以三聚体形式表达。CD40L在活化的CD4⁺、CD8⁺和 γ δ T细胞上瞬时表达。CD40L在纯化的单核细胞、活化B细胞、上皮和血管内皮细胞、平滑肌细胞和DC上也可以不同水平检测到,但这些细胞类型上CD40L表达的功能相关性尚未明确定义(van Kooten 2000; Elgueta 2009)。然而,活化血小板上CD40L的表达与血栓性疾病的发病机制有关。参见例如Ferroni等人, *Curr.Med.Chem.* 14:2170-2180 (2007)。

[0104] CD40/CD40L相互作用的最佳表征功能是其抗原呈递细胞和T细胞之间的接触依赖性互逆相互作用中的作用。参见例如van Kooten和Banchereau, *J.Leukoc.Biol.* 67:2-17 (2000); Elgueta等人, *Immunol.Rev.* 229:152-172 (2009)。活化T细胞上的CD40L与抗原活化B细胞上的CD40结合不仅驱动快速B细胞扩增,而且为B细胞分化为记忆B细胞或浆细胞提供

必要信号。CD40信号传导负责形成生发中心,在该生发中心中B细胞经历亲和力成熟和同种型转换以获得产生IgG、IgA和IgE同种型的高亲和力抗体的能力。参见例如Kehry, J. Immunol. 156:2345-2348 (1996)。因此,具有阻止功能性CD40/CD40L相互作用的CD40L基因座突变的个体患有原发性免疫缺陷X连锁高IgM综合征,其特征在于循环IgM的过度表现以及无法产生IgG、IgA和IgE。这些患者表现出继发性体液免疫反应受到抑制,对复发性热原感染的易感性增加,以及癌瘤和淋巴瘤的发生率更高。在小鼠中进行的基因敲除实验使CD40或CD40L基因座失活,再现了X连锁高IgM患者的主要缺陷。这些KO小鼠还表现出抗原特异性T细胞启动受损,这表明CD40L/CD40相互作用也是增加细胞介导免疫反应的关键因素。参见例如Elgueta等人, Immunol. Rev. 229:152-172 (2009)。

[0105] CD40L或抗CD40在体内的CD40连接的免疫刺激作用与针对同源肿瘤的免疫反应相关。参见例如French等人, Nat. Med. 5:548-553 (1999)。针对肿瘤细胞的免疫反应不足可能是由例如以下因素的组合引起:免疫检查点分子如PD1或CTLA-4的表达、MHC抗原的表达降低、肿瘤相关抗原的表达不佳、适当的粘附或共刺激分子,以及肿瘤细胞产生免疫抑制蛋白如TGFβ。抗原呈递和转化细胞上的CD40连接导致粘附蛋白(例如,CD54)、共刺激分子(例如,CD86)和MHC抗原的上调,以及炎性细胞因子分泌,从而潜在地诱导和/或增强抗肿瘤免疫反应,以及肿瘤细胞的免疫原性。参见例如Gajewski等人, Nat. Immunol. 14:1014-1022 (2013)。

[0106] CD40交联的主要结果是DC活化(通常称为许可(licensing))以及增强骨髓和B细胞加工和呈递肿瘤相关抗原给T细胞的能力。除了具有激活先天免疫反应的直接能力外,CD40信号传导的一个独特结果是APC在称为“交叉启动”的过程中将肿瘤源抗原呈递给CD8+细胞毒性T细胞(CTL)前体。这种CD40依赖性激活和成熟DC将CTL前体分化为肿瘤特异性效应CTL可以增强细胞介导的针对肿瘤细胞的免疫反应。参见例如Kurts等人, Nat. Rev. Immunol. 10:403-414 (2010)。

[0107] 激动性CD40 mAb,包括达西组单抗(dacetuzumab)、SEA-CD40母体分子(岩藻糖基化抗CD40抗体),在单一药剂和组合化学疗法情形中显示出令人鼓舞的临床活性。达西组单抗在NHL的1期研究和弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)的2期研究中显示出一些临床活性。参见例如Advani等人, J. Clin. Oncol. 27:4371-4377 (2009)和De Vos等人, J. Hematol. Oncol. 7:1-9 (2014)。此外,CP-870,893是一种针对CD40的人源化IgG2激动剂抗体,当与紫杉醇或卡铂或吉西他滨组合使用时,在实体瘤适应症中表现出令人鼓舞的活性。在这些研究中,观察到抗原呈递细胞的活化、细胞因子产生和抗原特异性T细胞的产生。参见例如Beatty等人, Clin. Cancer Res. 19:6286-6295 (2013)和Vonderheide等人, Oncoimmunology 2:e23033 (2013)。

[0108] 抗CD40抗体

[0109] 抗CD40抗体,例如S2C6,已在通过引用并入本文的US20170333556A1中公开。S2C6抗体是CD40信号通路的部分激动剂,因此具有以下活性:结合于人类CD40蛋白、结合于食蟹猴CD40蛋白、激活CD40信号通路、增强CD40与其配体CD40L的相互作用。参见例如美国专利第6,946,129号,其通过引用并入本文。

[0110] 人源化抗CD40抗体,例如人源化S2C6 (hS2C6),已在US8303955B2和US8492531B2中公开,两者均通过引用并入本文。

[0111] 非岩藻糖基化的抗CD40抗体,例如hS2C6或SEA-CD40已在US20170333556A1中公开。除了增强与Fc受体的结合外,与母体抗体达西组单抗相比,SEA-CD40还增强了CD40通路的活性。因此,将SEA-CD40抗体以较低剂量并使用不同的施用方案施用于患者。

[0112] 如US20170333556A1中所述,SEA-CD40表现出增强的与Fc γ III受体的结合,以及增强的激活免疫细胞中CD40信号通路的能力。US20170333556A1中还公开了制备包括SEA-CD40的非岩藻糖基化抗体的方法。

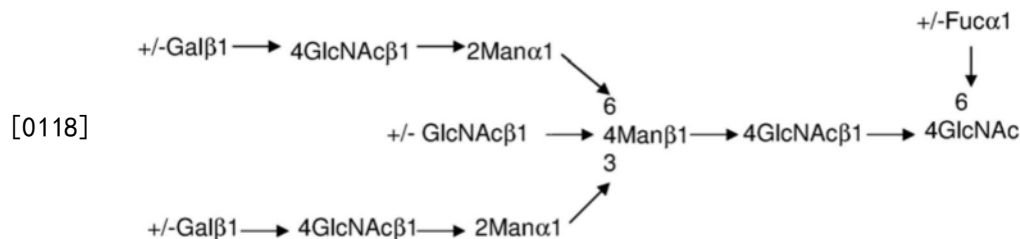
[0113] SEA-CD40的重链和轻链的氨基酸序列分别公开为SEQ ID NO:1和2(参见图4)。如US20170333556A1中所公开的,重链的可变区来自SEQ ID NO:1的氨基酸1-113。轻链的可变区来自SEQ ID NO:2的氨基酸1-113。

[0114] 在一些实施方式中,本文公开的人源化抗CD40抗体可用于治疗与如本文所述的CD40表达相关的各种病症。由于SEA-CD40激活免疫系统以对肿瘤相关抗原作出反应,因此其用途不仅限于表达CD40的癌症。因此,SEA-CD40可以用于治疗CD40阳性和CD40阴性癌症两者。

[0115] 制备非岩藻糖基化抗体的方法

[0116] 本公开提供了用于制备具有降低的核心岩藻糖基化的人源化S2C6抗体的组合物和方法。如本文所用,“核心岩藻糖基化”是指在N-连接聚糖的还原末端向N-乙酰葡萄糖胺(“GlcNAc”)添加岩藻糖(“岩藻糖基化”)。

[0117] 与SEA-CD40抗体骨架的Fc区(或结构域)结合的复合N-糖苷连接糖链的岩藻糖基化减少。如本文所用,“复合N-糖苷连接糖链”通常与天冬酰胺297结合(根据如Kabat, “Sequences of Immunological Interest, 第5版, 公开号91-3242, U.S. Dept. Health & Human Services, NIH, Bethesda, MD, 1991中所述的EU索引)。如本文所用,复合N-糖苷连接糖链具有双触角复合糖链,主要具有以下结构:



[0119] 其中±指示糖分子可以存在或不存在,并且数字指示糖分子之间的连接位置。在上述结构中,与天冬酰胺结合的糖链末端称为还原末端(右侧),并且相反侧称为非还原末端。岩藻糖通常通过 $\alpha 1,6$ 键与还原末端的N-乙酰基葡萄糖胺(“GlcNAc”)结合(GlcNAc的6位与岩藻糖的1位连接)。“Gal”是指半乳糖,并且“Man”是指甘露糖。

[0120] “复合N-糖苷连接糖链”包括1)复合型,其中核心结构的非还原末端侧具有半乳糖-N-乙酰基葡萄糖胺(也称为“gal-GlcNAc”)的一个或多个分支并且Gal-GlcNAc的非还原末端侧任选地具有唾液酸、二等分N-乙酰基葡萄糖胺等;或2)杂合型,其中核心结构的非还原末端侧具有高甘露糖N-糖苷连接糖链和复合N-糖苷连接糖链的两个分支。

[0121] 在一些实施方式中,“复合N-糖苷连接糖链”包括其中核心结构的非还原末端侧具有半乳糖-N-乙酰基葡萄糖胺(也称为“gal-GlcNAc”)的零个、一个或多个分支并且Gal-GlcNAc的非还原末端侧任选地进一步具有例如唾液酸、二等分N-乙酰基葡萄糖胺等的结构的复合类型。

[0122] 根据本发明的方法,通常仅少量岩藻糖并入SEA-CD40分子的复合N-糖苷连接糖链中。例如,在多个实施方式中,少于约60%、少于约50%、少于约40%、少于约30%、少于约20%、少于约15%、少于约10%、少于约5%或少于约3%的抗体具有通过岩藻糖进行的核心岩藻糖基化。在一些实施方式中,约2%的抗体具有通过岩藻糖进行的核心岩藻糖基化。

[0123] 在某些实施方式中,仅少量岩藻糖类似物(或岩藻糖类似物的代谢物或产物)并入复合N-糖苷连接糖链中。例如,在多个实施方式中,少于约40%、少于约30%、少于约20%、少于约15%、少于约10%、少于约5%或少于约3%的SEA-CD40抗体具有通过岩藻糖类似物或岩藻糖类似物的代谢物或产物进行的核心岩藻糖基化。在一些实施方式中,约2%的SEA-CD40抗体具有通过岩藻糖类似物或岩藻糖类似物的代谢物或产物进行的核心岩藻糖基化。

