(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119546330 A
(43)申请公布日 2025.02.28

(21)申请号 202380050418.0

(22)申请日 2023.06.29

(30)优先权数据
63/356,840 2022.06.29 US
63/394,506 2022.08.02 US
63/394,507 2022.08.02 US
63/425,986 2022.11.16 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.12.27

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2023/069414 2023.06.29

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2024/006933 EN 2024.01.04

(71)申请人 纯技术LYT股份有限公司
地址 美国

(72)发明人 A·菲利波维奇 C·C·科思 A·N·乔治 J·S·克罗普

(74)专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所有限公司 11038
专利代理师 李程达

(51)Int.Cl.
A61K 39/00(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
C07K 16/00(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

权利要求书2页 说明书68页
序列表（电子公布） 附图2页

(54)发明名称

用抑制半乳糖凝集素-9的抗体治疗血液恶性肿瘤

(57)摘要

本文公开了使用抗半乳糖凝集素-9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))治疗血液恶性肿瘤(例如,急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)或急性淋巴母细胞性白血病(ALL))的方法。在一些实施方案中,所述抗半乳糖凝集素-9抗体用作单一疗法。



CN 119546330 A

1.一种用于治疗血液恶性肿瘤的方法,其包括向有此需要的受试者施用包含结合人半乳糖凝集素-9的抗体(抗Gal9抗体)的药物组合物,其中所述抗Gal9抗体以约2mg/kg至约32mg/kg的剂量每周一次至每4周一次施用于所述受试者。

2.如权利要求1所述的方法,其中所述抗Gal9抗体包含:

(a)轻链,所述轻链包含轻链可变区(V_L),其包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的轻链(LC)互补决定区1(CDR1)、含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的LC互补决定区2(CDR2)和含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的LC互补决定区3(CDR3),以及

(b)重链,所述重链包含重链可变区(V_H),其包含含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的重链(HC)互补决定区1(CDR1)、含有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HC互补决定区2(CDR2)和含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HC互补决定区3(CDR3)。

3.如权利要求2所述的方法,其中所述抗Gal9抗体包含:V_L,其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;以及V_H,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。

4.如权利要求1至3中任一项所述的方法,其中所述抗Gal9抗体是IgG1分子或IgG4分子。

5.如权利要求4所述的方法,其中所述抗Gal9抗体是相对于野生型人IgG4对应物包含修饰的Fc区的IgG4分子。

6.如权利要求5所述的方法,其中所述修饰的Fc区包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列。

7.如权利要求6所述的方法,其中所述抗Gal9抗体包含:重链,其包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列;以及轻链,其包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列。

8.如权利要求1至7中任一项所述的方法,其中所述抗Gal9抗体以约2mg/kg、约4mg/kg、约6.3mg/kg,约7.5mg/kg、约10mg/kg、约12mg/kg或约16mg/kg的剂量施用于所述受试者。

9.如权利要求1至8中任一项所述的方法,其中所述抗Gal9抗体以约2mg/kg、约4mg/kg、约7.5mg/kg、约12mg/kg或约16mg/kg的剂量施用于所述受试者。

10.如权利要求8或权利要求9所述的方法,其中所述抗Gal9抗体每两周一次施用。

11.如权利要求8或权利要求9所述的方法,其中所述抗Gal9抗体每周一次施用。

12.如权利要求1至8中任一项所述的方法,其中所述抗Gal9抗体以每周4.0mg/kg的剂量、每周6.3mg/kg的剂量、每周7.5mg/kg的剂量、每周10.0mg/kg的剂量、每周12mg/kg的剂量或每周16.0mg/kg的剂量施用。

13.如权利要求1至8中任一项所述的方法,其中所述抗Gal9抗体以每周4.0mg/kg的剂量、每周7.5mg/kg的剂量、每周12mg/kg的剂量或每周16.0mg/kg的剂量施用。

14.如权利要求1至13中任一项所述的方法,其中所述受试者是患有白血病或淋巴瘤的人类患者。

15.如权利要求14所述的方法,其中所述人类患者患有急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)或急性淋巴母细胞性白血病(ALL)。

16.如权利要求1至15中任一项所述的方法,其中所述血液恶性肿瘤是难治性的和/或复发性的。

17.如权利要求16所述的方法,其中所述血液恶性肿瘤是难治性和/或复发性且高风险MDS。

18.如权利要求15所述的方法,其中所述人类患者在至少一条在先前治疗线后患有复

发性和/或难治性AML。

19.如权利要求15所述的方法,其中所述人类患者在至少一条在先前治疗线后患有复发性和/或难治性MDS。

20.如权利要求1至19中任一项所述的方法,其中所述人类患者已经经历或正在经历用于治疗所述血液恶性肿瘤的化疗。

21.如权利要求1至20中任一项所述的方法,其包括至少一个由28天组成的治疗周期,在所述治疗周期期间所述抗Gal9抗体每周一次施用于所述受试者。

22.如权利要求1至21中任一项所述的方法,其中所述方法包括所述抗Gal9抗体作为用于治疗所述血液恶性肿瘤的唯一活性剂。

23.如权利要求1至22中任一项所述的方法,其还包括在治疗过程中监测不良事件的发生。

24.如权利要求21所述的方法,其还包括降低发生所述不良事件的所述受试者中所述抗Gal9抗体的剂量。

用抑制半乳糖凝集素-9的抗体治疗血液恶性肿瘤

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2022年6月9日提交的美国临时申请号63/356,840、2022年8月2日提交的美国临时申请号63/394,506、2022年8月2日提交的美国临时申请号3/394,507和2022年11月16日提交的美国临时申请号63/425,986的申请日期的权益,这些临时申请中的每一项的全部内容通过引用并入本文。

[0003] 序列表的引用

[0004] 本申请含有已经以XML格式以电子方式提交的序列表,并且以全文引用的方式并入本文中。在2023年6月21日创建的所述XML副本的名称为112174-0259-NP013WO00,并且大小为40,880字节。

背景技术

[0005] 半乳糖凝集素-9是一种串联重复凝集素,由两个碳水化合物识别结构域(CRD)组成,并且于1997年首次在患有霍奇金淋巴瘤(HL)的患者中发现和描述(Tureci等人,J.Biol.Chem.1997,272,6416-6422)。存在三种同种型,并且其可以位于细胞内或细胞外。已在多种癌症中观察到半乳糖凝集素-9水平升高,包括黑色素瘤、霍奇金淋巴瘤、肝细胞癌、胰腺癌、胃癌、结肠癌和透明细胞肾细胞癌(Wdowiak等人,Int.J.Mol.Sci.2018,19,210)。在肾癌中,具有高半乳糖凝集素-9表达的患者显示出较晚期的疾病进展,其肿瘤大小较大(Kawashima等人;BJU Int.2014;113:320-332)。在黑色素瘤中,半乳糖凝集素-9在57%的肿瘤中表达,并且与健康对照相比,在晚期黑色素瘤患者的血浆中显著增加(Enninga等人,Melanoma Res.2016年10月;26(5):429-441)。许多研究已表明半乳糖凝集素-9作为预后标志物具有实用性,并且最近还表明其可作为潜在的新药物靶标(Enninga等人,2016;Kawashima等人,BJU Int 2014;113:320-332;Kageshita等人,Int JCancer.2002年6月20日;99(6):809-16,以及其中的参考文献)。

[0006] 半乳糖凝集素-9已被描述在许多细胞过程(诸如粘附、癌细胞聚集、细胞凋亡和趋化性)中发挥重要作用。最近的研究表明,半乳糖凝集素-9在支持肿瘤的免疫调节中发挥作用,例如,通过负调节Th1型响应、Th2极化和巨噬细胞向M2表型的极化。这项工作还包括表明半乳糖凝集素-9通过与T细胞免疫球蛋白和粘蛋白蛋白3(TIM-3)受体的相互作用参与直接灭活T细胞的研究(Dardalhon等人,J Immunol.,2010,185,1383-1392;Sanchez-Fueyo等人,Nat Immunol.,2003,4,1093-1101)。

[0007] 还发现半乳糖凝集素-9在极化向肿瘤抑制表型的T细胞分化以及促进致耐受性巨噬细胞编程和适应性免疫抑制中发挥作用(Daley等人,Nat Med.,2017,23,556-567)。在胰腺导管腺癌(PDAC)的小鼠模型中,已表明阻断肿瘤微环境(TME)中在先天免疫细胞上发现的半乳糖凝集素-9与受体Dectin-1之间的检查点相互作用可以增加TME中的抗肿瘤免疫响应并减缓肿瘤进展(Daley等人,Nat Med.,2017,23,556-567)。还发现半乳糖凝集素-9与CD206(M2型巨噬细胞的表面标志物)结合,导致CVL22(MDC)(一种巨噬细胞衍生的趋化因子,与肺癌较长的存活期和较低的复发风险相关)的分泌减少(Enninga等人,J

Pathol.2018年8月;245(4):468-477)。

发明内容

[0008] 本公开至少部分基于血液恶性肿瘤(诸如急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)或急性淋巴母细胞性白血病(ALL))的治疗方案的开发。

[0009] 因此,本文提供了一种用于治疗血液恶性肿瘤的方法,其包括向有此需要的受试者施用包含结合人半乳糖凝集素-9的抗体(抗Gal9抗体)的药物组合物,其中抗Gal9抗体以约2mg/kg至约32mg/kg的剂量施用于受试者。在一些实施方案中,抗Gal9抗体每周一次至每6周一次(例如,每周一次、每两周一次、每三周一次、每4周一次、每五周一次、每六周一次)施用于受试者。例如,抗Gal9抗体可以以2mg/kg、4mg/kg、6.3mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg、12mg/kg、16mg/kg或32mg/kg每周一次至每六周一次(例如,每周一次、每两周一次、每三周一次、每4周一次、每五周一次、每六周一次)施用于受试者。在一些实施方案中,抗Gal9抗体每周一次施用。在一些实施方案中,抗Gal9抗体每两周一次施用。在一些实施方案中,本文公开的任何抗半乳糖凝集素-9抗体可以通过静脉内输注施用于受试者。

[0010] 在一些实施方案中,抗Gal9抗体可以包含:(a)轻链,该轻链包含轻链可变区(V_L),其包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的轻链(LC)互补决定区1(CDR1)、含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的LC互补决定区2(CDR2)和含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的LC互补决定区3(CDR3);以及(b)重链,该重链包含重链可变区(V_H),其包含含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的重链(HC)互补决定区1(CDR1)、含有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HC互补决定区2(CDR2)和含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HC互补决定区3(CDR3)。在一些实例中,抗Gal9抗体包含V_L,其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;以及V_H,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。

[0011] 用于本文公开的方法中的任何抗Gal9抗体可以是IgG1分子。可替代地,抗体可以是IgG4分子。在一些实施方案中,抗Gal9抗体可以是相对于野生型IgG4对应物(例如,野生型人IgG4对应物)包含修饰的Fc区的IgG4分子(例如,人IgG4分子)。在一些实例中,修饰的Fc区包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列。在一个实例中,抗Gal9抗体包含重链,其包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列,和轻链,其包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列。此类抗Gal9抗体可以是G9.2-17(IgG4)。

[0012] 本文公开的任何抗Gal9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))可以以2mg/kg、4mg/kg、6.3mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg、12mg/kg、16mg/kg或32mg/kg的剂量施用于受试者。在一些实施方案中,抗Gal9抗体每周一次至每6周一次(例如,每周一次、每两周一次、每三周一次、每4周一次、每五周一次、每六周一次)施用于受试者。例如,抗Gal9抗体可以以2mg/kg、4mg/kg、6.3mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg、12mg/kg、16mg/kg或32mg/kg每周一次至每六周一次(例如,每周一次、每两周一次、每三周一次、每4周一次、每五周一次、每六周一次)施用于受试者。在一些实施方案中,抗Gal9抗体每周一次施用。在一些实施方案中,抗Gal9抗体每两周一次至每四周一次施用。在一些实例中,抗半乳糖凝集素-9抗体可每两周一次施用于受试者。在具体的实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))以6.3mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg、12mg/kg或16mg/kg的剂量每周一次施用于受试者。在具体实施方案中,抗半乳糖凝集素9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))以6.3mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg、12mg/kg或16mg/kg的剂量每两周一次至每四周一次(例如,每两周一次)施用于受试者。

[0013] 可替代地,抗Gal-9抗体(诸如G9.2-17(IgG4))可以以约410mg至约2056mg(例如,约410mg至约650mg、约410mg至约1040mg或约410mg至约1280mg的剂量每2-6周(例如,每2-4周)一次,例如每2周一次、每3周一次、每4周一次、每5周一次或每6周一次施用于受试者。在一些实例中,抗Gal-9抗体以约410mg至约505mg(例如,约410mg至约450mg或约410mg至约480mg)的剂量每2-6周(例如,每2-4周)一次,例如每2周一次、每3周一次、每4周一次、每5周一次或每6周一次施用于受试者。在其他实例中,抗Gal-9抗体以约650mg至约800mg(例如,约650mg至约700mg)的剂量每2-6周(例如,每2-4周)一次,例如每2周一次、每3周一次、每4周一次、每5周一次或每6周一次施用于受试者。在其他实例中,抗Gal-9抗体以约1040mg至约1280mg(例如,约1040mg至约1120mg)的剂量每2-6周(例如,每2-4周)一次,例如每2周一次、每3周一次、每4周一次、每5周一次或每6周一次施用于受试者。在又其他实例中,抗Gal-9抗体以约2080mg至约2560mg(例如,约2080mg至约2400mg)的剂量每2-6周(例如,每2-4周)一次,例如每2周一次、每3周一次、每4周一次、每5周一次或每6周一次施用于受试者。

[0014] 在其他实施方案中,本文公开的任何抗Gal9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))可以以2mg/kg、4mg/kg、6.3mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg、12mg/kg、16mg/kg或32mg/kg的剂量每周一次施用于受试者。在具体的实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))以4mg/kg、6.3mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg、12mg/kg或16mg/kg的剂量每周一次施用于受试者。

[0015] 可替代地,抗Gal-9抗体(诸如G9.2-17(IgG4))可以以约410mg至约2560mg(例如,约410mg至约1040mg或约410mg至约650mg)的剂量每周一次施用于受试者。在一些实例中,抗Gal-9抗体以约410mg至约505mg(例如,约410mg至约450mg)的剂量每周一次施用于受试者。在其他实例中,抗Gal-9抗体以约650mg至约800mg(例如,约650mg至约700mg)的剂量每周一次施用于受试者。在又其他实例中,抗Gal-9抗体以约1040mg至约1280mg(例如,约1040mg至约1120mg)的剂量每周一次施用于受试者。在又其他实例中,抗Gal-9抗体以约2080mg至约2560mg(例如,约2080mg至约2400mg)的剂量每周一次施用于受试者。

[0016] 在一个实例中,本文公开的抗Gal9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))可以以2mg/kg的剂量每周一次施用于受试者。在另一个实例中,本文公开的抗Gal9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))可以以4mg/kg的剂量每周一次施用于受试者。在仍另一个实例中,本文公开的抗Gal9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))可以以7.5mg/kg的剂量每周一次施用于受试者。在又另一个实例中,本文公开的抗Gal9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))可以以10.0mg/kg的剂量每周一次施用于受试者。在又另一个实例中,本文公开的抗Gal9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))可以以12.0mg/kg的剂量每周一次施用于受试者。在另一个实例中,本文公开的抗Gal9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))可以以16.0mg/kg的剂量每周一次施用于受试者。

[0017] 在一些实施方案中,通过本文公开的任何方法治疗的受试者是患有白血病或淋巴瘤的人类患者。在具体的实例中,人类患者患有急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)或急性淋巴母细胞性白血病(ALL,诸如T细胞ALL或B细胞ALL)。可替代地或另外,血液恶性肿瘤是难治性的和/或复发性的。在一些情况下,人类患者在至少一条在先前治疗线后患有复发性和/或难治性AML。在其他情况下,人类患者在至少一条在先前治疗线后患有复发性和/或难治性MDS。可替代地或另外,人类患者未患急性早幼粒细胞白血病(APL)。

[0018] 在一些实施方案中,人类患者已经经历或正在经历用于治疗血液恶性肿瘤的化疗。在其他实施方案中,人类患者未经历或未正在经历用于治疗血液恶性肿瘤的化疗。

[0019] 本文公开的任何方法可有效减少或消除Gal9+血液癌细胞,例如白血病或淋巴瘤细胞。可替代地或另外,本文公开的方法可有效调节靶向癌细胞的免疫响应。

[0020] 在一些情况下,本文公开的任何方法包括至少一个由28天组成的治疗周期,在此期间抗Gal9抗体每周一次施用于受试者。例如,治疗可包括一个周期、两个周期、三个周期、四个周期、五个周期、六个周期或更多个周期。

[0021] 在一些情况下,本文公开的方法包括抗Gal9抗体作为用于治疗血液恶性肿瘤的唯一活性剂(单一疗法)。

[0022] 本文公开的任何方法还可包括在治疗过程中监测不良事件的发生。在一些情况下,当不良事件发生时,可降低抗Gal9抗体的剂量。

[0023] 本文还提供了在本文公开的任何方法中用于治疗血液癌症(例如,本文公开的那些)的抗Gal9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))和此类抗Gal9抗体用于制造在本文公开的治疗方法中使用的药物的用途。

[0024] 本发明的一个或多个实施方案的细节在下面的描述中阐述。本发明的其他特征或优点将从以下附图和几个实施方案的详细描述以及所附权利要求中变得明显。

附图说明

[0025] 图1是描绘使用抗Gal9抗体G9.2-17(IgG4)治疗血液恶性肿瘤(诸如AML和高风险MDS)的研究示意图的图。RP2D=推荐的2期剂量。PK=药代动力学。PD=药效动力学。

[0026] 图2是描绘临床试验评估时间表的图。1期入选最多40名患者。每名患者将接受第1周期前剂量1施用(preC1)以及C1D1施用(第1周期第1天等)和此后QW的临床访视。请注意,只要可能同时进行骨髓抽吸/活检,将从骨髓和血液中评估MRD。4个月后每3个月一次进行骨髓分析,条件是患者仍服用研究药物。每月将继续血液MRD评估。

[0027] 图3是示出用于检查的标志物的图。

具体实施方式

[0028] 半乳糖凝集素-9(一种串联重复凝集素)是一种β-半乳糖苷结合蛋白,已被证明在调节细胞-细胞和细胞-基质相互作用中发挥作用。人们发现它在霍奇金病组织和其他病理状态中强烈过表达。还可以发现它在肿瘤微环境(TME)中循环。

[0029] 发现半乳糖凝集素-9可与TIM-3(一种I型细胞表面糖蛋白,在所有种类的急性髓系白血病(除了M3(急性早幼粒细胞白血病))的白血病干细胞的表面上表达,但在正常人造血干细胞(HSC)中不表达)相互作用。已发现由半乳糖凝集素-9连接产生的TIM-3信号传导对免疫细胞具有多效性作用,诱导Th1细胞中的细胞凋亡(Zhu等人,Nat Immunol.,2005,6:1245-1252)并刺激肿瘤坏死因子-a(TNF-a)的分泌,导致单核细胞成熟为树突细胞,导致先天性免疫引起的炎症(Kuchroo等人,Nat Rev Immunol.,2008,8:577-580)。已发现另外的半乳糖凝集素-9/TIM-3信号传导共激活NF-KB和连环蛋白信号传导(促进LSC自我更新的两条途径)(Kikushige等人,Cell Stem Cell,2015,17(3):341-352)。干扰半乳糖凝集素-9/TIM-3结合的抗半乳糖凝集素-9抗体可以具有治疗作用,特别是对于白血病和其他血液恶性肿瘤。

[0030] 此外,半乳糖凝集素-9是影响多种细胞类型的先天和适应性免疫的多效免疫调节

剂。Gal-9促进炎症,诱导M2巨噬细胞和单核细胞衍生的树突细胞(mDC),促进调节性T细胞的分化,并且抑制NK细胞杀伤能力。存在由独立于Tim-3的半乳糖凝集素-9诱导的多种转录和功能变化。还发现Gal9表达在化疗失败的AML患者中更高。参见例如,OncoImmunology,5(7):00-00DOI:10.1080/2162402X.2016.1195535。发现抗Gal9抗体显著抑制AML以及LSC的重建。Kikushig e等人,Cell Stem Cell 17(3):341-352(2015)。

[0031] 本文公开的抗Gal9抗体(诸如G9.2-17(IgG4))可以经由诱导细胞毒性直接杀死Gal9+血液癌细胞。此外,还发现半乳糖凝集素-9影响多种免疫抑制途径。免疫学效应使抗Gal9抗体(诸如G9.2-17(IgG4))成为潜在的单一药剂治疗功效。

[0032] 因此,本文提供了使用抗半乳糖凝集素-9(例如,G9.2-17(IgG4))以2mg/kg至约32mg/kg(或约130mg至约2,560mg)的剂量每周一次至每6周一次(例如,每周一次至每4周一次),例如每周一次或每2周一次治疗血液恶性肿瘤(例如,急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)或急性淋巴母细胞性白血病(ALL,诸如T细胞ALL或B细胞ALL))的方法。

[0033] I.与半乳糖凝集素-9结合的抗体

[0034] 本公开提供了用于本文公开的治疗方法中的抗半乳糖凝集素-9抗体(诸如G9.2-17)及其功能变体。

[0035] 抗体(可以复数形式互换使用)是能够通过位于免疫球蛋白分子的可变区的至少一个抗原识别位点与靶标(诸如碳水化合物、多核苷酸、脂质、多肽等)特异性结合的免疫球蛋白分子。如本文所用,术语“抗体”(例如,抗半乳糖凝集素-9抗体)不仅涵盖完整(例如,全长)多克隆或单克隆抗体,而且还涵盖其抗原结合片段(诸如Fab、Fab’、$F(ab')_2$、Fv)、单链(scFv)、其突变体、包含抗体部分的融合蛋白、人源化抗体、嵌合抗体、双价抗体、纳米抗体、线性抗体、单链抗体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)和包含所需特异性的抗原识别位点的免疫球蛋白分子的任何其他修饰的构型,包括抗体的糖基化变体、抗体的氨基酸序列变体以及共价修饰的抗体。抗体(例如,抗半乳糖凝集素-9抗体)包括任何类别的抗体,诸如IgD、IgE、IgG、IgA或IgM(或其亚类),并且抗体不需要属于任何特定类别。取决于抗体重链恒定结构域的氨基酸序列,免疫球蛋白可指定为不同的类别。免疫球蛋白有五个主要类别:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,其中这些类别中的若干种可进一步分为亚类(同种型),例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。对应于不同类别的免疫球蛋白的重链恒定结构域分别称为α、δ、ε、γ和μ。不同类别的免疫球蛋白的亚基结构和三维构型是众所周知的。

[0036] 典型的抗体分子包含通常参与抗原结合的重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L)。V_H和V_L区可以进一步细分为超变区,也称为“互补决定区”(“CDR”),其间散布有更保守的区域(称为“框架区”(“FR”))。每个V_H和V_L通常由三个CDR和四个FR组成,从氨基末端到羧基末端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。可以使用本领域已知的方法(例如,通过Kabat定义、Chothia定义、AbM定义、EU定义、“Contact”编号方案、“IMGT”编号方案、“AHo”编号方案和/或contact定义,所有这些都是本领域熟知的)来精确鉴定框架区和CDR的范围。参见例如Kabat,E.A.等人(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242;Chothia等人,(1989)Nature 342:877;Chothia,C.等人(1987)J.Mol.Biol.196:901-917;Al-lazikani等人(1997)J.Molec.Biol.273:927-948;Edelman等人,Proc Natl Acad Sci U S A.1969年5月;63(1):78-85;以及Almagro,

J.Mol.Recognit.17:132-143(2004);MacCallum等人,J.Mol.Biol.262:732-745(1996);Lefranc M P等人,Dev Comp Immunol,2003年1月;27(1):55-77;以及Honegger A和Pluckthun A,J Mol Biol,2001年6月8日;309(3):657-70。还可参见hgmp.mrc.ac.uk and bioinf.org.uk/abs)。

