



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118369114 A

(43) 申请公布日 2024. 07. 19

(21) 申请号 202280073849.4

(22) 申请日 2022.11.02

(30) 优先权数据

63/275,356 2021.11.03 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.05.06

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/079144 2022.11.02

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2023/081704 EN 2023.05.11

(71) 申请人 詹森生物科技公司

地址 美国宾夕法尼亚州

(72) 发明人 J·戈德堡 S·X·王林

T·J·普赖尔 R·维罗纳

B·韦斯

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

专利代理师 黄登高 彭昶

(51) Int.Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/46 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 31/4439 (2006.01)

A61K 31/573 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

权利要求书2页 说明书61页

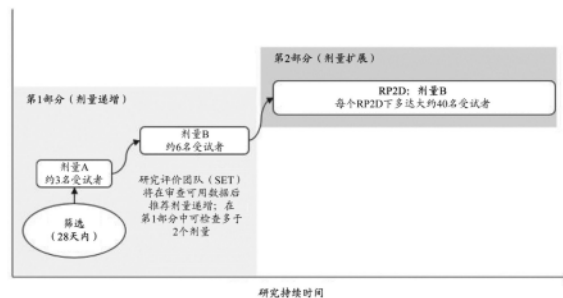
序列表(电子公布) 附图11页

(54) 发明名称

治疗癌症并增强GPCR5DxCD3双特异性抗体的功效的方法

(57) 摘要

公开了治疗癌症并增强T细胞重定向治疗剂的功效的方法。特别地,本文公开了使用GPCR5DxCD3双特异性抗体、抗CD38抗体和/或泊马度胺来治疗癌症的方法。



1. 一种治疗对其有需要的受试者的癌症的方法,所述方法包括:
  - (1) 以每1周-2周60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至1200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量向所述受试者施用GPCR5DxCD3双特异性抗体;以及
  - (2) 以每1周-4周1200mg至2400mg的剂量向所述受试者施用抗CD38抗体。
2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述方法包括:
  - (1) 以每1周-2周300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至1200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量向所述受试者皮下施用所述GPCR5DxCD3双特异性抗体;以及
  - (2) 以每1周-4周1600mg至2000mg的剂量向所述受试者皮下施用所述抗CD38抗体。
3. 根据权利要求2所述的方法,所述方法还包括在步骤(1)之前以低于步骤(1)中所用的剂量向所述受试者皮下施用所述GPCR5DxCD3双特异性抗体。
4. 根据权利要求2或3所述的方法,其中以每周一次或每两周一次约300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、450 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、550 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、700 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、750 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、800 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、850 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、900 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、950 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量或约300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的任何剂量向所述受试者皮下施用所述GPCR5DxCD3双特异性抗体。
5. 根据权利要求4所述的方法,其中以每周或每两周400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或每两周800 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量向所述受试者皮下施用所述GPCR5DxCD3双特异性抗体。
6. 根据权利要求5所述的方法,其中以每周400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或每两周800 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量向所述受试者皮下施用所述GPCR5DxCD3双特异性抗体。
7. 根据权利要求1至6中任一项所述的方法,其中在所述治疗的第1周至第8周期间每周一次,在所述治疗的第9周至第24周期间每两周一次,并且在所述治疗的第24周后每四周一次以1800mg的剂量向所述受试者皮下施用所述抗CD38抗体。
8. 根据权利要求1至7中任一项所述的方法,其中所述抗CD38抗体与rHuPH20,诸如约30,000U的rHuPH20一起施用或提供用于施用。
9. 根据权利要求1至8中任一项所述的方法,其中所述GPCR5DxCD3双特异性抗体包含:
  - (1) GPCR5D结合结构域,所述GPCR5D结合结构域包含分别具有SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28和SEQ ID NO:29的氨基酸序列的重链互补决定区(HCDR)HCDR1、HCDR2和HCDR3的重链可变区(VH)以及分别具有SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32的氨基酸序列的轻链互补决定区(LCDR)LCDR1、LCDR2和LCDR3的轻链可变区(VL),和
  - (2) CD3结合结构域,所述CD3结合结构域包含分别具有SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3的VH以及分别具有SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3的VL。
10. 根据权利要求9所述的方法,其中所述GPCR5D结合结构域包含具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的所述VH和具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的所述VL;所述CD3结合结构域包含具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的所述VH和具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的所述VL。
11. 根据权利要求10所述的方法,其中所述GPCR5DxCD3双特异性抗体包含具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第一重链(HC1)、具有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第一轻链(LC1)、具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的第二重链(HC2)和具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的第二轻链(LC2)。
12. 根据权利要求1至11中任一项所述的方法,其中所述抗CD38抗体包含分别具有SEQ

ID NO:7、SEQ ID NO:8和SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3的VH以及分别具有SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:12的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3的VL。

13. 根据权利要求12所述的方法,其中所述CD38抗体包含具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的所述VH和具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的所述VL。

14. 根据权利要求1至13中任一项所述的方法,其中所述癌症为多发性骨髓瘤。

15. 一种治疗对其有需要的受试者的多发性骨髓瘤的方法,所述方法包括:

(1) 每周向所述受试者皮下施用400 $\mu$ g/kg的GPRC5DxCD3双特异性抗体;或者每两周向所述受试者皮下施用800 $\mu$ g/kg的GPRC5DxCD3双特异性抗体,以及

(2) 在所述治疗的第1周至第8周期间每周一次,在所述治疗的第9周至第24周期间每两周一次,并且在所述治疗的第24周后每四周一次向所述受试者皮下施用1800mg的抗CD38抗体,其中所述GPRC5DxCD3双特异性抗体包含SEQ ID NO:35的第一重链(HC1)、SEQ ID NO:36的第一轻链(LC1)、SEQ ID NO:25的第二重链(HC2)和SEQ ID NO:26的第二轻链(LC2),并且所述抗CD38抗体包含SEQ ID NO:13的所述HC和SEQ ID NO:14的所述LC。

16. 根据权利要求15所述的方法,所述方法还包括在400 $\mu$ g/kg的初始剂量的所述GPRC5DxCD3双特异性抗体之前,向所述受试者皮下施用一个或多个逐步增加剂量的所述GPRC5DxCD3双特异性抗体,诸如在所述治疗的第2天10 $\mu$ g/kg并且在所述治疗的第4天60 $\mu$ g/kg,或者在800 $\mu$ g/kg的初始剂量的所述GPRC5DxCD3双特异性抗体之前,向所述受试者皮下施用一个或多个逐步增加剂量的所述GPRC5DxCD3双特异性抗体,诸如在所述治疗的第2天10 $\mu$ g/kg,在所述治疗的第4天60 $\mu$ g/kg,并且在所述治疗的第8天300 $\mu$ g/kg。

17. 根据权利要求1至16中任一项所述的方法,其中所述受试者已经接受了针对多发性骨髓瘤的至少一种先前治疗,或者所述受试者对于所述至少一种先前治疗具有复发性或难治性,其中所述先前治疗能够包括蛋白酶体抑制剂(PI)或免疫调节剂(IMiD)中的至少一者。

18. 根据权利要求17所述的方法,其中所述受试者对于选自由以下项组成的组的治疗具有难治性或复发性:抗CD38抗体、来那度胺、硼替佐米、泊马度胺、卡非佐米、埃罗妥珠单抗、伊沙佐米、艾萨妥昔单抗、美法仑和沙利度胺或它们的任何组合,优选地,所述受试者对于来那度胺具有难治性。

19. 根据权利要求1至18中任一项所述的方法,所述方法还包括向所述受试者施用附加治疗剂,诸如泊马度胺和/或地塞米松。

20. 根据权利要求1至19中任一项所述的方法,其中所述治疗导致T细胞激活,诸如CD4和CD8 T细胞上的CD25、PD-1、CD38中的至少一者的增加,或者所述治疗导致CD38+CD8+T细胞、CD38+CD4+T细胞和Tregs T细胞中的至少一者的频率增加。

## 治疗癌症并增强GPCR5DxCD3双特异性抗体的功效的方法

### [0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2021年11月3日提交的美国临时申请序列号63/275,356的权益,该临时申请的全部内容据此全文以引用方式并入。

### [0003] 以电子方式提交的参考序列列表

[0004] 本申请包含已经以XML格式电子递交的序列列表,并且据此全文以引用方式并入。所述XML副本创建于2022年10月28日,命名为“258199.060802\_PRD4189WOPCT1\_SL.xml”,并且大小为64.2千字节。

### 技术领域

[0005] 本文公开了治疗癌症并增强GPCR5DxCD3双特异性抗体的功效的方法。

### 背景技术

[0006] 从1990年至2016年,全球多发性骨髓瘤(MM)病例增加了126%,死亡人数增加了94%。据估计,2020年在美国将有32,270例新诊断的MM病例,其中140,779人患有该疾病。在欧洲,多发性骨髓瘤是第二常见的血液恶性肿瘤,2020年在27个欧洲国家估计有35,842例新病例(2020年欧洲癌症信息系统)。尽管有多种治疗选择,但该疾病通常会复发并且无法治愈。随着每次连续复发,症状恢复,生活质量恶化,并且反应的机会和持续时间通常会减少。

[0007] 复发性和难治性多发性骨髓瘤构成特定的未满足的医疗需求。在接受标准疗法(诸如蛋白酶体抑制剂[PI]或免疫调节药物[IMiD])后病情进展的患者的治疗具有挑战性,因为他们已经接触过2种主要药物类别,因此需要新的有效和方便的治疗选择。尽管骨髓瘤仍然是不可治愈的疾病,但<40%的患者接受第三治疗项。在美国和欧洲大部分地区,在符合移植条件和不符合移植条件的患者中,含来那度胺的方案已经越来越多地成为标准护理第一项治疗。作为这些实践模式的结果,大多数患有复发性多发性骨髓瘤的患者在他们首次复发时都接触了来那度胺。

[0008] 在许多治疗领域中,T细胞重定向杀伤是一种理想的作用模式。一般来讲,T细胞重定向分子被工程化以具有至少两个抗原结合位点,其中一个位点结合靶细胞上的表面抗原,并且另一个位点结合T细胞表面抗原。在T细胞表面抗原中,来自TCR蛋白复合物的人CD3 $\epsilon$ 亚基对于重定向T细胞杀伤一直是最具靶向性的。各种双特异性抗体型式已在临床前研究和临床研究两者中被证明能够介导T细胞重定向。

[0009] 肿瘤通过形成免疫抑制肿瘤微环境(TME)来逃避免疫识别。在TME中,在持续性抗原和炎症的条件下,T细胞变得耗尽或功能障碍,并且逐渐丧失其效应功能和增殖能力。参与介导T细胞重定向杀伤的治疗剂的可用T细胞的功能和数量受损可能会损害治疗剂的抗肿瘤功效。需要增强T细胞功能以实现介导T细胞重定向杀伤的治疗剂的最佳功效。

[0010] 塔奎妥单抗(塔奎妥单抗)(Ta1)是与G蛋白偶联受体C家族第5组成员D(GPCR5D)和CD3结合的双特异性抗体。达雷木单抗(Daratumumab)(Dara)是被批准用于MM治疗的单克隆

抗体,其靶向MM细胞上的CD38,导致MM细胞的直接细胞毒性。需要新的药剂来治疗癌症,特别是多发性骨髓瘤(MM),MM仍然是不可治愈的,大多数患者(pt)会复发或变得对标准疗法具有难治性。

### 发明内容

[0011] 现在发现,使用本申请中所述的给药方案,GPRC5DxCD3双特异性抗体和抗CD38抗体DARZALEX<sup>®</sup>(达雷木单抗)的组合可安全地施用于受试者以治疗癌症,特别是复发性/难治性MM,其中这两种抗体中的每一者在靶结合在同一细胞上时介导杀伤多发性骨髓瘤细胞。

[0012] 在一个一般方面,本申请涉及一种治疗对其有需要的受试者的癌症,诸如多发性骨髓瘤的方法,该方法包括:

[0013] (1)以每1周-2周60 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg的剂量向受试者施用GPRC5DxCD3双特异性抗体,以及

[0014] (2)以每1周-4周1200mg至2400mg的剂量向受试者皮下施用抗CD38抗体。

[0015] 在一些实施方案中,以每1周-2周60 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg,诸如60 $\mu$ g/kg、70 $\mu$ g/kg、80 $\mu$ g/kg、90 $\mu$ g/kg、100 $\mu$ g/kg、200 $\mu$ g/kg、250 $\mu$ g/kg、300 $\mu$ g/kg、350 $\mu$ g/kg、400 $\mu$ g/kg、450 $\mu$ g/kg、500 $\mu$ g/kg、550 $\mu$ g/kg、600 $\mu$ g/kg、650 $\mu$ g/kg、700 $\mu$ g/kg、750 $\mu$ g/kg、800 $\mu$ g/kg、200 $\mu$ g/kg、250 $\mu$ g/kg、300 $\mu$ g/kg、400 $\mu$ g/kg、450 $\mu$ g/kg、500 $\mu$ g/kg、550 $\mu$ g/kg、600 $\mu$ g/kg、700 $\mu$ g/kg、750 $\mu$ g/kg、800 $\mu$ g/kg、850 $\mu$ g/kg、900 $\mu$ g/kg、950 $\mu$ g/kg、1000 $\mu$ g/kg、1050 $\mu$ g/kg、1100 $\mu$ g/kg、1150 $\mu$ g/kg或1200 $\mu$ g/kg的剂量或其间的任何剂量向受试者施用GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0016] 在一些实施方案中,该方法包括:

[0017] (1)以每1周-2周300 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg的剂量向受试者皮下施用GPRC5DxCD3双特异性抗体,以及

[0018] (2)以每1周-4周1600mg至2000mg的剂量向受试者皮下施用抗CD38抗体。

[0019] 在一些实施方案中,该方法还包括在步骤(1)之前以低于步骤(1)中所用的剂量向受试者皮下施用GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0020] 根据本申请的实施方案,以每周一次或每两周一次约300 $\mu$ g/kg、400 $\mu$ g/kg、450 $\mu$ g/kg、500 $\mu$ g/kg、550 $\mu$ g/kg、600 $\mu$ g/kg、700 $\mu$ g/kg、750 $\mu$ g/kg、800 $\mu$ g/kg、850 $\mu$ g/kg、900 $\mu$ g/kg、950 $\mu$ g/kg或1000 $\mu$ g/kg的剂量或其间的任何剂量向受试者皮下施用GPRC5DxCD3双特异性抗体。例如,可以每周或每两周400 $\mu$ g/kg或每两周800 $\mu$ g/kg的剂量向受试者皮下施用GPRC5DxCD3双特异性抗体

[0021] 在本申请的一个实施方案中,以每周400 $\mu$ g/kg或每两周800 $\mu$ g/kg的剂量向受试者皮下施用GPRC5DxCD3双特异性抗体,并且在治疗的第1周至第8周期间每周一次,在治疗的第9周至第24周期间每两周一次,并且在治疗的第24周后每四周一次以1800mg的剂量向受试者皮下施用抗CD38抗体。抗CD38抗体与rHuPH20,诸如约30,000U的rHuPH20一起施用或提供用于施用。