[0124] 通过将产生抗体的细胞与岩藻糖类似物一起温育来制备非岩藻糖基化抗体的方法描述于例如WO/2009/135181中。简而言之,在岩藻糖类似物或岩藻糖类似物的细胞内代谢物或产物存在下温育经工程化以表达人源化S2C6抗体的细胞。如本文所用,细胞内代谢物可以是例如GDP修饰的类似物或完全或部分去酯化的类似物。产物可以是例如完全或部分去酯化的类似物。在一些实施方式中,岩藻糖类似物可以抑制岩藻糖补救途径中的酶。例如,岩藻糖类似物(或岩藻糖类似物的细胞内代谢物或产物)可以抑制岩藻糖激酶或GDP-岩藻糖-焦磷酸化酶的活性。在一些实施方式中,岩藻糖类似物(或岩藻糖类似物的细胞内代谢物或产物)抑制岩藻糖基转移酶(优选1,6-岩藻糖基转移酶,例如FUT8蛋白)。在一些实施方式中,岩藻糖类似物(或岩藻糖类似物的细胞内代谢物或产物)可以抑制岩藻糖从头合成途径中酶的活性。例如,岩藻糖类似物(或岩藻糖类似物的细胞内代谢物或产物)可以抑制GDP-甘露糖4,6-脱水酶或/或GDP-岩藻糖合成酶的活性。在一些实施方式中,岩藻糖类似物(或岩藻糖类似物的细胞内代谢物或产物)可以抑制岩藻糖转运蛋白(例如,GDP-岩藻糖转运蛋白)。

[0125] 在一些实施方式中,岩藻糖类似物是2-氟岩藻糖(2-fluorofucose)。在生长培养基中使用岩藻糖类似物和其他岩藻糖类似物的方法公开于例如WO/2009/135181中,其通过引用并入本文。

[0126] 用于工程化细胞系以减少核心岩藻糖基化的其他方法包括基因敲除、基因敲入和RNA干扰(RNAi)。在基因敲除中,编码FUT8(α 1,6-岩藻糖基转移酶)的基因被灭活。FUT8催化将岩藻糖残基从GDP-岩藻糖转移到N-聚糖的Asn-连接(N-连接)GlcNac的第6位。据报道,FUT8是唯一负责将岩藻糖添加到N连接双触角碳水化合物的Asn297处的酶。基因敲入添加了编码酶如GNTIII或高尔基 α 甘露糖苷酶II的基因。细胞中此类酶水平的增加使单克隆抗体从岩藻糖基化途径转移(导致核心岩藻糖基化降低),并增加了二等分N-乙酰基葡萄糖胺的量。RNAi通常也针对FUT8基因表达,导致mRNA转录物水平降低或完全敲除基因表达。这些方法中的任何一种都可以用于产生可以产生非岩藻糖基化抗体(例如SEA-CD40抗体)的细胞系。

[0127] 本领域技术人员会认识到许多方法可用于确定抗体上的岩藻糖基化的量。方法包括例如经由PLRP-S色谱法的LC-MS和电喷雾电离四极杆TOF MS。

[0128] 非岩藻糖基化抗体SEA-CD40在施用于患者时诱导激活单核细胞成熟为巨噬细胞并诱导细胞因子(包括例如干扰素- γ (IFN- γ))和引发对免疫系统攻击的鲁棒T细胞反应的趋化因子的产生。与完全激动性抗体(例如抗体24.4.1.)不同,SEA-CD40不会诱导免疫减

弱细胞因子(例如白细胞介素-10(IL-10))的产生。反过来,IL-10会诱导T调节细胞的活性,从而减弱免疫反应。因此,SEA-CD40可用于诱导强大的T细胞介导的免疫反应,而不促进T调节细胞的活性。

[0129] 在一些实施方式中,本公开涉及一种包含非岩藻糖基化的抗CD40抗体如SEA-CD40的组合物,其中所述抗体如SEA-CD40的恒定区在根据EU索引的残基N297处具有N-糖苷连接糖链;并且其中所述组合物中少于40%、少于30%、少于20%、少于15%、少于10%、少于5%、少于3%、少于2%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。在一些实施方式中,所述组合物中少于20%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。在一些实施方式中,所述组合物中少于10%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。在一些实施方式中,所述组合物中少于5%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。在一些实施方式中,所述组合物中少于3%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。在一些实施方式中,所述组合物中少于2%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

[0130] 在一些实施方式中,本公开涉及通过施用包含非岩藻糖基化的抗CD40抗体如SEA-CD40的组合物来治疗癌症,其中所述抗体如SEA-CD40的恒定区在根据EU索引的残基N297处具有N-糖苷连接糖链;并且其中所述组合物中少于40%、少于30%、少于20%、少于15%、少于10%、少于5%、少于3%、少于2%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。在一些实施方式中,所述组合物中少于20%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。在一些实施方式中,所述组合物中少于10%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。在一些实施方式中,所述组合物中少于5%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。在一些实施方式中,所述组合物中少于3%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。在一些实施方式中,所述组合物中少于2%的N-糖苷连接糖链包含岩藻糖残基。

[0131] 人源化抗CD40抗体或药剂通过任何合适的方式施用,包括肠胃外、皮下、腹膜内、肺内和鼻内,并且如果需要局部免疫抑制治疗,则病灶内施用(包括灌注或在移植前以其他方式使移植植物接触抗体)。人源化抗CD40抗体或药剂可以例如作为输注或作为推注施用。肠胃外输注包括肌肉内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下施用。此外,人源化抗CD40抗体适合通过脉冲输注施用,特别是在抗体剂量递减的情况下。在一个方面,通过注射、最优选静脉内或皮下注射给药,部分取决于施用是短暂的还是长期的。

[0132] 对于疾病的预防或治疗,抗体的适当剂量取决于多种因素,例如如上定义的待治疗疾病的类型,疾病的严重程度和病程,施用抗体是出于预防目的或治疗目的,先前疗法,患者的临床病史和对抗体的反应,以及主治医师的判断。抗体适合一次或在一系列治疗中施用于患者。

[0133] 抗体组合物以符合良好医学实践的方式配制、给药和施用。在本文中考虑的因素包括正在治疗的特定病症、正在治疗的特定哺乳动物、个体患者的临床状况、病症的原因、药剂的递送部位、施用方法、施用时间安排,以及医学专业人员已知的其他因素。待施用的抗体的“治疗有效量”受这些考虑因素支配,并且是预防、改善或治疗包括癌症在内的癌症所必需的最小量。由于SEA-CD40激活免疫系统以对肿瘤相关抗原作出反应,因此其用途不限于表达CD40的癌症。因此,SEA-CD40可以用于治疗CD40阳性和CD40阴性癌症两者。

[0134] 所述抗体不需要但任选地与一种或多种目前用于预防或治疗所讨论病症的药剂一起配制。此类其他药剂的有效量取决于制剂中存在的人源化抗CD40抗体的量、病症或治

疗的类型以及上文讨论的其他因素。这些通常以与上文所用相同的剂量和施用途径使用，或为迄今使用剂量的约1%至99%。

[0135] 可用于本发明的治疗方法、药物和用途的PD-1拮抗剂包括单克隆抗体(mAb)或其抗原结合片段,其特异性结合于PD-1或PD-L1,并且优选特异性结合于人类PD-1或人类PD-L1。mAb可以是人类抗体、人源化抗体或嵌合抗体,并且可以包括人类恒定区。在一些实施方式中,人类恒定区选自由IgG1、IgG2、IgG3和IgG4恒定区组成的组,并且在优选实施方式中,人类恒定区是IgG1或IgG4恒定区。在一些实施方式中,抗原结合片段选自由Fab、Fab'-SH、F(ab')₂、scFv和Fv片段组成的组。

[0136] 与人类PD-1结合并且可用于本发明的治疗方法、药物和用途的mAb的实例描述于US7488802、US7521051、US8008449、US8354509、US8168757、W02004/004771、W02004/072286、W02004/056875和US2011/0271358中。在本发明的治疗方法、药物和用途中可用作PD-1拮抗剂的特定抗人类PD-1mAb包括:派姆单抗(也称为MK-3475),一种人源化IgG4 mAb,其结构描述于WHO Drug Information,第27卷,第2期,第161-162页(2013),并且其包含表2中所示的重链和轻链氨基酸序列;纳武单抗(BMS-936558),一种人类IgG4 mAb,其结构描述于WHO Drug Information,第27卷,第1期,第68-69页(2013);W02008/156712中描述的人源化抗体h409A11、h409A16和h409A17,以及MedImmune正在开发的AMP-514。

[0137] 与人类PD-L1结合并且可用于本发明的治疗方法、药物和用途的mAb的实例描述于W02013/019906、W02010/077634A1和US8383796。在本发明的治疗方法、药物和用途中可用作PD-1拮抗剂的特定抗人类PD-L1 mAb包括MPDL3280A、BMS-936559、MEDI4736、MSB0010718C以及W02013/019906的分别包含SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:21的重链和轻链可变区的抗体。

[0138] 可用于本发明的治疗方法、药物和用途的其他PD-1拮抗剂包括特异性结合于PD-1或PD-L1并且优选特异性结合于人类PD-1或人类PD-L1的免疫粘附素,例如,含有融合到恒定区如免疫球蛋白分子的Fc区的PD-L1或PD-L2的细胞外或PD-1结合部分的融合蛋白。特异性结合于PD-1的免疫粘附分子的实例描述于W02010/027827和W02011/066342。在本发明的治疗方法、药物和用途中可用作PD-1拮抗剂的特定融合蛋白包括AMP-224(也称为B7-DCIg),它是一种PD-L2-FC融合蛋白并且与人类PD-1结合。

[0139] 在本发明的治疗方法、药物和用途的一些优选实施方式中,所述PD-1拮抗剂是单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含:(a)轻链CDR SEQ ID NO:3、4和5以及(b)重链CDR SEQ ID NO:6、7和8。

[0140] 在本发明的治疗方法、药物和用途的其他优选实施方式中,所述PD-1拮抗剂是单克隆抗体或其抗原结合片段,其特异性结合于人类PD-1并且包含(a)包含SEQ ID NO:11的重链可变区或其变体,和(b)包含SEQ ID NO:6的轻链可变区或其变体。重链可变区序列的变体与参考序列相同,不同之处在于在框架区(即,在CDR之外)具有多达17个保守氨基酸替换,并且在框架区中优选具有少于十个、九个、八个、七个、六个或五个保守氨基酸替换。轻链可变区序列的变体与参考序列相同,不同之处在于在框架区(即,在CDR之外)具有多达五个保守氨基酸替换,并且在框架区中优选具有少于四个、三个或两个保守氨基酸替换。

[0141] 在本发明的治疗方法、药物和用途的另一个优选实施方式中,PD-1拮抗剂是与人类PD-1特异性结合的单克隆抗体,并且包含(a)包含SEQ ID NO:12的重链和(b)包含SEQ ID

NO:7的轻链。

[0142] 在所有上述治疗方法、药物和用途中,PD-1拮抗剂抑制PD-L1与PD-1的结合,并且优选还抑制PD-L2与PD-1的结合。在上述治疗方法、药物和用途的一些实施方式中,PD-1拮抗剂是单克隆抗体或其抗原结合片段,其与PD-1或PD-L1特异性结合并阻断PD-L1与PD-1的结合。在一个实施方式中,PD-1拮抗剂是包含重链和轻链的抗PD-1抗体,并且其中所述重链和轻链分别包含SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:7中的氨基酸序列。