[0037] 在一些实施方案中,本文所述的抗半乳糖凝集素-9抗体是全长抗体,其含有两条重链和两条轻链,每条链包括可变结构域和恒定结构域。可替代地,抗半乳糖凝集素-9抗体可以是全长抗体的抗原结合片段。术语全长抗体的"抗原结合片段"内涵盖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)$F(ab')_2$片段,包括在铰链区通过二硫键连接的两个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)由抗体单臂的V_L和V_H结构域组成的Fv片段;(v)dAb片段(Ward等人,(1989)Nature 341:544-546),其由V_H结构域组成;以及(vi)分离的互补决定区(CDR),其保留功能性。此外,尽管Fv片段的两个结构域V_L和V_H由单独的基因编码,但可以使用重组方法通过合成接头将它们连接起来,使它们能够制成单条蛋白质链,其中V_L和V_H区配对形成单价分子,称为单链Fv(scFv)。参见例如Bird等人(1988)Science 242:423-426;以及Huston等人(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883。

[0038] 本文所述的抗体中的任一种(例如,抗半乳糖凝集素-9抗体)可以是单克隆的或多克隆的。"单克隆抗体"是指同质抗体群体,并且"多克隆抗体"是指异质抗体群体。这两个术语不限制抗体的来源或其制造方式。

[0039] 参考抗体G9.2-17是指能够与人半乳糖凝集素-9结合的抗体,并且包含SEQ ID NO:7的重链可变区和SEQ ID NO:8的轻链可变区,两者在下文提供。在一些实施方案中,用于本文公开的方法中的抗半乳糖凝集素-9抗体是G9.2-17抗体。在一些实施方案中,用于本文公开的方法中的抗半乳糖凝集素-9抗体是具有与参考抗体G9.2-17相同的重链互补决定区(CDR)和/或与参考抗体G9.2-17相同的轻链互补决定区的抗体。具有相同V_H和/或V_L CDR的两种抗体意味着当通过相同方法(例如,如本领域已知的Kabat方法、Chothia方法、AbM方法、Contact方法或IMGT方法。参见例如bioinf.org.uk/abs/)确定时,它们的CDR是相同的。

[0040] 参考抗体G9.2-17的重链和轻链CDR在下表1中提供(使用Kabat方法确定):

[0041] 表1.G9.2-17的重链和轻链CDR

[0042]

G9.2-17	V_L CDR1	RASQSVSSAVA	SEQ ID NO: 1
	V_L CDR2	SASSLYS	SEQ ID NO: 2
	V_L CDR3	QQSSTDPIT	SEQ ID NO: 3
	V_H CDR1	FTVSSSSIH	SEQ ID NO: 4
	V_H CDR2	YISSSSGYTYYADSVKG	SEQ ID NO: 5
	V_H CDR3	YWSYPSWWPYRGMDY	SEQ ID NO: 6

[0043] 在一些实例中,用于本文公开的方法中的抗半乳糖凝集素-9抗体可包含(按照Kabat方案)如SEQ ID NO:4所示的重链互补决定区1(CDR1)、如SEQ ID NO:5所示的重链互补决定区2(CDR2)和如SEQ ID NO:6所示的重链互补决定区3(CDR3),并且/或者可包含如SEQ ID NO:1所示的轻链互补决定区1(CDR1)、如SEQ ID NO:2所示的轻链互补决定区2(CDR2)和如SEQ ID NO:3所示的轻链互补决定区3(CDR3)。抗半乳糖凝集素-9抗体(包括参考抗体G9.2-17)可以是如本文公开的任何形式,例如全长抗体或Fab。本文所用的术语

“G9.2-17(IgG4)”是指作为IgG4分子的G9.2-17抗体。同样,术语“G9.2-17(Fab)”是指作为Fab分子的G9.2-17抗体。

[0044] 在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体或其结合部分包含重链和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与SEQ ID NO:1、2和3中所示的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如,80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％及其中的任何增量)序列同一性。在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体或其结合部分包含重链和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列分别与SEQ ID NO:4、5和6中所示的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列具有至少80％(例如,80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％及其中的任何增量)序列同一性。

[0045] 另外的半乳糖凝集素-9抗体(例如,其与半乳糖凝集素-9的CRD1和/或CRD2区结合)描述于美国专利号10,344,091和共有的、共同未决的美国专利申请16/173,970和WO 2020/198390中,其中的每一个的相关公开内容通过引用并入本文用于本文引用的主题和目的。

[0046] 在一些实施方案中,本文公开的抗半乳糖凝集素-9抗体包含轻链CDR,所述轻链CDR与参考抗体G9.2-17的对应V_L CDR相比单独或共同具有至少80％(例如,80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％及其中的任何增量)序列同一性。可替代地或另外,在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含重链CDR,所述重链CDR与参考抗体G9.2-17的对应V_H CDR相比单独或共同具有至少80％(例如,80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％及其中的任何增量)序列同一性。

[0047] 两个氨基酸序列的“同一性百分比”是使用Karlin和Altschul Proc.Natl.Acad.Sci.USA 87:2264-68,1990的算法,按照Karlin和Altschul Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:5873-77,1993中的修改确定的。这样的算法被合并到Altschul等人J.Mol.Biol.215:403-10,1990的NBLAST和XBLAST程序(2.0版)中。可以用XBLAST程序(评分＝50,字长＝3)进行BLAST蛋白质搜索,以获得与本发明的蛋白质分子同源的氨基酸序列。当两个序列之间存在空位时,可以利用加空位BLAST,如Altschul等人,Nucleic Acids Res.25(17):3389-3402,1997中所述。当使用BLAST和Gapped BLAST程序时,可以使用相应程序(例如,XBLAST和NBLAST)的默认参数。

[0048] 在其他实施方案中,本文所述的抗半乳糖凝集素-9抗体包含V_H,所述VH包含相对于参考抗体G9.2-17的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3共同含有多达8个氨基酸残基变异(8、7、6、5、4、3、2或1个变异,包括添加、缺失和/或取代)的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3。可替代地或另外,在一些实施方案中,本文所述的抗半乳糖凝集素-9抗体包含V_H,所述VH包含相对于参考抗体G9.2-17的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3共同含有多达8个氨基酸残基变异(8、7、6、5、4、3、2或1个变异,包括添加、缺失和/或取代)的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3。

[0049] 在一个实例中,氨基酸残基变异是保守氨基酸残基取代。如本文所用,“保守氨基酸取代”是指不改变进行氨基酸取代的蛋白质的相对电荷或大小特征的氨基酸取代。变体可以根据本领域普通技术人员已知的改变多肽序列的方法来制备,诸如在编译此类方法的参考资料中找到的方法,例如Molecular Cloning:A Laboratory Manual,J.Sambrook等人

编,第二版,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,New York,1989,或者Current Protocols in Molecular Biology,F.M.Ausubel等人编,John Wiley& Sons,Inc.,New York。氨基酸的保守取代包括在以下组内的氨基酸之间进行的取代:(a)M、I、L、V;(b)F、Y、W;(c)K、R、H;(d)A、G;(e)S、T;(f)Q、N;以及(g)E、D。

[0050] 在一些实施方案中,本文公开的具有本文公开的重链CDR的抗半乳糖凝集素-9抗体含有来源于种系V_H片段亚类的框架区。此类种系V_H区是本领域熟知的。参见例如IMGT数据库(www.imgt.org)或www.vbase2.org/vbstat.php。实例包括IGHV1亚家族(例如,IGHV1-2、IGHV1-3、IGHV1-8、IGHV1-18、IGHV1-24、IGHV1-45、IGHV1-46、IGHV1-58和IGHV1-69)、IGHV2亚家族(例如,IGHV2-5、IGHV2-26和IGHV2-70)、IGHV3亚家族(例如,IGHV3-7、IGHV3-9、IGHV3-11、IGHV3-13、IGHV3-15、IGHV3-20、IGHV3-21、IGHV3-23、IGHV3-30、IGHV3-33、IGHV3-43、IGHV3-48、IGHV3-49、IGHV3-53、IGHV3-64、IGHV3-66、IGHV3-72和IGHV3-73、IGHV3-74)、IGHV4亚家族(例如,IGHV4-4、IGHV4-28、IGHV4-31、IGHV4-34、IGHV4-39、IGHV4-59、IGHV4-61和IGHV4-B)、IGHV亚家族(例如,IGHV5-51或IGHV6-1)和IGHV7亚家族(例如,IGHV7-4-1)。

[0051] 可替代地或另外,在一些实施方案中,具有本文公开的轻链CDR的抗半乳糖凝集素-9抗体含有来源于种系Vκ片段的框架区。实例包括IGKV1框架(例如,IGKV1-05、IGKV1-12、IGKV1-27、IGKV1-33或IGKV1-39)、IGKV2框架(例如,IGKV2-28)、IGKV3框架(例如,IGKV3-11、IGKV3-15或IGKV3-20)和IGKV4框架(例如,IGKV4-1)。在其他情况下,抗半乳糖凝集素-9抗体包含含有来源于种系Vλ片段的框架的轻链可变区。实例包括IGλ1框架(例如,IGλV1-36、IGλV1-40、IGλV1-44、IGλV1-47、IGλV1-51)、IGλ2框架(例如,IGλV2-8、IGλV2-11、IGλV2-14、IGλV2-18、IGλV2-23)、IGλ3框架(例如,IGλV3-1、IGλV3-9、IGλV3-10、IGλV3-12、IGλV3-16、IGλV3-19、IGλV3-21、IGλV3-25、IGλV3-27)、IGλ4框架(例如,IGλV4-3、IGλV4-60、IGλV4-69)、IGλ5框架(例如,IGλV5-39、IGλV5-45)、IGλ6框架(例如,IGλV6-57)、IGλ7框架(例如,IGλV7-43、IGλV7-46)、IGλ8框架(例如,IGλV8-61)、IGλ9框架(例如,IGλV9-49)或IGλ10框架(例如,IGλV10-54)。

[0052] 在一些实施方案中,用于本文公开的方法中的抗半乳糖凝集素-9抗体可以是具有与参考抗体G9.2-17相同的重链可变区(V_H)和/或相同的轻链可变区(V_L)的抗体,所述V_H和V_L区氨基酸序列在以下提供:

[0053] V_H:

[0054] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG**FTVSSSSIH**WVRQAPGKGLEWVA**YISSSSGYTYYADSVKG**RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**YWSYPSWWPYRGMDY**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 7)

[0055] V_L:

[0056] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSVSSAVA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASSLYS**GVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQSSTDPIT**FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 8)

[0057] 在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体与SEQ ID NO:7的重链可变区具有至少80%序列同一性(例如,80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性)。可替代地或另外,抗半乳糖凝集素-9抗体与SEQ ID NO:8的轻链可变区具有至少80%序列同一性(例如,80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性)。

[0058] 在一些情况下,本文公开的抗半乳糖凝集素-9抗体是参考抗体G9.2-17的功能变体。功能变体可以在结构上与参考抗体相似(例如,包含如本文公开的G9.2-17的一个或多个重链和/或轻链CDR中有限数量的氨基酸残基变异,或相对于如本文公开的G9.2-17的重链和/或轻链CDR或G9.2-17的VH和/或VL的序列同一性),与人半乳糖凝集素-9具有基本上相似的结合亲和力(例如,具有同阶的KD值)。

[0059] 在一些实施方案中,如本文所述的抗半乳糖凝集素-9抗体可以结合半乳糖凝集素-9并将其活性抑制至少20%(例如,31%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更大,包括其中的任何增量)。提供抑制剂效力量度的表观抑制常数(Ki^{app}或$K_{i,app}$)与降低酶活性所需的抑制剂浓度有关,并且不依赖于酶浓度。本文所述的抗半乳糖凝集素-9抗体的抑制活性可以通过本领域已知的常规方法来确定。

[0060] 抗体的$K_{i,}^{app}$值可通过以下过程来确定:测量不同浓度的抗体对反应程度(例如,酶活性)的抑制作用;将作为抑制剂浓度的函数的伪一阶速率常数(v)的变化拟合到修正的Morrison方程(方程1)中,得到表观Ki值的估值。对于竞争性抑制剂,Ki^{app}可以从提取自$K_{i,}^{app}$与底物浓度关系图的线性回归分析的y截距获得。

[0061] $$v = A \cdot \frac{([E]-[I]-K_i^{app}) + \sqrt{([E]-[I]-K_i^{app})^2 + 4[E]\cdot K_i^{app}}}{2} \qquad (方程1)$$

[0062] 其中A等于v_o/E,在不存在抑制剂(I)的情况下酶促反应的初始速度(v_o)除以总酶浓度(E)。在一些实施方案中,本文所述的抗半乳糖凝集素-9抗体对于靶抗原或抗原表位具有1000、900、800、700、600、500、400、300、200、100、50、40、30、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5pM或更小的Ki^{app}值。在一些实施方案中,相对于第二靶标(例如,半乳糖凝集素-9的CRD1),抗半乳糖凝集素-9抗体对于第一靶标(例如,半乳糖凝集素-9的CRD2)具有较低的Ki^{app}。Ki^{app}的差异(例如,特异性或其他比较)可以为至少1.5、2、3、4、5、10、15、20、37.5、50、70、80、91、100、500、1000、10,000或10^5倍。在一些实例中,相对于第二抗原(例如,处于第二构象的相同第一蛋白质或其模拟物;或第二蛋白质),抗半乳糖凝集素-9抗体更大地抑制第一抗原(例如,处于第一构象的第一蛋白质或其模拟物)。在一些实施方案中,使抗半乳糖凝集素-9抗体中的任一种进一步亲和力成熟以降低抗体对靶抗原或其抗原表位的Ki^{app}。

[0063] 在一些实施方案中,如本文所述的抗半乳糖凝集素-9抗体对靶抗原(例如,半乳糖凝集素-9)或其抗原表位具有合适的结合亲和力。如本文所用,“结合亲和力”是指表观缔合常数或K_A。K_A是解离常数(K_D)的倒数。本文所述的抗半乳糖凝集素-9抗体对靶抗原或抗原表位可具有至少10^{-5}、10^{-6}、10^{-7}、10^{-8}、10^{-9}、10^{-10}M或更低的结合亲和力(K_D)。结合亲和力增加对应于K_D降低。结合亲和力(或结合特异性)可以通过多种方法来确定,包括平衡透析、平衡结合、凝胶过滤、ELISA、表面等离振子共振或光谱法(例如,使用荧光测定)。用于评价结合亲和力的示例性条件是在HBS-P缓冲液(10mM HEPES pH7.4、150mM NaCl、0.005%(v/v)表面活性剂P20)中。

[0064] 这些技术可以用于测量作为靶蛋白浓度的函数的结合的结合蛋白的浓度。在某些条件下,结合的结合蛋白的分数浓度([结合]/[总])一般通过以下方程与总靶蛋白的浓度([靶])相关:

[0065] [结合]/[总]=[靶]/(Kd+[靶])

[0066] 然而,不总是需要精确确定K_A,因为有时获得亲和力的定量测量结果(例如,使用诸如ELISA或FACS分析的方法确定,与K_A成比例,因此可以用于比较,诸如确定较高亲和力是否高例如2倍)、获得亲和力的定性测量结果或获得亲和力的推断结果(例如,通过功能测定(例如,体外或体内测定)中的活性)就足够。在一些情况下,体外结合测定指示体内活性。在其他情况下,体外结合测定不一定指示体内活性。在一些情况下,紧密结合是有益的,但在其他情况下,紧密结合在体内并不理想,并且具有较低结合亲和力的抗体是更理想的。

[0067] 在一些实施方案中,如本文所述的抗半乳糖凝集素-9抗体中的任一种的重链还包含重链恒定区(CH)或其部分(例如,CH1、CH2、CH3或其组合)。重链恒定区可以具有任何合适的来源,例如人、小鼠、大鼠或兔。在一个具体实例中,重链恒定区来自如本文所述的任何IgG亚家族的人IgG(γ重链)。

[0068] 在一些实施方案中,本文所述的抗体的重链恒定区包含恒定区(例如,SEQ ID NO:4、5、6)的单一结构域(例如,CH1、CH2或CH3)或任何单一结构域的组合。在一些实施方案中,本文所述的抗体的轻链恒定区包含恒定区的单一结构域(例如,CL)。下文列出了示例性的轻链和重链序列。下文列出了示例性的轻链和重链序列。hIgG1 LALA序列包括两个突变(L234A和L235A(EU编号),它们抑制FcgR结合)以及P329G突变(EU编号)以消除补体C1q结合,从而消除所有免疫效应子功能。hIgG4 Fab臂交换突变序列包括抑制Fab臂交换的突变(S228P;EU编号)。IL2信号序列(MYRMQLLSCIALSLALVTNS;SEQ ID NO:9)可以位于可变区的N末端。它用于表达载体中,其在分泌过程中被切割,因此不在成熟的抗体分子中。成熟蛋白(分泌后)的重链以“EVQ”开头,轻链以“DIM”开头。示例性重链恒定区的氨基酸序列提供如下:

[0069] hIgG1重链恒定区(SEQ ID NO:10)

[0070]
```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
```

[0071] hIgG1 LALA重链恒定区(SEQ ID NO:12)

[0072]
```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
```

[0073] hIgG4重链恒定区(SEQ ID NO:13)

[0074]
```
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS
NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
```

[0075] hIgG4重链恒定区(SEQ ID NO:20)

[0076]
```
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS
NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK*
```

[0077] hIgG4突变重链恒定区(SEQ ID NO:14)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
[0078] PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS
NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[0079] hIgG4突变重链恒定区(SEQ ID NO:21)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
[0080] PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS
NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK*

[0081] 在一些情况下,本文公开的抗半乳糖凝集素-9抗体(例如,G9.2-17)中的重链恒定区可出于例如制造目的而去除C末端赖氨酸(K)残基。不具有末端K残基的那些的对应氨基酸序列在下文提供:

[0082] 不具有C末端赖氨酸的hIgG1重链恒定区(SEQ ID NO:24)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
[0083] SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*

[0084] 不具有C末端赖氨酸的hIgG1 LALA重链恒定区(SEQ ID NO:25)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFLFPPKPKDTLMI
[0085] SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNKAL**G**APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*

[0086] 不具有C末端赖氨酸的hIgG4重链恒定区(SEQ ID NO:26)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
[0087] PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS
NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*

[0088] 不具有C末端赖氨酸的hIgG4重链恒定区(SEQ ID NO:27)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
[0089] PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS
NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG*

[0090] 不具有C末端赖氨酸的hIgG4 mut重链恒定区(SEQ ID NO:28)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
[0091] PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS
NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*

[0092] 不具有C末端赖氨酸的hIgG4 mut重链恒定区(SEQ ID NO:29)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
[0093] PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS
NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG*

[0094] 在一些实施方案中,具有以上重链恒定区中的任一种的抗半乳糖凝集素-9抗体与

具有以下轻链恒定区的轻链配对：

[0095] 轻链恒定区(SEQ ID NO:11)

[0096] TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0097] 示例性全长抗半乳糖凝集素-9抗体提供如下：

[0098] G9.2-17hIgG1重链(SEQ ID NO:16)

[0099] **EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYISSSSGYTYYADSVKGRF**
TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWSYPSWWPYRGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT
YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[0100] 不具有C末端赖氨酸残基的G9.2-17hIgG1重链(SEQ ID NO:30)

[0101] **EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYISSSSGYTYYADSVKGRF**
TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWSYPSWWPYRGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT
YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*

[0102] G9.2-17hIgG1 LALA重链(SEQ ID NO:17)

[0103] **EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYISSSSGYTYYADSVKGRF**
TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWSYPSWWPYRGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT
YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL**G**APIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[0104] 不具有C末端赖氨酸残基的G9.2-17hIgG1 LALA重链(SEQ IDNO:31)

[0105] **EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYISSSSGYTYYADSVKGRF**
TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWSYPSWWPYRGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT
YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL**G**APIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*

[0106] G9.2-17hIgG4重链(SEQ ID NO:18)

[0107] **EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYISSSSGYTYYADSVKGRF**
TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWSYPSWWPYRGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKT
YTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[0108] 不具有C末端赖氨酸残基的G9.2-17hIgG4重链(SEQ ID NO:32)

[0109] **EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYISSSSGYTYYADSVKGRF**
TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWSYPSWWPYRGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKT
YTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*

[0110] G9.2-17hIgG4重链(SEQ ID NO:22)

[0111] **EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYISSSSGYTYYADSVKGRF**
TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWSYPSWWPYRGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKT
YTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK*

[0112] 不具有C末端赖氨酸残基的G9.2-17hIgG4重链(SEQ ID NO:33)

[0113] **EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYISSSSGYTYYADSVKGRF**
TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWSYPSWWPYRGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKT
YTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG*

[0114] G9.2-17hIgG4 Fab臂交换突变重链(SEQ ID NO:19)

[0115] **EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYISSSSGYTYYADSVKGRF**
TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWSYPSWWPYRGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKT
YTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

[0116] 不具有C末端赖氨酸残基的G9.2-17hIgG4 Fab臂交换mut重链(SEQ ID NO:34)

[0117] **EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYISSSSGYTYYADSVKGRF**
TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWSYPSWWPYRGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKT
YTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*

[0118] G9.2-17hIgG4 Fab臂交换突变重链(SEQ ID NO:23)

[0119] **EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYISSSSGYTYYADSVKGRF**
TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWSYPSWWPYRGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKT
YTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK*

[0120] 不具有C末端赖氨酸残基的G9.2-17hIgG4 Fab臂交换mut重链(SEQ ID NO:35)

[0121] **EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSSSIHWVRQAPGKGLEWVAYISSSSGYTYYADSVKGRF**
TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWSYPSWWPYRGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKT
YTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG*

[0122] 任何上述重链可以与下文所示的(SEQ ID NO:15)的轻链配对：

[0123] **DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRFSGSRSG**
TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSSTDPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP
VTKSFNRGEC*

[0124] 在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含与SEQ ID NO:10具有至少80％(例如,80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％及其中的任何增量)序列同一性的重链IgG1恒定区。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体的恒定区包含含有SEQ ID NO:10的重链IgG4恒定区。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体的恒定区包含由SEQ ID NO:10组成的重链IgG1恒定区。

[0125] 在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含与SEQ ID NO:20具有至少80％(例如,80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％及其中的任何增量)序列同一性的重链IgG4恒定区。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体的恒定区包含含有SEQ ID NO:20的重链IgG4恒定区。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体的恒定区包含由SEQ ID NO:20组成的重链IgG4恒定区。

[0126] 在一些实施方案中,恒定区来自人IgG4。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含与SEQ ID NO:13具有至少80％(例如,80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％及其中的任何增量)序列同一性的重链IgG4恒定区。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含含有SEQ ID NO:13的重链IgG4恒定区。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含由SEQ ID NO:13组成的重链IgG4恒定区。

[0127] 在一些实施方案中,恒定区来自人IgG4。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含与SEQ ID NO:20具有至少80％(例如,80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％及其中的任何增量)序列同一性的重链IgG4恒定区。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含含有SEQ ID NO:20的重链IgG4恒定区。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含由SEQ ID NO:20组成的重链IgG4恒定区。

[0128] 在这些实施方案中的任一个中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含与SEQ ID NO:11具有至少80％(例如,80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％及其中的任何增量)序列同一性的轻链恒定区。在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含含有SEQ ID NO:11的轻链恒定区。在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含由SEQ ID NO:11组成的轻链恒定区。

[0129] 在一些实施方案中,IgG是具有最小Fc受体接合的突变体。在一个实例中,恒定区来自人IgG1 LALA。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含与SEQ ID NO:12具有至少80％(例如,80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％及其中的任何增量)序列同一性的重链IgG1恒定区。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含含有SEQ ID NO:12的重链IgG1恒定区。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包

含由SEQ ID NO:12组成的重链IgG1恒定区。

[0130] 在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含修饰的恒定区。在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含免疫惰性的修饰的恒定区,例如,不触发补体介导的裂解,或不刺激抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)。可以使用美国专利号5,500,362中公开的方法来评估ADCC活性。在其他实施方案中,如Eur.J.Immunol.(1999)29:2613-2624、WO/1999/058572和/或英国专利申请号9809951.8中所述修饰恒定区。在一些实施方案中,IgG4恒定区是重链交换减少的突变体。在一些实施方案中,恒定区来自人IgG4 Fab臂交换突变体S228P。