[0022] 任何合适的GPRC5DxCD3双特异性抗体均可用于本申请的方法中。在一些实施方案中,可用于本申请的GPRC5DxCD3双特异性抗体包含:

[0023] (i)GPRC5D结合结构域,该GPRC5D结合结构域包含分别具有SEQ ID NO:27、SEQ ID

NO:28和SEQ ID NO:29的氨基酸序列的重链互补决定区(HCDR)HCDR1、HCDR2和HCDR3的重链可变区(VH)以及分别具有SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31和SEQ ID NO:32的氨基酸序列的轻链互补决定区(LCDR)LCDR1、LCDR2和LCDR3的轻链可变区(VL),和

[0024] (ii) CD3结合结构域,该CD3结合结构域包含分别具有SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18和SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3的VH以及分别具有SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:22的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3的VL。

[0025] 在一些实施方案中,GPRC5D结合结构域包含具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的VH和具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的VL。CD3结合结构域包含具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的VH和具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的VL。优选地,GPRC5D $\times$ CD3双特异性抗体包含具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的第一重链(HC1)、具有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的第一轻链(LC1)、具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的第二重链(HC2)和具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的第二轻链(LC2)。更优选地,GPRC5D $\times$ CD3双特异性抗体是塔奎妥单抗。

[0026] 在一些实施方案中,抗CD38抗体包含分别具有SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8和SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3的VH以及分别具有SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:12的氨基酸序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3的VL。优选地,CD38抗体包含具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的VH和具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的VL。更优选地,CD38抗体是达雷木单抗。

[0027] 在一个实施方案中,本申请涉及一种治疗对其有需要的受试者的多发性骨髓瘤的方法,该方法包括:

[0028] (1)每周向受试者皮下施用400 $\mu$ g/kg的基于体重的治疗剂量的GPRC5D $\times$ CD3双特异性抗体;或者每两周向受试者皮下施用800 $\mu$ g/kg的GPRC5D $\times$ CD3双特异性抗体,以及

[0029] (2) 在治疗的第1周至第8周期间每周一次,在治疗的第9周至第24周期间每两周一次,并且在治疗的第24周后每四周一次向受试者皮下施用1800mg的抗CD38抗体,

[0030] 其中GPRC5D $\times$ CD3双特异性抗体包含SEQ ID NO:35的第一重链(HC1)、SEQ ID NO:36的第一轻链(LC1)、SEQ ID NO:25的第二重链(HC2)和SEQ ID NO:26的第二轻链(LC2),并且抗CD38抗体包含SEQ ID NO:13的HC和SEQ ID NO:14的LC。

[0031] 在一些实施方案中,该方法还包括在初始皮下施用400 $\mu$ g/kg的基于体重的治疗剂量的GPRC5D $\times$ CD3双特异性抗体之前,向受试者皮下施用10 $\mu$ g/kg和60 $\mu$ g/kg的逐步增加剂量的GPRC5D $\times$ CD3双特异性抗体,或者该方法还包括在初始皮下施用800 $\mu$ g/kg的基于体重的治疗剂量的GPRC5D $\times$ CD3双特异性抗体之前,向受试者皮下施用10 $\mu$ g/kg、60 $\mu$ g/kg和300 $\mu$ g/kg的逐步增加剂量的GPRC5D $\times$ CD3双特异性抗体。

[0032] 在本申请的一些实施方案中,受试者已经接受了针对多发性骨髓瘤的至少一种先前治疗,优选地,受试者对于至少一种先前治疗具有复发性或难治性,更优选地,先前治疗包括蛋白酶体抑制剂(PI)和免疫调节剂(IMiD)中的至少一者。受试者对于治疗可具有难治性或复发性,该治疗为诸如选自以下项组成的组的治疗:抗CD38抗体、来那度胺、硼替佐米、泊马度胺、卡非佐米、埃罗妥珠单抗、伊沙佐米、美法仑和沙利度胺或它们的任何组合。优选地,如果受试者仅接受了1个先前治疗项,则受试者对于来那度胺具有难治性。

[0033] 在一些实施方案中,本申请的方法还包括向受试者施用另一种癌症治疗,诸如泊马度胺和/或地塞米松。

[0034] 在一些实施方案中,根据本申请的实施方案的方法导致T细胞激活,诸如CD4和CD8 T细胞上的CD25、PD-1、CD38中的至少一者的增加。根据本申请的实施方案的方法还可导致CD38+CD8+T细胞、CD38+CD4+T细胞和Tregs T细胞中的至少一者的频率增加。

[0035] 本申请的另一个一般方面涉及如本文所述的抗CD38抗体,该抗体用于治疗癌症(诸如MM,更具体地是复发性或难治性MM)的方法中,其中该方法包括:

[0036] (1) 以每1周-2周60 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg或300 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg的剂量向受试者施用GPRC5DxCD3双特异性抗体,以及

[0037] (2) 以每1周-4周1200mg至2400mg的剂量向受试者皮下施用抗CD38抗体。

[0038] 本申请的另一个一般方面涉及如本文所述的GPRC5DxCD3双特异性抗体,该抗体用于治疗癌症,诸如MM,更具体地是复发性或难治性MM,其中该治疗包括:

[0039] (1) 以每1周-2周60 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg或300 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg的剂量向受试者施用GPRC5DxCD3双特异性抗体,以及

[0040] (2) 以每1周-4周1200mg至2400mg的剂量向受试者皮下施用抗CD38抗体。

[0041] 本申请的又一个一般方面涉及如本文所述的抗CD38抗体和如本文所述的GPRC5DxCD3双特异性抗体的组合或试剂盒,该组合或试剂盒用于治疗癌症,诸如MM,更具体地是复发性或难治性MM,其中该治疗包括:

[0042] (1) 以每1周-2周60 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg或300 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg的剂量向受试者施用GPRC5DxCD3双特异性抗体,以及

[0043] (2) 以每1周-4周1200mg至2400mg的剂量向受试者皮下施用抗CD38抗体。

[0044] 本申请还涉及如本文所述的抗CD38抗体和如本文所述的GPRC5DxCD3双特异性抗体的组合在制造用于治疗癌症(诸如MM,更具体地是复发性或难治性MM)的药物方面的用途,其中该治疗包括:

[0045] (1) 以每1周-2周60 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg或300 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg的剂量向受试者施用GPRC5DxCD3双特异性抗体,以及

[0046] (2) 以每1周-4周1200mg至2400mg的剂量向受试者皮下施用抗CD38抗体。

## 附图说明

[0047] 当结合附图阅读时,将更好地理解上述发明内容以及下文本发明的详细描述。应当理解,本发明不限于附图中示出的精确实施方案。

[0048] 图1是针对复发性或难治性多发性骨髓瘤联合施用塔奎妥单抗与皮下达雷木单抗的1期研究的第1部分和第2部分的概述的示意图。

[0049] 图2示出了用达雷木单抗和塔奎妥单抗治疗的患者的应答率(分析的截止日期为2021年9月20日)。<sup>a</sup>接受 $\geq 1$ 种研究治疗且进行了 $\geq 1$ 次基线后应答评价的患者。Dara 1800mg加Tal(每周400 $\mu$ g/kg+每两周400 $\mu$ g/kg和800 $\mu$ g/kg)。<sup>b</sup>Dara=达雷木单抗;Tal=塔奎妥单抗;sCR=严格完全应答;CR=完全缓解;PR=部分缓解;VGPR=非常良好的部分应答。

[0050] 图3表明,所有患者中的细胞因子释放综合征(CRS)均限于1级或2级,并且通常限于逐步增加剂量和第一全剂量。<sup>c</sup>根据ASTCT(美国移植和细胞治疗学会)标准对CRS进行分级。CRS在所有患者中均已缓解。

[0051] 图4表明,在达雷木单抗的存在下,对患有复发性或难治性多发性骨髓瘤的患者进行塔奎妥单抗给药后,CD38+T细胞的频率增加。从C1D1(第1周期第1天)开始每周施用达雷木单抗(Dara)。<sup>A</sup>每条线代表不同的患者;所有患者均接受Dara 1800mg=Ta1(塔奎妥单抗)SC;<sup>b</sup>逐步增加剂量的Ta1。

[0052] 图5示出了用400 $\mu$ g/kg塔奎妥单抗和达雷木单抗治疗的RRMM患者中的CD8+T细胞和CD4+T细胞数目在指定时间点的对数倍数变化。示出了来自一名代表性受试者的数据。

[0053] 图6示出了用400 $\mu$ g/kg塔奎妥单抗和1800mg达雷木单抗治疗的RRMM患者中的CD25+CD4+T细胞和CD25+CD8+T细胞在指定时间点的百分比。示出了来自一名代表性受试者的数据。

[0054] 图7示出了用1800mg达雷木单抗加逐步增加剂量的塔奎妥单抗SC(10 $\mu$ g/kg和60 $\mu$ g/kg)、随后每周一次(QW)400 $\mu$ g/kg的塔奎妥单抗治疗的RRMM患者中的所选细胞因子的水平。图7A示出了干扰素 $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )水平。图7B示出了肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平。图7C示出了白介素-6(IL-6)水平。图7D示出了白介素-8(IL-8)水平。对于每个图,示出了来自一名代表性受试者的数据。

[0055] 图8示出了用1800mg达雷木单抗加塔奎妥单抗(400 $\mu$ g/kg SC QW或400 $\mu$ g/kg SC Q2W或800 $\mu$ g/kg SC Q2W(隔周一次))治疗的患者的应答持续时间。+,五级难治性;AE,不良事件;CD38E,抗CD38暴露;CD38RE,对抗CD38治疗具有难治性;CR,完全应答;D/C,中断;MR,最小应答;PD,疾病进展;PR,部分应答;SC,皮下;sCR,严格完全应答;SD,疾病稳定;TR,三药难治;VGPR,非常好的部分应答。

## 具体实施方式

[0056] 结合形成本公开一部分的附图,并参考以下具体实施方式,可更容易地理解本发明所公开的方法。应当理解,本发明所公开的方法不限于本文所描述和/或示出的具体方法,并且本文所用的术语仅用于以举例方式描述具体实施方案,并不旨在限制权利要求书保护的方法。本文引用的所有专利、公布的专利申请和出版物均以引用方式并入本文,如同在本文中进行了充分阐述。

[0057] 如本文所用,单数形式“一个”、“一种”和“该”包括复数形式。

[0058] 与说明书的各方面相关的各种术语在说明书和权利要求书中通篇使用。除非另外指明,否则此类术语被赋予本领域的普通含义。其他具体定义的术语应按照与本文所提供的定义相符的方式理解。

[0059] 相对于数值范围、截止值、特定值使用时,“约”是指处于如本领域的普通技术人员所确定的特定值的可接受误差范围之内,其将部分取决于该值是如何测量或确定的,即测量系统的限制。在某一测定、结果或实施方案的上下文中,除非实施例或说明书其他地方另有明确说明,否则“约”是指在根据本领域惯例的一个标准偏差之内或多至5%的范围(取较大者)。

[0060] “抗体”广义上是指并包括免疫球蛋白分子,具体包括单克隆抗体(包括鼠科动物单克隆抗体、人单克隆抗体、人源化单克隆抗体和嵌合单克隆抗体),抗原结合片段,多特异性抗体(诸如双特异性抗体、三特异性抗体、四特异性抗体等),二聚、四聚或多聚抗体,单链抗体、结构域抗体,以及包含具有所需特异性的抗原结合位点的免疫球蛋白分子的任何其

他经修饰构型。“全长抗体”由通过二硫键互连的两条重链(HC)与两条轻链(LC)以及它们的多聚体(例如IgM)构成。每条重链由重链可变区(VH)和重链恒定区(由结构域CH1、铰链、CH2和CH3构成)构成。每条轻链由轻链可变区(VL)和轻链恒定区(CL)构成。VH区和VL区可进一步细分为超变区,该超变区称为互补决定区(CDR)并间插有框架区(FR)。各个VH和VL由三个CDR和四个FR片段构成,并按以下顺序从氨基端至羧基端排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。免疫球蛋白可根据重链恒定结构域氨基酸序列被指定为五种主要种类,即IgA、IgD、IgE、IgG和IgM。IgA和IgG进一步亚分类为同种型IgA1、IgA2、IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。基于其恒定域的氨基酸序列,可将任何脊椎物种的抗体轻链指定为两种完全不同的类型即 $\kappa$ 和 $\lambda$ 中的一种。

[0061] “抗原结合片段”或“抗原结合结构域”是指免疫球蛋白分子的结合抗原的部分。抗原结合片段可以是合成的、可酶促获得的或经遗传工程改造的多肽,并且含有VH、VL、VH和VL、Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fd和Fv片段、由一个VH结构域或一个VL结构域组成的结构域抗体(dAb)、鲨鱼可变IgNAR结构域、驼峰化VH结构域、由模拟抗体的CDR诸如FR3-CDR3-FR4部分、HCDR1、HCDR2和/或HCDR3以及LCDR1、LCDR2和/或LCDR3的氨基酸残基组成的最小识别单元。VH和VL结构域可经由合成接头连接在一起以形成各种类型的单链抗体设计,其中在VH和VL结构域由单独的单链抗体构建体表达的情况下,VH/VL结构域可在分子内或分子间配对,以形成单价抗原结合位点,诸如单链Fv(scFv)或双价抗体;例如在国际专利公布W01998/44001号、W01988/01649号、W01994/13804号和W01992/01047号中有所描述。

[0062] “双特异性”是指特异性结合两个不同抗原或同一抗原内的两个不同表位的抗体。双特异性抗体可能对其他相关的抗原具有交叉反应性,例如,对来自其他物种(同源)(诸如人或猴,例如食蟹猕猴(*Macaca cynomolgus*)(*cynomolgus*, *cyno*)或黑猩猩(*Pan troglodytes*))的相同抗原具有交叉反应性,或者可结合两个或更多个不同抗原之间所共享的表位。

[0063] “癌症”是指广泛的各种疾病,其特征在于身体中异常细胞的不受控制的生长。未受控制的细胞分裂和生长导致形成恶性肿瘤,该恶性肿瘤侵入相邻组织并且还可通过淋巴系统或血流转移到身体的远侧部分。“癌症”或“癌症组织”可包括肿瘤。

[0064] “CD3”是指作为多分子T细胞受体(TCR)复合物的一部分在T细胞上表达并且由同源二聚体或异源二聚体组成的人抗原,该同源二聚体或该异源二聚体由两条或四条受体链:CD3 $\epsilon$ 、CD3 $\delta$ 、CD3 $\zeta$ 和CD3 $\gamma$ 的缔合形成。人CD3 $\epsilon$ 包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列。SEQ ID NO:2示出了CD3 $\epsilon$ 的细胞外结构域。

[0065] “CD38”是指人CD38蛋白(UniProt登记号P28907)(同义词:ADP-核糖基环化酶1、cADPr水解酶1、环状ADP-核糖水解酶1)。人CD38具有如SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列。CD38是单通II型跨膜蛋白,其具有代表胞质结构域的第1-21位氨基酸残基、代表跨膜结构域的第22-42位氨基酸残基、以及代表胞外结构域的第43-300位残基。

