(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 115151565 A
(43)申请公布日 2022.10.04

(21)申请号 202080090109.2
(22)申请日 2020.10.30
(30)优先权数据
19206479.8 2019.10.31 EP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.06.23
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2020/080494 2020.10.30
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/084063 EN 2021.05.06
(71)申请人 莫佛塞斯公司
地址 德国普拉内格
(72)发明人 J·恩德尔 R·博克斯哈默 D·普雷切尔
(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴
(51)Int.Cl.
*C07K 16/28*(2006.01)
*A61K 35/17*(2006.01)
*A61K 39/395*(2006.01)
*A61P 35/02*(2006.01)
*A61K 39/00*(2006.01)

权利要求书2页 说明书21页
序列表10页 附图4页

(54)发明名称

包含抗CD19抗体和γδT细胞的抗肿瘤组合疗法

(57)摘要

本公开涉及一种用于治疗白血病或淋巴瘤的包含抗CD19抗体或其抗体片段和γδT细胞的组合疗法。

CN 115151565 A

1.一种抗CD19抗体或其抗体片段,其用于治疗血液学癌症,其中所述抗CD19抗体或其抗体片段与γδT细胞组合施用。

2.根据权利要求1所述的抗CD19抗体或其抗体片段,其用于根据权利要求1所述的用途,其中所述抗CD19抗体或其抗体片段与γδT细胞组合施用,并且其中所述γδT细胞包括富集的γδT细胞群。

3.根据前述权利要求中任一项所述的抗CD19抗体或其抗体片段,其用于根据前述权利要求中任一项所述的用途,其中所述抗CD19抗体或其抗体片段与γδT细胞组合施用,并且其中所述γδT细胞包括非工程改造的γδT细胞或工程改造的γδT细胞和/或其混合物。

4.根据前述权利要求中任一项所述的抗CD19抗体或其抗体片段,其用于根据前述权利要求中任一项所述的用途,其中所述抗CD19抗体或其抗体片段与γδT细胞组合施用,并且其中所述γδT细胞分离自外周血、肿瘤组织或非造血组织,用于治疗癌症。

5.根据前述权利要求中任一项所述的抗CD19抗体或其抗体片段,其用于根据前述权利要求中任一项所述的用途,其中所述抗CD19抗体或其抗体片段与γδT细胞组合施用,并且其中所述γδT细胞分离自外周血并在IL-2和ZOL的存在下培养。

6.根据前述权利要求中任一项所述的抗CD19抗体或其抗体片段,其用于根据前述权利要求中任一项所述的用途,其中所述抗CD19抗体或其抗体片段与γδT细胞组合施用,并且其中所述γδT细胞是血液来源的Vγ9Vδ2T细胞。

7.根据前述权利要求中任一项所述的抗CD19抗体或其抗体片段,其用于治疗血液学癌症,其中所述血液学癌症是慢性淋巴细胞白血病(CLL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、小淋巴细胞淋巴瘤(SLL)或急性淋巴母细胞白血病(ALL),并且其中所述抗CD19抗体或其抗体片段与根据前述权利要求中任一项所述的γδT细胞组合施用。

8.根据前述权利要求中任一项所述的抗CD19抗体或其抗体片段,其用于根据前述权利要求中任一项所述的用途,其中所述抗CD19抗体或其抗体片段与根据前述权利要求中任一项所述的γδT细胞组合施用,并且其中所述对CD19具有特异性的抗体或抗体片段和所述γδT细胞以分开的方式施用。

9.根据前述权利要求中任一项所述的抗CD19抗体或其抗体片段,其用于根据前述权利要求中任一项所述的用途,其中所述抗CD19抗体或其抗体片段与根据前述权利要求中任一项所述的γδT细胞组合施用,并且其中所述对CD19具有特异性的抗体或抗体片段和所述γδT细胞以同时的方式施用。

10.根据前述权利要求中任一项所述的抗CD19抗体或其抗体片段,其用于前述权利要求中任一项所述的用途,其中所述抗CD19抗体或其抗体片段与根据前述权利要求中任一项所述的γδT细胞组合施用,并且其中所述抗CD19抗体或抗体片段包含重链可变区,所述重链可变区包括包含序列SYVMH(SEQ ID NO:1)的HCDR1区,包含序列NPYNDG(SEQ ID NO:2)的HCDR2区和包含序列GTYYYGTRVFDY(SEQ ID NO:3)的HCDR3区;和轻链可变区,所述轻链可变区包括包含序列RSSKSLQNVNGNTYLY(SEQ ID NO:4)的LCDR1区,包含序列RMSNLNS(SEQ ID NO:5)的LCDR2区和包含序列MQHLEYPIT(SEQ ID NO:6)的LCDR3区。

11.根据权利要求10所述的抗CD19抗体或其抗体片段,其用于根据前述权利要求中任一项所述的用途,其中所述抗CD19抗体或其抗体片段与根据前述权利要求中任一项所述的γδT细胞组合施用,并且其中所述抗CD19抗体或抗体片段包含

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:7)的重链可变区

和

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK(SEQ ID NO:8)的轻链可变区。

12.根据权利要求11所述的抗CD19抗体,其用于根据前述权利要求中任一项所述的用途,其中所述抗CD19抗体或其抗体片段与根据前述权利要求中任一项所述的γδT细胞组合施用,并且其中所述抗CD19抗体包含

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:11)的重链。

13.根据权利要求11所述的抗CD19抗体或其抗体片段,其用于根据前述权利要求中任一项所述的用途,其中所述抗CD19抗体或其抗体片段与根据前述权利要求中任一项所述的γδT细胞组合施用,并且其中所述抗CD19抗体包含DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:12)的轻链。

14.一种药盒,其用于根据前述权利要求中任一项所述的治疗,所述药盒包含根据前述权利要求中任一项所述的抗CD19抗体或其抗体片段以及与根据前述权利要求中任一项所述的γδT细胞组合施用所述抗CD19抗体或其抗体片段的说明。

# 包含抗CD19抗体和γδT细胞的抗肿瘤组合疗法

## 技术领域

[0001] 本公开涉及一种用于治疗白血病或淋巴瘤的包含抗CD19抗体或其抗体片段和γδT细胞的组合疗法。

## 背景技术

[0002] CD19是免疫球蛋白超家族的一种95-kDa跨膜糖蛋白,所述CD19含有两个细胞外免疫球蛋白样结构域和一个巨大的细胞质尾。所述蛋白质是一种泛B淋巴细胞表面受体,并且是从前B细胞发育的最早阶段开始遍在表达,直至在终末分化成浆细胞期间下调。所述蛋白质是B淋巴细胞谱系特异性的,并且除一些滤泡性树突状细胞外,不在造血干细胞和其他免疫细胞上表达。CD19作为B细胞受体(BCR)信号传导的正调节因子发挥作用并且对B细胞活化和增殖以及体液免疫反应的发展具有重要作用。所述CD19与CD21和CD81一起发挥共刺激分子的作用,并且对于B细胞对T细胞依赖性抗原的反应至关重要。CD19的细胞质尾与酪氨酸激酶家族物理相关,所述酪氨酸激酶通过蛋白酪氨酸激酶的src家族触发下游信号传导通路。CD19是淋巴来源的癌症的一个有吸引力的靶标,因为CD19在几乎所有慢性淋巴细胞白血病(CLL)和非霍奇金淋巴瘤(NHL)以及许多其他不同类型的白血病,包括急性淋巴细胞白血病(ALL)和毛细胞白血病(HCL)中高度表达。

[0003] 他法西他单抗(Tafasitamab)(曾用名:MOR00208和XmAb®5574)是一种靶向抗原CD19的人源化单克隆抗体,抗原CD19是一种参与B细胞受体信号传导的跨膜蛋白。他法西他单抗已在IgG Fc区进行工程改造,以增强抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC),从而改善用于肿瘤细胞杀伤的关键机制,并提供与常规抗体(即非增强抗体)相比增强的功效的潜力。他法西他单抗已经或目前正在多项临床试验中进行研究,诸如在CLL、ALL和NHL中。在这些试验中的一些中,他法西他单抗与艾代拉里斯(Idelalisib)、来那度胺(Lenalidomide)和维奈托克(Venetoclax)组合使用。

[0004] 尽管最近发现并开发了几种抗癌剂,但由于包括表达CD19的肿瘤在内的许多类型的癌症预后不良,仍然需要用于治疗这些类型的癌症的改进的方法或治疗剂。因此,本发明人已确认γδT细胞与对CD19具有特异性的抗体或抗体片段的组合施用对B细胞来源的恶性淋巴瘤的治疗具有优异的作用,并且完成了本发明。

## 发明内容

[0005] 本公开提供了一种用于治疗癌症的新组合,其包含对CD19具有特异性的抗体或抗体片段和γδT细胞。

[0006] 自19世纪80年代发现它们以来,同时已承认γδT细胞是感染以及诸如癌症的恶性肿瘤的重要参与者。活化的γδT细胞具有强大的细胞毒性和广泛的肿瘤识别能力,不依赖于其靶细胞上存在的主要组织相容性复合物(MHC)分子。此外,γδT细胞被证明是抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)的有效介质。截至今天,已表明γδT细胞的抗肿瘤作用可通过抗CD20抗体大幅增强(Tokuyama等人2008;Hoeres等人2018)。此外,与非Fc增强的抗体像

利妥昔单抗(Rituximab)相比，当与γδT细胞组合时，Fc增强的抗CD20抗体奥妥珠单抗(Obinutuzumab)表现出增加的肿瘤细胞杀伤。

[0007] 然而，在γδT细胞的存在下，对除CD20以外的其他表面抗原具有特异性的抗体的肿瘤细胞杀伤活性尚未评价。因此，本公开的目的是提供包含抗体和γδT细胞的替代组合疗法。

[0008] 为了实现以上目的，本公开提供了一种用于治疗癌症的组合，其包含对CD19具有特异性的抗体或抗体片段和γδT细胞。

[0009] 在本公开中，发明人已将γδT细胞与靶向CD19的抗体他法西他单抗(Fc增强的)和Xmab5603(非Fc增强的)组合，并在ADCC测定中评价了它们在患者来源的CLL、MCL和B-ALL样品以及的各种淋巴瘤和白血病细胞系中的抗肿瘤活性。总之，与非Fc增强的Xmab5603或阴性对照IgG1抗体相比，当γδT细胞与Fc增强的抗CD19抗体他法西他单抗组合时，观察到细胞裂解率增加。

[0010] 总之，表明γδT细胞是基于抗体的肿瘤疗法中的潜在效应细胞群，如本研究中对于Fc增强的靶向CD19的抗体他法西他单抗所证明的那样。他法西他单抗表现出由γδT细胞介导的针对几种淋巴瘤和白血病细胞系以及原发性患者来源的CLL、MCL和BALL细胞的强大抗肿瘤活性，并且可能为淋巴瘤和白血病疗法提供一种有前景的方法。

[0011] γδT细胞可来源于任何合适的自体或同种异体γδT细胞或其群体。在一些实施方案中，用作目前描述的γδT细胞的来源的合适的γδT细胞包括Vδ1细胞、Vδ2细胞、Vδ3细胞、Vδ5细胞和Vδ8细胞。例如，本文提供了用于从非造血组织诸如皮肤或肠道中分离并扩增Vδ1细胞的方法。例如，如US2018/0312808中所述，Vδ1细胞可从人皮肤活检中分离，所述专利以引用的方式整体并入本文，并且特别用于从组织中分离Vδ1细胞的方法。

[0012] 在其他实施方案中，合适的γδT细胞可来源于血液(例如，外周血)。从血液中分离并扩增Vδ1细胞的方法包括例如在美国专利号9,499,788和国际专利公开号WO2016/198480中描述的那些方法，所述专利中的每一个均以引用的方式整体并入本文。Vγ9Vδ2T细胞还可从外周血中分离并进一步离体培养。在IL-2和唑来膦酸(ZOL)的存在下，可优化Vγ9Vδ2T细胞的培养。从血液中分离并扩增Vγ9Vδ2T细胞的方法包括例如在Hoeres等人2018中描述的那些方法。

[0013] 在一些实施方案中，合适的γδT细胞可来源于肿瘤组织(例如，肿瘤浸润性γδT细胞)。可替代地，根据以下所述的方法，可被工程改造以表达异源靶向构建体的合适的γδT细胞可来源于非造血组织。这些细胞可在一种或多种因子(例如，TCR激动剂、共受体激动剂和/或细胞因子，例如，IL-4、IL-1 5和/或IFN-g)的存在下在透气的生物反应袋中培养长达21天或更长时间。此方法的变型以及其他获得Vδ1T细胞的方法适合作为本发明的一部分。例如，血液来源的Vδ1T细胞可以可替代地使用例如国际专利公开号WO2017/197347和WO2016/081518(美国公开号2016/0175338)中所述的方法获得，所述专利中的每一个以引用的方式整体并入本文。

