



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109476752 A

(43)申请公布日 2019.03.15

(21)申请号 201780048015.7

R.黑泽尔

(22)申请日 2017.06.01

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司  
72001

(30)优先权数据

62/344866 2016.06.02 US

62/382839 2016.09.02 US

代理人 彭昶 黄希贵

(85)PCT国际申请进入国家阶段日  
2019.01.31

(51)Int.Cl.

C07K 16/28(2006.01)

A61K 39/00(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2017/035521 2017.06.01

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/210473 EN 2017.12.07

(71)申请人 百时美施贵宝公司

地址 美国新泽西州

申请人 西雅图基因公司

(72)发明人 B.法萨奇 N.约瑟夫森 A.曹

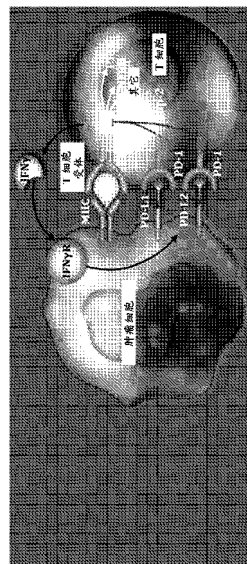
权利要求书2页 说明书38页 附图18页

(54)发明名称

抗-PD-1抗体与抗-CD30抗体的组合在淋巴瘤治疗中的用途

(57)摘要

本申请提供了用于治疗受试者的霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤的方法,包括纳武单抗(nivolumab)或派姆单抗(pembrolizumab)(两种PD-1阻断抗体,其抑制复发性或难治性霍奇金淋巴瘤的患者的肿瘤免疫逃脱)和抗CD30抗体(例如,本妥昔单抗(brentuximab vedotin))的组合。



1. 特异性结合程序化死亡-1 (PD-1) 受体和抑制PD-1活性的抗体或其抗原-结合部分 (“抗-PD-1抗体”), 用于治疗患有源自非霍奇金淋巴瘤的肿瘤或源自霍奇金淋巴瘤的肿瘤的受试者的方法, 其中给予所述受试者以下组合:

(a) 抗-PD-1抗体; 和

(b) 特异性结合CD30的抗体或其抗原-结合部分 (“抗-CD30抗体”)。

2. 权利要求1的抗-PD-1抗体, 其中 (i) 非霍奇金淋巴瘤是复发性或难治性非霍奇金淋巴瘤; (ii) 非霍奇金淋巴瘤选自弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL)、外周T细胞淋巴瘤 (PTCL)、皮肤T细胞淋巴瘤 (CTCL) 和其任何组合; (iii) 霍奇金淋巴瘤是经典霍奇金淋巴瘤 (cHL); 或 (iv) 霍奇金淋巴瘤是复发性或难治性霍奇金淋巴瘤, 任选地自体干细胞移植 (ASCT) 后的复发性HL或对ASCT无资格的患者的复发性HL。

3. 权利要求1的抗-PD-1抗体, 其中非霍奇金淋巴瘤选自弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL)、外周T细胞淋巴瘤 (PTCL)、皮肤T细胞淋巴瘤 (CTCL) 和其任何组合。

4. 权利要求1-3中任一项的抗-PD-1抗体, 其中所述肿瘤包含一种或多种表达CD30的细胞。

5. 权利要求4的抗-PD-1抗体, 其中至少约0.1%、至少约1%、至少约2%、至少约3%、至少约4%、至少约5%、至少约6%、至少约7%、至少约8%、至少约9%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约60%、至少约70%或至少约80%的肿瘤细胞表达CD30。

6. 权利要求1-5中任一项的抗-PD-1抗体, 其中 (i) 抗-CD30抗体与cAC10交叉竞争结合CD30或 (ii) 抗-CD30抗体包含cAC10; 抗-CD30抗体是与治疗剂缀合的抗-CD30抗体 (“抗-CD30抗体-药物缀合物”), 任选地包含抗肿瘤剂, 例如抗有丝分裂剂, 或单甲基阿里他汀E (MMAE), 和进一步任选地在治疗剂和抗体之间包含接头, 例如可裂解接头。

7. 权利要求6的抗-PD-1抗体, 其中抗-CD30抗体是本妥昔单抗。

8. 权利要求1-7中任一项的抗-PD-1抗体, 其中 (i) 抗-PD-1抗体与纳武单抗交叉竞争结合人PD-1; (ii) 抗-PD-1抗体与纳武单抗结合相同的表位; (iii) 抗-PD-1抗体是纳武单抗; 或 (iv) 抗-PD-1抗体是派姆单抗。

9. 权利要求1-8中任一项的抗-PD-1抗体, 其中 (i) 抗-PD-1抗体以至少约0.1 mg/kg-至少约10.0 mg/kg体重的范围的剂量给予, 约每1、2或3周一次; (ii) 抗-PD-1抗体以至少约3 mg/kg体重的剂量给予, 约每2周一次; (iii) 抗-PD-1抗体以至少约3 mg/kg体重的剂量给予, 约每3周一次; (iv) 抗-PD-1抗体或其抗原-结合部分以统一剂量, 任选地, 至少约200 mg、至少约220 mg、至少约240 mg、至少约260 mg、至少约280 mg、至少约300 mg、至少约320 mg、至少约340 mg、至少约360 mg、至少约380 mg、至少约400 mg、至少约420 mg、至少约440 mg、至少约460 mg、至少约480 mg、至少约500 mg或至少约550 mg给予, 每1、2、3或4周约一次。

10. 权利要求1-9中任一项的抗-PD-1抗体, 其中 (i) 抗-CD30抗体以至少约0.1 mg/kg-至少约180 mg/kg体重的范围的剂量给予, 约每1、2或3周一次; (ii) 抗-CD30抗体以至少约1.0 mg/kg-至少约10 mg/kg体重的范围的剂量给予, 约每1、2或3周一次; (iii) 抗-CD30抗体以至少约2 mg/kg体重的剂量给予, 约每3周一次; 或 (iv) 抗-CD30抗体以1.8 mg/kg体重的剂量给予, 约每3周一次。

11. 权利要求1-10中任一项的抗-PD-1抗体,其中抗-CD30抗体在第一个21天周期的第1天给予受试者和抗-PD-1抗体在第一个21天周期的第8天给予受试者,和任选地,在第二个21天周期、第三个21天周期和第四个21天周期各自的第1天给予抗-CD30抗体和抗-PD-1抗体的组合,其中第二个21天周期、第三个21天周期和第四个21天周期在第一个21天周期后连续进行,其中抗-CD30抗体优选地以约1.8 mg/kg的剂量给予和抗-PD-1抗体优选地以约3 mg/kg的剂量给予。

12. 权利要求1-11中任一项的抗-PD-1抗体,其中抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体序贯给予。

13. 权利要求1-12中任一项的抗-PD-1抗体,其中所述肿瘤包含一种或多种表达PD-L1、PD-L2或PD-L1和PD-L2二者的细胞。

14. 权利要求1-13中任一项的抗-PD-1抗体,其中在初始给药后,所述受试者显示至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月、至少约7个月、至少约8个月、至少约9个月、至少约10个月、至少约11个月、至少约1年、至少约18个月、至少约2年、至少约3年、至少约4年或至少约5年的无进展存活。

15. 一种药盒,包含:

(a) 约4 mg-约500 mg的范围的剂量的特异性结合程序化死亡-1 (PD-1) 受体和抑制PD-1活性的抗体或其抗原-结合部分("抗-PD-1抗体");

(b) 约0.1 mg-约500 mg的范围的剂量的特异性结合CD30的抗体或其抗原-结合部分("抗-CD30抗体");和

(c) 使用根据权利要求1-14中任一项的抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体的说明书。

## 抗-PD-1抗体与抗-CD30抗体的组合在淋巴瘤治疗中的用途

### 发明领域

[0001] 本公开内容涉及用于治疗受试者的肿瘤的方法,包括给予受试者抗-程序化死亡-1 (PD-1) 抗体和抗-CD30抗体。在一些实施方案中,所述肿瘤源自淋巴瘤。在某些实施方案中,所述肿瘤源自霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或其组合。

### [0002] 发明背景

人癌症包含大量遗传和外遗传改变,产生可被免疫系统潜在识别的新抗原(Sjoberg等, (2006) *Science* 314:268-74)。适应性免疫系统,包含T和B淋巴细胞,具有强大的抗癌潜力,具有广泛的能力和精细的特异性以响应各种肿瘤抗原。此外,免疫系统表现出相当大的可塑性和记忆成分。成功利用适应性免疫系统的所有这些属性将使免疫治疗在所有癌症治疗模式中是独特的。

[0003] 直到最近,癌症免疫治疗已经将主要努力集中在通过激活的效应细胞的过继转移、针对相关抗原的免疫或提供非特异性免疫刺激剂如细胞因子来增强抗肿瘤免疫响应的方法上。然而,在过去十年中,开发特异性免疫检查点途径抑制剂的深入努力已经开始提供用于治疗癌症的新的免疫治疗方法,包括开发结合CTLA-4并抑制CTLA-4的抗体伊匹单抗(ipilimumab) (YERVOY®) 用于治疗晚期黑素瘤患者(Hodi等, 2010 *N Engl J Med* 363:711-23) 和开发特异性结合程序化死亡-1 (PD-1) 受体和阻断抑制性PD-1/PD-1配体途径的抗体,例如纳武单抗(nivolumab) 和派姆单抗(pembrolizumab) (以前的lambrolizumab; USAN Council Statement, 2013) (Topalian等, *N Engl J Med* 366:2443-54 (2012a); Topalian等, *Curr Opin Immunol* 24:207-12 (2012b); Topalian等, *J Clin Oncol* 32(10):1020-30 (2014); Hamid等, *N Engl J Med* 369:134-144 (2013); Hamid和Carvajal, *Expert Opin Biol Ther* 13(6):847-61 (2013); 和McDermott和Atkins, *Cancer Med* 2(5):662-73 (2013))。

[0004] 多个调节免疫反应的非重复的分子途径的靶向疗法可提高抗肿瘤免疫疗法。然而,并非所有的组合都具有可接受的安全性和/或功效。与单一疗法和其它免疫疗法组合相比,对于具有可接受的安全性概况和提高抗肿瘤免疫反应的高功效的组合疗法,仍存在需要。

### [0005] 发明简述

本公开内容涉及一种治疗患有源自非霍奇金淋巴瘤的肿瘤的受试者的方法,包括给予受试者:(a) 特异性结合程序化死亡-1 (PD-1) 受体和抑制PD-1活性的抗体或其抗原-结合部分("抗-PD-1抗体");和(b) 特异性结合CD30的抗体或其抗原-结合部分("抗-CD30抗体")。在一些实施方案中,非霍奇金淋巴瘤是复发性或难治性非霍奇金淋巴瘤。在某些实施方案中,非霍奇金淋巴瘤选自弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、外周T细胞淋巴瘤(PTCL)、皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL) 和其任何组合。

[0006] 本公开内容还涉及一种治疗患有源自霍奇金淋巴瘤的肿瘤的受试者的方法,包括给予受试者:(a) 抗-PD-1抗体;和(b) 抗-CD30抗体。在一些实施方案中,霍奇金淋巴瘤是经典霍奇金淋巴瘤(cHL)。

[0007] 在一些实施方案中,肿瘤包含一种或多种表达CD30的细胞。在某些实施方案中,至少1%的肿瘤细胞表达CD30。

[0008] 在一些实施方案中,抗-CD30抗体与cAC10交叉竞争结合CD30。在一些实施方案中,抗-CD30抗体包含cAC10。在一些实施方案中,抗-CD30抗体是与治疗剂缀合的抗-CD30抗体(“抗-CD30抗体-药物缀合物”)。在某些实施方案中,治疗剂包含单甲基阿里他汀E (MMAE)。在一个具体的实施方案中,抗-CD30抗体是本妥昔单抗(brentuximab vedotin)。

[0009] 在一些实施方案中,抗-PD-1抗体与纳武单抗交叉竞争结合人PD-1。在一些实施方案中,抗-PD-1抗体与纳武单抗结合相同的表位。在一个具体的实施方案中,抗-PD-1抗体是纳武单抗。

[0010] 在某些实施方案中,抗-PD-1抗体以至少约3 mg/kg体重的剂量给予,约每2周一次。在一些实施方案中,抗-CD30抗体以1.8 mg/kg体重的剂量给予,约每3周一次。

[0011] 在一些实施方案中,肿瘤包含一种或多种表达PD-L1、PD-L2或二者的细胞。

[0012] 在一些实施方案中,受试者接受至少一种在前的化学疗法治疗。在某些实施方案中,受试者对在先的化学疗法治疗无响应。

[0013] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括在给予抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体后,给予患者干细胞移植。

[0014] 本公开内容进一步涉及用于治疗患有癌症的受试者的药盒,所述药盒包含:(a) 约4 mg-约500 mg的范围的剂量的抗-PD-1抗体;(b) 约0.1 mg-约500 mg的范围的剂量的抗-CD30抗体;和(c) 在所述方法中使用抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体的说明书。

[0015] 本公开内容进一步涉及用于治疗患有淋巴瘤的受试者的药盒,所述药盒包含:(a) 约4 mg-约500 mg的范围的剂量的抗-PD-1抗体;(b) 约0.1 mg-约500 mg的范围的剂量的本妥昔单抗;和(c) 在所述方法中使用抗-PD-1抗体和本妥昔单抗的说明书。

#### [0016] 实施方案

E1.一种治疗患有源自非霍奇金淋巴瘤的肿瘤的受试者的方法,包括给予受试者:(a) 特异性结合程序化死亡-1 (PD-1) 受体和抑制PD-1活性的抗体或其抗原-结合部分(“抗-PD-1抗体”);和(b) 特异性结合CD30的抗体或其抗原-结合部分(“抗-CD30抗体”)。

[0017] E2.实施方案E1的方法,其中非霍奇金淋巴瘤是复发性或难治性非霍奇金淋巴瘤。

[0018] E3.实施方案E1或E2的方法,其中非霍奇金淋巴瘤选自弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、外周T细胞淋巴瘤(PTCL)、皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL) 和其任何组合。

[0019] E4.一种治疗患有源自霍奇金淋巴瘤的肿瘤的受试者的方法,包括给予受试者:(a) 抗-PD-1抗体;和(b) 抗-CD30抗体。

[0020] E5.实施方案E4的方法,其中霍奇金淋巴瘤是经典霍奇金淋巴瘤(cHL)。

[0021] E6.实施方案E1-E5中任一项的方法,其中肿瘤包含一种或多种表达CD30的细胞。

[0022] E7.实施方案E6的方法,其中至少约0.1%、至少约1%、至少约2%、至少约3%、至少约4%、至少约5%、至少约6%、至少约7%、至少约8%、至少约9%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约60%、至少约70%或至少约80%的肿瘤细胞表达CD30。

[0023] E8.实施方案E6或E7的方法,其中约至少1%的肿瘤细胞表达CD30。

[0024] E9.实施方案E1-E8中任一项的方法,其中所述给予治疗肿瘤。

- [0025] E10. 实施方案E1-E9中任一项的方法, 其中抗-CD30抗体与cAC10交叉竞争结合CD30。
- [0026] E11. 实施方案E1-E9中任一项的方法, 其中抗-CD30抗体包含cAC10。
- [0027] E12. 实施方案E1-E11中任一项的方法, 其中抗-CD30抗体是与治疗剂缀合的抗-CD30抗体(“抗-CD30抗体-药物缀合物”)。
- [0028] E13. 实施方案E12的方法, 其中治疗剂包含抗肿瘤剂。
- [0029] E14. 实施方案E13的方法, 其中抗肿瘤剂是抗有丝分裂剂。
- [0030] E15. 实施方案E12-E14中任一项的方法, 其中治疗剂包含单甲基阿里他汀E(MMAE)。
- [0031] E16. 实施方案E12-E15中任一项的方法, 其中抗-CD30抗体-药物缀合物进一步包含在治疗剂和抗体之间的接头。
- [0032] E17. 实施方案E16的方法, 其中接头是可裂解接头。
- [0033] E18. 实施方案E1-E17中任一项的方法, 其中抗-CD30抗体是本妥昔单抗。
- [0034] E19. 实施方案E1-E18中任一项的方法, 其中抗-PD-1抗体与纳武单抗交叉竞争结合人PD-1。
- [0035] E20. 实施方案E1-E19中任一项的方法, 其中抗-PD-1抗体与纳武单抗结合相同的表位。
- [0036] E21. 实施方案E1-E20中任一项的方法, 其中抗-PD-1抗体是嵌合抗体、人源化抗体、人单克隆抗体或其部分。
- [0037] E22. 实施方案E1-E21中任一项的方法, 其中抗-PD-1抗体包含具有人IgG1或IgG4同种型的重链恒定区。
- [0038] E23. 实施方案E1-E22中任一项的方法, 其中抗-PD-1抗体是纳武单抗。
- [0039] E24. 实施方案E1-E22中任一项的方法, 其中抗-PD-1抗体是派姆单抗。
- [0040] E25. 实施方案E1-E24中任一项的方法, 其中抗-PD-1抗体以至少约0.1mg/kg-至少约10.0 mg/kg体重的范围的剂量给予, 约每1、2或3周一次。
- [0041] E26. 实施方案E25的方法, 其中抗-PD-1抗体以至少约3mg/kg体重的剂量给予, 约每2周一次。
- [0042] E27. 实施方案E1-E24中任一项的方法, 其中抗-PD-1抗体以统一剂量给予。
- [0043] E28. 实施方案E1-E24和E27中任一项的方法, 其中抗-PD-1抗体以至少约200 mg、至少约220 mg、至少约240 mg、至少约260 mg、至少约280 mg、至少约300 mg、至少约320 mg、至少约340 mg、至少约360 mg、至少约380 mg、至少约400 mg、至少约420 mg、至少约440 mg、至少约460 mg、至少约480 mg、至少约500 mg或至少约550 mg的统一剂量给予。
- [0044] E29. 实施方案E1-E24、E27和E28中任一项的方法, 其中抗-PD-1抗体以统一剂量给予, 每1、2、3或4周约一次。
- [0045] E30. 实施方案E1-E29中任一项的方法, 其中给予抗-PD-1抗体, 只要观察到临床益处, 或直至不可控制的毒性或疾病进展发生。
- [0046] E31. 实施方案E1-E30中任一项的方法, 其中抗-CD30抗体以至少约0.1 mg/kg-至少约180 mg/kg体重的范围的剂量给予, 约每1、2或3周一次。
- [0047] E32. 实施方案E1-E31中任一项的方法, 其中抗-CD30抗体以至少约1.0 mg/kg-至

少约10 mg/kg体重的范围的剂量给予,约每1、2或3周一次。

[0048] E33.实施方案E1-E32中任一项的方法,其中抗-CD30抗体以至少约2 mg/kg体重的剂量给予,约每3周一次。

[0049] E34.实施方案E1-E32中任一项的方法,其中抗-CD30抗体以1.8 mg/kg体重的剂量给予,约每3周一次。

[0050] E35.实施方案E1-E34中任一项的方法,其中给予抗-CD30抗体,只要观察到临床益处,或直至不可控制的毒性或疾病进展发生。

[0051] E36.实施方案E1-E35中任一项的方法,其中抗-PD-1和抗-CD30抗体经配制用于静脉内给予。

[0052] E37.实施方案E1-E36中任一项的方法,其中抗-PD-1和抗-CD30抗体被序贯给予。

[0053] E38.实施方案E1-E37中任一项的方法,其中抗-PD-1和抗-CD30抗体在彼此30分钟内给予。

[0054] E39.实施方案E1-E38中任一项的方法,其中抗-PD-1抗体在抗-CD30抗体之前给予。

[0055] E40.实施方案E1-E39中任一项的方法,其中抗-CD30抗体在抗-PD-1抗体之前给予。

[0056] E41.实施方案E1-E36中任一项的方法,其中抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体在分开的组合物中同时给予。

[0057] E42.实施方案E1-E36中任一项的方法,其中抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体混合为单一组合物用于同时给予。

[0058] E43.实施方案E1-E42中任一项的方法,其中抗-PD-1抗体以亚治疗剂量给予。

[0059] E44.实施方案E1-E43中任一项的方法,其中抗-CD30抗体以亚治疗剂量给予。

[0060] E45.实施方案E1-E44中任一项的方法,其中抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体各自以亚治疗剂量给予。

[0061] E46.实施方案E1-E45中任一项的方法,其中肿瘤包含一种或多种表达PD-L1、PD-L2或二者的细胞。

[0062] E47.实施方案E1-E46中任一项的方法,其中在初始给药后,受试者显示至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月、至少约7个月、至少约8个月、至少约9个月、至少约10个月、至少约11个月、至少约1年、至少约18个月、至少约2年、至少约3年、至少约4年或至少约5年的无进展存活。

[0063] E48.实施方案E1-E47中任一项的方法,其中抗-CD30抗体是ADCETRIS®。

[0064] E49.实施方案E1-E48中任一项的方法,其中抗-PD-1抗体是OPDIVO®。

[0065] E50.实施方案E1-E49中任一项的方法,其中受试者接受至少一种在前的化学疗法治疗。

[0066] E51.实施方案E1-E50中任一项的方法,其中受试者接受至少两种在前的化学疗法治疗。

[0067] E52.实施方案E1-E51中任一项的方法,其中受试者对在前的化学疗法治疗无响应。

[0068] E53.实施方案E1-E52中任一项的方法,进一步包括在给予抗-PD-1抗体和抗-CD30

抗体后,给予患者干细胞移植。

[0069] E54.实施方案E53的方法,其中干细胞移植包含自体干细胞。

[0070] E55.用于治疗患有癌症的受试者的药盒,所述药盒包含:(a) 约4 mg-约500 mg的范围的剂量的抗-PD-1抗体;(b) 约0.1 mg-约500 mg的范围的剂量的抗-CD30抗体;和(c) 在实施方案E1-E54中任一项的方法中使用抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体的说明书。

[0071] E56.用于治疗患有淋巴瘤的受试者的药盒,所述药盒包含:(a) 约4 mg-约500 mg的范围的剂量的抗-PD-1抗体;(b) 约0.1 mg-约500 mg的范围的剂量的本妥昔单抗;和(c) 在实施方案E1-E54中任一项的方法中使用抗-PD-1抗体和本妥昔单抗的说明书。

[0072] E57.实施方案E4-E54中任一项的方法,其中霍奇金淋巴瘤是复发性或难治性霍奇金淋巴瘤。

[0073] E58.实施方案E25的方法,其中抗-PD-1抗体以至少约3 mg/kg体重的剂量给予,约每3周一次。

[0074] E59.实施方案E1-E24中任一项的方法,其中抗-CD30抗体在第一个21天周期的第1天给予受试者,和抗-PD-1抗体在第一个21天周期的第8天给予受试者。

[0075] E60.实施方案E59的方法,进一步包括在第二个21天周期、第三个21天周期和第四个21天周期各自的第1天给予抗-CD30抗体和抗-PD-1抗体的组合,其中在第一个21天周期后,第二个21天周期、第三个21天周期和第四个21天周期连续进行。

[0076] E61.实施方案E59或E60的方法,其中抗-CD30抗体以约1.8 mg/kg的剂量给予。

[0077] E62.实施方案E59-E61中任一项的方法,其中抗-PD-1抗体以约3 mg/kg的剂量给予。

[0078] E63.实施方案E59-E62中任一项的方法,其中抗-CD30抗体、抗-PD-1抗体或抗-CD30抗体和抗-PD-1抗体二者经静脉内给予受试者。

[0079] E64.实施方案E59-E63中任一项的方法,其中抗-CD30抗体包含本妥昔单抗。

[0080] E65.实施方案E59-E64中任一项的方法,其中抗-PD-1抗体包含纳武单抗。

[0081] 附图简述

图1显示PD-1途径和纳武单抗的作用方式的示意图。MHC = 主要组织相容性复合物; NFKB = 核因子 $\kappa$ B; PI3K = 磷酸肌醇-3激酶; Shp2 = 含Src同源性2结构域的酪氨酸磷酸酶。

[0082] 图2显示本妥昔单抗的作用机制和继发效应的示意图。

[0083] 图3显示本妥昔单抗(BV)与纳武单抗的组合的I/II期临床试验的研究设计和治疗时间表。

[0084] 图4显示本妥昔单抗(BV)与纳武单抗的组合的I/II期临床试验的治疗时间表。

[0085] 图5A和5B显示用本妥昔单抗(BV)与纳武单抗的组合治疗的患者的肿瘤反应。CR意指完全反应;PR意指部分反应;SD意指无代谢反应;和PD意指进行性疾病。