[0066] “GPCR5D”是指具有SEQ ID NO:4所示氨基酸序列的人G蛋白偶联受体C家族第5组成员D。

[0067] “CH3区域”或“CH3结构域”是指免疫球蛋白的CH3区域。人IgG1抗体的CH3区域对应于氨基酸残基341-446。然而,CH3区域也可以是如本文所述的其他抗体同种型中的任一种。

[0068] “嵌合抗原受体”或“CAR”是指将配体或抗原特异性移植到T细胞(例如初始T细胞、

中枢记忆T细胞、效应记忆T细胞或它们的组合)上的工程化T细胞受体。CAR也被称为人造T细胞受体、嵌合T细胞受体或嵌合免疫受体。CAR包含能够结合到抗原的胞外结构域、跨膜结构域和至少一个胞内结构域。CAR胞内结构域包含已知用作传输信号以引起细胞中生物过程的活化或抑制的结构域的多肽。跨膜结构域包含已知跨越细胞膜并且可起到连接胞外结构域和信号结构域的作用的任何肽或多肽。嵌合抗原受体可任选地包含铰链结构域,该铰链结构域充当胞外结构域与跨膜结构域之间的接头。

[0069] “组合”意指将两种或更多种治疗剂以混合物的形式一起施用于受试者、作为单一药剂并行施用于受试者或作为单一药剂以任何顺序依次施用于受试者。

[0070] “互补决定区”(CDR)是结合抗原的抗体区。CDR可使用各种描绘来定义,诸如Kabat (Wu等人, J Exp Med 132:211-50, 1970) (Kabat等人, “Sequences of Proteins of Immunological Interest”, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991)、Chothia (Chothia等人, J Mol Biol 196:901-17, 1987)、IMGT (Lefranc等人, Dev Comp Immunol 27:55-77, 2003) 和AbM (Martin和Thornton, J Biol Biol 263:800-15, 1996)。描述了各种描绘和可变区编号之间的对应关系(参见例如Lefranc等人, Dev Comp Immunol 27:55-77, 2003; Honegger和Pluckthun, J Mol Biol 309:657-70, 2001; 国际免疫遗传学 (IMGT) 数据库; Web资源, <http://www.imgt.org>)。可用程序(诸如UCL Business PLC的abYsis)可用于描绘CDR。除非说明书中另有明确地说明, 否则如本文所用, 术语“CDR”、“HCDR1”、“HCDR2”、“HCDR3”、“LCDR1”、“LCDR2”和“LCDR3”包括由任何上述方法(Kabat、Chothia、IMGT或AbM)定义的CDR。编号系统之间的对应关系, 包括例如Kabat编号和IMGT唯一编号系统, 为本领域技术人员所熟知(参见例如Kabat; Chothia; Martin; Lefranc等人)。

[0071] 表1. Kabat、IMGT、AbM和Chothia编号系统。

[0072]

	IMGT	Kabat	AbM	Chothia
V <sub>H</sub> CDR1	27-38	31-35	26-35	26-32
V <sub>H</sub> CDR2	56-65	50-65	50-58	53-55
V <sub>H</sub> CDR3	105-117	95-102	95-102	96-101
V <sub>L</sub> CDR1	27-38	24-34	24-34	26-32
V <sub>L</sub> CDR2	56-65	50-56	50-56	50-52
V <sub>L</sub> CDR3	105-117	89-97	89-97	91-96

[0073] 术语“包括”旨在包括由术语“基本上由……组成”和“由……组成”所涵盖的示例; 类似地, 术语“基本上由……组成”旨在包括由术语“由……组成”所涵盖的示例。除非上下文另有明确要求, 否则在整个说明书和权利要求书中, 字词“包括”、“包含”等应被理解为包含性意义, 而不是排他性或穷举性意义; 也就是说, “包括但不限于”的意义。

[0074] “增强”或“增强的”是指当与对照分子相比时一种测试分子的一种或多种功能增强, 或当与一种或多种对照分子相比时测试分子组合的一种或多种功能增强。可测量的示例性功能为肿瘤细胞杀伤、T细胞激活、相对或绝对T细胞数量、Fc介导的效应功能(例如ADCC、CDC和/或ADCP)或与Fc $\gamma$ 受体(Fc $\gamma$ R)或FcRn的结合。“增强的”可为约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%或更大的增强, 或统计意义上显著的增强。

[0075] “Fc $\gamma$ 受体”(Fc $\gamma$ R)是指熟知的Fc $\gamma$ RI、Fc $\gamma$ RIIa、Fc $\gamma$ RIIb或Fc $\gamma$ RIII。激活Fc

$\gamma$  R包括Fc  $\gamma$  RI、Fc  $\gamma$  RIIa和Fc  $\gamma$  RIII。

[0076] “人抗体”是指被优化以在被施用于人受试者时具有最小限度的免疫应答的抗体。人抗体的可变区源自人免疫球蛋白序列。如果人抗体包含恒定区或恒定区的一部分,则该恒定区也源自人免疫球蛋白序列。如果人抗体的可变区由使用人种系免疫球蛋白或重排免疫球蛋白基因的系统获得,则该人抗体包含“源自”人起源序列的重链可变区和轻链可变区。此类示例性系统为在噬菌体上展示的人免疫球蛋白基因文库,以及转基因非人动物,诸如携带人免疫球蛋白基因座的小鼠或大鼠。因为用于获得人抗体和人免疫球蛋白基因座的系统之间的差异,体细胞突变的引入或有意将取代引入框架或CDR中或两者,因此“人抗体”与在人中表达的免疫球蛋白相比通常包含氨基酸差异。通常,“人抗体”的氨基酸序列与由人种系免疫球蛋白基因或重排免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性。在一些情况下,“人类抗体”可包含由人框架序列分析得到的共有框架序列(例如Knappik等人,(2000) *J Mol Biol* 296:57-86中所述);或结合到展示在噬菌体上的人免疫球蛋白基因文库中的合成HCDR3(例如如Shi等人,(2010) *J Mol Biol* 397:385-96和国际专利公开号W02009/085462中所述)。“人抗体”的定义中不包括其中至少一个CDR源自非人物种的抗体。

[0077] “人源化抗体”是指其中至少一个CDR来源于非人物种并且至少一个框架来源于人免疫球蛋白序列的抗体。人源化抗体在框架中可包含取代,使得该框架可能不是表达的人免疫球蛋白或人免疫球蛋白种系基因序列的精确副本。

[0078] “分离的”是指已经与分子产生于其中的系统(例如重组细胞)中的其它组分基本上分离和/或从其中纯化出来的分子(诸如合成多核苷酸或蛋白质,如抗体)的同质群体,以及已经受至少一个纯化或分离步骤的蛋白质。“分离的抗体”是指基本上不含其他细胞材料和/或化学物质的抗体,并且涵盖分离至更高纯度,诸如80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%纯度的抗体。

[0079] “单克隆抗体”是指从抗体分子的基本上同质群体中获得的抗体,即,除了可能熟知的改变(诸如从抗体重链移除C末端赖氨酸)或翻译后修饰(诸如氨基酸异构化或脱酰胺、甲硫氨酸氧化或天冬酰胺或谷氨酰胺脱酰胺)之外,构成群体的各个抗体是相同的。单克隆抗体通常结合一个抗原表位。双特异性单克隆抗体结合两个不同的抗原表位。单克隆抗体可在抗体群内具有异质糖基化。单克隆抗体可以是单特异性的或多特异性的,诸如双特异性的、单价的、二价的或多价的。

[0080] “突变”是指与参考序列相比,多肽或多核苷酸序列中工程化或天然存在的改变。该改变可以是一个或多个氨基酸或多核苷酸的置换、插入或缺失。

[0081] “非固定组合”是指在非特定间隔时间限制下同时、并行或顺序地作为独立实体施用的T细胞重定向治疗剂和抗CD38抗体的独立药物组合物,其中此类施用在受试者体内提供有效水平的两种化合物。

[0082] “多特异性”是指特异性结合至少两个不同抗原,或同一抗原内的至少两个不同表位的抗体。多特异性抗体可结合例如两个、三个、四个或五个不同抗原或同一抗原内的不同表位。

[0083] 当提及剂量时,“ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ”或“ $\text{mg}/\text{kg}$ ”是指根据受试者的每千克(kg)体重以微克( $\mu\text{g}$ )或毫克(mg)为单位向受试者施用的活性剂(诸如双特异性抗体或抗体)的量。

[0084] “药物组合物”是指包括活性成分和药学上可接受的载体的组合物。

[0085] “药学上可接受的载剂”或“赋形剂”是指药物组合物中除活性成分之外的成分,该成分对受试者无毒。

[0086] “费城染色体”或“Ph”是指9号染色体与22号染色体之间的众所周知的染色体易位,其导致具有组成型活性的酪氨酸激酶活性的致癌BCR-ABL基因融合。所述易位导致来自染色体22q11的BCR基因的一部分与来自染色体9q34的ABL基因的一部分融合,并按照人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN)被命名为t(9;22)(q34;q11)。根据融合的确切位置,所得融合蛋白的分子量可在185kDa至210kDa的范围内。“费城染色体”是指由于(9;22)(q34;q11)易位而形成的所有BCR-ABL融合蛋白。

[0087] “重组体”是指当将来自不同来源的片段连接以产生重组DNA、抗体或蛋白质时,通过重组手段制备、表达、形成或分离的DNA、抗体和其他蛋白质。

[0088] “降低”或“降低的”是指当与对照分子相比时一种测试分子的一种或多种功能降低,或当与一种或多种对照分子相比时测试分子组合的一种或多种功能降低。可测量的示例性功能是肿瘤细胞杀伤、T细胞激活、相对或绝对T细胞数量、Fc介导的效应功能(例如ADCC、CDC和/或ADCP)或与Fc $\gamma$ 受体(Fc $\gamma$ R)或FcRn的结合。“降低的”可为约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%或更大的降低,或统计意义上显著的降低。“rHuPh20”是指具有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的重组人透明质酸酶,其是在国际专利公布号W02004/078140中描述的重组透明质酸酶(HYLENEX<sup>®</sup>重组体)。

[0089] “难治性”是指不适于外科手术干预并且初始对治疗无应答的癌症。

[0090] “复发性”是指对治疗有应答但随后又复原的癌症。

[0091] “受试者”包括任何人或非人动物。“非人动物”包括所有脊椎动物,例如哺乳动物和非哺乳动物,诸如非人灵长类动物、绵羊、狗、猫、马、牛、鸡、两栖动物、爬行动物等。除非另外指出,术语“患者”或“受试者”可互换使用。

[0092] “GPCR5DxCD3双特异性抗体”是指含有两个或更多个结合区域的分子,其中这些结合区域中的一个结合区域特异性结合靶细胞或组织上的细胞表面抗原G蛋白偶联受体C家族第5组成员D抗原(GPCR5D),并且其中该分子的第二结合区域特异性结合T细胞抗原CD3。这种双靶/多靶结合能力将T细胞募集到靶细胞或组织,从而根除靶细胞或组织。

[0093] “治疗有效量”是指在所需剂量和时间段有效实现期望的治疗结果的量。治疗有效量可根据以下因素变化:诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重,以及治疗剂或治疗剂组合在个体中引发期望的应答的能力。有效的治疗剂或治疗剂的组合的示例性指标包括例如改善患者的健康。

[0094] “治疗”是指治疗性治疗以及预防性或防御性措施两者,其中目标是防止或减缓(减轻)不期望的生理变化或障碍。有益或期望的临床结果包括症状的减轻、疾病程度的减弱、疾病的稳定(即,未恶化)状态、疾病进展的延迟或减慢、疾病状态的改善或缓和,以及缓解(不论是部分缓解还是完全缓解),不论是可检测的还是不可检测的。“治疗”也可意指与受试者未接受治疗时的预期生存期相比延长生存期。需要治疗的个体包括已患有病症或障碍的个体以及易患病症或障碍的个体或者要预防病症或障碍的个体。

[0095] “肿瘤细胞”或“癌细胞”是指在体内、离体或组织培养物中的癌性、癌前或转化的细胞,其具有自发或诱导的表型变化。这些变化未必涉及新遗传物质的摄取。虽然转化可由感染转化病毒以及整合新基因组核酸、摄取外源核酸而发生,或者其也可自发地发生或在暴露于致癌物之后发生,从而使内源基因突变。转化/癌症示例为合适的动物宿主(诸如裸小鼠等)中体外、体内和离体的形态变化、细胞永生、异常生长控制、病灶形成、增殖、恶性肿瘤、肿瘤特异性标志物水平调节、侵入、肿瘤生长。

[0096] 除非另有明确说明,否则在整个说明书中,根据EU索引进行抗体恒定区中的氨基酸残基的编号,如Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD.(1991)中描述的。抗体恒定链编号可见于例如ImMunoGeneTics网站、IMGT Web资源、IMGT科学图表。

[0097] CH3区域中的取代表示为第一重链的第一CH3结构域中的经修饰的位置/第二重链的第二CH3结构域中的经修饰的位置。例如,F405L/K409R是指第一CH3区域中的F405L突变和第二CH3区域中的K09R突变。L351Y\_F405A\_Y407V/T394W是指第一CH3区域中的L351Y、F40FA和Y407V突变和第二CH3区域中的T394W突变。D399FHKRQ/K409AGRH是指其中D399可被F、H、K、R或Q取代并且K409可被A、G、R或H取代的突变。

[0098] 本文使用如表2中所示的常规单字母和三字母氨基酸代码。

[0099] 表2.氨基酸缩写

氨基酸	三字母代码	单字母代码
丙氨酸	Ala	A
精氨酸	Arg	R
天冬酰胺	Asn	N
天冬氨酸	Asp	D
半胱氨酸	Cys	C
谷氨酸	Gln	E
谷氨酰胺	Glu	Q
甘氨酸	Gly	G
[0100] 组氨酸	His	H
异亮氨酸	Ile	I
亮氨酸	Leu	L
赖氨酸	Lys	K
甲硫氨酸	Met	M
苯丙氨酸	Phe	F
脯氨酸	Pro	P
丝氨酸	Ser	S
苏氨酸	Thr	T
色氨酸	Trp	W
[0101] 酪氨酸	Tyr	Y
缬氨酸	Val	V

[0102] “泊马度胺”也称为“POMALYST<sup>®</sup>”,是指沙利度胺的类似物,它是具有抗肿

瘤活性的第三代IMiD(免疫调节药物)。IMiD,诸如来那度胺和泊马度胺,形成了若干目前的多发性骨髓瘤治疗方案的支柱。它们的确切作用机制尚未完全清楚,但是IMiD对多发性骨髓瘤肿瘤微环境具有免疫调节作用,并且可影响肿瘤抑制基因的表达,促进骨髓瘤细胞的凋亡,并且增强NK介导的骨髓瘤细胞溶解。达雷木单抗与IMiD的组合已经在多项研究中得到评价,并且证明了功效的显著改善。

[0103] 在一个一般方面,本申请涉及一种治疗癌症,诸如MM,优选地为难治性或复发性MM的方法,该方法包括以每1周-2周60 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg的剂量向受试者施用GPRC5DxCD3双特异性抗体,以及以每1周-4周1200mg至2400mg的剂量向受试者皮下施用抗CD38抗体。