[0014] 本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合，其包含对CD19具有特异性的抗体或抗体片段和γδT细胞。

[0015] 在一个方面，本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合，其包含对CD19具有特异性的抗体或抗体片段和γδT细胞，其中所述抗体包含重链可变区，其包括包含序列SYVMH

(SEQ ID NO:1)的HCDR1区,包含序列NPYNDG(SEQ ID NO:2)的HCDR2区和包含序列GTYYYGTRVFDY(SEQ ID NO:3)的HCDR3区;以及轻链可变区,其包括包含序列RSSKSLQNVNGNTYLY(SEQ ID NO:4)的LCDR1区,包含序列RMSNLNS(SEQ ID NO:5)的LCDR2区和包含序列MQHLEYPIT(SEQ ID NO:6)的LCDR3区,用于治疗癌症。

[0016] 在一个方面,本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合,其包含对CD19具有特异性的抗体或抗体片段和γδT细胞,其中所述抗体包含重链可变区,其包含SYVMH(SEQ ID NO:1)的HCDR1区,NPYNDG(SEQ ID NO:2)的HCDR2区和GTYYYGTRVFDY(SEQ ID NO:3)的HCDR3区;以及轻链可变区,其包含RSSKSLQNVNGNTYLY(SEQ ID NO:4)的LCDR1区,RMSNLNS(SEQ ID NO:5)的LCDR2区和MQHLEYPIT(SEQ ID NO:6)的LCDR3区,用于治疗癌症。

[0017] 在另一个方面,对CD19具有特异性的抗体或抗体片段包含EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:7)的重链可变区,

[0018] 和

[0019] DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK(SEQ ID NO:8)的轻链可变区。

[0020] 在另一个方面,对CD19具有特异性的抗体或抗体片段具有效应子功能。在另一个方面,对CD19具有特异性的抗体或抗体片段具有增强的效应子功能。在一个实施方案中,效应子功能是ADCC。在一个实施方案中,对CD19具有特异性的抗体或抗体片段具有增强的ADCC活性。在另一实施方案中,对CD19具有特异性的抗体或抗体片段包含Fc结构域,其包含在位置S239和/或I332处的氨基酸取代,其中编号是根据Kabat中的EU索引。

[0021] 在又一方面,对CD19具有特异性的抗体或抗体片段包含ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:9)的重链恒定区。

[0022] 在另一方面,对CD19具有特异性的抗体包含RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:10)的轻链恒定区。

[0023] 在又一方面,对CD19具有特异性的抗体包含ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:9)的重链恒定区,和RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:10)的轻链恒定区。

[0024] 在又一方面,对CD19具有特异性的抗体包含EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL

YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP EEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:11)的重链区,和DIVMTQSPATL SLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPED FAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:12)的轻链区。

[0025] 在一个方面,本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合,其包含对CD19具有特异性的抗体和γδT细胞,其中所述γδT细胞包括富集的γδT细胞群。在一个实施方案中,富集的γδT细胞群包含非工程改造的γδT细胞或工程改造的γδT细胞和/或其混合物。在另一实施方案中,本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合,其包含对CD19具有特异性的抗体和富集的γδT细胞群。

[0026] 在另一个方面,本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合,其包含对CD19具有特异性的抗体和γδT细胞,其中所述γδT细胞包括非工程改造的γδT细胞或工程改造的γδT细胞和/或其混合物。在另一个实施方案中,γδT细胞是非工程改造的γδT细胞群。在又一实施方案中,γδT细胞是工程改造的γδT细胞群。

[0027] 在一个方面,本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合,其包含对CD19具有特异性的抗体和γδT细胞,其中所述γδT细胞分离自外周血、肿瘤组织或非造血组织。在一个实施方案中,γδT细胞分离自外周血。在另一个实施方案中,γδT细胞是分离自外周血的γδT细胞群。在另一个实施方案中,γδT细胞是分离自外周血的Vγ9Vδ2T细胞群。在另一实施方案中,γδT细胞是分离自外周血的Vγ9Vδ2T细胞群,其中所述Vγ9Vδ2T细胞在IL-1和唑来膦酸(ZOL)的存在下离体培养。

[0028] 在一个方面,本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合,其包含对CD19具有特异性的抗体和γδT细胞,其中所述癌症是血液学癌症。在一个实施方案中,血液学癌症是慢性淋巴细胞白血病(CLL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、小淋巴细胞淋巴瘤(SLL)或急性淋巴母细胞白血病(ALL)。在另一个实施方案中,血液学癌症是非霍奇金淋巴瘤(NHL)。在另一实施方案中,非霍奇金淋巴瘤选自由以下组成的组:滤泡性淋巴瘤、小淋巴细胞淋巴瘤、黏膜相关淋巴组织、边缘区淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤和套细胞淋巴瘤。

[0029] 在一个方面,本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合,其包含对CD19具有特异性的抗体和γδT细胞,其中所述对CD19具有特异性的抗体和所述γδT细胞以分开的方式施用。

[0030] 在一个方面,本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合,其包含对CD19具有特异性的抗体和γδT细胞,其中所述对CD19具有特异性的抗体和所述γδT细胞以同时的方式施用。

[0031] 在一个方面,本公开提供了用于治疗癌症的药盒,其包含对CD19具有特异性的抗体和γδT细胞。

## 附图说明

[0032] 图1:以递增的效应物与靶细胞(E:T)比率进行的MOR00208的代表性ADCC测定。对

于三种靶细胞系Mino、Daudi和Jeko，描绘了由MOR00208(黑色)或IgG1阴性对照(白色)和来自健康供体的γδT细胞介导的表示为%死亡靶细胞的特异性细胞杀伤结果。测试了0.7:1与20:1之间的四种不同E:T比率。

[0033] 图2：以递增的效应物与靶细胞(E:T)比率进行的MOR00208的代表性ADCC测定。对于三种靶细胞系U2932和REH，描绘了由MOR00208(黑色)或IgG1对照(白色)和来自健康供体的γδT细胞介导的表示为%死亡靶细胞的特异性细胞杀伤结果。测试了0.7:1与20:1之间的四种不同E:T比率。

[0034] 图3：使用来自两名CLL患者和一名B-ALL患者的原发性肿瘤细胞作为靶细胞，以递增的效应物与靶细胞(E:T)比率进行的MOR00208的代表性ADCC测定。对于使用原发性肿瘤细胞作为靶细胞的三个实验，描绘了由MOR00208(黑色)或IgG1对照(白色)和来自健康供体的γδT细胞介导的表示为%死亡靶细胞的特异性细胞杀伤结果。测试了0.7:1与20:1之间的四种不同E:T比率。

[0035] 图4：使用来自两名MCL患者的原发性肿瘤细胞作为靶细胞，以递增的效应物与靶细胞(E:T)比率进行的MOR00208的代表性ADCC测定。对于使用原发性肿瘤细胞作为靶细胞的三个实验，描绘了由MOR00208(黑色)或IgG1对照(白色)和来自健康供体的γδT细胞介导的表示为%死亡靶细胞的特异性细胞杀伤结果。测试了0.7:1与20:1之间的四种不同E:T比率。

[0036] 定义

[0037] 术语“CD19”是指称为CD19的蛋白质，具有以下同义词：B4、B淋巴细胞抗原CD19、B淋巴细胞表面抗原B4、CVID3、分化抗原CD19、MGC12802和T细胞表面抗原Leu-12。

[0038] 人CD19的氨基酸序列为：

[0039] MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTWSRESPLKPFLKLSLGLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLGGLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSLNQSLSQDLTMAPGSTLWLSCGVPPDSVSRGPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMETGLLLPRATAQDAGKYYCHRGNLTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRRKRKRMTDPTRRFFKVTPPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSPPGVGPEEEEGEGYEEPDSEEDSEFYENDSNLGQDQLSQDGSGYENPEDEPLGPEDEDSFSNAESYENEDEELTQPVARTMDFLSPHGSAWDPSREATSLGSQSYEDMRGILYAAPQLRSIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRMGTWSTR(SEQ ID NO:13)

[0040] “MOR00208”、“XmAb 5574”和“他法西他单抗”用作根据表1的抗CD19抗体的同义词。表1提供了MOR00208/他法西他单抗的氨基酸序列。MOR00208抗体描述于美国专利申请序列号12/377,251中，所述申请以引用的方式整体并入本文。美国专利申请序列号12/377,251描述了名为4G7 H1.52杂交S239D/I332E/4G7 L1.155(后来称为MOR00208和他法西他单抗)的抗体。

[0041] 如本文所用的术语“抗体”是指包含通过二硫键相互连接的至少两个重(H)链和两个轻(L)链的蛋白质，所述蛋白质与抗原相互作用。每个重链由可变重链区(本文缩写为VH)和重链恒定区构成。重链恒定区由三个结构域，即CH1、CH2和CH3构成。每个轻链由可变轻链区(本文缩写为VL)和轻链恒定区构成。轻链恒定区由一个结构域CL构成。VH和VL区可进一步细分为高变区，称为互补决定区(CDR)，其间散布着较保守的区域，称为框架区(FR)。每个VH和VL由按以下次序从氨基末端到羧基末端排列的三个CDR和四个FR构成：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。术语“抗体”包括例如单克隆抗体、人抗体、人源化抗体、骆驼化抗体和嵌合抗体。抗体可具有任何同种型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、类别(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类。轻链和重链都分成结构和功能同源性的区域。

[0042] 如本文所用的词语“抗体片段”是指保留与抗原特异性相互作用(例如,通过结合、空间位阻、稳定空间分布)的能力的抗体的一个或多个部分。结合片段的实例包括但不限于:Fab片段,其为由VL、VH、CL和CH1结构域组成的单价片段;F(ab)2片段,其为包含由在铰链区的二硫键连接的两个Fab片段的二价片段;Fd片段,其由VH和CH1结构域组成;Fv片段,其由抗体的单臂的VL和VH结构域组成;dAb片段(Ward等,(1989)Nature 341:544-546),其由VH结构域组成;以及分离的互补决定区(CDR)。此外,尽管Fv片段的两个结构域(VL和VH)由独立基因编码,但它们可使用重组方法由合成接头接合,所述接头能够使所述两个结构域制成其中VL和VH区配对以形成单价分子的单一蛋白质链(称为单链Fv(scFv);参见例如Bird等,(1988)Science 242:423-426;和Huston等,(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.85:5879-5883)。此类单链抗体也意图涵盖在术语“抗体片段”内。这些抗体片段是使用本领域技术人员已知的常规技术获得,并且以与完整抗体相同的方式针对效用筛选所述片段。抗体片段也可以并入单结构域抗体、大抗体、小抗体、内抗体、双抗体、三抗体、四抗体、v-NAR和双-scFv(参见例如,Hollinger和Hudson,(2005)Nature Biotechnology 23:1126-1136)。抗体片段可以移植到基于多肽诸如III型纤连蛋白(Fn3)的支架中(参见美国专利号6,703,199,所述专利描述了纤连蛋白多肽单抗体(monobody))。抗体片段可以并入包含一对串联Fv区段(VH-CH1-VH-CH1)的单链分子中,所述串联Fv片段与互补轻链多肽一起形成一对抗原结合位点(Zapata等,(1995)Protein Eng.8:1057-1062;以及美国专利号5,641,870)。

[0043] “施用(Administered/administration)”包括但不限于通过可注射形式递送药物,诸如例如通过静脉内、肌肉内、皮内或皮下途径或粘膜途径,例如以用于吸入的鼻喷雾剂或气雾剂形式或以可摄入溶液、胶囊或片剂形式。优选地,施用是通过可注射形式。

[0044] 术语“效应子功能”是指可归因于抗体的Fc区的那些生物活性,所述生物活性随抗体同种型变化。抗体效应子功能的非限制性实例包括:C1q结合和补体依赖性细胞毒性(CDC);Fc受体结合和抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和/或抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP);细胞表面受体(例如B细胞受体)的下调;以及B细胞活化。

[0045] “抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是指一种形式的细胞毒性,其中结合到存在于某些细胞毒性细胞(例如,NK细胞、嗜中性粒细胞和巨噬细胞)上的Fc受体(FcR)上的抗体使得这些细胞毒性效应细胞能够特异性结合到携带抗原的靶细胞并且随后用细胞毒素杀伤靶细胞。用于介导ADCC的主要细胞NK细胞仅表达Fcγ RIII,而单核细胞表达Fcγ RI、Fcγ RII及Fcγ RIII。