[0086] 图6A-6D显示用本妥昔单抗(BV)与纳武单抗的组合治疗的患者的免疫系统的引发。单一药剂BV给予以及BV和纳武单抗给药后,与基线相比,血清TARC水平显著较低(图6A)。在C1D1 BV和接着C1D8纳武单抗给药后,T-细胞趋化因子IP10水平显著较高(图6B)。在C1D1 BV给药后,促炎性细胞因子IL-18水平显著较高和用BV和纳武单抗给药保持稳定(图6C)。在BV和纳武单抗给药(C1D15)后,与基线相比,促炎性细胞因子例如IFN  $\gamma$  显著较高(图



6D)。

[0087] 图7A-7C显示外周血免疫分型。T辅助亚型,例如Tregs (图7A)、激活的CD4<sup>+</sup> T细胞(图7B)和增殖性CD4<sup>+</sup> T细胞(图7C),其在单一药剂BV给药后减少,在BV和纳武单抗组合给药后扩增。

[0088] 图8显示与BV和纳武单抗给药有关的不良事件。

[0089] 图9显示与BV和纳武单抗给药有关的输注相关反应(IRR)。

[0090] 图10显示本妥昔单抗(BV)与纳武单抗的組合的III期临床试验的研究设计和治疗时间表。

[0091] 图11显示BV-灭活的A20小鼠淋巴瘤免疫提供抗-肿瘤保护作用。

[0092] 图12A和12B显示来自用BV-灭活的细胞免疫的小鼠的T细胞转移提供保护性免疫。

[0093] 图13显示与BV和纳武单抗组合疗法有关的改进的肿瘤清除率和存活率。

[0094] 图14A-14D显示BV和纳武单抗组合疗法后,在自体肿瘤中的免疫细胞浸润。相对于肿瘤质量(图14A)和总细胞计数(图14B),CD8<sup>+</sup> T细胞和NK细胞计数在BV和纳武单抗组合给药后增加。CD8<sup>+</sup> T细胞和LCL肿瘤细胞表达增加水平的PD-1 (图14C)和PD-L1 (图14D)。TIL = 肿瘤浸润性淋巴细胞;PBMC = 外周血单核细胞。

[0095] 图15A-15B显示BV单独和与纳武单抗组合,提高免疫介导的肿瘤清除率。治疗后,相对肿瘤体积随时间降低(图15A),和在用BV和纳武单抗组合治疗后,平均肿瘤体积显著降低(图15B)。BV = 本妥昔单抗;Nivo = 纳武单抗;PBMC = 外周血单核细胞;hIgG-MMAE = 对照。

[0096] 发明详述

本公开内容涉及用于治疗受试者的肿瘤的方法,包括给予受试者抗-程序化死亡-1(PD-1)抗体和抗-CD30抗体。在一些实施方案中,肿瘤源自淋巴瘤。在某些实施方案中,肿瘤源自霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或其组合。

[0097] 术语

为了可以更容易地理解本公开内容,首先定义某些术语。如本申请中所使用的,除非本文另有明确规定,否则以下术语中的每一个应具有下面给出的含义。在整个申请中阐述了其它定义。

[0098] 术语“和/或”在本文使用时,应视为特别公开了两种指定的特征或组分的每一种,有或没有另一种。因此,在本文的词语例如“A和/或B”中使用的术语“和/或”意图包括“A和B”、“A或B”、“A”(单独)和“B”(单独)。同样地,在词语例如“A、B和/或C”中使用的术语“和/或”意图包括以下方面的每一个:A、B和C;A、B或C;A或C;A或B;B或C;A和C;A和B;B和C;A(单独);B(单独);和C(单独)。

[0099] 应理解,在本文用语言“包含”描述各方面的任何情况下,根据“由……组成”和/或“基本上由……组成”描述的另外的类似方面也被提供。

[0100] 除非另外定义,本文使用的所有科学和技术术语具有本公开内容所涉及的领域的普通技术人员通常理解的相同含义。例如,the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press;和the Oxford Dictionary Of Biochemistry and Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford

University Press, 提供给技术人员本公开内容使用的许多术语的一般性字典。

[0101] 单位、前缀和符号以其Système International de Unites (SI) 接受的形式表示。数字范围包括限定该范围的数字。本文提供的标题不限制本公开内容的各个方面, 本公开内容可通过参考说明书而被视为一个整体。因此, 紧接下文定义的术语通过参考说明书在整体上更完整地定义。

[0102] “给予”是指使用本领域技术人员已知的各种方法和递送系统中的任一种将治疗剂物理引入到受试者。抗-PD-1抗体的示例性的给予途径包括静脉内、肌内、皮下、腹膜内、脊髓或其它肠胃外给予途径, 例如通过注射或输注。本文所用的短语“肠胃外给予”是指除了肠内和局部给予以外通常通过注射的给予方式, 且包括但不限于静脉内、肌内、动脉内、鞘内、淋巴内、损伤内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外和胸骨内注射和输注以及体内电穿孔。治疗剂可通过非肠胃外途径给予, 或口服给予。其它非肠胃外途径包括局部、表皮或粘膜给予途径, 例如鼻内、阴道、直肠、舌下或局部。给予也可以例如进行一次、多次和/或在一个或多个延长的时间段内进行。

[0103] 如本文所用的“不良事件”(AE) 是与使用医学治疗相关的任何不利的和通常无意的或不期望的迹象(包括异常的实验室发现)、症状或疾病。医学治疗可以具有一种或多种相关的AE, 并且每种AE可以具有相同或不同的严重性水平。提及能够“改变不良事件”的方法是指降低与使用不同治疗方案相关的一种或多种AE的发生率和/或严重性的治疗方案。

[0104] “抗体”(Ab) 应当包括但不限于特异性结合到抗原并包含通过二硫键互连的至少两个重(H)链和两个轻(L)链的糖蛋白免疫球蛋白, 或其抗原结合部分。每个H链包含重链可变区(本文缩写为 $V_H$ )和重链恒定区。重链恒定区包含至少三个恒定结构域 $C_{H1}$ 、 $C_{H2}$ 和 $C_{H3}$ 。每个轻链包含轻链可变区(本文缩写为 $V_L$ )和轻链恒定区。轻链恒定区包含一个恒定结构域 $C_L$ 。 $V_H$ 和 $V_L$ 区可以进一步细分为称为互补决定区(CDR)的高变区, 其散布有更保守的称为框架区(FR)的区域。每个 $V_H$ 和 $V_L$ 包含三个CDR和四个FR, 从氨基末端到羧基末端按照以下顺序排列: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可介导免疫球蛋白与宿主组织或因子(包括免疫系统的各种细胞(例如效应细胞)和经典补体系统的第一组分(C1q))的结合。

[0105] 免疫球蛋白可以衍生自任何通常已知的同种型, 包括但不限于IgA、分泌型IgA、IgG和IgM。IgG亚类也是本领域技术人员熟知的, 包括但不限于人IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。“同种型”是指由重链恒定区基因编码的抗体类型或亚类(例如IgM或IgG1)。术语“抗体”包括, 例如, 天然存在的和非天然存在的抗体; 单克隆和多克隆抗体; 嵌合和人源化抗体; 人或非人抗体; 全合成抗体; 和单链抗体。非人抗体可以通过重组方法人源化以降低其在人中的免疫原性。在没有明确说明的情况下, 并且除非上下文另有说明, 否则术语“抗体”还包括任何上述免疫球蛋白的抗原结合片段或抗原结合部分, 并且包括单价和二价片段或部分, 以及单链抗体。

[0106] “分离的抗体”是指基本上不含具有不同抗原特异性的其它抗体的抗体(例如, 特异性结合到PD-1的分离的抗体基本上不含特异性结合到PD-1以外的抗原的抗体)。然而, 与PD-1特异性结合的分离的抗体可以与其它抗原(例如来自不同物种的PD-1分子)具有交叉反应性。此外, 分离的抗体可以基本上不含其它细胞材料和/或化学品。在一个实施方案中,

抗体包括与另一种试剂(例如,小分子药物)连接的缀合物。在一些实施方案中,抗-CD30抗体包括抗-CD30抗体与小分子药物(例如,MMAE)的缀合物。

[0107] 术语“单克隆抗体”(“mAb”)是指单一分子组成的抗体分子(即其一级序列基本上相同并且对于特定的表位表现出单一结合特异性和亲和力的抗体分子)的非天然存在的制剂。单克隆抗体是分离的抗体的实例。单克隆抗体可以通过杂交瘤、重组、转基因或本领域技术人员已知的其它技术产生。

[0108] “人抗体”(HuMAb)是指具有其中FR和CDR二者都源自人种系免疫球蛋白序列的可变区的抗体。此外,如果抗体包含恒定区,则恒定区也源自人种系免疫球蛋白序列。本公开内容的人抗体可以包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)。然而,本文所用的术语“人抗体”不意图包括其中来源于另一个哺乳动物物种(例如小鼠)的种系的CDR序列已被移植到人框架序列上的抗体。术语“人抗体”和“完全人抗体”同义使用。

[0109] “人源化抗体”是指其中非人抗体的CDR外部的一些、大多数或所有氨基酸被来源于人免疫球蛋白的相应氨基酸替换的抗体。在抗体的人源化形式的一个实施方案中,CDR外部的一些、大多数或所有氨基酸已被来自人免疫球蛋白的氨基酸替换,而一个或多个CDR内的一些、大多数或所有氨基酸未改变。氨基酸的小的添加、缺失、插入、置换或修饰是允许的,只要它们不消除抗体结合特定抗原的能力。“人源化抗体”保留类似于原始抗体的抗原特异性。在一些实施方案中,人源化抗体的CDR包含来自非人哺乳动物抗体的CDR。在其它实施方案中,人源化抗体的CDR包含来自经改造的合成抗体的CDR。

[0110] “嵌合抗体”是指其中可变区来源于一个物种并且恒定区来源于另一物种的抗体,例如其中可变区来源于小鼠抗体并且恒定区来源于人抗体的抗体。

[0111] “抗-抗原抗体”是指特异性结合到抗原的抗体。例如,抗-PD-1抗体特异性结合到PD-1,抗-CD30抗体特异性结合到CD30。

[0112] 抗体的“抗原结合部分”(也称为“抗原结合片段”)是指保留与由整个抗体结合的抗原特异性结合的能力的抗体的一个或多个片段。

[0113] “癌症”是指一类广泛的各种疾病,特征为身体内的异常细胞的不受控制生长。“癌症”或“癌症组织”可包括肿瘤。不受调节的细胞分化和生长导致形成恶性肿瘤,其侵入邻近组织,还可通过淋巴系统或血流转移至身体的远端部分。转移后,远端肿瘤可被称为“源自”转移前肿瘤。例如,“源自”非霍奇金淋巴瘤的“肿瘤”是指作为转移的非霍奇金淋巴瘤的结果的肿瘤。因为远端肿瘤源自转移前肿瘤,“源自”的肿瘤还可包含转移前肿瘤,例如,源自非霍奇金淋巴瘤的肿瘤可包含非霍奇金淋巴瘤。

[0114] “CD30”或“TNFRSF8”是指作为肿瘤坏死因子受体超家族的成员的受体。CD30是在激活的CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup> T细胞和B细胞以及病毒感染的淋巴细胞上表达的跨膜糖蛋白。CD30与TRAF2和TRAF3相互作用以介导信号转导,其导致NF- $\kappa$ B的活化。CD30作为凋亡的正调节物起作用,和其已表明限制自身反应性CD8效应T细胞的增殖潜力。CD30还被各种形式的淋巴瘤表达,包括霍奇金淋巴瘤(CD30被Reed-Sternberg细胞表达)和非霍奇金淋巴瘤(例如,弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、外周T细胞淋巴瘤(PTCL)和皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL))。

[0115] 术语“免疫治疗”是指通过包括诱导、增强、抑制或以其它方式改变免疫反应的方法治疗患有疾病、具有感染疾病的风险或遭受疾病复发的受试者。

[0116] 受试者的“治疗”或“疗法”是指对受试者进行的任何类型的干预或过程,或向受试者给予活性剂,目的在于逆转、缓解、改善、抑制、减缓或预防症状、并发症、病症或与疾病相关的生化指标的发作、进展、发展、严重性或复发。

[0117] “程序化死亡-1 (PD-1)”是指属于CD28家族的免疫抑制性受体。PD-1主要在体内先前活化的T细胞上表达,并且结合到两种配体PD-L1和PD-L2。本文使用的术语“PD-1”包括人PD-1 (hPD-1), hPD-1的变体、同种型和物种同源物,以及与hPD-1具有至少一个共同表位的类似物。完整的hPD-1序列可以在GenBank登录号U64863下找到。

[0118] “程序化死亡配体-1 (PD-L1)”是PD-1的两种细胞表面糖蛋白配体之一(另一种是PD-L2),其在结合PD-1时下调T细胞活化和细胞因子分泌。本文所用的术语“PD-L1”包括人PD-L1 (hPD-L1), hPD-L1的变体、同种型和物种同源物,以及与hPD-L1具有至少一个共同表位的类似物。完整的hPD-L1序列可以在GenBank登录号Q9NZQ7下找到。

[0119] “受试者”包括任何人或非人动物。术语“非人动物”包括但不限于脊椎动物,例如非人灵长类动物、绵羊、狗和啮齿动物,例如小鼠、大鼠和豚鼠。在一些实施方案中,受试者是人。术语“受试者”和“患者”在本文中可互换使用。

[0120] 药物或治疗剂的“治疗有效量”或“治疗有效剂量”是当单独使用或与另一种治疗剂组合使用时保护受试者免于疾病发作或促进疾病消退的药物的任何量,所述疾病消退通过疾病症状的严重性的降低,疾病无症状期的频率和持续时间的增加,或由疾病痛苦引起的损伤或失能的防止来证明。治疗剂促进疾病消退的能力可以使用本领域技术人员已知的多种方法来评估,例如在临床试验期间的人类受试者中,在预测人类功效的动物模型系统中,或通过在体外测定法中测定所述药剂的活性。

[0121] 如本文使用的,“亚治疗剂量”意指治疗性化合物(例如,抗体)的剂量,其低于治疗性化合物当单独给予以治疗高度增殖性疾病(例如,癌症)时的常用或典型剂量。

[0122] 举例来说,“抗癌剂”促进受试者中的癌症消退。在一些实施方案中,治疗有效量的药物促进癌症消退至消除癌症的程度。“促进癌症消退”意指单独或与抗癌剂组合给予有效量的药物导致肿瘤生长或大小减小,肿瘤坏死,至少一种疾病症状的严重性降低,疾病无症状期的频率和持续时间的增加,或由于疾病痛苦引起的损伤或失能的防止。此外,关于治疗的术语“有效”和“有效性”包括药理学有效性和生理安全性二者。药理学有效性是指药物在患者中促进癌症消退的能力。生理安全性是指由给予药物导致的细胞、器官和/或生物体水平的毒性水平或其它不利的生理效应(不良作用)。

[0123] 举例来说,为治疗肿瘤,相对于未治疗的受试者,治疗有效量的抗癌剂抑制细胞生长或肿瘤生长至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%或至少约80%、至少约90%、至少约95%或至少约100%。

[0124] 在本公开内容的其它实施方案中,肿瘤消退可被观察到和持续至少约20天、至少约30天、至少约40天、至少约50天或至少约60天的时间。不管这些治疗有效性的最终测量,免疫治疗性药物的评价还必须考虑“免疫相关的响应模式”。

[0125] “免疫相关的响应模式”是指在用免疫治疗剂治疗的癌症患者中经常观察到的临床响应模式,所述免疫治疗剂通过诱导癌症特异性免疫反应或通过改变天然免疫过程而产生抗肿瘤效果。该响应模式的特征在于在肿瘤负担的初始增加或新的损伤出现之后的有益的治疗效果,其在传统化疗剂的评估中将被分类为疾病进展并且将与药物失效同义。因此,

免疫治疗剂的适当评估可能需要长期监测这些药剂对目标疾病的影响。

[0126] 药物的治疗有效量包括“预防有效量”，其为当单独或与抗癌剂组合给予到处于发展癌症风险的受试者（例如具有恶化前病症的受试者）或患有癌症复发的受试者时，抑制癌症的发展或复发的任何量的药物。在一些实施方案中，预防有效量完全防止癌症的发展或复发。“抑制”癌症的发展或复发意味着减少癌症发展或复发的可能性，或完全阻止癌症的发展或复发。

[0127] 本文提及的术语“基于重量的剂量”意指给予患者的剂量基于患者的重量来计算。例如，当60 kg体重的患者需要3 mg/kg的抗-PD-1抗体时，可计算和使用合适量的抗-PD-1抗体（即，180 mg）用于给予。

[0128] 关于本公开内容的方法，使用术语“固定剂量(fixed dose)”意味着在单一组合物中两种或更多种不同的抗体（例如，抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体）以彼此特定（固定）的比率存在于组合物中。在一些实施方案中，固定剂量基于抗体的重量（例如，mg）。在某些实施方案中，固定剂量基于抗体的浓度（例如，mg/ml）。在一些实施方案中，比率是至少约1:1、约1:2、约1:3、约1:4、约1:5、约1:6、约1:7、约1:8、约1:9、约1:10、约1:15、约1:20、约1:30、约1:40、约1:50、约1:60、约1:70、约1:80、约1:90、约1:100、约1:120、约1:140、约1:160、约1:180、约1:200、约200:1、约180:1、约160:1、约140:1、约120:1、约100:1、约90:1、约80:1、约70:1、约60:1、约50:1、约40:1、约30:1、约20:1、约15:1、约10:1、约9:1、约8:1、约7:1、约6:1、约5:1、约4:1、约3:1或约2:1 mg第一种抗体（例如，抗-PD-1抗体）:mg第二种抗体（例如，抗-CD30抗体）。例如，3:1比率的抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体可意味着小瓶可含有约240 mg的抗-PD-1抗体和80 mg的抗-CD30抗体或约3 mg/ml的抗-PD-1抗体和1 mg/ml的抗-CD30抗体。

[0129] 关于本公开内容的方法和剂量，使用术语“统一剂量(flat dose)”意味着不考虑患者的重量或身体表面积(BSA)而给予患者的剂量。因此，统一剂量不作为mg/kg剂量，而是作为绝对量的药剂（例如，抗-CD30抗体和/或抗-PD-1抗体）提供。例如，60 kg人和100 kg人将接受相同剂量的抗体（例如，240 mg的抗-PD-1抗体）。

[0130] 使用可选方案（例如，“或”）应理解为意指可选方案的任一个、二者或其任何组合。如本文使用的，不定冠词“a”或“an”应理解为是指“一个或多个”任何所述或列举的组分。

[0131] 术语“约”或“基本上包含”是指在对于特定的值或组合物可接受的误差范围内的值或组合物，如通过本领域普通技术人员所确定的，其将部分地取决于值或组合物如何被测量或测定，即，测量系统的限制。例如，“约”或“基本上包含”可意指按照本领域的实践在1或超过1个标准偏差内。或者，“约”或“基本上包含”可意指至多20%的范围。此外，特别是关于生物学系统或过程，该术语可意指至多一个数量级的值或至多5倍的值。当具体的值或组合物在申请书和权利要求书中提供时，除了另外说明，“约”或“基本上包含”的含义应假定在对于该具体的值或组合物可接受的误差范围内。

[0132] 本文使用的术语“约每周一次”、“约每两周一次”或任何其它类似的给药间隔术语意指近似数。“约每周一次”可包括每7天  $\pm$  1天，即，每6天至每8天。“约每两周一次”可包括每14天  $\pm$  3天，即，每11天至每17天。类似的近似法适用于例如，约每三周一次、约每四周一次、约每五周一次、约每六周一次和约每十二周一次。在一些实施方案中，约每六周一次或约每十二周一次的给药间隔意味着第一个剂量可在第一周的任何天给予，然后下一个

剂量可分别在第六或十二周的任何天给予。在其它实施方案中,约每六周一次或约每十二周一次的给药间隔意味着第一个剂量在第一周的特定天(例如,星期一)给予,然后下一个剂量分别在第六或十二周的相同天(即,星期一)给予。

[0133] 如本文所述的,任何浓度范围、百分数范围、比率范围或整数范围应理解为包括所述范围内的任何整数的值和在合适时,其分数(例如整数的1/10和1/100),除非另外指明。

[0134] 本公开内容的各个方面在下面的子章节中更详细地描述。

[0135] 本公开内容的方法

本公开内容涉及用于治疗肿瘤或患有肿瘤的受试者的方法,包括给予受试者治疗有效量的特异性结合程序化死亡-1 (PD-1) 受体和抑制PD-1活性的抗体或其抗原-结合部分(“抗-PD-1抗体”)或特异性结合程序化死亡配体1 (PD-L1) 受体和抑制PD-L1活性的抗体或其抗原-结合部分(“抗-PD-L1抗体”)和治疗有效量的特异性结合CD30的抗体或其抗原-结合部分(“抗-CD30抗体”)。

[0136] 在一些实施方案中,肿瘤源自霍奇金淋巴瘤(HL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)或其组合。在某些实施方案中,受试者已接受1、2、3、4、5或更多种在先癌症治疗。在其它实施方案中,受试者是未经治疗的。在一些实施方案中,受试者对其它癌症治疗已有进展。在一些实施方案中,肿瘤已复发。在一些实施方案中,肿瘤是转移的。在其它实施方案中,肿瘤不是转移的。

[0137] 在某些实施方案中,肿瘤源自HL(例如,包含HL的肿瘤)。在某些实施方案中,HL是经典HL(cHL;例如,结节硬化型HL、混合细胞型HL、淋巴细胞富集型HL或淋巴细胞消耗型HL)。在其它实施方案中,HL是结节性淋巴细胞优势型HL。

[0138] 在其它实施方案中,肿瘤源自NHL。在一些实施方案中,肿瘤包含NHL。在某些实施方案中,NHL是复发性或难治性NHL。在一些实施方案中,NHL是B-细胞淋巴瘤,例如,弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、伯基特淋巴瘤、免疫母细胞性大细胞淋巴瘤、前体B-淋巴母细胞性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤或其任何组合。在一些实施方案中,NHL是T-细胞淋巴瘤,例如,皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL)、外周T细胞淋巴瘤(PTCL)、蕈样肉芽肿病、间变性大细胞淋巴瘤、前体T-淋巴母细胞性淋巴瘤或其任何组合。在某些实施方案中,NHL选自DLBCL、PTCL、CTCL和其任何组合。

[0139] 在其它实施方案中,本发明的方法包括给予有效量的抗-PD-1抗体和有效量的抗-CD30抗体。抗-PD-1抗体和/或抗-CD30抗体的有效量可以是统一剂量或基于重量的剂量。

[0140] 在一些实施方案中,本公开内容包括治疗癌症或患有癌症的受试者的方法,包括给予抗-PD-1拮抗剂与抗-CD30抗体的组合以治疗癌症。本文提及的“抗-PD-1拮抗剂”包括抑制PD-1(受体)和PD-L1(配体)之间的相互作用,使得PD-1/PD-L1的信号转导途径被阻断的任何分子。在其它实施方案中,抗-PD-1拮抗剂是PD-1-Fc融合蛋白。在某些实施方案中,抗-PD-1拮抗剂包括抑制或阻止PD-1和PD-L1之间的相互作用的抗-PD-1融合蛋白、反义分子、小分子、核酶或纳米抗体。

[0141] 在某些实施方案中,本公开内容的疗法(例如,给予抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体)有效地增加受试者的存活持续时间。例如,当与仅用其它疗法或仅用组合疗法的两个成员单独之一(例如,单独的抗-PD-1抗体)或可供选择的组合疗法治疗的另一个受试者比较时,受试者的存活持续时间增加至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少

约5个月、至少约6个月、至少约7个月、至少约8个月、至少约9个月、至少约10个月、至少约11个月或至少约1年或更久。在其它实施方案中,抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体的组合疗法增加受试者的存活持续时间,其水平类似于使用抗-PD-L1抗体和本妥昔单抗(抗-CD30抗体)的组合疗法的受试者的存活持续时间。在仍其它的实施方案中,抗-PD-1抗体(例如,纳武单抗或派姆单抗)和抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的组合疗法增加受试者的存活持续时间,其水平高于(高约1个月、高约2个月、高约3个月、高约4个月、高约5个月、高约6个月、高约7个月、高约8个月、高约9个月、高约10个月、高约11个月或高约1年)使用抗-PD-L1抗体(例如,MPDL3280A或阿特珠单抗(atezolizumab))和本妥昔单抗(抗-CD30抗体)的组合疗法的受试者的存活持续时间。