[0104] 本公开还提供了一种杀伤对其有需要的受试者体内的肿瘤细胞的方法,该方法包括以每1周-2周60 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg的剂量向受试者施用GPRC5DxCD3双特异性抗体,以及以每1周-4周1200mg至2400mg的剂量向受试者皮下施用抗CD38抗体,从而杀伤受试者体内的肿瘤细胞。

[0105] 本公开还提供了一种增强对其有需要的受试者体内的GPRC5DxCD3双特异性抗体和抗CD38抗体中的至少一者的活性的方法,该方法包括以每1周-2周60 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg的剂量向受试者施用GPRC5DxCD3双特异性抗体,以及以每1周-4周1200mg至2400mg的剂量向受试者皮下施用抗CD38抗体,从而杀伤受试者体内的肿瘤细胞。

[0106] 在一些实施方案中,在施用GPRC5DxCD3双特异性抗体之前施用抗CD38抗体。例如,在施用GPRC5DxCD3双特异性抗体之前约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时施用抗CD38抗体。在某些实施方案中,在同一天施用抗CD38抗体和GPRC5DxCD3双特异性抗体,并且在皮下施用GPRC5DxCD3双特异性抗体之前约3小时施用抗CD38抗体。

[0107] 在一些实施方案中,每周或每两周施用GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0108] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体和抗CD38抗体各自以足以减轻或至少部分地阻止所治疗疾病的量(“治疗有效量”)施用于患有癌症(诸如多发性骨髓瘤)的受试者。

[0109] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体以每周或每两周60 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg的剂量施用。例如,GPRC5DxCD3双特异性抗体可以60 $\mu$ g/kg至100 $\mu$ g/kg,诸如60 $\mu$ g/kg、70 $\mu$ g/kg、80 $\mu$ g/kg、90 $\mu$ g/kg或100 $\mu$ g/kg的剂量或其间的任何值静脉内施用,并且施用可以是每周、每两周或其间的任何频率。GPRC5DxCD3双特异性抗体还可以300 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg,诸如300 $\mu$ g/kg、350 $\mu$ g/kg、400 $\mu$ g/kg、450 $\mu$ g/kg、500 $\mu$ g/kg、550 $\mu$ g/kg、600 $\mu$ g/kg、650 $\mu$ g/kg、700 $\mu$ g/kg、750 $\mu$ g/kg、800 $\mu$ g/kg、850 $\mu$ g/kg、900 $\mu$ g/kg、950 $\mu$ g/kg或1200 $\mu$ g/kg的剂量或其间的任何值皮下内施用,并且施用可以是每周、每两周或其间的任何频率。

[0110] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体以每周400 $\mu$ g/kg的剂量皮下施用。在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体以每周或每两周800 $\mu$ g/kg的剂量皮下施用。

[0111] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体以每两周400 $\mu$ g/kg的剂量皮下施用。

[0112] 在一些实施方案中,在施用第一治疗之前,GPRC5DxCD3双特异性抗体以10 $\mu$ g/kg至300 $\mu$ g/kg的至少一个、两个或三个逐步增加剂量皮下施用,诸如10 $\mu$ g/kg、20 $\mu$ g/kg、30 $\mu$ g/kg、40 $\mu$ g/kg、50 $\mu$ g/kg、60 $\mu$ g/kg、70 $\mu$ g/kg、80 $\mu$ g/kg、90 $\mu$ g/kg、100 $\mu$ g/kg、110 $\mu$ g/kg、120 $\mu$ g/kg

kg、130 $\mu$ g/kg、140 $\mu$ g/kg、150 $\mu$ g/kg、160 $\mu$ g/kg、170 $\mu$ g/kg、180 $\mu$ g/kg、190 $\mu$ g/kg、200 $\mu$ g/kg、210 $\mu$ g/kg、220 $\mu$ g/kg、230 $\mu$ g/kg、240 $\mu$ g/kg、250 $\mu$ g/kg、260 $\mu$ g/kg、270 $\mu$ g/kg、280 $\mu$ g/kg、290 $\mu$ g/kg或300 $\mu$ g/kg的GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0113] 在一些实施方案中,该方法还包括在初始皮下施用400 $\mu$ g/kg的基于体重的治疗剂量的GPRC5DxCD3双特异性抗体之前,向受试者皮下施用10 $\mu$ g/kg和60 $\mu$ g/kg的逐步增加剂量的GPRC5DxCD3双特异性抗体。在另一个实施方案中,该方法还包括在初始皮下施用800 $\mu$ g/kg的基于体重的治疗剂量的GPRC5DxCD3双特异性抗体之前,向受试者皮下施用10 $\mu$ g/kg、60 $\mu$ g/kg和300 $\mu$ g/kg的逐步增加剂量的GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0114] 在一些实施方案中,抗CD38抗体以每1周-4周8mg/kg至约16mg/kg的剂量皮下施用。例如,抗CD38抗体可以8mg/kg、8.5mg/kg、9mg/kg、9.5mg/kg、10mg/kg、10.5mg/kg、11mg/kg、11.5mg/kg、12mg/kg、12.5mg/kg、13mg/kg、13.5mg/kg、14mg/kg、14.5mg/kg、15mg/kg、15.5mg/kg、16mg/kg的剂量或其间的任何值皮下施用,并且施用可以是每周一次、每2周一次、每3周一次或每4周一次,或其间的任何频率。

[0115] 在一些实施方案中,抗CD38抗体以每1周-4周1200mg至2400mg的固定剂量皮下施用。例如,抗CD38抗体可以1200mg、1250mg、1300mg、1350mg、1400mg、1450mg、1500mg、1550mg、1600mg、1650mg、1700mg、1750mg、1800mg、1850mg、1900mg、1950mg、2000mg、2050mg、2100mg、2150mg、2200mg、2250mg、2300mg、2350mg、2400mg的剂量或其间的任何值皮下施用,并且施用可以是每周一次、每2周一次、每3周一次或每4周一次,或其间的任何频率。在一些实施方案中,抗CD38抗体以每1周-4周1600mg至2000mg的剂量范围皮下施用。例如,抗CD38抗体可以1600mg、1650mg、1700mg、1750mg、1800mg、1850mg、1900mg、1950mg、2000mg的剂量或其间的任何值皮下施用,并且施用可以是每周一次、每2周一次、每3周一次或每4周一次,或其间的任何频率。

[0116] 在一些实施方案中,抗CD38抗体以每周、每两周、每2周一次或每4周一次1800mg的剂量皮下施用。

[0117] 可在初始周期中施用逐步增加剂量的GPRC5DxCD3双特异性抗体。在一些实施方案中,可在时间延迟后重复施用逐步增加剂量的GPRC5DxCD3双特异性抗体。根据本申请的实施方案,在每周或每两周治疗的剂量水平的初始施用之前,可向受试者施用较低剂量的一个或多个逐步增加剂量的GPRC5DxCD3双特异性抗体。在一些实施方案中,在施用第一个每周或每两周的治疗之前,向受试者皮下施用5 $\mu$ g/kg至300 $\mu$ g/kg的至少一个、两个或三个逐步增加剂量的GPRC5DxCD3双特异性抗体,诸如5 $\mu$ g/kg、10 $\mu$ g/kg、20 $\mu$ g/kg、30 $\mu$ g/kg、40 $\mu$ g/kg、50 $\mu$ g/kg、60 $\mu$ g/kg、70 $\mu$ g/kg、80 $\mu$ g/kg、90 $\mu$ g/kg、100 $\mu$ g/kg、110 $\mu$ g/kg、120 $\mu$ g/kg、130 $\mu$ g/kg、140 $\mu$ g/kg、150 $\mu$ g/kg、160 $\mu$ g/kg、170 $\mu$ g/kg、180 $\mu$ g/kg、190 $\mu$ g/kg、200 $\mu$ g/kg、210 $\mu$ g/kg、220 $\mu$ g/kg、230 $\mu$ g/kg、240 $\mu$ g/kg、250 $\mu$ g/kg、260 $\mu$ g/kg、270 $\mu$ g/kg、280 $\mu$ g/kg、290 $\mu$ g/kg或300 $\mu$ g/kg或其间的任何值的GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0118] 在某些实施方案中,根据本申请的方法还包括在初始皮下施用400 $\mu$ g/kg的GPRC5DxCD3双特异性之前,向受试者皮下施用5 $\mu$ g/kg至100 $\mu$ g/kg,诸如5 $\mu$ g/kg、10 $\mu$ g/kg、20 $\mu$ g/kg、30 $\mu$ g/kg、40 $\mu$ g/kg、50 $\mu$ g/kg、60 $\mu$ g/kg、70 $\mu$ g/kg、80 $\mu$ g/kg、90 $\mu$ g/kg或100 $\mu$ g/kg的剂量或其间的任何值的GPRC5DxCD3双特异性抗体。在其他实施方案中,根据本申请的方法还包括在初始施用800 $\mu$ g/kg的GPRC5DxCD3双特异性之前,向受试者皮下施用5 $\mu$ g/kg至350 $\mu$ g/kg

kg, 诸如5 $\mu$ g/kg、10 $\mu$ g/kg、20 $\mu$ g/kg、30 $\mu$ g/kg、40 $\mu$ g/kg、50 $\mu$ g/kg、60 $\mu$ g/kg、70 $\mu$ g/kg、80 $\mu$ g/kg、90 $\mu$ g/kg、100 $\mu$ g/kg、150 $\mu$ g/kg、200 $\mu$ g/kg、250 $\mu$ g/kg、300 $\mu$ g/kg或350 $\mu$ g/kg的剂量或其间的任何值的GPRC5DxCD3双特异性抗体。在其他实施方案中, 该方法包括在治疗的第2天施用第一个逐步增加剂量, 在第4天施用第二个逐步增加剂量, 以及任选地在第8天施用第三个逐步增加剂量。

[0119] 在某些实施方案中, 本申请的方法包括在每周或每两周初始皮下施用400 $\mu$ g/kg的GPRC5DxCD3双特异性抗体之前, 在治疗的第2天向受试者皮下施用10 $\mu$ g/kg的GPRC5DxCD3双特异性抗体, 并且在治疗的第4天向受试者皮下施用60 $\mu$ g/kg的GPRC5DxCD3双特异性抗体。在某些实施方案中, 本申请的方法包括在每周或每两周初始皮下施用800 $\mu$ g/kg的GPRC5DxCD3双特异性抗体之前, 在治疗的第2天向受试者皮下施用10 $\mu$ g/kg的GPRC5DxCD3双特异性抗体, 在治疗的第4天向受试者皮下施用60 $\mu$ g/kg的GPRC5DxCD3双特异性抗体, 并且在治疗的第8天向受试者皮下施用300 $\mu$ g/kg的GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0120] GPRC5DxCD3双特异性抗体和/或抗CD38抗体的施用可以28天周期施用, 并且治疗可包括多个周期, 诸如2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个周期。作为长期施用, 重复施用过程也是可能的。重复施用可为相同剂量或不同剂量。例如, GPRC5DxCD3双特异性抗体可以每周间隔400 $\mu$ g/kg或800 $\mu$ g/kg皮下施用8周, 并且以每两周400 $\mu$ g/kg或800 $\mu$ g/kg皮下施用附加时间段。在另一个示例中, GPRC5DxCD3双特异性抗体可以每两周间隔400 $\mu$ g/kg或800 $\mu$ g/kg皮下施用8周, 随后以每两周相同或不同的剂量施用附加时间段。在其他实施方案中, GPRC5DxCD3双特异性抗体以每周200 $\mu$ g/kg、300 $\mu$ g/kg或400 $\mu$ g/kg、优选400 $\mu$ g/kg皮下施用8周, 随后每两周皮下施用800 $\mu$ g/kg的GPRC5DxCD3双特异性抗体。在其他实施方案中, GPRC5DxCD3双特异性抗体以每周400 $\mu$ g/kg皮下施用8周, 随后每两周皮下施用400 $\mu$ g/kg或800 $\mu$ g/kg的GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0121] 根据本申请的实施方案, 抗CD38抗体的施用频率可随治疗的时间而降低。例如, 在治疗的第1周至第8周期间每周一次, 在治疗的第9周至第24周期间每两周一次, 并且在治疗的第24周后每四周一次以1800mg的剂量向受试者皮下施用抗CD38抗体。

[0122] GPRC5DxCD3双特异性抗体和抗CD38抗体可通过维持疗法施用, 诸如每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次, 持续6个月或更长时间段。

[0123] 还可以预防性地施用GPRC5DxCD3双特异性抗体和抗CD38抗体, 以便降低罹患癌症诸如多发性骨髓瘤的风险、延迟癌症进展中事件的发作和/或在癌症缓解后降低复发的风险。

[0124] 在一些实施方案中, 在向受试者施用抗CD38抗体之后, 将GPRC5DxCD3双特异性抗体施用于受试者。GPRC5DxCD3双特异性抗体和抗CD38抗体可在同一天施用。GPRC5DxCD3双特异性抗体还可在施用抗CD38抗体后一天或多天、一周、两周、三周、一个月、五周、六周、七周、两个月、三个月、四个月、五个月、六个月或更长时间施用。

[0125] 在一些实施方案中, 该方法还包括向受试者施用一种或多种抗癌疗法。

[0126] 在一些实施方案中, 一种或多种抗癌疗法选自以下项组成的组: 自体同源干细胞移植 (ASCT)、放射、外科手术、化疗剂、免疫调节剂和靶向癌症疗法。

[0127] 在一些实施方案中, 一种或多种抗癌疗法是自体同源干细胞移植 (ASCT)。在一些实施方案中, 一种或多种抗癌疗法是放射。在一些实施方案中, 一种或多种抗癌疗法是外科

手术。在一些实施方案中,一种或多种抗癌疗法是化疗剂。在一些实施方案中,一种或多种抗癌疗法是免疫调节剂。在一些实施方案中,一种或多种抗癌疗法是靶向癌症疗法。在一些实施方案中,一种或多种抗癌疗法选自由以下项组成的组:来那度胺、沙利度胺、泊马度胺、硼替佐米、卡非佐米、埃罗妥珠单抗、伊沙佐米、美法仑、艾萨妥昔单抗(isatuximab)、CELMoD、地塞米松、长春新碱、环磷酰胺、羟基柔红霉素、泼尼松、利妥昔单抗、伊马替尼、达沙替尼、尼罗替尼、博舒替尼、帕纳替尼、巴非替尼、塞卡替尼、陶扎色替或达鲁舍替、阿糖胞苷、柔红霉素、伊达比星、米托蒽醌、羟基脲、地西他滨、克拉屈滨、氟达拉滨、拓扑替康、依托泊苷6-硫鸟嘌呤、皮质类固醇、甲氨蝶呤、6-巯嘌呤、阿扎胞苷、三氧化二砷和全反式视黄酸或它们的任何组合。

[0128] 在一些实施方案中,一种或多种抗癌疗法选自由以下项组成的组:来那度胺、沙利度胺、泊马度胺、硼替佐米、卡非佐米、埃罗妥珠单抗、伊沙佐米、美法仑、泼尼松或地塞米松或它们的任何组合。