[0046] “补体依赖性细胞毒性”或"CDC"是指在补体的存在下靶细胞的裂解。经典补体通路的活化通过补体系统的第一组分(C1q)与本公开的抗体(适当的亚类)的结合而启动,所述抗体与其同源抗原结合。

[0047] “抗体依赖性细胞吞噬作用”或“ADCP”是指通过吞噬细胞诸如巨噬细胞或树突状细胞的内化而消除抗体包覆的靶细胞的机制。

[0048] 术语“血液学癌症”包括血源性肿瘤和涉及造血起源的组织中异常细胞生长和/或

增殖的疾病或病症，诸如淋巴瘤、白血病和骨髓瘤。

[0049] 非霍奇金淋巴瘤(“NHL”)是一种起源于淋巴细胞的异质性恶性肿瘤。在美国(US)，发病率估算为65,000/年，其中死亡人数大致20,000(美国癌症学会(American Cancer Society)，2006;以及SEER Cancer Statistics Review)。疾病可发生于各个年龄阶段，通常发病于40岁以上的成年人，其中发病率随年龄增长而增加。NHL的特征在于淋巴细胞的克隆性增殖，淋巴细胞在淋巴结、血液、骨髓和脾脏中积聚，尽管可能涉及任何主要器官。病理学家和临床医生目前使用的分类系统是世界卫生组织(WHO)肿瘤分类，其将NHL分为前体和成熟B细胞或T细胞赘生物。PDQ目前将NHL分为惰性或侵袭性以进入临床试验。惰性NHL组主要由滤泡亚型、小淋巴细胞淋巴瘤、MALT(粘膜相关淋巴组织)和边缘区构成;惰性涵盖大致50％的新诊断的B细胞NHL患者。侵袭性NHL包括组织学诊断主要为弥漫性大B细胞(DLBL、“DLBCL”或DLCL)(所有新诊断的患者中有40％具有弥漫性大细胞)、伯基特和套细胞(“MCL”)的患者。NHL的临床病程是高度可变的。临床病程的一个主要决定因素是组织学亚型。大多数惰性类型的NHL被认为是无法治愈的疾病。患者最初对化疗或抗体疗法有反应，并且大多数会复发。迄今为止的研究还没有证明早期干预可以提高存活。在无症状患者中，“观察和等待”直至患者出现症状或疾病速度似乎正在加快是可以接受的。随着时间的推移，疾病可能会转变为更具侵袭性的组织学。中位存活为8至10年，并且惰性患者通常在其疾病的治疗阶段期间接受3次或更多次治疗。历史上对有症状的惰性NHL患者的初始治疗一直是组合化疗。最常用的剂包括:环磷酰胺、长春新碱和泼尼松(CVP);或环磷酰胺、阿霉素、长春新碱、泼尼松(CHOP)。大致70％至80％的患者会对他们的初始化疗有反应，缓解持续时间为约2-3年。最终大部分患者复发。抗CD20抗体，即利妥昔单抗的发现和临床使用提供了反应和存活率的显著提高。目前大多数患者的护理标准是利妥昔单抗+CHOP(R-CHOP)或利妥昔单抗+CVP(R-CVP)。利妥昔单抗疗法已被证明对几种类型的NHL有效，并且目前被批准作为惰性(滤泡性淋巴瘤)和侵袭性NHL(弥漫性大B细胞淋巴瘤)两者的第一线治疗。然而，抗CD20单克隆抗体(mAb)存在显著局限性，包括原发性耐药(复发性惰性患者中的50％反应)、获得性耐药(再治疗后的50％反应率)、罕见的完全反应(在复发性群体中的2％完全反应率)和持续的复发模式。最后，许多B细胞不表达CD20，并因此许多B细胞病症无法使用抗CD20抗体疗法治疗。

[0050] 除了NHL之外，还有几种类型的由B细胞失调引起的白血病。慢性淋巴细胞白血病(也称为“慢性淋巴样白血病(chronic lymphoid leukemia)”或“CLL”)是一种由B淋巴细胞的异常积聚引起的成人白血病类型。在CLL中，恶性淋巴细胞可能看起来正常并且成熟，但它们无法有效应对感染。CLL是成人中最常见的白血病形式。男性罹患CLL的可能性是女性的两倍。然而，关键的风险因素是年龄。超过75％的新病例是在超过50岁的患者中诊断出来的。每年诊断出超过10,000个病例，并且死亡人数接近每年5,000例(美国癌症协会，2006;以及SEER Cancer Statistics Review)。CLL是一种无法治愈的疾病，但在大多数情况下进展缓慢。许多患有CLL的人多年来都过着正常而积极的生活。由于发病缓慢，早期CLL通常不治疗，因为据信早期CLL干预不会提高存活时间或生活质量。而是随着时间的推移监测状况。初始CLL治疗根据确切的诊断和疾病的进展而变化。有数十种剂用于CLL疗法。诸如FCR(氟达拉滨(fludarabine)、环磷酰胺和利妥昔单抗)和BR(依鲁替尼(Ibrutinib)和利妥昔单抗)的组合化疗方案对新诊断的和复发性的CLL均有效。异基因骨髓(干细胞)移植由于其

风险很少用作CLL的第一线治疗。

[0051] 另一种类型的白血病是小淋巴细胞淋巴瘤(“SLL”),其被认为是一种CLL变体,缺乏CLL诊断所需的克隆性淋巴细胞增多,但具有其他病理和免疫表型特征(Campo等,2011)。SLL的定义需要存在淋巴结病和/或脾肿大。此外,外周血中的B淋巴细胞的数目不应超过5×109/L。在SLL中,应尽可能通过淋巴结活检的组织病理学评价来确认诊断(Hallek等,2008)。在美国,SLL的发病率为CLL的大致25%(Dores等,2007)。

[0052] 另一种白血病类型是急性淋巴母细胞白血病(ALL),也称为急性淋巴细胞白血病。ALL的特征在于骨髓中的恶性和未成熟白细胞(也称为淋巴母细胞)的过度产生和持续增殖。‘急性’是指循环淋巴细胞的未分化、未成熟状态(“母细胞”),并且如果不治疗,疾病进展迅速,预期寿命可达数周至数月。ALL最常见于儿童,其中发病高峰期为4-5岁。12-16岁的儿童比其他人更容易死于此病。目前,至少80%的儿童ALL被认为是可治愈的。每年诊断出的病例不到4,000例,并且死亡人数接近每年1,500例(美国癌症协会,2006;以及SEER Cancer Statistics Review)。

[0053] 如本上下文所用的“受试者”或“患者”是指任何哺乳动物,包括啮齿动物,诸如小鼠或大鼠,以及灵长类动物,诸如食蟹猴(食蟹猕猴(Macaca fascicularis))、恒河猴(普通猕猴(Macaca mulatta))或人类(智人(Homo sapiens))。优选地,受试者或患者是灵长类动物,最优选是人类患者,甚至更优选是成年人类患者。

[0054] 如本文所用的术语“工程改造的”或“修饰的”包括通过合成方式(例如,通过重组技术、体外肽合成、通过肽的酶促或化学偶联或这些技术的一些组合)对核酸或多肽的操纵。优选地,根据本公开的抗体或抗体片段被工程改造或修饰以改善一种或多种特性,诸如抗原结合、稳定性、半衰期、效应子功能、免疫原性、安全性等。优选地,根据本公开的抗体或抗体片段被工程改造或修饰以改善效应子功能,诸如ADCC。

[0055] “Fc区”用于定义免疫球蛋白重链的C端区。免疫球蛋白的Fc区一般包含两个恒定结构域,即CH2结构域和CH3结构域。除非本文另外说明,否则Fc区中的氨基酸残基的编号是根据EU编号系统,也称为EU索引,如Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD,1991中所描述。

[0056] 根据本公开施用的抗体以治疗有效量向患者施用。“治疗有效量”是指足以提供给定疾病或病症的临床表现的一些改善的量。对特定治疗目的有效的量将取决于疾病或损伤的严重程度以及受试者的体重和一般状态。应理解,适当的剂量可以使用常规实验,通过构建数值矩阵并测试矩阵中的不同点来确定,所有这些都在训练有素的医师或临床科学家的普通技能范围内。

[0057] 术语“组合”或“药物组合”是指除了另一种疗法之外还施用一种疗法。因而,“与...组合”包括同时(例如,并行)施用和以任何次序连续施用。借助于非限制性实例,可在向患者施用第二疗法(例如药剂,诸如γδT细胞)之前(例如1分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周、8周、9周、10周、11周或12周)、并行或之后(例如1分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、

11周或12周或更长时间)施用第一疗法(例如剂,诸如抗CD19抗体)。

[0058] 如本文所用的术语“γδT细胞”是指在其表面上表达由一个γ链和一个δ链构成的独特T细胞受体(TCR)γδTCR的T细胞亚群。术语“γδT细胞”具体包括γδT细胞的所有亚群,包括但不限于vδ1、vδ2、vδ3和Vγ9Vδ2T细胞,以及初始、效应记忆、中央记忆和终末分化的γδT细胞。作为另一实例,术语“γδT细胞”包括vδ4、vδ5、vδ7和vδ8T细胞。

[0059] 如本文所用,术语“T淋巴细胞”或“T细胞”是指表达CD3(CD3+)和T细胞受体(TCR+)的免疫细胞。T细胞在细胞介导的免疫中发挥核心作用。

[0060] 如本文所用,术语“TCR”或“T细胞受体”是指形成α-β或γ-δ受体的二聚异源细胞表面信号传导蛋白。αβTCR识别由MHC分子呈递的抗原,而γδTCR识别不依赖于MHC呈递的抗原。

[0061] 如本文所用,术语“细胞群”是指多个细胞。细胞群可以是例如混合细胞群,其来源于外周血样品、脐带血样品、肿瘤、干细胞前体、肿瘤活检、组织、淋巴、或受试者的直接接触外部环境的上皮部位,或来源于干前体细胞。可替代地,混合细胞群可来源于哺乳动物细胞的体外培养物,由外周血样品、脐带血样品、肿瘤、干细胞前体、肿瘤活检、组织、淋巴、或受试者的直接接触外部环境的上皮部位建立,或来源于干前体细胞。

[0062] “富集的”细胞群或制品是指来源于起始混合细胞群的细胞群,其含有的特定细胞类型的百分比比起始群中所述细胞类型的百分比更大。例如,可对于特定的γδT细胞群富集起始混合细胞群。在所有实施方案中,富集的γδT细胞群含有较低百分比的αβT细胞群。

[0063] 如本文所用的“扩增的”意指富集的制品中所需细胞类型或靶细胞类型(例如,δ1、δ2T细胞和/或Vγ9Vδ2T细胞)的数量高于初始或起始细胞群中的数量。

## 具体实施方案

[0064] 抗CD19抗体

[0065] CD19抗体在非特异性B细胞淋巴瘤中的使用在WO2007076950(US2007154473)中进行了讨论,两者均以引用的方式并入。CD19抗体在CLL、NHL和ALL中的使用在Scheuermann等,CD19 Antigen in Leukemia and Lymphoma Diagnosis and Immunotherapy,Leukemia and Lymphoma,第18卷,385-397(1995)中描述,所述文献以引用的方式整体并入。

[0066] 对CD19具有特异性的其他抗体在WO2005012493(US7109304)、WO2010053716(US12/266,999)(Immunomedics);WO2007002223(US US8097703)(Medarex);WO2008022152(12/377,251)和WO2008150494(Xencor)、WO2008031056(US11/852,106)(Medimmune);WO 2007076950(US 11/648,505)(Merck Patent GmbH);WO 2009/052431(US12/253,895)(Seattle Genetics);以及WO2010095031(12/710,442)(Glenmark Pharmaceuticals)、WO2012010562和WO2012010561(International Drug Development)、WO2011147834(Roche Glycart)和WO2012156455(Sanofi)中描述,所述专利均以引用的方式整体并入。

[0067] 药物组合物包含活性剂,例如用于人类治疗用途的抗体。药物组合物还可以包含药学上可接受的载体或赋形剂。

[0068] 向患者施用的根据本公开的药物组合物中包含的抗体或抗体片段的剂量可以根据患者的年龄和体型、症状、病状、施用途径等而变化。剂量通常根据体重或体表面积、年龄或根据个体进行计算。根据病状的严重程度,可以调整治疗的频率和持续时间。可以凭经验确定用于施用包含对CD19具有特异性的抗体或抗体片段的药物组合物的有效剂量和时间