[0143] 在一个实施方式中,PD-1拮抗剂是抗PD-1抗体。在一个实施方式中,抗PD-1抗体是派姆单抗。在一个实施方式中,抗PD-1抗体是派姆单抗变体。

[0144] 下面的表2提供了用于本发明的治疗方法、药物和用途中的示例性抗PD-1mAb的氨基酸序列的列表。

[0145] 表2. 示例性PD-1抗体序列

抗体特征	氨基酸序列	SEQ ID NO.
派姆单抗轻链		
CDR1	RASKGVSTSGYSYLH	3
CDR2	LASYLES	4
CDR3	QHSRDLPLT	5
可变区	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESQVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK	6
轻链	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESQVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	7
派姆单抗重链		
CDR1	NYMY	8
CDR2	GINPSNGGTNFNEKFKN	9
CDR3	RDYRFDMGFDY	10
可变区	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGINPSNGGTNFNEKFKNRVLTITDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTITVTVSS	11
重链	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGINPSNGGTNFNEKFKNRVLTITDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSLGK	12

[0147] 用于治疗癌症的抗CD40抗体如SEA-CD40的剂量和施用

[0148] 用于肠胃外施用的药物组合物优选是无菌的和基本上等渗的并且在GMP条件下制造。药物组合物可以以单位剂型(即,单次施用的剂量)提供。可以使用一种或多种生理学上可接受的载体、稀释剂、赋形剂或助剂来配制药组合物。配方取决于所选择的施用途径。

对于注射,抗体可以在水溶液中配制,优选在生理相容的缓冲液中配制,以减少注射部位的不适。溶液可以含有配方剂,例如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。或者,抗体可以是冻干形式,用于在使用前用合适的媒介物(例如,无菌无热原水)重构。

[0149] 在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40是静脉内施用的。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40是皮下施用的。在另一个实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40是在肿瘤部位皮下施用的。

[0150] SEA-CD40是一种激动性抗体并具有增强的与Fc γ 受体III的结合,并且表现出增强的CD40信号通路的激活。由于其增强的CD40通路激活,SEA-CD40是免疫系统的有效激活剂。与岩藻糖基化的亲本抗体相比,免疫系统的增强激活允许SEA-CD40以低水平给药。

[0151] 举例来说,抗CD40抗体如SEA-CD40可以以约0.1至约70 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (μg 抗体/公斤患者体重)的水平向患者施用。其他可能的剂量范围包括约1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和约20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。其他可能的剂量范围包括以下:约1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和约55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

[0152] 在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40以约1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约14 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约17 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约18 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约19 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约21 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约22 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约23 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约24 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约26 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约27 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约28 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约29 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约31 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约32 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约33 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约34 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约36 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约37 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约38 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约39 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约41 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约42 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约43 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约44 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约46 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约47 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约48 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约49 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约51 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约52 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约53 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约54 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约56 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约57 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约58 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约59 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约61 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约62 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约63 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约64 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约65 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约66 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约67 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约68 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约69 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或约70 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 施用于患者。在优选的实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40以约3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、约45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或约60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 施用于患者。在更优选的实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40以约30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或约10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 施用于癌症患者。在另一个更优选的实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40以约10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 施用于癌症患者。在又一个更优选的实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40以约30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 施用于癌症患者。

[0153] 抗CD40抗体如SEA-CD40可以以不同的间隔施用,包括一周间隔、两周间隔、三周间隔、四周间隔、五周间隔、六周间隔、七周间隔、八周间隔、九周、十周、十一周、十二周等。换言之,抗CD40抗体如SEA-CD40可以每周、每两周、每三周、每四周、每五周、每六周、每七周、每八周、每九周、每十周、每十一周、每十二周等施用。在一些实施方式中,间隔是按月安排的,例如,一个月间隔、两个月间隔或三个月间隔。在一些实施方式中,间隔是基于周期,其中每个周期可以包含一次或多次施用抗CD40抗体如SEA-CD40。每个周期的示例性长度包括一周、两周、三周、四周、五周、六周、七周、八周、九周、十周、十一周和十二周。从一个周期到下一个周期,周期的长度可能不同。抗CD40抗体如SEA-CD40可以在每个周期的任何一天或多天施用。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在周期的第一天施用。在一些实施方

式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在一个周期、两个周期、三个周期、四个周期、五个周期、六个周期、七个周期、八个周期、九个周期、十个周期、十一个周期、十二个周期、十三个周期、十四个周期、十五个周期或十六个周期的治疗期中在三周周期的第一天施用。

[0154] 抗CD40抗体如SEA-CD40可以在每个1周周期的第1天、第2天、第3天、第4天、第5天、第6天或第7天施用,即抗CD40抗体如SEA-CD40在治疗方案的第1天、第2天、第3天、第4天、第5天、第6天或第7天开始每周施用。抗CD40抗体如SEA-CD40可以在每个2周周期的第1天、第2天、第3天、第4天、第5天、第6天、第7天、第8天、第9天、第10天、第11天、第12天、第13天或第14天施用,即抗CD40抗体如SEA-CD40在治疗方案的第1天、第2天、第3天、第4天、第5天、第6天、第7天、第8天、第9天、第10天、第11天、第12天、第13天或第14天开始每两周施用。抗CD40抗体如SEA-CD40可以在每个3周周期的第1天、第2天、第3天、第4天、第5天、第6天、第7天、第8天、第9天、第10天、第11天、第12天、第13天、第14天、第15天、第16天、第17天、第18天、第19天、第20天或第21天施用,即抗CD40抗体如SEA-CD40在治疗方案的第1天、第2天、第3天、第4天、第5天、第6天、第7天、第8天、第9天、第10天、第11天、第12天、第13天、第14天、第15天、第16天、第17天、第18天、第19天、第20天或第21天开始每三周施用。抗CD40抗体如SEA-CD40可以在每个4周周期的第1天、第2天、第3天、第4天、第5天、第6天、第7天、第8天、第9天、第10天、第11天、第12天、第13天、第14天、第15天、第16天、第17天、第18天、第19天、第20天、第21天、第22天、第23天、第24天、第25天、第26天、第27天或第28天施用,即抗CD40抗体如SEA-CD40在治疗方案的第1天、第2天、第3天、第4天、第5天、第6天、第7天、第8天、第9天、第10天、第11天、第12天、第13天、第14天、第15天、第16天、第17天、第18天、第19天、第20天、第21天、第22天、第23天、第24天、第25天、第26天、第27天或第28天开始每四周施用。抗CD40抗体如SEA-CD40可以在每个5周周期的第1天、第2天、第3天、第4天、第5天、第6天、第7天、第8天、第9天、第10天、第11天、第12天、第13天、第14天、第15天、第16天、第17天、第18天、第19天、第20天、第21天、第22天、第23天、第24天、第25天、第26天、第27天、第28天、第29天、第30天、第31天、第32天、第33天、第34天或第35天施用,即抗CD40抗体如SEA-CD40在治疗方案的第1天、第2天、第3天、第4天、第5天、第6天、第7天、第8天、第9天、第10天、第11天、第12天、第13天、第14天、第15天、第16天、第17天、第18天、第19天、第20天、第21天、第22天、第23天、第24天、第25天、第26天、第27天、第28天、第29天、第30天、第31天、第32天、第33天、第34天或第35天开始每五周施用。抗CD40抗体如SEA-CD40可以在每个6周周期的第1天、第2天、第3天、第4天、第5天、第6天、第7天、第8天、第9天、第10天、第11天、第12天、第13天、第14天、第15天、第16天、第17天、第18天、第19天、第20天、第21天、第22天、第23天、第24天、第25天、第26天、第27天、第28天、第29天、第30天、第31天、第32天、第33天、第34天、第35天、第36天、第37天、第38天、第39天、第40天、第41天或第42天施用,即抗CD40抗体如SEA-CD40在治疗方案的第1天、第2天、第3天、第4天、第5天、第6天、第7天、第8天、第9天、第10天、第11天、第12天、第13天、第14天、第15天、第16天、第17天、第18天、第19天、第20天、第21天、第22天、第23天、第24天、第25天、第26天、第27天、第28天、第29天、第30天、第31天、第32天、第33天、第34天、第35天、第36天、第37天、第38天、第39天、第40天、第41天或第42天开始每六周施用。

[0155] 在本公开中,如技术人员会理解的,施用周期以可互换的天数或周数进行描述。例如,1周的施用周期与7天的施用周期相同;2周的施用周期与14天的施用周期相同;3周的施用周期与21周的施用周期相同;等等。

[0156] 与抗CD40抗体组合的派姆单抗用于治疗癌症的剂量和施用

[0157] 派姆单抗可以每三周一次以200mg或2mg/kg施用。在一些实施方式中,派姆单抗每六周一次以400mg施用。

[0158] 派姆单抗可以以不同的间隔施用,包括三周间隔和六周间隔。换言之,派姆单抗可以每三周或每六周施用。在一些实施方式中,间隔是基于周期,其中每个周期可以包含一次或多次施用派姆单抗。每个周期的示例性长度包括三周和六周。从一个周期到下一个周期,周期的长度可能不同。派姆单抗可以在每个周期的任何一天或多天施用。

[0159] 在一些实施方式中,作为派姆单抗的替代物,使用另一种抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体选自由以下组成的组:纳武单抗、西米普利单抗-rwlc、斯巴达珠单抗、AK105、替雷利珠单抗、多塔利单抗、MEDI0680、匹利珠单抗、AMP-224和SHR-1210。在一些实施方式中,所述抗PD-1抗体是派姆单抗、纳武单抗或西米普利单抗-rwlc。在一些实施方式中,所述抗PDL1抗体选自由以下组成的组:阿替利珠单抗(Atezolizumab)、德瓦鲁单抗(Durvalumab)、阿维单抗(Avelumab)、SHR-1316、MEDI4736、BMS-936559/MDX-1105、MSB0010718C、MPDL3280A或恩沃利单抗(Envafolimab)。在一些实施方式中,所述抗PDL1抗体是阿替利珠单抗、德瓦鲁单抗或阿维单抗。

[0160] 抗CD40抗体和派姆单抗组合疗法治疗癌症

[0161] 抗CD40抗体如SEA-CD40可以与派姆单抗组合用于治疗癌症。

[0162] 包括施用抗CD40抗体如SEA-CD40和施用派姆单抗的治疗方案可以具有不同的给药方案。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40以两周周期施用并且派姆单抗以三周周期施用。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40以三周周期施用并且派姆单抗也以三周周期施用。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40以四周周期施用并且派姆单抗以三周周期施用。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40以两周周期施用并且派姆单抗以六周周期施用。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40以三周周期施用并且派姆单抗以六周周期施用。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40以四周周期施用并且派姆单抗以六周周期施用。在一个优选的实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40以四周周期施用并且派姆单抗以三周周期施用。在另一个优选的实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40以四周周期施用并且派姆单抗以六周周期施用。

[0163] 在一个优选的实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在施用派姆单抗之前施用。在SEA-CD40之后给予派姆单抗可能是有益的,因为这个时间选择减轻了派姆单抗与免疫细胞结合后由于SEA-CD40对派姆单抗结合细胞的清除增强而导致免疫耗竭的可能性。在组合疗法中,每种药物的第一施用周期的第一天都在同一天开始。

[0164] 在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第1天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第2天施用。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第1天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第3天施用。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第1天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第4天施用。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第1天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第5天施用。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第1天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第6天施用。在一些实施方式中,抗CD40抗

如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第9天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第13天施用。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第9天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第14天施用。

[0173] 在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第10天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第11天施用。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第10天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第12天施用。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第10天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第13天施用。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第10天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第14天施用。

[0174] 在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第11天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第12天施用。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第11天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第13天施用。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第11天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第14天施用。