[0129] 在一些实施方案中,一种或多种抗癌疗法是泊马度胺。

[0130] 在一些实施方案中,泊马度胺以2mg或4mg的剂量口服施用。

[0131] 在一些实施方案中,一种或多种抗癌疗法是泊马度胺和地塞米松。

[0132] 在一些实施方案中,以延迟给药方案施用泊马度胺。延迟给药方案可发生在第1周期第15天(C1D15)或第2周期第1天(C2D1)。

[0133] 在一些实施方案中,泊马度胺与GPCR5DxCD3双特异性抗体和抗CD38抗体并行施用。

[0134] 在一些实施方案中,在至少3个完整的初始含IMiD周期期间施用地塞米松。

[0135] CD38是多功能蛋白,其功能表现为受体介导的粘附和信号传导,以及经由其胞外酶活性介导钙动员,催化环状ADP核糖(cADPR)和ADPR的形成。CD38介导细胞因子的分泌以及淋巴细胞的激活和增殖(Funaro等人, *J Immunol* 145:2390-6, 1990; Terhorst等人, *Cell* 771-80, 1981; Guse等人, *Nature* 398:70-3, 1999)。CD38还经由其NAD糖水解酶活性调节细胞外NAD<sup>+</sup>水平,这牵涉到调节调节性T细胞区室(Adriouch等人, *Microbes infect* 14:1284-92, 2012; Chiarugi等人, *Nature Reviews* 12:741-52, 2012)。除了经由Ca<sup>2+</sup>进行的信号传导之外,CD38信号传导还经由与T细胞和B细胞上的抗原-受体复合物或其他类型受体复合物(例如主要组织相容性复合物(MHC)分子)的交互应答而发生,从而CD38不仅参与若干细胞应答,而且参与IgG1的转换和分泌。

[0136] 任何合适的抗CD38抗体都可用于本申请的方法中。

[0137] 在一些实施方案中,抗CD38抗体包含SEQ ID NO:7的HCDR1、SEQ ID NO:8的HCDR2、SEQ ID NO:9的HCDR3、SEQ ID NO:10的LCDR1、SEQ ID NO:11的LCDR2和SEQ ID NO:12的LCDR3。

[0138] 上述CDR属于Kabat编号系统。然而,如本文所提供的,本公开的CDR可由任何合适的编号系统提供,诸如Kabat、Chothia、IMGT或AbM编号系统。表3提供了利用Kabat、Chothia、IMGT和AbM编号系统的示例性CDR:

[0139] 表3:抗CD38抗体的示例性CDR

区域	Kabat	Chothia	AbM	IMGT
[0140] HCDR1	SFAMS(SEQ ID NO: 7)	GFTFNSF (SEQ ID NO: 46)	GFTFNSFAMS (SEQ ID NO: 48)	GFTFNSFA (SEQ ID NO: 50)
HCDR2	AISGSGGGTYADSVKG (SEQ ID NO: 8)	SGSGGG (SEQ ID NO: 47)	AISGSGGGTY (SEQ ID NO: 49)	ISGSGGGT (SEQ ID NO: 51)
HCDR3	DKILWFGPEVFDY (SEQ ID NO: 9)	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 9	AKDKILWFGPEVFDY (SEQ ID NO: 52)
LCDR1	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO: 10)	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 10	QSVSSY (SEQ ID NO: 53)
LCDR2	DASNRAT (SEQ ID NO: 11)	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 11	DAS
LCDR3	QQRSNWPPT (SEQ ID NO: 12)	SEQ ID NO: 12	SEQ ID NO: 12	SEQ ID NO: 12

[0141] 在一些实施方案中,抗CD38抗体包含SEQ ID NO:7的HCDR1、SEQ ID NO:8的HCDR2、SEQ ID NO:9的HCDR3、SEQ ID NO:10的LCDR1、SEQ ID NO:11的LCDR2和SEQ ID NO:12的LCDR3。

[0142] 在一些实施方案中,抗CD38抗体包含SEQ ID NO:46的HCDR1、SEQ ID NO:47的HCDR2、SEQ ID NO:9的HCDR3、SEQ ID NO:10的LCDR1、SEQ ID NO:11的LCDR2和SEQ ID NO:12的LCDR3。

[0143] 在一些实施方案中,抗CD38抗体包含SEQ ID NO:48的HCDR1、SEQ ID NO:49的HCDR2、SEQ ID NO:9的HCDR3、SEQ ID NO:10的LCDR1、SEQ ID NO:11的LCDR2和SEQ ID NO:12的LCDR3。

[0144] 在一些实施方案中,抗CD38抗体包含SEQ ID NO:50的HCDR1、SEQ ID NO:51的HCDR2、SEQ ID NO:52的HCDR3、SEQ ID NO:53的LCDR1、具有氨基酸序列DAS的LCDR2和SEQ ID NO:12的LCDR3。

[0145] 在一些实施方案中,抗CD38抗体包含SEQ ID NO:5的VH和SEQ ID NO:6的VL。

[0146] 在一些实施方案中,抗CD38抗体包含SEQ ID NO:13的HC和SEQ ID NO:14的LC。

[0147] 在本发明的方法中使用的其他抗CD38抗体可以是已知的抗体,诸如美国专利号7,829,673中所述的mAb003。mAb003的VH和VL可表达为IgG1/ $\kappa$ ;美国专利号7,829,673中所述的mAb024。mAb024的VH和VL可表达为IgG1/ $\kappa$ ;MOR-202 (MOR-03087),包括在美国专利号8,088,896中所述的。MOR-202的VH和VL可表达为IgG1/ $\kappa$ ;或isatuximab;在美国专利号8,153,765中有所描述。艾萨妥昔单抗的VH和VL可表达为IgG1/ $\kappa$ 。在一些实施方案中,抗CD38抗体包含a) SEQ ID NO:38的VH和SEQ ID NO:39的VL;b) SEQ ID NO:40的VH和SEQ ID NO:41的VL;c) SEQ ID NO:42的VH和SEQ ID NO:43的VL;或d) SEQ ID NO:44的VH和SEQ ID NO:45的VL。

[0148] 在一个实施方案中,抗CD38抗体是**DARZALEX**<sup>®</sup> (达雷木单抗)。

[0149] 在一些实施方案中,达雷木单抗包含SEQ ID NO:5的VH和SEQ ID NO:6的VL。

[0150] 在一些实施方案中,达雷木单抗包含SEQ ID NO:13的HC和SEQ ID NO:14的LC。

[0151] 在一些实施方案中,抗CD38抗体是嵌合的、人源化的或人的。

[0152] 在一些实施方案中,抗CD38抗体是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。

[0153] 在一些实施方案中,抗CD38抗体是IgG1同种型。

[0154] G蛋白偶联受体C家族第5组成员D (GPCR5D) 是7跨膜受体蛋白,其基于序列同源性评分被分类为C型G蛋白偶联受体,并且是配体和信号传导机制尚未鉴定的孤儿受体。

GPRC5D信使核糖核酸 (mRNA) 主要在具有浆细胞表型的细胞中表达,并且还在来自患有多发性骨髓瘤的患者的所有恶性浆细胞中表达。GPRC5D在浆细胞谱系上的表达使其成为治疗浆细胞障碍(如多发性骨髓瘤)的T细胞介导疗法的靶标。GPRC5DxCD3双特异性抗体靶向T细胞上的CD3受体复合物和浆细胞上的GPRC5D。双结合位点允许GPRC5DxCD3双特异性抗体吸引CD3+T细胞紧密接近骨髓瘤细胞,而无需考虑T细胞受体特异性或依赖抗原呈递细胞表面上的MHC 1类分子进行激活,从而导致GPRC5D阳性细胞的细胞死亡。

[0155] 任何合适的GPRC5DxCD3双特异性抗体均可用于本申请的方法中。示例性多特异性和/或双特异性型式包括双重靶向分子,包括双重靶向(DT)-Ig(GSK/Domantis)、二合一抗体(Genentech)和mAb2(F-Star)、双重可变结构域(DVD)-Ig(Abbott)、Ts2Ab(MedImmune/AZ)和BsAb(Zymogenetics)、HERCULES(Biogen Idec)和TvAb(Roche)、ScFv/Fc融合体(Academic Institution)、SCORPION(Emergent BioSolutions/Trubion,Zymogenetics/BMS)和双亲和重靶向技术(Fc-DART)(MacroGenics)、F(ab)2(Medarex/AMGEN)、双功能或Bis-Fab(Genentech)、对接锁定(DNL)(ImmunoMedics)、二价双特异性(Biotecnol)和Fab-Fv(UCB-Celltech)、双特异性T细胞衔接器(BITE)(Micromet)、串联双价抗体(Tandab)(Affimed)、双亲和重靶向技术(DART)(MacroGenics)、单链双价抗体(Academic)、TCR样抗体(AIT,ReceptorLogics)、人血清白蛋白ScFv融合体(Merrimack)和COMBODY(Epigen Biotech)、双重靶向纳米抗体(Ablynx)、双重靶向仅重链结构域抗体。各种形式的双特异性抗体已描述于例如Chames和Baty,2009年,Curr Opin Drug Disc Dev,第12卷,第276页和Nunez-Prado等人,2015年,Drug Discovery Today,第20卷第5期,第588-594页中。

[0156] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体和抗CD38抗体是抗原结合片段。示例性抗原结合片段是Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fd和Fv片段。

[0157] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体是嵌合的、人源化的或人的。

[0158] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体包含:GPRC5D结合结构域,其包含具有SEQ ID NO:27的HCDR1、SEQ ID NO:28的HCDR2、SEQ ID NO:29的HCDR3的VH以及具有SEQ ID NO:30的LCDR1、SEQ ID NO:31的LCDR2和SEQ ID NO:32的LCDR3的VL;和CD3结合结构域,其包含具有SEQ ID NO:17的HCDR1、SEQ ID NO:18的HCDR2、SEQ ID NO:19的HCDR3的VH以及具有SEQ ID NO:20的LCDR1、SEQ ID NO:21的LCDR2和SEQ ID NO:22的LCDR3的VL。GPRC5DxCD3双特异性抗体的HCDR和LCDR列举在下表4中:

[0159] 表4:GPRC5DxCD3双特异性抗体的示例性CDR

[0160]

结合臂	区域	序列	SEQ ID NO:
GPRC5D	HCDR1	GYTMN	27
	HCDR2	LINPYNSDTNYAQKLQG	28
	HCDR3	VALRVALDY	29
	LCDR1	KASQNVATHVG	30
	LCDR2	SASYRYS	31
	LCDR3	QQYNRYPYT	32
CD3	HCDR1	TYAMN	17
	HCDR2	RIRSKYNNYATYYAASVKG	18
	HCDR3	HGNFGNSYVSWFAY	19
	LCDR1	RSSTGAVTTSNYAN	20
	LCDR2	GTNKRAP	21
	LCDR3	ALWYSNLWV	22

[0161] 上表中所述的CDR属于Kabat编号系统。然而,如本文所提供的,本公开的CDR可由任何合适的编号系统提供,诸如Kabat、Chothia、IMGT或AbM编号系统中的任一者。下表5至表7提供了利用Chothia、AbM和IMGT编号系统的示例性CDR:

[0162] 表5:GPRC5DxCD3双特异性抗体的示例性CDR——Chothia编号系统:

结合臂	区域	序列	SEQ ID NO:
GPRC5D	HCDR1	GYSFTGY	54
	HCDR2	NPYNSD	55
	HCDR3	VALRVALDY	29
	LCDR1	KASQNVATHVG	30
	LCDR2	SASYRYS	31
	LCDR3	QQYNRYPYT	32
CD3	HCDR1	GFTFNTY	56
	HCDR2	RSKYNNYA	57
	HCDR3	HGNFGNSYVSWFAY	19
	LCDR1	RSSTGAVTTSNYAN	20
	LCDR2	GTNKRAP	21
	LCDR3	ALWYSNLWV	22

[0164] 表6:GPRC5DxCD3双特异性抗体的示例性CDR——AbM编号系统:

结合臂	区域	序列	SEQ ID NO:
GPRC5D	HCDR1	GYSFTGYTMN	58
	HCDR2	LINPYNSDTN	59
	HCDR3	VALRVALDY	29
	LCDR1	KASQNVATHVG	30
	LCDR2	SASYRYS	31
	LCDR3	QQYNRYPYT	32
CD3	HCDR1	GFTFNTYAMN	60
	HCDR2	RIRSKYNNYATY	61
	HCDR3	HGNFGNSYVSWFAY	19
	LCDR1	RSSTGAVTTSNYAN	20
	LCDR2	GTNKRAP	21
	LCDR3	ALWYSNLWV	22

[0166] 表7:GPRC5DxCD3双特异性抗体的示例性CDR——IMGT编号系统:

结合臂	区域	序列	SEQ ID NO:
GPRC5D	HCDR1	GYSFTGYT	62
	HCDR2	INPYNSDT	63
	HCDR3	ARVALRVALDY	64
	LCDR1	QNVATH	65
	LCDR2	SAS	NA
	LCDR3	QQYNRYPYT	32
CD3	HCDR1	GFTFNTYA	66
	HCDR2	IRSKYNNYAT	67
	HCDR3	ARHGNFGNSYVSWFAY	68
	LCDR1	TGAVTTSNY	69
	LCDR2	GTN	NA
	LCDR3	ALWYSNLWV	22

[0168] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体包含:GPRC5D结合结构域,其包含具有SEQ ID NO:27的HCDR1、SEQ ID NO:28的HCDR2、SEQ ID NO:29的HCDR3的VH以及具有SEQ ID NO:30的LCDR1、SEQ ID NO:31的LCDR2和SEQ ID NO:32的LCDR3的VL;和CD3结合结构域,

其包含具有SEQ ID NO:17的HCDR1、SEQ ID NO:18的HCDR2、SEQ ID NO:19的HCDR3的VH以及具有SEQ ID NO:20的LCDR1、SEQ ID NO:21的LCDR2和SEQ ID NO:22的LCDR3的VL。

[0169] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体包含:GPRC5D结合结构域,其包含具有SEQ ID NO:54的HCDR1、SEQ ID NO:55的HCDR2、SEQ ID NO:29的HCDR3的VH以及具有SEQ ID NO:30的LCDR1、SEQ ID NO:31的LCDR2和SEQ ID NO:32的LCDR3的VL;和CD3结合结构域,其包含具有SEQ ID NO:56的HCDR1、SEQ ID NO:57的HCDR2、SEQ ID NO:19的HCDR3的VH以及具有SEQ ID NO:20的LCDR1、SEQ ID NO:21的LCDR2和SEQ ID NO:22的LCDR3的VL。

[0170] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体包含:GPRC5D结合结构域,其包含具有SEQ ID NO:58的HCDR1、SEQ ID NO:59的HCDR2、SEQ ID NO:29的HCDR3的VH以及具有SEQ ID NO:30的LCDR1、SEQ ID NO:31的LCDR2和SEQ ID NO:32的LCDR3的VL;和CD3结合结构域,其包含具有SEQ ID NO:60的HCDR1、SEQ ID NO:61的HCDR2、SEQ ID NO:19的HCDR3的VH以及具有SEQ ID NO:20的LCDR1、SEQ ID NO:21的LCDR2和SEQ ID NO:22的LCDR3的VL。