[0142] 在某些实施方案中,本公开内容的疗法有效地增加受试者的无进展存活的持续时间。例如,当与仅用其它疗法或仅用组合疗法的两个成员单独之一(例如,单独的抗-PD-1抗体)或可供选择的组合疗法治疗的另一个受试者比较时,受试者的无进展存活增加至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月、至少约7个月、至少约8个月、至少约9个月、至少约10个月、至少约11个月或至少约1年。

[0143] 在某些实施方案中,本公开内容的疗法有效地增加一组受试者的反应率。例如,当与仅用其它疗法或仅用组合疗法的两个成员单独之一(例如,单独的抗-PD-1抗体)或可供选择的组合疗法治疗的另一组受试者比较时,一组受试者的反应率增加至少约2%、至少约3%、至少约4%、至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约99%或至少约100%。

[0144] 在某些实施方案中,与基线(未给予或给予前)或给予单独的抗-PD-1抗体或抗-CD30抗体(单一疗法)后的血清TARC水平相比,在给予抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体的组合后,本公开内容的方法降低受试者的血清胸腺和活化-调节的趋化因子(TARC)水平。在一些实施方案中,与基线(未给予或给予前)或单一疗法后的血清TARC水平相比,在给予后,血清TARC水平降低至少1倍、至少1.5倍、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少11倍、至少12倍、至少13倍、至少14倍、至少15倍、至少16倍、至少17倍、至少18倍、至少19倍或至少20倍。在其它实施方案中,与基线(未给予或给予前)或给予单独的抗-PD-1抗体或抗-CD30抗体(单一疗法)后的促炎性细胞因子的水平相比,在给予抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体的组合后,本公开内容的方法增加受试者的促炎性细胞因子例如,白介素-18(IL-18)和/或干扰素- $\gamma$ 的水平。在给予组合疗法后,促炎性细胞因子的水平可增加至少1倍、至少1.5倍、至少2倍、至少3倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少11倍、至少12倍、至少13倍、至少14倍、至少15倍、至少16倍、至少17倍、至少18倍、至少19倍或至少20倍。在仍其它的实施方案中,与基线(未给予或给予前)或给予单独的抗-PD-1抗体或抗-CD30抗体(单一疗法)后的T细胞趋化因子的水平相比,在给予抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体的组合后,本公开内容的方法增加受试者的T细胞趋化因子例如,IP10的水平。在一些实施方案中,在给予组合疗法后,T细胞趋化因子的水平增加至少1倍、至少1.5倍、至少2倍、至少3倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少11倍、至少12倍、至少13倍、至少14倍、至少15倍、至少16倍、至少17倍、至少18倍、至少19倍或至少20倍。

[0145] 在其它实施方案中,本发明的方法提供减少患有源自霍奇金淋巴瘤(HL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)或其组合的肿瘤的受试者的TARC的血清水平的方法,包括给予受试者治疗有效量的抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体。在一些实施方案中,与基线(未给予或给予前)或单一疗法后的血清TARC水平相比,在给予后,血清TARC水平降低至少1倍、至少1.5倍、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少11倍、至少12倍、至少13倍、至少14倍、至少15倍、至少16倍、至少17倍、至少18倍、至少19倍或至少20倍。

[0146] 在一些实施方案中,本发明的方法提供增加患有源自霍奇金淋巴瘤(HL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)或其组合的肿瘤的受试者的促炎性细胞因子(例如,IL-18和/或IFN $\gamma$ )和/或T细胞趋化因子(例如,IP10)的水平的方法,包括给予受试者治疗有效量的抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体。在一些实施方案中,在给予组合疗法后,促炎性细胞因子和/或T细胞趋化因子的水平增加至少1倍、至少1.5倍、至少2倍、至少3倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少11倍、至少12倍、至少13倍、至少14倍、至少15倍、至少16倍、至少17倍、至少18倍、至少19倍或至少20倍。

[0147] 在某些实施方案中,与给予单独的抗-CD30抗体或基线(未给予或给予前)相比,本发明的方法(例如,抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体的组合疗法)还活化和/或增殖T细胞,例如,CD4<sup>+</sup> T细胞,例如,滤泡辅助CD4<sup>+</sup> T细胞(Tfh)、T辅助细胞(Th1和/或Th2)、T辅助17(T17)细胞和/或调节性T细胞(Tregs)或CD8<sup>+</sup> T细胞。在一些实施方案中,与给予单独的抗-CD30抗体或基线(未给予或给予前)相比,本发明的方法增加T细胞,例如,CD4<sup>+</sup> T细胞、调节性T细胞(Tregs)的数量。

[0148] 在一些实施方案中,抗-PD-1和抗-CD30抗体经配制用于静脉内给予。在某些实施方案中,抗-PD-1和抗-CD30抗体序贯给予。在某些实施方案中,抗-PD-1和抗-CD30抗体在彼此30分钟内给予。在一个实施方案中,抗-PD-1抗体或其抗原-结合部分在抗-CD30抗体或其抗原-结合部分之前给予。在另一个实施方案中,抗CD30抗体或其抗原-结合部分在抗-PD-1抗体或其抗原-结合部分之前给予。在另一个实施方案中,抗-PD-1抗体或其抗原-结合部分和抗-CD30抗体或其抗原-结合部分在分开的组合物中同时给予。在另外的实施方案中,抗-PD-1抗体或其抗原-结合部分和抗-CD30抗体或其抗原-结合部分作为单一组合物混合,用于同时给予。

[0149] 在一些实施方案中,抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体以固定剂量给予。

[0150] 抗-PD-1和抗-PD-L1抗体

本公开内容的组合疗法可利用抗-PD-1抗体或其抗原-结合片段。PD-1是由活化的T和B细胞表达的关键的免疫检查点受体和介导免疫抑制。PD-1是CD28受体家族的成员,该家族包括CD28、CTLA-4、ICOS、PD-1和BTLA。已鉴定了PD-1的两种细胞表面糖蛋白配体,程序化死亡配体-1(PD-L1)和程序化死亡配体-2(PD-L2),它们在抗原呈递细胞以及许多人癌症上表达和已经显示在结合PD-1时下调T细胞活化和细胞因子分泌。PD-1/PD-L1相互作用的抑制在临床前模型中介导有效的抗肿瘤活性。

[0151] 以高亲和力特异性结合PD-1的人单克隆抗体已公开于美国专利号8,008,449。其它抗-PD-1 mAB已描述于例如,美国专利号6,808,710、7,488,802、8,168,757和8,354,509,和PCT公开号WO 2012/145493。公开于美国专利号8,008,449的每一种抗-PD-1人单克隆抗



体已证明显示一个或多个以下特征：(a) 以 $1 \times 10^{-7}$  M或更小的 $K_D$ 结合人PD-1,如使用Biacore生物传感器系统通过表面等离子共振测定的；(b) 不显著结合人CD28、CTLA-4或ICOS；(c) 在混合型淋巴细胞反应 (MLR) 测定中增加T-细胞增殖；(d) 在MLR测定中增加干扰素- $\gamma$  产生；(e) 在MLR测定中增加IL-2分泌；(f) 结合人PD-1和食蟹猴PD-1；(g) 抑制PD-L1和/或PD-L2与PD-1的结合；(h) 刺激抗原-特异性记忆应答；(i) 刺激抗体反应；和/或(j) 抑制体内肿瘤细胞生长。本公开内容使用的抗-PD-1抗体包括特异性结合人PD-1和显示至少一个、至少两个、至少三个、至少四个或至少五个前述特征的单克隆抗体。

[0152] 在一个实施方案中,抗-PD-1抗体是纳武单抗。纳武单抗(亦称为“Opdivo<sup>®</sup>”;旧称5C4、BMS-936558、MDX-1106或ONO-4538)是完全人IgG4 (S228P) PD-1免疫检查点抑制剂抗体,其选择性阻止与PD-1配体(PD-L1和PD-L2)的相互作用,从而阻断抗肿瘤T-细胞功能的下调(美国专利号8,008,449;Wang等, 2014 *Cancer Immunol Res.* 2(9):846-56)。纳武单抗已在各种晚期实体瘤中显示活性,所述实体瘤包括肾细胞癌(肾腺癌或肾上腺样瘤)、黑色素瘤和非小细胞肺癌(NSCLC) (Topalian等, 2012a; Topalian等, 2014; Drake等, 2013; WO 2013/173223)。在另一个实施方案中,抗-PD-1抗体或其片段与纳武单抗交叉竞争。在一些实施方案中,抗-PD-1抗体与纳武单抗结合相同的表位。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体具有与纳武单抗相同的CDR。

[0153] 在另一个实施方案中,抗-PD-1抗体(或其抗原-结合部分)与派姆单抗交叉竞争。在一些实施方案中,抗-PD-1抗体与派姆单抗结合相同的表位。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体具有与派姆单抗相同的CDR。在另一个实施方案中,抗-PD-1抗体是派姆单抗。派姆单抗(亦称为“Keytruda<sup>®</sup>”、lambrolizumab和MK-3475)是针对人细胞表面受体PD-1 (程序化死亡-1或程序化细胞死亡-1)的人源化单克隆IgG4抗体。派姆单抗描述于例如,美国专利号8,900,587;亦参见<http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=695789> (最后访问:2014年12月14日)。派姆单抗已被FDA批准用于治疗复发性或难治性黑色素瘤和晚期NSCLC。

[0154] 在其它实施方案中,抗-PD-1抗体(或其抗原-结合部分)与MEDI0680交叉竞争。在一些实施方案中,抗-PD-1抗体与MEDI0680结合相同的表位。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体具有与MEDI0680相同的CDR。在其它实施方案中,抗-PD-1抗体是MEDI0680 (旧称AMP-514),其是针对PD-1受体的单克隆抗体。MEDI0680描述于例如,美国专利号8,609,089B2或<http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=756047> (最后访问:2014年12月14日)。

[0155] 在某些实施方案中,免疫检查点抑制剂是AMP-224,其是B7-DC Fc融合蛋白。AMP-224论述于美国公开号2013/0017199或<http://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-drug?cdrid=700595> (最后访问:2015年7月8日)。

[0156] 在其它实施方案中,抗-PD-1抗体(或其抗原-结合部分)与BGB-A317交叉竞争。在一些实施方案中,抗-PD-1抗体与BGB-A317结合相同的表位。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体具有与BGB-A317相同的CDR。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体是BGB-A317,其是人源化单克隆抗体。BGB-A317描述于美国公开号2015/0079109。

[0157] 在其它实施方案中,抗-PD-1抗体(或其抗原-结合部分)与INCSHR1210 (SHR-1210)交叉竞争。在一些实施方案中,抗-PD-1抗体与INCSHR1210 (SHR-1210)结合相同的表位。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体具有与INCSHR1210 (SHR-1210)相同的CDR。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体是INCSHR1210 (SHR-1210),其是人单克隆抗体。INCSHR1210 (SHR-

1210) 描述于W02015/085847。

[0158] 在其它实施方案中,抗-PD-1抗体(或其抗原-结合部分)与REGN-2810交叉竞争。在一些实施方案中,抗-PD-1抗体与REGN-2810结合相同的表位。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体具有与REGN-2810相同的CDR。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体是REGN-2810,其是人单克隆抗体。REGN-2810描述于W02015/112800。

[0159] 在其它实施方案中,抗-PD-1抗体(或其抗原-结合部分)与PDR001交叉竞争。在一些实施方案中,抗-PD-1抗体与PDR001结合相同的表位。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体具有与PDR001相同的CDR。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体是PDR001,其是人源化单克隆抗体。PDR001描述于W02015/112900。

[0160] 在其它实施方案中,抗-PD-1抗体(或其抗原-结合部分)与TSR-042 (ANB011)交叉竞争。在一些实施方案中,抗-PD-1抗体与TSR-042 (ANB011)结合相同的表位。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体具有与TSR-042 (ANB011)相同的CDR。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体是TSR-042 (ANB011),其是人源化单克隆抗体。TSR-042 (ANB011)描述于W02014/179664。

[0161] 在其它实施方案中,抗-PD-1抗体(或其抗原-结合部分)与STI-1110交叉竞争。在一些实施方案中,抗-PD-1抗体与STI-1110结合相同的表位。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体具有与STI-1110相同的CDR。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体是STI-1110,其是人单克隆抗体。STI-1110描述于W02014/194302。

[0162] 本公开的方法中使用的抗-PD-1抗体还包括特异性结合人PD-1和与纳武单抗交叉竞争结合人PD-1的分离的抗体(参见例如,美国专利号8,008,449; WO 2013/173223)。抗体交叉竞争结合抗原的能力表明这些抗体结合抗原的相同表位区和空间阻碍其它交叉竞争抗体与该特定表位区的结合。根据它们结合PD-1的相同的表位区,这些交叉竞争抗体预期具有非常类似于纳武单抗的功能性质。在标准PD-1结合测定,例如Biacore分析、ELISA测定或流式细胞术中,交叉竞争抗体根据它们与纳武单抗交叉竞争的能力而可容易地被鉴定(参见例如,WO 2013/173223)。

[0163] 在某些实施方案中,与纳武单抗交叉竞争结合人PD-1或结合与纳武单抗相同的人PD-1表位区的抗体是单克隆抗体。对于给予人受试者,这些交叉竞争抗体可以是嵌合抗体,或可以是人源化或人抗体。这样的嵌合、人源化或人单克隆抗体可以通过本领域熟知的方法制备和分离。

[0164] 本公开内容的方法中使用的抗-PD-1抗体还包括上述抗体的抗原结合部分。已充分证明抗体的抗原结合功能可以由全长抗体的片段执行。包括在术语抗体的“抗原结合部分”内的结合片段的实例包括(i) Fab片段,由 $V_L$ 、 $V_H$ 、 $C_L$ 和 $C_{H1}$ 结构域组成的单价片段;(ii) F(ab')<sub>2</sub>片段,包含通过铰链区的二硫键连接的两个Fab片段的二价片段;(iii) 由 $V_H$ 和 $C_{H1}$ 结构域组成的Fd片段;(iv) 由抗体的单臂的 $V_L$ 和 $V_H$ 结构域组成的Fv片段,或其任何组合。

[0165] 在某些实施方案中,抗-PD-1抗体或其抗原结合部分包含具有人IgG1或IgG4同种型的重链恒定区。在某些其它实施方案中,抗-PD-1抗体或其抗原结合部分的IgG4重链恒定区的序列含有S228P突变,其将铰链区中的丝氨酸残基替换为通常在IgG1同种型抗体中的相应位置上存在的脯氨酸残基。存在于纳武单抗中的该突变防止Fab臂与内源性IgG4抗体交换,同时保留低亲和力用于激活与野生型IgG4抗体缔合的Fc受体(Wang等,2014)。在其它

实施方案中,抗体包含轻链恒定区,其是人 $\kappa$ 或 $\lambda$ 恒定区。在其它实施方案中,抗-PD-1抗体或其抗原结合部分是单克隆抗体或其抗原结合部分。在本文所述的包括给予抗-PD-1抗体的任何治疗方法的某些实施方案中,抗-PD-1抗体是纳武单抗。在其它实施方案中,抗-PD-1抗体是派姆单抗。在其它实施方案中,抗-PD-1抗体选自美国专利号8,008,449中描述的人抗体17D8、2D3、4H1、4A11、7D3和5F4。在仍其它的实施方案中,抗-PD-1抗体是MEDI0680 (旧称AMP-514)、AMP-224或BGB-A317。

[0166] 在其它实施方案中,抗-PD-1抗体或其抗原-结合部分是嵌合、人源化或人单克隆抗体或其部分。在用于治疗人受试者的某些实施方案中,抗体是人源化抗体。在用于治疗人受试者的其它实施方案中,抗体是人抗体。可使用具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型的抗体。

[0167] 在某些实施方案中,在所述方法中使用的抗-PD-1抗体可用另一种PD-1或抗-PD-L1拮抗剂替换。例如,因为抗-PD-L1抗体阻止PD-1和PD-L1之间的相互作用,从而发挥与PD-1的信号转导途径类似的作用,因此抗-PD-L1抗体可在本文公开的方法中替换抗-PD-1抗体的使用。因此,在一个实施方案中,本公开内容涉及用于治疗患有肿瘤的受试者的方法,包括给予受试者治疗有效量的抗-PD-L1抗体和抗-CD30抗体。

[0168] 在某些实施方案中,抗-PD-L1抗体是BMS-936559 (旧称12A4或MDX-1105) (参见例如,美国专利号7,943,743; WO 2013/173223)。

[0169] 在其它实施方案中,抗-PD-L1抗体是MPDL3280A (亦称为RG7446和阿特殊单抗) (参见例如,Herbst等(2013) *J Clin Oncol* 31(suppl):3000. Abstract.; 美国专利号8,217,149)。

[0170] 在其它实施方案中,抗-PD-L1抗体是MEDI4736 (亦称为Durvalumab; Khleif (2013) In: Proceedings from the European Cancer Congress 2013; 2013年9月27日-10月1; Amsterdam, The Netherlands. Abstract 802, 参见美国专利号8,779,108或US 2014/0356353,2014年5月6日提交)。

[0171] 在进一步的实施方案中,抗-PD-L1抗体是MSB0010718C (亦称为Avelumab; 参见US 2014/0341917)。

[0172] 在其它实施方案中,抗-PD-L1抗体是CX-072 (亦称为CytomX; 参见W02016/149201)。

[0173] 在某些实施方案中,抗-PD-L1抗体与上述参考资料的PD-L1抗体交叉竞争结合人PD-L1,或与上述参考资料的PD-L1抗体结合相同的人PD-L1表位区。在其它实施方案中,用于与抗-CD30抗体的组合疗法的抗-PD-L1抗体是单克隆抗体。对于给予人受试者,这些交叉竞争抗体可以是嵌合抗体,或可以是人源化或人抗体。这样的嵌合、人源化或人单克隆抗体可通过本领域熟知的方法制备和分离。

#### [0174] 抗-CD30抗体

本公开内容的组合疗法还利用抗-CD30抗体或其抗原-结合片段。CD30受体是参与限制自身反应性CD8效应T细胞的增殖潜力的肿瘤坏死因子受体超家族的成员。靶向CD30的抗体可潜在地是这些CD30活性的激动剂或拮抗剂。

[0175] 在一些实施方案中,抗-CD30抗体是cAC10。cAC10是特异性结合CD30的嵌合IgG1单克隆抗体。cAC10体外诱导CD30<sup>+</sup>细胞系的生长停止和在霍奇金疾病的严重联合免疫缺陷

(SCID) 小鼠异种移植模型中具有显著的抗肿瘤活性。参见Francisco等, *Blood* 102 (4): 1458-64 (2003)。

[0176] 在一些实施方案中,抗-CD30抗体与治疗剂缀合,例如,抗-CD30抗体包含抗-CD30抗体-药物缀合物。在一些实施方案中,治疗剂包含抗肿瘤剂(例如,抗有丝分裂剂)。在某些实施方案中,治疗剂选自单甲基阿里他汀E (MMAE)、阿里他汀药物类似物、类美登素(美登素;DM)、多拉司他汀、cryptophycin、倍癌霉素、倍癌霉素衍生物、埃斯培拉霉素、卡奇霉素、吡咯并苯并二氮杂 䓬 (PBD) 和其任何组合。在一个具体的实施方案中,抗-CD30抗体与MMAE缀合。抗体可与至少1个、至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个或至少10个治疗剂分子缀合。在一个实施方案中,抗-CD30抗体与4个治疗剂分子,例如,4个MMAE分子缀合。

[0177] 在一些实施方案中,抗-CD30抗体-药物缀合物还在治疗剂和抗体之间包含接头。在一些实施方案中,接头包含一个或多个天然存在的氨基酸、一个或多个非-天然存在(例如,合成)的氨基酸、化学接头或其任何组合。在某些实施方案中,接头是可裂解接头,例如,蛋白酶可裂解接头。在某些实施方案中,在被靶细胞摄取后,例如,在被表达CD30的细胞摄取后,接头被特异性裂解。在一些实施方案中,接头的裂解活化治疗剂的细胞毒性活性。

[0178] 在一个实施方案中,抗-CD30抗体包含本妥昔单抗。在一个具体的实施方案中,抗-CD30抗体是本妥昔单抗。本妥昔单抗(BV;亦称为“ADCETRIS®”)是针对CD30的抗体-药物缀合物(ADC),其包含嵌合抗-CD30抗体(cAC10)、治疗剂(MMAE)和在cAC10和MMAE之间的蛋白酶-可裂解接头。BV包含大约4个与每个cAC10抗体分子连接的MMAE分子。在一个实施方案中,抗-CD30抗体是ADCETRIS®。ADCETRIS®被FDA批准用于自体干细胞移植(ASCT)失败后或在不是ASCT候选者的患者中至少两种在先多药剂化学疗法方案失败后的治疗霍奇金淋巴瘤患者,和用于治疗至少一种在先多药剂化学疗法方案失败后的全身性间变性大细胞淋巴瘤患者。

[0179] 在一个实施方案中,抗-CD30抗体是结合与cAC10相同的表位、例如与本妥昔单抗相同的表位的抗-CD30抗体或其片段。在某些实施方案中,抗-CD30抗体是具有与cAC10相同的CDR、例如与本妥昔单抗相同的CDR的抗体。结合相同的表位的抗体根据它们结合相同的CD30表位区而预期具有非常类似于cAC10的功能性质。在标准CD30结合测定例如Biacore分析、ELISA测定或流式细胞术中,这些抗体根据它们例如与cAC10交叉竞争的能力而可容易被鉴定。

[0180] 在某些实施方案中,与cAC10交叉竞争结合人CD30,或结合与cAC10相同的人CD30表位区的抗体是单克隆抗体。对于给予人受试者,这些交叉竞争抗体可以是嵌合抗体,或可以是人源化或人抗体。这样的嵌合、人源化或人单克隆抗体可通过本领域熟知的方法制备和分离。在本公开内容的方法中使用的抗-CD30抗体还包括上述抗体的抗原-结合部分。

[0181] 在其它实施方案中,抗-CD30抗体或其抗原-结合部分是嵌合、人源化或人单克隆抗体或其部分。在用于治疗人受试者的某些实施方案中,抗体是人源化抗体。在用于治疗人受试者的其它实施方案中,抗体是人抗体。可使用具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型的抗体。

#### [0182] 癌症和标准护理疗法

在一些实施方案中,本文公开的方法代替标准护理疗法而使用。在某些实施方案中,标

准护理疗法与本文公开的任何方法组合使用。用于不同类型的癌症的标准护理疗法是本领域技术人员熟知的。例如, the National Comprehensive Cancer Network (NCCN), 其为USA的21个主要癌症中心的联盟, 公布了NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN GUIDELINES®), 其为各种癌症提供了关于标准护理治疗的详细最新信息(参见NCCN GUIDELINES®, 2014, 可获自: [www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp), 最后访问: 2014年5月14日)。

#### [0183] 淋巴瘤

本公开内容的组合疗法可用于治疗源自淋巴瘤的肿瘤。淋巴瘤是影响免疫系统的癌症形式。大多数淋巴瘤落入在两个类型内: 霍奇金淋巴瘤(HL) 和非霍奇金淋巴瘤(NHL)。NHL是最常见形式的淋巴瘤, 占有淋巴瘤病例的约90%, 而HL仅占有淋巴瘤病例的约10%。因此, 在一些实施方案中, 淋巴瘤是HL。在其它实施方案中, 淋巴瘤是NHL。

[0184] 在2017年, 在美国, NHL是估计72,000个新病例(所有新癌症病例的4.3%) 和20,000例死亡(所有癌症相关死亡的3.4%) 的原因。Howlader N等, SEER Cancer Statistics Review, 1975-2014, 基于2016年11月SEER数据提交。弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL), 其为最常见的NHL亚型, 具有7.14/100,000人/年(P-Y) 的发病率, 包括高达10%的原发性纵膈B-细胞淋巴瘤(PMBL)。Dunleavy K等, *Blood* 2015;125:33-39。外周T细胞淋巴瘤(PTCL) 和蕈样肉芽肿病/Sézary综合征(MF/SS) 的发病率是0.60和0.52/100,000 P-Y。Morton LM等, *Blood* 2006; 107:265-276。在两个主要类型的淋巴瘤HL和NHL内, 存在数个特定的淋巴瘤亚组。霍奇金淋巴瘤可包括但不限于, 经典HL (cHL; 例如, 结节硬化型HL、混合细胞型HL、淋巴细胞富集型HL和淋巴细胞消耗型HL) 和结节性淋巴母细胞优势型HL。非霍奇金淋巴瘤可包括但不限于, B-细胞淋巴瘤(例如, 弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、伯基特淋巴瘤、免疫母细胞性大细胞淋巴瘤、前体B-淋巴母细胞性淋巴瘤和套细胞淋巴瘤) 和T细胞淋巴瘤(例如, 皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL)、外周T细胞淋巴瘤(PTCL)、蕈样肉芽肿病、间变性大细胞淋巴瘤和前体T-淋巴母细胞性淋巴瘤)。