[0131] 在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体的恒定区包含与SEQ ID NO:14具有至少80%(例如,80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%及其中的任何增量)序列同一性的重链IgG4恒定区。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体的恒定区包含含有SEQ ID NO:14的重链IgG4恒定区。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体的恒定区包含由SEQ ID NO:14组成的重链IgG4恒定区。

[0132] 在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含与SEQ ID NO:21具有至少80%(例如,80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%及其中的任何增量)序列同一性的重链IgG4恒定区。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含含有SEQ ID NO:21的重链IgG4恒定区。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含由SEQ ID NO:21组成的重链IgG4恒定区。

[0133] 在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体的轻链具有对应于SEQ ID NO:15的链;并且示例性重链的氨基酸序列对应于SEQ ID NO:10(hIgG1);12(hIgG1 LALA);13(hIgG4);20(hIgG4);14(hIgG4mut);以及21(hIgG4 mut)。

[0134] 在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体具有包含SEQ ID NO:15、基本上由其组成或由其组成的轻链。在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体具有包含选自由SEQ ID NO:16-19、22和23组成的组的序列中的任一个、基本上由其组成或由其组成的重链。在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体具有包含SEQ ID NO:15、基本上由其组成或由其组成的轻链以及包含选自由SEQ ID NO:16-19组成的组的序列中的任一个、基本上由其组成或由其组成的重链。在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体具有包含SEQ ID NO:15的轻链以及包含选自由SEQ ID NO:16-19、22和23组成的组的序列中的任一个的重链。在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体具有基本上由SEQ ID NO:15组成的轻链以及基本上由选自由SEQ ID NO:16-19、22和23组成的组的序列中的任一个组成的重链。在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体具有由SEQ ID NO:15组成的轻链以及由选自由SEQ ID NO:16-19、22和23组成的组的序列中的任一个组成的重链。在一个具体实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体具有基本上由SEQ ID NO:15组成的轻链以及基本上由SEQ ID NO:19组成的重链。在另一个具体实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体具有基本上由SEQ ID NO:15组成的轻链以及基本上由SEQ ID NO:20组成的重链。

[0135] 在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含与SEQ ID NO:16具有至少80%(例如,80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%及其中的任何增量)序列同一性的重链序列。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含含有SEQ ID NO:16的重链序列。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含由SEQ ID NO:16组

成的重链序列。

[0136] 在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含与SEQ ID NO:17具有至少80%(例如,80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%及其中的任何增量)序列同一性的重链序列。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含含有SEQ ID NO:17的重链序列。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含由SEQ ID NO:17组成的重链序列。

[0137] 在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含与SEQ ID NO:18具有至少80%(例如,80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%及其中的任何增量)序列同一性的重链序列。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含含有SEQ ID NO:18的重链序列。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含由SEQ ID NO:18组成的重链序列。

[0138] 在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含与SEQ ID NO:22具有至少80%(例如,80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%及其中的任何增量)序列同一性的重链序列。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含含有SEQ ID NO:22的重链序列。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含由SEQ ID NO:22组成的重链序列。

[0139] 在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含与SEQ ID NO:19具有至少80%(例如,80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%及其中的任何增量)序列同一性的重链序列。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含含有SEQ ID NO:19的重链序列。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含由SEQ ID NO:19组成的重链序列。

[0140] 在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含与SEQ ID NO:23具有至少80%(例如,80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%及其中的任何增量)序列同一性的重链序列。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含含有SEQ ID NO:23的重链序列。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含由SEQ ID NO:23组成的重链序列。

[0141] 在这些实施方案中的任一个中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含与SEQ ID NO:15具有至少80%(例如,80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%及其中的任何增量)序列同一性的轻链序列。在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含含有SEQ ID NO:15的轻链序列。在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体包含由SEQ ID NO:15组成的轻链序列。

[0142] 在具体实例中,在本文公开的治疗方法中使用的抗半乳糖凝集素-9抗体具有SEQ ID NO:19的重链和SEQ ID NO:15的轻链。在一些实施方案中,在本文公开的治疗方法中使用的抗半乳糖凝集素-9抗体是G9.2-17IgG4。在一些实例中,此类抗半乳糖凝集素-9抗体在其重链中不具有C末端赖氨酸残基。

[0143] II.抗半乳糖凝集素-9抗体的制备

[0144] 如本文所述的能够结合半乳糖凝集素-9的抗体可以通过本领域已知的任何方法制备,包括但不限于重组技术。下面提供了一个实例。

[0145] 可以将编码如本文所述的抗半乳糖凝集素-9抗体的重链和轻链的核酸克隆到一

个表达载体中,每个核苷酸序列与合适的启动子可操作地连接。在一个实例中,编码重链和轻链的核苷酸序列中的每一个与不同的启动子可操作地连接。可替代地,编码重链和轻链的核苷酸序列可以与单个启动子可操作地连接,使得重链和轻链均由同一启动子表达。必要时,可以在重链与轻链编码序列之间插入内部核糖体进入位点(IRES)。

[0146] 在一些实例中,将编码抗体的两条链的核苷酸序列克隆到两个载体中,可以将所述载体引入相同或不同的细胞中。当两条链在不同的细胞中表达时,可以将它们中的每一者从表达其的宿主细胞中分离出来,并且可以将分离的重链和轻链混合并在允许形成抗体的合适条件下孵育。

[0147] 一般来讲,可以使用本领域已知的方法将编码抗体的一条或所有链的核酸序列克隆到与合适的启动子可操作地连接的合适的表达载体中。例如,可以使核苷酸序列和载体在合适的条件下与限制酶接触,以在每个分子上产生可以彼此配对并用连接酶连接在一起的互补端。可替代地,可以将合成的核酸接头连接到基因的末端。这些合成接头含有对应于载体中特定限制性位点的核酸序列。表达载体/启动子的选择将取决于用于产生抗体的宿主细胞的类型。

[0148] 多种启动子可以用于表达本文所述的抗体,包括但不限于巨细胞病毒(CMV)中间早期启动子、病毒LTR诸如劳斯肉瘤(Rous sarcoma)病毒LTR、HIV-LTR、HTLV-1LTR、猿猴病毒40(SV40)早期启动子、大肠杆菌(E.coli)lac UV5启动子和单纯疱疹tk病毒启动子。

[0149] 也可以使用可调节启动子。此类可调节启动子包括使用来自大肠杆菌的lac阻遏物作为转录调节剂来调节带有lac操纵子的哺乳动物细胞启动子的转录的那些[Brown,M.等人,Cell,49:603-612(1987)]、使用四环素阻遏物(tetR)的那些[Gossen,M.和Bujard,H.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:5547-5551(1992);Yao,F.等人,Human Gene Therapy,9:1939-1950(1998);Shockelt,P.等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,92:6522-6526(1995)]。其他系统包括使用雌二醇、RU486、二酚米乐甾酮(diphenol murislerone)或雷帕霉素的FK506二聚体、VP16或p65。可从Invitrogen、Clontech和Ariad获得诱导型系统。

[0150] 可以使用包括具有操纵子的阻遏物的可调节启动子。在一个实施方案中,来自大肠杆菌的lac阻遏物可以作为转录调节剂起作用以调节带有lac操纵子的哺乳动物细胞启动子的转录(M.Brown等人,Cell,49:603-612(1987);Gossen和Bujard(1992);M.Gossen等人,Natl.Acad.Sci.USA,89:5547-5551(1992)),将四环素阻遏物(tetR)与转录激活因子(VP 16)组合以产生tetR-哺乳动物细胞转录激活因子融合蛋白tTa(tetR-VP 16),其中带有tetO的最小启动子来源于人巨细胞病毒(hCMV)主要立即早期启动子以产生tetR-tet操纵子基因系统,从而控制哺乳动物细胞中的基因表达。在一个实施方案中,使用四环素诱导型开关。当四环素操纵子正确地定位在CMVIE启动子的TATA元件的下游时,四环素阻遏物(tetR)单独而不是tetR-哺乳动物细胞转录因子融合衍生物可以作为强效的反式调节剂起作用以调节哺乳动物细胞中的基因表达(Yao等人,Human Gene Therapy,10(16):1392-1399(2003))。这种四环素诱导型开关的一个特别优势是它不需要使用四环素阻抑物-哺乳动物细胞反式激活因子或阻抑物融合蛋白(在一些情况下,它们可能对细胞有毒性)(Gossen等人,Natl.Acad.Sci.USA,89:5547-5551(1992);Shockett等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,92:6522-6526(1995))就能实现其可调节效果。

[0151] 另外,载体可以含有例如以下中的一些或全部:选择标志物基因,诸如用于在哺乳

动物细胞中选择稳定或瞬时转染子的新霉素基因;来自人CMV的立即早期基因的用于高水平转录的增强子/启动子序列;来自SV40的用于mRNA稳定性的转录终止和RNA加工信号;SV40多瘤病毒复制起点和用于适当游离基因复制的ColE1;内部核糖体结合位点(IRES);多功能多克隆位点;以及用于有义和反义RNA的体外转录的T7和SP6 RNA启动子。用于产生含有转基因的载体的合适载体和方法是本领域熟知和可获得的。

[0152] 可用于实践本文所述的方法的聚腺苷酸化信号的实例包括但不限于人胶原I聚腺苷酸化信号、人胶原II聚腺苷酸化信号和SV40聚腺苷酸化信号。

[0153] 可将包含编码抗体中的任一种的核酸的一种或多种载体(例如,表达载体)引入合适的宿主细胞中以产生抗体。可以在用于表达抗体或其任何多肽链的合适条件下培养宿主细胞。可以经由常规方法(例如,亲和纯化)由培养的细胞(例如,从细胞或培养上清液中)回收此类抗体或其多肽链。如果需要,可以将抗体的多肽链在合适的条件下孵育允许产生抗体的合适的时间段。

[0154] 在一些实施方案中,用于制备本文所述的抗体的方法涉及编码也如本文所述的抗半乳糖凝集素-9抗体的重链和轻链的重组表达载体。可以通过常规方法(例如,磷酸钙介导的转染)将重组表达载体引入合适的宿主细胞(例如,dhfr-CHO细胞)中。可以选择阳性转化体宿主细胞并在允许形成抗体的两条多肽链表达的合适条件下培养,可以从细胞或培养基中回收该抗体。必要时,可以在允许抗体形成的合适条件下孵育从宿主细胞回收的两条链。

[0155] 在一个实例中,提供了两种重组表达载体,一种编码抗半乳糖凝集素-9抗体的重链,而另一种编码抗半乳糖凝集素-9抗体的轻链。可以通过常规方法(例如,磷酸钙介导的转染)将两种重组表达载体都引入合适的宿主细胞(例如,dhfr-CHO细胞)中。可替代地,可以将表达载体中的每一种引入合适的宿主细胞中。可以选择阳性转化体并在允许抗体的多肽链表达的合适条件下培养。当将两种表达载体引入同一宿主细胞中时,可以从宿主细胞或培养基中回收其中产生的抗体。如果需要,可以从宿主细胞或培养基中回收多肽链,然后在允许抗体形成的合适条件下培养。当将两种表达载体引入不同宿主细胞时,可以从对应的宿主细胞或从对应的培养基中回收它们中的每一种。然后可以在用于抗体形成的合适条件下孵育两条多肽链。

[0156] 使用标准分子生物学技术来制备重组表达载体、转染宿主细胞、选择转化体、培养宿主细胞并从培养基中回收抗体。例如,可以用蛋白A或蛋白G偶联基质通过亲和层析来分离一些抗体。

[0157] 编码如本文所述的抗半乳糖凝集素-9抗体的重链、轻链或两者的核酸、含有所述核酸的载体(例如,表达载体)以及包含所述载体的宿主细胞中的任一中在本公开的范围内。

[0158] 可以使用本领域已知的方法来表征如此制备的抗半乳糖凝集素-9抗体,由此检测和/或测量半乳糖凝集素-9生物活性的降低、改善或中和。例如,在一些实施方案中,ELISA型测定适用于Dectin-1或TIM-3信号传导的半乳糖凝集素-9抑制的定性或定量测量。

[0159] 可以通过将候选抗体与Dectin-1和半乳糖凝集素-9一起孵育并监测以下特征中的任何一个或多个来验证抗半乳糖凝集素-9抗体的生物活性:(a)Dectin-1与半乳糖凝集素-9之间的结合和由该结合介导的信号转导的抑制;(b)预防、改善或治疗血液恶性肿瘤的任何方面;(c)阻断或减少Dectin-1活化;(d)抑制(减少)半乳糖凝集素-9的合成、产生或释

放。可替代地,TIM-3可以用于使用上述方案来验证抗半乳糖凝集素-9抗体的生物活性。可替代地,CD206可以用于使用上述方案来验证抗半乳糖凝集素-9抗体的生物活性。

[0160] 在一些实施方案中,例如通过测量外周和肿瘤内T细胞比率、T细胞活化或通过巨噬细胞分型来评估受试者中的生物活性或功效。

[0161] 确定抗半乳糖凝集素-9抗体的生物活性的其他测定包括测量CD8+和CD4+(常规)T细胞活化(在体外或体内测定中,例如通过测量炎性细胞因子水平,例如IFNγ、TNFα、CD44、ICOS颗粒酶B、穿孔素、IL2(上调);CD26L和IL-10(下调));测量巨噬细胞例如从M2到M1表型的重新编程(体外或体内)(例如,增加的MHCII、减少的CD206、增加的TNFα和iNOS)。可替代地,可以如本文所述例如在体外测定中评估ADCC的水平。

[0162] III.治疗方法

[0163] 本公开提供了一种用于治疗血液恶性肿瘤的方法,该血液恶性肿瘤是在血液形成组织(诸如骨髓或免疫系统的细胞)中开始的癌症。血液恶性肿瘤包括急性淋巴母细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、骨髓增生异常综合征和骨髓增生性肿瘤,诸如原发性血小板增多症、真性红细胞增多症和骨髓纤维化。患有血液恶性肿瘤的受试者可通过常规医学检查,例如实验室测试、器官功能测试、CT扫描或超声来鉴定。

[0164] A.药物组合物

[0165] 本文公开的任何抗Gal9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))以及编码核酸或核酸组、包含其的载体可以与药学上可接受的载剂(赋形剂)混合以形成用于治疗靶疾病的药物组合物。“可接受”是指载剂必须与组合物的活性成分相容(并且优选地,能够稳定活性成分)并且对待治疗的受试者无害。药学上可接受的赋形剂(载剂)包括本领域熟知的缓冲剂。参见例如,Remington:The Science and Practice of Pharmacy第20版(2000)Lippincott Williams and Wilkins,编者K.E.Hoover。

[0166] 用于本发明方法的药物组合物可包含呈冻干制剂或水溶液形式的药学上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂。(Remington:The Science and Practice of Pharmacy第20版(2000)Lippincott Williams and Wilkins,编者K.E.Hoover)。可接受的载剂、赋形剂或稳定剂在使用的剂量和浓度下对接受者是无毒的,并且可以包括缓冲剂,诸如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(诸如十八烷基二甲基苄基氯化铵;氯化六甲双铵;苯扎氯铵,苄索氯铵;苯酚,丁基或苄基醇;对羟基苯甲酸烷基酯,诸如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(小于约10个残基)多肽;蛋白质,诸如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,诸如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或葡聚糖;螯合剂,诸如EDTA;糖,诸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇;成盐抗衡离子,诸如钠;金属络合物(例如,Zn-蛋白络合物);和/或非离子表面活性剂,诸如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。

[0167] 在一些实例中,本文所述的药物组合物包含含有抗体(或编码核酸)的脂质体,其可通过本领域已知的方法制备,如Epstein等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 82:3688(1985);Hwang等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4030(1980);和美国专利号4,485,045和4,544,545中所描述的。具有延长循环时间的脂质体公开于美国专利号5,013,556中。特别

有用的脂质体可以通过反相蒸发法用脂质组合物产生,该脂质组合物包含磷脂酰胆碱、胆固醇和PEG衍生的磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)。脂质体通过限定孔径的过滤器挤出,以产生具有所需直径的脂质体。

[0168] 抗体或编码核酸也可以被包埋在例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中,例如分别在胶体药物递送系统(例如脂质体、白蛋白微球、微乳剂、纳米颗粒和纳米胶囊)中或在粗乳剂中的羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊。此类技术是本领域已知的,参见例如,Remington,The Science and Practice of Pharmacy第20版Mack Publishing(2000)。

[0169] 用于体内施用的药物组合物必须是无菌的。这易于通过例如经由无菌过滤膜过滤来实现。通常将治疗性治疗性抗体组合物组合物放到具有无菌进入端口的容器中,例如具有通过皮下注射针可刺穿的塞子的静脉内溶液袋或小瓶。

[0170] 在一些实例中,药物组合物是可注射制剂。可注射制剂可含有各种载剂,诸如植物油、二甲基乙酰胺、二甲基甲酰胺、乳酸乙酯、碳酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯、乙醇和多元醇(甘油、丙二醇、液体聚乙二醇等)。对于静脉内输注,可以通过滴注方法施用水溶性抗体,由此输注含有抗体和生理学上可接受的赋形剂的药物制剂。生理学上可接受的赋形剂可包括例如5%右旋糖、0.9%盐水、林格氏溶液或其他合适的赋形剂。可以将抗体的肌内制剂(例如,合适的可溶性盐形式的无菌制剂)溶解在药物赋形剂(诸如注射用水、0.9%盐水或5%葡萄糖溶液)中并进行施用。

[0171] (B)血液恶性肿瘤的治疗

[0172] 在一些实施方案中,本公开提供了使用有效量的本文所述的抗半乳糖凝集素-9抗体(包括但不限于G9.2-17IgG4(具有SEQ ID NO:19的重链和SEQ ID NO:15的轻链))治疗血液恶性肿瘤(例如涉及Gal9+癌细胞的血液恶性肿瘤)的方法。

[0173] 示例性靶向血液恶性肿瘤

[0174] 在一些实例中,本文所公开的方法适用于患有白血病(例如,急性骨髓性白血病(AML)或急性淋巴母细胞性白血病(ALL),包括T细胞ALL和B细胞ALL)的人类患者。在其他实例中,本文公开的方法适用于患有淋巴瘤(例如本文公开的那些)的人类患者。在又另一个实例中,本文公开的方法适用于患有骨髓增生异常综合征(MDS)的人类患者。

[0175] 急性骨髓性白血病(AML)是在血液和骨髓中开始并且可以快速进展的血液癌。AML涉及由骨髓产生的异常白细胞,其充满血液和骨髓,为健康细胞留下较少的空间。与AML相关的症状包括出血和贫血。未经治疗的AML可能危及生命。

[0176] 急性淋巴母细胞性白血病(急性淋巴细胞性白血病或ALL)是可快速扩散至血细胞的骨髓癌症。ALL导致骨髓产生太多的未成熟白细胞(淋巴母细胞)。这些异常细胞排除了血液和骨髓中的健康红细胞和白细胞以及血小板,使得身体难以对抗感染和疾病。作为最常见的儿童白血病和癌症,ALL通常发生在15岁之前。T细胞急性淋巴母细胞性白血病(T-ALL)是骨髓的侵袭性恶性肿瘤,并且占所有ALL病例的约20%。B细胞急性淋巴母细胞性白血病(B-ALL)是儿童最常见的癌症类型,通常影响患者的B细胞。

[0177] 骨髓增生异常综合征(MDS)是当骨髓中的血液形成细胞变得异常时可能发生的疾患。这导致一种或多种类型血细胞的数量较少。在MDS中,骨髓中的一些细胞是异常的(发育异常的)并且具有产生新血细胞的问题。由这些骨髓细胞形成的许多血细胞是有缺陷的。有

缺陷的细胞通常比正常细胞更早死亡,并且身体也破坏一些异常血细胞,使患者没有足够的正常血细胞。尽管MDS中最常见的发现是红细胞的缺乏(贫血),但不同的细胞类型可能受到影响。

[0178] 在一些情况下,受试者可以是患有难治性疾病(例如,难治性AML、难治性ALL或难治性MDS)的人类患者。如本文所用,"难治性"是指对治疗没有响应或变得有抗性的肿瘤。在一些情况下,受试者可以是患有复发性疾病(例如,复发性AML、复发性ALL、复发性MDS或复发性胆管癌)的人类患者。如本文所用,"复发性"或"复发"是指在治疗改善(例如,部分或完全响应)一段时间后重新出现或进展的肿瘤。

[0179] 在一些情况下,受试者是具有如相对于对照水平升高的半乳糖凝集素-9水平的人类患者。半乳糖凝集素-9的水平可以是人类患者中半乳糖凝集素-9的血浆或血清水平。在其他实例中,半乳糖凝集素-9的水平是肿瘤内癌细胞的半乳糖凝集素-9的水平。在其他实例中,半乳糖凝集素-9的水平是肿瘤内免疫细胞的半乳糖凝集素-9的水平。在其他实例中,半乳糖凝集素-9的水平可以是细胞表面半乳糖凝集素-9的水平,例如癌细胞上半乳糖凝集素-9的水平。在一个实例中,半乳糖凝集素-9的水平可以是例如在癌细胞的表面上表达的半乳糖凝集素-9的水平,或在免疫细胞中表达的半乳糖凝集素-9的水平。在一些实例中,对照水平代表健康受试者中半乳糖凝集素-9的水平。在一些实施方案中,对照水平可以是治疗前的基线水平。

[0180] 为了鉴定这样的受试者,可以从疑似患有血液恶性肿瘤的受试者获得合适的生物样本,并且可以使用常规方法(例如,ELISA或FACS)来分析生物样本以确定其中所含的半乳糖凝集素-9(例如,游离、细胞表面表达或总体)的水平。在一些实施方案中,例如,如本文所述制备类器官培养物,并用于评估受试者中的半乳糖凝集素-9水平。从作为类器官制备过程的一部分获得的某些级分中得到的单细胞也适用于评估受试者中的半乳糖凝集素-9水平。在一些情况下,用于测量游离形式或在细胞表面表达的半乳糖凝集素-9水平的测定涉及使用特异性结合半乳糖凝集素-9(例如,特异性结合人半乳糖凝集素-9)的抗体。本领域已知的任何抗半乳糖凝集素-9抗体可以在上述任何测定中试验适用性,然后以常规方式用于此类测定中。在一些实施方案中,本文所述的抗体(例如,G9.2-17抗体)可用于如测定中。在一些实施方案中,抗体描述于美国专利号10,344,091和WO2019/084553中,所述专利各自的相关公开内容为了本文引用的目的和主题以引用的方式并入。在一些实例中,抗半乳糖凝集素-9抗体是Fab分子。如本文所公开的用于确定半乳糖凝集素-9水平的测定方法也在本公开的范围内。

[0181] 在一些实施方案中,待通过本文公开的任何方法治疗的人类患者可满足以下实施例1中列出的纳入和排除标准中的一个或多个。例如,此类人类患者可以满足以下实施例1中列出的所有纳入和排除标准。

[0182] 示例性治疗条件

[0183] 在一些实施方案中,包含有效量的本文公开的抗Gal9抗体(例如,G9.2-17IgG4)的药物组合物可以例如以合适的剂量和合适的给药频率给予需要治疗的受试者(例如,人类患者,其可以是成人或儿童)。例如,抗体可以经由合适的途径(例如,静脉内输注)以约2mg/kg(例如,约4mg/kg)至约32mg/kg的剂量每周一次至每6周一次施用于受试者。也参见本文的公开内容。

[0184] 术语“约”或“大约”意指在如本领域普通技术人员所确定的特定值的可接受误差范围内,其部分取决于如何测量或确定该值,即测量系统的限制。例如,根据本领域的实践,“约”可以意指在可接受的标准偏差内。可替代地,“约”可以意指给定值的最多±20%、优选最多±10%、更优选最多±5%且更优选最多±1%的范围。可替代地,特别是对于生物系统或过程,该术语可以意指在值的一个数量级内,优选在2倍内。在本申请和权利要求中描述特定值的情况下,除非另有说明,否则术语“约”是隐含的,并且在此上下文中表示在特定值可接受的误差范围内。