[0171] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体包含:GPRC5D结合结构域,其包含具有SEQ ID NO:62的HCDR1、SEQ ID NO:63的HCDR2、SEQ ID NO:64的HCDR3的VH以及具有SEQ ID NO:65的LCDR1、具有氨基酸序列SAS的LCDR2和SEQ ID NO:32的LCDR3的VL;和CD3结合结构域,其包含具有SEQ ID NO:66的HCDR1、SEQ ID NO:67的HCDR2、SEQ ID NO:68的HCDR3的VH以及具有SEQ ID NO:69的LCDR1、具有氨基酸序列GTN的LCDR2和SEQ ID NO:22的LCDR3的VL。

[0172] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体包含:GPRC5D结合结构域,其包含SEQ ID NO:33的VH和SEQ ID NO:34的VL;和CD3结合结构域,其包含SEQ ID NO:23的VH和SEQ ID NO:24的VL。

[0173] 在一些实施方案中,结合GPRC5D的GPRC5DxCD3双特异性抗体包含SEQ ID NO:35的第一重链(HC1)、SEQ ID NO:36的第一轻链(LC1)、SEQ ID NO:25的第二重链(HC2)和SEQ ID NO:26的第二轻链(LC2)。

[0174] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体的CD3结合臂和GPRC5DxCD3双特异性抗体的GPRC5D结合臂包括如表8a和表8b中所提供的氨基酸序列。

[0175] 表8a.GPRC5DxCD3双特异性抗体的CD3结合臂的序列。

	区域	序列	SEQ ID NO:
[0176]	HCDR1	TYAMN	17
	HCDR2	RIRSKYNNYATYYAASVKG	18
	HCDR3	HGNFGNSYVSWFAY	19
	LCDR1	RSSTGAVTTSNYAN	20
	LCDR2	GTNKRAP	21
	LCDR3	ALWYSNLWV	22
	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTY AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATY YAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTED TAVYYCARHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVT VSS	23
	VL	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTS NYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPA RFGSLLGGKAALTLGSVQPEDEAEYYCALW YSNLWVFGGGTKLTVLGQP	24
	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTY AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATY YAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTED TAVYYCARHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALH NHYTQKSLSLGK	25
	LC	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTS NYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPA RFGSLLGGKAALTLGSVQPEDEAEYYCALW YSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSS EELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSS PVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	26

[0177] 表8b.GPRC5DxCD3双特异性抗体的GPRC5D结合臂的序列。

PS3B27	区域	序列	SEQ ID NO:	
[0178]	HCDR1	GYTMN	27	
	HCDR2	LINPYNSDTNYAQKLQG	28	
	HCDR3	VALRVALDY	29	
	LCDR1	KASQNVATHVG	30	
	LCDR2	SASYRYS	31	
	LCDR3	QQYNRYPYT	32	
	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTG YTMNWVRQAPGQGLEWMGLINPYNSDTNYA QKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTA VYYCARVALRVALDYWGQGLVTVSS	33	
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVATH VGWYQQKPGKAPKRLIYSASYRYSQVPSRFS GSGSGTEFTLTISNLQPEDFATYYCQQYNRYP YTFGQGTKLEIK	34	
	GC5B596	HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTG YTMNWVRQAPGQGLEWMGLINPYNSDTNYA QKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTA VYYCARVALRVALDYWGQGLVTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNNH YTQKSLSLSLGK	35
	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVATH VGWYQQKPGKAPKRLIYSASYRYSQVPSRFS GSGSGTEFTLTISNLQPEDFATYYCQQYNRYP YTFGQGTKLEIKKAAPSVTLFPPSSEELQANK ATLVCLISDFYPGAVTVAWKGDSSPVKAGVE TTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYS CQVTHEGSTVEKTVAPTECS	36	

[0179] 在一些实施方案中,GPRC5D $\times$ CD3双特异性抗体可以是但不限于塔奎妥单抗(也称为JNJ-564或JNJ-64407564)、Kodama等人,Mol Cancer Ther.2019.18(9):1555-1564(该文献的全部内容以引用方式并入本文)中描述的GPRC5D $\times$ CD3双特异性抗体,或使用以下结构域的双特异性抗体:美国专利号10,590,196(该文献的全部内容以引用方式并入本文)中描述的人GPRC5D结合结构域,或者与塔奎妥单抗或美国专利号10,590,196中描述的人GPRC5D结合结构域竞争以用于与人GPRC5D结合的GPRC5D结合结构域。

[0180] 在一些实施方案中,塔奎妥单抗包含第一重链(HC1)、第一轻链(LC1)、第二重链(HC2)和第二轻链(LC2),其中HC1与LC1缔合并且HC2与LC2缔合,其中HC1和LC1形成免疫特异性结合GPRC5D的第一抗原结合位点,并且其中HC2和LC2形成免疫特异性结合CD3的第二抗原结合位点。在一些实施方案中,塔奎妥单抗包含SEQ ID NO:35的HC1、SEQ ID NO:36的LC1、SEQ ID NO:25的HC2和SEQ ID NO:26的LC2。在一些实施方案中,塔奎妥单抗的CD3臂和GPRC5D臂通过它们各自的Fc结构域之间的相互作用形成功能性双特异性抗体。

[0181] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体包含:美国专利号10,906,956或W02020/092854(这些文献的全部内容以引用方式并入本文)中描述的GPRC5D结合结构域的任一种,或者与此类GPRC5D结合结构域竞争以用于与人GPRC5D结合的GPRC5D结合结构域。

[0182] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。

[0183] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体是IgG1同种型。

[0184] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体是IgG2同种型。

[0185] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体是IgG3同种型。

[0186] 在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体是IgG4同种型。

[0187] GPRC5DxCD3双特异性抗体可具有任何同种异型。治疗性抗体的免疫原性与增大的输液反应风险和减小的治疗反应持续时间相关联(Baert等人,(2003)N Engl J Med 348:602-08)。治疗性抗体在宿主体内诱导免疫应答的程度可部分通过抗体的同种异型来确定(Stickler等人,(2011)Genes and Immunity 12:213-21)。抗体同种异型与抗体的恒定区序列中特定位置的氨基酸序列变异相关。表9示出了所选的IgG1、IgG2和IgG4同种异型。

[0188] 表9. IgG1、IgG2和IgG4同种异型。

同种异型	不同位置处的氨基酸残基(残基编号: EU索引)							
	IgG2		IgG4		IgG1			
	189	282	309	422	214	356	358	431
G2m(n)	T	M						
G2m(n-)	P	V						
G2m(n)/(n-)	T	V						
nG4m(a)			L	R				
G1m(17)					K	E	M	A
G1m(17,1)					K	D	L	A

[0190] 在一些实施方案中,多特异性抗体包含减少多特异性抗体与Fc $\gamma$ 受体(Fc $\gamma$ R)的结合的一个或多个Fc取代。减少多特异性抗体与Fc $\gamma$ R的结合的取代降低了多特异性抗体的Fc效应功能诸如ADCC、ADCP和/或CDC。与SEQ ID NO:15的野生型IgG1或SEQ ID NO:16的野生型IgG4相比,可进行特异性取代。

[0191] 在一些实施方案中,一个或多个Fc取代选自以下项组成的组: IgG4上的F234A/L235A、IgG1上的L234A/L235A、IgG2上的V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S、IgG4上的F234A/L235A、IgG4上的S228P/F234A/L235A、所有Ig同种型上的N297A、IgG2上的V234A/G237A、IgG1上的K214T/E233P/L234V/L235A/G236缺失/A327G/P331A/D365E/L358M、IgG2上的H268Q/V309L/A330S/P331S、IgG1上的S267E/L328F、IgG1上的L234F/L235E/D265A、IgG1上的L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S、IgG4上的S228P/F234A/L235A/G237A/P238S和IgG4上的S228P/F234A/L235A/G236缺失/G237A/P238S,其中残基根据EU索引进行编号。

[0192] 在一些实施方案中,一个或多个Fc取代是IgG4上的F234A/L235A。

[0193] 在一些实施方案中,一个或多个Fc取代是IgG1上的L234A/L235A。

[0194] 在一些实施方案中,一个或多个Fc取代是IgG2上的V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S。

[0195] 在一些实施方案中,一个或多个Fc取代是IgG4上的F234A/L235A。

- [0196] 在一些实施方案中,一个或多个Fc取代是IgG4上的S228P/F234A/L235A。
- [0197] 在一些实施方案中,一个或多个Fc取代是所有Ig同种型上的N297A。
- [0198] 在一些实施方案中,一个或多个Fc取代是IgG2上的V234A/G237A。
- [0199] 在一些实施方案中,一个或多个Fc取代是IgG1上的K214T/E233P/L234V/L235A/G236缺失/A327G/P331A/D365E/L358M。
- [0200] 在一些实施方案中,一个或多个Fc取代是IgG2上的H268Q/V309L/A330S/P331S。
- [0201] 在一些实施方案中,一个或多个Fc取代是IgG1上的S267E/L328F。在一些实施方案中,一个或多个Fc取代是IgG1上的L234F/L235E/D265A。
- [0202] 在一些实施方案中,一个或多个Fc取代是IgG1上的L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S。
- [0203] 在一些实施方案中,一个或多个Fc取代是IgG4上的S228P/F234A/L235A/G237A/P238S和IgG4上的S228P/F234A/L235A/G236缺失/G237A/P238S。
- [0204] 在一些实施方案中,多特异性抗体还包含S228P置换。
- [0205] 在一些实施方案中,多特异性抗体包含在第一CH3结构域中或在第二CH3结构域中或在第一CH3结构域和第二CH3结构域两者中的一个或多个非对称置换。
- [0206] 在一些实施方案中,一个或多个非对称取代选自以下项组成的组:F450L/K409R、野生型/F409L\_R409K、T366Y/F405A、T366W/F405W、F405W/Y407A、T394W/Y407T、T394S/Y407A、T366W/T394S、F405W/T394S和T366W/T366S\_L368A\_Y407V、L351Y\_F405A\_Y407V/T394W、T366I\_K392M\_T394W/F405A\_Y407V、T366L\_K392M\_T394W/F405A\_Y407V、L351Y\_Y407A/T366A\_K409F、L351Y\_Y407A/T366V\_K409F、Y407A/T366A\_K409F和T350V\_L351Y\_F405A\_Y407V/T350V\_T366L\_K392L\_T394W。
- [0207] 在一些实施方案中,一个或多个非对称置换是F450L/K409R。
- [0208] 在一些实施方案中,一个或多个非对称置换是野生型/F409L\_R409K。
- [0209] 在一些实施方案中,一个或多个非对称置换是T366Y/F405A。
- [0210] 在一些实施方案中,一个或多个非对称置换是T366W/F405W。
- [0211] 在一些实施方案中,一个或多个非对称置换是F405W/Y407A。
- [0212] 在一些实施方案中,一个或多个非对称置换是T394W/Y407T。
- [0213] 在一些实施方案中,一个或多个非对称置换是T394S/Y407A。
- [0214] 在一些实施方案中,一个或多个非对称置换是T366W/T394S。
- [0215] 在一些实施方案中,一个或多个非对称置换是F405W/T394S。
- [0216] 在一些实施方案中,一个或多个非对称置换是T366W/T366S\_L368A\_Y407V。
- [0217] 在一些实施方案中,一个或多个非对称置换是L351Y\_F405A\_Y407V/T394W。
- [0218] 在一些实施方案中,一个或多个非对称置换是T366I\_K392M\_T394W/F405A\_Y407V。
- [0219] 在一些实施方案中,一个或多个非对称置换是T366L\_K392M\_T394W/F405A\_Y407V。
- [0220] 在一些实施方案中,一个或多个非对称置换是L351Y\_Y407A/T366A\_K409F。
- [0221] 在一些实施方案中,一个或多个非对称置换是L351Y\_Y407A/T366V\_K409F。
- [0222] 在一些实施方案中,一个或多个非对称置换是Y407A/T366A\_K409F。
- [0223] 在一些实施方案中,一个或多个非对称置换是T350V\_L351Y\_F405A\_Y407V/T350V\_T366L\_K392L\_T394W。

[0224] 在一些实施方案中,GPRC5D $\times$ CD3双特异性抗体是IgG4同种型,并且包含第一重链(HC1)中第405位处的苯丙氨酸和第409位处的精氨酸,以及第二重链(HC2)中第405位处的亮氨酸和第409位处的赖氨酸,其中残基编号根据EU索引。

[0225] 在一些实施方案中,GPRC5D $\times$ CD3双特异性抗体还包含HC1和HC2两者中第228位的脯氨酸、第234位的丙氨酸和第235位的丙氨酸。

[0226] 在一些实施方案中,癌症是血液恶性肿瘤或实体瘤。

[0227] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是多发性骨髓瘤、冒烟型多发性骨髓瘤、未明确诊断意义的单克隆丙种球蛋白病(MGUS)、急性淋巴母细胞白血病(ALL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、伯基特淋巴瘤(BL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、华氏巨球蛋白血症、浆细胞白血病、轻链淀粉样变性(AL)、前体B细胞淋巴瘤白血病、前体B细胞淋巴瘤白血病、急性髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、B细胞恶性肿瘤、慢性髓性白血病(CML)、毛细胞白血病(HCL)、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、边缘区B细胞淋巴瘤(MZL)、粘膜相关淋巴组织淋巴瘤(MALT)、浆细胞白血病、间变性大细胞淋巴瘤(ALCL)、白血病或淋巴瘤。

[0228] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是多发性骨髓瘤。

[0229] 在一些实施方案中,多发性骨髓瘤是新诊断的多发性骨髓瘤。

[0230] 在一些实施方案中,多发性骨髓瘤是复发性或难治性多发性骨髓瘤(RRMM)。

[0231] 在一些实施方案中,多发性骨髓瘤是高危多发性骨髓瘤。已知患有高危多发性骨髓瘤的受试者早期复发并且预后和结果不佳。如果受试者患有以下细胞遗传学异常中的一种或多种,则可将受试者分类为患有高危多发性骨髓瘤:t(4;14)(p16;q32)、t(14;16)(q32;q23)、del17p、1qAmp、t(4;14)(p16;q32)和t(14;16)(q32;q23)、t(4;14)(p16;q32)和del17p、t(14;16)(q32;q23)和del17p、或t(4;14)(p16;q32)、t(14;16)(q32;q23)和del17p。

[0232] 在一些实施方案中,患有高危多发性骨髓瘤的受试者具有一种或多种染色体异常,该一种或多种染色体异常包括:t(4;14)(p16;q32)、t(14;16)(q32;q23)、del17p、1qAmp、t(4;14)(p16;q32)和t(14;16)(q32;q23)、t(4;14)(p16;q32)和del17p、t(14;16)(q32;q23)和del17p;或t(4;14)(p16;q32)、t(14;16)(q32;q23)和del17p,或它们的任何组合。

[0233] 可以使用各种定性和/或定量的方法来确定疾病的复发或难治性质。可能相关联的症状例如患者的健康状况下降或平稳、或与实体瘤相关联的各种症状的重建或恶化、和/或体内癌细胞从一个部位扩散到其他器官、组织或细胞。