[0175] 在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第12天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第13天施用。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第12天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第14天施用。

[0176] 在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第13天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第14天施用。

[0177] 在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40在第一周期中的第一次施用是派姆单抗在第一周期中第一次施用之前1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天或14天。在一些实施方式中,派姆单抗的第一次施用是抗CD40抗体如SEA-CD40在第一周期中第一次施用之后1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天或14天。

[0178] 在一些实施方式中,每剂抗PD-1抗体在一剂抗CD40抗体之后至少1、2、3、4、5、6、7、8或9天施用。在一些实施方式中,抗PD-1抗体和抗CD40抗体不是在同一天施用。在一些实施方式中,施用抗PD-1抗体和施用抗CD40抗体之间的间隔是至少或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12或24小时,或至少或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天。

[0179] 在一些实施方式中,派姆单抗以约每2-4周(例如,约每2周、约每3周或约每4周)的周期施用。在一些实施方式中,派姆单抗以每14天、每15天、每16天、每17天、每18天、每19天、每20天、每21天、每22天、每23天、每24天、每25天、每26天、每27天或每28天的周期施用。在一些实施方式中,派姆单抗以约每5-7周(例如,约每5周、约每6周或约每7周)的周期施用。在一些实施方式中,派姆单抗以每35天、每36天、每37天、每38天、每39天、每40天、每41天、每42天、每43天、每44天、每45天、每46天、每47天、每48天或每49天的周期施用。

[0180] 在一些实施方式中,派姆单抗以约200mg的剂量每3周施用。在一些实施方式中,派姆单抗以200mg的剂量每3周施用。在一些实施方式中,派姆单抗以约2mg/kg的剂量每3周施用。在一些实施方式中,派姆单抗以400mg的剂量每6周施用。

[0181] 抗CD40抗体与化学疗法的组合疗法

[0182] 抗CD40抗体如SEA-CD40的组合疗法可以与化学疗法组合。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40和派姆单抗的组合疗法可以进一步与化学疗法组合。

[0183] 在大多数人中,数以百万计的细胞经由细胞凋亡而死亡并且在不产生免疫反应的情况下被去除。然而,在用一些化学治疗剂治疗后,已观察到免疫细胞浸润肿瘤。因此,一些被化学治疗剂杀死的肿瘤细胞充当疫苗并引发肿瘤特异性免疫反应。这种现象被称为免疫原性细胞死亡(ICD)。参见例如Kroemer等人, *Annu. Rev. Immunol.*, 31:51-72 (2013)。化学治疗剂诱导ICD的能力可以通过实验确定。必须满足两个标准。首先,在不存在佐剂的情况下,用已在体外用化学治疗剂治疗过的癌细胞向免疫活性小鼠注射必须引发对肿瘤抗原特异的保护性免疫反应。其次,在体内发生的ICD,例如使用潜在的ICD诱导化学治疗剂治疗的小鼠同源模型,必须在肿瘤中驱动依赖于免疫系统的免疫反应。

[0184] 诱导ICD的化学治疗剂包括例如蒽环类、抗EGFR抗体、硼替佐米(bortezomib)、环磷酰胺、吉西他滨、肿瘤照射和奥沙利铂(oxaliplatin)。抗CD40抗体如SEA-CD40和派姆单抗的组合可以与任何这些化学治疗药物组合使用,以产生增强的免疫反应并治疗患者的癌症。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40和派姆单抗的组合与吉西他滨、达卡巴嗪(dacarbazine)、替莫唑胺(temozolomide)、紫杉醇、白蛋白结合型紫杉醇(nab-紫杉醇)或卡铂中的一种或多种组合使用。**ABRAXANE[®]**是含有白蛋白结合型紫杉醇的紫杉醇商标名称。在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40和派姆单抗的组合与化学治疗剂吉西他滨和紫杉醇/nab-紫杉醇两者组合使用。

[0185] 在一些实施方式中,组合疗法包括抗CD40抗体如SEA-CD40、派姆单抗和化学疗法。在一些实施方式中,组合中使用的化学疗法包括吉西他滨或紫杉醇。在一些实施方式中,组合中使用的化学疗法包括吉西他滨和紫杉醇两者。在一些实施方式中,紫杉醇是nab-紫杉醇,例如**ABRAXANE[®]**。

[0186] 组合中使用的化学疗法可以以周期施用。在一些实施方式中,周期为1周,即每周施用化学疗法。在一些实施方式中,周期为2周,即每2周施用化学疗法。在一些实施方式中,周期为3周,即每3周施用化学疗法。在一些实施方式中,周期为4周,即每4周施用化学疗法。在一些实施方式中,周期为5周,即每5周施用化学疗法。在一些实施方式中,周期为6周,即每6周施用化学疗法。在一些实施方式中,周期为7周,即每7周施用化学疗法。在一些实施方式中,周期为8周,即每8周施用化学疗法。在每个周期中,可以施用一次或多次化学疗法。

[0187] 在一些实施方式中,在组合中使用的化学疗法以4周的周期施用,即,化学疗法每4周施用,其中化学疗法在每个周期中施用三次。在一些实施方式中,在每个周期的第1天、第8天和第15天施用组合施用的化学疗法。

[0188] 在一些实施方式中,以约每3-5周(例如,约每3周、约每4周或约每5周)的周期施用组合中使用的化学疗法。在一些实施方式中,组合中使用的化学疗法以每21天、每22天、每23天、每24天、每25天、每26天、每27天、每28天、每29天、每30天、每31天、每32天、每33天、每34天或每35天的周期施用。

[0189] 在一些实施方式中,组合中使用的化学疗法包括吉西他滨(例如, **INFUGEM[™]**) 和/或紫杉醇(例如, **ABRAXANE[®]**)。在一些实施方式中,吉西他滨在每个周期中施用1次、2次、

3次、4次或5次。在一些实施方式中,吉西他滨在每个周期(例如,28天周期)的第1天、第8天和第15天施用。在一些实施方式中,吉西他滨在每个周期(例如,21天周期)的第1天和第8天施用。在一些实施方式中,吉西他滨以例如在约20-60分钟(例如,约20分钟、约30分钟、约40分钟、约50分钟或约60分钟)内约800-1500mg/m²(例如,约800mg/m²、约850mg/m²、约900mg/m²、约950mg/m²、约1000mg/m²、约1050mg/m²、约1100mg/m²、约1150mg/m²、约1200mg/m²、约1250mg/m²、约1300mg/m²、约1350mg/m²、约1400mg/m²、约1450mg/m²或约1500mg/m²)的剂量施用。在一些实施方式中,紫杉醇在每个周期中施用1次、2次、3次、4次或5次。在一些实施方式中,紫杉醇在每个周期(例如,21天周期或28天周期)的第1天、第8天和第15天施用。在一些实施方式中,紫杉醇以例如在约20-60分钟(例如,约20分钟、约30分钟、约40分钟、约50分钟或约60分钟)内约50-300mg/m²(例如,约50mg/m²、约60mg/m²、约70mg/m²、约80mg/m²、约90mg/m²、约100mg/m²、约110mg/m²、约120mg/m²、约125mg/m²、约130mg/m²、约140mg/m²、约150mg/m²、约160mg/m²、约170mg/m²、约180mg/m²、约190mg/m²、约200mg/m²、约210mg/m²、约220mg/m²、约230mg/m²、约240mg/m²、约250mg/m²、约260mg/m²、约270mg/m²、约280mg/m²、约290mg/m²或约300mg/m²)的剂量施用。

[0190] 在一个优选的实施方式中,化学疗法的第一周期的第一次施用在施用抗CD40抗体如SEA-CD40之前给予,以允许由于化学疗法的结果而从肿瘤细胞中释放抗原。在一些实施方式中,在施用抗CD40抗体如SEA-CD40之前1天给予化学疗法。在一些实施方式中,在施用抗CD40抗体如SEA-CD40之前2天给予化学疗法。在一些实施方式中,在施用抗CD40抗体如SEA-CD40之前3天给予化学疗法。预计这个时间选择会增强抗CD40抗体如SEA-CD40引起抗肿瘤免疫反应的潜力。具体来说,抗CD40抗体如SEA-CD40可以刺激抗原更新和呈递,并因此预期在提高循环抗原水平的情形下最有效。此外,化学疗法后等待1-3天后再施用抗CD40抗体如SEA-CD40可以减轻协同毒性的可能性。

[0191] 在一些实施方式中,每剂抗CD40抗体在一剂化学疗法后至少1、2、3、4、5、6、7、8或9天施用。在一些实施方式中,化学疗法和抗CD40抗体不是在同一天施用。在一些实施方式中,化学疗法的施用和抗CD40抗体的施用之间的间隔是至少或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12或24小时,或至少或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天。

[0192] 在一些实施方式中,化学疗法在化学疗法的第一周期的第1天施用,抗CD40抗体如SEA-CD40在抗CD40抗体的第一周期的第3天施用,并且派姆单抗在派姆单抗的第一周期的第8天施用,其中化学疗法周期、抗CD40抗体周期和派姆单抗周期的第1天在同一天开始。

[0193] 在一个优选的实施方式中,组合疗法包括在28天周期的第1天、第8天和第16天施用化学疗法,在28天周期的第3天施用抗CD40抗体如SEA-CD40,和在42天周期的第8天施用派姆单抗。在一些实施方式中,组合疗法包括在28天周期的第1天、第8天和第16天施用化学疗法,在28天周期的第3天施用抗CD40抗体如SEA-CD40,和在21天周期的第8天施用派姆单抗。在一个优选的实施方式中,组合疗法包括在28天周期的第1天、第8天和第15天施用化学疗法,在28天周期的第3天施用抗CD40抗体如SEA-CD40,和在42天周期的第8天施用派姆单抗。在一些实施方式中,组合疗法包括在28天周期的第1天、第8天和第15天施用化学疗法,在28天周期的第3天施用抗CD40抗体如SEA-CD40,和在21天周期的第8天施用派姆单抗。在一些实施方式中,化学疗法包括吉西他滨和紫杉醇两者。在一些实施方式中,紫杉醇是nab-紫杉醇,例如ABRAXANE[®]。

[0194] 在一个方面,本公开涉及用化学疗法、派姆单抗和SEA-CD40的组合治疗胰腺癌,其中化学疗法在每个28天周期的第1天、第8天和第15天施用,其中SEA-CD40在每个28天周期的第3天施用,并且其中派姆单抗在每个42天周期的第8天施用。在一些实施方式中,化学疗法由吉西他滨和nab-紫杉醇(ABRAXANE[®])组成。在一些实施方式中,SEA-CD40是静脉内施用的。在一些实施方式中,SEA-CD40是皮下施用的。在一些实施方式中,派姆单抗以400mg施用。在一些实施方式中,派姆单抗以200mg施用。在一些实施方式中,SEA-CD40以10 μ g/kg施用。在一些实施方式中,SEA-CD40以30 μ g/kg施用。在一些实施方式中,胰腺癌是胰腺导管腺癌(PDAC)。在一些实施方式中,胰腺癌是转移性胰腺导管腺癌(PDAC)。