[0185] 有效量的本文所述的药物组合物可以经由合适的途径全身或局部施用于需要治疗的受试者(例如,人)。在一些实施方案中,通过静脉内施用(例如,作为推注或通过在一段时间内连续输注、通过肌内、腹膜内、脑脊髓内、皮下、动脉内、关节内、滑膜内、鞘内、肿瘤内、尿路上皮下、口服、吸入或局部途径)施用抗半乳糖凝集素-9抗体。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体通过静脉内输注施用于受试者。在一个实施方案中,抗半乳糖凝集素-9抗体腹膜内施用于受试者。

[0186] 如本文所用,“有效量”是指单独或与一种或多种其他活性剂组合赋予受试者治疗效果所需的每种活性剂的量。在一些实施方案中,治疗效果是在肿瘤微环境中降低半乳糖凝集素9活性和/或量/表达、降低Dectin-1信号传导、降低TIM-3信号传导、降低CD206信号传导和/或增加抗肿瘤免疫响应。增加抗肿瘤响应的非限制性实例包括增加效应T细胞的活化水平或将TAM从M2表型转换为M1表型。在一些情况下,抗肿瘤响应包括增加ADCC响应。确定一定量的抗体是否达到治疗效果对于本领域技术人员来说是显而易见的。如本领域技术人员所认识到的,有效量根据所治疗的特定疾患、疾患的严重程度、个体患者参数(包括年龄、身体状况、体型、性别和体重)、治疗的持续时间、同步治疗的性质(如果有的话)、具体的施用途径以及健康从业者知识和专业知识范围内的类似因素而变化。

[0187] 经验考虑(诸如半衰期)通常有助于确定剂量。例如,与人免疫系统相容的抗体(诸如人源化抗体或全人抗体)在一些情况下用于延长抗体的半衰期和防止抗体受到宿主免疫系统的攻击。施用频率可以在治疗过程中确定和调整,并且通常但不一定基于目标疾病/病症的治疗和/或抑制和/或改善和/或延迟。可替代地,抗体的持续连续释放制剂可能是合适的。用于实现持续释放的各种制剂和装置是本领域已知的。

[0188] 如本文所用,术语“治疗”是指将包含一种或多种活性剂的组合物应用或施用至患有目标疾病或病症、疾病/病症的症状或对疾病/病症的倾向的受试者,目的是治愈、愈合、缓解、缓和、改变、补救、减轻、改善或影响病症、疾病或病症的症状或对疾病或病症的倾向。治疗的非限制性实例包括减小肿瘤大小、延迟肿瘤生长、减轻病变和/或延迟病变的发展,和/或延长患有靶血液恶性肿瘤(诸如AML、MDS或ALL(T细胞或B细胞ALL))的人类患者的存活,这些患者可以是难治性的和/或复发的。

[0189] 缓解目标疾病/障碍包括延迟疾病的发展或进展或者降低疾病严重程度或者延长存活。缓解疾病或延长存活不一定需要治愈性结果。如本文所用,“延迟”目标疾病或病症的发展是指推迟、阻碍、减缓、延迟、稳定和/或延缓疾病的进展。这种延迟可以是不同的时间长度,这取决于疾病的历史和/或被治疗的个体。“延迟”或减轻疾病的发展或延迟疾病发作的方法是与不使用该方法相比,降低在给定时间范围内出现疾病的一种或多种症状的可能性和/或减轻在给定的时间范围内症状的程度的方法。此类比较通常基于临床研究,使用的

受试者数量足以得出具有统计学意义的结果。

[0190] 疾病的“发展”或“进展”是指疾病的初始表现和/或随后的进展。可以使用本领域众所周知的标准临床技术检测和评估疾病的发展。然而,发展也指可能无法检测的进展。出于本公开的目的,发展或进展是指症状的生物学过程。“发展”包括发生、复发和发作。如本文所用,目标疾病或障碍的“发作”或“发生”包括初次发作和/或复发。

[0191] 在一个实例中,如本文所述的抗体的剂量在已经给予一次或多次抗体施用的个体中凭经验确定。向个体给予递增剂量的抗体拮抗剂。为了评估抗体拮抗剂的功效,可以遵循疾病/病症的指标,诸如任何公开的指标。

[0192] 单一疗法

[0193] 在一些实施方案中,本文公开的任何抗Gal9抗体(诸如G9.2-17(IgG4))可以用作单一治疗剂(唯一的活性剂)用于治疗目标血液恶性肿瘤,诸如AML、MDS或ALL。鉴于针对Gal9+癌细胞的抗体的直接细胞杀伤作用,预期本文公开的抗Gal9抗体作为单一治疗剂在治疗涉及Gal9+癌细胞的血液癌症中是有效的。

[0194] 在一些实施方案中,抗Gal9抗体可以每周一次至每六周一次,例如经由静脉内输注施用于患者。在一些实例中,抗体可以每1-4周(例如,每2-4周)一次施用。在一个实例中,抗体可以每周一次施用。在另一个实例中,抗体可以每2周一次施用。

[0195] 在一些实施方案中,本文公开的抗半乳糖凝集素-9抗体(例如,G9.2-17IgG4)经由30分钟至6小时的输注期静脉内施用。在一些实例中,抗半乳糖凝集素-9抗体的静脉内输注可进行30分钟至2小时。在其他实例中,抗半乳糖凝集素-9抗体可经由长输注期(例如约2-6小时,例如约2-4小时或约4-6小时)施用。在具体实例中,示例性抗半乳糖凝集素-9抗体可以在约3小时、约4小时、约5小时或约6小时的时段内静脉内输注。

[0196] 在一些实施方案中,本文公开的用于治疗血液恶性肿瘤(例如,本文公开的那些,诸如AML、MDS或ALL)的抗半乳糖凝集素9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))可以以约0.2mg/kg至约32mg/kg的剂量施用于受试者,例如,该剂量可选自0.2mg/kg、0.63mg/kg、2mg/kg、4mg/kg、6mg/kg、6.3mg/kg、7.5mg/kg、8mg/kg、10mg/kg、12mg/kg、16mg/kg、32mg/kg或更高剂量水平。在一些实施方案中,抗半乳糖凝集素9抗体可以以约1mg/kg至约32mg/kg的剂量施用于受试者,例如,该剂量可选自2mg/kg、4mg/kg、8mg/kg、12mg/kg、16mg/kg、32mg/kg或更高剂量水平。在一些实例中,抗半乳糖凝集素9抗体可以以约0.2mg/kg至约32mg/kg的剂量施用于受试者,例如,该剂量可选自0.2mg/kg、0.63mg/kg、2mg/kg、4mg/kg、6mg/kg、6.3mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg、12mg/kg、16mg/kg、32mg/kg或更高剂量水平。

[0197] 在一个实例中,本文公开的抗半乳糖凝集素-9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))以每周2mg/kg的剂量施用于受试者。在另一个实例中,本文公开的抗半乳糖凝集素-9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))以每周4mg/kg的剂量施用于受试者。在又另一个实例中,本文公开的抗半乳糖凝集素-9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))以每周6.3mg/kg的剂量施用于受试者。在又另一个实例中,本文公开的抗半乳糖凝集素-9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))以每周7.5mg/kg的剂量施用于受试者。在仍另一个实例中,本文公开的抗半乳糖凝集素-9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))以每周10mg/kg的剂量施用于受试者。在又另一个实例中,本文公开的抗半乳糖凝集素-9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))以每周12mg/kg的剂量施用于受试者。在另一个实例中,本文公开的抗半乳糖凝集素-9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))以每周16mg/kg的剂量施用于受

试者。

[0198] 在一个实例中,本文公开的抗Gal9抗体(例如,G9.2-17(IgG4))可以以4mg/kg(例如,通过i.v.)每周一次或每两周一次给予患有目标血液恶性肿瘤(诸如AML、MDS或ALL)的人类患者。在另一个实例中,抗Gal9抗体可以以7.5mg/kg(例如,通过i.v.)每周一次或每两周一次给予人类患者。在又另一个实例中,抗Gal9抗体可以以12mg/kg(例如,通过i.v.)每周一次或每两周一次给予人类患者。在仍另一个实例中,抗Gal9抗体可以以16mg/kg(例如,通过i.v.)每周一次或每两周一次给予人类患者。

[0199] 在一些情况下,在本文公开的任何治疗方法中可以采用平稳给药时间表。例如,本文公开的抗Gal-9抗体(诸如G9.2-17(IgG4))可以以平稳剂量(例如,约410mg至约1120mg)每周一次至每4周一次(例如,每周一次或每两周一次)施用于受试者。在一些实例中,抗Gal-9抗体以约410mg至约505mg(例如,约410mg至约450mg)每周一次施用于受试者。在一些实例中,抗Gal-9抗体以约410mg至约505mg(例如,约410mg至约450mg)每两周一次施用于受试者。在一些实例中,抗Gal-9抗体以约650mg至约800mg(例如,约650mg至约700mg)每周一次施用于受试者。在一些实例中,抗Gal-9抗体以约650mg至约800mg(例如,约650mg至约700mg)每两周一次施用于受试者。在一些实例中,抗Gal-9抗体以约1040mg至约1,280mg(例如,约1040mg至约1120mg)每周一次施用于受试者。在一些实例中,抗Gal-9抗体以约1040mg至约1,280mg(例如,约1040mg至约1120mg)每两周一次施用于受试者。在一些实例中,抗Gal-9抗体以约2080mg至约2560mg(例如,约2080mg至约2400mg)每周一次施用于受试者。在一些实例中,抗Gal-9抗体以约2080mg至约2560mg(例如,约2080mg至约2400mg)每两周一次施用于受试者。

[0200] 在其他情况下,平稳给药时间表可包含每周一次至每六周一次(例如,每1周、每2周、每3周、每4周、每5周或每6周)约130mg至约320mg。例如,平稳给药时间表可包括每周一次约130mg至约160mg。可替代地,平稳给药时间表可包括每两周一次约130mg至约160mg。在另一个实例中,平稳给药时间表可包括每周一次约260mg至约320mg。可替代地,平稳给药时间表可包括每两周一次约260mg至约320mg。

[0201] 在一些情况下,治疗期可为6个月至12个月。在其他情况下,治疗期可为12个月至24个月。在其他情况下,治疗期可超过24个月。

[0202] 在一些实施方案中,根据患者对治疗的响应来调整剂量。在一些实施方案中,剂量在治疗间隔之间改变。在一些实施方案中,可暂时停止治疗。在一些实施方案中,可暂时停止治疗。在一些实施方案中,暂时停止抗半乳糖凝集素-9疗法。在一些实施方案中,暂时停止与抗半乳糖凝集素-9抗体组合使用的检查点抑制剂疗法。在一些实施方案中,暂时停止两者。

[0203] 在一些情况下,人类患者可从低剂量(例如,4mg/kg、6.3mg/kg或7.5mg/kg)的本文公开的抗半乳糖凝集素9抗体(诸如G9.2-17(IgG4))开始。当适用时,剂量可以升高至例如10mg/kg、12mg/kg、16mg/kg或32mg/kg,这可以由医学从业者确定。类似地,当适用时,人类患者可以以长的给药频率(例如,每两周)开始并调整到短的给药频率(例如,每周),反之亦然。

[0204] 组合疗法

[0205] 在一些实施方案中,本文所述的任何抗Gal9抗体(例如,如本文所公开的G9.2-17

抗体,诸如G9.2-17(IgG4))可以与第二治疗剂(例如,化疗剂)组合用于治疗如本文所公开的目标血液恶性肿瘤(例如,AML、MDS或ALL)。合适的化疗剂或其他组合药剂和治疗模式的选择将取决于各种因素,包括目标血液恶性肿瘤、疾病的严重程度、年龄、性别、治疗史、对先前治疗的抗性等,其在医学从业者的知识范围内。

[0206] 例如,抗Gal9抗体(诸如G9.2-17(IgG4))可以与合适的化疗剂组合用于治疗AML。示例性化疗剂包括但不限于阿扎胞苷(Azacitidine)、Cerubidine(盐酸柔红霉素(Daunorubicin Hydrochloride))、环磷酰胺、阿糖胞苷(Cytarabine)、盐酸柔红霉素和阿糖胞苷脂质体、Daurismo(马来酸格拉吉布(Glasdegib Maleate))、地塞米松(Dexamethasone)、盐酸多柔比星(Doxorubicin Hydrochloride)、甲磺酸恩西地平(Enasidenib Mesylate)、吉妥珠单抗奥唑米星(Gemtuzumab Ozogamicin)、富马酸吉瑞替尼(Gilteritinib Fumarate)、马来酸格拉吉布、伊达比星(Idamyc in)PFS(盐酸伊达比星(Idarubicin Hydrochloride))、盐酸伊达比星、Idhifa(甲磺酸恩西地平)、艾伏尼布(Ivosidenib)、米哚妥林(Midostau rin)、盐酸米托蒽醌(Mitoxantrone Hydrochloride)、Mylotarg(吉妥珠单抗奥唑米星)、Onureg(阿扎胞苷)、波尼松(Prednisone)、红比霉素(Rubidomycin)(盐酸柔红霉素)、Rydapt(米哚妥林)、Tabloid(巯鸟嘌呤(Thioguanine))、巯鸟嘌呤、Tibsovo(艾伏尼布)、Trisenox(三氧化二砷)、Venclexta(维奈克拉(Venetoclax))、维奈克拉、硫酸长春新碱(Vincristine Sulfate)、Vyxeos(盐酸柔红霉素和阿糖胞苷脂质体)、Xo spata(富马酸吉瑞替尼)、萨巴托利单抗(Sabatolimab)或它们的组合。在一些情况下,与用于治疗AML的抗Gal9抗体共同使用的第二治疗剂可以是PD-1抑制剂。实例包括但不限于抗PD-1抗体(例如,派姆单抗(pembrolizumab)、纳武单抗(nivolumab)、替色立珠单抗(tiselliz umab)、多塔利单抗(dostarlimab)和西米普利单抗(cemiplimab))或抗PD-L1抗体(例如,度伐利尤单抗(durvalumab)、阿维单抗(avelumab)和阿替利珠单抗(atezolizumab))。

[0207] 在其他实例中,抗Gal9抗体(诸如G9.2-17(IgG4))可以与合适的化疗剂组合用于治疗MDS。示例性化疗剂包括但不限于阿扎胞苷(例如,对于具有所有MDS亚型的低风险和高风险患者);地西他滨(Decitabine)(例如,对于具有所有MDS亚型的低风险和高风险患者);来那度胺(Lenalidomide)(例如,对于具有分离的del(5q)并且具有低风险或中等-1风险的IPSS评分的输血依赖性MDS患者);Luspatercept-aamt(例如,对于具有环形铁粒幼细胞(MDS-RS)或具有环形铁粒幼细胞和血小板增多症的骨髓增生异常/骨髓增生性肿瘤(MDS/MPN-RS-T)的成人MDS患者,其在一些情况下已经失效红细胞生成刺激剂(ESA)或不太可能对ESA作出响应,并且需要在8周内输血2个或更多个红细胞(RBC)单位);ASTX727(例如,对于患有MDS或CMML的成年患者,其为中间-1、中间-2和高风险IPSS组,包括先前治疗和未治疗的、原发性和继发性MDS,包括患有难治性贫血、具有环形铁粒幼细胞的难治性贫血、具有过量母细胞和CMML的难治性贫血的患者);罗特西普(Luspatercept)、地西他滨/西达尿苷(Cedazuridine)、Pevonedistat、莫洛利单抗(Magrolimab)或它们的组合。

[0208] 在一些实施方案中,抗Gal9抗体可以与本文公开的任何第二治疗剂同时施用。在一些实施方案中,抗Gal9抗体可以在第二治疗剂之前施用。可替代地,抗Gal9抗体可以在第二治疗剂之后施用。在一些情况下,第二治疗剂是全身施用的。在其他情况下,第二治疗剂是局部施用的。在一些实例中,第二治疗剂通过静脉内施用(例如,作为推注或通过在一段

时间内连续输注、通过肌内、腹膜内、脑脊髓内、皮下、动脉内、关节内、膀胱内、滑膜内、鞘内、瘤内或尿路上皮下途径)施用。在一个实施方案中,第二治疗剂通过静脉内输注施用于受试者。

[0209] 监测治疗响应

[0210] 可以通过本领域熟知的方法来评估如本文所公开的对目标血液恶性肿瘤的治疗功效。

[0211] 在一些实施方案中,可以通过常规方法来监测本文公开的任何治疗方法的抗肿瘤活性。例如,在施用抗体和任选地第二治疗剂之前、期间和之后,可以在生物样本(诸如血液、血清、血浆、尿液、腹膜液和/或来自组织或器官的活检)中测量受试者中的癌细胞和/或生物标志物。可以分析由此获得的结果以评估治疗功效。例如,可以在治疗之前、期间和之后测量Gal9+癌细胞的水平以评估抗Gal9抗体(诸如G9.2-17(IgG4))的直接杀伤作用。

[0212] 可替代地或另外,对治疗的响应还可以通过以下项中的一种或多种来表征(例如,以评估免疫调节作用):血液和肿瘤中的免疫表型、细胞因子谱(血清)、血液(血清或血浆)中的可溶性半乳糖凝集素9水平、半乳糖凝集素9肿瘤组织表达水平和通过免疫组织化学得到的表达模式(肿瘤、基质、免疫细胞)、肿瘤突变负担(TMB)、错配修复状态或与疾病相关的肿瘤标志物(例如,如在大约3个月、6个月或12个月时或者在更晚的时间或者在任何其他临床指示的时间点所测量)。

[0213] 在一些实例中,可以在治疗之前和之后测定血液或肿瘤中免疫细胞和免疫细胞标志物水平的变化,例如免疫活化。可以使用本领域已知的方法(诸如多重流式细胞术和多重免疫组织化学)在患者血液和组织样本中测量此类变化。例如,可以在治疗开始之前的基线处和在治疗期间的不同时间点评估一组表型和功能性PBMC免疫标志物。表2列出了可用于这些评估方法的标志物的非限制性实例。流式细胞术(FC)是分析细胞表型和功能的一种快速且信息量大的首选技术方法,在免疫表型监测方面已占据突出地位。它允许表征复杂混合物(诸如血液)中的许多细胞亚群,包括稀有亚群,并代表了一种获取大量数据的快速方法。FC的优点是速度快、灵敏度高且特异性强。标准化抗体组和程序可以用于分析和分类免疫细胞亚型。多重IHC是一种强大的研究工具,它提供在免疫子集数量和位置方面描述肿瘤免疫背景的客观定量数据,并允许在单个组织切片上评估多个标志物。计算机算法可以用于量化患者活检的整个切片图像中基于IHC的生物标志物含量,从而将显色IHC方法和染色与数字病理学方法相结合。

[0214] 表2.PBMC分型标志物

[0215]

	PBMC 分型标志物		PBMC 分型标志物
CD3	总 T 细胞	CD16	NK 细胞
CD4	CD4+ T 细胞	CD11b	单核细胞/巨噬细胞
CD8	CD8+ T 细胞	CD11c	单核细胞/巨噬细胞、DC
CD25	Treg 活化	CD14	单核细胞亚群、巨噬细胞
CD27	T 细胞成熟；原态/记忆 B 细胞	CD33	总骨髓细胞
CD38	T 细胞成熟；原态/记忆 B	FceR1 a	抗原呈递 DC 细胞

[0216]

	细胞		
CD45RA	原态/记忆细胞	CD19	总 B 细胞
CD45RO	原态/记忆细胞	T-bet	T 细胞亚群
CD56	NKT/NK 细胞(T 细胞亚群)	gdTCR	γδT 细胞
CD127	T 细胞亚群	CD274 (PDL-1)	检查点
CD152 (CLTA-4)	检查点	Tim-3	检查点
CD279 (PD-1)	检查点	TCRVa24 -Ja18	iNKT 细胞
FoxP3	Treg 细胞	活/死	通用
HLA-DR	活化/抗原呈递	CD45	通用

[0217] 可监测用如本文所公开的任何抗Ga19抗体(例如,G9.2-17(IgG4))单独或与如本文所公开的第二治疗剂(例如,化疗剂)组合治疗的受试者的不良作用(例如,严重不良作用)的发生。待监测的示例性不良作用提供于以下实施例1中。如果观察到出现不良作用,则可以改变那名受试者的治疗条件。例如,可减少抗半乳糖凝集素-9抗体的剂量和/或可延长给药间隔。可由合格的临床医生评估减少的合适性和程度。在一些实施方案中,可以实施一次或多次剂量减少前一剂量水平的约10%至约80%。在一些实施方案中,可以实施一次或多次剂量减少前一剂量水平的约10%至约20%、约20%至约30%、约30%至约40%、约40%至约50%、约50%至约60%或约70%至约80%。在一些实施方案中,可以实施一次或多次剂量减少前一剂量水平的10%至20%、20%至30%、30%至40%、40%至50%、50%至60%或70%至80%。在一些实施方案中,可以实施一次或多次剂量减少前一剂量水平的约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%或约80%。在一些实施方案中,实施一次或多次剂量减少前一剂量水平的10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%。可替代地或另外,可以减少第二治疗剂的剂量和/或可以延长检查点抑制剂的给药间隔。在一些情况(例如,发生危及生命的不良作用)下,可终止治疗。

[0218] 本文公开的任何方法可以涉及当在治疗期间观察到一种或多种不良事件(例如,本文公开的那些)时减少抗Ga19抗体的剂量。

[0219] IV.用于治疗与半乳糖凝集素-9相关的疾病的试剂盒

[0220] 本公开还提供了用于治疗或减轻血液恶性肿瘤(诸如本文所公开的那些)(例如,

AML、MDS或ALL)的试剂盒。此类试剂盒可以包括一个或多个容器,这些容器包含抗Gal9抗体,例如本文所述的那些中的任一者(例如,G9.2-17(IgG4)),以及任选地待与也在本文中描述的抗Gal9抗体共同使用的第二治疗剂(例如,如本文所公开的化疗剂)。

[0221] 在一些实施方案中,试剂盒可以包括根据本文所述的方法中的任一种使用的说明书。所包括的说明可以包括对施用抗Gal9抗体和任选地第二治疗剂以治疗、延迟发作或减轻如本文所述的那些目标疾病的描述。在一些实施方案中,试剂盒还包括基于鉴定个体是否患有目标疾病(例如,应用如本文所述的诊断方法)来选择适合治疗的个体的描述。在又其他实施方案中,说明书包括将抗体施用于有处于目标疾病的风险下的个体的描述。

[0222] 与抗Gal9抗体的使用相关的说明通常包括有关预期治疗的剂量、给药时间表和施用途径的信息。容器可以是单位剂量、散装包装(例如,多剂量包装)或亚单位剂量。本发明的试剂盒中提供的说明书通常是在标签或包装插页(例如,包括在试剂盒中的纸片)上的书面说明书,但机器可读说明书(例如,在磁盘或光存储盘上携带的说明书)也是可接受的。

[0223] 标签或包装插页指示组合物用于治疗、延迟发作和/或缓解目标血液恶性肿瘤。在一些实施方案中,提供了用于实践本文所述的方法中的任一种的说明。

[0224] 本发明的试剂盒在合适的包装中。合适的包装包括但不限于小瓶、瓶子、广口瓶、软包装(例如,密封的聚酯薄膜或塑料袋)等。还设想了与特定装置(诸如吸入器、鼻施用装置(例如雾化器)或输注装置(诸如微型泵))组合使用的包装。在一些实施方案中,试剂盒具有无菌进入端口(例如容器可以是静脉内溶液袋或具有可被皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。在一些实施方案中,容器还具有无菌进入端口(例如容器是静脉内溶液袋或具有可被皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。组合物中的至少一种活性剂是本文所述的抗Gal9抗体。

[0225] 试剂盒可任选地提供附加组分,诸如缓冲液和解释性信息。通常,试剂盒包括容器和在容器上或与容器相关的标签或包装插页。在一些实施方案中,本发明提供包含上述试剂盒的内容物的制品。