表;例如,可以通过定期评估来监测患者进展,并相应地调整剂量。此外,可以使用本领域众所周知的方法(例如,Mordenti等人,1991,Pharmaceut.Res.8:1351)进行剂量的种间缩放。

[0069] 药物组合物可以包括用于静脉内、皮下、皮内和肌肉内注射等的剂型。这些可注射制品可以通过已知方法制备。例如,可注射制品可以例如通过将上述抗体或其盐溶解、悬浮或乳化在常规用于注射的无菌水性介质或油性介质中来制备。可以在本公开的上下文中使用的包含对CD19具有特异性的抗体或抗体片段的示例性药物组合物公开于例如WO2008/022152或WO2018/002031中。

[0070] 在某些施用方式中,例如静脉内施用,优选根据患者的体重施用药物。在其他施用方式中,例如皮下施用,优选以单一(flat)、固定的剂量施用药物。本领域技术人员知道一种施用方式中的哪个剂量等同于另一种施用方式中的另一个剂量。在合理决定以所需形式和所需、有效剂量施用药物时,通常会考虑具体药物的药效动力学。

[0071] 根据本公开施用的抗体以治疗有效量向患者施用。“治疗有效量”是指足以治愈、缓解或部分遏制给定疾病或病症(即,NHL)及其并发症的临床表现的量。在某些实施方案中,本公开的抗体以9mg/kg施用。在替代实施方案中,本公开的抗体以12mg/kg施用。在又其他实施方案中,本公开的抗体以15mg/kg或更多施用。

[0072] 本公开的抗体可以在不同的时间点施用并且治疗周期可以具有不同的长度。抗体可以每天一次、每隔一天一次、每周三次、每周一次或每两周一次施用。抗体也可以在至少四周、至少五周、至少六周、至少七周、至少八周、至少九周、至少十周、至少十一周或至少十二周内施用。在本公开的某些实施方案中,抗体在至少八周内至少每周一次施用。

[0073] 从血液中分离并扩增γδT细胞

[0074] 在一些实施方案中,本公开的γδT细胞来源于受试者的血液(例如,外周血)。例如,γδT细胞可来源于血液来源的Vδ2细胞或血液来源的Vδ1细胞。在另一个实例中,γδT细胞可来源于血液来源的Vγ9Vδ2T细胞。Vγ9Vδ2T细胞可从外周血中分离并进一步离体培养。在IL-2和唑来膦酸(ZOL)的存在下,可优化Vγ9Vδ2T细胞的培养。从血液中分离并扩增Vγ9Vδ2T细胞的方法包括例如在Hoeres等人2018中描述的那些方法或以下流程:

[0075] 来源于外周血的Vγ9Vδ2T细胞的离体扩增:

[0076] 从供体处收集外周血。按照制造商的说明,使用Lymphoprep™(Axis Shield,Norway)通过密度梯度离心立即分离PBMC。将PBMC在补充有OpTmizer™ T细胞扩增补充剂(1:38稀释)(Life Technologies,Australia)、10%热灭活的FBS(HI-FBS)、100IU/mL青霉素、100μg/mL链霉素、2mmol L-谷氨酰胺(Life Technologies,Australia)、25mM HEPES、0.1%β-巯基乙醇(Sigma-Aldrich,USA)、100IU/mL重组人白细胞介素2(rhIL-2)(BD Pharmingen,USA)的CTS™ OpTmizer™ T细胞扩增SFM(Life Technologies,Australia)中重悬至$1\times10^6$/mL并用5μM ZOL活化,并且接种到6孔板中。使细胞培养密度维持在$1\text{-}2\times10^6$个细胞/mL,并且每2-3天补充一次仅含有100IU/mL rhIL-2(不含ZOL)的新鲜培养基。在培养7-8天后,收集并如下所述富集细胞。

[0077] Vγ9Vδ2T细胞的富集:

[0078] 用TCRγ/δ+T细胞分离试剂盒(人)(Miltenyi Biotec,Germany)使用负选择MACS富集离体扩增的Vγ9Vδ2T细胞。使用台盼蓝排除法评估富集后的细胞活力和总细胞数。使用PeCy5缀合的抗CD3(克隆UCHT1)(eBioscience,San Diego,CA,USA)和来自BD

Biosciences(San Jose,CA,USA)的FITC缀合的抗Vγ9TCR通过流式细胞术来确定Vγ9Vδ2T细胞的百分比。通过使用前向散射/侧向散射对淋巴细胞群进行门控,然后在Vγ9+CD3+双阳性细胞上识别Vγ9Vδ2T细胞的百分比。

[0079] 在一些实施方案中,外周血单核细胞(PBMC)可根据本领域已知的任何合适的方法从受试者获得。PBMC可在氨基双膦酸盐(例如,唑来膦酸)、合成磷酸抗原(例如,溴醇焦磷酸;BrHPP)、2M3B1PP或2-甲基-3-丁烯基-1-焦磷酸盐的存在下在IL-2的存在下培养一至两周以产生富集的Vδ2细胞群。可替代地,固定化的抗TCRγδ(例如,泛TCRγδ)可以在IL-2的存在下诱导从PBMC群中优先扩增Vδ2细胞,例如持续大约14天。在一些实施方案中,在IL-2和IL-4的存在下培养固定化的抗CD3抗体(例如,OKT3)后,可以实现从PBMC中优先扩增Vδ2细胞。在一些实施方案中,将上述培养物维持约七天,然后在可溶性抗CD3、IL-2和IL-4中继代培养。可替代地,人工抗原呈递细胞可用于促进γδT细胞诸如Vδ2细胞的优先扩增。例如,在经辐照的aAPC、IL-2和/或IL-21的存在下培养的PBMC来源的γδT细胞可以扩增以产生γδT细胞群,其包括高比例的Vδ2细胞、中等比例的Vδ1细胞和一些双阴性细胞。在上述方法的一些实施方案中,PBMC可以是预富集的或后富集的(例如,通过用TCRyd-特异性剂的正选择或TCRa-特异性剂的负选择)。用于扩增γδT细胞诸如Vδ2细胞的此类方法和其他合适的方法详述于Deniger等人,Frontiers in Immunology 2014,5,636:1-10中,其以引用的方式整体并入本文。此外,以引用的方式整体并入本文的Almeida等人(Clinical Cancer Research 2016,22,23;5795-5805),提供了获得本文所述的可被工程改造以表达异源靶向构建体的Vδ1T细胞群的合适方法。例如,在一些实施方案中,使用磁珠分选预富集PBMC,这可以产生大于90%的γδT细胞。

[0080] 从非造血组织中分离并扩增非造血组织驻留的γδT细胞

[0081] 如本文所述获得的非造血组织驻留的γδT细胞表现出良好的肿瘤穿透和保留能力。用于分离并扩增非造血组织驻留的γδT细胞的更详细的方法可见于例如,GB申请号1707048.3(WO2018/202808)和国际专利公开号WO 2017/072367(美国公开号2018/0312808)中,所述专利中的每一个以引用的方式整体并入本文。

[0082] 非造血组织驻留的γδT细胞(例如,皮肤来源的γδT细胞和/或非Vδ2T细胞,例如,Vδ1T细胞和/或DN T细胞)可分离自可从患者体内取出的任何人或非人动物非造血组织,以获得适合用于根据本发明的方法进行工程改造的细胞。在一些实施方案中,γδT细胞从其中来源并扩增的非造血组织是皮肤(例如,人皮肤),所述皮肤可通过本领域已知的方法获得。在一些实施方案中,皮肤是通过穿刺活检获得的。可替代地,本文提供的γδT细胞的分离和扩增方法可应用于胃肠道(例如,结肠)、乳腺、肺、前列腺、肝、脾和胰腺。γδT细胞也可驻留于人癌症组织中,例如乳腺或前列腺肿瘤。在一些实施方案中,γδT细胞可来自人癌组织(例如,实体瘤组织)。在其他实施方案中,γδT细胞可来自除人癌组织外的非造血组织(例如,没有大量肿瘤细胞的组织)。例如,γδT细胞可来自与附近或邻近癌组织分开的皮肤(例如,健康皮肤)区域。

[0083] 血液中占优势的γδT细胞主要是Vδ2T细胞,而非造血组织中占优势的γδT细胞主要是Vδ1T细胞,使得Vδ1T细胞占非造血组织驻留的γδT细胞群的约70%-80%。然而,在非造血组织中也发现了一些Vδ2T细胞,例如在肠道中,它们可占γδT细胞的约10%-20%。一些驻留在非造血组织中的γδT细胞既不表达Vδ1TCR也不表达Vδ2TCR,因此我们称它们为双

阴性(DN)γδT细胞。这些DNγδT细胞可能是大多数表达Vδ3的T细胞与少数表达Vδ5的T细胞。因此,通常驻留在非造血组织中并通过本发明的方法扩增的γδT细胞优选是非Vδ2T细胞,例如Vδ1T细胞,其中包括更少量的DNγδT细胞。

[0084] 一般而言,非造血组织驻留的γδT细胞能够在去除与基质细胞(例如,皮肤成纤维细胞)的物理接触后自发扩增。因此,上述基于支架的培养方法可用于诱导此种分离,从而导致γδT细胞的去抑制以触发扩增。因此,在一些实施方案中,在扩增步骤期间不存在显著的TCR通路活化(例如,培养物中不包含外源TCR通路活化剂)。此外,本发明提供了扩增非造血组织驻留的γδT细胞的方法,其中所述方法不涉及与饲养细胞、肿瘤细胞和/或抗原呈递细胞接触。

[0085] 治疗方法

[0086] 可施用如本文所述的含有非工程改造的富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物的药物组合物用于预防性和/或治疗性治疗。在治疗性应用中,可以足以治愈或至少部分遏制疾病或病状的症状的量向已经罹患所述疾病或病状的患者施用所述组合物。也可施用非工程改造的富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物,以减少发展、感染或恶化病状的可能性。用于治疗性用途的非工程改造的富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物的有效量可基于疾病或病状的严重程度和病程、先前的疗法、受试者的健康状况、体重和/或对药物的反应、和/或治疗医师的判断而变化。

[0087] 本公开的非工程改造的富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物可用于治疗需要治疗病状的受试者。

[0088] 用本公开的富集的γδT细胞群以及对CD19具有特异性的抗体或抗体片段治疗受试者的病状的方法可包括向受试者施用治疗有效量的非工程改造的富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物。本公开的富集的γδT细胞群和/或其混合物可以不同的方案(例如,时间、浓度、剂量、治疗之间的间隔和/或配方)施用。在接受本公开的富集的γδT细胞群和/或其混合物之前,受试者也可用例如化疗、放射或两者的组合进行预调理。作为治疗的一部分,非工程改造的富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物可在第一方案中施用于受试者,并且可监测受试者以确定第一方案的治疗是否达到给定水平的治疗功效。

[0089] 本公开的富集的γδT细胞群(即非工程改造的或工程改造的)和/或其混合物可用于治疗各种病状。在一些情况下,本公开的非工程改造的富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物可用于治疗癌症,包括实体瘤和血液学癌症。

[0090] 施用方法

[0091] 本发明的一种或多种非工程改造的富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物可以任何顺序或同时施用于受试者。如果同时,本发明的多个非工程改造的富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物可以单一的统一的形式提供,诸如静脉内注射;或者以多种形式提供,例如作为多次静脉输注、皮下注射或丸剂。本发明的非工程改造的富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物可包装在一起,或者分开包装在单个包装或多个包装中。本发明的一种或所有非工程改造的富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物可以多个剂量给予。

如果不同时，多个剂量之间的时间可变化为多至约一周、一个月、两个月、三个月、四个月、五个月、六个月或约一年。在一些情况下，本发明的非工程改造的富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物可在施用于受试者后在受试者身体中体内扩增。非工程改造富集的γδT细胞群、工程改造富集的γδT细胞群和/或其混合物可被冷冻以提供细胞，用于用相同的细胞制品进行多次治疗。本公开的非工程改造富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物以及包含它们的药物组合物，可被包装为药盒。药盒可包括关于使用非工程改造的富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物以及包含它们的组合物的说明(例如，书面说明)。

[0092] 在一些情况下，治疗癌症的方法包括向受试者施用治疗有效量的非工程改造富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物，其中所述施用治疗癌症。在一些实施方案中，施用治疗有效量的非工程改造的富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物至少约10秒、30秒、1分钟、10分钟、30分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、δ小时、12小时、24小时、2天、3天、4天、5天、6天、1周、2周、3周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月或1年。在一些实施方案中，施用治疗有效量的非工程改造的富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物至少一周。在一些实施方案中，施用治疗有效量的非工程改造的富集的γδT细胞群、工程改造的富集的γδT细胞群和/或其混合物至少两周。