[0185] 对于复发性/难治性(R/R) NHL的治疗指南推荐多药剂化学疗法(与用于B-细胞淋巴瘤的靶向疗法组合)、本妥昔单抗(BV)、自体或同种异体造血干细胞移植(HSCT) 和/或放射疗法, 外加用于MF/SS的局部疗法。National Comprehensive Cancer Network, Non-Hodgkin Lymphoma (版本3.2016)。5-年相对存活率在DLBCL、PTCL和MF/SS中分别是48%、44%和86%。Han X等, *Cancer Causes Control* 2008;19:841-858。

[0186] 在某些方面, 本公开内容涉及治疗患有源自霍奇金淋巴瘤(HL) 的肿瘤的受试者的方法, 包括给予受试者(a) 抗-PD-1抗体, 和(b) 抗-CD30抗体。在一些实施方案中, 肿瘤包含HL。在一个具体的实施方案中, HL是经典HL (cHL)。

[0187] 在某些方面, 本公开内容涉及治疗患有源自非霍奇金淋巴瘤(NHL) 的肿瘤的受试者的方法, 包括给予受试者(a) 抗-PD-1抗体, 和(b) 抗-CD30抗体。在一些实施方案中, 肿瘤包含NHL。在某些实施方案中, NHL是复发性或难治性NHL。在一些实施方案中, NHL是B-细胞淋巴瘤, 例如, 弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、伯基特淋巴瘤、免疫母细胞性大细胞淋巴瘤、前体B-淋巴母细胞性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤或其任何组合。在一些实施方案中, NHL是T-细胞淋巴瘤, 例如, 皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL)、外周T细胞淋巴瘤(PTCL)、蕈样肉芽肿病、间变性大细胞淋巴瘤、前体T-淋巴母细胞性淋巴瘤或其任何组合。在具体的

实施方案中,NHL选自DLBCL、PTCL、CTCL和其任何组合。

[0188] 各种淋巴瘤已知表达CD30。例如,CD30由HL典型的Reed-Sternberg细胞表达,和CD30表达在各种形式的NHL中观察到,包括但不限于弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、外周T细胞淋巴瘤(PTCL)和皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL)。因此,在一些实施方案中,肿瘤包含一种或多种表达CD30的细胞。在一些实施方案中,至少约0.01%、至少约0.1%、至少约1%、至少约2%、至少约3%、至少约4%、至少约5%、至少约6%、至少约7%、至少约8%、至少约9%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%或至少约95%的肿瘤细胞表达CD30。在一个具体的实施方案中,至少约1%的肿瘤细胞表达CD30。在另一个实施方案中,至少约10%的肿瘤细胞表达CD30。在另一个实施方案中,至少约20%的肿瘤细胞表达CD30。在另一个实施方案中,至少约30%的肿瘤细胞表达CD30。在另一个实施方案中,至少约40%的肿瘤细胞表达CD30。在另一个实施方案中,至少约50%的肿瘤细胞表达CD30。

[0189] 可以在给予任何组合物之前或使用本文公开的任何方法测量受试者中肿瘤(例如,源自NHL和/或HL的肿瘤)的PD-L1状态。PD-L1表达可以通过本领域已知的任何方法确定。

[0190] 为了评估PD-L1表达,在一个实施方案中,可以从需要治疗的患者获得测试组织样品。在另一个实施方案中,可以在不获得测试组织样品的情况下实现PD-L1表达的评估。在一些实施方案中,选择合适的患者包括(i)任选地提供从患有组织癌症的患者获得的测试组织样品,该测试组织样品包含肿瘤细胞和/或肿瘤浸润性炎性细胞;和(ii)基于在细胞表面上表达PD-L1的测试组织样品中细胞的比例高于预定的阈值水平的评估来评估在细胞表面上表达PD-L1的测试组织样品中细胞的比例。

[0191] 然而,在包括测试组织样品中PD-L1表达的测量的任何方法中,应当理解,包括提供从患者获得的测试组织样品的步骤是任选步骤。还应当理解,在某些实施方案中,通过测定PD-L1表达的变换方法,例如通过进行逆转录酶-聚合酶链反应(RT-PCR)测定或IHC测定进行“测量”或“评估”步骤以鉴别或确定在细胞表面上表达PD-L1的测试组织样品中的细胞的数量或比例。在某些其它实施方案中,不涉及变换步骤,且通过例如回顾来自实验室的测试结果的报告来评估PD-L1表达。在某些实施方案中,直到且包括评估PD-L1表达的方法的步骤提供中间结果,其可以提供给医生或其它医疗保健提供者以用于选择抗-PD-1抗体或抗PD-L1抗体治疗的合适候选者。在某些实施方案中,提供中间结果的步骤由医疗从业者或在医疗从业者指导下行事的人员执行。在其它实施方案中,这些步骤由独立实验室或由诸如实验室技术人员的独立人员执行。

[0192] 在任何本发明的方法的某些实施方案中,通过进行测定以确定PD-L1 RNA的存在来评估表达PD-L1的细胞的比例。在进一步的实施方案中,通过RT-PCR、原位杂交或RNase保护确定PD-L1 RNA的存在。在其它实施方案中,通过进行测定以确定PD-L1多肽的存在来评估表达PD-L1的细胞的比例。在进一步的实施方案中,通过免疫组织化学(IHC)、酶联免疫吸附测定(ELISA)、体内成像或流式细胞术确定PD-L1多肽的存在。在一些实施方案中,通过IHC测定PD-L1表达。在所有这些方法的其它实施方案中,使用例如IHC或体内成像测定PD-L1的细胞表面表达。Chen等,(2013) Clin Cancer Res 19(13): 3462-3473。

[0193] 成像技术在癌症研究和治疗中提供重要的工具。分子成像系统中的最新发展,包括正电子发射断层扫描(PET)、单光子发射计算机断层扫描(SPECT)、荧光反射成像(FRI)、荧光介导断层扫描(FMT)、生物发光成像(BLI)、激光扫描共聚焦显微术(LSCM)和多光子显微术(MPM)可能将预示这些技术在癌症研究中的甚至更大用途。这些分子成像系统中的一些允许临床医生不仅可以看到肿瘤在体内的位置,还可以看到影响肿瘤行为和/或对治疗药物的响应性的特定分子、细胞和生物过程的表达和活性(Condeelis和Weissleder, "In vivo imaging in cancer," *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2(12):a003848 (2010))。抗体特异性联合PET的灵敏度和分辨率使免疫PET成像对于监测和测定组织样品中抗原的表达特别有吸引力(McCabe和Wu, "Positive progress in immunoPET—not just a coincidence," *Cancer Biother. Radiopharm.* 25(3):253-61 (2010); Olafsen等, "ImmunoPET imaging of B-cell lymphoma using 124I-anti-CD20 scFv dimers (diabodies)," *Protein Eng. Des. Sel.* 23(4):243-9 (2010))。在任何本发明的方法的某些实施方案中,通过免疫PET成像测定PD-L1表达。在任何本发明的方法的某些实施方案中,通过进行测定以确定测试组织样品中细胞表面上PD-L1多肽的存在来评估表达PD-L1的测试组织样品中细胞的比例。在某些实施方案中,测试组织样品是FFPE组织样品。在其它实施方案中,通过IHC测定确定PD-L1多肽的存在。在进一步的实施方案中,使用自动化过程进行IHC测定。在一些实施方案中,使用抗-PD-L1单克隆抗体以结合到PD-L1多肽进行IHC测定。

[0194] 在本方法的一个实施方案中,使用自动化IHC方法测定FFPE组织样本中细胞表面上PD-L1的表达。本公开内容提供用于检测测试组织样品中人PD-L1抗原的存在,或定量人PD-L1抗原水平或样品中表达该抗原的细胞比例的方法,该方法包括在允许在抗体或其部分和人PD-L1之间形成复合物的条件下将测试样品和阴性对照样品与特异性结合人PD-L1的单克隆抗体接触。在某些实施方案中,测试和对照组织样品是FFPE样品。然后检测复合物的形成,其中测试样品和阴性对照样品之间复合物形成的差异表明样品中存在人PD-L1抗原。使用各种方法来定量PD-L1表达。

[0195] 在具体实施方案中,自动化IHC方法包括:(a)在自动染色机中对封固的组织切片进行脱蜡和再水化;(b)使用decloaking室和pH 6缓冲液(加热至110°C 10分钟)修复抗原;(c)在自动染色机上设置试剂;(d)运行自动染色机以包括以下步骤:中和组织样本中内源性过氧化物酶;阻断载玻片上的非特异性蛋白质结合位点;用第一抗体孵育载玻片;用第一后阻断剂孵育;用NovoLink Polymer孵育;加入显色底物并显影;和用苏木精复染。

[0196] 为了评估肿瘤组织样品中的PD-L1表达,病理学家在显微镜下检查每个视野中的膜PD-L1<sup>+</sup>肿瘤细胞的数量,并经脑力评估阳性细胞的百分比,然后将其平均化得到最终百分比。不同的染色强度定义为0/阴性,1+/弱,2+/中等和3+/强。通常,百分比值首先分配给0和3+段,且然后考虑中间1+和2+强度。对于高度异质的组织,将样本分成区域,且每个区域分别评分,且然后组合成单一组百分比值。从每个区域确定不同染色强度的阴性和阳性细胞的百分比,并给每个区域赋予中值。对于每种染色强度类别,给予组织最终百分比值:阴性,1+,2+和3+。所有染色强度的总和需要为100%。在一个实施方案中,需要PD-L1阳性的细胞的阈值数量是至少约100,至少约125,至少约150,至少约175或至少约200个细胞。在某些实施方案中,需要PD-L1阳性的细胞的阈值数量是至少约100个细胞。

[0197] 还在肿瘤浸润性炎性细胞,例如巨噬细胞和淋巴细胞中评估染色。在大多数情况下,巨噬细胞用作内部阳性对照,因为在大部分巨噬细胞中观察到染色。虽然不需要以3+强度染色,但应考虑不存在巨噬细胞染色以排除任何技术故障。评估巨噬细胞和淋巴细胞的质膜染色,且对所有样品仅记录为对每种细胞类别为阳性或阴性。染色还根据肿瘤外部/内部的免疫细胞指定来表征。“内部”是指在没有物理插入在肿瘤细胞之中的情况下,免疫细胞在肿瘤组织内和/或在肿瘤区域的边界上。“外部”是指与肿瘤没有物理关联,免疫细胞在与结缔组织或任何相关的相邻组织相关的外周中发现。

[0198] 在这些评分方法的某些实施方案中,样品由两名独立操作的病理学家评分,且随后合并评分。在某些其它实施方案中,使用合适的软件对阳性和阴性细胞的鉴别进行评分。

[0199] histoscore用作IHC数据的更定量量度。histoscore计算如下:

$$\text{Histscore} = [(\% \text{肿瘤} \times 1 (\text{低强度})) + (\% \text{肿瘤} \times 2 (\text{中等强度})) + (\% \text{肿瘤} \times 3 (\text{高强度}))]$$

为了确定histoscore,病理学家评估样本内每个强度类别中染色细胞的百分比。因为大多数生物标记物的表达是异质的,histoscore是整体表达的更真实的表示。最终的histoscore范围是0(无表达)至300(最大表达)。

[0200] 定量测试组织样品IHC中PD-L1表达的备选方法是确定调节的炎症评分(AIS)评分,其定义为炎症密度乘以肿瘤浸润性炎性细胞的PD-L1表达百分比(Taube等,“Colocalization of inflammatory response with B7-h1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape,” *Sci. Transl. Med.* 4(127):127ra37(2012))。

[0201] 在一个实施方案中,肿瘤(例如,源自NHL和/或HL的肿瘤)的PD-L1表达水平为至少约1%、至少约2%、至少约3%、至少约4%、至少约5%、至少约6%、至少约7%、至少约8%、至少约9%、至少约10%、至少约11%、至少约12%、至少约13%、至少约14%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或约100%。在另一个实施方案中,肿瘤的PD-L1状态为至少约1%。在其它实施方案中,肿瘤的PD-L1状态为至少约5%。在某个实施方案中,肿瘤的PD-L1状态为至少约10%。在一个实施方案中,肿瘤的PD-L1状态为至少约25%。在一个具体实施方案中,肿瘤的PD-L1状态为至少约50%。

[0202] 如本文所用的“PD-L1阳性”可与“至少约1%的PD-L1表达”互换使用。在一个实施方案中,PD-L1阳性肿瘤因此可具有至少约1%、至少约2%、至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或约100%的表达PD-L1的肿瘤细胞,如通过自动化IHC测量的。在某些实施方案中,“PD-L1阳性”是指在细胞表面上存在至少100个表达PD-L1的细胞。

[0203] 药物组合物和剂量

本公开内容的治疗剂可包括在包含抗体和药学上可接受的载体的组合物、例如,药物组合物中。如本文使用的,“药学上可接受的载体”包括生理上相容的任何和所有溶剂、分散介质、包衣料、抗菌剂和抗真菌剂、等渗和吸收延迟剂等。在一些实施方案中,包含抗体的组合物的载体适合于静脉内、肌内、皮下、胃肠外、脊柱或表皮给予(例如,通过注射或输注)。本公开内容的药物组合物可包括一种或多种药学上可接受的盐、抗氧化剂、水性和非水性



载体和/或辅剂,例如防腐剂、湿润剂、乳化剂和分散剂。

[0204] 剂量方案经调整以提供最佳的所需反应,例如,最大治疗反应和/或最小不良作用。在一些实施方案中,抗-PD-1抗体以基于重量的剂量给予。对于抗-PD-1抗体的给予,剂量范围可以是至少约0.01 mg/kg-至少约20 mg/kg、至少约0.1 mg/kg-至少约10 mg/kg、约0.01 mg/kg-约5 mg/kg、约1 mg/kg-约5 mg/kg、约2 mg/kg-约5 mg/kg、约1 mg/kg-约3 mg/kg、约7.5 mg/kg-约12.5 mg/kg或约0.1 mg/kg-约30 mg/kg的受试者体重。例如,剂量可以是至少约0.1 mg/kg、至少约0.3 mg/kg、至少约1 mg/kg、至少约2 mg/kg、至少约3 mg/kg、至少约5 mg/kg或至少约10 mg/kg体重。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体的剂量是3 mg/kg体重。

[0205] 在一个实施方案中,抗-PD-1抗体的剂量方案包括通过静脉内给予的约0.3-1 mg/kg体重、约5 mg/kg体重、1-5 mg/kg体重或约1-3 mg/kg体重,其中在直至约6周或约12周的周期中每约14-21天给予抗体,直到完全反应或证实进行性疾病。在一些实施方案中,本文公开的抗体治疗或任何组合治疗继续至少约1个月、至少约3个月、至少约6个月、至少约9个月、至少约1年、至少约18个月、至少约24个月、至少约3年、至少约5年或至少约10年。

[0206] 基于抗体典型的药代动力学性质,给药时间表通常被设计为实现导致持续的受体占据(R0)的暴露。示例性的治疗方案需要每周一次、每2周一次、每3周一次、每4周一次、每月一次、每3-6个月或更久一次给予。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体例如纳武单抗每2周一次给予受试者。在其它实施方案中,抗体每3周一次给予。剂量和时间安排可在治疗过程中变化。抗-PD-1抗体可以至少两个剂量给予,每个剂量为约0.01 mg/kg-约5 mg/kg、例如,3 mg/kg的量,在两个剂量之间给药间隔为每两个周。在一些实施方案中,抗-PD-1抗体以至少3、4、5、6或7个剂量(即,多个剂量)给予,每个剂量为约0.01 mg/kg-约5 mg/kg、例如,3 mg/kg的量,在两个相邻给予的剂量之间给药间隔为每两个周。剂量和时间安排可在治疗过程中变化。例如,抗-PD-1单一疗法的给药时间表可包括给予抗体:(i) 每2周,6周周期;(ii) 每4周,共6个剂量,然后每3个月;(iii) 每3周;或(iv) 3-10 mg/kg一次,接着1 mg/kg每2-3周。考虑到IgG4抗体通常具有2-3周的半衰期,本公开内容的抗-PD-1抗体的剂量方案包括通过静脉内给予的0.3-10 mg/kg体重,例如,1-5 mg/kg体重,例如,1-3 mg/kg体重,其中在直至6周或12周的周期中每14-21天给予抗体,直到完全反应或证实进行性疾病。

[0207] 在具体的实施方案中,抗-PD-1抗体以至少约0.1 mg/kg-至少约10.0 mg/kg体重的范围的剂量给予,约每1、2或3周一次。在进一步的实施方案中,抗-PD-1抗体(例如,纳武单抗)以至少约3 mg/kg体重的剂量给予,约每2周一次。在其它实施方案中,抗-PD-1抗体(例如,派姆单抗)以至少约200 mg每3周或2 mg/kg (至多200 mg) 每3周的剂量给予。在一些实施方案中,抗-PD-1抗体(例如,avelumab)以10 mg/kg每2周的剂量给予。

[0208] 在某些实施方案中,抗-PD-1抗体以统一剂量给予。在实施方案中,抗-PD-1抗体的统一剂量是至少约100-600 mg、至少约400-500 mg、例如至少约480 mg或至少约100-300 mg、例如至少约200-300 mg、至少约220-260 mg、至少约230-250 mg或至少约240 mg、例如至少约60 mg、至少约80 mg、至少约100 mg、至少约120 mg、至少约140 mg、至少约160 mg、至少约180 mg、至少约200 mg、至少约220 mg、至少约240 mg、至少约260 mg、至少约280 mg、至少约300 mg、至少约320 mg、至少约360 mg、至少约400 mg、至少约440 mg、至少约480 mg、至少约500 mg、至少约550 mg、至少约600 mg、至少约650 mg、至少约700 mg、至少约750

mg或至少约800 mg的剂量(例如,统一剂量)。在一个实施方案中,抗-PD-1抗体是至少约240 mg或至少约480 mg、例如240 mg-480 mg的剂量(例如,统一剂量),约每2-4周一次。在其它实施方案中,抗-PD-1抗体或其抗原-结合部分以高于,即,至少约240 mg的剂量给予。在具体的实施方案中,抗-PD-1抗体以约360 mg的统一剂量给予,约每3周一次。

[0209] 在某些实施方案中,抗-PD-1抗体以统一剂量给予。在实施方案中,抗-PD-1抗体的统一剂量是约100-600 mg、约400-500 mg、例如约480 mg或约100-300 mg、例如约200-300 mg、约220-260 mg、约230-250 mg或约240 mg、例如约60 mg、约80 mg、约100 mg、约120 mg、约140 mg、约160 mg、约180 mg、约200 mg、约220 mg、约240 mg、约260 mg、约280 mg、约300 mg、约320 mg、约360 mg、约400 mg、约440 mg、约480 mg、约500 mg、约550 mg、约600 mg、约650 mg、约720 mg、约750 mg或约800 mg的剂量(例如,统一剂量)。在一个实施方案中,抗-PD-1抗体是约240 mg或约480 mg、例如240 mg-480 mg的剂量(例如,统一剂量),约每2-4周一次。在其它实施方案中,抗-PD-1抗体或其抗原-结合部分以高于,即,约240 mg的剂量给予。在具体的实施方案中,抗-PD-1抗体以约360 mg的统一剂量给予,约每3周一次。

[0210] 在一些实施方案中,抗-PD-1抗体以与抗-CD30抗体的固定剂量给予。在一些实施方案中,比率是至少约1:1、约1:2、约1:3、约1:4、约1:5、约1:6、约1:7、约1:8、约1:9、约1:10、约1:15、约1:20、约1:30、约1:40、约1:50、约1:60、约1:70、约1:80、约1:90、约1:100、约1:120、约1:140、约1:160、约1:180、约1:200、约200:1、约180:1、约160:1、约140:1、约120:1、约100:1、约90:1、约80:1、约70:1、约60:1、约50:1、约40:1、约30:1、约20:1、约15:1、约10:1、约9:1、约8:1、约7:1、约6:1、约5:1、约4:1、约3:1或约2:1 mg抗-PD-1抗体:抗-CD30抗体。

[0211] 当与其它抗癌剂组合使用时,抗-PD-1抗体的剂量可低于单一疗法剂量。例如,每3或4周,显著低于典型的3 mg/kg,但不少于0.001 mg/kg,例如0.1 mg/kg或更少的纳武单抗的剂量,被视为亚治疗剂量。用于本文的方法的抗-PD-1抗体的亚治疗剂量为高于0.001 mg/kg和低于3mg/kg。在一些实施方案中,亚治疗剂量为约0.001 mg/kg-约1 mg/kg、约0.01 mg/kg-约1 mg/kg、约0.1 mg/kg-约1 mg/kg或约0.001 mg/kg-约0.1 mg/kg体重。在一些实施方案中,亚治疗剂量为至少约0.001 mg/kg、至少约0.005 mg/kg、至少约0.01 mg/kg、至少约0.05 mg/kg、至少约0.1 mg/kg、至少约0.5 mg/kg或至少约1.0 mg/kg体重。来自15个接受0.3 mg/kg-10 mg/kg剂量的纳武单抗的受试者的受体占据数据表明,在该剂量范围中PD-1占据似乎是剂量非依赖性的。跨越所有剂量,平均占据率是85% (范围为70%-97%),其中平均平台占据为72% (范围为59%-81%)。(Brahmer等, *J Clin Oncol* 28:3167-75 2010)。在一些实施方案中,0.3 mg/kg给药可允许导致最大生物活性的充分暴露。在具体的实施方案中,抗-CD30抗体,例如,BV,以1.8 mg/kg的剂量给予,每3周一次。

[0212] 尽管更高的纳武单抗单一疗法剂量(直至10 mg/kg每2周)已在没有达到最大耐受剂量(MTD)的情况下实现,但在检查点抑制剂加抗-血管生成疗法的其它试验(参见例如,Johnson等, 2013; Rini等, 2011)中报告的显著毒性支持了选择低于10 mg/kg的纳武单抗剂量。

[0213] 在一些实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)以基于重量的剂量给予。对于抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的给予,剂量范围可以是约0.01 mg/kg-约20 mg/kg、约0.05 mg/kg-约20 mg/kg、约0.1 mg/kg-约20 mg/kg、约0.1 mg/kg-约15 mg/kg、约0.1 mg/

kg-约10 mg/kg、约0.1 mg/kg-约5 mg/kg、约0.1 mg/kg-约4 mg/kg、约0.1 mg/kg-约3 mg/kg、约0.1-约2 mg/kg、约1-约10 mg/kg、约1-约10 mg/kg、约1-约8 mg/kg、约1-约5 mg/kg、约1-约3 mg/kg、约1-约2 mg/kg的受试者体重。例如,剂量可以是约0.05 mg/kg、约0.1 mg/kg、约0.2 mg/kg、约0.3 mg/kg、约0.4 mg/kg、约0.5 mg/kg、约0.6 mg/kg、约0.7 mg/kg、约0.8 mg/kg、约0.9 mg/kg、约1.0 mg/kg、约1.1 mg/kg、约1.2 mg/kg、约1.3 mg/kg、约1.4 mg/kg、约1.5 mg/kg、约1.6 mg/kg、约1.7 mg/kg、约1.8 mg/kg、约1.9 mg/kg、约2.0 mg/kg、约2.1 mg/kg、约2.2 mg/kg、约2.3 mg/kg、约2.4 mg/kg、约2.5 mg/kg、约2.6 mg/kg、约2.7 mg/kg、约2.8 mg/kg、约2.9 mg/kg、约3 mg/kg、约4 mg/kg、约5 mg/kg、约6 mg/kg、约7 mg/kg、约8 mg/kg、约9 mg/kg、约10 mg/kg、约11 mg/kg、约12 mg/kg、约13 mg/kg、约14 mg/kg、约15 mg/kg或约20 mg/kg的受试者体重。

[0214] 在一些实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是0.1 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是0.2 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是0.3 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是0.4 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是0.5 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是0.6 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是0.7 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是0.8 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是0.9 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是1.0 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是1.1 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是1.2 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是1.3 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是1.4 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是1.5 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是1.6 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是1.7 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是1.8 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是1.9 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是2.0 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是2.1 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是2.2 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是2.3 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是2.4 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是2.5 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是约5 mg/kg体重。在其它实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的剂量是约10 mg/kg体重。