[0226] 一般技术

[0227] 除非另有指示,否则本发明的实践采用分子生物学(包括重组技术)、微生物学、细胞生物学、生物化学和免疫学的常规技术,这些技术在本领域的技术范围内。此类技术在文献中充分解释,诸如Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第二版(Sambrook等人,1989)Cold Spring Harbor Press;Oligonucleotide Synthesis(M.J.Gait编辑,1984);Methods in Molecular Biology,Humana Press;Cell Biology:ALaboratory Notebook(J.E.Cellis编辑,1998)Academic Press;Animal Cell Culture(R.I.Freshney编辑,1987);Introduction to Cell and Tissue Culture(J.P.Mather和P.E.Roberts,1998)Plenum Press;Cell and Tissue Culture:Laboratory Procedures(A.Doyle,J.B.Griffiths和D.G.Newell编辑,1993-8)J.Wiley and Sons;Methods in Enzymology(Academic Press,Inc.);Handbook of Experimental Immunology(D.M.Weir和C.C.Blackwell编辑);Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells(J.M.Miller和M.P.Calos编辑,1987);Current Protocols in Molecular Biology(F.M.Ausubel等人编辑,1987);PCR:The Polymerase Chain Reaction(Mullis等人编辑,1994);Current Protocols in Immunology(J.E.Coligan等人编辑,1991);Short Protocols in Molecular Biology(Wiley和Sons,1999);Immunobiology(C.A.Janeway和P.Travers,

1997);Antibodies(P.Finch,1997);Antibodies:a practical approach(D.Catty.编辑,IRL Press,1988-1989);Monoclonal antibodies:a practical approach(P.Shepherd和C.Dean编辑,Oxford University Press,2000);Using antibodies:a laboratory manual(E.Harlow和D.Lane(Cold Spring Harbor Laboratory Press,1999);The Antibodies(M.Zanetti和J.D.Capra编辑,Harwood Academic Publishers,1995)。

[0228] 无需进一步阐述,相信本领域技术人员基于以上描述可以最大限度地利用本发明。因此,以下具体实施方案应被解释为仅是说明性的,而不以任何方式限制本公开的其余部分。为了本文引用的目的或主题,本文引用的所有出版物均以引用的方式并入。

[0229] 实施例

[0230] 实施例1:G9.2-17(IgG4)在复发性/难治性急性骨髓性白血病(AML)或复发性/难治性高风险骨髓增生异常综合征(MDS)患者中的安全性、药代动力学(PK)和抗肿瘤活性的1期开放标签、多中心研究

[0231] G9.2-17(IgG4)是靶向半乳糖凝集素-9(gal-9)蛋白的碳水化合物识别结构域2(CRD2)的完全人免疫球蛋白γ(IgG)4单克隆抗体(mAb),并且正在开发用于治疗患有复发性和难治性实体瘤和血液恶性肿瘤的患者。Gal-9在抗肿瘤免疫响应中起关键调节作用。在许多癌症类型(实体瘤和血液恶性肿瘤)中过表达和/或分泌的Gal-9充当免疫抑制剂,通过调节巨噬细胞、T细胞、天然杀伤(NK)细胞和骨髓衍生的抑制细胞(MDSC)赋予肿瘤细胞免疫特权并使免疫介导的癌症攻击失效,以及阻碍癌细胞对细胞毒性T细胞诱导的死亡的易感性。已经设计了G9.2-17(IgG4)来诱导gal-9的阻断和干扰gal-9的免疫抑制功能,其可以导致免疫再活化和肿瘤生长的抑制/控制。

[0232] 预期G9.2-17(IgG4)至少在以下方面有益于急性骨髓性白血病(AML)和骨髓增生异常综合征(MDS)(诸如复发性和/或难治性AML或MDS)的治疗:

[0233] • 良好的安全性概况。

[0234] • 待通过PD和功效评估监测的外周和骨髓内的潜在免疫调节。• 患者的临床改善。

[0235] 研究示意图示于图1中。研究目标和终点的总结见下表3。

[0236] 表3.研究目标和终点

[0237]

目标	终点
主要	
确定 G9.2-17 (IgG4)作为单一治疗的安全性和耐受性 确认 2 期(RP2D)的 G9.2-17 (IgG4)的剂量 确定第 1 周期(28 天)期间各剂量水平的 DLT 发生率	安全性参数评价，包括不良事件、生命体征测量、临床安全性实验室测试、12 导联心电图(ECG)、超声心动图/心脏超声(ECHO)、身体检查 G9.2-17 (IgG4)的 MTD 的确定 G9.2-17 (IgG4)的生物有效剂量的确定 G9.2-17 (IgG4)的一个或多个 RP2D 剂量的确定 第 1 周期期间 DLT 的评价
次要	
确定 G9.2-17 (IgG4)作为单一治疗的初步功效	**AML 终点：** 复合完全缓解率(CR+CR 伴不完全血液学恢复[CRi]) 具有以下的患者的分子残留疾病(MRD)清除率：CR、CRi、CR+CRi、形态学无白血病状态(MLFS) CR 率 PR 率 疾病稳定(SD)率 事件时间终点： 总体存活(OS) 无事件存活(EFS) 累积复发率(CIR) 输血独立性： 输血独立率 输血独立持续时间 血液学改善(HI)： 红细胞系(HI-E) 血小板(HI-P) 中性粒细胞(HI-N) 实现(MRD)阴性状态的患者率

[0238]

	MDS 终点： 总响应率(ORR)：CR、骨髓 CR、部分缓解(PR)、HI CR 率 骨髓 CR 率 PR 率 SD 率 响应持久性(CR、PR 和形态学完全缓解[mCR]率) 细胞遗传学响应： ○ 完全 ○ 部分 存活终点： ○ OS ○ EFS 输血独立性 ○ 输血独立率 ○ 输血独立持续时间 血液学改善(HI)： ○ HI-E ○ HI-P HI-N
探索性	
进一步评价 AML 的功效	• 疾病进展率 • 治疗失败率 ○ 发育不全死亡 ○ 死于不确定原因 • 复发率 ○ 血液学复发 分子复发
进一步评价 MDS 的功效	疾病进展率 治疗失败率 复发率 ○ 分子复发 血液学复发
研究药效动力学标志物，包括外周血和骨髓及血清 gal-9 的免疫学和分子变化	• 血清/血浆细胞因子复用 • 流式细胞术全血免疫图谱分析 • 来自全血的基因阵列 ELISA 法测定血清中的 Gal-9
评估 G9.2-17 (IgG4)的免疫原性	抗药物抗体(ADA)的评价

[0239] I.研究目标

[0240] 主要目标

[0241] • 确定G9.2-17(IgG4)作为单一药剂的安全性和耐受性

[0242] • 确认2期(R2PD)的G9.2-17(IgG4)的剂量

[0243] • 确定第1周期(28天)期间各剂量水平的DLT发生率

[0244] 次要目标

[0245] • 确定G9.2-17(IgG4)作为单一治疗的初步功效

[0246] • 表征G9.2-17(IgG4)的PK谱

[0247] 探索性目标

[0248] • 研究药效动力学标志物,包括外周血和骨髓及血清Gal-9的免疫学和分子变化

[0249] • 评估G9.2-17(IgG4)的免疫原性

[0250] II.研究终点

[0251] 主要终点

[0252] • 安全性参数评价,包括不良事件、生命体征测量、临床安全性实验室测试、12导联心电图(ECG)、超声心动图/心脏超声(ECHO)、身体检查

[0253] • G9.2-17(IgG4)的生物有效剂量的确定

[0254] • G9.2-17(IgG4)的最大耐受剂量(MTD)的确定

[0255] • G9.2-17(IgG4)的一个或多个RP2D剂量的确定

[0256] • 第1周期期间DLT的评价

[0257] 次要终点

[0258] 确定初步功效(疾病响应)的次要终点如下表4和表5中所定义:

[0259] 表4.AML功效终点和定义

[0260]

功效终点	定义
自然史	
复合完全缓解率(CR+CR 伴不完全血液学恢复(CRi))	CR: • 骨髓母细胞≤ 5% • 不存在具有 Auer 小体的循环母细胞 • 不存在髓外疾病 • 血小板≥ 100×10^9/L • ANC ≥ 1×10^9/L • RBC 输血无关 CRi • 所有 CR 标准和输血独立性，但中性粒细胞减少症持续存在，即中性粒细胞绝对计数< 1×10^9/L 和/或血小板计数< 100×10^9/L
具有以下的患者的分子残留疾病(MRD)清除率：CR、CRi、CR+CRi、形态学无白血病状态(MLFS)	MRD： • RT-qPCR (遗传病变) • MFC (免疫表型标志物) MLFS： • 骨髓母细胞≤ 5% • 不存在具有 Auer 小体的母细胞 • 不存在髓外疾病 • 无需血液学恢复 CR：上文定义 CRi：上文定义
CR 率	CR：上文定义
总体缓解率(ORR = CR + CRi + 部分缓解率(PR) + MLFS)	CR、CRi、MLFS 的定义见上文 PR： • CR 的所有血液学标准 • 治疗前骨髓母细胞百分比降低至少一半至数值 5%至 25% (如果治疗前骨髓母细胞%为 20%至<50%)
疾病稳定(SD)率	• 不存在 CR_{MRD}、CR、CR_i、PR、MLFS，并且不符合 PD 标准
事件时间终点： • 总体存活(OS) • EFS	OS： • 死于任何原因的时间，从进入试验的日期起至死于任何原因的日期测量；在最后一次

[0261]

功效终点	定义
• 累积复发率(CIR)	随访中不知道已经死亡的患者在最后一次知道他们还活着的日期被审查 EFS: • 从进入试验的日期至难治性疾病或自 CR 或 CR_i 复发或死于任何原因的日期测量; CIR: • 定义为实现 CR 或 CR_i 的所有患者，从实现缓解的日期起直到复发的日期测量；已知未复发的患者在最后一次检查日期被审查；死亡但未复发的患者被视为失败的竞争原因
输血独立性: • 输血独立率 • 输血独立持续时间	• 最少 8 周的输血独立性 • 输血独立的总持续时间
血液学改善(HI)	
• 红细胞系(HI-E) • 血小板(HI-P) • 中性粒细胞(HI-N) • 实现 HI、输血独立或 CR 的患者的比例 • 实现 HI 或更好的参与者的响应的持续时间 • 根据研究者评估，临床受益和/或无血液进展的患者的百分比	HI-E (治疗前< 11 g/dL): • hGB 增加≥ 1.5 g/dL • 与前 8 周的治疗前输血次数相比，红细胞(RBC)输血单位相应减少至少 4 个 RBC 输血/8 周的绝对次数。在 RBC 输血响应评价中，仅给出了 Hgb ≤ 9.0 g/dL 治疗前计数的 RBC 输血 HI-P (治疗前< 100×10^9/L): • 从> 30×10^9/L 血小板开始的患者的绝对增加为≥ 30×10^9/L • 从< 20×10^9/L 增加> 20×10^9/L 并增加至少 100% HI-N (治疗前< 1.0×10^9/L): • 至少增加 100%，并且绝对增加> 0.5×10^9/L
分子残留疾病(MRD)	
实现 MRD 阴性状态的患者率	MRD 阴性 计算基线时受试者 MRD 阳性

[0262] 表5.MDS功效终点和定义

[0263]

功效终点	定义
自然史	
总响应率(ORR：CR、骨髓 CR) PR、HI	CR: • 骨髓≤ 5%成髓细胞，所有细胞系均正常成熟 • 观察到持续性发育不良 • Hgb ≥ 11 g/dL • 血小板≥ 100×10^9/L • 嗜中性粒细胞≥ 1×10^9/L • 母细胞 0%

[0264]

功效终点	定义
	骨髓 CR: • 与治疗前相比，骨髓≤ 5%成髓细胞和≥ 50%减少 • 外周血: • 骨髓 CR 应被视为有或无 HI 的响应 PR: 治疗前所有 CR (如果异常)除外: • 与治疗前相比，骨髓母细胞减少了≥50%，但仍>5% • 细胞结构和形态不相关 HI: 上文定义
CR 率	上文定义
CR 骨髓率	上文定义
PR 率	上文定义
SD 率	• 未能实现 PR，但在>8 周内无进展证据
响应的持久性(CR、PR 和形态学完全缓解(mCR)率)	• 从响应到复发的时间
细胞遗传学响应	完全: • 对于染色体异常的患者，染色体异常消失而没有新的出现 • 响应必须持续至少 4 周 部分: • 染色体异常减少至少 50% • 响应必须持续至少 4 周
存活终点: • OS • EFS	OS: • 死于任何原因的日期，从进入试验的日期起至死于任何原因的日期测量;在最后一次随访中不知道已经死亡的患者在最后一次知道他们还活着的日期被审查 EFS: • 从进入试验的日期起至治疗失败或死于任何原因的日期测量
输血独立性	• MDS 患者的输血独立性 • 输血独立持续时间为最少 8 周
血液学改善	
• 红细胞系(HI-E) • 血小板(HI-P) • 中性粒细胞(HI-N) • 实现 HI、输血独立或 CR 的患者的比例 • 实现 HI 或更好的参与者的响应的持续时间 • 根据研究者评估，临床受益和/或无血液进展的患者的百分比	HI-E (治疗前< 11 g/dL): • hGB 增加≥ 1.5 g/dL • 与前 8 周的治疗前输血次数相比，红细胞(RBC)输血单位相应减少至少 4 个 RBC 输血/8 周的绝对次数。在 RBC 输血响应评价中，仅给出了 Hgb ≤9.0 g/dL 治疗前计数的 RBC 输血 HI-P (治疗前< 100×10^9/L): • 从> 20×10^9/L 血小板开始的患者的绝对增加为≥ 30×10^9/L • 从< 20×10^9/L 增加> 20×10^9/L 并增加至少 100% HI-N (治疗前< 1.0×10^9/L): • 至少增加 100%，并且绝对增加> 0.5×10^9/L

[0265] PK终点

[0266] 次要PK终点包括评价G9.2-17(IgG4)的PK参数(包括但不限于从时间零至168小时

的曲线下面积[AUC_{0-168h}]、最大观察血清浓度[C_{max}]和实现C_{max}的时间[T_{max}])和谷血清浓度[C_{trough}]。

[0267] 探索性终点

[0268] 探索性终点见下表6和表7。

[0269] 表6.AML的探索性功效终点

疾病进展(PD)率	PD：骨髓母细胞百分比增加和/或血液中母细胞计数的绝对增加的证据： • 骨髓母细胞相对于基线增加>50%(在基线时母细胞<30%的情况下需要最小15%的点增加)，或在至少3个月内持续骨髓母细胞百分比>70%，ANC没有至少100%改善至绝对水平(>0.5×10^9/L)，和/或血小板计数达到>50×10^9/L，未输血，或 • 外周母细胞增加>50%(WBC×母细胞%)至>25×10^9/L(不存在分化综合征) • 新型髓外疾病
治疗失败率： 发育不全死亡 死于不确定原因	发育不全死亡： • 死亡发生在初始治疗完成后≥7天，同时血细胞减少，在死亡后7天内获得发育不全或发育不良骨髓，没有持续性白血病的证据 死于不确定原因： • 死亡发生在治疗完成前，但无可用的骨髓检查 • 死亡发生在初始治疗完成后≥7天，血液中无母细胞，但无可用的骨髓检查
复发率	分子复发 HI后进展或复发： • 实现HI、输血独立或CR的患者的比例 • 实现HI或更好的参与者的响应的持续时间 • 临床受益和/或无血液进展的患者的百分比

[0270]

[0271] 表7.MDS的探索性功效终点

[0272]

PD 率	患者： • < 5%母细胞：母细胞增加≥ 50%至> 5%母细胞 • 5%至 10%母细胞：母细胞增加≥ 50%至> 10%母细胞 • 10%至 20%母细胞：母细胞增加≥ 50%至> 20%母细胞 • 20%至 30%母细胞：母细胞增加≥ 50%至> 30%母细胞 以下中的任一项： • 粒细胞或血小板最大缓解/响应降低至少 50% • Hgb 降低> 2 g/dL • 输血依赖性
治疗失败率	• 治疗期间死亡或以骨髓母细胞百分比血细胞减少增加恶化为特征的疾病进展，或 • 进展为比治疗前更晚期的 MDS FAB 亚型 • 原发性难治性疾病 • 发育不全死亡 • 死于不确定原因
复发率	分子复发 HI 后进展或复发： • 实现 HI、输血独立或 CR 的患者的比例 • 实现 HI 或更好的参与者的响应的持续时间 • 根据研究者评估，临床受益和/或无血液进展的患者的百分比

[0273] 外周血和骨髓终点的探索性免疫和分子变化

[0274] • 血清/血浆细胞因子复用

[0275] • 流式细胞术全血免疫图谱分析

[0276] • 来自全血的基因阵列

[0277] • ELISA法测定血清中的Gal-9

[0278] 探索性免疫原性终点

[0279] • 评价ADA

[0280] III.研究设计

[0281] 这是一项开放标签、非随机、多中心、1期、剂量递增研究，用于患有AML的患者，该患者的疾病在使用或不使用同种异体干细胞移植的情况下对至少一条在先治疗线复发/难治，或用于在至少一条治疗线后具有记载的复发/难治、高风险MDS诊断的患者，并且没有可提供临床益处的标准疗法可用于该患者。基于4+2算法的剂量递增设计(Lin等人，Biostatistics,2001;Wheeler等人,PLoS One,2016)用于建立DLT并帮助鉴定RP2D。这项研究在美国大约15个地点进行。估计研究持续时间为24个月。存活随访持续长达2年。

[0282] 研究设计如图1中所示，并且每次访视的访视时间表和计划评估详见表8。

[0283] 剂量递增和递减

[0284] 治疗期

[0285] 本研究包括以下时间段：

[0286] 筛选期：首次给药前长达2周(第-14天至第-1天)

[0287] 治疗期：如评估计划表(SoA)(表8)中所呈现的28天治疗周期治疗后期：最后一次

治疗后30天(治疗结束访视/提前终止访视)

[0288] 随访期:长达2年的长期随访(每3个月)

[0289] 剂量递增

[0290] 使用基于4+2算法的剂量递增设计(Lin等人,Biostatistics,2001;Wheeler等人,PLoS One,2016)来确定MTD或可用于帮助鉴定RP2D剂量的生物活性剂量。生物学有效剂量的定义是群组中6名患者的0-100%经历的剂量:

[0291] • 对于AML:分子残留疾病(MRD)阴性状态或骨髓母细胞减少至≤5%,不存在具有Auer小体的循环母细胞。

[0292] • 对于MDS:最少8周的输血独立持续时间或骨髓成髓细胞减少至≤5%。

[0293] 在每个28天周期的第1天、第8天、第15天和第22天,从2.0mg/kg的剂量开始,每个治疗群组1-5的至多6名患者接受每周(QW)60分钟的G9.2-17(IgG4)静脉内(IV)输注。

[0294] 分配到特定剂量递增群组的患者接受该群组的对应研究剂量。他们接受研究药物,直到疾病进展、不可接受的毒性或因其他原因退出研究。仅在第一个治疗周期期间因毒性或耐受性问题以外的原因退出的患者被替换。

[0295]

表 8. 评估时间表

	给药前		治疗阶段																治疗后	
			第 1 周期(28 天)					第 2 周期 (28 天)				第 3 周期(28 天)				第 4 周期 (28 天)及以后			治疗结束或提前终止	长期随访 (2 年) 每 3 个月
研究日	-14 至-1	1	2	8	15	22	1	8	15	22	1	8	15	22	1	8	15	22	最后一次剂量后 30 天	
周期日		C1 D1	C1 D2	C1 D8	C1 D15	C1 D22	C2 D1	C2 D8	C2 D15	C2 D22	C3 D1	C3 D8	C3 D15	C3 D22	CX D1	CX D8	CX D15	CX D22	--	--
+/-允许的天数				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	n/a
既往和伴随用药 D	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
AE E	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
ECHO/MUGA F	X														X					
12 号联 ECG 仅给药前	X						X													
体检 G	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
ECOG	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
生命体征 H	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	

[0296]

骨髓抽吸和/或活检[I]	X						X			X						

	给药前		治疗阶段																	治疗后	
	筛选		第 1 周期(28 天)						第 2 周期 (28 天)				第 3 周期(28 天)				第 4 周期 (28 天)及以后			治疗结束或提前终止	长期随访 (2 年) 每 3 个月
研究日	-14 至-1	1	2	8	15	22		1	8	15	22		1	8	15	22	1	8	15	22	
周期日		C1 D1	C1 D2	C1 D8	C1 D15	C1 D22		C2 D1	C2 D8	C2 D15	C2 D22		C3 D1	C3 D8	C3 D15	C3 D22	CX D1	CX D8	CX D15	CX D22	
+/-允许的天数				1	1	1		1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	最后一次剂量后 30 天
妊娠测试[J]	X							X					X				X				--
血液学[K]	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	3
血清化学[L]	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	n/a
TSH、游离 T4、血清脂肪酶、淀粉酶、PTH、FSH、LH、游离皮质醇	X							X					X				X				X

[0297]

凝血 M	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
尿液分析 N	X	X					X				X				X				X	

	给药前		治疗阶段																治疗后	
	筛选		第 1 周期(28 天)				第 2 周期 (28 天)				第 3 周期(28 天)				第 4 周期 (28 天)及以后				治疗结束或提前终止	长期随访(2 年)每 3 个月
研究日	-14 至-1	1	2	8	15	22	1	8	15	22	1	8	15	22	1	8	15	22	最后一次剂量后 30 天	
周期日		C1 D1		C1 D8	C1 D15	C1 D22	C2 D1	C2 D8	C2 D15	C2 D22	C3 D1	C3 D8	C3 D15	C3 D22	CX D1	CX D8	CX D15	CX D22	--	--
+/-允许的天数				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	n/a
PD 生物标志物血液采样 O		X			X		X		X		X				X					
血液学血膜(局部)P	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
中心 MRD 血液采样 Q		X			X		X		X		X		X		X		X		X	
PK 血液采样 R		X	X	X	X	X	X				X	X	X	X	X					

[0298]

免疫原性(ADA)[S]		X			X		X				X					X	

	给药前		治疗阶段																治疗后	
	筛选		第 1 周期(28 天)					第 2 周期 (28 天)				第 3 周期(28 天)				第 4 周期 (28 天)及以后				治疗结束或提前终止	长期随访 (2 年) 每 3 个月
研究日	-14 至-1	1	2	8	15	22		1	8	15	22	1	8	15	22	1	8	15	22	最后一次剂量后 30 天	
周期日		C1 D1		C1 D8	C1 D15	C1 D22		C2 D1	C2 D8	C2 D15	C2 D22	C3 D1	C3 D8	C3 D15	C3 D22	CX D1	CX D8	CX D15	CX D22	--	--
+/-允许的天数				1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	n/a
存活期随访																					X

ADA：抗药物抗体；AE：不良事件；ALT：丙氨酸转氨酶；APTT：活化部分凝血致活酶时间；AST：天冬氨酸转氨酶；C：周期；CPK：肌酸磷酸激酶；COVID-19：冠状病毒 SARS-CoV-2；CRP：C 反应蛋白；D 或 d：天；ECG：心电图；ECOG：东部肿瘤协作组；ECHO：超声心动图/心脏超声；FSH：促卵泡激素；IMAR：免疫介导的

[0299]

不良反应；INR：国际标准化比率；LDH：乳酸脱氢酶；LH：黄体生成素；min：分钟；MRD：分子残留疾病；MUGA：多门采集扫描；PD：药效动力学；PK：药代动力学；PT：凝血酶原时间；PTH：甲状旁腺激素；PTT：部分凝血致活酶时间；QTcF：QT 间期，Fridericia 校正公式；RBC：红细胞计数；SAE：严重不良事件；SGOT：血清谷氨酸-草酰乙酸转氨酶；SGPT：血清谷丙转氨酶；TSH：促甲状腺激素；WBC：白细胞计数。