[0093] 实施方案

[0094] 本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合，其包含对CD19具有特异性的抗体或抗体片段和γδT细胞。

[0095] 在一个方面，本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合，其包含对CD19具有特异性的抗体和γδT细胞，其中所述γδT细胞包括富集的γδT细胞群。在一个实施方案中，富集的γδT细胞群包含非工程改造的γδT细胞或工程改造的γδT细胞和/或其混合物。在另一实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合，其包含对CD19具有特异性的抗体和富集的γδT细胞群。

[0096] 在另一个方面，本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合，其包含对CD19具有特异性的抗体和γδT细胞，其中所述γδT细胞包括非工程改造的γδT细胞或工程改造的γδT细胞和/或其混合物。在另一个实施方案中，γδT细胞是非工程改造的γδT细胞群。在又一实施方案中，γδT细胞是工程改造的γδT细胞群。

[0097] 在一个方面，本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合，其包含对CD19具有特异性的抗体和γδT细胞，其中所述γδT细胞分离自外周血、肿瘤组织或非造血组织。在一个实施方案中，γδT细胞分离自外周血。在另一个实施方案中，γδT细胞是分离自外周血的γδT细胞群。

[0098] 在一个方面，本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合，其包含对CD19具有特异性的抗体和γδT细胞，其中所述癌症是血液学癌症。在一个实施方案中，血液学癌症是慢性淋巴细胞白血病(CLL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、小淋巴细胞淋巴瘤(SLL)或急性淋巴母细胞白血病(ALL)。在另一个实施方案中，血液学癌症是非霍奇金淋巴瘤(NHL)。在另一实施方案中，非霍奇金淋巴瘤选自由以下组成的组：滤泡性淋巴瘤、小淋巴细胞淋巴瘤、黏膜相关淋巴组织、边缘区淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤和套细胞淋巴瘤。

[0099] 在某些实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合，其包含对CD19具有特异性的抗体或抗体片段和γδT细胞，其中所述对CD19具有特异性的抗体或抗体片段以9mg/kg施用。在替代实施方案中，对CD19具有特异性的抗体或抗体片段以12mg/kg施用。在又其他实施方案中，以15mg/kg或更多施用。

[0100] 在实施方案中，对CD19具有特异性的抗体或抗体片段具有细胞毒性活性。在实施方案中，对CD19具有特异性的抗体或抗体片段包含具有诱导ADCC的活性的恒定区。在实施方案中，对CD19具有特异性的抗体诱导ADCC。

[0101] 在某些实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合，其包含对CD19具有特异性的抗体或抗体片段和γδT细胞，其中所述组合的组分，即对CD19具有特异性的抗体或抗体片段和γδT细胞分开施用。在一个实施方案中，在施用对CD19具有特异性的抗体或抗体片段之前施用γδT细胞。在一个实施方案中，在施用γδT细胞之前施用对CD19具有特异性的抗体或抗体片段。在实施方案中，所述组合的组分在其中两种组分(药物)在患者体内同时具有活性的时间施用。“协同作用”暗示两种药物同时在患者体内具有活性。在实施方案中，所述组合的组分一起、同时、分开或随后物理地或及时地施用。在实施方案中，所述组合的组分同时施用。

[0102] 在某些实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合，其包含对CD19具有特异性的抗体或抗体片段和γδT细胞，其中抗CD19抗体每周一次、每两周一次或每月一次施用。

[0103] 在某些实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合，其包含对CD19具有特异性的抗体或抗体片段和γδT细胞，其中所述对CD19具有特异性的抗体或抗体片段以12mg/kg的浓度施用。

[0104] 在某些实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合，其包含对CD19具有特异性的抗体或抗体片段和γδT细胞，其中所述对CD19具有特异性的抗体或抗体片段在第一次施用的第1天后每周一次、每两周一次或每月一次施用，并且其中BCL-2抑制剂在第8天第一次施用。在另一实施方案中，抗CD19抗体或其抗体片段在第一次施用的第1天后在前3个月内每周一次施用，并且在至少接下来的3个月内每两周一次施用。

[0105] 在一个方面，本公开提供了一种用于治疗血液学癌症患者的抗CD19抗体或其抗体片段，其中所述血液学癌症患者患有非霍奇金淋巴瘤并且其中所述抗CD19抗体或其抗体片段在与γδT细胞组合施用。

[0106] 在一个方面，本公开提供了一种用于治疗血液学癌症患者的抗CD19抗体或其抗体片段，其中所述血液学癌症患者患有非霍奇金淋巴瘤并且其中所述抗CD19抗体或其抗体片段在与γδT细胞组合施用。在一个实施方案中，所述血液学癌症患者患有非霍奇金淋巴瘤，其中所述非霍奇金淋巴瘤选自由以下组成的组：滤泡性淋巴瘤、小淋巴细胞淋巴瘤、黏膜相关淋巴组织、边缘区淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤和套细胞淋巴瘤。

[0107] 在一个实施方案中，与γδT细胞组合用于治疗血液学癌症患者的抗CD19抗体或其抗体片段包括包含序列SYVMH(SEQ ID NO:1)的HCDR1区，包含序列NPYNDG(SEQ ID NO:2)的HCDR2区，包含序列GTYYYGTRVFDY(SEQ ID NO:3)的HCDR3区，包含序列RSSKSLQNVNGNTYLY(SEQ ID NO:4)的LCDR1区，包含序列RMSNLNS(SEQ ID NO:5)的LCDR2区，以及包含序列MQHLEYPIT(SEQ ID NO:6)的LCDR3区。

[0108] 在另一实施方案中,与γδT细胞组合用于治疗血液学癌症患者的抗CD19抗体或其抗体片段包含序列EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:7)的可变重链和序列DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK(SEQ ID NO:8)的可变轻链。

[0109] 在本公开的另一个实施方案中,抗CD19抗体或其抗体片段是人、人源化或嵌合抗体或抗体片段。在本公开的另一个实施方案中,抗CD19抗体或其抗体片段属于IgG同种型。在另一个实施方案中,抗体或抗体片段是IgG1、IgG2或IgG1/IgG2嵌合的。在本公开的另一个实施方案中,抗CD19抗体的同种型被工程改造以增强抗体依赖性细胞介导的细胞毒性。在另一个实施方案中,抗CD19抗体的重链恒定区包含氨基酸239D和332E,其中Fc编号是根据Kabat中的EU索引。在另一个实施方案中,抗体是IgG1、IgG2或IgG1/IgG2,并且抗CD19抗体的嵌合重链恒定区包含氨基酸239D和332E,其中Fc编号是根据Kabat中的EU索引。

[0110] 在另一实施方案中,与γδT细胞组合用于治疗血液学癌症患者的抗CD19抗体包含具有序列EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:11)的重链和具有序列DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:12)的轻链

[0111] 在一个实施方案中,与γδT细胞组合用于治疗血液学癌症患者的抗CD19抗体或其抗体片段包含序列EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:7)的可变重链和序列DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK(SEQ ID NO:8)的可变轻链

[0112] 或与SEQ ID NO:7的可变重链和与SEQ ID NO:8的可变轻链具有至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的可变重链和可变轻链。

[0113] 在一个实施方案中,与γδT细胞组合用于治疗血液学癌症患者的抗CD19抗体或其抗体片段包含序列EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:7)的可变重链和序列DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK(SEQ ID NO:8)的可变轻链

[0114] 或与SEQ ID NO:7的可变重链和与SEQ ID NO:8的可变轻链具有至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的可变重链和可变轻链,其中抗CD19抗体包括包含序列SYVMH(SEQ ID NO:1)的HCDR1区,包含序列NPYNDG(SEQ ID NO:2)的HCDR2区,包含序列GTYYYGTRVFDY(SEQ ID NO:3)的HCDR3区,包含序列

RSSKSLQNVNGNTYLY(SEQ ID NO:4)的LCDR1区,包含序列RMSNLNS(SEQ ID NO:5)的LCDR2区,以及包含序列MQHLEYPIT(SEQ ID NO:6)的LCDR3区。在另一个实施方案中,抗CD19抗体的重链区包含氨基酸239D和332E,其中Fc编号是根据Kabat中的EU索引。

[0115] 在另一实施方案中,与γδT细胞组合用于治疗血液学癌症患者的抗CD19抗体或其抗体片段包含具有序列EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYND GTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:11)的重链和具有序列DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQN VNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGT KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:12)的轻链或与SEQ ID NO:7的重链和与SEQ ID NO:8的轻链具有至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的重链和轻链。

[0116] 在另一实施方案中,与γδT细胞组合用于治疗血液学癌症患者的抗CD19抗体或其抗体片段包含具有序列EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYND GTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:11)的重链和具有序列DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQN VNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGT KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:12)的轻链或与SEQ ID NO:7的重链和与SEQ ID NO:8的轻链具有至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的重链和轻链,并且其中抗CD19抗体包括包含序列SYVMH(SEQ ID NO:1)的HCDR1区,包含序列NPYNDG(SEQ ID NO:2)的HCDR2区,包含序列GTYYYGTRVFDY(SEQ ID NO:3)的HCDR3区,包含序列RSSKSLQNVNGNTYLY(SEQ ID NO:4)的LCDR1区,包含序列RMSNLNS(SEQ ID NO:5)的LCDR2区,以及包含序列MQHLEYPIT(SEQ ID NO:6)的LCDR3区。在另一个实施方案中,抗CD19抗体的重链区包含氨基酸239D和332E,其中Fc编号是根据Kabat中的EU索引。

[0117] 在一个实施方案中,本公开提供了一种抗CD19抗体或其抗体片段,其中所述抗CD19抗体或其抗体片段以12mg/kg的浓度施用。

[0118] 在另一实施方案中,抗CD19抗体或其抗体片段每周一次、每两周一次或每月一次施用。在另一实施方案中,抗CD19抗体或其抗体片段在前3个月内每周一次施用并且在至少接下来的3个月内每两周一次施用。在另一实施方案中,抗CD19抗体或其抗体片段在前3个

月内每周一次施用。在另一实施方案中，抗CD19抗体或其抗体片段在前3个月内每周一次施用并且在至少接下来的3个月内每两周一次施用。在另一个实施方案中，抗CD19抗体或其抗体片段在前3个月每周一次施用、在接下来的3个月内每两周一次施用并且之后每月一次施用。在又一实施方案中，抗CD19抗体或其抗体片段在前3个月每周一次施用、在接下来的3个月内每两周一次施用并且之后每月一次施用。

[0119] 本公开提供了一种用于治疗癌症的对CD19具有特异性的抗体或抗体片段，其中所述对CD19具有特异性的抗体或抗体片段与γδT细胞组合施用。在一个实施方案中，γδT细胞分离自外周血、肿瘤组织或非造血组织。在一个实施方案中，γδT细胞分离自外周血。在另一个实施方案中，γδT细胞是分离自外周血的γδT细胞群。在另一个实施方案中，γδT细胞是分离自外周血并在IL-2和ZOL的存在下培养的γδT细胞群。在另一个实例中，γδT细胞是血液来源的Vγ9Vδ2T细胞群。

[0120] 本公开提供了一种用于治疗癌症的对CD19具有特异性的抗体或抗体片段，其中所述对CD19具有特异性的抗体或抗体片段与γδT细胞组合施用，其中施用步骤通过以同时、顺序或相反顺序的方式组合施用对CD19具有特异性的抗体和γδT细胞来进行。

[0121] 在另一个实施方案中，本公开提供了包含对CD19具有特异性的抗体或抗体片段和γδT细胞的药物组合在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

[0122] 在另一个实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的方法，所述方法包括向受试者组合施用对CD19具有特异性的抗体和γδT细胞的步骤。在另一个实施方案中，本公开提供了一种用于治疗癌症的方法，所述方法包括向受试者组合施用对CD19具有特异性的抗体和γδT细胞的步骤，其中所述施用步骤通过以同时、顺序或相反顺序的方式组合施用对CD19具有特异性的抗体和γδT细胞来进行。