[0234] 细胞遗传学异常可例如通过荧光原位杂交(FISH)来检测。在两种染色体易位中,癌基因易位到染色体14q32上的IgH区,从而导致这些基因失调。t(4;14)(p16;q32)涉及成纤维细胞生长因子受体3(FGFR3)和含多发性骨髓瘤SET结构域蛋白(MMSET)(也称为WHSC1/NSD2)的易位,并且t(14;16)(q32;q23)涉及MAF转录因子C-MAF的易位。17p缺失(del17p)涉及p53基因座的丢失。

[0235] 在一些实施方案中,多发性骨髓瘤对于用抗CD38抗体(例如达雷木单抗、艾萨妥昔单抗等)、来那度胺、硼替佐米、泊马度胺、卡非佐米、埃罗妥珠单抗、伊沙佐米、美法仑或沙利度胺或它们的任何组合进行的治疗具有复发性或难治性。

[0236] 在一些实施方案中,多发性骨髓瘤对于用抗CD38抗体进行的治疗具有复发性或难治性。在一些实施方案中,多发性骨髓瘤对于用来那度胺进行的治疗具有复发性或难治性。在一些实施方案中,多发性骨髓瘤对于用硼替佐米进行的治疗具有复发性或难治性。在一些实施方案中,多发性骨髓瘤对于用泊马度胺进行的治疗具有复发性或难治性。在一些实施方案中,多发性骨髓瘤对于用卡非佐米进行的治疗具有复发性或难治性。在一些实施方案中,多发性骨髓瘤对于用埃罗妥珠单抗进行的治疗具有复发性或难治性。在一些实施方案中,多发性骨髓瘤对于用艾莎佐米进行的治疗具有复发性或难治性。在一些实施方案中,多发性骨髓瘤对于用美法仑进行的治疗具有复发性或难治性。在一些实施方案中,多发性骨髓瘤对于用沙利度胺进行的治疗具有复发性或难治性。

[0237] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是AML。

[0238] 在一些实施方案中,AML是伴有至少一种遗传异常的AML。在一些实施方案中,AML是伴有多系病态的AML。在一些实施方案中,AML是治疗相关性AML。在一些实施方案中,AML是未分化型AML。在一些实施方案中,AML是不成熟型AML。在一些实施方案中,AML是成熟型AML。在一些实施方案中,AML是急性粒单核细胞白血病。在一些实施方案中,AML是急性单核细胞白血病。在一些实施方案中,AML是急性红白血病。在一些实施方案中,AML是急性巨核细胞白血病。在一些实施方案中,AML是急性嗜碱粒细胞白血病。在一些实施方案中,AML是急性全髓增殖症伴纤维化。在一些实施方案中,AML是髓样肉瘤。

[0239] 在一些实施方案中,至少一种遗传异常是染色体8和21之间的易位、染色体16的易位或倒位、染色体15和17之间的易位、染色体11的变化,或者fms相关酪氨酸激酶3 (FLT3)、核仁磷酸蛋白 (NPM1)、异柠檬酸脱氢酶1 (IDH1)、异柠檬酸脱氢酶2 (IDH2)、DNA (胞嘧啶-5)-甲基转移酶3 (DNMT3A)、CCAAT/增强子结合蛋白 $\alpha$  (CEBPA)、U2小核RNA辅助因子1 (U2AF1)、zeste 2多梳抑制复合物2亚基增强子 (EZH2)、染色体结构维持蛋白1A (SMC1A) 或染色体结构维持蛋白3 (SMC3) 的突变。

[0240] 在一些实施方案中,至少一种遗传异常是染色体8和21之间的易位。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是染色体16的易位或倒位。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是染色体15和17之间的易位。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是染色体11的变化。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是fms相关酪氨酸激酶3 (FLT3) 的突变。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是核仁磷酸蛋白 (NPM1) 的突变。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是异柠檬酸脱氢酶1 (IDH1) 的突变。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是异柠檬酸脱氢酶2 (IDH2) 的突变。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是DNA (胞嘧啶-5)-甲基转移酶3 (DNMT3A) 的突变。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是CCAAT/增强子结合蛋白 $\alpha$  (CEBPA) 的突变。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是U2小核RNA辅助因子1 (U2AF1) 的突变。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是zeste 2多梳抑制复合物2亚基增强子 (EZH2) 的突变。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是染色体结构维持蛋白1A (SMC1A) 的突变。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是染色体结构维持蛋白3 (SMC3) 的突变。

[0241] 在一些实施方案中,至少一种遗传异常是易位t (8;21) (q22;q22)、倒位inv (16) (p13;q22)、易位t (16;16) (p13;q22)、易位t (15;17) (q22;q12)、突变FLT3-ITD、IDH1的突变R132H或R100Q/R104V/F108L/R119Q/I130V或IDH2的突变R140Q或R172。

[0242] 在一些实施方案中,至少一种遗传异常是易位t (8;21) (q22;q22)。在一些实施方案中,

案中,至少一种遗传异常是倒位inv(16)(p13;q22)。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是易位t(16;16)(p13;q22)。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是易位t(15;17)(q22;q12)。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是突变FLT3-ITD。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是IDH1的突变R132H。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是IDH1的突变R100Q/R104V/F108L/R119Q/I130V。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是IDH2的突变R140Q。在一些实施方案中,至少一种遗传异常是IDH2的突变R172。

[0243] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是ALL。

[0244] 在一些实施方案中,ALL是B细胞谱系ALL、T细胞谱系ALL、成人ALL或儿童ALL。

[0245] 在一些实施方案中,ALL是B细胞谱系ALL。在一些实施方案中,ALL是T细胞谱系ALL。在一些实施方案中,ALL是成人ALL。在一些实施方案中,ALL是儿童ALL。

[0246] 在一些实施方案中,患有ALL的受试者具有费城染色体或者对用BCR-ABL激酶抑制剂进行的治疗有抗性或具有获得性抗性。

[0247] 在一些实施方案中,患有ALL的受试者具有费城染色体。在一些实施方案中,患有ALL的受试者对用BCR-ABL激酶抑制剂进行的治疗有抗性或具有获得性抗性。

[0248] Ph染色体存在于约20%的患有ALL的成人和一小部分患有ALL的儿童中,并且与不良预后相关。在复发时,患有Ph+阳性ALL的患者可采取酪氨酸激酶抑制剂(TKI)方案,因此可变得对TKI有抗性。因此,可将抗CD38抗体施用于已变得对选择性或部分选择性BCR-ABL抑制剂有抗性的受试者。示例性BCR-ABL抑制剂是例如伊马替尼、达沙替尼、尼罗替尼、博舒替尼、帕纳替尼、巴非替尼、塞卡替尼、陶扎色替或达鲁舍替。

[0249] 在B谱系ALL患者中鉴定的其他染色体重排是t(v;11q23)(MLL重排)、t(1;19)(q23;p13.3);TCF3-PBX1(E2A-PBX1)、t(12;21)(p13;q22);ETV6-RUNX1(TEL-AML1)和t(5;14)(q31;q32);IL3-IGH。

[0250] 在一些实施方案中,受试者患有ALL伴t(v;11q23)(MLL重排)、t(1;19)(q23;p13.3);TCF3-PBX1(E2A-PBX1)、t(12;21)(p13;q22);ETV6-RUNX1(TEL-AML1)或t(5;14)(q31;q32);IL3-IGH染色体重排。

[0251] 染色体重排可使用熟知的方法鉴定,例如荧光原位杂交、染色体核型分型、脉冲场凝胶电泳或测序。

[0252] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是郁积型多发性骨髓瘤。

[0253] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是MGUS。

[0254] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是ALL。

[0255] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是DLBCL。

[0256] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是BL。

[0257] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是FL。

[0258] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是MCL。

[0259] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是华氏巨球蛋白血症。

[0260] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是浆细胞白血病。

[0261] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是AL。

[0262] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是前体B细胞淋巴细胞白血病。

[0263] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是前体B细胞淋巴细胞白血病。

- [0264] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是骨髓增生异常综合征(MDS)。
- [0265] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是CLL。
- [0266] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是B细胞恶性肿瘤。
- [0267] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是CML。
- [0268] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是HCL。
- [0269] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是母细胞性浆细胞样树突状细胞肿瘤。
- [0270] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是霍奇金淋巴瘤。
- [0271] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是非霍奇金淋巴瘤。
- [0272] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是MZL。
- [0273] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是MALT。
- [0274] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是浆细胞白血病。
- [0275] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是ALCL。
- [0276] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是白血病。
- [0277] 在一些实施方案中,血液恶性肿瘤是淋巴瘤。
- [0278] 在一个实施方案中,本公开提供了一种治疗受试者的癌症的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的GPRC5DxCD3双特异性抗体以治疗癌症,其中在施用GPRC5DxCD3双特异性抗体之前,已用抗CD38抗体治疗受试者。
- [0279] 本公开还提供了一种治疗受试者的癌症的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的GPRC5DxCD3双特异性抗体以治疗癌症,其中受试者对于用先前的抗癌治疗剂进行的治疗具有复发性或难治性。
- [0280] 在一些实施方案中,被施用GPRC5DxCD3抗体的受试者对于用抗CD38抗体进行的治疗具有抗性和/或难治性。
- [0281] 在一些实施方案中,癌症是表达GPRC5D的癌症。
- [0282] 在一些实施方案中,癌症是血液恶性肿瘤。
- [0283] 在一些实施方案中,癌症是多发性骨髓瘤、郁积型多发性骨髓瘤、未明确诊断意义的单克隆丙球蛋白病(MGUS)、B细胞急性淋巴细胞白血病、弥漫性大B细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、华氏巨球蛋白血症、浆细胞白血病、轻链淀粉样变性或非霍奇金淋巴瘤。由经验丰富的医师进行癌症诊断。
- [0284] 在一些实施方案中,受试者对于用抗CD38抗体或来那度胺或它们的组合进行的治疗具有复发性或难治性。
- [0285] 在一些实施方案中,受试者对于用抗CD38抗体进行的治疗具有复发性或难治性。在一些实施方案中,受试者对于用来那度胺进行的治疗具有复发性或难治性。
- [0286] 在一些实施方案中,受试者对于用先前的抗癌治疗剂(诸如用于治疗多发性骨髓瘤或其他血液恶性肿瘤的治疗剂)进行的治疗具有复发性或难治性。
- [0287] 在一些实施方案中,受试者对于用**THALOMID<sup>®</sup>**(沙利度胺)、**REVLIMID<sup>®</sup>**(来那度胺)、**POMALYST<sup>®</sup>**(泊马度胺)、**VELCADE<sup>®</sup>**(硼替佐米)、**NINLARO**(伊沙佐米)、**KYPROLIS<sup>®</sup>**(卡非佐米)、**FARADYK<sup>®</sup>**(帕比司他)、**AREDIA<sup>®</sup>**(帕米膦酸钠)、**ZOMETA<sup>®</sup>**(唑来膦酸)、**DARZALEX<sup>®</sup>**(达雷木单抗)、**Empliciti<sup>®</sup>**(埃罗妥珠单抗)、

SARCLISA® (艾萨妥昔单抗) 或 Alkeran® (美法仑) 进行的治疗具有难治性或复发性。

[0288] 在一些实施方案中,受试者对于用 DARZALEX® (达雷木单抗) 进行的治疗具有复发性。

[0289] 在一些实施方案中,抗CD38抗体以药物组合物形式施用或提供用于施用,该药物组合物包含在约25mM乙酸中的约20mg/mL至约120mg/mL抗CD38抗体、约60mM氯化钠、约140甘露糖醇和约0.04%w/v聚山梨醇酯-20(PS-20);pH为约5.5。

[0290] 在一些实施方案中,抗CD38抗体以药物组合物形式施用或提供用于施用,该药物组合物包含约1,800mg的抗CD38抗体和约30,000U的rHuPH20。

[0291] 在一些实施方案中,抗CD38抗体以药物组合物形式施用或提供用于施用,该药物组合物包含约120mg/mL的抗CD38抗体和约2,000U/mL的rHuPH20。

[0292] 在一些实施方案中,抗CD38抗体以药物组合物形式施用或提供用于施用,该药物组合物包含

[0293] 约5mM至约15mM的组氨酸;

[0294] 约100mM至约300mM的山梨糖醇;

[0295] 约0.01%w/v至约0.04%w/v的PS-20;和

[0296] 约1mg/mL至约2mg/mL的甲硫氨酸,pH为约5.5-5.6。

[0297] 在一些实施方案中,抗CD38抗体以药物组合物形式施用或提供用于施用,该药物组合物包含

[0298] 约1,800mg的抗CD38抗体;

[0299] 约30,000U的rHuPH20;

[0300] 约10mM的组氨酸;

[0301] 约300mM的山梨糖醇;

[0302] 约0.04% (w/v) 的PS-20;和

[0303] 约1mg/mL的甲硫氨酸,pH为约5.6。

[0304] 在一些实施方案中,抗CD38抗体以药物组合物形式施用或提供用于施用,该药物组合物包含

[0305] 约120mg/mL的抗CD38抗体;

[0306] 约2,000U/mL的rHuPH20;

[0307] 约10mM的组氨酸;

[0308] 约300mM的山梨糖醇;

[0309] 约0.04% (w/v) 的PS-20;和

[0310] 约1mg/mL的甲硫氨酸,pH为约5.6。

[0311] 本发明还提供了一种药物组合物,该药物组合物包含如本文所述的GPCR5DxCD3双特异性抗体和抗CD38抗体。例如,该组合物可包含:GPCR5D结合结构域,其包含SEQ ID NO:33的VH和SEQ ID NO:34的VL;CD3结合结构域,其包含SEQ ID NO:23的VH和SEQ ID NO:24的VL;和抗CD38抗体,其包含SEQ ID NO:5的VH和SEQ ID NO:6的VL。

[0312] 在一些实施方案中,该药物组合物包含:GPCR5DxCD3双特异性抗体,其包含SEQ ID NO:35的HC1、SEQ ID NO:36的LC1、SEQ ID NO:25的HC2、SEQ ID NO:26的LC2;和抗CD38抗体,其包含SEQ ID NO:13的HC和SEQ ID NO:14的LC。在一些实施方案中,GPCR5DxCD3双特异

性抗体是IgG4同种型,并且包含第一重链(HC1)中第405位处的苯丙氨酸和第409位处的精氨酸,以及第二重链(HC2)中第405位处的亮氨酸和第409位处的赖氨酸,其中残基编号根据EU索引。在一些实施方案中,GPRC5DxCD3双特异性抗体还包含HC1和HC2两者中第228位的脯氨酸、第234位的丙氨酸和第235位的丙氨酸。