A) 研究药物施用：将在每周周期的 CXD1、CXD8、CXD15 和 CXD22 施用 G9.2-17 (IgG4)治疗。

B) 人口统计数据：数据包括年龄、性别、种族和民族。

C) 病史：除一般病史以外，数据收集还包括肿瘤史、手术/移植和放射疗法史以及 COVID-19 史和检查。

D) 既往和伴随用药(包括疫苗和补充治疗/补充剂)：数据包括每种药物的名称、适应症、剂量、途径、开始和结束日期。还应获得研究期间的过敏和不耐受以及剂量调整。

E) 不良事件：将记录知情同意后开始或恶化的任何 AE。应跟踪 AE，直至消退至以下之一：基线、稳定或被视为不可逆。所有 AE(包括 SAE)将在第一剂研究药物后直至最后一剂研究药物后 30 天收集。如果与研究程序或研究行为相关的 SAE 发生在第一剂研究药物之前，则必须向 PureTech Health 报告。必须按照本文所述报告 SAE。治疗后访视时正在发生的与治疗相关的 AE 应被跟踪至解决或直到研究者认为它们是“慢性的”或“稳定的”。

F) ECHO/MUGA：这种心脏功能评估是在筛选时进行，并在第 4 周期的第 1 天重复；评估窗口为±5 天。当有

[0300]

临床指征时，应更频繁地进行，每 3 个月一次。

G) 体格检查：包括在筛选时检查身高以确定体表面积。在所有预定检查时间包括体重。仅对具有稳定且/或预先治疗过的脑转移患者进行神经系统检查。

H) 生命体征：体温、心率、血压、呼吸频率。注意：为了监测第 1 周期第 1 天的输注反应，必须在 G9.2-17 (IgG4)的 1 小时输注期间每 15 分钟记录一次生命体征，并且在 1 小时输注后每 30 分钟记录一次生命体征，此后，如果适用，每小时记录一次。

I) 骨髓抽吸和/或活检：前 3 个月每月一次(筛选，然后第 1 天、第 2 周期和第 3 周期[±3 天])，然后是 Q3M。将骨髓抽吸物送至中心实验室进行 MRD 分析。将骨髓抽吸物送至中心实验室进行 MRD 分析。

J) 妊娠测试(血液或尿液)：仅针对具有生育能力且子宫在原位的妇女。试验结果必须在预定给药前可用。

K) 血液学：分析包括差分全血细胞计数、血小板、血红蛋白。在给药前收集血液样本。注意：已增加第 1 周期第 2 天采样，以提供肿瘤溶解综合征(TLS)实验室参数的额外监测。

L) 血清化学：分析包括白蛋白、碱性磷酸酶、胆红素(总胆红素、直接胆红素)、血尿素氮、钙、CPK、肌酐、电解质(钠、钾、氯化物、镁、磷)、γ谷氨酰转移酶(γ GT)、葡萄糖、血红蛋白 A1c (HgbA1c) (仅当有 1 型或 2 型糖尿病史时)、SGPT (ALT)或 SGOT (AST)、总蛋白。仅在有临床指征时，才评估空腹血糖。在给药前收集血液样本。

[0301]

注意：已增加第 1 周期第 2 天采样，以提供 TLS 实验室参数的额外监测。

M) 凝血：在给药前收集血液样本。分析包括 APTT、PT、PTT 和 INR (如果使用允许的抗凝剂)、CRP 和肌钙蛋白。

N) 尿液分析：分析包括颜色、外观、比重试纸、蛋白质、白细胞酯酶、葡萄糖、酮、尿胆素原、亚硝酸盐、WBC、RBC、pH (仅当患者出现临床症状时才进行尿液培养和敏感性检测)。注意：如果在筛选期间收集，C1 D1 的尿分析可以省略。

O) PD 生物标志物：

P) 血液学血膜(局部)：捕获的最低评估：母细胞的%，特别关注是否存在 Auer 小体的母细胞形态学，血细胞发育不良。

Q) MRD 评估：将在中心实验室通过 MFC (流式细胞术)进行。

R) PK 血液采样：第 1 周期和第 3 周期第 1 天：将在给药前、研究药物输注结束(EOI)和研究药物施用后 1 小时(±15 分钟)收集血液样本。第 1 周期第 2 天仅收集 PK 样本。在第 1 周期和第 3 周期第 8 天、第 15 天和第 22 天，将仅在给药前和 EOI 时收集血液样本。第 2 周期和其后每个偶数周期：将仅在第 1 天收集血液样本，并且应在给药前和 EOI 时进行。在第 3 周期后的每个奇数周期将不会收集 PK 的血液样本。可根据本研究中出现的 PK 数据更新 PK

[0302] S)ADA血液采样：将在每个周期的第1天和第1周期第15天收集给药前血液样本。采样。

[0303] 在4+2设计中评价了总共5个剂量水平,起始剂量为2.0mg/kgQW:

[0304] • 剂量递增群组1＝2.0mg/kg QW(最多n＝6)

[0305] • 剂量递增群组2＝4.0mg/kg QW(最多n＝6)

[0306] • 剂量递增群组3＝7.5mg/kg QW(最多n＝6)

[0307] • 剂量递增群组4＝12.0mg/kg QW(最多n＝6)

[0308] • 剂量递增群组5＝16.0mg/kg QW(最多n＝6)

[0309] 一个周期(28天)是G9.2-17(IgG4)的4个剂量施用。

[0310] 基于关注DLT发生的患者安全性数据、其他相关安全性和来自先前群组的可用PK

数据的分析,开始开放下一个更高剂量群组。不允许跳过剂量水平。

[0311] 在鉴定RP2D之前治疗的患者一旦在他们最初入选的群组中度过了28天DLT期,则允许将剂量逐步增加至最高剂量水平。剂量递增可能不会在周期中间发生。患者可以继续剂量递增至最高批准的剂量水平,他们直至因毒性或疾病进展或因其他原因(例如,患者选择中止研究)而中止。它们可能仅在完成其当前剂量水平的全周期而非中间周期后递增。

[0312] 在不存在证实的临床益处的情况下,研究药物的施用时间限于6个周期,即6个月。如果患者没有实现作为临床益处的PR的最小值,则即使在不存在不可接受的毒性的情况下,也将患者停止研究药物。如果患者在开始研究药物的6个周期(6个月)内已证明至少PR具有临床益处,则该患者可继续给药超过6个月,直至疾病进展、患者拒绝或不可接受的毒性。

[0313] 如果在治疗的前28天期间在任何患者中发生DLT,则永久中止向该患者施用研究药物。

[0314] 对于在DLT窗口之外发生毒性(包括IMAR)的患者,只有在研究者评估得出临床益处并且可能继续以较低剂量水平G9.2-17(IgG4)得出时,才允许剂量降低。G9.2-17(IgG4)的剂量最初减少50%,并且可能进一步减少50%,如方案中提供的剂量修改指南所定义。不允许进一步减少剂量。在患者仅在第一个治疗周期中由于毒性或耐受性问题以外的原因而退出的情况下,将其替换直到已经鉴定MTD。

[0315] 剂量递减(仅群组-1)

[0316] 在群组1(仅2.0mg/kg G9.2-17(IgG4))的第1周期中,新群组1可能以较低剂量G9.2-17(IgG4)开放,如下所示:

[0317] • 如果2名或更多名患者达到DLT,则可以以较低剂量开放较低剂量群组-1。

[0318] • 如果基于次要的探索性终点或其他疾病活性标志物的减少(诸如骨髓母细胞比治疗前减少≥50%)在群组1中观察到临床益处的任何征象,则可添加较低剂量群组1以用于探索剂量响应关系,剂量反应关系将纳入剂量选择以用于进一步开发。较低剂量的选择将基于可用的PK、PD数据以及疾病活性标志物。

[0319] 完成基于4+2算法的剂量递增

[0320] 当评价的一个或多个G9.2-17(IgG4)剂量被鉴定为一个或多个RP2D剂量时,完成基于4+2算法的剂量递增。

[0321] 剂量限制性毒性标准

[0322] 本试验中评估的DLT被定义为临床上显著的血液学和/或非血液学AE或异常的实验室值,其并非明确由研究的第一个周期(28天)期间发生的潜在白血病或外部原因导致。永久中止向在治疗的前28天期间经历DLT的任何患者施用研究药物。

[0323] DLT是满足以下标准中的任一个的毒性:

[0324] • 任何并非明确由于潜在白血病或外部原因导致的死亡

[0325] • 潜在药物诱导肝损伤(Hy法则病例)的指示,如下:

[0326] ○ALT或AST>3x正常上限(ULN),其中在24小时后通过重复测试确认,以及

[0327] ○血清总胆红素(TBL)>2×ULN,其中在24小时后通过重复测试确认。

[0328] ○对于升高的TBL和/或天冬氨酸转氨酶(AT)不能发现其他解释,如病毒性肝炎(A、B或C)、酒精性或自身免疫性肝炎、预先存在的或急性肝病、胆囊阻塞或胆管疾病、吉尔

伯特氏综合征(Gilbert syndrome)、疾病进展或能够引起观察到的作用的其他药物

[0329] •并非明确由潜在白血病或外部原因导致的所有≥4级血液学毒性,持续>7天。还对超过28天DLT监测期的事件进行计数。并非明确由潜在白血病或外部原因明确导致的所有3-5级非血液学毒性,以下除外:

[0330] ■3级疲劳、乏力、发热、厌食(3级厌食只有在不导致住院、管饲或使用全胃肠外营养的情况下才能排除),或便秘。

[0331] ■3级恶心、呕吐或腹泻,不需要管饲、全胃肠外营养,也不需要或延长住院时间。

[0332] ■感染、出血或由活动性潜在白血病引起的血细胞减少的其他预期直接并发症。

[0333] •3级输注反应,包括细胞因子释放综合征(CRS),如果成功管理并在72小时内解决。

[0334] •3级或4级TLS,如果其在临床上得到成功管理并在7天内消退,无终末器官损伤。

[0335] ■持续<72小时的3级或4级孤立电解质异常将不被视为DLT。

[0336] 研究结束

[0337] 研究结束定义为已鉴定RP2D或剂量的点,所有患者均已接受用G9.2-17(IgG4)治疗,直至确认疾病进展,或因其他原因退出治疗,并且所有患者均已完成OS随访。

[0338] 患者在最后一剂G9.2-17(IgG4)后随访OS长达2年。

[0339] 研究结束被定义为最后一名患者最后一次访视的日期。

[0340] 试验停止规则

[0341] 当群组1至5中的一个剂量或间歇剂量被确定为RP2D时,完成4+2设计的剂量递增阶段。基于MTD、DLT、PK、PD和在每个剂量水平观察到的额外安全性数据以及申办者可能考虑的任何其他因素确定RP2D。如果最低研究剂量水平的Agresti和Coull二项CI的下限超过目标DLT率,则出于安全考虑停止试验(Agresti等人,The American Statistician,1998)。

[0342] IV.研究群体

[0343] 纳入标准

[0344] 1.获得知情同意书时年龄≥18岁的患者。

[0345] 2.根据世界卫生组织(WHO)标准(Arber等人,Blood,2016),患有形态学上记录的原发性或继发性AML的患者,其疾病在使用或不使用同种异体干细胞移植的情况下对至少一条在先治疗线复发/难治,并且对于其没有可提供临床益处的标准疗法可用或对于降低可用护理标准的患者。

[0346] 3.基于修订的国际预后评分系统(IPSS-R)(Greenberg等人,Blood,2012)在至少一条治疗线后诊断为高风险骨髓增生异常综合征(MDS)的患者(其疾病为复发性的/难治性的),并且对于其没有可提供临床益处的标准疗法。

[0347] 4.在任何方案特定程序之前,患者在筛选访视时能够理解、签署书面知情同意书并注明日期。

[0348] 5.患者能够并愿意按照方案遵守研究程序,包括骨髓活检。

[0349] 6.患者具有≤2的ECOG表现状态。

[0350] 7.从先前治疗到研究药物施用时间的患者间隔对于细胞毒性剂(除了给予羟基脲用于细胞减灭)为至少2周,或对于先前实验剂或非细胞毒性剂为至少5个半衰期。在与医疗监督员讨论后,如果患者已经从任何临床相关的安全性问题中恢复,并且从以前的治疗中

恢复到≤1级毒性,可以考虑比规定的清除期更短的清除期。

[0351] 8.患者必须符合临床实验室测试中显示的以下标准:

[0352] a.首次给药时WBC计数<25,000/uL。

[0353] b.天冬氨酸转氨酶或丙氨酸转氨酶≤3×ULN(如果被认为是由于白血病累及,则≤5.0×ULN)。

[0354] c.总胆红素≤2×ULN(如果被认为是由于白血病累及或吉尔伯特综合征(Gilbert's syndrome),则≤3×ULN)。

[0355] d.肌酐清除率≥60mL/min。

[0356] 9.患者的最小预期寿命≥3个月。

[0357] 10.女性患者必须是:i)没有生育能力:在筛查前绝经后(定义为至少1年没有任何月经),或有手术证明不育或子宫切除术后状态(在筛查前至少1个月);ii)如果具有生育能力,则必须在筛选时血清或尿液妊娠试验呈阴性,并且必须在筛选开始时并在整个研究期间以及最终研究药物施用后的90天内使用2种形式的节育(其中至少一种必须是屏障方法)。

[0358] 11.女性患者在筛选时和在研究期间以及最终研究药物施用后的90天内不得进行母乳喂养。

[0359] 12.女性患者在筛选时和整个研究期间以及最终研究药物施用后的90天内不得献卵。

[0360] 13.具有生育能力的男性患者及其女性配偶/伴侣必须在筛选时使用由2种形式的节育(其中一种必须是屏障方法)组成的高效避孕。

[0361] 排除标准

[0362] 符合以下排除标准中的任一项的受试者不符合纳入研究的条件:

[0363] 1.患者被诊断为急性早幼粒细胞白血病(APL)。

[0364] 2.患者患有除AML以外的活动性恶性肿瘤。具有充分治疗的恶性肿瘤史的参与者在研究过程期间不进行或不需要抗癌系统疗法(即化疗、免疫疗法、小分子抑制剂、放射疗法或手术)。接受辅助疗法(诸如激素疗法或唑来膦酸或地诺单抗(denosumab))的参与者是合格的。

[0365] 3.患者具有≥2级(CTCAE v5.0)的持续性非血液学毒性,症状和客观发现来自既往AML治疗(包括化疗、激酶抑制剂、免疫疗法、实验药物、放射、造血干细胞移植[HSCT]或手术)。

[0366] 4.患者接受过HSCT,并符合以下中的任一者:在首次研究给药前的6个月内经历了HSCT;具有与移植供体淋巴细胞输注相关的≥2级持续性非血液学毒性。

[0367] 5.患者患有活动性移植物抗宿主病(GVHD),并且患者正在接受GVHD的免疫抑制治疗。筛选前必须停用钙调磷酸酶抑制剂至少4周。

[0368] 6.患有白血病或其他与恶性肿瘤的潜在和继发效应相关的中枢神经系统(CNS)疾病的有症状的CNS累及的患者。

[0369] 7.患者患有弥漫性血管内凝血异常(DIC)。

[0370] 8.患者在首次研究给药前4周内接受了大手术。

[0371] 9.患者在接受首次研究剂量前4周内接受过放射疗法。

[0372] 10.患者患有纽约心脏协会(NYHA)3级或4级充血性心力衰竭,或患者过去有NYHA 3级或4级充血性心力衰竭病史,除非在研究开始前3个月内进行的超声心动图或多门采集(MUGA)扫描显示左心室射血分数(LVEF)≥45%。

[0373] 11.患者在以下方面有任何临床上重要的异常:i)节律;ii)传导;iii)静息ECG上的形态(例如,完全左束束阻滞、三度心脏阻滞、二度心脏阻滞、PR间期>250msec);和/或iv)增加QTc延长风险或心律失常事件风险的任何因素,诸如先天性长QT综合征或长QT综合征家族史,根据研究者的判断,这些因素在医学上未得到管理。

[0374] 12.已知患者患有有症状的活动性感染,包括任何已确定的活动性COVID-19感染。

[0375] 13.已知患者患有人类免疫缺陷病毒感染。

[0376] 14.患者具有已知的活动性乙型肝炎或丙型肝炎,或其他活动性肝病。

[0377] 15.研究者认为患者有任何不适于参与研究的情况。

[0378] 16.研究者认为可能干扰研究参与或依从性或危及患者安全的任何其他医学、心理或社会状况。

[0379] 17.患者不愿意或不能遵守方案。

[0380] 18.开始治疗前30天内施用活疫苗。

[0381] 19.对任何单克隆抗体(mAb)和/或其赋形剂有严重过敏反应史。

[0382] 20.已知的遗传性或获得性出血疾病。

[0383] 21.活动性出血。

[0384] 22.入选前一年内有新发血栓形成、栓塞、脑出血或其他疾病或病史的患者。

[0385] 23.可能影响评估结果的药物滥用或长期酒精滥用。

[0386] 24.需要全身治疗的活动性自身免疫性疾病(可使用合成甲状腺激素治疗的自身免疫性甲状腺功能减退症除外)。

[0387] V.研究评估的描述

[0388] 人口统计学和其他筛选评估

[0389] 在筛选时,将收集患者人口统计数据。这些数据包括年龄、性别、种族和民族。下文描述了作为筛选评估的部分的安全性评估。

[0390] 病史

[0391] 病史包括肿瘤病史、手术/移植史、放疗史以及COVID-19史和测试。

[0392] • 个人病史,包括先前治疗/手术、任何原位植入物或过去植入物的记录、先前和/或当前使用医疗器械、伴随用药(名称、适应症、剂量、途径、开始和结束日期、剂量修改(如果有的话)和原因)、先前存在的症状和AE),基于家族史和患者最了解的完整家族史的有风险的遗传性疾病。

[0393] • 过去12个月内进行的任何牙科治疗的记录

[0394] • 对于先前已切除过胰腺腺癌的患者,记录原发性肿瘤是否位于胰头、胰体或胰尾。

[0395] • 排便习惯/典型频率和一致性

[0396] • 记录任何饮食要求或偏好(例如,实行特定饮食方案:间歇性禁食、生酮饮食等)

[0397] • 记录过去和现在的过敏情况(过敏原、严重程度)。

[0398] ECHO/MUGA

[0399] 在SoA(表8)中指示的时间点获得ECHO和/或MUGA。如果有临床指征,则将每3个月重复一次评估。

[0400] ECOG

[0401] 使用以下评级在SoA(表8)中指示的时间点评估ECOG表现状态:

[0402] • 0级:完全活跃,能够不受限制地进行所有疾病前表现

[0403] • 1级:剧烈体力活动受到限制,但可以走动并且能够进行轻度或久坐的工作,例如轻度家务、办公室工作

[0404] • 2级:可以走动并且能够自理,但无法进行任何工作活动。可以起床走动,清醒时间超过50%

[0405] • 3级:只能进行有限的自理,被限制在床上或椅子上,清醒时间超过50%

[0406] • 4级:完全失能。不能进行任何自理。完全被限制在床上或椅子上

[0407] • 5级:死亡

[0408] 功效评估

[0409] 功效评估(次要)

[0410] 功效评估源自更新的国际工作组(IWG)和AML和MDS的关键意见领袖建议。本文提供了AML和MDS的功效终点和定义。AML和MDS的所有终点均来自根据SoA(表8)收集的4种类型的评估:

[0411] • 血液学(临床实验室评价的常规组成部分;见下文)

[0412] • MRD

[0413] MRD包括血液中用于免疫表型标志物的中央多参数流式细胞术(MFC),并且根据SoA(表8)进行。

[0414] • 骨髓活检/抽吸

[0415] 根据SoA(表8),通过RT-qPCR/NGS分子遗传分析使骨髓抽吸物经受MRD分析,并且还包括MFC。局部评价骨髓活检以评估骨髓细胞性的程度和性质。

[0416] 在第3周期后,如果医学上不可行,允许不完成骨髓活检/抽吸。

[0417] • 血液学血液涂片

[0418] 使用血液学血膜(髓过氧化物酶[MPO]、苏丹黑、α-萘基乙酸酯酯酶[NAE]和高碘酸Schiff[PAS]染色)测定:

[0419] ■母细胞的%

[0420] ■母细胞的形态学特别关注是否存在Auer小体(典型用于AML)

[0421] ■血细胞发育不良

[0422] 血液学血膜将根据SoA(表8)局部进行。

[0423] 安全性评估

[0424] 不良事件

[0425] 参见以下公开内容。

[0426] 临床实验室评价

[0427] 根据SoA(表8)收集患者的血液样本进行常规临床实验室测试(每个时间点约5mL);根据研究者的需要或当地法规的要求,如有必要,可在研究期间的任何时间进行另外的测试。以上详细描述了纳入或排除患者的方案特定要求。

[0428] 在研究中心的本地实验室分析临床实验室参数。待完成的实验室评估包括血液学和血清化学并且如下定义：

[0429] • 血清化学：包括葡萄糖、总蛋白、白蛋白、电解质[钠、钾、氯、镁、磷]、钙、胆红素(总、直接)、SGPT(ALT)或SGOT(AST)、碱性磷酸酶、γ谷氨酰转移酶(γGT)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酐、血红蛋白A1c(HgbA1c)(仅在有1型或2型糖尿病史时)、血尿素氮、肌酸磷酸激酶(CPK)

[0430] ○另外在指定访视时的促甲状腺激素(TSH)、fT4、脂肪酶、淀粉酶、PTH、FSH、黄体生成素(LH)、游离皮质醇

[0431] ○将仅当有临床指征时才评估空腹血糖

[0432] • 血液学：包括差分全血细胞计数、血小板、血红蛋白

[0433] • 凝血：包括PT和PTT、活化部分凝血活酶时间(APTT)和INR(如果允许使用抗凝剂)、C反应蛋白(CRP)和肌钙蛋白

[0434] • 尿液分析：将收集患者的尿液样本用于常规尿液分析。尿液分析将包括颜色、外观和比重试纸、蛋白质、白细胞酯酶、葡萄糖、酮、尿胆素原、亚硝酸盐、WBC、RBC和pH,以及尿液培养(如果患者有临床症状)。

[0435] 与潜在疾病相关的异常实验室发现不被认为具有临床意义,除非被判断为比参与者的疾患预期更严重。

[0436] 在参与研究期间或最后一剂研究药物后30天内,应重复所有被认为具有临床显著异常值的实验室检查,直到这些值恢复正常或基线或不再被认为具有临床显著性。

[0437] 如果临床显著值在一段时间内未恢复到正常/基线或1级,则应确定病因。

[0438] 所有方案要求的实验室测试必须根据实验室手册和SoA (表8)进行。

[0439] 如果在机构的本地实验室进行的非方案规定的实验室测试的实验室值需要参与者管理的改变或被认为在临床上显著(例如,SAE或AE或剂量修改),则必须记录这些结果。

[0440] 12导联心电图

[0441] 使用自动计算心率并测量心率、PR间期、QRS持续时间、ECG轨迹上从QRS复合波开始到T波(QT)间期结束的时间距离以及QTcF间期的ECG机,如SoA(表8)中概述获得12导联ECG。

[0442] 生命体征

[0443] 根据SoA(表8),休息5分钟后在仰卧位测量生命体征,并且将包括体温、血压(收缩压和舒张压)、心率和呼吸率。

[0444] 为监测第1周期第1天的G9.2-17(IgG4)输注反应,必须在抗体的1小时输注期间每15分钟记录一次生命体征,并且在输注后1小时内每30分钟记录一次生命体征,此后,如果适用,每小时记录一次。

[0445] 体格检查

[0446] 医学和体检必须由合格的医师、护士执业医师或医师助理进行,并且应包括对所有身体系统的彻底审查。此外,仅在筛选时测量身高以确定体表面积。在所有预定检查时间包括体重。仅对具有稳定且/或预先治疗过的脑转移患者进行神经系统检查。

[0447] 肿瘤溶解综合征的监测和治疗

[0448] 实施以下预防措施以监测和治疗潜在TLS：

[0449] • 为了在G9.2-17(IgG4)治疗的第一周期间充分监测与TLS相关的实验室参数,除了在周期D1第1天计划抽血外,还将在第1周期第2天收集第二次抽血。

[0450] • 在每次G9.2-17(IgG4)输注之前,可对患者的TLS进行风险评估,如果有临床指征(例如,在先前的治疗方案中经历的TLS),则在开始G9.2-17(IgG4)输注之前,根据机构护理标准,诸如用适当的水合和尿酸稳定剂治疗。

[0451] • 在受试者具有高疾病负担和更高的TLS风险的情况下,在G9.2-17(IgG4)施用后保持/接纳他们用于另外的监测也是合适的。

[0452] 药代动力学

[0453] 如果可能,将计算G9.2-17(IgG4)的以下血清PK参数:

[0454] ■AUC_{0-168h}

[0455] ■C_{max}

[0456] ■T_{max}

[0457] ■血清浓度对比时间曲线

[0458] 收集大约5mL的血液样本并在如SoA(表8)中规定的每个时间点处理成血清。将在统计分析计划中提供PK参数的完整列表。

[0459] 药效动力学生物标志物

[0460] 生物标志物评估的计划时间点在SoA(表8)中提供;治疗6个月后,可将采样减少至每3个周期一次。需要用于生物标志物研究的以下样本,并且将如SoA中规定从本研究的所有参与者收集:

[0461] • 血液样本,在研究药物施用前收集(给药前大约15mL)。

[0462] • 将测试样本的PD生物标志物(通过流式细胞术、ELISA、IHC或多重表型分析),以使用经验证的测定来评价它们与观察到的对G9.2-17(IgG4)的临床响应的关联。

[0463] 计划在本研究中评估以下生物标志物(注意,以下列表包括预期生物标志物,但不仅限于这些):

[0464] • 血清/血浆细胞因子复用

[0465] • 流式细胞术全血免疫图谱分析

[0466] • 来自全血的基因阵列

[0467] • ELISA法测定血清中的Gal-9

[0468] 免疫原性评估

[0469] 根据SoA (表8)从所有参与者收集血液样本(大约3mL)并处理成血清。另外,还应在治疗结束/提前终止访视时从停用研究药物或退出研究的患者收集血清样本。

[0470] VI.治疗

[0471] 制备、处理和储存

[0472] G9.2-17(IgG4)以一次性小瓶提供。在施用前将G9.2-17(IgG4)液体药品稀释至目标剂量。所有稀释均应在受控且无菌的环境中进行(准备患者剂量并经由大约60分钟IV输注递送)。

[0473] 剂量和施用

[0474] 所有患者均接受G9.2-17(IgG4)。经由IV输注施用G9.2-17(IgG4)大约60分钟,QW。输注开始并记录输注持续时间。

[0475] 根据4+2设计,患者接受G9.2-17(IgG4)作为单一药剂,从2.0mg/kg开始依次增加剂量。

[0476] 在第1部分中经历DLT的患者不恢复治疗。

[0477] 剂量施用

[0478] 如遇到输注相关反应,中断输注,且如有临床指征,施用相关药物(例如,抗组胺药、止吐药、类固醇、退热药、β受体阻断剂等)。如果认为恢复输注是适当的,则以较慢的输注速率恢复。在输注重新开始时,将记录新的速率以及输注的停止和重启时间。

[0479] 对于同一患者的后续周期,应用适当的术前药物(按照临床指示,抗组胺药、止吐药、类固醇、退热药、β受体阻断剂等)并考虑采用较慢的输注速率。

[0480] 剂量调节

[0481] 基于在先前剂量水平的至少4名患者中所获得的安全性、耐受性和潜在初步PK数据,决定进入G9.2-17(IgG4)的下一剂量水平。还可以基于获得的PK数据调整给药时间表。

[0482] 详细的剂量修改说明可参见表9和表10:

[0483] 表9.由G9.2-17(IgG4)引起的免疫介导的不良反应(IMAR)的管理

[0484]

IMAR	管理指南
免疫介导的肺炎	监测患者肺炎的放射影像学成像体征和临床症状。 对于中度肺炎暂停 G9.2-17 (IgG4)，且对于重度或危及生命的肺炎永久停用 G9.2-17 (IgG4)。 对于中度(2 级)或更严重(3-4 级)肺炎，施用剂量为 1 至 2 mg/kg/天泼尼松当量的皮质类固醇，随后皮质类固醇逐渐减量。 暂停 G9.2-17 (IgG4)，直至消退至< 2 级。对于中度(2 级)肺炎。恢复治疗，剂量减少 50%。 在 G9.2-17 (IgG4)减少剂量下 2 级肺炎复发后，永久停用 G9.2-17 (IgG4)。
免疫介导的结肠炎	监测患者结肠炎的体征和症状。 对于持续时间超过 5 天的中度(2 级)结肠炎，以 0.5 至 1 mg/kg/天泼尼松等效物的剂量施用皮质类固醇，随后皮质类固醇逐渐减量。 如果开始使用皮质类固醇后情况恶化或无改善，则将剂量增加至 1 至 2 mg/kg/天泼尼松当量。 当初始 2 级结肠炎消退至< 2 级时，恢复 G9.2-17 (IgG4)，剂量减少 50%。 如果≥ 2 级结肠炎复发，则暂停 G9.2-17 (IgG4)，直至结肠炎消退至< 2 级。恢复 G9.2-17 (IgG4)，剂量再减少 50%。 不允许对 G9.2-17 (IgG4)进一步减少剂量。 对于重度(3 级)或危及生命的(4 级)结肠炎，施用剂量为 1 至 2 mg/kg/天泼尼松当量的皮质类固醇，随后皮质类固醇逐渐减量。 当 3 级结肠炎消退至≤2 级时，恢复 G9.2-17 (IgG4)，剂量减少 50%。 在重新开始使用 G9.2-17 (IgG4)后，对于危及生命的(4 级)或对于≥2 级的复发性结肠炎，永久停用 G9.2-17 (IgG4)。
免疫介导的肝炎	监测肝功能的变化。 对于中度(2 级)转氨酶升高，施用剂量为 0.5 至 1 mg/kg/天泼尼松当量的皮质类固醇。

[0485]

IMAR	管理指南
	对于中度(2 级)免疫介导的肝炎，暂停 G9.2-17 (IgG4)。当消退至< 2 级时，恢复 G9.2-17 (IgG4)，剂量减少 50%。 如果≥2 级肝炎复发，永久停用 G9.2-17 (IgG4)。 对于重度(3 级)或危及生命的(4 级)转氨酶升高，伴有或不伴有总胆红素升高，施用剂量为 1 至 2 mg/kg/天泼尼松当量的皮质类固醇，随后皮质类固醇逐渐减量。 对于重度(3 级)或危及生命的(4 级)免疫介导的肝炎，永久停用 G9.2-17 (IgG4)。
免疫介导的内分泌病： 垂体炎	对于中度(2 级)或更严重的垂体炎，按照临床指示施用激素替代并且以 1 mg/kg/天泼尼松等效物的剂量施用皮质类固醇，随后皮质类固醇逐渐减量。 对于中度(2 级)或重度(3 级)，暂停 G9.2-17 (IgG4)，并且当消退至<2 级时，恢复 G9.2-17 (IgG4)，剂量减少 50%。 如果≥ 2 级毒性复发，则永久停用 G9.2-17 (IgG4)。 对于危及生命的(4 级)垂体炎，永久停用 G9.2-17 (IgG4)。
肾上腺功能不全	监测患者肾上腺功能不全的体征和症状。 对于中度(2 级)，暂停 G9.2-17 (IgG4)，且消退至<2 级后，恢复 G9.2-17 (IgG4)，剂量减少 50%。 如果≥ 2 级毒性复发，则永久停用 G9.2-17 (IgG4)。 对于重度(3 级)或危及生命的(4 级)肾上腺功能不全，施用剂量为 1 至 2 mg/kg/天泼尼松当量的皮质类固醇，随后皮质类固醇逐渐减量。 在重新开始使用 G9.2-17 (IgG4)后，对于重度(3 级)或危及生命的(4 级)肾上腺功能不全，或≥ 2 级的复发性结肠炎，永久停用 G9.2-17 (IgG4)。
甲状腺功能减退症和甲状腺功能亢进症	在替雷利珠单抗治疗之前和期间定期监测甲状腺功能。 对甲状腺功能减退症施用激素替代疗法。 开始医疗管理以控制甲状腺功能亢进症。 对于< 3 级甲状腺功能减退症或甲状腺功能亢进症，没有 G9.2-17 (IgG4)建议剂量调节。 对于≥ 3 级甲状腺功能减退症或甲状腺功能亢进症，停用 G9.2-17 (IgG4)
1 型糖尿病	就重度(3 级)高血糖症而言，暂停 G9.2-17 (IgG4)，直至达到代谢控制。 在消退至≤ 2 级时，恢复 G9.2-17 (IgG4)，剂量减少 50%。 如果≥ 2 级毒性复发，则永久停用 G9.2-17 (IgG4)。 对于危及生命的(4 级)高血糖症，永久停用 G9.2-17 (IgG4)。
免疫介导的肾炎和肾功能障碍(定义为肾功能障碍或≥ 2 级肌酐升高，需要皮质类	在治疗前和治疗期间定期监测患者的血清肌酐升高。 对于中度(2 级)或重度(3 级)血清肌酐升高，施用剂量为 0.5 至 1 mg/kg/天泼尼松当量的皮质类固醇，如果情况恶化或无改善，则将皮质类固醇的剂量增加至 1 至 2 mg/kg/天泼尼松当量。

[0486]

IMAR	管理指南
固醇，且没有明确的替代病因)	对于中度(2 级)或重度(3 级)血清肌酐升高，暂停 G9.2-17 (IgG4)。当消退至< 2 级时，恢复 G9.2-17 (IgG4)，剂量减少 50%。 如果≥ 2 级毒性复发，则永久停用 G9.2-17 (IgG4)。 对于危及生命的(4 级)血清肌酐升高，施用剂量为 1 至 2 mg/kg/天泼尼松当量的皮质类固醇，随后皮质类固醇逐渐减量。 对于危及生命的(4 级)血清肌酐升高，永久停用 G9.2-17 (IgG4)。
免疫介导的皮肤不良反应 (免疫介导的皮疹，包括史蒂文斯-约翰逊综合征(SJS)和中毒性表皮坏死松解症(TEN))	对于重度皮疹，暂停，对于危及生命的皮疹，永久停用。 对于 SJS 或 TEN 的症状或体征，暂停 G9.2-17 (IgG4)，并将患者转到专业护理以进行评估和治疗。 如果确认 SJS 或 TEN，永久停用 G9.2-17 (IgG4)。 对于免疫介导的 2 级[3]皮疹，对于重度(3 级)或危及生命的(4 级)皮疹，以 1-2 mg/kg/天泼尼松等效物的剂量施用皮质类固醇，随后皮质类固醇逐渐减量。 对于中度(2 级)和重度(3 级)皮疹，暂停 G9.2-17 (IgG4)，且当消退至<2 级时，恢复 G9.2-17 (IgG4)，剂量减少 50%。 如果≥ 2 级皮疹复发，则暂停 G9.2-17 (IgG4)，直至消退至<2 级，并且恢复 G9.2-17 (IgG4)，剂量再减少 50%。不允许进一步减少剂量。 对于危及生命的(4 级)皮疹，永久停用 G9.2-17 (IgG4)。
免疫介导的脑炎	监测神经功能的变化。 对有神经症状的患者的评价可包括但不限于咨询神经科医生、脑部 MRI 和腰椎穿刺。 在有新发中度至重度神经体征或症状的患者中暂停 G9.2-17 (IgG4)，并评价以排除感染性或其他中度至重度神经恶化的原因。 如果排除了其他病因，对患有免疫介导的脑炎的患者施用剂量为 1 至 2 mg/kg/天泼尼松当量的皮质类固醇，随后皮质类固醇逐渐减量。 对于免疫介导的脑炎，永久停用 G9.2-17 (IgG4)。
其他 IMAR (可包括：心肌炎、横纹肌溶解症、肌炎、葡萄膜炎、虹膜炎、胰腺炎、面神经和外展神经麻痹、脱髓鞘、风湿性多肌痛、自身免疫性神经病变、格-巴二氏综	如果葡萄膜炎与其他 IMAR 同时发生，应考虑为伏格特-小柳-原田(Vogt-Koyanagi-Harada)样综合征，并且可能需要全身性类固醇治疗以降低永久性视力丧失的风险。 对于任何疑似 IMAR，排除其他原因。 基于不良反应的严重程度(等级)，永久停用或暂停 G9.2-17 (IgG4)，施用高剂量皮质类固醇，并在适当时开始激素替代疗法。 改善至 1 级或以下后，开始皮质类固醇逐渐减量并持续逐渐减量至少 1 个月。 基于事件的严重程度，考虑在皮质类固醇逐渐减量完成后重新开始 G9.2-17 (IgG4)，以 50%的剂量减少恢复。

[0487]

IMAR	管理指南
合征、垂体机能减退症、全身性炎症反应综合征、胃炎、十二指肠炎、结节病、组织细胞坏死性淋巴结炎(菊池淋巴结炎)、运动功能障碍、血管炎、再生障碍性贫血、心包炎和肌无力综合征。)	

[0488] 表10.G9.2-17(IgG4)的推荐的剂量修改(DLT窗口之外和除IMAR以外的AE)

[0489]

不良反应	严重程度	G9.2-17 (IgG4)剂量修改
非血液学和血液学毒性	≥4 级	永久中止用 G9.2-17 (IgG4)治疗。
血液学毒性	3 级	无剂量减少。
非血液学毒性(此处列出的除外)由 G9.2-17 (IgG4))引起的 IMAR 的管理	3 级	暂停治疗，直至毒性消退至≤2 级。 恢复 G9.2-17 (IgG4)，比前一剂量减少 50%。 如果复发且严重程度≥3 级，则维持直至消退至≤2 级，并且实施剂量进一步减少 50%。 不允许进一步减少剂量。
胃肠(恶心、呕吐)	3 级 不需要住院或肠外营养支持；通过支持性护理进行管理	暂停 G9.2-17 (IgG4)，直至毒性逆转至≤2 级 恢复 G9.2-17 (IgG4)，不减少剂量 如果复发，则暂停 G9.2-17 (IgG4)，直至毒性逆转至≤2 级 然后恢复 G9.2-17 (IgG4)，比前一剂量减少 50% 如果复发，则暂停 G9.2-17 (IgG4)，直至毒性逆转至≤2 级 恢复 G9.2-17 (IgG4)，剂量再减少 50%。 不允许进一步减少剂量
电解质异常	在 24 小时内 3 级纠正为≤2 级	
电解质异常	≥3 级持续< 24-72 小时 临床上不复杂；自发消退或对常规医疗干预有响应	
淀粉酶或脂肪酶	≥3 级	

[0490]

不良反应	严重程度	G9.2-17 (IgG4)剂量修改
升高	与胰腺炎的症状或临床表现无关	

[0491] 剂量延迟

[0492] 如果发生任何可能与一种或多种研究药物相关或与一种或多种研究药物相关的临床意义AE≥3级,则将在继续给药前进行讨论。如果判断合适,对于≥3级AE,可能需要剂量延迟。

[0493] 剂量减少

[0494] 对于正在评价DLT(在28天DLT窗口内)的任何患者,不允许剂量减少。

[0495] 仅当在剂量减少的条件下得出并可能继续得出临床益处时,才允许剂量减少,参见表9(对于IMAR)或表10(对于其他AE)。

[0496] 针对IMAR的剂量调节

[0497] 如果发生IMAR,G9.2-17(IgG4)的剂量管理指南参见表9(IMAR)。

[0498] 应进行所有相关医学检查/测试以便确认不良事件为IMAR。

[0499] 研究药物的停用

[0500] 在极少数情况下,患者可能有必要永久停用研究药物。如果由于疾病进展以外的原因永久停用研究药物,并且没有用其他抗癌疗法治疗患者,则继续评价患者的疾病进展长达2年。参见表8(SoA)了解要在停用研究药物和随访时收集的数据以及需要完成的任何进一步评价。

[0501] 研究人员必须尽一切努力让患者继续接受研究治疗,直到满足研究治疗终止的原因之一(疾病进展、出现与研究药物相关的毒性、撤回同意)。如果患者有放射学进展但没有明确的临床进展,并且未开始替代治疗,则患者可根据研究者的判断继续接受研究治疗。然而,如果患者有明确的临床进展而无放射学进展,则应根据研究者的判断停止研究治疗,并且向患者建议可用的治疗选择。

[0502] 患者可因以下原因之一在疾病进展前停止:

[0503] • DLT

[0504] • 需要停止一种或多种研究治疗的AE在DLT窗口外发生/复发

[0505] • 需要停止一种或多种研究治疗的IMAR发生/复发

[0506] • PureTech Health,LLC终止研究

[0507] • 妨碍进一步施用治疗或如果继续接受研究治疗可能危及患者安全的并发疾病或医学疾患

[0508] • 由于患者或研究者的决定

[0509] • 怀孕

[0510] • 使用非方案抗癌疗法

[0511] • 患者部分显著偏离方案(包括缺乏依从性)

[0512] • 研究者严重违反方案

[0513] 应在CRF中记录患者中止研究治疗的原因。如果患者由于毒性而中止研究治疗,则将“剂量限制性毒性”或“不良事件”记录为退出的主要原因。如果患者由于AE或SAE而在任何时间提前中止研究,则必须对患者进行随访,直至其消退至2级或更低,除非因基础疾病

而不太可能改善。

[0514] 伴随疗法

[0515] 将在每次预定访视(表8)时记录每名患者的既往和伴随用药,包括疫苗和补充治疗/补充剂。

[0516] 参与者在纳入时正在接受的或在研究期间接受的任何药物或疫苗(包括非处方药或处方药、消遣性药物、维生素和/或草药补充剂)必须连同以下信息一起记录:

[0517] • 使用原因

[0518] • 施用日期,包括开始和结束日期

[0519] • 剂量信息,包括剂量和频率

[0520] 准许药物/疗法

[0521] 允许使用以下伴随用药:

[0522] • 在研究中超过25,000/uL的WBC计数的患者中,根据标准机构实践,允许在前2个周期使用羟基脲,同时使用G9.2-17(IgG4)。

[0523] • 研究者应按照标准的机构实践处理以下中的任一项:

[0524] • 输注反应

[0525] ■肿瘤溶解综合征

[0526] ■细胞因子释放综合征。

[0527] • 继续使用双膦酸盐治疗(例如,唑来膦酸)或地舒单抗来治疗在治疗(C1D1)之前已稳定至少6个月的骨转移。

[0528] • 使用吸入皮质类固醇和盐皮质激素(例如,氟氢可的松)、局部类固醇、鼻内类固醇、关节内和眼用类固醇。

[0529] • 抗凝剂的预防或治疗用途。

[0530] • 在研究期之前或期间允许接种COVID-19、普通流感和/或其他常见临床需要的适应症(例如,破伤风,肺炎球菌,HBV等)的疫苗。必须记录疫苗接种的时间和类型。

[0531] • 密切监测敏感的窄治疗指数CYP3A4底物,诸如但不限于阿芬太尼(alfentanil)、二氢麦角胺(dihydroergotamine)、麦角胺(ergotamine)、芬太尼(fentanyl)、匹莫齐特(pimozide)和奎尼丁(quinidine),并且根据需要调整剂量,条件是G9.2-17(IgG4)可在体外有效抑制TGF-β和IL-10。从患者基线水平降低细胞因子水平可改变CYP表达/活性和对敏感CYP3A4底物的暴露。注意:免疫抑制CYP3A4底物(诸如他克莫司(tacrolimus)、环孢菌素(cyclosporine)、依维莫司(everolimus)和西罗莫司(sirolimus))被禁止。

[0532] 禁止药物/疗法

[0533] 在本研究中不允许使用以下药物:

[0534] • 为任何适应症伴随施用研究剂,G9.2-17(IgG4)除外。

[0535] • 全身性免疫抑制治疗,包括但不限于环磷酰胺、硫唑嘌呤(azathioprine)、甲氨蝶呤(methotrexate)、沙利度胺(thalidomide)、他克莫司、环孢菌素、依维莫司、西罗莫司和抗TNF剂。然而,允许患者服用急性、低剂量全身免疫抑制药物(例如,≤10mg天的泼尼松或等效物)。

[0536] • 替代疗法(例如,甲状腺素、胰岛素、生理皮质类固醇替代疗法[例如,用于肾上

腺或垂体机能不全的≤10mg/天泼尼松等效物])不被认为是一种全身性治疗形式。

[0537] VII.不良事件

[0538] 定义

[0539] 不良事件

[0540] AE是在人类中与使用医药产品结合发生的任何事件、副作用或其他不利的医学事件,无论是否被认为与此治疗具有因果关系。因此,AE可以是任何不利的和非预期的体征(可以包括临床上显著的异常实验室发现)、症状或与使用药物产品暂时相关的疾病,无论是否认为与药物产品相关。

[0541] 符合AE定义的事件包括:

[0542] • 慢性或间歇性预先存在的疾患的恶化,包括疾患的频率和/或强度的增加

[0543] • 报告期内发生的在研究药物施用后检测到或诊断出的新疾患,即使该疾患可能在研究开始前就已经存在

[0544] • 疑似相互作用的体征、症状或临床后遗症

[0545] • 疑似研究药物或伴随用药过量的体征、症状或临床后遗症(过量本身不会报告为AE/SAE)

[0546] 不符合AE定义的事件包括:

[0547] • 医疗或外科手术(例如,内窥镜检查、阑尾切除术);如果符合AE标准,应将导致手术的情况报告为AE

[0548] • 未发生不良医疗事件的情况(例如,社会和/或方便入院)

[0549] • 在研究开始时出现或检测到的未恶化的预先存在的疾病或疾患的预期日常波动

[0550] 如果通过报告或观察发现AE证据,研究者或指定人员将进一步评价并记录以下信息:

[0551] • 起效时间和消退时间

[0552] • 严重程度

[0553] • 与研究治疗的因果关系/关系

[0554] • 对研究药物采取的措施

[0555] • 结果

[0556] 严重不良事件

[0557] SAE是满足以下标准中的任一个的任何事件:

[0558] • 导致死亡。

[0559] • 危及生命。

[0560] • 需要住院或延长现有住院时间。

[0561] • 导致持续或严重的失能/丧失能力。

[0562] • 先天性异常/出生缺陷。

[0563] • 是可能不会导致死亡、危及生命或需要住院治疗的重要医疗事件。当基于适当的医学和科学判断,该事件可能危及受试者,并且可能需要医学或手术干预以预防上述结果中的一者时,该事件被视为SAE。此类事件的实例包括:在急诊室或家中对过敏性支气管痉挛、血液恶液质或抽搐进行强化治疗,但不会导致住院治疗,或出现药物依赖或药物滥

用。

[0564] 疑似非预期严重不良反应

[0565] 可疑、非预期严重不良反应(SUSAR)是既非预期(即未列在研究药物的安全性参考信息中)并且又符合严重药物不良反应定义的不良事件,其特异性或严重程度与安全性参考信息(即研究药物的IB)中注明的不一致。

[0566] 临床实验室异常和其他异常评估

[0567] 如果符合AE或SAE的定义,则将异常实验室结果(例如,临床化学、血液学和尿液分析)或被判断为在临床上显著的其他异常评估(例如,ECG或生命体征)记录为AE和SAE。在研究期间检测到或在筛选时存在且在研究开始后显著恶化的临床显著的异常实验室发现或其他异常评估将被报告为AE或SAE。然而,临床显著的异常实验室发现或其他异常评估与正在研究的疾病相关(除非被被调查者判断为比患者状况预期更严重)或在研究开始时就存在或检测到并且没有恶化,将不被报告为AE或SAE。

[0568] 可重复在临床上显著偏离先前测量值(由研究者确定)的实验室测量。如果有必要,应进行比方案中规定的额外或更频繁的检查,以提供足够的AE记录和AE消退。

[0569] 研究者运用其医学和科学判断来决定异常实验室发现或其他异常评估是否具有临床意义。

[0570] 特别感兴趣的不良事件

[0571] AESI是针对申办者产品或项目的科学和医学关注的AE,需要额外监测。此类事件可以保证进一步的调查以更好地表征和理解它。

[0572] 对于本研究,如果事件严重程度为3级或更高,则IMAR和IRR被视为AESI:

[0573] • IMAR

[0574] • IRR

[0575] • CRS

[0576] • TLS

[0577] AESI必须在适用于SAE的同一时间段内报告给PureTech健康药物警戒部或其指定人员。

[0578] 不良事件评估

[0579] 严重程度

[0580] 使用CTCAE 5.0版按照严重程度对所有AE进行分级。如果AE未列入CTCAE标准,则研究者应根据其最佳医学判断进行相应的分级,如下所示:

[0581] • 轻度(1级):无症状或轻度症状;仅临床或诊断观察结果;未指示干预措施

[0582] • 中度(2级):指示微创、局部或无创干预;有限年龄适当的工具性日常生活活动(ADL)

[0583] • 重度(3级):具有医学意义但不会立即危及生命;需要住院或延长住院时间;禁用;或限制自我护理ADL

[0584] • 危及生命(4级):危及生命的后果;指示紧急干预

[0585] • 死亡(5级):与AE相关的死亡

[0586] 术语“严重”和“严重的”不是同义的。严重程度是强度的量度(如上所表征),而本文定义的严重性定义了报告义务的要求。

[0587] VIII.统计

[0588] 样本大小

[0589] 本剂量递增研究将确立MTD和/或最低安全且有效生物剂量,以使用基于4+2算法的剂量递增设计确定G9.2-17(IgG4)的RP2D剂量。由于可能包括患者回填,预计多达50名患者的总样本量将入选本研究。

[0590] 分析群体

[0591] 意向治疗(ITT)群体将被定义为接受至少一剂G9.2-17(IgG4)的患者。将对ITT执行功效分析。将针对ITT执行患者分布。功效群体将被定义为ITT中并且在1个月时具有至少一次可测量的总体响应的所有患者。将该群体用于灵敏度分析。

[0592] 符合方案(PP)群体包括接受至少一个完整周期的G9.2-17(IgG4)并且没有重大方案偏离的任何患者。

[0593] 安全群体(SAF)被定义为接受至少一剂G9.2-17(IgG4)的所有患者。将对SAF执行安全性分析。

[0594] PK群体包括接受至少一剂G9.2-17(IgG4)并且具有至少一个可评价的给药后浓度的任何患者。

[0595] 药效动力学(PD)群体被定义为已经接受至少一个完整周期的G9.2-17(IgG4)并且分别具有至少一个治疗后PD评估以及基线PD评估的那些患者。

[0596] 一般统计计划

[0597] 在最后一位患者发生了其主要终点事件后,进行数据库锁定和初步分析。研究完成后进行最终研究分析。所有分析都是描述性的。

[0598] 除非另有说明,否则所有连续终点均使用描述性统计进行总结,包括患者数量(n)、平均值、标准差、中值、最小值和最大值。使用频率和百分比总结所有分类终点,具有95% CI。筛选测量值是第一次研究治疗日期或之前的最后值。PFS和OS的存活曲线是通过卡普兰-迈耶方法从开始治疗的那天产生的,但是在试验的任何部分中没有研究组之间的比较分析。瀑布图和泳池分布图(Swimmers plot)用于在第2部分评价的每种肿瘤类型中以图形方式呈现每个研究组中所有患者的ORR和DoR。使用SAS®版本9.2进行所有统计分析。(SAS,Cary,NC)进行。

[0599] 安全性分析

[0600] 除非另有说明,否则所有安全性分析均针对SAF进行,并且使用描述性统计进行分析

[0601] 功效分析

[0602] 对于ITT和PP,描述性总结所评估的疾病响应。使用功效群体进行灵敏度分析。

[0603] 药代动力学、药效动力学和免疫原性

[0604] 描述性总结对PK/PD群体的PK、PD和免疫原性。

[0605] 与常规抗体疗法相比,G9.2-17(IgG4)在人类受试者中具有快速的清除率。一旦确定了抗半乳糖凝集素9抗体的安全性,就开发了包括每周一次的给药时间表的治疗方案,以维持抗半乳糖凝集素9抗体的一致的全身暴露水平。

[0606] 本文提供的治疗方法(包括以本文提供的特定剂量和给药时间表(例如,本文提供的临床试验中使用的那些)施用抗半乳糖凝集素-9抗体(诸如G9.2-17(IgG4)))预期产生一

种或多种阳性临床结果,例如,减小肿瘤大小、延迟肿瘤生长、减轻病变和/或延迟病变的发展和/或延长具有目标血液恶性肿瘤(诸如AML、MDS或ALL(T细胞或B细胞ALL))的人类患者的存活,这些患者可以是难治性的和/或复发的。

[0607] 实施例2:通过抗半乳糖凝集素9抗体治疗的AML患者的分析

[0608] 从参与上述实施例1中描述的临床试验的AML患者收集生物样本(诸如血液样本)。为了研究外周血和骨髓中的免疫学和分子变化,研究了抗半乳糖凝集素9抗体(G9.2-17(IgG4))的药代动力学(PK)、免疫原性和药效动力学(PD)特征。评估的临床试验时间表提供于图2中。

[0609] 以下测定用于评估抗半乳糖凝集素9抗体的PD谱。

[0610] 分析测定:

[0611] 1.Luminex

[0612] 2.免疫分型PBMC流程

[0613] 3.CyTOF(通过飞行时间进行的细胞计量术)

[0614] 4.通过PCR进行的MRD评估

[0615] 5.基因阵列:有利免疫-肿瘤基因表达测定

[0616] 6.总G9.2-17(IgG4)(PK)LC/MS/MS分析-已用于G9.2-17(IgG4)实体瘤研究

[0617] 7.抗G9.2-17(IgG4)MSD-ECL-已用于G9.2-17(IgG4)实体瘤研究

[0618] 8.半乳糖凝集素-9血清ELISA-已用于G9.2-17(IgG4)实体瘤研究

[0619] 总G9.2-17(IgG4)(PK)LC/MS/MS分析、抗G9.2-17(IgG4)MSD-ECL和半乳糖凝集素-9血清ELISA已在PPD中心实验室的G9.2-17(IgG4)实体瘤试验中用开发和验证的方法进行。

[0620] Luminex:Luminex是在生理和病理过程中询问细胞因子环境的重要工具,因为它能够评价细胞因子的模式,从而提供比以前可能的更全面的复杂细胞信号传导网络的描述。与传统方法相比,它以更高的通量和密度提供了更强健的数据递送,但具有与ELISA相当的准确度。与ELISA相比,Luminex需要显著更低的样本体积和更短的测定时间,并且彻底改变了我们快速评估各种可溶性因子的相对浓度的能力。Luminex的独特之处在于它同时提供高密度(每个样本复用100个测试)和高吞吐量(每天可测试高达1,000个样本)。它有助于同时评估多种免疫介质,具有高通量、样本体积小和成本低的优点。查看的标志物为:IFN-γ、IL-10、IL-12p70、IL-13、IL-1β、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、TNF-α、MIP 1b、MCP-1、MIP 1a、IL-17a、IL-5、TGF-β。

[0621] 免疫分型PBMC流程:多参数流式细胞术技术用于全面监测来自单管血液的对免疫疗法的免疫响应,最大化来自通常有限的患者材料的信息。涵盖在PBMC免疫表型中的免疫标志物与CyTOF组中的标志物不重叠,并且除了标准免疫细胞类别标志物(例如,CD3、CD4、CD8、CD11b/c CD14、CD15、CD16、CD19、CD29、CD25、CD27、CD28、CD33、CD38、CD45、CD45RO、CD45RA、CD56、CD57、CD66b、CD95、CD127、CD161、CD163、CD294、FOXP3、CCR4、CCR6、CXCR3、CXCR5、CXCR7、TCRgd、HLA-DR、IgD、Ki67、TIGIT、Lag-3和PD-1)之外,包括诸如gal-9、TIM-3、TIGIT、PD-1、PD-L1、CTLA-4、CD47、CD73、CD123、KI67的分子,其允许将AML中的免疫检查点分子和其他免疫靶标的表达在这些免疫细胞群体中分层,从而在暴露于抗半乳糖凝集素9抗体后,可以动态追踪它们的潜在变化/调节。粒细胞将被排除,因为PBMC而不是全血将被分析。通过流式分析这些标志物还可以指示潜在的组合疗法,其对于用G9.2-17(IgG4)进行

临床探索可能是有价值的,并且一些例如抗CD47、抗CD123、抗TIGIT、抗CD73、抗TIM-3已经在临床试验中。

[0622] CyTOF:通过飞行时间进行的细胞计量术是用于定量单细胞表面和内部的标记靶的质量细胞计量术的应用。CyTOF利用低细胞数和与生物样本中通常不存在的稀有重金属同位素缀合的抗体。CyTOF允许使用ICP-MS检测器同时定量多种细胞组分。使用最全面的Maxpar®人免疫监测组处理临床试验样本,该组含有30个细胞内和细胞外参数/标志物,这允许高度多重分析患者样本,可靠地定量人全血或PBMC中的37个免疫细胞群体。由于临床试验样本珍贵,选择该方法是因为其仅需要270μl全血。使用该方法是因为流式细胞术受到可同时分析的参数数量的限制,严重限制了其实用性。待检查的标志物提供于图3中。上面提供了用于检查的附加标志物。

[0623] 通过RT-qPCR进行的MRD评估:监测微小残留疾病(MRD)是血液癌症的常规临床实践。MRD技术需要是灵敏的、广泛适用的、准确的、可靠的、快速的和可负担的。MRD具有若干重要功能。临床医生使用该预后标志物来评价对治疗的响应,预测复发的可能性,并且鉴定患者是否处于缓解中或患有复发。测试的灵敏度指示其检测MRD的有效性,并且主要结果是MRD细胞水平。截止水平为0.01%MRD细胞,或每10,000个细胞1个MRD细胞。1高于此值的测量值指示,与低于0.01%的结果相比更高的复发风险,并且随着数目增加(例如,MRD>1%),复发风险也是如此,而存活机会下降。迄今为止,流式细胞术和聚合酶链式反应(PCR)分析是优选的方法。在临床试验中,通过流式细胞术进行的MRD评估由当地实验室进行,而样本送去进行PCR分析。外周血可用于两种方法,但MRD水平与骨髓相比低10倍。因此,只要可能,也收集骨髓样本。与流式细胞术相比,PCR具有高一个对数级的灵敏度,这就是为什么除了流式细胞术之外,这种方式还用于测量MRD。

[0624] 基因阵列:用于翻译和临床研究的免疫-肿瘤学基因表达测定由170个涉及免疫细胞识别、免疫和癌细胞功能、免疫调节和细胞命运以及检查点抑制剂(因此免疫疗法药剂)响应的高度信息性基因组成。其被设计用于与Biomark™ HD系统一起使用,Advanta免疫-肿瘤基因表达测定灵敏地检测这些基因表达标志物,这些标志物在确定的细胞亚群中进行分析。这个测定可通过鉴定治疗响应的预测性生物标志物特征来实现和加速免疫疗法的发展。已经证明肿瘤基因表达谱在测量癌症进展期间的免疫响应和治疗响应中是有效的。然而,以前使用包含数百个基因或转录组分析的大型预配置组的方法既昂贵又耗时。大型的预配置组也很难根据特定的实验需求进行定制。与学术界和生物制药学界的主要研究人员合作,开发了有利的免疫-肿瘤基因表达测定,以提供生物标志物宽度、测定灵活性和工作流程效率的正确平衡。有利的免疫-肿瘤基因表达测定可作为双组设置获得。第一组包括先前在多中心国际临床试验中显示的肿瘤免疫响应的91个关键标志物,以告知肿瘤进展和免疫疗法响应。第二组包括74个额外的高度信息性免疫肿瘤学标志物和17个用于额外定制的开放测定入口。两组含有相同的五个参考基因。与Fluidigm微流体技术结合,这种Advanta测定独特地提供了优于传统基因表达谱方法的显著工作流程效率。每个反应被小型化到纳升体积,这意味着临床试验血液样本将以最有效的方式使用并且使用精确的自动化来控制,以在较大的动态范围内实现准确和经济高效的qPCR测试。

[0625] 半乳糖凝集素-9ELISA:在指定的中心实验室(Flagship Bioscie nces),遵循常规实践收集患者血液,并且分离血清,用于在Boster Picokine™人半乳糖凝集素-9预包被

的酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒上进行处理。这是专门设计用于用96孔条带板测量人半乳糖凝集素-9的固相免疫测定。检测抗体是对gal-9具有特异性的生物素化抗体。捕获抗体是来自小鼠的单克隆抗体,并且检测抗体是来自山羊的多克隆抗体。用FLUOstar Optima微板读取器(BMG Labtech)测量孔的光密度。用BMG Optima 2.10R2软件计算血清半乳糖凝集素-9浓度。

[0626] 抗半乳糖凝集素9抗体(G9.2-17(IgG4))可以减少骨髓和外周中的白血病细胞负荷,并且至少重新活化效应T细胞和巨噬细胞,并且广泛调节血液中免疫细胞群体和/或细胞因子的比例和表型,以反映AML/MDS中存在的免疫抑制的逆转。抗半乳糖凝集素9抗体也可以降低半乳糖凝集素-9血清水平,其中它在基线时升高。这里概述的研究步骤被设计成在临床试验的第1部分期间有效地移动,并且可以在第2部分中通知和潜在地加速进一步的临床试验。根据这一观点,该计划集中于及时的样本采集、分析和报告,同时收集所治疗患者的安全性和任何初步功效读数。临床试验可能冗长并且昂贵,并且应避免非响应者对无效免疫调节药物的任何不必要的暴露。实际上,本研究的一个目标是鉴定和开发作为补充诊断的测定,以确定个体患者可能对抗半乳糖凝集素9抗体的治疗作出响应并反映其体内抗白血病和免疫调节作用的可能性。这可以有效地选择可能的响应者并加速抗体的进一步临床开发。

[0627] 抗半乳糖凝集素9抗体可能对外周免疫动力学和循环靶水平具有快速影响(在施用后第一周内),这就是为什么应用研究采样覆盖早期和晚期时间点的原因。同样地,许多血液收集时间点与研究PK采样一致,这可允许推导PK参数与通过表型和半乳糖凝集素-9血清水平检测的任何免疫调节信号之间的相关性。

[0628] 本研究阐明了免疫途径和治疗响应,同时确保:i)计划的测定测量期望的终点并包括表型和功能性免疫标志物;ii)考虑解决相关刺激和调节途径的测定;iii)测量可能影响结果的宿主相关和肿瘤相关标志物;iv)测定是可再现的,具有可接受的变化;v)质量保证和质量控制方法已到位;vi)中心实验室验证;vii)仔细考虑其中需要测量测定的隔室(外周血/骨髓);viii)选择在进行测定的治疗方案期间采集样本的时间点以最佳地确定效果的动力学;ix)计划使用适当的统计学和生物信息学方法进行分析;和x)如果可能的话,将样本(细胞、血清、血浆、骨髓)堆集用于将来的测定(功能、表型、DNA和mRNA)。

[0629] NanoString测定:按照常规操作收集患者血液样本并分离PBMC。使用RNeasy迷你试剂盒(WI-84)从PBMC样本中提取RNA,使用30μL的洗脱体积。随后,使用荧光分析方法,用Quant-iT RiboGreen RNA试剂试剂盒(WI-82)或Qubit RNA测定试剂盒(WI-258)测量RNA浓度。在5μL体积中,样本的最佳浓度为60ng/μL。在本研究中使用以下nCounter基因表达组:具有RLF的人类nCounter®PanCancer IO360组:NS_IO_360_v1.0。nCounter基因表达分析在最多11个临床样本的批次中进行。此外,每次运行还含有用于相应nCounter测定的一组标准样本。

[0630] 对于数据分析,使用背景校正对原始数据进行归一化,使用加标阳性对照进行归一化,并且使用管家基因进行归一化。

[0631] 等效方案

[0632] 从以上描述中,本领域技术人员可容易地确定本发明的基本特征,并且在不背离本发明精神和范围的前提下,可对本发明做各种变化和修改以使其适应于各种用途和条

件。因此,其他实施方案也在权利要求范围内。

[0633] 尽管本文已描述和说明了若干发明实施方案,但是本领域普通技术人员很容易想到用于执行本文所述功能和/或获得结果和/或一个或多个优点的各种其他手段和/或结构,并且每个这样的变化和/或修改被认为是在本文所述发明实施方案的范围内。更一般地,本领域技术人员容易理解,本文所述的所有参数、尺寸、材料和构型都是意在是示例性的,并且实际参数、尺寸、材料和/或构型取决于使用本发明教导的一种或多种具体应用。本领域技术人员认识到或能够仅使用常规实验来确定本文所述的具体发明实施方案的许多等效方案。因此,应当理解,前述实施方案仅以示例的方式呈现,并且在所附权利要求及其等效物的范围内,可以不同于具体描述和要求保护的方式实施发明实施方案。本公开的发明实施方案针对本文所述的每个单独的特征、系统、物品、材料、试剂盒和/或方法。另外,如果此类特征、系统、物品、材料、试剂盒和/或方法不相互矛盾,则两个或更多个此类特征、系统、物品、材料、试剂盒和/或方法的任何组合包括在本公开的发明范围内。

[0634] 如本文所定义和使用的所有定义,应理解为优先于字典定义、以引用的方式并入的文件中的定义和/或所定义术语的普通含义。

[0635] 本文公开的所有参考文献、专利和专利申请均以引用的方式并入每一个所引用的主题,在某些情况下,可涵盖整个文件。

[0636] 除非有相反的明确指示,否则如本文在说明书和权利要求中所用,不定冠词“一种/一个(a)”和“一种/一个(an)”,应当被理解为意指“至少一个/一种”。

[0637] 如本文在说明书和权利要求中所用,短语“和/或”应当被理解为意指所连接的元素的“任一个或两者”,即元素在一些情况下结合地存在而在其他情况下分离地存在。利用“和/或”列出的多个元素应当以相同的方式来解释,即如此连接的元素中的“一个或多个”。除通过“和/或”从句具体标识的元素外,还可任选地存在其他元素,无论与具体标识的那些元素相关还是无关。因此,作为非限定性实例,对“A和/或B”的提及,当与开放性措辞诸如“包含/包括”结合使用时,在一个实施方案中可仅指A(任选地包括除B外的元素);在另一个实施方案中可仅指B(任选地包括除A外的元素);在另一个实施方案中,可指A和B(任选地包括其他元素);等等。

[0638] 如本文在说明书和权利要求中所用,“或”应当被理解为具有与如上定义的“和/或”相同的含义。例如,当在列表中分开各项时,“或”或“和/或”应当被理解为是包含性的,即包含至少一个,但也包括多个元素或元素列表中的多于一个,以及任选地,包括另外未列出的项。只有明确地指明相反的术语,诸如“……中的仅一个”或“……中的恰好一个”或当用于权利要求中时的“由……组成”将指包含多个元素或元素列表中的恰好一个元素。一般地,如本文所用的术语“或”应当仅在冠有排他性的术语诸如“任一”、“……之一”、“……中的仅一个”或“……中的恰好一个”时被解释为表示排他性选择(即,“一个或另一个但非两个”)。“基本上由……组成”,当用于权利要求中时,应当具有其在专利法领域中使用的普通含义。

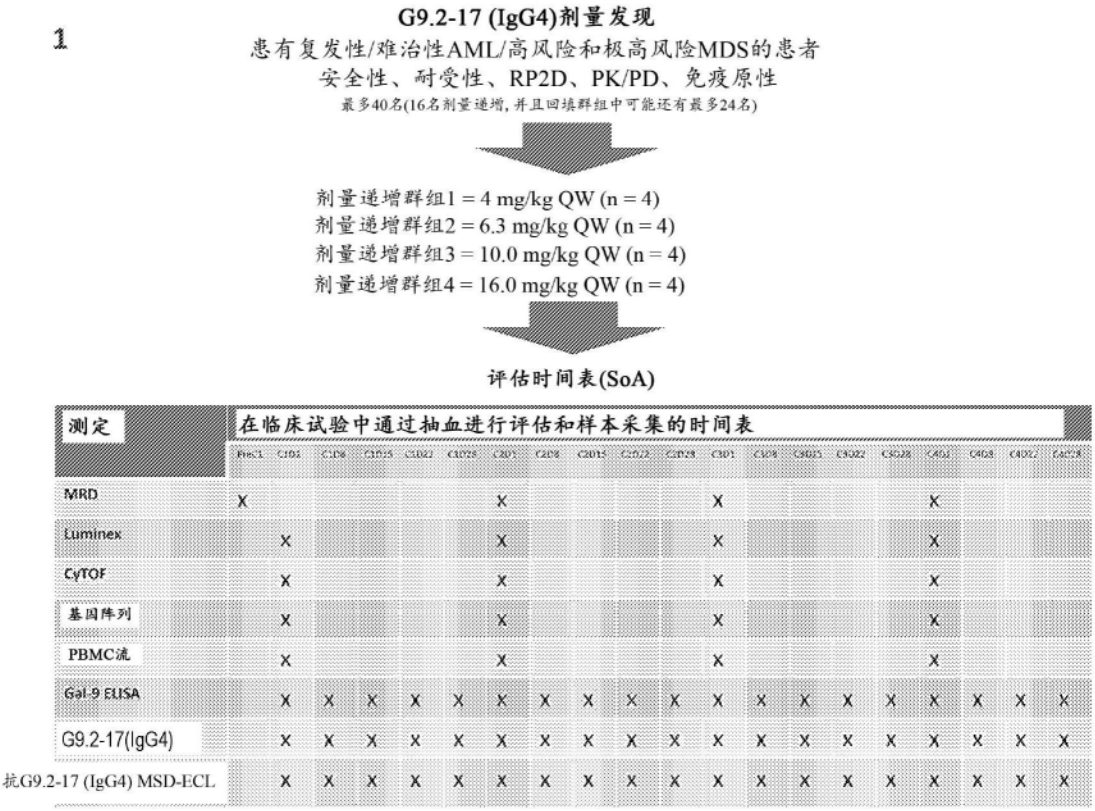
[0639] 如本文在说明书和权利要求中所用,关于一个或多个元素的列表的短语“至少一个”应当被理解为意指选自元素列表中的任一个或多个元素的至少一个元素,但不一定包括元素列表内具体列出的每一和每个元素的至少一个并且不排除元素列表中的元素的任何组合。该定义还允许可任选地存在除短语“至少一个”所指的元素列表内具体标识的元素

外的元素,无论与那些具体标识的元素相关还是不相关。因此,作为非限定性实例,“A和B的至少一个”(或,等同地,“A或B的至少一个”,或等同地,“A和/或B的至少一个”)可在一个实施方案中指至少一个(任选地包括多于一个)A而无B存在(且任选地包括除B外的元素);在另一个实施方案中指至少一个(任选地包括多于一个)B而无A存在(且任选地包括除A外的元素);在另一个实施方案中指至少一个(任选地包括多于一个)A和至少一个(任选地包括多于一个)B(且任选地包括其他元素);等等。

[0640] 还应当理解,除非有相反的明确指示,否则在包括多于一个步骤或行为的本文要求保护的任何方法的步骤或行为的顺序不一定限定于叙述所述方法的步骤或行为的顺序。



图1



测定	在临床试验中通过抽血进行评估和样本采集的时间表																			
	Pre-C1	C1D1	C1D8	C1D15	C1D22	C1D28	C2D1	C2D8	C2D15	C2D22	C2D28	C3D1	C3D8	C3D15	C3D22	C3D28	C4D1	C4D8	C4D15	C4D28
MRD	X						X					X					X			
Luminex		X					X					X					X			
CyTOF		X					X					X					X			
基因阵列		X					X					X					X			
PBMC流		X					X					X					X			
Gal-9 ELISA		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
G9.2-17(IgG4)		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
抗G9.2-17 (IgG4) MSD-ECL		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

图2


30个标志物组(+15个开放通道)
CD3 CD28 CD161
CD4 CD38 CD294
CD8 CD45 CCR4
CD11c CD45RA CCR6
CD14 CD45RO CCR7
CD16 CD56 CXCR3
CD19 CD57 CXCR5
CD20 CD66b HLA-DR
CD25 CD123 IgD
CD27 CD127 TCRγδ
额外的标志物能够:
• 鉴定
– γδ T细胞(TCRgd)
– 嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞(CD66b, CD294)
– NK细胞,早期和晚期(CD57)
– MAIT/NKT (CD161)
• T细胞亚群的更好定义(CD28, CD161, CXCR5)
• 泛白细胞鉴定(CD45)
• 活/死指标(嵌入剂-103Rh)
30个独特的标志物
1个样本管
37个群体

图3