[0215] 在某些实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)以统一剂量给予。在一些实施方案中,抗-CD30抗体的统一剂量是至少约1-1500 mg、至少约10-1000 mg、例如至少约50-800 mg、至少约100-600 mg、至少约100-400 mg或至少约100-200 mg、例如至少约1 mg、至少约3 mg、至少约5 mg、至少约8 mg、至少约10 mg、至少约20 mg、至少约30 mg、至少约40 mg、至少约50 mg、至少约60 mg、至少约70 mg、至少约80 mg、至少约90 mg、至少约100 mg、

至少约110 mg、至少约120 mg、至少约130 mg、至少约140 mg、至少约150 mg、至少约160 mg、至少约170 mg、至少约180 mg、至少约190 mg、至少约200 mg、至少约220 mg、至少约240 mg、至少约260 mg、至少约280 mg、至少约300 mg、至少约320 mg、至少约340 mg、至少约360 mg、至少约380 mg、至少约400 mg、至少约420 mg、至少约440 mg、至少约460 mg、至少约480 mg、至少约500 mg、至少约600 mg、至少约700 mg、至少约800 mg、至少约900 mg、至少约1000 mg、至少约1100 mg、至少约1200 mg、至少约1300 mg、至少约1400 mg或至少约1500 mg的剂量(例如,统一剂量)。

[0216] 在某些实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)以统一剂量给予。在一些实施方案中,抗-CD30抗体的统一剂量是约1-1500 mg、约10-1000 mg、例如约50-800 mg、约100-600 mg、约100-400 mg或约100-200 mg、例如约1 mg、约3 mg、约5 mg、约8 mg、约10 mg、约20 mg、约30 mg、约40 mg、约50 mg、约60 mg、约70 mg、约80 mg、约90 mg、约100 mg、约110 mg、约120 mg、约130 mg、约140 mg、约150 mg、约160 mg、约170 mg、约180 mg、约190 mg、约200 mg、约220 mg、约240 mg、约260 mg、约280 mg、约300 mg、约320 mg、约340 mg、约360 mg、约380 mg、约400 mg、约420 mg、约440 mg、约460 mg、约480 mg、约500 mg、约600 mg、约700 mg、约800 mg、约900 mg、约1000 mg、约1100 mg、约1200 mg、约1300 mg、约1400 mg或约1500 mg的剂量(例如,统一剂量)。

[0217] 示例性的治疗方案需要每周一次、约每2周一次、约每3周一次、约每4周一次、约每月一次、约每3-6个月或更久一次给予。在某些实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)约每3周一次给予。

[0218] 在一些实施方案中,亚治疗剂量的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)用于本文的方法。用于本文的方法的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的亚治疗剂量为高于0.001 mg/kg和低于10 mg/kg。在一些实施方案中,亚治疗剂量为约0.001 mg/kg-约10 mg/kg、约0.01 mg/kg-约10 mg/kg、约0.01 mg/kg-约1 mg/kg、约0.1 mg/kg-约1 mg/kg或约0.001 mg/kg-约0.1 mg/kg体重。在一些实施方案中,亚治疗剂量为至少约0.001 mg/kg、至少约0.005 mg/kg、至少约0.01 mg/kg、至少约0.05 mg/kg、至少约0.1 mg/kg、至少约0.2 mg/kg、至少约0.3 mg/kg、至少约0.4 mg/kg、至少约0.5 mg/kg、至少约0.6 mg/kg、至少约0.7 mg/kg、至少约0.8 mg/kg、至少约0.9 mg/kg、至少约1 mg/kg、至少约1.1 mg/kg、至少约1.2 mg/kg、至少约1.3 mg/kg、至少约1.4 mg/kg、至少约1.5 mg/kg、至少约1.6 mg/kg或至少约1.7 mg/kg体重。

[0219] 在某些实施方案中,至少约0.1 mg/kg-约5 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约0.1 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约0.2 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约0.3 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约0.4 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约0.5 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约0.6 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约

240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约0.7 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约0.8 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约0.9 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约1 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约1.1 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约1.2 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约1.3 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约1.4 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约1.5 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约1.6 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约1.7 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约1.8 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约1.9 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约2 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约3 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约4 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约5 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在某些实施方案中,至少约10 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和至少约240 mg的抗-PD-1抗体给予受试者,约每三周一次。在实施方案中,抗-CD30抗体是本妥昔单抗。在一些实施方案中,抗-PD-1抗体是纳武单抗。

[0220] 在某些实施方案中,抗-PD-1抗体(例如,纳武单抗)和抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的组合经静脉内给予受试者,约每3周一次,持续总共9周。在一些实施方案中,9周的周期重复3或4次。在实施方案中,受试者每3周用抗-PD-1抗体(例如,纳武单抗)和抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的 combination 治疗,持续总共9周,和进行3个9周的周期。在实施方案中,受试者每3周用抗-PD-1抗体(例如,纳武单抗)和抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)的 combination 治疗,持续总共9周,和进行4个9周的周期。在实施方案中,受试者用抗-PD-1抗体治疗,持续12个9周的周期。

[0221] 在某些实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)在第一个周期的第1天(第1周期第1天)给予(例如,静脉内)受试者;抗-PD-1抗体(例如,纳武单抗)在该周期的第8天(第1周期第8天)给予(例如,静脉内)受试者;和抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和抗-PD-1抗体(例如,纳武单抗)的组合在周期2-4各自的第1天给予(例如,静脉内)。在一些实施方案

中,每个周期是2周、15天、3周、4周、1个月、5周或6周。在一个具体的实施方案中,受试者在第1周期第1天(例如,21天周期)用约1.8 mg/kg的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)治疗;在第1周期第8天用约3 mg/kg的抗-PD-1抗体(例如,纳武单抗)治疗;和在周期2-4各自的第1天用抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和抗-PD-1抗体(例如,纳武单抗)的组合治疗。在一个具体的实施方案中,抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和抗-PD-1抗体(例如,纳武单抗)的组合包含约1.8 mg/kg的剂量的抗-CD30抗体(例如,本妥昔单抗)和约3 mg/kg的剂量的抗-PD-1抗体(例如,纳武单抗)。

[0222] 治疗继续,只要观察到临床益处或直至不可接受的毒性或疾病进展发生。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体可以在临床试验中作为单一疗法显示产生最高功效的剂量给予,例如,给予约3 mg/kg的纳武单抗,约每三周一次(Topalian等, 2012 *N Engl J Med* 366: 2443-54; Topalian等, 2012 *Curr Opin Immunol* 24:207-12),以240 mg的统一剂量给予,或以显著更低的剂量,即,以亚治疗剂量给予。

[0223] 在某些实施方案中,受试者用抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体的组合治疗,约每3周一次,持续规定的一段时间,接着抗-PD-1抗体的单一疗法或抗-CD30抗体的单一疗法。在一些实施方案中,受试者用抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体的组合治疗,约每3周一次,持续约6周,接着抗-PD-1抗体的单一疗法或抗-CD30抗体的单一疗法。在一些实施方案中,受试者用抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体的组合治疗,约每3周一次,持续约9周,接着抗-PD-1抗体的单一疗法或抗-CD30抗体的单一疗法。在一些实施方案中,受试者用抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体的组合治疗,约每3周一次,持续约12周,接着抗-PD-1抗体的单一疗法或抗-CD30抗体的单一疗法。在一些实施方案中,受试者用抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体的组合治疗,约每3周一次,持续约24周,接着抗-PD-1抗体的单一疗法或抗-CD30抗体的单一疗法。在一些实施方案中,受试者用抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体的组合治疗,约每3周一次,持续约48周,接着抗-PD-1抗体的单一疗法或抗-CD30抗体的单一疗法。抗-PD-1抗体的单一疗法可通过本文公开的任何途径以本文公开的任何剂量给予。在一个实施方案中,抗-PD-1抗体的单一疗法经静脉内以240 mg的统一剂量给予。在另一个实施方案中,抗-PD-1抗体的单一疗法经静脉内以3 mg/kg或6 mg/kg的剂量给予。抗-CD30抗体的单一疗法可通过本文公开的任何途径以本文公开的任何剂量给予。在一个实施方案中,抗-CD30抗体,例如,本妥昔单抗的单一疗法经静脉内以1.8 mg/kg的剂量给予。

[0224] 剂量和频率根据在受试者中抗体的半衰期而改变。一般而言,人抗体显示最常的半衰期,接着是人源化抗体、嵌合抗体和非人抗体。给予的剂量和频率可根据治疗是预防性还是治疗性的而改变。在预防性应用中,相对低的剂量通常在长时间内以相对低的频率间隔给予。一些患者在其剩余的生命时间内继续接受治疗。在治疗性应用中,有时需要以相对短的间隔的相对高的剂量,直到疾病进展减少或终止,和直到患者显示疾病症状的部分或完全改善。之后,可给予患者预防性方案。

[0225] 本公开内容的药物组合物中活性成分的实际剂量水平可改变,以获得有效实现对于特定的患者、组合物和给予方式所需的治疗反应,而对患者没有过度毒性的量的活性成分。选择的剂量水平将取决于各种药代动力学因素,包括使用的本公开内容的特定组合物的活性,给予途径,给予时间,使用的特定化合物的排泄速率,治疗持续时间,与使用的特定组合物组合使用的其它药物、化合物和/或材料,治疗的患者的年龄、性别、重量、病况、一般

健康和在先医疗史,以及医学领域熟知的类似因素。本公开内容的组合物可使用本领域熟知的各种方法的一种或多种,通过一种或多种给予途径给予。如技术人员将理解的,给予途径和/或方式将根据所需的结果而改变。

#### [0226] 试剂盒

本公开内容的范围还包括为治疗用途的包含抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体的药盒。药盒通常包括指示药盒的内容物的预期用途和使用说明书的标签。术语标签包括在药盒上或随药盒提供或以其它方式伴随药盒的任何书面或记录材料。因此,本公开内容提供用于治疗患有癌症的受试者的药盒,所述药盒包含:(a) 约4 mg-约500 mg的范围的剂量的抗-PD-1抗体或其抗原-结合部分;(b) 约0.1 mg-约500 mg的范围的剂量的抗-CD30抗体或其抗原-结合部分;和(c) 在本文公开的任何组合疗法方法中使用抗-PD-1抗体和抗-CD30抗体的说明书。在某些实施方案中,抗-PD-1抗体、抗-CD30可以单位剂型共包装。在用于治疗人患者的某些实施方案中,所述药盒包含本文公开的抗-人PD-1抗体,例如,纳武单抗、派姆单抗、MEDI0680 (旧称AMP-514)、AMP-224或BGB-A317。在其它实施方案中,所述药盒包含本文公开的抗-人CD30抗体,例如,本妥昔单抗。

[0227] 本公开内容通过以下实施例进一步说明,所述实施例不应解释为进一步限制。整个本申请中引用的所有参考文献的内容通过引用明确地结合到本文中。

### 实施例

#### [0228] 实施例1

1/2期开放标签、国际、多中心研究(NCT02581631)正在进行,以研究纳武单抗与BV的组合在复发性/难治性NHL患者中的安全性和功效。

#### [0229] 背景

复发性、难治性非霍奇金淋巴瘤(NHL)的患者的治疗选项有限。纳武单抗是一种完全人IgG4单克隆抗体免疫检查点抑制剂,其靶向程序化死亡受体-1(PD-1)以恢复对肿瘤的有效T-细胞免疫反应(图1)。纳武单抗在美国已批准作为转移性黑素瘤、转移性非小细胞肺癌和晚期肾细胞癌的治疗。纳武单抗的安全性和耐受性在实体瘤和血液肿瘤类型中一致。尽管PD-1阻断已显示在侵袭性B-细胞和T-细胞NHL中振奋人心的活性(1期试验验证在难以预防治疗的复发性、难治性弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)患者中36%的客观反应率(ORR)),但大多数患者在初始响应后无响应或进展。通过直接杀死细胞和细胞死亡的致免疫结果二者,用治疗剂例如抗体-药物缀合物的组合疗法可增加反应的频率和耐久性。

[0230] 本妥昔单抗(BV)是一种针对CD30的抗体-药物缀合物,其显示在各种淋巴恶性肿瘤中的抗-肿瘤活性。BV主要通过表达CD30的细胞中诱导细胞周期停止和凋亡性死亡起作用。BV还可介导致免疫的细胞死亡、旁观者-杀死作用和抗体依赖性细胞吞噬(图2)。Gardai SJ,等 *Cancer Res* 2015;75(Suppl. 15):2469 [abstract]; Li F等 *Cancer Res* 2016;76:2710-2719;和Ofiazoglu E,等 *Blood* 2007;110:4370-4372。

[0231] 在用BV治疗的CD30+复发性、难治性DLBCL,CD30+复发性、难治性外周T细胞淋巴瘤(PTCL)和CD30+皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL)的患者的研究中,观察到ORR分别为44%、41%和73%。BV在美国被批准作为在自体干细胞移植(ASCT)失败后或在非-ASCT候选者中在≥2种在先的化学疗法方案失败后cHL的治疗,以及在≥1种化学疗法方案失败后全身性间变性大细胞淋

巴瘤的治疗。BV通过在表达CD30的细胞中诱导细胞周期停止和凋亡性死亡,发挥其作用,和还可介导致免疫的细胞死亡、旁观者效应和抗体依赖性细胞吞噬。因为BV可介导致免疫的细胞死亡,它可与PD-1阻断协同作用。我们假设,纳武单抗和BV可在CD30+复发性、难治性T-细胞NHL和弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)的患者中诱导频繁和持久的反应。

[0232] 研究原理

在全身性疗法后进展之后具有复发性、难治性NHL的患者代表了一个明显未满足的医疗需求领域。BV通过诱导致免疫的细胞死亡,可提供与免疫检查点抑制剂的协同作用,所述细胞死亡可上调在肿瘤微环境中在抗原呈递细胞上共刺激分子CD86和MHC II类抗原的表达。我们假设,纳武单抗与BV组合的互补作用机制可为CD30+复发性、难治性NHL患者提供频繁和持久的反应。

[0233] 研究设计

当前的单组、1/2期多中心研究的设计显示在图3中。治疗继续3周的周期,直至疾病进展或不可接受的毒性。纳武单抗和BV二者按30分钟IV输注给予。对于其中在同一天给予两种治疗的周期,时间表如下:BV输注,30分钟停止,纳武单抗输注。计划招募96个患者:1期6个和2期90个;招募在3个亚型中均等。重要的纳入和排除标准显示在表1中。

[0234] 表1. 重要的纳入/排除标准

纳入	排除
具有复发性、难治性 NHL, 包括 DLBCL、PTCL、CTCL、PMBL 和 MGZL 的患者	涉及 CNS 的 NHL
在≥1%的肿瘤细胞上表达 CD30, 通过免疫组织化学分析证实	进行性多病灶脑白质病的历史
对于 PMBL 患者, 年龄≥ 15 岁, 对于其它组织学, 年龄≥18 岁	第一剂 BV 之前 2 周内, 任何有效等级 3+感染
ECOG PS 评分为 0 或 1	已有的等级>2 的神经病
肿瘤组织(活检), 用于生物标志物分析	在先的 BV 暴露
对于具有 DLBCL、PTCL、PMBL 和 MGZL 的患者, 根据 2014 Lugano 分类, 可测量的疾病	在先暴露于免疫检查点抑制剂
	怀疑或已知的自身免疫性疾病
CNS = 中枢神经系统; ECOG PS = 美国东部肿瘤协作组体力状态; IHC = 免疫组织化学	

目标

本研究的主要目标有两点。首先,纳武单抗与BV组合的安全性和耐受性将在复发性、难治性NHL患者中评价。第二,纳武单抗与BV组合的临床益处将在复发性、难治性NHL患者中评价,如通过客观反应率(ORR;实现部分反应或完全反应的最佳总体反应的患者)测量的。

[0235] 次要目标是测量反应的持续时间,完全反应(CR)率和CR的持续时间,以及无进展存活(PFS)和总体存活率。此外,研究目标包括(i) 按照对免疫调节疗法的淋巴瘤反应标准(LYRIC)的不确定反应(IR);(ii) CD30表达和PD-L1/2状态的评价,和与反应的相关性;和(iii) 对BV和纳武单抗组合方案有反应或抵抗的生物标志物的鉴定。



[0236] 在给予BV和纳武单抗后,患者显示总体反应率改进、总体存活增加、无进展存活增加、肿瘤负荷降低、药物相关的不良事件的发生降低,或其任何组合。

## [0237] 实施例2

1/2期研究 (NCT02572167) 正在进行以评价在复发性或难治性霍奇金淋巴瘤 (HL) 患者中与纳武单抗组合给予的BV的安全性概况和抗肿瘤活性。患者将用BV 1.8 mg/kg和纳武单抗3 mg/kg治疗至多4个21天周期。在第1周期第1天给予患者1.8 mg/kg BV,和在第1周期第8天给予患者3 mg/kg纳武单抗。对于周期2-4,BV和纳武单抗将在每个周期的第1天以相同剂量,例如,1.8 mg/kg BV和3 mg/kg纳武单抗给予。BV和纳武单抗二者将通过IV注射给予。在完成第4周期的反应评价 (EOT) 后,患者将有资格进行ASCT。使用2014 Lugano分类 (Cheson等, J Clin Oncol 2014;32 (27) :3059-68),评价反应。

[0238] 本研究有两个部分。在部分1中,组合治疗的安全性将通过安全性监测委员会 (SMC) 评价,然后在部分2中扩大招募以评价治疗效果。本研究的部分2将通过招募患者,以部分1中确定的推荐的剂量时间表,进一步表征BV与纳武单抗组合的安全性和评价其抗肿瘤活性。重要的纳入和排除标准显示在表2中。如果患者之前接受超过一线的抗-癌症疗法;BV或影响PD-1、CTLA4或CD137途径的任何免疫肿瘤学疗法;和/或同种异体或自体干细胞移植 (ASCT),则被排除。

## [0239] 表2. 重要的纳入/排除标准

纳入	排除
用于治疗经典霍奇金淋巴瘤的标准 第一线化学疗法失败后的复发性或 难治性霍奇金淋巴瘤	之前用 BV、免疫肿瘤学药剂治疗, 或接受同种异体或自体干细胞移植 有记载的脑血管事件历史
美国东部肿瘤协作组(ECOG)体力状 态为 0 或 1	至少 3 年内尚未减轻的其它侵袭性 恶性肿瘤的历史
年龄 18 岁或更大	进行性多病灶脑白质病(PML)的历 史

本研究的主要结果度量有两个方面。首先,纳武单抗与BV组合的安全性和耐受性在复发性或难治性HL的患者中评价。第二,纳武单抗与BV组合的临床益处复发性或难治性HL的患者中评价,如通过完成研究治疗后的完全反应 (CR) 率 (CRR;获得完全反应的最佳总体反应的患者)、AE发生率和严重性测量的。

[0240] 次要结果度量是测量客观反应率 (ORR)、反应的持续时间、完全反应 (CR) 和客观反应的持续时间,以及自体干细胞移植后的无进展存活 (PFS)。此外,研究目标包括CD30表达的评价和与反应的相关性,以及对BV和纳武单抗组合方案有反应或抵抗的生物标志物的鉴定。

[0241] 在给予BV和纳武单抗后,患者将显示总体反应率改进,总体存活增加,无进展存活增加,肿瘤负荷降低,药物相关的不良事件的发生降低,或其任何组合。

## [0242] 结果

大约55个具有经典霍奇金淋巴瘤 (cHL) 的成年患者 (其已复发或对第一线化学疗法难治 (RR)) 的目标招募得到满足,和患者信息提供在下表3和4中。

## [0243] 表3. 患者特征

患者人口统计学和疾病特征	N = 62
中位年龄, 岁 (范围)	36 (18-69)
性别 (M/F)	30/32
相对于第一线tx的疾病状态, n (%)	
原发性难治性	28 (45)
复发性, 缓解持续时间 ≤ 1年	19 (31)
基线的Bulky疾病, n (%)	8 (13)
基线的结外疾病, n (%)	16 (26)
初始诊断的疾病阶段, n (%)	
I/II	37 (60)
III/IV	24 (39)
未知	1 (2)
中位在先疗法 <sup>a</sup> (范围)	1 (1-3)
在先化学疗法方案, n (%)	
ABVD	56 (90)
BEACOPP	2 (3)
Stanford V	2 (3)
其它 <sup>b</sup>	6 (10)
在先辐射	9 (15)

表4. 患者配置

患者配置 <sup>c</sup>	N = 62n (%)
接受 ≥ 1个剂量的两种研究药物, n (%)	61 (98)
保持tx	0
完成tx	58 (94)
tx中断的理由 <sup>d</sup>	
患者决定	2 (3)
不良事件	1 (2)
研究者决定	1 (2)
接受可选的抢救方案	12 (19)
ICE <sup>e</sup>	9 (15)
GEMOX	1 (2)
BeGEV	1 (2)
纳武单抗	1 (2)

a 包括辐射

b ABVD + AVD (3 pt), ABVE-PC (2 pt), R-ABVD (1 pt)

c 1 pt在接受研究药物前中断

d 未接受研究药物的Pt仍提供tx中断的理由

e 接受ICE的2/9 pt还接受了其它方案; 1 pt接受3种其它抢救方案: 卡铂/吉西他滨/地卡特隆 (不可评价), 接着BV (PD), 接着吉西他滨/奥沙利铂 (PD), 以及1 pt具有HL和FL并

接受苯达莫司汀/利妥昔单抗

开始时,具有32岁的中位年龄(范围,18-69)的25个患者(60%女性)被招募至今。60%的患者具有复发性疾病,36%具有原发性难治性疾病(用第一线疗法未能实现完全反应(CR),或在完成第一线疗法的3个月内复发),和1个患者(4%)具有未知的状态。在招募时,32%的患者存在结外疾病和16%具有bulky疾病。

[0244] 目前,具有36岁的中位年龄(范围,18-69)的62个患者(52%女性)被招募至今。31%的患者具有复发性疾病,和45%的患者具有原发性难治性疾病。在招募时,26%的患者存在结外疾病和13%具有bulky疾病。

[0245] 在之前的数据提取时,23个患者已接受治疗。在第2个周期开始组合治疗时在BV输注期间观察到输注相关反应(IRR)的发生率增加,导致1个剂量延迟。通过方案修改,制定在周期2-4用皮质类固醇(氢化可的松100 mg或等效物)和抗组胺剂预给药。

[0246] 在之前的数据提取时,6个患者已完成组合治疗,和全部实现客观反应率(ORR, 100%),其中3/6实现完全代谢反应(CmR, 50%)。所有6个患者已直接进行至ASCT。在平均数1.7次血浆分离置换期间(范围, 1-2),收集的CD34<sup>+</sup>细胞的中位数是12.9 x10<sup>6</sup>个细胞/kg(范围,5-26)。

[0247] 目前,59个患者(95%)已完成组合治疗,具有高的客观反应率(85%)以及63%完全反应(图5A和5B)。关于患者反应的其它信息提供在下表5中。37个患者已进行至ASCT。

[0248] 表5

	<b>N = 59</b> <b>n (%)</b>
<b>完全反应(CR)</b>	<b>37 (63)</b>
Deauville ≤ 2	29 (49)
Deauville 3	7 (12)
Deauville 5 <sup>a</sup>	1 (2)
<b>部分反应(PR)</b>	<b>13 (22)</b>
Deauville 4	7 (12)
Deauville 5	6 (10)
<b>无代谢反应(SD)</b>	<b>5 (8)</b>
Deauville 5	5 (8)
<b>进行性疾病(PD)</b>	<b>3 (5)</b>
Deauville 5	2 (3)
缺少	1 (2)
<b>临床进展(CP)</b>	<b>1 (2)</b>

<sup>a</sup> 1个患者在淋巴结中具有摄取,但对活检未发现疾病的证据。

[0249] 免疫系统的引发通过在BV给药后促炎性细胞因子和趋化因子水平的增加指示,之后同时给予BV和纳武单抗维持高水平(图6A-6D)。

[0250] 另外,在单一药剂BV给予后在一些T辅助亚型(包括Tregs)(图7A)以及活化和增殖性CD4<sup>+</sup> T细胞(图7B和7C)中初始降低,接着组合给药后提高。

[0251] BV和纳武单抗的组合在复发性难治性cHL患者中被良好耐受。潜在的免疫介导的AE(需要类固醇)在<10%的患者中发生(图8)。并且尽管IRR相对频繁地发生(41%的患者),