[0195] 在另一方面,本公开涉及用化学疗法、抗PD-1抗体和SEA-CD40的组合治疗胰腺癌,其中化学疗法在每个28天周期的第1天、第8天和第15天施用,其中SEA-CD40在每个28天周期的第3天施用,并且其中抗PD-1抗体在每个42天周期的第8天施用。在一些实施方式中,化学疗法由吉西他滨和nab-紫杉醇(ABRAXANE[®])组成。在一些实施方式中,SEA-CD40是静脉内施用的。在一些实施方式中,SEA-CD40是皮下施用的。在一些实施方式中,SEA-CD40以10 μ g/kg施用。在一些实施方式中,SEA-CD40以30 μ g/kg施用。在一些实施方式中,胰腺癌是胰腺导管腺癌(PDAC)。在一些实施方式中,胰腺癌是转移性胰腺导管腺癌(PDAC)。在一些实施方式中,抗PD-1抗体是派姆单抗。在一些实施方式中,派姆单抗以400mg施用。在一些实施方式中,派姆单抗以200mg施用。

[0196] 癌症

[0197] 抗CD40抗体如SEA-CD40、派姆单抗和化学疗法的组合疗法可以用于治疗各种类型的癌症,包括例如实体瘤或血癌。在一些实施方式中,癌症是黑色素瘤、乳腺癌(包括转移性乳腺癌)、肺癌(包括非小细胞肺癌)、胰腺癌、淋巴瘤;结直肠癌;或肾癌。在一些实施方式中,癌症是黑色素瘤;乳腺癌,包括转移性乳腺癌;肺癌,包括非小细胞肺癌;或胰腺癌。在一些实施方式中,胰腺癌是胰腺导管腺癌(PDAC)。在一些实施方式中,PDAC是转移性的。

[0198] 胰腺癌是所有癌症中死亡率最高的癌症之一,并且是美国成人癌症死亡的第四大常见原因,估计每年有42,470例病例。参见Nieto等人,The Oncologist,13:562-576(2008);和Cancer Facts and Figures,American Cancer Society(2009)。它占美国每年所有新诊断癌症的约3%。然而,几乎两倍数目的癌症患者(约6%)死于胰腺癌。参见Cancer Facts and Figures,American Cancer Society(2009)。胰腺癌的高死亡率是诊断时转移性疾病发生率高的结果。因此,只有5%-15%的患者是存在适合切除的肿瘤的候选者。参见Nieto等人,The Oncologist,13:562-576(2008)。

[0199] 在一个优选的实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40、派姆单抗和化学疗法的组合疗法可以用于治疗胰腺癌。在一些实施方式中,胰腺癌是转移性胰腺导管腺癌(PDAC)。

[0200] 在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40、派姆单抗和化学疗法的组合疗法用于治疗已知具有免疫反应性的肿瘤,特别是如果癌症表达低水平的CD40或不会可检测地表达CD40。免疫反应性癌症包括例如黑色素瘤;膀胱癌;肺癌,例如小细胞肺癌和非小细胞肺癌;卵巢癌;肾癌;胰腺癌;乳腺癌;宫颈癌;头颈癌;前列腺癌;胶质母细胞瘤;非霍奇金淋巴瘤;慢性淋巴细胞白血病;肝细胞癌;和多发性骨髓瘤。

[0201] 在一些实施方式中,抗CD40抗体如SEA-CD40、派姆单抗和化学疗法的组合疗法用

于治疗实体瘤。在另一个实施方式中,SEA-CD40用于治疗血癌,例如淋巴瘤,包括非霍奇金淋巴瘤和霍奇金淋巴瘤;慢性淋巴细胞白血病;或多发性骨髓瘤。

[0202] 本公开还提供了制造用于如本文所述的各种用途的组合疗法的方法。组合疗法可以与施用说明一起包括在容器、包装、药剂盒或分配器中。

[0203] 本发明的任何特征、步骤、元件、实施方式或方面可以与任何其他者组合使用,除非另有明确说明。尽管为了清楚和理解的目的已经通过说明和示例的方式对本发明进行了一些详细的描述,但是显然可以在权利要求书的范围内实施某些改变和修改。

[0204] 实施例

[0205] 本发明在以下实施例中进一步描述,这些实施例不限制权利要求书中描述的本发明的范围。

[0206] 实施例1:SEA-CD40、派姆单抗和化学治疗的组合治疗癌症患者

[0207] 正在评估化学疗法、SEA-CD40和派姆单抗的组合对胰腺癌的治疗。第1天给予化学疗法以刺激抗原释放,然后在第3天给予SEA-CD40。在化学疗法后等待1-2天再给予SEA-CD40允许由于化学疗法的结果从肿瘤细胞释放抗原。预计这个时间选择会增强SEA-CD40引起抗肿瘤免疫反应的潜力。具体来说,SEA-CD40可以刺激抗原更新和呈递,并因此预期在提高循环抗原水平的情形下最有效。此外,在化学疗法后等待1-2天再施用SEA-CD40可以减轻协同毒性的可能性。在第8天给予派姆单抗。在SEA-CD40之后给予派姆单抗可能是有益的,因为这个时间选择减轻了派姆单抗与免疫细胞结合后由于SEA-CD40对派姆单抗结合细胞的清除增强而导致免疫耗竭的可能性。SEA-CD40的给药水平在人体中产生显著的免疫刺激(例如10 μ g/kg或30 μ g/kg)。

[0208] 背景:SEA-CD40是一种针对CD40的研究性非岩藻糖基化人源化IgG1单克隆抗体,CD40是一种在抗原呈递细胞(APC)上表达的共刺激受体。APC上CD40的激活上调了细胞因子的产生和共刺激受体,从而增强了肿瘤抗原向T细胞的呈递。临床前数据表明,用化学疗法联合CD40激动剂治疗胰腺导管腺癌(PDAC)可以增强抗原呈递并引发抗肿瘤免疫反应(Byrne KT和Vonderheide RH,Cell Rep 2016;15,2719-32)。一项正在进行的1期研究(SGNS40-001)正在评价SEA-CD40作为单一疗法并与派姆单抗组合用于晚期实体或血液系统恶性肿瘤患者。一个新的组别被招募来评价SEA-CD40、吉西他滨、nab-紫杉醇和派姆单抗在转移性PDAC中的组合。**ABRAXANE[®]**是含有白蛋白结合型紫杉醇的紫杉醇商标名称。

[0209] 方法:所述组别由先前未接受过转移性疾病治疗的转移性PDAC患者组成。患者必须为18岁以上,在入组前完成(新)辅助疗法>4个月,ECOG(Eastern Cooperative Oncology Group)状态小于或等于1,肾、肝和血液学功能充足,以及患有可测量的疾病(根据RECIST v 1.1标准)。每个28天周期的第1天、第8天和第15天吉西他滨和nab-紫杉醇标准方案在第3天静脉内(IV)注射SEA-CD40。从第8天开始,每42天施用派姆单抗。主要目标是评价施用方案的抗肿瘤活性,并且次要目标是通过药代动力学分析评估SEA-CD40和派姆单抗的安全性和耐受性。功效终点是根据每位研究者(主要)的RECIST(实体瘤反应评价标准)ORR(客观反应率/总体反应率)、疾病控制率(反应或疾病稳定约16周)、反应持续时间、PFS(无进展生存期)和OS(客观反应/总体反应)确认。使用RECIST(实体瘤反应评价标准)和基于免疫的RECIST(iRECIST)每8周评估疾病。治疗持续到出现不可接受的毒性、根据iRECIST的进展性疾病、同意退出或研究结束。最初在6名患者组中进行剂量限制性毒性评估,以确定该组别

推荐的SEA-CD40的2期剂量。下表3说明了初始84天(12周;化学疗法和SEA-CD40的3个周期的28天周期;派姆单抗的2个周期的42天周期)的施用化学疗法、SEA-CD40和派姆单抗的天数。第84天之后的随后时间的施用天数遵循相同的方案。

[0210] 表3

	化学疗法(吉西他滨和nab-紫杉醇); 28天周期	SEA-CD40; 28天周期	派姆单抗; 42天周期
第1天	第1周期第1次施用		
第3天		第1周期施用	
第8天	第1周期第2次施用		第1周期施用
第15天	第1周期第3次施用		
第29天	第2周期第1次施用		
第31天		第2周期施用	
第36天	第2周期第2次施用		
第43天	第2周期第3次施用		
第50天			第2周期施用
第57天	第3周期第1次施用		
第59天		第3周期施用	
第64天	第3周期第2次施用		
第71天	第3周期第3次施用		

[0212] 实施例2:同时或交错给予SEA-CD40替代物和/或抗mPD-1替代抗体的鼠肿瘤模型

[0213] 小鼠模型已被证明在评估癌症治疗剂的功效和机制方面非常有用。在鼠癌症模型中研究SEA-CD40一直很困难,因为SEA-CD40不识别鼠CD40。因此,为了评估非岩藻糖基化抗CD40抗体的活性,开发了同源鼠肿瘤模型。人类IgG1和人类Fc γ RIII/CD16的鼠功能等效物分别是鼠IgG2a和鼠Fc γ RIV,并且鼠IgG2a与鼠Fc γ RIV的结合介导抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。参见例如Bruhns, Blood 119:5640-5649(2012)和Nimmeriahn等人, Immunity 23:41-51(2005)。大鼠抗体1C10用于产生SEA-CD40的替代物。参见例如Heath等人, Eur. J. Immunol. 24:1828-1834(1994)。简而言之,大鼠单克隆抗体的VL和VH基因片段可以识别鼠CD40。1C10抗体分别框内5'克隆到鼠C κ 和鼠IgG2a CH1-CH2-CH3片段。所得基因在CHO细胞中的表达产生了具有大鼠VL和VH结构域以及IgG2a同种型的鼠轻链和重链结构域的嵌合1C10抗体(mIgG2a 1C10)。使用美国专利申请公开第US 2017/0333556 A1号中描述的方法,在CHO细胞生长培养基中存在2-氟岩藻糖的情况下表达mIgG2a 1C10,以产生非岩藻糖基化形式的mIgG2a 1C10(mIgG2a SEA 1C10,或SEA-m1C10)。

[0214] 在实体同源肿瘤模型中研究了SEA-m1C10或抗mPD-1替代抗体(“抗PD1”)的单剂活性及其组合。基于SEA-CD40的机制(例如,增强抗原呈递细胞的活化,以及随后诱导扩增的抗肿瘤T细胞反应),在用抗mPD-1替代抗体进行初始治疗之前施用SEA-m1C10。

[0215] 将抗体的储备溶液稀释至适当的浓度,然后以100 μ l的体积注射到动物体内。SEA-m1C10的最终剂量为1mg/kg,并且抗mPD-1替代抗体的最终剂量为1mg/kg。在整个实验期间测量肿瘤长度、肿瘤宽度和小鼠体重,并计算肿瘤体积。当小鼠的肿瘤体积达到1000mm³时进行安乐死。

[0216] CT26结肠癌模型

[0217] 在对抗mPD-1替代抗体治疗有反应的CT26结肠癌模型中测试SEA-m1C10抗体和抗mPD-1替代抗体的组合活性。第0天对BALB/c小鼠在小鼠侧腹皮下植入CT26同源肿瘤细胞

系。当平均肿瘤大小(使用以下公式测量:体积(mm^3)= $0.5 \times \text{长度} \times \text{宽度}^2$,其中长度为较长尺寸并且宽度为较短尺寸)达到 100mm^3 时,将小鼠随机放入对照组G1和三个治疗组G2-G4(每组5只小鼠)。