[0123] 本公开提供了一种用于治疗癌症的药物组合，其包含对CD19具有特异性的抗体或抗体片段和γδT细胞，其中所述γδT细胞以治疗有效量施用。在一些实施方案中，通过上述任一方法获得的治疗有效量的淋巴细胞(例如，γδT细胞)可以治疗有效量施用于受试者(例如，用于治疗癌症，诸如血液学癌症)。在一些情况下，淋巴细胞(例如，γδT细胞)的治疗有效量小于$10x10^{12}$个细胞/剂(例如，小于$9x10^{12}$个细胞/剂、小于$8x10^{12}$个细胞/剂、小于$7x10^{12}$个细胞/剂、小于$6x10^{12}$个细胞/剂、小于$5x10^{12}$个细胞/剂、小于$4x10^{12}$个细胞/剂、小于$3x10^{12}$个细胞/剂、小于$2x10^{12}$个细胞/剂、小于$1x10^{12}$个细胞/剂、小于$9x10^{11}$个细胞/剂、小于$8x10^{11}$个细胞/剂、小于$7x10^{11}$个细胞/剂、小于$6x10^{11}$个细胞/剂、小于$5x10^{11}$个细胞/剂、小于$4x10^{11}$个细胞/剂、小于$3x10^{11}$个细胞/剂、小于$2x10^{11}$个细胞/剂、小于$1x10^{11}$个细胞/剂、小于$9x10^{10}$个细胞/剂、小于$7.5x10^{10}$个细胞/剂、小于$5x10^{10}$个细胞/剂、小于$2.5x10^{10}$个细胞/剂、小于$1x10^{10}$个细胞/剂、小于$7.5x10^{9}$个细胞/剂、小于$5x10^{9}$个细胞/剂、小于$2.5x10^{9}$个细胞/剂、小于$1x10^{9}$个细胞/剂、小于$7.5x10^{8}$个细胞/剂、小于$5x10^{8}$个细胞/剂、小于$2.5x10^{8}$个细胞/剂、小于$1x10^{8}$个细胞/剂、小于$7.5x10^{7}$个细胞/剂、小于$5x10^{7}$个细胞/剂、小于$2.5x10^{7}$个细胞/剂、小于$1x10^{7}$个细胞/剂、小于$7.5x10^{6}$个细胞/剂、少于$5x10^{6}$个细胞/剂、小于$2.5x10^{6}$个细胞/剂、小于$1x10^{6}$个细胞/剂、小于$7.5x10^{5}$个细胞/剂、小于$5x10^{5}$个细胞/剂、小于$2.5x10^{5}$个细胞/剂或小于$1x10^{5}$个细胞/剂)。

[0124] 在一些情况下，γδT细胞(例如，皮肤来源的γδT细胞、血液来源γδT细胞)的治疗有效量在治疗过程中小于$10x10^{12}$个细胞(例如，在治疗过程中小于$9x10^{12}$个细胞、小于

$8x10^{12}$个细胞、小于$7x10^{12}$个细胞、小于$6x10^{12}$个细胞、小于$5x10^{12}$个细胞、小于$4x10^{12}$个细胞、小于$3x10^{12}$个细胞、小于$2x10^{12}$个细胞、小于$1x10^{12}$个细胞、小于$9x10^{11}$个细胞、小于$8x10^{11}$个细胞、小于$7x10^{11}$个细胞、小于$6x10^{11}$个细胞、小于$5x10^{11}$个细胞、小于$4x10^{11}$个细胞、小于$3x10^{11}$个细胞、小于$2x10^{11}$个细胞、小于$1x10^{11}$个细胞、小于$9x10^{10}$个细胞、小于$7.5x10^{10}$个细胞、小于$5x10^{10}$个细胞、小于$2.5x10^{10}$个细胞、小于$1x10^{10}$个细胞、小于$7.5x10^{9}$个细胞、小于$5x10^{9}$个细胞、小于$2.5x10^{9}$个细胞、小于$1x10^{9}$个细胞、小于$7.5x10^{8}$个细胞、小于$5x10^{8}$个细胞、小于$2.5x10^{8}$个细胞、小于$1x10^{8}$个细胞、小于$7.5x10^{7}$个细胞、小于$5x10^{7}$个细胞、小于$2.5x10^{7}$个细胞、小于$1x10^{7}$个细胞、小于$7.5x10^{6}$个细胞、少于$5x10^{6}$个细胞、小于$2.5x10^{6}$个细胞、小于$1x10^{6}$个细胞、小于$7.5x10^{5}$个细胞、小于$5x10^{5}$个细胞、小于$2.5x10^{5}$个细胞或小于$1x10^{5}$个细胞)。

[0125] 在一些实施方案中,如本文所述的γδT细胞的剂量包括约$1x10^{6}$、$1.1x10^{6}$、$2x10^{6}$、$3.6x10^{6}$、$5x10^{6}$、$1x10^{7}$、$1.8x10^{7}$、$2x10^{7}$、$5x10^{7}$、$1x10^{8}$、$2x10^{8}$或$5x10^{8}$个细胞/kg。在一些实施方案中,如本文所述的γδT细胞的剂量包括至少$1x10^{6}$、$1.1x10^{6}$、$2x10^{6}$、$3.6x10^{6}$、$5x10^{6}$、$1x10^{7}$、$1.8x10^{7}$、$2x10^{7}$、$5x10^{7}$、$1x10^{8}$、$2x10^{8}$或$5x10^{8}$个细胞/kg。在一些实施方案中,如本文所述的γδT细胞的剂量包括至多$1x10^{6}$、$1.1x10^{6}$、$2x10^{6}$、$3.6x10^{6}$、$5x10^{6}$、$1x10^{7}$、$1.8x10^{7}$、$2x10^{7}$、$5x10^{7}$、$1x10^{8}$、$2x10^{8}$或$5x10^{8}$个细胞/kg。

[0126] 组合

[0127] 本公开提供了一种用于治疗血液学癌症的与γδT细胞组合的抗CD19抗体或其抗体片段,其中所述抗CD19抗体或其抗体片段和γδT细胞与一种或多种药剂组合施用。在本公开的一个实施方案中,所述抗CD19抗体或其抗体片段和γδT细胞与一种药剂组合施用。在本公开的另一个实施方案中,所述抗CD19抗体或其抗体片段和γδT细胞与一种或多种另外的药剂或一种另外的药剂组合施用。在一个方面,所述药剂是另外的药剂。在本公开的一个实施方案中,所述药剂是生物剂或化疗剂。在本公开的另一个实施方案中,所述药剂是治疗性抗体或抗体片段、氮芥、嘌呤类似物、沙利度胺(thalidomide)类似物、磷酸肌醇3-激酶抑制剂、BCL-2抑制剂或布鲁顿酪氨酸激酶(BTK)抑制剂。在另一实施方案中,所述药剂是利妥昔单抗、R-CHOP、环磷酰胺、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、乌莫司汀(uramustine)、异环磷酰胺(ifosfamide)、美法仑(melphalan)、苯达莫司汀(bendamustine)、巯基嘌呤(mercaptopurine)、硫唑嘌呤(azathioprine)、硫鸟嘌呤(thioguanine)、氟达拉滨、沙利度胺、来那度胺、泊马度胺(pomalidomide)、艾代拉里斯、杜维利西(duvelisib)、库潘利西(copanlisib)、依鲁替尼或维奈托克。

[0128] 在另一个实施方案中,本公开提供了用于治疗血液学癌症的抗CD19抗体或其抗体片段和γδT细胞,其中所述抗CD19抗体或其抗体片段和γδT细胞与以下组合施用:利妥昔单抗、R-CHOP、环磷酰胺、苯丁酸氮芥、乌莫司汀、异环磷酰胺、美法仑、苯达莫司汀、巯基嘌呤、硫唑嘌呤、硫鸟嘌呤、氟达拉滨、沙利度胺、来那度胺、泊马度胺、艾代拉里斯、杜维利西、库潘利西、依鲁替尼或维奈托克。

[0129] 抗体序列

[0130] 表1:

[0131]

| | SEQ ID NO: | 氨基酸 |
|---|---|---|
| HCDR1 | SEQ ID NO: 1 | SYVMH |
| HCDR2 | SEQ ID NO: 2 | NPYNDG |
| HCDR3 | SEQ ID NO: 3 | GTYYYGTRVFDY |

[0132]

| | SEQ ID NO: | 氨基酸 |
|---|---|---|
| LCDR1 | SEQ ID NO: 4 | RSSKSLQNVNGNTYLY |
| LCDR2 | SEQ ID NO: 5 | RMSNLNS |
| LCDR3 | SEQ ID NO: 6 | MQHLEYPIT |
| VH | SEQ ID NO: 7 | EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGY TFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINP YNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAY MELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTR VFDYWG QGTLVTVSS |
| VL | SEQ ID NO: 8 | DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKS LQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR MSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLE PEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK |
| 重链恒定结构域 | SEQ ID NO: 9 | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTV VHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK |
| 轻链恒定结构域 | SEQ ID NO: 10 | RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| 全长重链 | SEQ ID NO: 11 | EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGY TFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINP YNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAY MELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTR VFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP DVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 全长轻链 | SEQ ID NO: 12 | DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKS LQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR MSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSLE |

[0133]

| | SEQ ID NO: | 氨基酸 |
|---|---|---|
| | | PEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK<br>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL<br>LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE<br>SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH<br>KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |

[0134] 工作实施例

[0135] 实施例1:测试细胞系上CD19和CD20表达的表征

[0136] 进行本研究以评价由来自不同供体的γδT细胞介导的Fc增强的抗CD19抗体他法西他单抗(MOR00208)对淋巴瘤和白血病细胞系以及原发性患者来源的CLL(慢性淋巴细胞白血病)、MCL(套细胞淋巴瘤)和B-ALL(急性淋巴母细胞白血病)的肿瘤材料的细胞毒性活性。此外,评价了在γδT细胞的存在下,他法西他单抗的抗体依赖性细胞介导的细胞毒活性活性。

[0137] 在抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)测定中使用不同浓度的他法西他单抗和IgG1阴性对照抗体评价了不同的淋巴瘤和白血病细胞系以及来自淋巴瘤和白血病患者的患者来源的原发性肿瘤细胞。γδT细胞分离自七个不同的供体,并以不同的效应物与靶细胞比率(E:T比率为0.7:1、2.2:1、6.7:1和20:1)用作效应细胞。

[0138] 材料、方法和数据分析

[0139] γδT细胞:

[0140] γδT细胞表达Vγ和Vδ可变链作为T细胞受体(TCR)复合物的一部分,所述复合物在结构和功能上与αβT细胞的主要组织相容性复合物(MHC)结合TCR不同。尽管存在不受限制的和高度组合的多样性,Vδ2链优先与Vγ9链配对。Vγ9Vδ2T细胞占外周血T细胞的大约5%,代表此区室中的主要γδT细胞亚群。来自7个不同供体的γδT细胞被分离、刺激和应用,如下所列:

[0141]

| 供体 | 特征 | 测定 |
|---|---|---|
| 1 | 用唑来膦酸盐/IL2 刺激后第 10 天，**TCRγδ+/CD3+: 36.5%，** TCRγδ-/CD3+: 57.0%，CD56+/CD3-: 0.5% | Jeko 细胞的剂量滴定 |
| 2 | 用唑来膦酸盐/IL2 刺激后第 10 天：**TCRγδ+/CD3+: 84.8%，** TCRγδ-/CD3+: 11.7%，CD56+/CD3-: 1.2% | U2932 细胞的剂量滴定 |
| 3 | 用唑来膦酸盐/IL2 刺激后第 9 天，**TCRγδ+/CD3+: 46.0%，** TCRγδ-/CD3+: 47.0%，CD56+/CD3-: 1.75% | Jeko 细胞的剂量滴定 |
| 4 | 用唑来膦酸盐/IL2 刺激后第 9 天，**TCRγδ+/CD3+: 60.8%，** TCRγδ-/CD3+: 12.6%，CD56+/CD3-: 1.4% | 细胞毒性细胞系 |
| 5 | 用唑来膦酸盐/IL2 刺激后第 9 天，**TCRγδ+/CD3+: 69.5%，** TCRγδ-/CD3+: 23.2%，CD56+/CD3-: 2.6% | 细胞毒性细胞系 |
| 6 | 用唑来膦酸盐/IL2 刺激后第 9 天：**TCRγδ+/CD3+: 84.8%，** TCRγδ-/CD3+: 11.7%，CD56+/CD3-: 1.2% | 细胞毒性细胞系 |
| 7 | 用唑来膦酸盐/IL2 刺激后第 9 天，**TCRγδ+/CD3+: 67.3%，** TCRγδ-/CD3+: 24.4%，CD56+/CD3-: 3.6% | 细胞毒性患者细胞 |

[0142]

[0143] 如表中所列,用于所述实验的经刺激的细胞群由三个主要群组成。仅存在极小部分的CD56+/CD3-NK效应细胞(<5%),而TCRγδ-/CD3+细胞在一些情况下代表更大的群体,