在第2周期BV输注期间最频繁发生和在25%的患者中需要剂量中断,但最大严重性是3级,其在少于5%的患者中发生(图9)。

[0252] 制定在周期2-4以低剂量皮质类固醇(氢化可的松100 mg或等效物)和抗组胺剂强制预给药。制定预给药之前和之后,在第2个周期的IRR比率是等同的,即,在没有预给药的情况下5/15个患者(33%)发生IRR,而在预给药的情况下15/45个患者(33%)发生IRR。在周期3-4的IRR比率很低,与预给药需求无关。

[0253] 前-ASCT治疗-突发性AE在98%的患者中按以下频率发生:1级(25%),2级(36%),3级(33%;贫血最频繁,为8%)和4级(5%)。治疗-相关的SAE在5个患者(8%)中发生:肺炎和发热各自在2个患者中发生;和结肠炎、不适、恶心、肺炎、呼吸衰竭和脓毒症各自在1个患者中发生。未报告不寻常的后-ASCT毒性。

[0254] 对于潜在的免疫介导AE的全身性类固醇在7%的患者中是需要的。以下各项被1个患者经历:4级肺炎和结肠炎(与BV和纳武单抗相关,2个患者或3%),2级肺炎(id.),3级腹泻和2级结肠炎,和3级AST升高。

[0255] 初步的生物标志物数据表明在第1个周期第8天CD4<sup>+</sup> T调节(T<sub>reg</sub>)细胞的百分数的BV-诱导降低,对增殖性CD8<sup>+</sup> T细胞没有影响。在第1个周期,纳武单抗在给药后1周(BV给药后2周)诱导T细胞稳健提高,对于大多数患者(5/6,83%),与基线相比,未观察到CD4<sup>+</sup> Th1细胞的百分数的显著变化。

[0256] 早期数据表明,BV和纳武单抗的组合是一种在复发性或难治性(R/R)霍奇金淋巴瘤(HL)患者中有效和良好耐受的抢救疗法。尽管已观察到IRR的发生率提高,但该方案的毒性看来似乎是总体上可耐受的。初步的抗肿瘤活性表明,该组合可能是R/R HL患者的有前景的选择。

[0257] BV和纳武单抗组合的有前景的活性支持了这种新方案对RR cHL患者的进一步研究。

### [0258] 实施例3

设计在具有复发性难治性或对于自体干细胞移植(ASCT)无资格的晚期经典霍奇金淋巴瘤的参与者中纳武单抗加本妥昔单抗对比单独的本妥昔单抗的随机、开放标签、3期试验。

### [0259] 背景

程序化死亡-1(PD-1)细胞表面膜受体是T-细胞共刺激受体的CD28家族的成员。PD-1表达是T细胞耗尽的标志物和与肿瘤的免疫逃脱有关。霍奇金淋巴瘤(HL)的特征为对程序化死亡(PD)-1配体的过表达的遗传倾向。对于HL中PD-L1和PD-L2上调,鉴定了多种机制。另外,CD30是肿瘤坏死因子家族的细胞膜蛋白。CD30在HL中在Reed Sternberg细胞上高度表达。鉴于在HL中PD-1配体和CD30的丰富表达,这两种蛋白提供靶向与肿瘤生长和进展有关的特定分子的机会。用本妥昔单抗(BV)和纳武单抗的组合正在进行的试验显示有前景。纳武单抗和BV已证实在复发性HL的治疗中振奋人心的单药剂活性。因为两种药物作为单药剂是有效的,与任一单独的药剂相比,组合可具有更好功效是可能的。BV和纳武单抗组合的1/2期试验正在第一线疗法失败后的具有复发性/难治性霍奇金淋巴瘤的成人中进行。在此研究中,患者已用组合方案治疗总共4个周期。总体上,该组合被良好耐受,没有参与者由于毒性而需要剂量中断。所有患者能够耐受4个周期的组合方案。大多数不良事件(包括免疫相

关的不良事件)是低等级(1和2)。初步结果表明在样本大小 $n=20$ 中高度有效的方案,其中客观总体反应率为90%和完全代谢反应为62%。在另一个正进行的试验中观察到类似的发现。对于复发性/难治性患者,来自样本大小( $N=10$ )的E4412试验的初步数据已证实ORR为100%和CR为63%。尽管研究正在进行和数量很小,但初步发现表明在具有高度未满足的需求的难治性患者群体中有效和可耐受的方案。

[0260] 因此预期,在抢救治疗背景中,组合疗法可比给予任一单独的药剂潜在地更有效。该组合可导致示范性的更高临床益处,这可转化为在结果差的患者群体中改进的疾病控制。此外,两种药剂是良好耐受的,具有很少的重叠毒性,和可在门诊患者背景中输注。

[0261] 研究群体

男性和女性,18岁和更大,具有复发性/难治性cHL和具有以下一项:

a) 无资格进行自体干细胞移植(ASCT)的患者

化疗抵抗性疾病(对抢救化学疗法不能实现CR或PR)或任何显著共存的医学病况(心脏、肾、肺或肝功能障碍)可能对ASCT的耐受性具有负面影响。注意:在随机化之前需要不是ASCT候选者的<65岁的参与者的发起人审查和批准。参与者必须已接受至少2种在先化学疗法方案(BV可作为一种方案包括在内)。

[0262] b) ASCT失败后的患者:

- 记录对于最近的ASCT自干细胞输注90天后缺少CR
- 记录复发性疾病(CR后)或疾病进展(PR或SD后)

对于a)和b)二者,未接受过BV或对最近的BV治疗敏感的参与者是有资格的。参与者必须证实BV敏感性,如通过从最近的BV治疗记录的PR或CR确定的,和通过根据医学记录在最近的BV治疗期间无疾病进展或在最近BV的最后一个剂量后3个月内无早期复发确定的。对于b),用BV的在先治疗可以是作为单一药剂或与化学疗法组合,和可在任何线的疗法(例如,诱导、抢救或巩固后-ASCT)期间发生。注意的是,用BV的巩固疗法后的反应记录是不需要的,因为假定患者在巩固时缓解。

[0263] 其它重要的纳入标准包括在开始研究药物前ECOG PS 0-1和cHL的活检证实。重要的排除标准包括已知的CNS淋巴瘤、结节性淋巴细胞优势型HL和活性间质性肺炎或1级肺炎的CT证据。

[0264] 目标和终点

研究的主要和次要目标,以及研究的终点在下表6中提供。研究的主要目标将通过根据BICR评价的PFS的主要终点测量。研究的次要目标将通过以下测量:(1) 根据BICR评价的CRR、ORR、DOR和DOCR;(2) 由研究者评价的PFS;和(3) OS。

[0265] 表6. 目标/终点

目标	终点
<b>主要</b> · 为了根据 BICR 评价, 比较纳武单抗+BV 与 BV 的无进展存活	· 无进展存活(PFS): 定义为从随机化日期至死亡或疾病进展的时间。
<b>次要</b> · 为了根据 BICR 评价, 比较纳武单抗+BV 与 BV 的完全反应率 · 为了根据 BICR, 评价客观反应率和反应持续时间 · 为了根据 BICR, 评价完全反应的持续时间 · 为了评价用纳武单抗+ BV 与 BV 治疗的参与者的总体存活 · 为了根据研究者评价, 评价 PFS	· 完全反应率(CRR): 定义为已实现完全反应的参与者的比例(Lugano 2014 会议) · 客观反应率(ORR): 定义为已实现完全反应或部分反应的参与者的比例(Lugano 2014 分类) · 反应持续时间或完全反应持续时间(DOR 或 DOCR): 定义为从首次反应或完全反应至使用 2014 Lugano 分类确定的开始客观记录的进展或由于任何原因死亡的日期的时间 · 总体存活(OS): 定义为在随机化日期和死亡日期之间的时间 · PFS: 按上文定义, 但由研究者评价

根据BICR评估的主要终点PFS将在两个随机组中通过随机化中使用的相同因素分层的双侧log-秩检验进行比较。没有报告进展的死亡参与者将被视为在其日期已进展。

#### [0266] 总体设计

这是一个在 $\geq 18$ 岁的复发性难治性或对自体干细胞移植(ASCT)无资格的晚期cHL参与者中1:1随机化、开放标签的3期研究。患者将关于在先疗法在2个组中平衡。大约340个参与者将在两个组之一中进行治疗:(1) 纳武单抗360 mg IV, 每3周, 直至进展或不可接受的毒性(除了CR患者, 其可中断2年), 加BV 1.8 mg/kg IV, 每3周, 持续16个周期, 或直至进展或不可接受的毒性, 以先发生的为准;或(2) 单独的BV 1.8 mg/kg, 每3周, 持续16个周期, 或直至进展或不可接受的毒性, 以先发生的为准。如果参与者满足方案的章节8.1中概述的中断研究药物的其它标准, 治疗也可中断。实现CR的接受纳武单抗的参与者可在治疗最多2年后中断治疗, 条件是没有禁止的毒性。参与者可以是未接受过BV的, 或可具有作为单药剂或在任何线的疗法中组合的在先BV治疗。随机化分层将根据以下两个因素进行:(1) 在先ASCT状态(是/否);(2) 在先BV使用(是/否)。参与者将根据每组的分层因素平衡。

[0267] 在第一个剂量前28天内, 参与者将经历筛选评价以确定资格。每个21-天给药期限将构成一个周期。

[0268] 在进展前中断研究治疗的任何参与者将在研究的后续阶段中视为进展, 然后存活。

[0269] 将筛选大约400个参与者, 然后以估计的15%筛选失败率, 对本研究计划的样本大小将为大约340个随机化参与者。研究的样本大小说明主要功效终点PFS。以90%能力, 以0.05 (双侧)的总 $\alpha$ 水平, 对于治疗效果评价PFS。

[0270] 对于PFS的样本大小确定提供大约340个参与者, 将以1:1比率被随机化至纳武单

抗+ BV和BV组,即,使得170个参与者被分配至纳武单抗 + BV组,和170个参与者被分配至BV组。为在两个治疗组之间比较PFS,研究需要至少187个PFS事件,以确保双侧5% I型误差顺序检验程序将具有90%能力以检测0.62的危险比(HR),对应于分别对于纳武单抗+ BV和BV组为15与9.3个月的中位PFS。

[0271] 当已观察到至少131个PFS事件(70%的最终PFS事件)时将进行一次正式的PFS临时分析,和还需要从最后患者首次访问(LPFV)开始9个月的最小随访。

[0272] 假设每月招募10个参与者的增加率,增加将需要大约30.5个月。PFS的最终分析预期在第一次参与者随机化日期后46个月(30.5个月的增加+ 15.5个月随访)发生。该项目基于以下假设:在24个月时在BV组和纳武单抗+ BV组中无进展存活率是28%和45.4%,和在治疗两年后在两个组中极少事件将发生。PFS的临时分析预期在第一次参与者随机化日期后40个月发生。

[0273] East版本6.3用于样本大小/能力计算。

[0274] 治疗组和持续时间显示在图10中。研究治疗包括(1) 随机化研究组:纳武单抗(360 mg统一剂量),每3周,直至进展或不可接受的毒性,+ BV (1.8 mg/kg),每3周,持续16个周期,进展或不可接受的毒性,以先发生的为准;和(2) 随机化对照组:BV (1.8 mg/kg),每3周,持续16个周期,进展或不可接受的毒性,以先发生的为准。关于纳武单抗和BV的制剂和给予途径的其它信息提供在下表7中。

[0275] 表7

研究药物		
药物	效力	IP/Non-IP
纳武单抗(BMS-936558)注射溶液	100 mg (10 mg/mL) 和 40 mg (10 mg/mL)	IP
注射溶液用的本妥昔单抗粉末	50 mg	IP

为预防、诊断或治疗原因而用作支持药物的其它药物,作为对于给定诊断的标准护理的组分,可被视为非研究产品。

[0276] 实施例4

#### BV-灭活的A20小鼠淋巴瘤免疫提供抗-肿瘤保护作用

A20小鼠淋巴瘤细胞用在鼠*Tnfrsf8*的内源启动子下编码人*TNFRSF8* (NM\_001243.4)和sgRNA/Cas9 (用于对照)的质粒构建体转染。为了对本妥昔单抗治疗敏感,荧光激活细胞分选(FACS)得到稳定表达人CD30的A20细胞的克隆群,称为A20<sup>hCD30</sup>。

[0277] A20<sup>hCD30</sup>细胞在含10% FBS、10mM HEPES、1mM丙酮酸钠、青霉素(100 U/ml)和链霉素(100 µg/ml)的RPMI 1640中培养。A20<sup>hCD30</sup>细胞用1 µg/ml BV或100 nM mc-vc-MMAE处理4天。为了制备濒死的细胞用于免疫,处理的A20<sup>hCD30</sup>细胞覆盖在Histopaque上,和以2000g离心30分钟。死亡和濒死的细胞沉淀在Histopaque层下方,和通过锥虫蓝排除评估成活力为<20%活细胞。通过将细胞浸入液氮中10秒制备快速冷冻的A20<sup>hCD30</sup>细胞,接着浸入37°C水中,

直至完全解冻。液氮冷冻-解冻过程重复5次。将死亡和濒死的A20<sup>hCD30</sup>细胞重悬于PBS,和将2x10<sup>6</sup>个细胞注射至免疫活性的Balb/c小鼠的腹膜。7天后,小鼠接受用以相同方式制备的死亡和濒死的细胞的第二次免疫。

[0278] 初始免疫后14天,小鼠皮下植入5x10<sup>6</sup>个野生型A20细胞和监测肿瘤生长。如图11所示,用BV-灭活或mc-vc-MMAE-灭活的A20<sup>hCD30</sup>细胞免疫的小鼠延缓肿瘤生长,和增加荷瘤小鼠的存活。因为这些效果在没有给予任何治疗的情况下发生,BV或MMAE灭活的细胞的存在足以产生针对随后的A20淋巴瘤攻击的长效保护性免疫记忆。

#### [0279] T细胞转移提供保护性免疫

免疫活性的Balb/c小鼠用BV-灭活或快速冷冻-灭活的A20<sup>hCD30</sup>细胞按之前所述进行免疫。初始免疫后16周,从免疫的小鼠或未用过的Balb/c小鼠收获脾脏,和手动均质化。将来自4只小鼠/免疫的脾脏均浆合并,和CD3<sup>+</sup> T细胞使用EasySep Mouse T cell Enrichment Kit (Stem Cell Technologies)分离。将1x10<sup>6</sup>个CD3<sup>+</sup> T细胞静脉内给予至A20荷瘤小鼠。

[0280] 将4x10<sup>6</sup>个野生型A20细胞皮下植入免疫缺陷的NOD/SCID/ $\gamma$ -链缺陷(NSG)小鼠。植入后5天,带有肿瘤约100mm<sup>3</sup>的小鼠被随机化,和接受来自上述小鼠的1x10<sup>6</sup>个T细胞。如图12A所示,接受来自用BV-灭活的细胞免疫的小鼠的T细胞的NSG小鼠减慢肿瘤生长,以及增加肿瘤内的CD8<sup>+</sup> T细胞(图12B)。T细胞在免疫后长期提供稳健的抗-肿瘤免疫的能力证实,BV导致的肿瘤死亡引发由T细胞介导的强免疫记忆。

#### [0281] PD-1抑制加强由BV赋予的保护性免疫

Balb/c小鼠用BV-或MMAE-灭活的A20<sup>hCD30</sup>细胞按上所述进行免疫。初始免疫后14天,小鼠皮下植入5x10<sup>6</sup>个野生型A20细胞。在A20肿瘤攻击后第6、9、14和17天,静脉内给予抗-鼠PD-1 (1mg/kg, BioLegend)。用BV-或MMAE-灭活的A20<sup>hCD30</sup>细胞免疫赋予保护性抗-肿瘤免疫。如图13所示,与抗-PD-1疗法组合增加了保护性免疫和提高了肿瘤清除率和存活。

#### [0282] 在人源化小鼠模型中T细胞和NK细胞浸润至自体肿瘤

将EB病毒(EBV)转化的类淋巴母细胞系(LCL)皮下植入NSG小鼠。当LCL肿瘤体积达到250mm<sup>3</sup>时,小鼠接受单次亚最佳剂量的BV或对照hIgG-MMAE (1mg/kg, i.p)。给药后3天,将2.0x10<sup>6</sup>个自体外周血单核细胞(PBMC)通过尾静脉注射,继承性地转移至小鼠。PBMC转移后11天,收获肿瘤,称重和通过70  $\mu$ m细胞滤网手动离解。离心后,将各个肿瘤细胞沉淀重悬于4ml的RPMI +10% FCS,和200ul的细胞悬浮液用于染色和通过流式细胞术分析(FACS)。肿瘤细胞悬浮液用Zombie Aqua Viability Dye (Biolegend)染色,接着用在染色缓冲液(SB: PBS, 2%FCS, 1% NRS, 0.05% NaN<sub>3</sub>)中的荧光标记的靶向人CD19、CD2、CD8、CD4、CD56、人CD45、PD-L1、PD-1和鼠CD45.1的抗体(1:50稀释,Biolegend)在4°C染色30分钟。将细胞洗涤和重悬于120  $\mu$ l的SB,使用Attune NXT流式细胞仪用于基于板的FACS。从80  $\mu$ l的样品收集所有事件,和FACS-测量的细胞浓度用于计算浸润性免疫细胞的数量。CD8<sup>+</sup> T细胞被鉴定为viability dye<sup>neg</sup>, hCD45<sup>+</sup>, mCD45.1<sup>-</sup>, CD2<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>细胞。NK细胞被鉴定为viability dye<sup>neg</sup>, hCD45<sup>+</sup>, mCD45.1<sup>-</sup>, CD2<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>细胞。图14A显示计算的相对于肿瘤质量的细胞计数,或可选地,作为计算的总细胞计数(图14B)。图14C显示相对于它们的静止/正常PBMC对应物,自肿瘤回收的CD8<sup>+</sup> T细胞表达增加水平的PD-1,和LCL肿瘤细胞表达升高水平的PD-L1(图14D)。用亚最佳剂量的BV治疗带有建立的LCL肿瘤的小鼠提高人细胞毒性细胞的肿瘤内积聚,与抗-肿瘤炎症反应的诱导一致。



[0283] 在人源化LCL肿瘤模型中BV单独和与纳武单抗组合提高免疫介导的肿瘤清除率

将EB病毒 (EBV) 转化的类淋巴母细胞系 (LCL) 皮下植入NSG小鼠。当LCL肿瘤平均 $250\text{mm}^3$ 时,小鼠接受单次亚最佳剂量的BV或对照hIgG-MMAE (1 mg/kg, i.p.)。给药后3天,通过尾静脉注射将 $2 \times 10^6$ 个自体PBMC继承性地转移至小鼠。在PBMC继承性转移后2和7天,小鼠接受两次剂量的纳武单抗 (10 mg/kg, i.p.)。图15A显示相对于未治疗(无药物)对照,随时间的治疗组肿瘤体积。明显的是,没有添加PBMC的接受亚最佳剂量的BV的小鼠(实线,上)不排斥肿瘤和当肿瘤超过 $2000\text{mm}^3$ 时从研究中去除。所有其它治疗组接受自体PBMC和显示肿瘤消退,突出了在该模型中免疫介导的肿瘤清除的作用。与接受对照hIgG-MMAE或单独的纳武单抗的小鼠相比,PBMC转移前3天给予的单次亚最佳剂量的BV导致免疫介导的肿瘤清除率提高。重要地,接受BV和纳武单抗的组合的小鼠显示任何治疗组的最快速的肿瘤清除。在有效肿瘤清除期间在第50天的平均肿瘤体积的比较中反映了这些差异的显著性(图15B)。总之,从该人源化模型获得的结果支持了以下结论:除了直接的肿瘤细胞杀死之外,BV还驱动提高免疫介导的细胞毒性的炎性反应和与纳武单抗良好配对。