[0218] 在一项实验中,治疗组小鼠在同一天经腹膜内施用单一药剂(抗mPD-1替代抗体(G2)或SEA-m1C10(G3)),或其组合(G4)。施用频率为每三天一次,共三次治疗。对照组小鼠(G1)未经治疗。小鼠的中位肿瘤体积示于图1A中。

[0219] 或者,治疗组G3和G4中的小鼠被施用3剂SEA-m1C10,相隔三天(例如,在从第9天到第15天的时段内)。在SEA-m1C10治疗的最后一天(例如,第15天),将第一剂抗mPD-1替代抗体施用于G2和G4组小鼠,然后间隔三天(例如,在从第15天到第21天的时段内)再接受另外2剂。对照组小鼠(G1)未经治疗。小鼠的中位肿瘤体积示于图1B中。

[0220] 结果表明,当单独施用时,SEA-m1C10没有表现出任何抗肿瘤作用。如图1A所示,当同时施用SEA-m1C10和抗mPD-1替代抗体时,未观察到组合活性或甚至拮抗活性。然而,当SEA-m1C10与抗mPD-1替代抗体以交错方式施用时,抗肿瘤活性得到增强(图1B)。上述结果表明,这些药剂的施用时间选择对于获得治疗益处很重要。此外,结果与提出的SEA-CD40作用机制一致。

[0221] A20播散性淋巴瘤模型

[0222] 还在A20淋巴瘤模型中测试了SEA-m1C10抗体和抗mPD-1替代抗体的组合活性。BALB/c小鼠经静脉内注射A20细胞,其在约2-4周内形成播散性淋巴瘤。A20播散性淋巴瘤模型在免疫活性雌性BALB/c小鼠中通过静脉内(IV)注射 1×10^6 个A20细胞/小鼠来起始。将小鼠随机放入对照组G1和三个治疗组G2-G4(每组6只小鼠)。

[0223] 在一项实验中,从肿瘤细胞接种后第7天开始,以q3d \times 3方案(每三天一次,共3次治疗)向治疗组小鼠腹膜内(i.p.)施用3mg/kg的抗体。对照组小鼠未经治疗。监测所有小鼠的体重减轻和肿瘤负荷症状,例如腹膜中的腹水。牺牲小鼠后进一步验证了肿瘤负荷。图2A显示了对照组小鼠(G1)、在同一天用抗mPD-1替代抗体(G2)、SEA-m1C10(G3)及其组合治疗的小鼠(G4)的存活曲线。

[0224] 在另一项实验中,经由皮下方法建立A20淋巴瘤模型。具体来说,允许肿瘤生长到约 100mm^3 并且治疗组G3和G4中的小鼠相隔三天(例如,在从第4天到第10天的时段内)施用3剂SEA-m1C10。在SEA-m1C10治疗的最后一天,向G2和G4组小鼠施用第一剂抗mPD1替代抗体(例如,在第10天),然后相隔三天(例如,在从第10天到第16天的时段内)再接受另外2剂。对照组小鼠(G1)未经治疗。小鼠的平均肿瘤体积示于图2B中。

[0225] 如图2A中所示,与对照组小鼠(G1)相比,用SEA-m1C10(G3)治疗的小鼠显著延长了动物存活率。此外,在A20播散性模型中同时施用SEA-m1C10和抗mPD1替代抗体没有表现出任何抗肿瘤活性,并且当一起施用时甚至表现出拮抗作用。相反,如图2B中所示,当SEA-m1C10与抗mPD-1替代抗体以交错方式施用时,抗肿瘤活性得以增强。例如,虽然抗mPD-1替代抗体(G2)和SEA-m1C10(G3)均延迟了肿瘤进展,分别有4/6和5/6的动物实现了完全反应(CR),但这两种药剂的组合活性惊人,驱使6/6的动物(G4)的肿瘤完全消退。

[0226] RENCA肾细胞癌模型

[0227] 还在皮下RENCA肾细胞同源模型中测试了SEA-m1C10抗体与抗mPD1替代抗体的组合活性。第0天,对BALB/c小鼠在小鼠侧腹皮下植入RENCA同源肿瘤细胞系。当平均肿瘤大小

(使用以下公式测量:体积(mm^3)= $0.5 \times \text{长度} \times \text{宽度}^2$,其中长度为较长尺寸并且宽度为较短尺寸)达到 100mm^3 时,将小鼠随机放入对照组G1和三个治疗组G2-G4(每组5只小鼠)。

[0228] 在一项实验中,治疗组小鼠在同一天腹膜内施用单一药剂(抗mPD-1替代抗体(G2)或SEA-m1C10(G3)),或其组合(G4)。施用频率为每三天一次,共三次治疗。对照组小鼠(G1)未经治疗。小鼠的平均肿瘤体积示于图3A中。

[0229] 或者,治疗组G3和G4中的小鼠被施用3剂SEA-m1C10,相隔三天(例如,在从第5天到第11天的时段内)。在SEA-m1C10治疗的最后一天(例如,第11天),将第一剂抗mPD-1替代抗体施用于G2和G4组小鼠,然后相隔三天(例如,在从第9天到第15天的时段内)再接受另外2剂。对照组小鼠(G1)未经治疗。小鼠的平均肿瘤体积示于图3B中。

[0230] 如图3A中所示,结果显示SEA-m1C10和抗mPD-1替代抗体的同时施用没有表现出任何抗肿瘤活性,并且当一起施用时甚至出现拮抗作用。如图3B中所示,虽然SEA-m1C10和抗mPD-1替代抗体都延迟了肿瘤进展,但以交错方式施用的这两种药剂的组合活性提高了抗肿瘤活性并导致肿瘤生长延迟。

[0231] 其他实施方式

[0232] 应当理解,虽然已经结合本发明的详细描述对本发明进行了描述,但是前述描述旨在说明而不是限制由权利要求书的范围限定的本发明的范围。其他方面、优点和修改在权利要求书的范围内。

序列表

<110> 思进公司 (Seagen Inc.) 和MSD国际有限公司 (MSD International GmbH)