但这些细胞不会触发靶细胞的裂解。因此，主要是γδT细胞负责抗体介导的细胞杀伤。

[0144] 细胞系和患者样品

[0145] 细胞系(从DSMZ获得)：Mino(套细胞淋巴瘤)、Daudi(伯基特淋巴瘤)、Jeko-1(套细胞淋巴瘤)、U2932(DLBCL)、REH(B-ALL)

[0146] 患者样品(外周血)：2x CLL(慢性淋巴细胞白血病)、2x MCL(套细胞淋巴瘤)、1x B-ALL(急性淋巴母细胞白血病)

[0147] 结果

[0148] 淋巴瘤细胞系的剂量滴定

[0149] 在四种E:T比率的γδT细胞(0.7:1、2.2:1、6.7:1和20:1)的存在下，使用浓度在0.001与10μg/ml之间的MOR00208进行初始剂量滴定实验以获得有效的测定设置，并且观察到裂解的Jeko和U2932靶细胞百分比呈剂量依赖性增加。正如预期的那样，测试抗体的杀伤活性随着更高的E:T比率而增加，并且在最高测试E:T比率为6.7:1和20:1时观察到最明显的作用。在两种测试的细胞系中，在0.1μg/ml、1μg/ml和10μg/ml MOR00208的浓度下达到了细胞裂解的最大功效。细胞裂解显示γδT细胞依赖性供体变化，其中Jeko的最大裂解介于34.0％与49.3％之间，而U2392细胞的最大裂解为22.5％。选择1μg/ml的MOR00208(Fc增强的)浓度作为最佳浓度，用于进一步全面分析γδT细胞对白血病和淋巴瘤细胞系以及患者来源的肿瘤细胞的抗体介导的细胞杀伤的Fc依赖性作用。

[0150] 淋巴瘤/白血病细胞系的细胞毒性测定

[0151] 为了确定γδT细胞与CD19抗体组合的肿瘤细胞杀伤潜力，用Mino、Daudi、Jeko、U2932和REH细胞作为靶细胞以1μg/ml测试了他法西他单抗(图1和图2)。如之前一样，测试了0.7:1与20:1之间的四种不同的E:T比率。并且对于所有细胞系而言，MOR00208与γδT细胞组合的作用优于IgG1对照(MOR00208>IgG1对照)与γδT细胞组合。正如在剂量滴定实验期间所观察到的，测试抗体的杀伤活性增加，并且在最高测试E:T比率为6.7:1和20:1时发现了最明显的作用。特别是在非特异性杀伤最低的两种细胞系(Mino和Jeko)中，观察到了抗体对细胞杀伤活性的最高特异性贡献。在两种细胞系中，MOR00208活性在统计学上均与IgG1对照显著不同(图1)。在具有较高非特异性杀伤的三种细胞系中，活性特征相似(MOR00208>IgG1对照)，但特异性作用有限(图2)。

[0152] 原代患者细胞的细胞毒性测定

[0153] 正如用细胞系所进行的那样，将来自两名CLL、两名MCL和一名B-ALL患者的原发性肿瘤细胞分离并与不同E:T比率(0.7:1至20:1)的单个供体的γδT细胞以及1μg/ml的靶向CD19的抗体一起孵育(图3和图4)。与对细胞系的观察结果一致，MOR00208对γδT细胞的杀伤活性表现出明显的特异性贡献。这种贡献对所有原代细胞而言随着E:T比率而增加，并且在最高测试E:T比率为20:1时最为明显。原代患者细胞仅在一次实验中进行测试。

[0154] 结论

[0155] 总之，γδT细胞被证明是基于抗体的肿瘤疗法中的潜在效应细胞群，如本研究中对于Fc增强的靶向CD19的抗体MOR00208所证明的那样。MOR00208表现出由γδT细胞的存在介导的针对几种淋巴瘤和白血病细胞系以及原发性患者来源的CLL、MCL和B-ALL细胞的强大抗肿瘤活性，并且为将MOR00208和γδT细胞组合作为淋巴瘤和白血病疗法的有前景的方法提供了合理的理由。

序列表
<110> 莫佛塞斯公司(MORPHOSYS AG)
<120> 包含抗CD19抗体和γδ T细胞的抗肿瘤组合疗法
<130> MS309/EP-PROV
<140>
<141>
<160> 13
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释=“人工序列的描述:合成
肽“
<400> 1
Ser Tyr Val Met His
1 5
<210> 2
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释=“人工序列的描述:合成
肽“
<400> 2
Asn Pro Tyr Asn Asp Gly
1 5
<210> 3
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释=“人工序列的描述:合成
肽“

<400> 3
Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 4
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释=“人工序列的描述:合成
肽“
<400> 4
Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15
<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释=“人工序列的描述:合成
肽“
<400> 5
Arg Met Ser Asn Leu Asn Ser
1 5
<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释=“人工序列的描述:合成
肽“
<400> 6
Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Ile Thr
1 5
<210> 7
<211> 121
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释=“人工序列的描述:合成
多肽“
<400> 7

| | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Glu | Val | Gln | Leu | Val | Glu | Ser | Gly | Gly | Gly | Leu | Val | Lys | Pro | Gly | Gly |
| 1 | | | | 5 | | | | 10 | | | | | 15 | | |
| Ser | Leu | Lys | Leu | Ser | Cys | Ala | Ala | Ser | Gly | Tyr | Thr | Phe | Thr | Ser | Tyr |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | 30 | | | |
| Val | Met | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Ile |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Gly | Tyr | Ile | Asn | Pro | Tyr | Asn | Asp | Gly | Thr | Lys | Tyr | Asn | Glu | Lys | Phe |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Gln | Gly | Arg | Val | Thr | Ile | Ser | Ser | Asp | Lys | Ser | Ile | Ser | Thr | Ala | Tyr |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Met | Glu | Leu | Ser | Ser | Leu | Arg | Ser | Glu | Asp | Thr | Ala | Met | Tyr | Tyr | Cys |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Ala | Arg | Gly | Thr | Tyr | Tyr | Tyr | Gly | Thr | Arg | Val | Phe | Asp | Tyr | Trp | Gly |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Gln | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser | | | | | | | |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | | | | |

<210> 8
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释=“人工序列的描述:合成
多肽“
<400> 8

| | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Asp | Ile | Val | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ala | Thr | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly |
| 1 | | | | 5 | | | | 10 | | | | | 15 | | |
| Glu | Arg | Ala | Thr | Leu | Ser | Cys | Arg | Ser | Ser | Lys | Ser | Leu | Gln | Asn | Val |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | 30 | | | |
| Asn | Gly | Asn | Thr | Tyr | Leu | Tyr | Trp | Phe | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Gln | Ser |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Pro | Gln | Leu | Leu | Ile | Tyr | Arg | Met | Ser | Asn | Leu | Asn | Ser | Gly | Val | Pro |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80
Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
85 90 95
Leu Glu Tyr Pro Ile Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 9
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释=“人工序列的描述:合成
多肽“
<400> 9

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 10
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释=“人工序列的描述:合成
多肽“
<400> 10

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 11
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释=“人工序列的描述:合成
多肽“
<400> 11

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240
Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Lys
450

<210> 12
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> 来源
<223> /注释=“人工序列的描述:合成
多肽“
<400> 12

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val
20 25 30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Asn Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80
Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
85 90 95
Leu Glu Tyr Pro Ile Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 13
<211> 556
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 13

Met Pro Pro Pro Arg Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Leu Thr Pro Met
1 5 10 15
Glu Val Arg Pro Glu Glu Pro Leu Val Val Lys Val Glu Glu Gly Asp
20 25 30
Asn Ala Val Leu Gln Cys Leu Lys Gly Thr Ser Asp Gly Pro Thr Gln
35 40 45

Gln Leu Thr Trp Ser Arg Glu Ser Pro Leu Lys Pro Phe Leu Lys Leu
50 55 60
Ser Leu Gly Leu Pro Gly Leu Gly Ile His Met Arg Pro Leu Ala Ile
65 70 75 80
Trp Leu Phe Ile Phe Asn Val Ser Gln Gln Met Gly Gly Phe Tyr Leu
85 90 95
Cys Gln Pro Gly Pro Pro Ser Glu Lys Ala Trp Gln Pro Gly Trp Thr
100 105 110
Val Asn Val Glu Gly Ser Gly Glu Leu Phe Arg Trp Asn Val Ser Asp
115 120 125
Leu Gly Gly Leu Gly Cys Gly Leu Lys Asn Arg Ser Ser Glu Gly Pro
130 135 140
Ser Ser Pro Ser Gly Lys Leu Met Ser Pro Lys Leu Tyr Val Trp Ala
145 150 155 160
Lys Asp Arg Pro Glu Ile Trp Glu Gly Glu Pro Pro Cys Leu Pro Pro
165 170 175
Arg Asp Ser Leu Asn Gln Ser Leu Ser Gln Asp Leu Thr Met Ala Pro
180 185 190
Gly Ser Thr Leu Trp Leu Ser Cys Gly Val Pro Pro Asp Ser Val Ser
195 200 205
Arg Gly Pro Leu Ser Trp Thr His Val His Pro Lys Gly Pro Lys Ser
210 215 220
Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp Arg Pro Ala Arg Asp Met Trp
225 230 235 240
Val Met Glu Thr Gly Leu Leu Leu Pro Arg Ala Thr Ala Gln Asp Ala
245 250 255
Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly Asn Leu Thr Met Ser Phe His Leu
260 265 270
Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu Trp His Trp Leu Leu Arg Thr Gly
275 280 285
Gly Trp Lys Val Ser Ala Val Thr Leu Ala Tyr Leu Ile Phe Cys Leu
290 295 300
Cys Ser Leu Val Gly Ile Leu His Leu Gln Arg Ala Leu Val Leu Arg
305 310 315 320
Arg Lys Arg Lys Arg Met Thr Asp Pro Thr Arg Arg Phe Phe Lys Val
325 330 335
Thr Pro Pro Pro Gly Ser Gly Pro Gln Asn Gln Tyr Gly Asn Val Leu
340 345 350
Ser Leu Pro Thr Pro Thr Ser Gly Leu Gly Arg Ala Gln Arg Trp Ala

355 360 365

Ala Gly Leu Gly Gly Thr Ala Pro Ser Tyr Gly Asn Pro Ser Ser Asp

370 375 380

Val Gln Ala Asp Gly Ala Leu Gly Ser Arg Ser Pro Pro Gly Val Gly

385 390 395 400

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu Glu

405 410 415

Asp Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Leu Gly Gln Asp Gln Leu

420 425 430

Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu Gly

435 440 445

Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn Glu

450 455 460

Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu Ser

465 470 475 480

Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu Gly

485 490 495

Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Ile Leu Tyr Ala Ala Pro Gln

500 505 510

Leu Arg Ser Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp Ala

515 520 525

Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala Trp

530 535 540

Gly Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Thr Arg

545 550 555

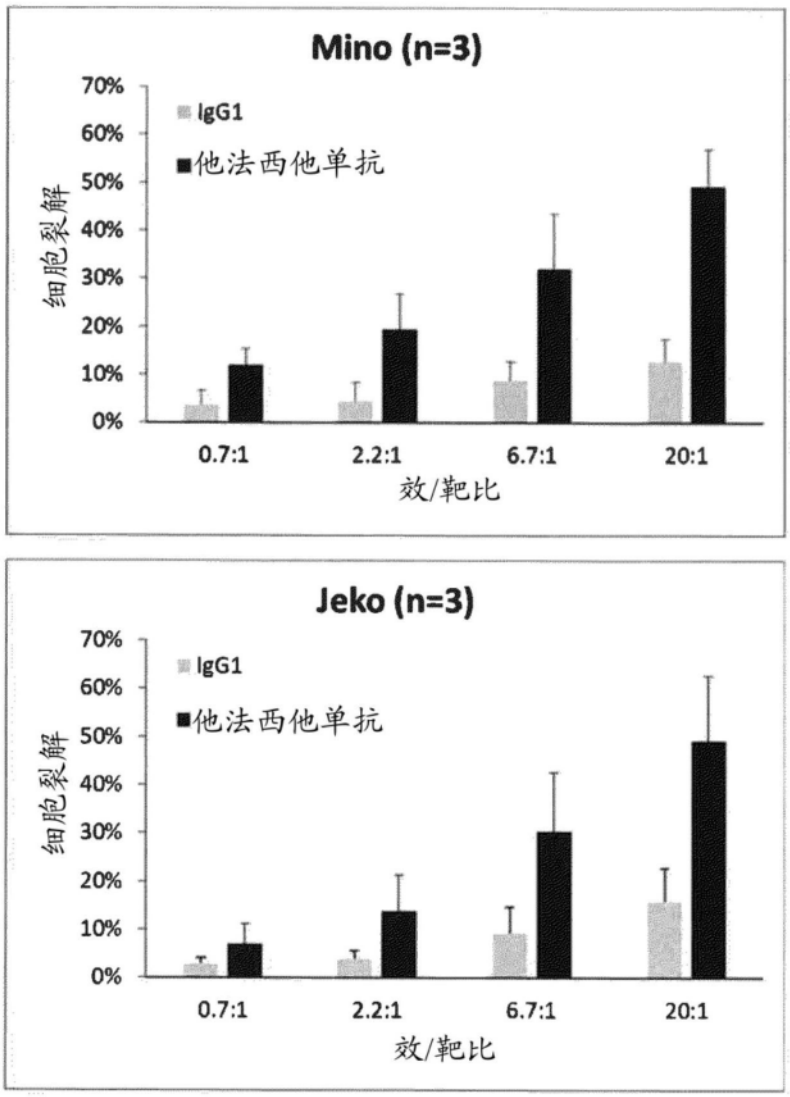
Mino (n=3)
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
细胞裂解
IgG1
他法西他单抗
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
效/靶比
Jeko (n=3)
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
细胞裂解
IgG1
他法西他单抗
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
效/靶比