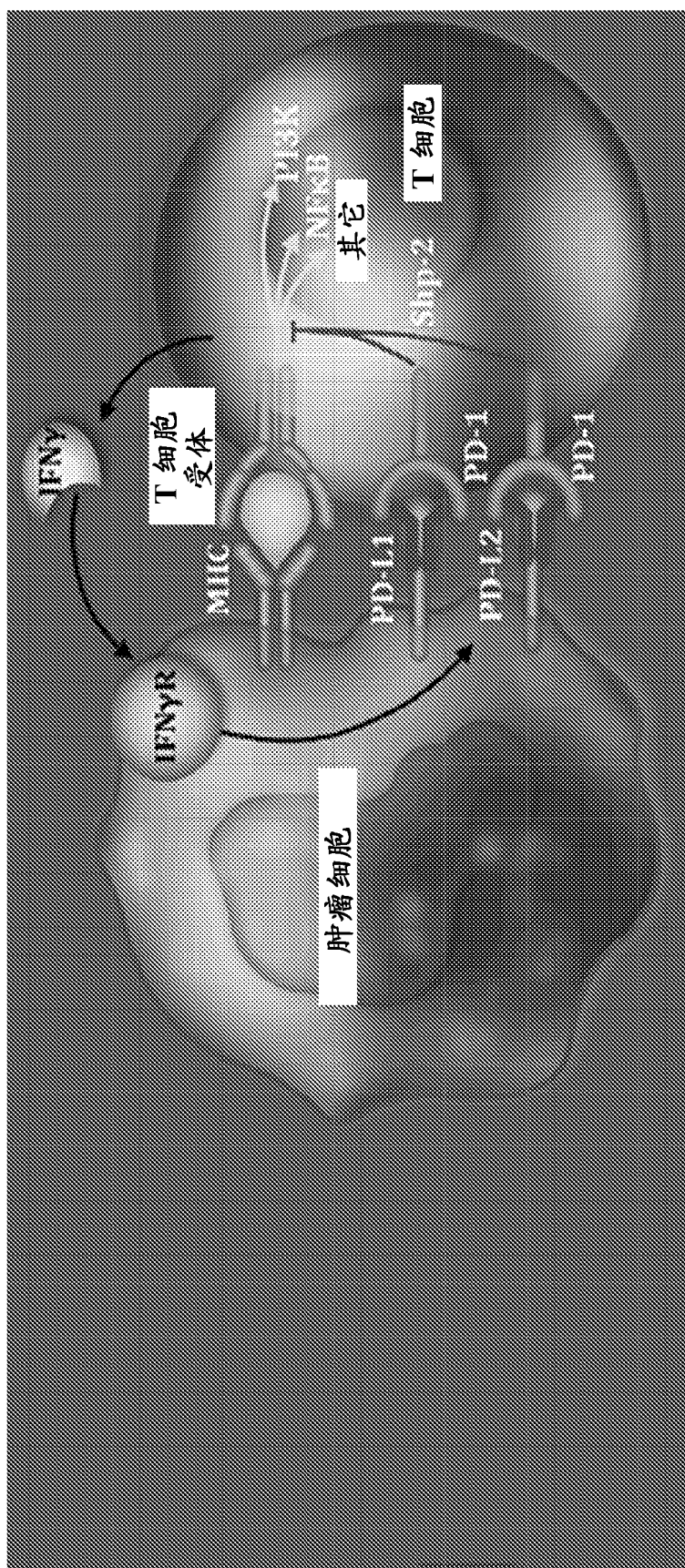


图 1

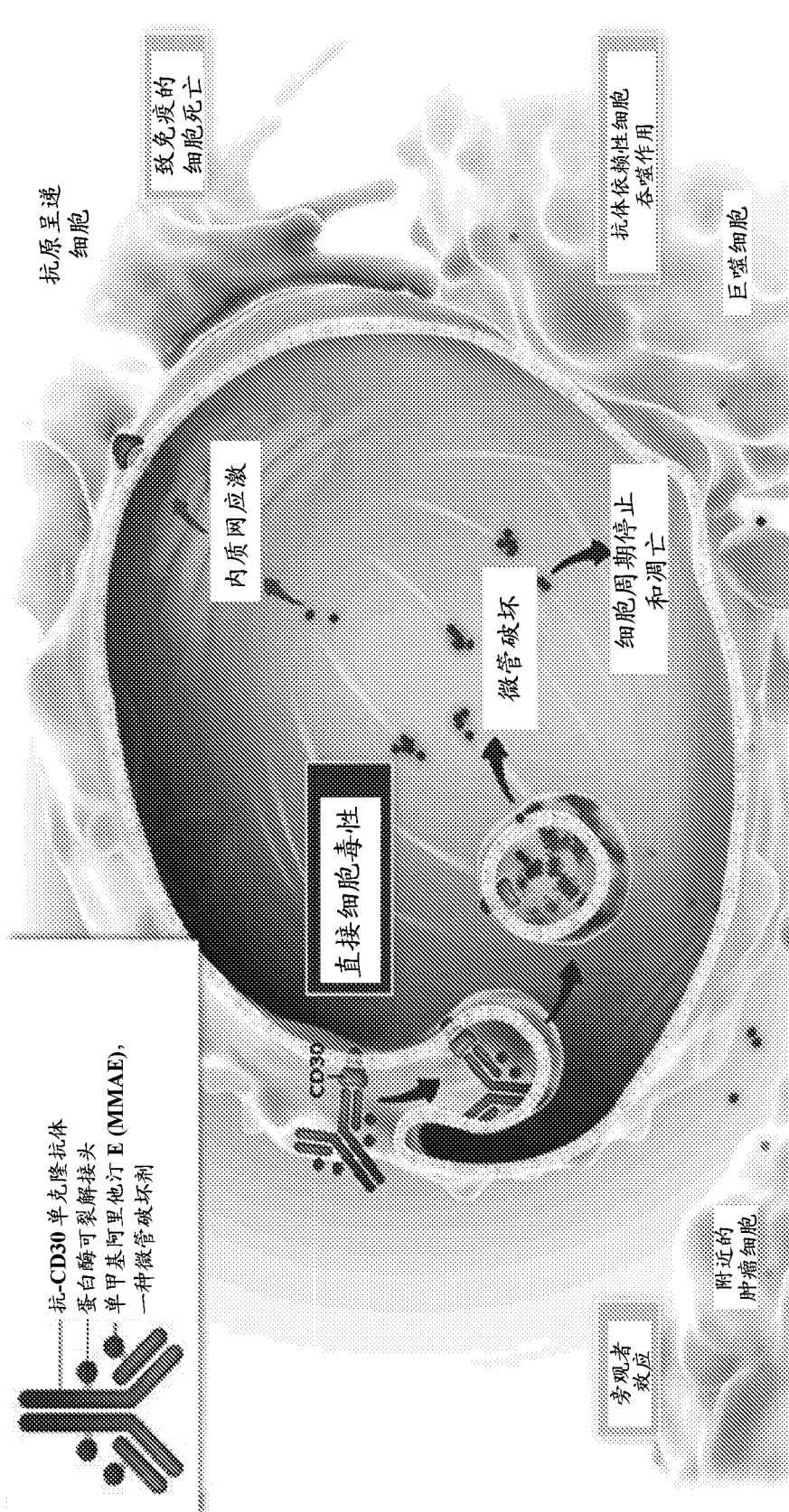
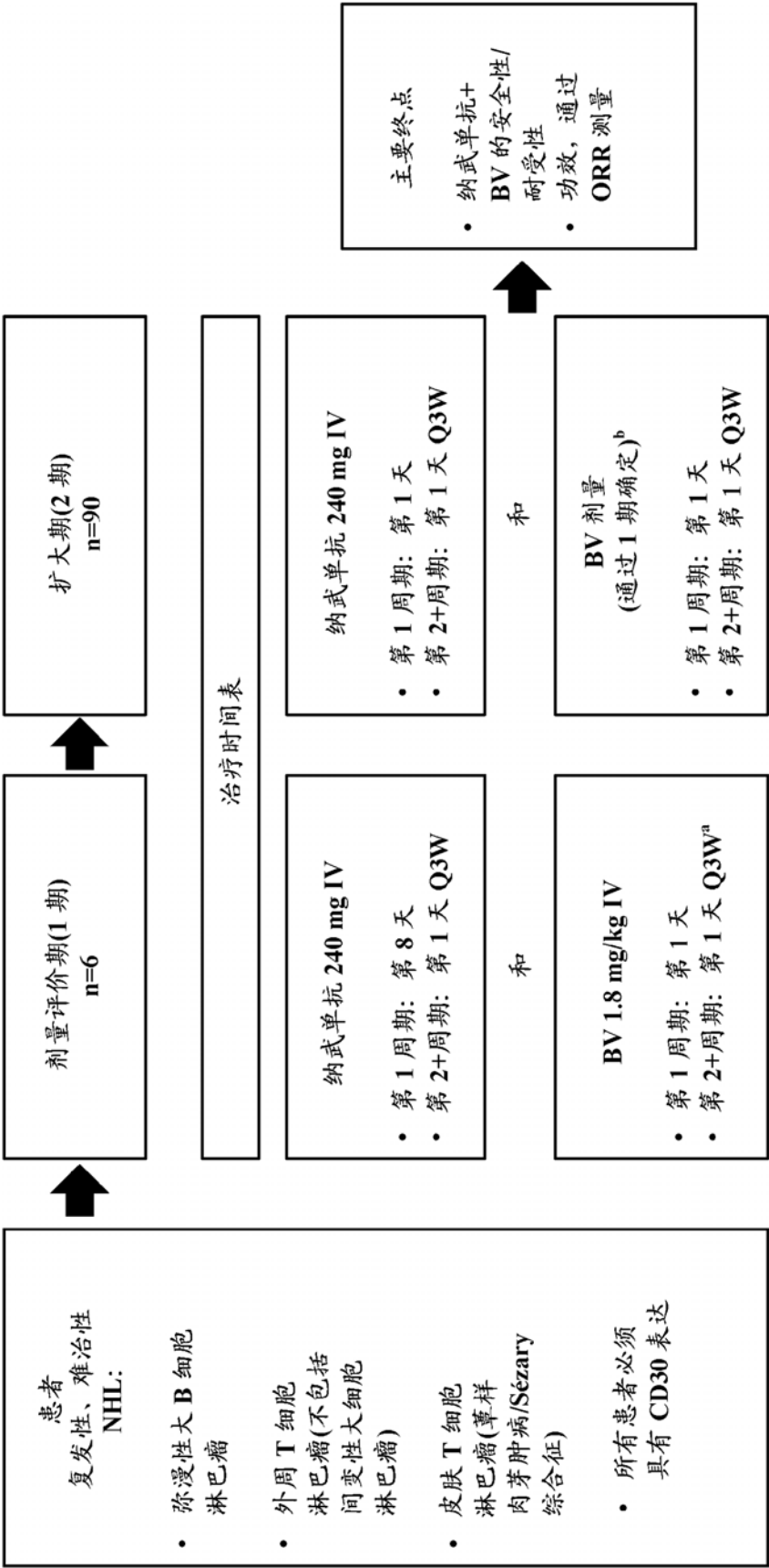


图 2



<sup>a</sup> 如果观察到 DLT, 第 2+周期 BV 剂量可降低至 1.2 mg/kg。  
<sup>b</sup> 如果在 1 期中 <1 个患者经历 DLT, 将给予 2 期的小组 BV 1.8 mg/kg。如果 >2 个患者经历 DLT, 将给予 BV 1.2 mg/kg 的降低剂量。DLT = 剂量限制性毒性; Q3W = 每 3 周。