<120> 癌症治疗

<130> 0040-01011PC

<150> 63/016,247

<151> 2020-04-27

<160> 12

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 444

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 重链可变区

<400> 1

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1           5           10           15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
           20           25           30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
           35           40           45
Ala Arg Val Ile Pro Asn Ala Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
           50           55           60
Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Asn Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65           70           75           80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
           85           90           95
Ala Arg Glu Gly Ile Tyr Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
           100          105          110
Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
           115          120          125
Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
           130          135          140
Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
145          150          155          160
Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
           165          170          175
Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

```

	180		185		190
Gln Thr Tyr	Ile Cys Asn Val	Asn His Lys Pro Ser	Asn Thr Lys Val		
	195		200		205
Asp Lys Lys	Val Glu Pro Lys	Ser Cys Asp Lys Thr	His Thr Cys Pro		
	210		215		220
Pro Cys Pro	Ala Pro Glu Leu Leu	Gly Gly Pro Ser Val	Phe Leu Phe		
225		230		235	240
Pro Pro Lys	Pro Lys Asp Thr	Leu Met Ile Ser Arg	Thr Pro Glu Val		
	245		250		255
Thr Cys Val	Val Val Asp Val	Ser His Glu Asp Pro	Glu Val Lys Phe		
	260		265		270
Asn Trp Tyr	Val Asp Gly Val	Glu Val His Asn Ala	Lys Thr Lys Pro		
	275		280		285
Arg Glu Glu	Gln Tyr Asn Ser Thr	Tyr Arg Val Val Ser	Val Leu Thr		
	290		295		300
Val Leu His	Gln Asp Trp Leu	Asn Gly Lys Glu Tyr	Lys Cys Lys Val		
305		310		315	320
Ser Asn Lys	Ala Leu Pro Ala	Pro Ile Glu Lys Thr	Ile Ser Lys Ala		
	325		330		335
Lys Gly Gln	Pro Arg Glu Pro	Gln Val Tyr Thr Leu	Pro Pro Ser Arg		
	340		345		350
Glu Glu Met	Thr Lys Asn Gln	Val Ser Leu Thr Cys	Leu Val Lys Gly		
	355		360		365
Phe Tyr Pro	Ser Asp Ile Ala	Val Glu Trp Glu Ser	Asn Gly Gln Pro		
	370		375		380
Glu Asn Asn	Tyr Lys Thr Thr	Pro Pro Val Leu Asp	Ser Asp Gly Ser		
385		390		395	400
Phe Phe Leu	Tyr Ser Lys Leu	Thr Val Asp Lys Ser	Arg Trp Gln Gln		
	405		410		415
Gly Asn Val	Phe Ser Cys Ser	Val Met His Glu Ala	Leu His Asn His		
	420		425		430
Tyr Thr Gln	Lys Ser Leu Ser	Leu Ser Pro Gly Lys			
	435		440		

<210> 2

<211> 219

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 轻链可变区

<223> 派姆单抗重链

<400> 8

Asn Tyr Tyr Met Tyr

1 5

<210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 派姆单抗重链

<400> 9

Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asn

<210> 10

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 派姆单抗重链

<400> 10

Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 11

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 派姆单抗重链可变区

<400> 11

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr

65					70					75				80	
Met	Glu	Leu	Lys	Ser	Leu	Gln	Phe	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85					90				95	
Ala	Arg	Arg	Asp	Tyr	Arg	Phe	Asp	Met	Gly	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
					100					105				110	
Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
					115									120	
<210>	12														
<211>	447														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	派姆单抗重链														
<400>	12														
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Val	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asn	Tyr
					20				25					30	
Tyr	Met	Tyr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
							40							45	
Gly	Gly	Ile	Asn	Pro	Ser	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Phe	Asn	Glu	Lys	Phe
							55							60	
Lys	Asn	Arg	Val	Thr	Leu	Thr	Thr	Asp	Ser	Ser	Thr	Thr	Thr	Ala	Tyr
65					70									80	
Met	Glu	Leu	Lys	Ser	Leu	Gln	Phe	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85									95	
Ala	Arg	Arg	Asp	Tyr	Arg	Phe	Asp	Met	Gly	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
					100									110	
Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
														125	
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala
														140	
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
145														160	
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
														175	
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
														190	
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys

195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro		
210	215	220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val		
225	230	235
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
245	250	255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu		
260	265	270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
275	280	285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
290	295	300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
305	310	315
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile		
325	330	335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
340	345	350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
355	360	365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
370	375	380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
385	390	395
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
405	410	415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		
420	425	430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys		
435	440	445

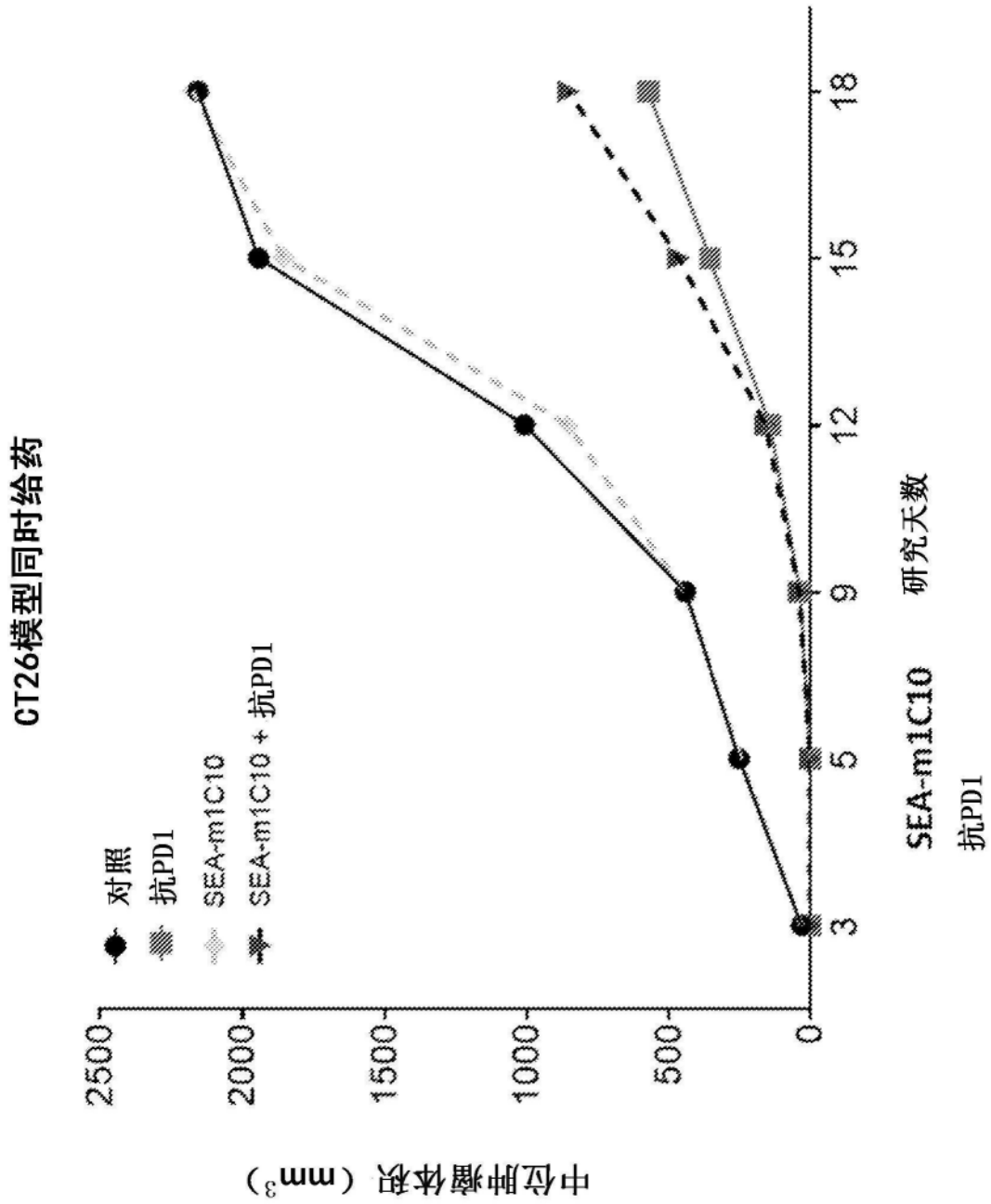


图1A

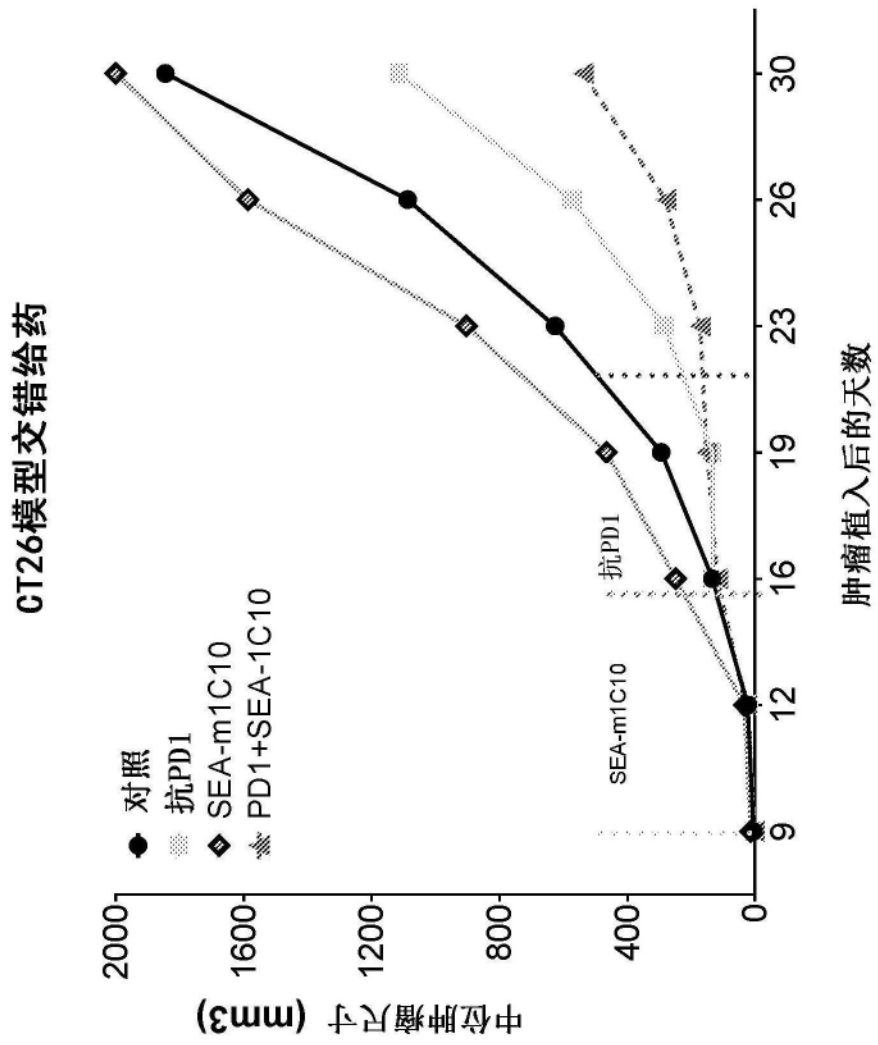


图1B

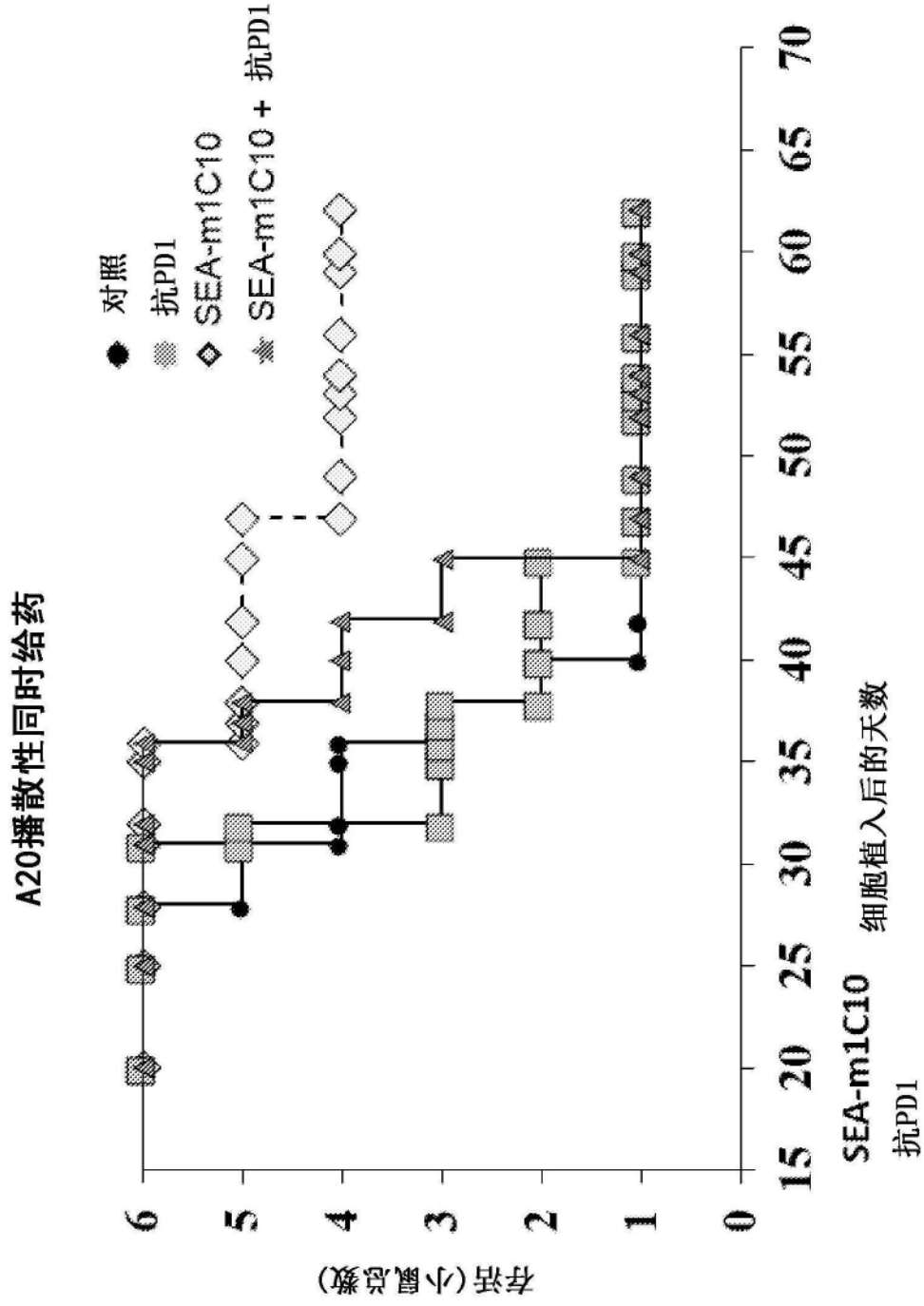


图2A

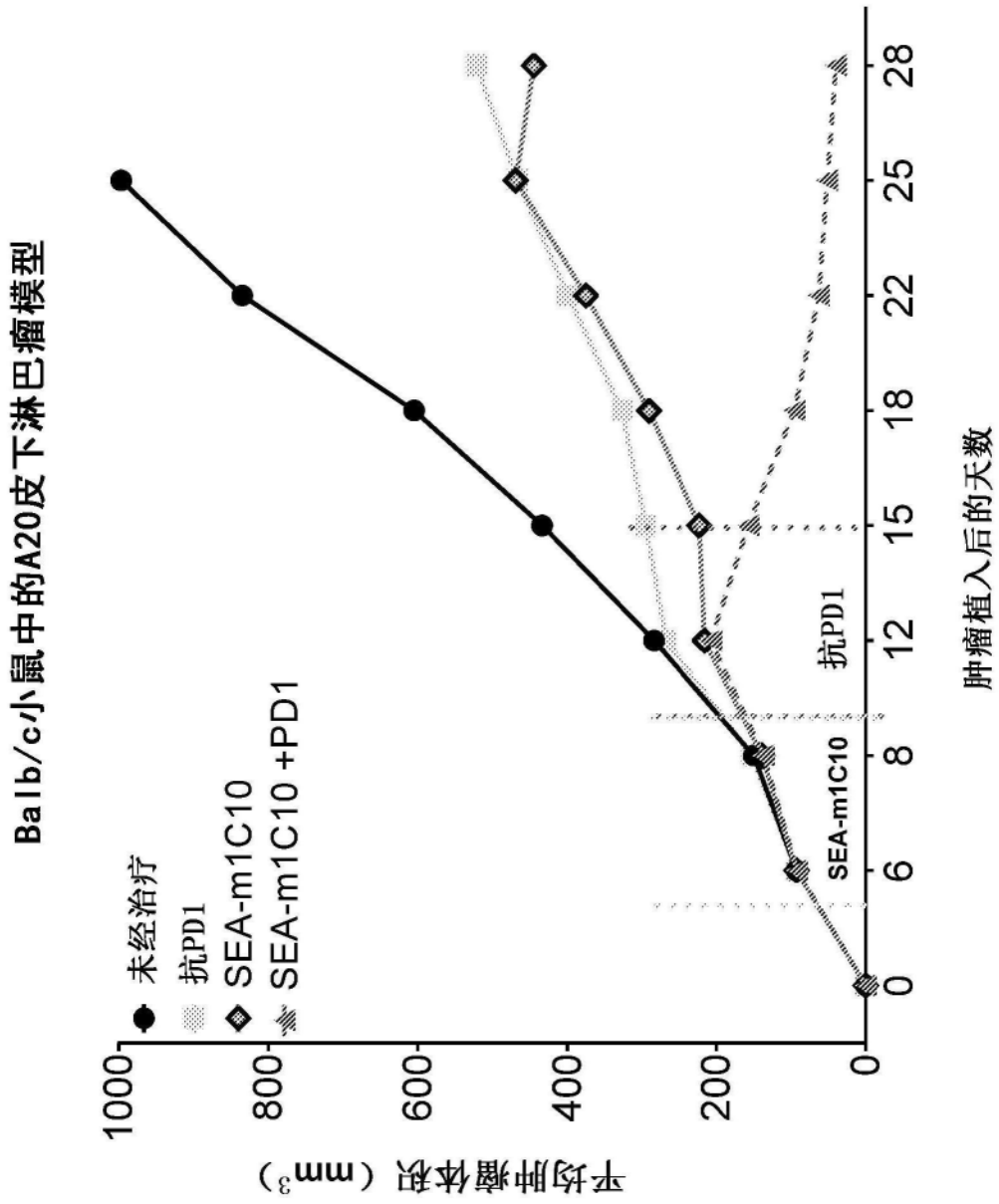


图2B

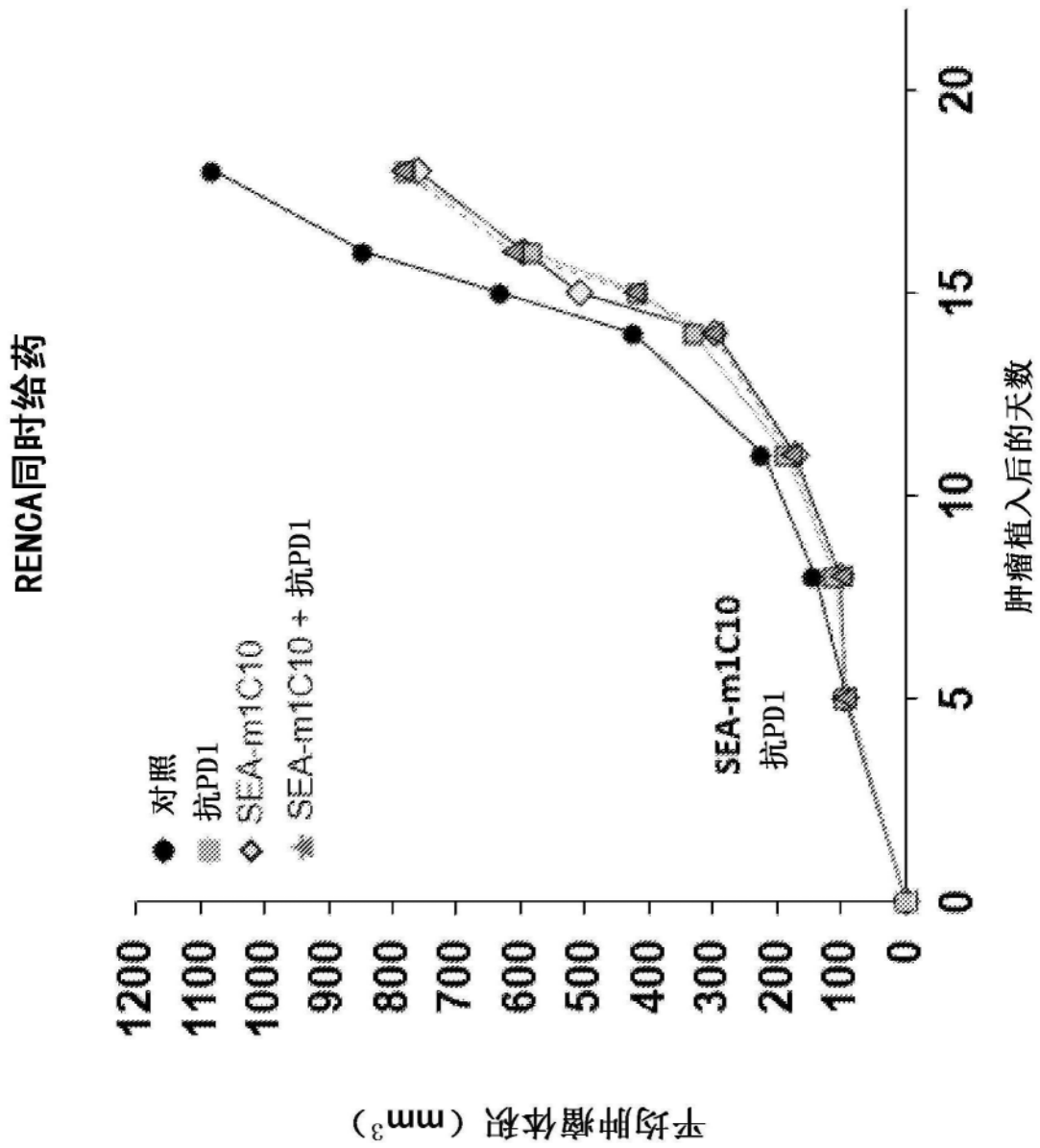


图3A

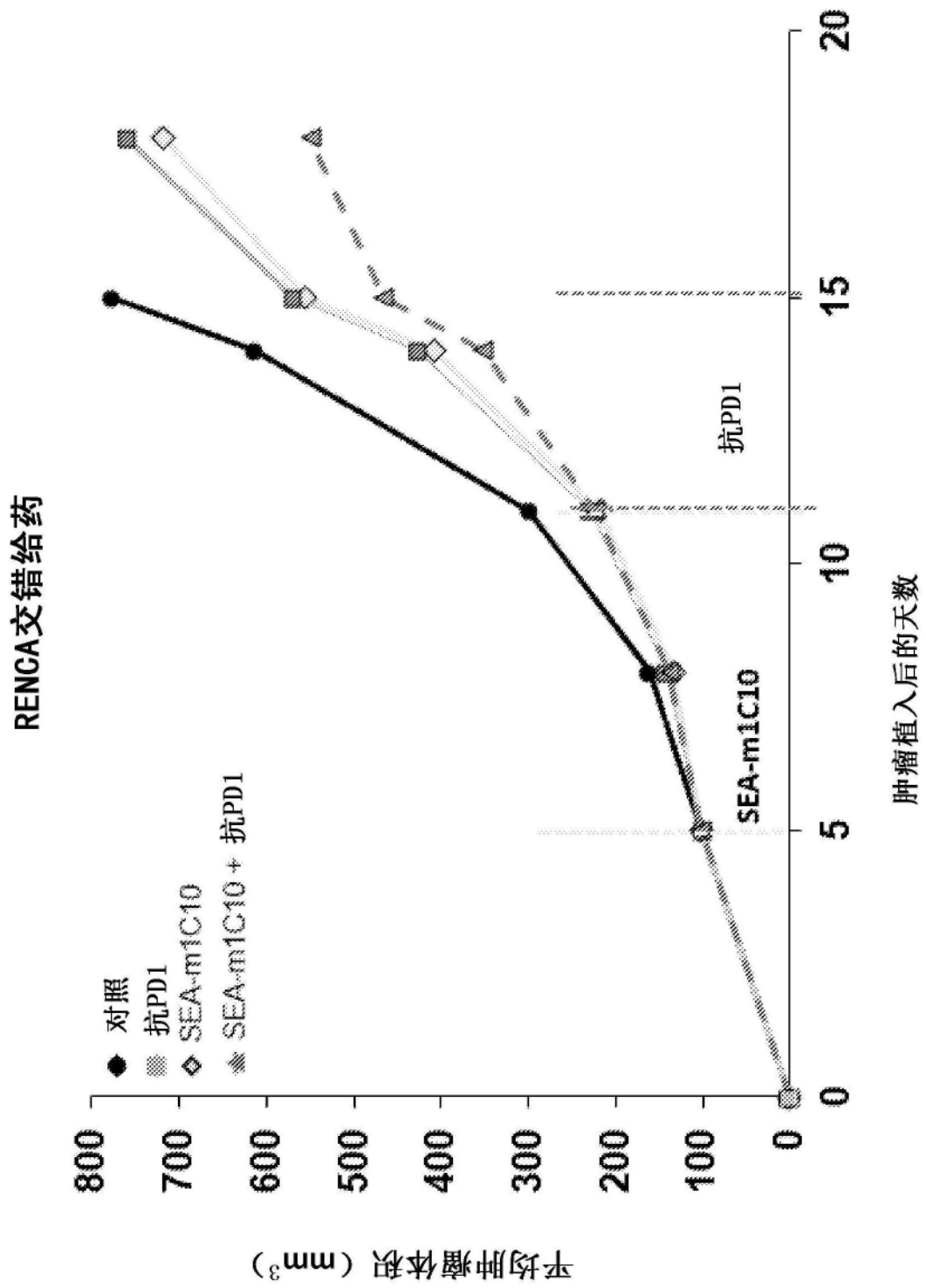


图3B

SEA-CD40 重链 (SEQ ID NO: 1)

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYSET GYIHWVRQA PGKGLEWVAR
VIPNAGGTSY NQFKGRFTL SVDNSKNTAY LQNSLRAED TAVIYCAREG
IYWGQGTIV TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP
 VTVSWNSGAL TSGVHTFPVAV LQSSGLYSLS SVVTVPSSSL GTQYICNVN
 HKPSNTKVDK KVEPKSCDKT HTPPCPAPAE LLGGPSVFLF PPKPKDTLMI
 SRTPDEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVV
 SVLTVLHQDW LNKGEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP
 SREEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS
 FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKLSLS SPGK

SEQ-CD40 轻链 (SEQ ID NO: 2)

DIQMTQSPSS LSASVGDRTV ITCRSSQSLV HSNGNITFLHW YQOKPGKAPK
LLIYTVSNRF SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDEFAT YFCSQTHVP
WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYFREAK
 VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSSTYSLS SSTLLLSKAD YEKHKVYACE
 VTHQGLSSPV TKSFNRRGEC

图4