图1

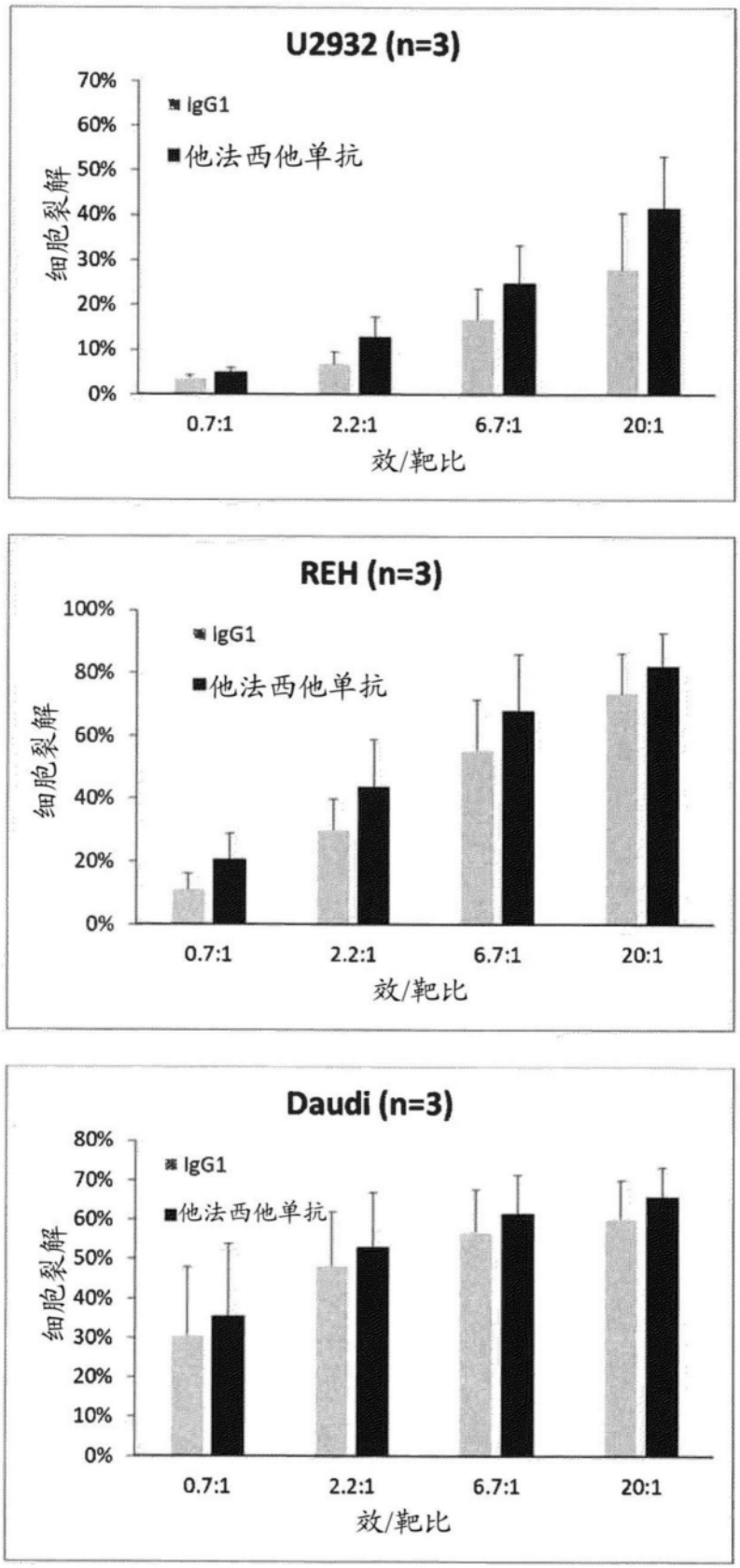
U2932 (n=3)
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
细胞裂解
IgG1
他法西他单抗
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
效/靶比
REH (n=3)
100%
80%
60%
40%
20%
0%
细胞裂解
IgG1
他法西他单抗
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
效/靶比
Daudi (n=3)
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
细胞裂解
IgG1
他法西他单抗
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
效/靶比

图2

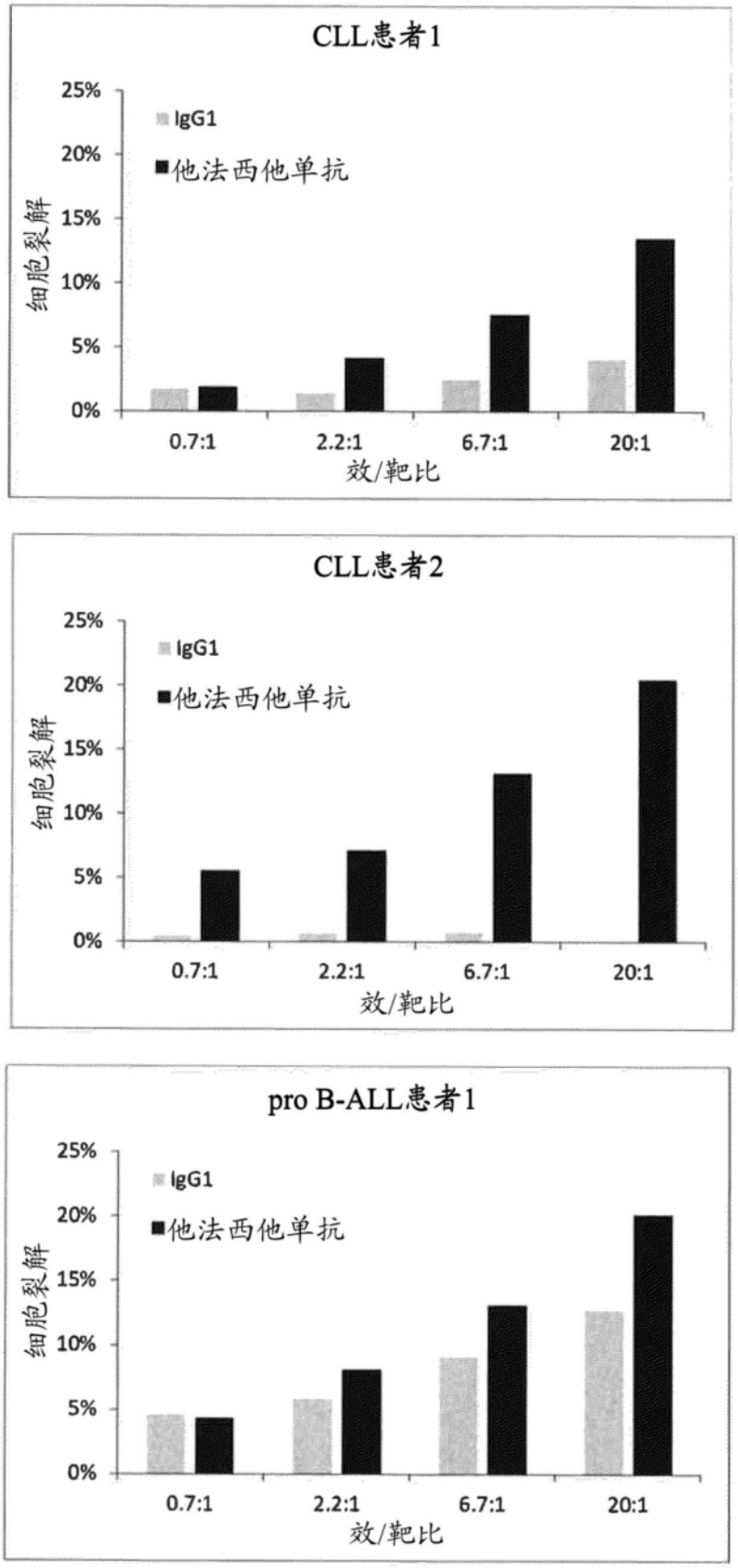
CLL患者1
25%
20%
15%
10%
5%
0%
细胞裂解
IgG1
他法西他单抗
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
效/靶比
CLL患者2
25%
20%
15%
10%
5%
0%
细胞裂解
IgG1
他法西他单抗
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
效/靶比
pro B-ALL患者1
25%
20%
15%
10%
5%
0%
细胞裂解
IgG1
他法西他单抗
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
效/靶比

图3

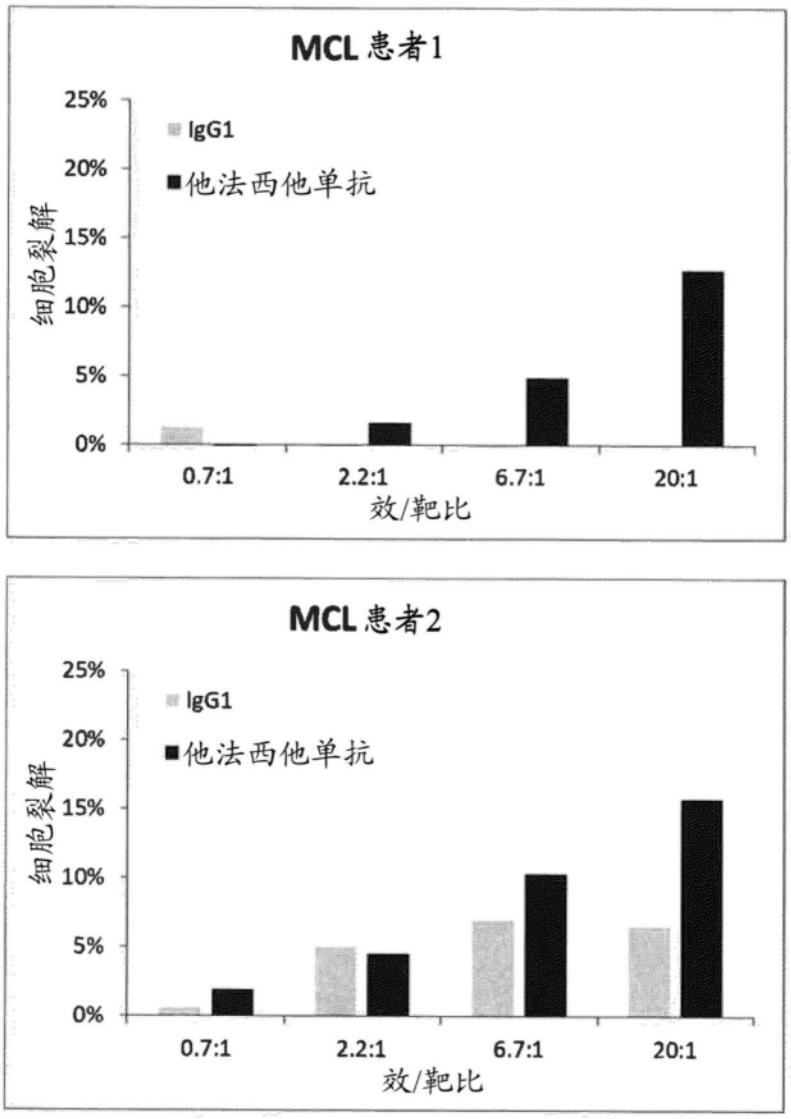
MCL 患者1
25%
20%
15%
10%
5%
0%
细胞裂解
IgG1
他法西他单抗
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
效/靶比
MCL 患者2
25%
20%
15%
10%
5%
0%
细胞裂解
IgG1
他法西他单抗
0.7:1
2.2:1
6.7:1
20:1
效/靶比

图4