图 3

44

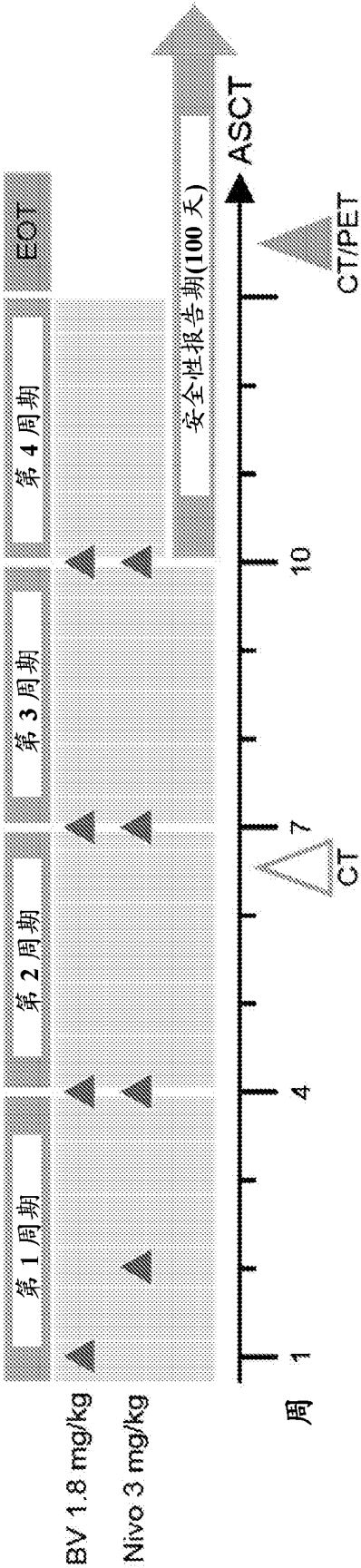


图 4

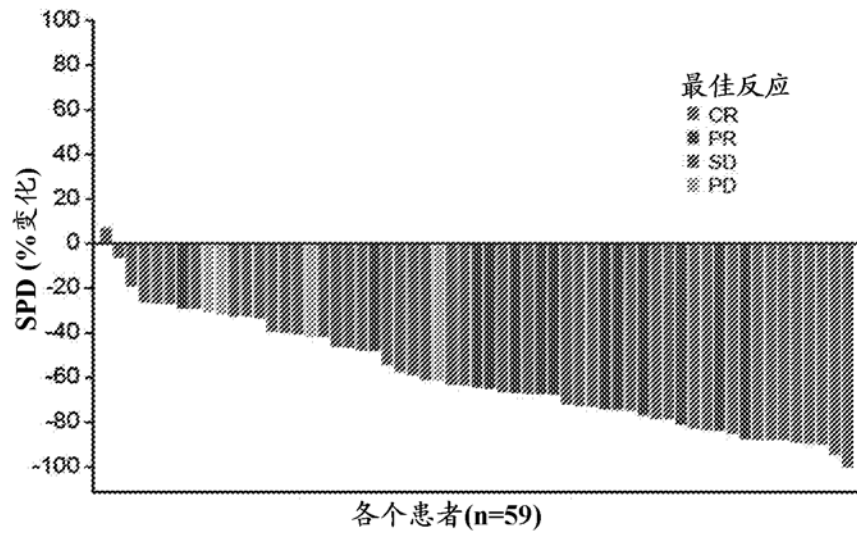


图 5A

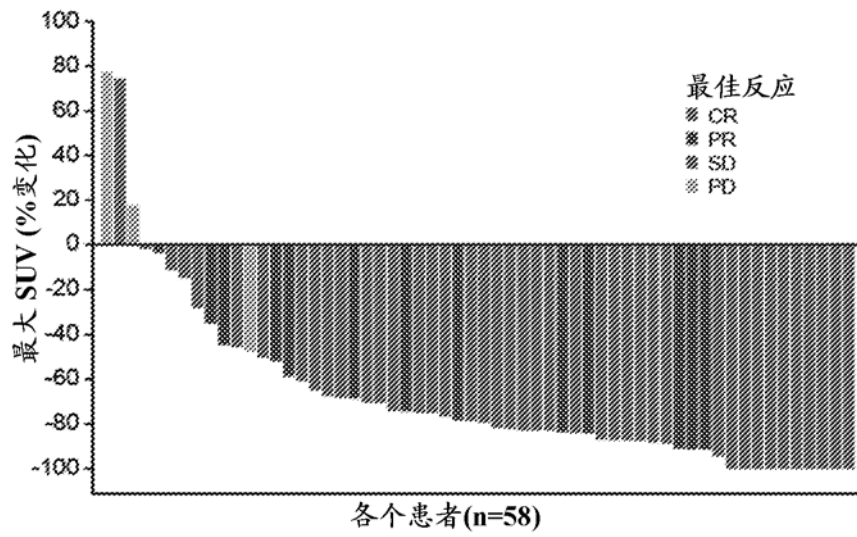


图 5B

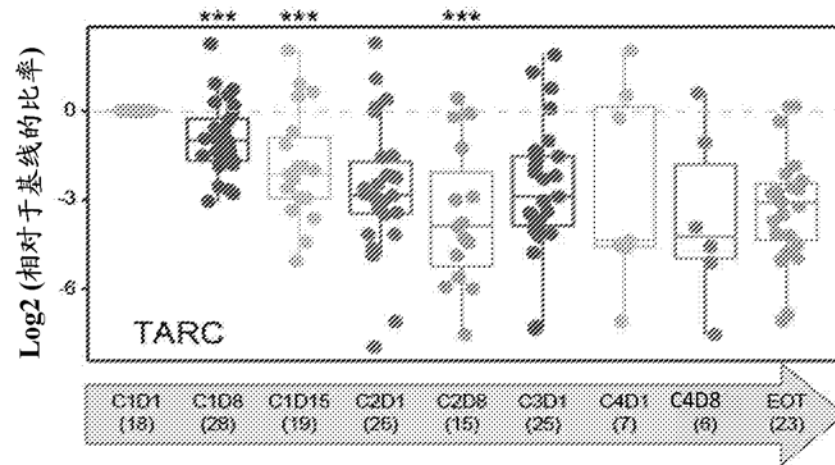


图 6A

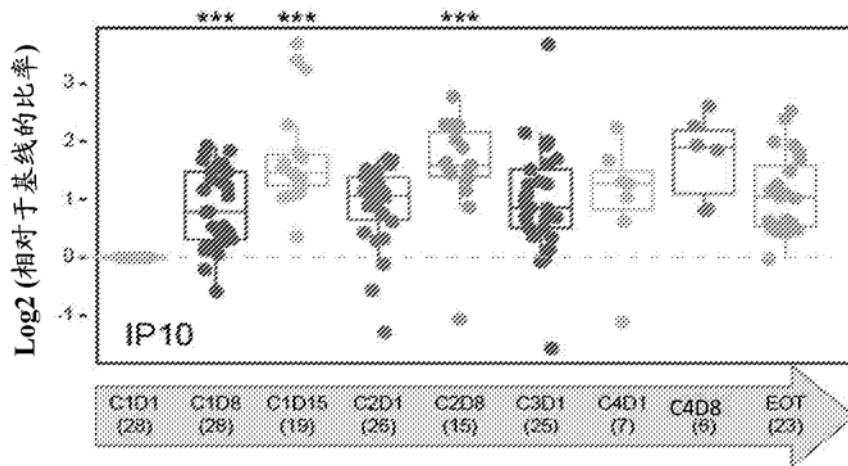


图 6B

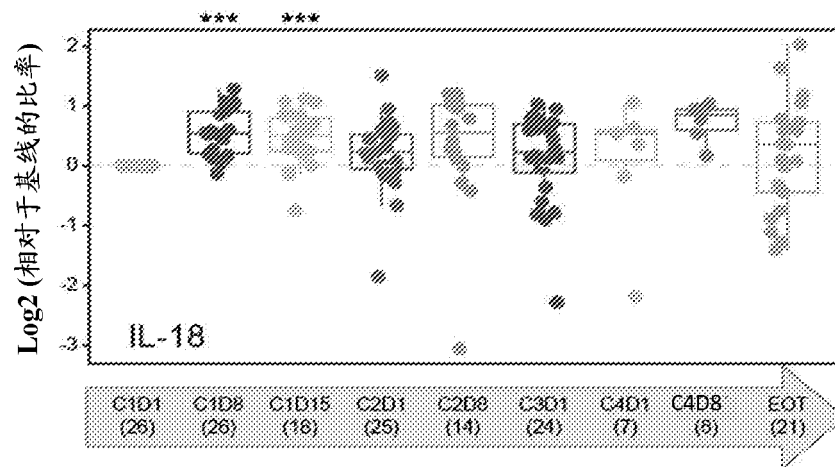


图 6C

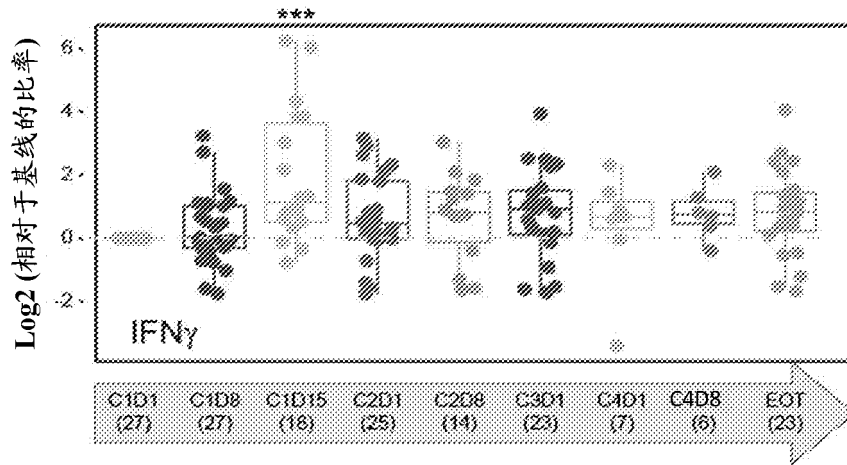


图 6D

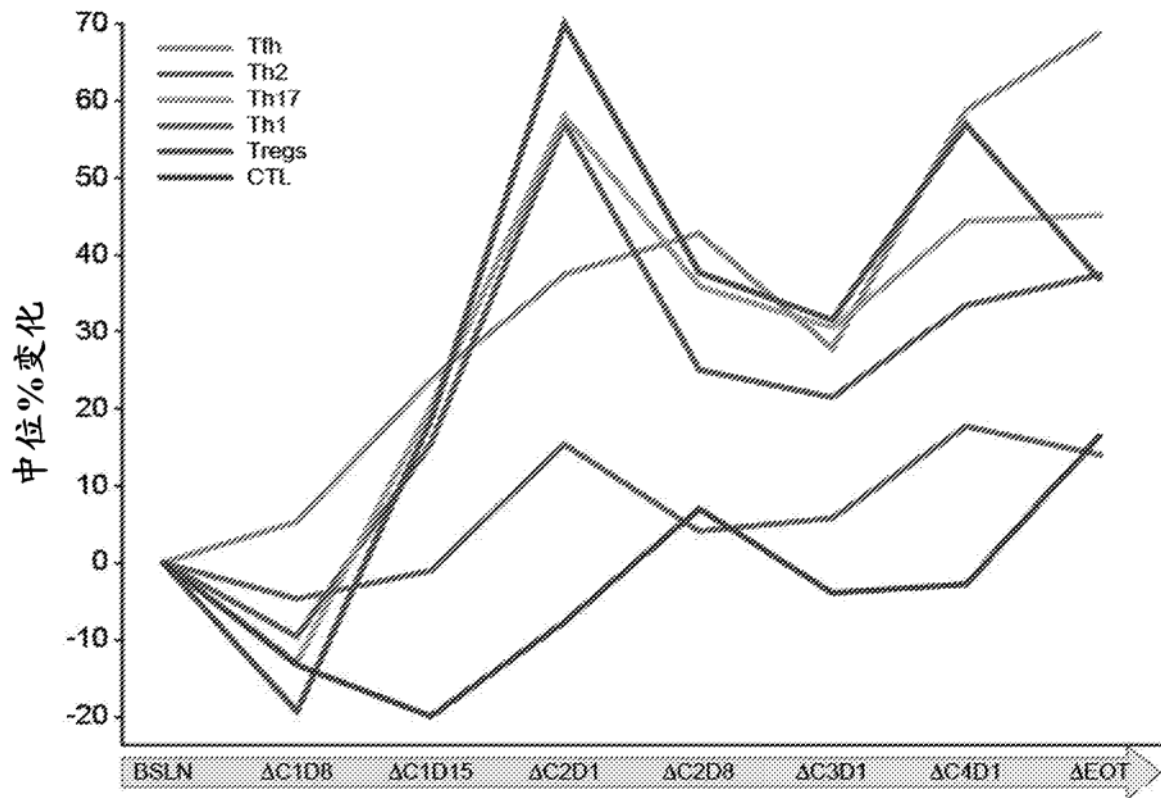


图 7A



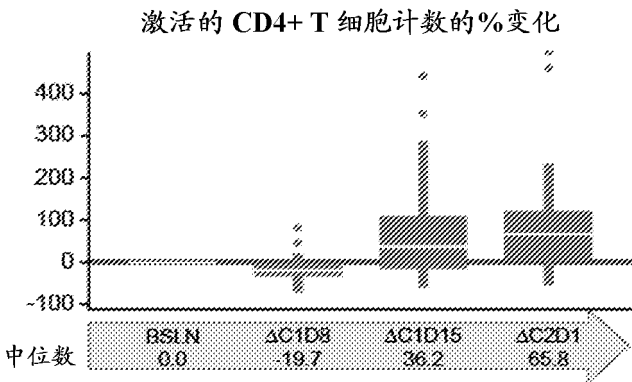


图 7B

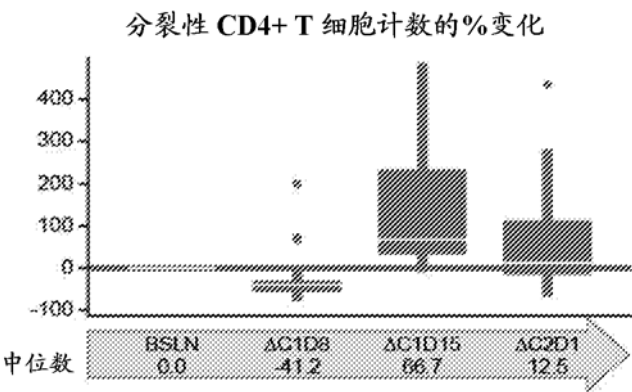


图 7C

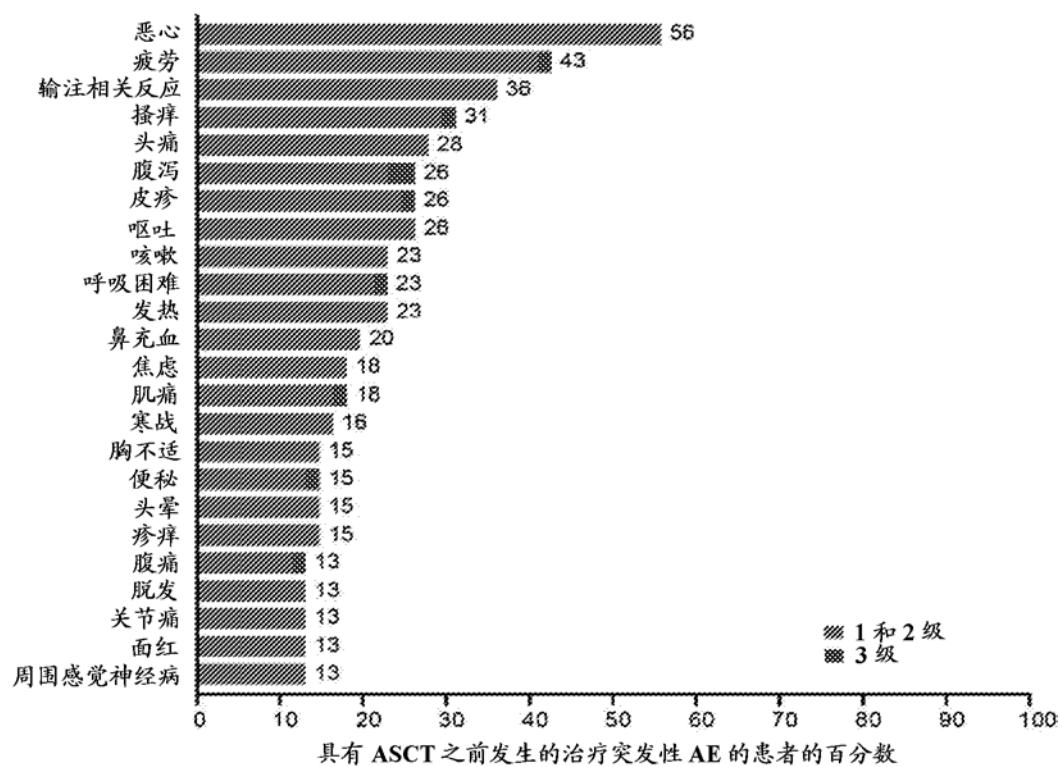


图 8

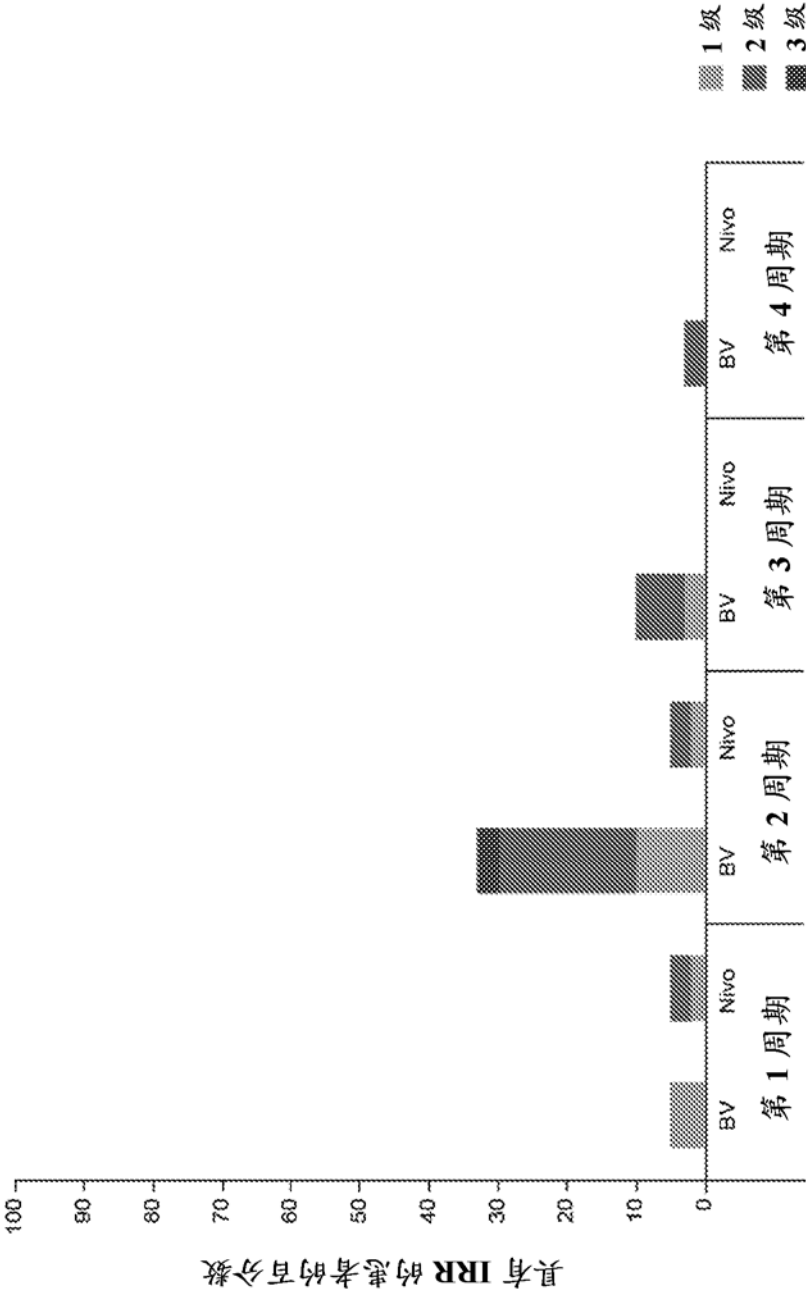


图 9

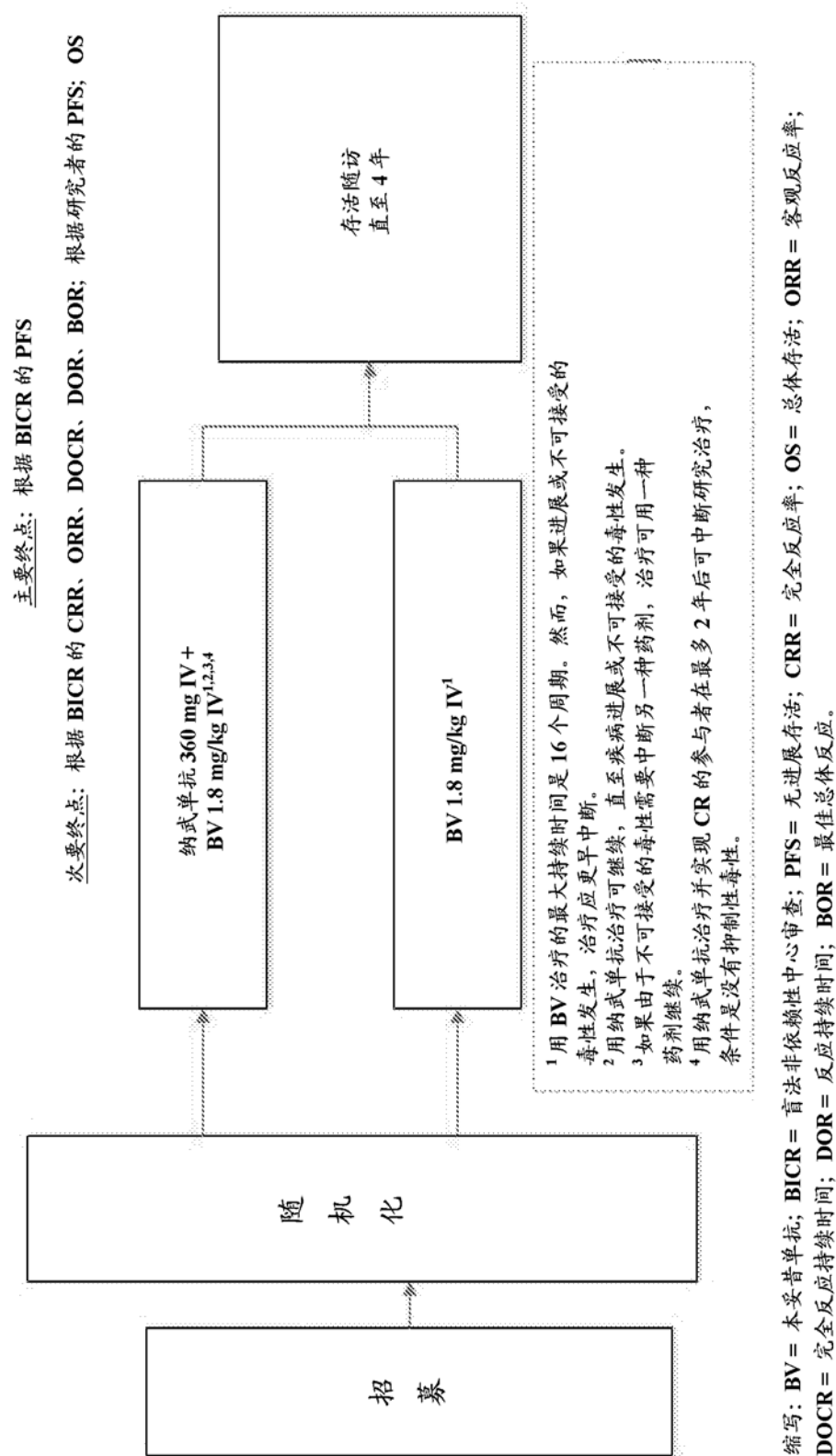


图 10

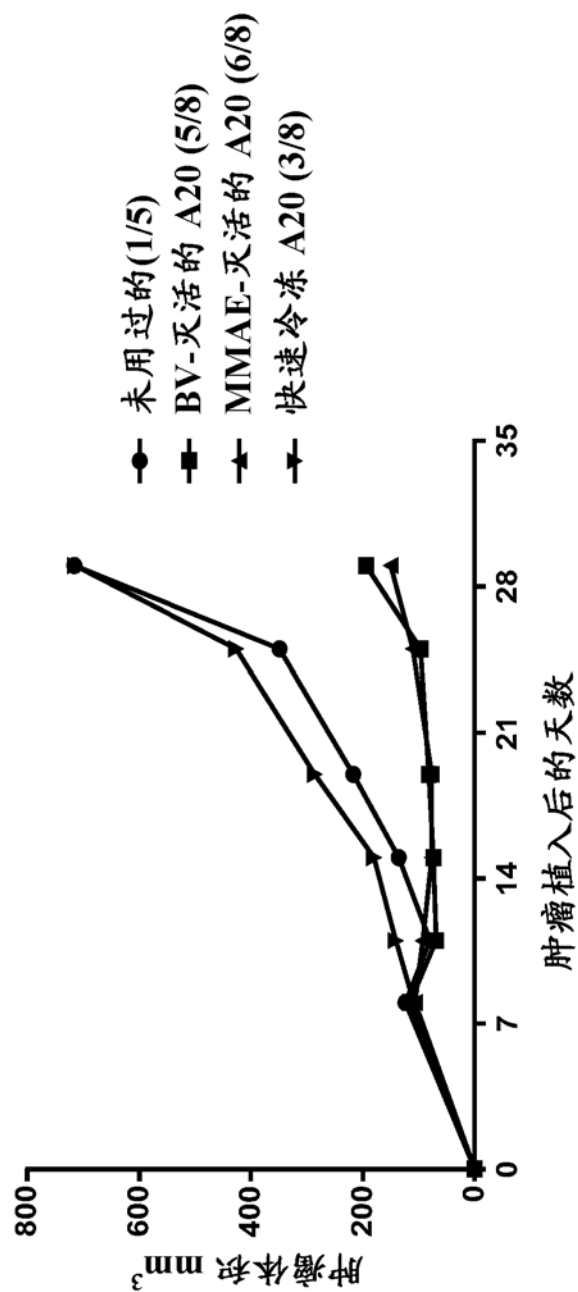


图 11

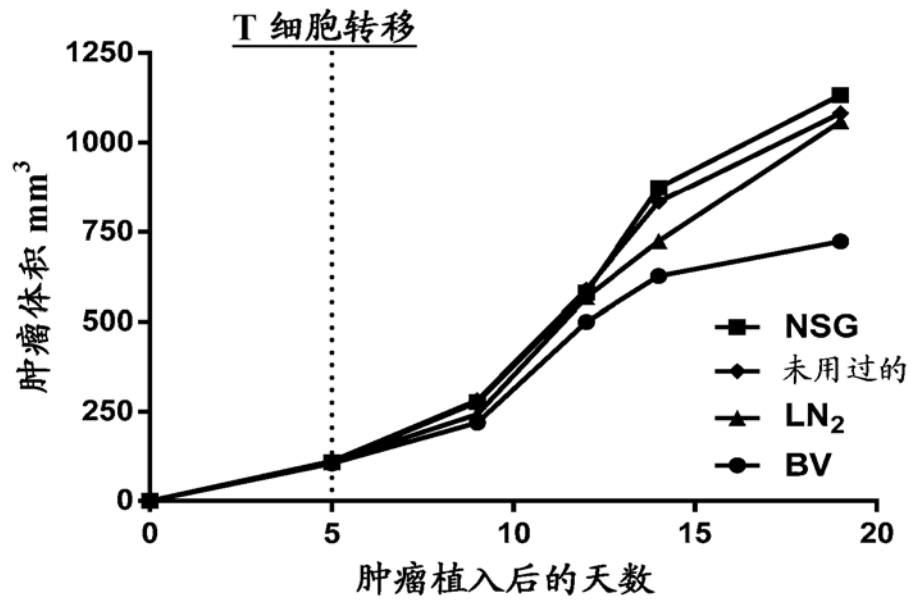


图 12A

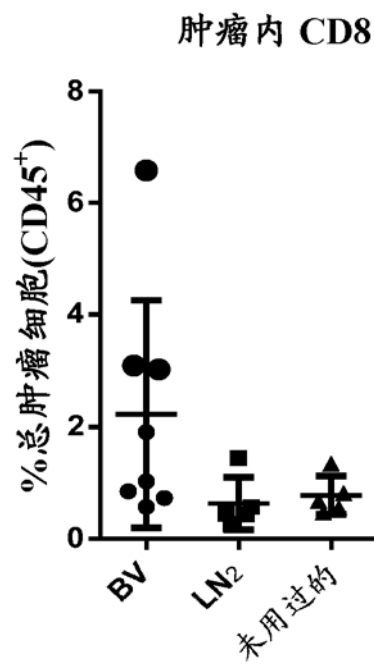


图 12B

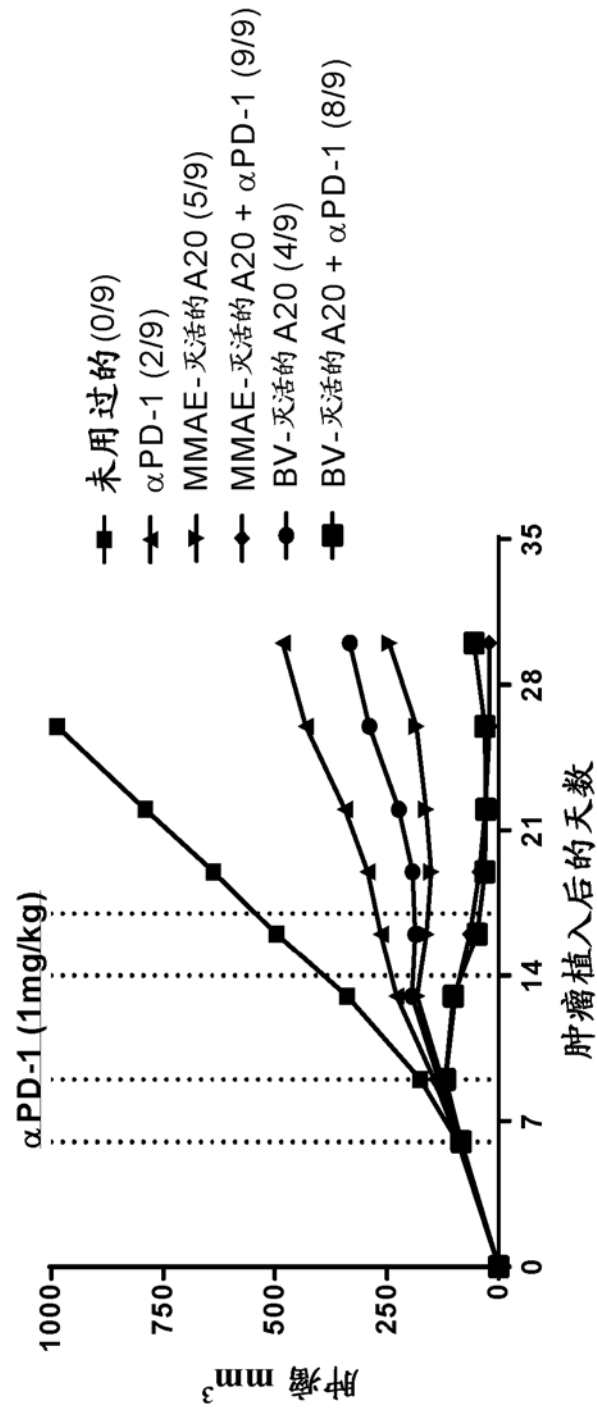


图 13

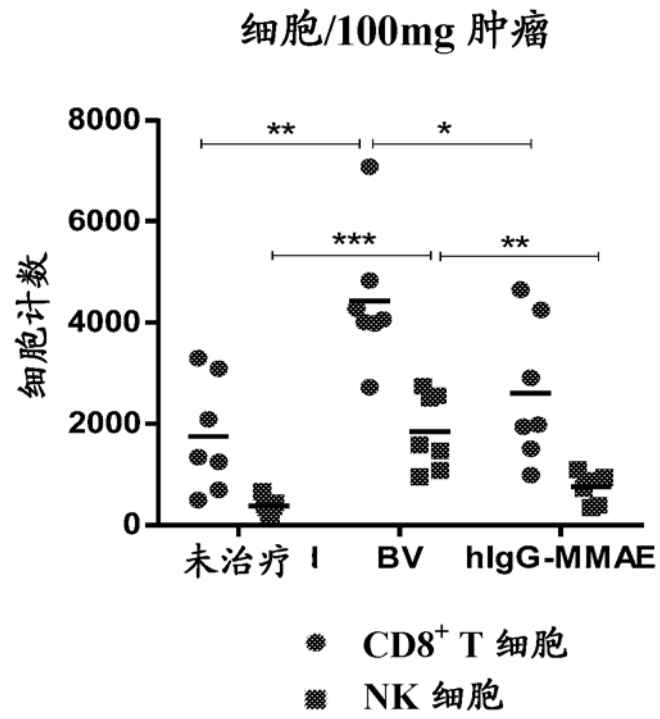


图 14A

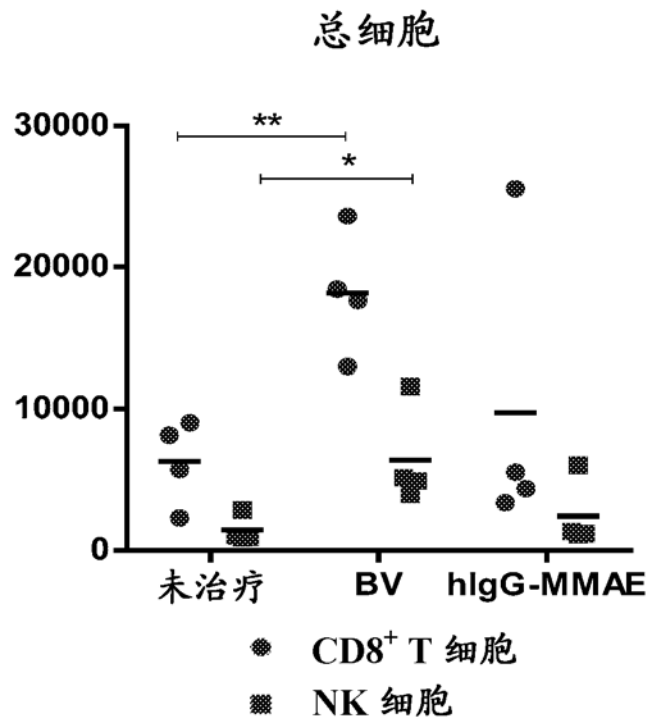


图 14B



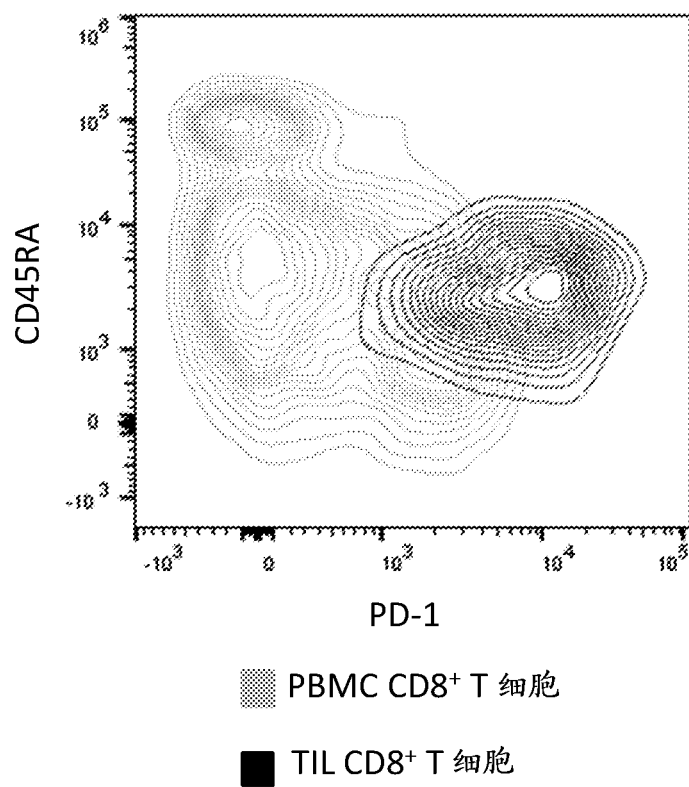


图 14C

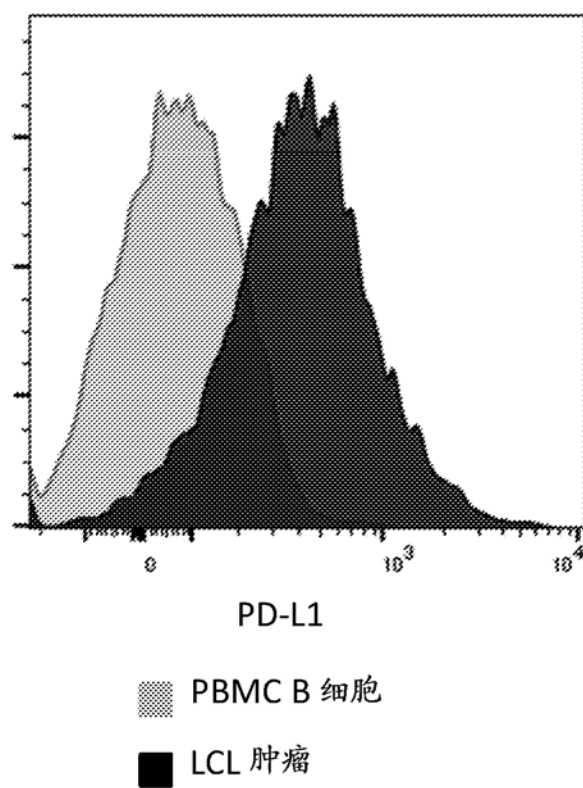


图 14D

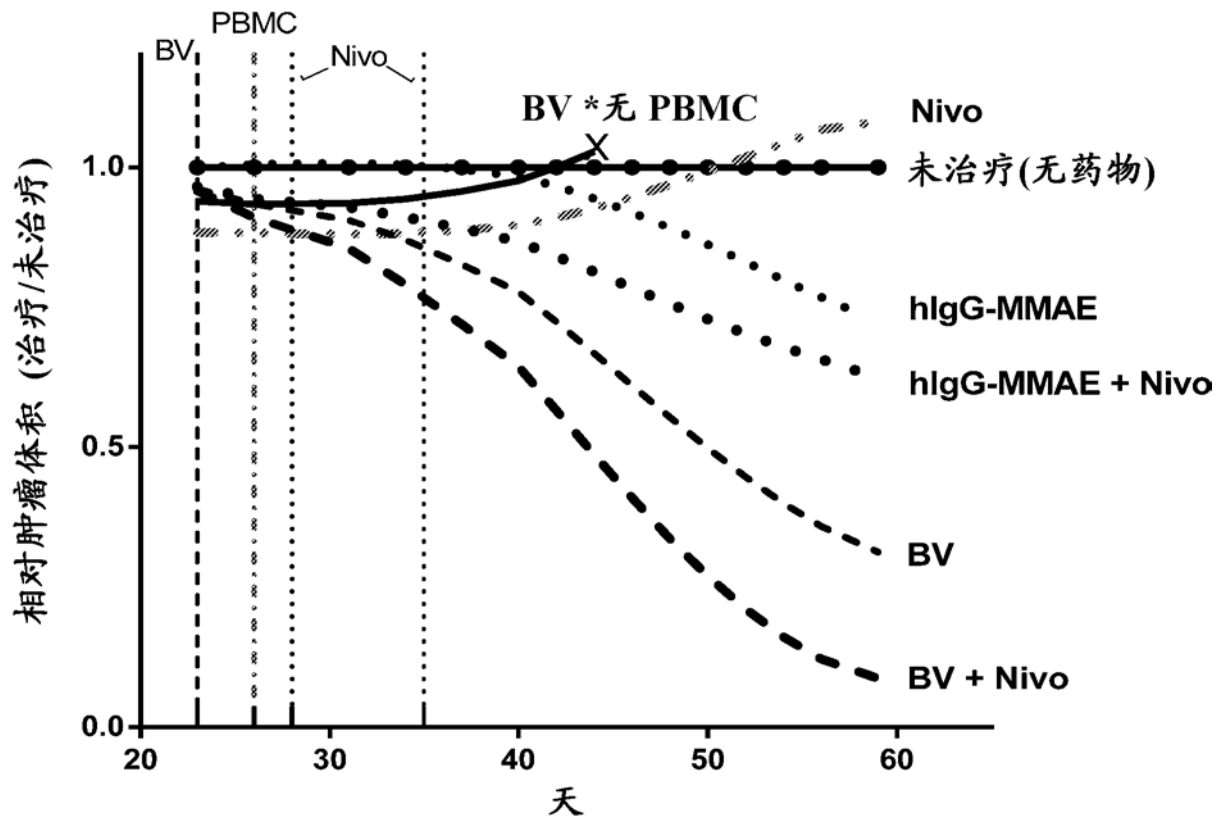


图 15A

第 50 天平均值±SEM		p-值	
肿瘤体积(mm <sup>3</sup> )		(单尾 t 检验)	
组			
未治疗	hIgG-MMAE	694 +/- 77	
	纳武单抗	669 +/- 154	
	hIgG-MMAE + Nivo	792 +/- 68	
	BV	531 +/- 81	0.02
	BV + Nivo	345 +/- 95	0.003
		160 +/- 49	0.0001
未治疗		hIgG-MMAE	0.003
		纳武单抗	0.0001
		hIgG-MMAE + Nivo	0.08
		BV	0.06

图 15B