[0313] 本公开还提供一种用于本申请的方法中的试剂盒或组合,该试剂盒或组合包含GPRC5DxCD3双特异性抗体和抗CD38抗体。

[0314] 生成本发明方法中所用抗体的方法

[0315] 本发明的方法中使用的结合特异性抗原的抗体可重新选自例如噬菌体展示文库,其中噬菌体被工程化以表达人免疫球蛋白或其部分,诸如Fab、单链抗体(scFv)或者未配对或配对抗体可变区(Knappik等人,J Mol Biol 296:57-86,2000;Krebs等人,J Immunol Meth 254:67-84,2001;Vaughan等人,Nature Biotechnology 14:309-14,1996;Sheets等人,PITAS(USA)95:6157-62,1998;Hoogenboom和Winter,J Mol Biol 227:381,1991;Marks等人,J Mol Biol 222:581,1991)。噬菌体展示文库将抗体重链可变区和轻链可变区表达为具有噬菌体pIX外壳蛋白的融合蛋白,如Shi等人,(2010)J.Mol.Biol.397:385-96和国际专利公布W02009/085462中所述。可筛查抗体文库以结合所需抗原,诸如GPRC5D,并可进一步表征所获得的阳性克隆,从克隆裂解物中分离Fab,然后将其克隆为全长抗体。此类用于分离人抗体的噬菌体展示方法在本领域是已建立的。参见例如:美国专利号5,223,409、美国专利号5,403,484、美国专利号5,571,698、美国专利号5,427,908、美国专利号5,580,717、美国专利号5,969,108、美国专利号6,172,197、美国专利号5,885,793、美国专利号6,521,404、美国专利号6,544,731、美国专利号6,555,313、美国专利号6,582,915和美国专利号6,593,081。

[0316] T细胞重定向双特异性抗体可通过如下过程在无细胞环境中体外生成:根据国际专利公布号W02011/131746所述的方法,在两个单特异性同源二聚抗体的CH3区域中引入非对称突变,并在允许二硫键异构化的还原条件下由两个亲本单特异性同源二聚抗体形成双特异性异源抗体。在所述方法中,两种单特异性二价抗体被工程化为在CH3结构域处具有促进异源二聚体稳定性的某些取代;将这些抗体在足以使铰链区中的半胱氨酸发生二硫键异构化的还原条件下一起温育;从而通过Fab臂交换生成双特异性抗体。温育条件最理想地可恢复到非还原条件。可使用的示例性还原剂为2-巯基乙胺(2-MEA)、二硫苏糖醇(DTT)、二硫赤藓糖醇(DTE)、谷胱甘肽、三(2-羧乙基)膦(TCEP)、L-半胱氨酸和 $\beta$ -巯基乙醇,优选地为选自2-巯基乙胺、二硫苏糖醇和三(2-羧乙基)膦组成的组的还原剂。例如,可使用如下条件:在至少25mM 2-MEA的存在下或至少0.5mM二硫苏糖醇的存在下,在5-8的pH例如pH 7.0或pH 7.4,至少20°C的温度下,温育至少90分钟。

[0317] 可用于双特异性抗体的第一重链和第二重链的示例性CH3突变是K409R和/或F405L。

[0318] 可使用的附加CH3突变包括诸如Duobody<sup>®</sup>突变(Genmab)、旋钮空穴突变(Genentech)、静电匹配突变(Chugai,Amgen,NovoNordisk,Oncomed)、链交换工程化结构域主体(SEEDbody)(EMD Serono)以及其他非对称突变(例如,Zymeworks)等技术。

[0319] Duobody<sup>®</sup>突变(Genmab)公开于例如US9150663和US2014/0303356中,并且包括

突变F405L/K409R、野生型/F405L\_R409K、T350I\_K370T\_F405L/K409R、K370W/K409R、D399AFGHILMNRSTVWY/K409R、T366ADEFHILMQVY/K409R、L368ADEGHNRSVQ/K409AGRH、D399FHKRQ/K409AGRH、F405IKLSTVW/K409AGRH和Y407LWQ/K409AGRH。

[0320] 旋钮空穴突变公开于例如W01996/027011中,并且包括CH3区域的界面上的突变,其中具有小侧链(空穴)的氨基酸被引入第一CH3区域,而具有大侧链(旋钮)的氨基酸被引入第二CH3区域,导致第一CH3区域和第二CH3区域之间的优先相互作用。形成旋钮和空穴的示例性CH3区域突变是T366Y/F405A、T366W/F405W、F405W/Y407A、T394W/Y407T、T394S/Y407A、T366W/T394S、F405W/T394S和T366W/T366S\_L368A\_Y407V。

[0321] 重链异源二聚体的形成可通过使用静电相互作用,通过取代第一CH3区上的带正电残基和第二CH3区上的带负电残基来促进,如US2010/0015133、US2009/0182127、US2010/028637或US2011/0123532所述。

[0322] 可用于促进重链异源二聚化的其他非对称突变是L351Y\_F405A\_Y407V/T394W、T366I\_K392M\_T394W/F405A\_Y407V、T366L\_K392M\_T394W/F405A\_Y407V、L351Y\_Y407A/T366A\_K409F、L351Y\_Y407A/T366V\_K409F、Y407A/T366A\_K409F或T350V\_L351Y\_F405A\_Y407V/T350V\_T366L\_K392L\_T394W,如US2012/0149876或US2013/0195849中所述。

[0323] SEEDbody突变牵涉将选择的IgG残基取代为IgA残基以促进重链异源二聚化,如US20070287170中所述。

[0324] 可使用的其他示例性突变是R409D\_K370E/D399K\_E357K、S354C\_T366W/Y349C\_T366S\_L368A\_Y407V、Y349C\_T366W/S354C\_T366S\_L368A\_Y407V、T366K/L351D、L351K/Y349E、L351K/Y349D、L351K/L368E、L351Y\_Y407A/T366A\_K409F、L351Y\_Y407A/T366V\_K409F、K392D/D399K、K392D/E356K、K253E\_D282K\_K322D/D239K\_E240K\_K292D、K392D\_K409D/D356K\_D399K,如W02007/147901、W02011/143545、W02013157954、W02013096291和US2018/0118849所述。

[0325] 可用作GPCR5DxCD3双特异性抗体的附加双特异性或多特异性结构包括双重可变结构域免疫球蛋白(DVD)(国际专利公布号W02009/134776;DVD是全长抗体,其包含具有VH1-接头-VH2-CH结构的重链和具有VL1-接头-VL2-CL结构的轻链;接头是任选的)、包括多种二聚化结构域以连接具有不同特异性的两个抗体臂的结构诸如亮氨酸拉链或胶原二聚化结构域(国际专利公布号W02012/022811、美国专利号5,932,448和美国专利号6,833,441)、缀合在一起的两个或更多个结构域抗体(dAb)、双价抗体、仅重链抗体诸如骆驼科抗体和工程化骆驼科抗体、双重靶向(DT)-Ig(GSK/Domantis)、二合一抗体(Genentech)、交联Mab(Karmanos Cancer Center)、mAb2(F-Star)和CovX-主体(CovX/Pfizer)、IgG样双特异性抗体(InnClone/Eli Lilly)、Ts2Ab(MedImmune/AZ)和BsAb(Zymogenetics)、HERCULES(Biogen Idec)和TvAb(Roche)、ScFv/Fc融合体(Academic Institution)、SCORPION(Emergent BioSolutions/Trubion,Zymogenetics/BMS)、双亲和重靶向技术(Fc-DART)(MacroGenics)和双(ScFv)<sub>2</sub>-Fab(National Research Center for Antibody Medicine--China)、双功能或Bis-Fab(Genentech)、对接锁定(DNL)(ImmunoMedics)、二价双特异性(Biotecnol)和Fab-Fv(UCB-Celltech)。基于ScFv的、基于双价抗体的结构域抗体包括但不限于双特异性T细胞衔接器(BiTE)(Micromet)、串联双价抗体(Tandab)(Affimed)、双亲和重靶向技术(DART)(MacroGenics)、单链双价抗体(Academic)、TCR样抗体(AIT,

ReceptorLogics)、人血清白蛋白ScFv融合体(Merrimack)和COMBODY(Epigen Biotech)、双重靶向纳米抗体(Ablynx)、双重靶向仅重链结构域抗体。

#### [0326] 抗体的Fc工程化

[0327] GPRC5DxCD3双特异性抗体(诸如双特异性或多特异性抗体或抗CD38抗体)的Fc区可在Fc区中包括至少一个取代,该取代减少GPRC5DxCD3双特异性抗体与激活Fc $\gamma$ 受体(Fc $\gamma$ R)的结合和/或降低Fc效应功能,诸如C1q结合、补体依赖性细胞毒性(CDC)、抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)或吞噬作用(ADCP)。

[0328] 降低Fc与激活Fc $\gamma$ R的结合并且随后降低效应功能的Fc位置为以下取代: IgG1上的L234A/L235A、IgG2上的V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S、IgG4上的F234A/L235A、IgG4上的S228P/F234A/L235A、所有Ig同种型上的N297A、IgG2上的V234A/G237A、IgG1上的K214T/E233P/L234V/L235A/G236缺失/A327G/P331A/D365E/L358M、IgG2上的H268Q/V309L/A330S/P331S、IgG1上的S267E/L328F、IgG1上的L234F/L235E/D265A、IgG1上的L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S、IgG4上的S228P/F234A/L235A/G237A/P238S以及IgG4上的S228P/F234A/L235A/G236缺失/G237A/P238S。

[0329] 可用于减少CDC的Fc置换是K322A置换。

[0330] 熟知的S228P置换还可在IgG4抗体中进行,以增强IgG4稳定性。

[0331] 一种示例性野生型IgG1包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。一种示例性野生型IgG4包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列。

[0332] “抗体依赖性细胞的细胞毒性”、“抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是诱导细胞死亡的机制,该机制依赖于抗体包被靶细胞与具有裂解活性的效应细胞(诸如自然杀伤细胞(NK)、单核细胞、巨噬细胞和中性粒细胞)经由效应细胞上表达的Fc $\gamma$ 受体(Fc $\gamma$ R)发生的相互作用。例如,NK细胞表达Fc $\gamma$ RIIIa,而单核细胞表达Fc $\gamma$ RI、Fc $\gamma$ RII和Fc $\gamma$ RIIIa。抗体的ADCC活性可使用体外测定,使用表达抗体所结合的蛋白质的细胞作为靶细胞并使用NK细胞作为效应细胞来评估。根据从裂解的细胞中释放的标记物(例如放射性底物、荧光染料或天然胞内蛋白)来检测细胞裂解。在示例性测定法中,可以按1个靶细胞与4个效应细胞的比率使用靶细胞。将靶细胞用BATDA预标记并与效应细胞和测试抗体混合。将样本温育2小时,并且通过测量释放到上清液中的BATDA来测量细胞裂解率。使数据针对使用0.67% Triton X-100(Sigma Aldrich)的最大细胞毒性和通过在不存在任何抗体的情况下来自靶细胞的BATDA自发释放测定的最小对照标准化。

[0333] “抗体依赖性细胞吞噬作用”(“ADCP”)是指通过吞噬细胞(诸如巨噬细胞或树突状细胞)的内化作用消除抗体包被的靶细胞的机制。ADCP可通过使用单核细胞来源的巨噬细胞作为效应细胞并使用表达抗体所结合的蛋白质的细胞作为靶细胞来评估,所述靶细胞也被工程化以表达GFP或另一种标记分子。在示例性测定中,效应细胞:靶细胞比率可为例如4:1。可在含或不含本发明抗体的情况下,将效应细胞与靶细胞一起温育4小时。在温育后,可使用细胞消化液(acutase)分离细胞。可使用偶联至荧光标记物的抗CD11b抗体和抗CD14抗体鉴定巨噬细胞,并且可使用标准方法基于CD11<sup>+</sup>CD14<sup>+</sup>巨噬细胞中的GFP荧光%确定吞噬百分比。

[0334] “补体依赖性细胞毒性”或“CDC”是指诱导细胞死亡的机制,其中靶结合抗体的Fc效应结构域结合并激活补体成分C1q,C1q继而激活补体级联,从而导致靶细胞死亡。补体的

激活也可导致补体成分沉积在靶细胞表面上,这些补体成分通过结合白细胞上的补体受体(例如,CR3)来促进CDC。可例如通过如下方式测量细胞的CDC:将Daudi细胞以 $1 \times 10^5$ 个细胞/孔( $50 \mu\text{L}$ /孔)接种到RPMI-B(补充有1%BSA的RPMI)中,将 $50 \mu\text{L}$ 的测试抗体以 $0 \mu\text{g}/\text{mL}$ 至 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的最终浓度添加到孔中,将反应在室温下温育15min,将 $11 \mu\text{L}$ 的混合人血清添加到孔中,然后将反应在 $37^\circ\text{C}$ 下温育45min。可使用标准方法在FACS测定法中检测碘化丙啶染色细胞%作为裂解细胞百分比(%)。

[0335] 可使用流式细胞术在经工程化以表达每个受体的细胞上评估抗体与Fc $\gamma$ R或FcRn的结合。在示例性结合测定中,将 $2 \times 10^5$ 个细胞/孔接种到96孔板中并在BSA染色缓冲液(BD Biosciences, San Jose, USA)中在 $4^\circ\text{C}$ 下封闭30min。将细胞与测试抗体在冰上在 $4^\circ\text{C}$ 下温育1.5小时。在用BSA染色缓冲液洗涤两次之后,将细胞与R-PE标记的抗人IgG二级抗体(Jackson Immunoresearch Laboratories)在 $4^\circ\text{C}$ 下一起温育45min。将细胞在染色缓冲液中洗涤两次,然后重悬于 $150 \mu\text{L}$ 的含有1:200稀释的DRAQ7活/死染色剂的染色缓冲液(Cell Signaling Technology, Danvers, USA)中。分别使用B2和B4通道,通过Miltenyi MACSQuant流式细胞仪(Miltenyi Biotec, Auburn, USA)检测经染色细胞的PE和DRAQ7信号。活细胞根据DRAQ7排除法进行门控,并且测定所收集的至少10,000个活事件的几何平均荧光信号。使用FlowJo软件(Tree Star)进行分析。数据绘制为抗体浓度对数相对于平均荧光信号。进行非线性回归分析。

#### [0336] 嵌合抗原受体(CAR)

[0337] 嵌合抗原受体(CAR)是遗传工程化的受体。这些工程化受体可根据本领域已知的技术容易地插入包括T细胞在内的免疫细胞中并由其表达。对于CAR,单个受体可被编程为识别特异性抗原,并且当与该抗原结合时,激活免疫细胞以攻击和破坏携带该抗原的细胞。当这些抗原存在于肿瘤细胞上时,表达CAR的免疫细胞可靶向并杀伤肿瘤细胞。

[0338] CAR通常包括结合抗原(例如,前列腺新抗原或B细胞成熟抗原(BCMA))的胞外结构域、任选的接头、跨膜结构域和包括共刺激结构域和/或信号结构域的胞质结构域。

[0339] CAR的胞外结构域可含有结合所需抗原(例如,前列腺新抗原)的任何多肽。胞外结构域可包括scFv、抗体的一部分或另选的支架。CAR也可被工程化以结合两个或更多个所需抗原,所述抗原可串联排列并由接头序列隔开。例如,一种或多种结构域抗体、scFv、llama VHH抗体或其他仅VH抗体片段可经由接头串联地组织,以向CAR提供双特异性或多特异性。

[0340] CAR的跨膜结构域可来源于以下项的跨膜结构域:CD8、T细胞受体的 $\alpha$ 、 $\beta$ 或 $\zeta$ 链、CD28、CD3 $\epsilon$ 、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154、KIRDS2、OX40、CD2、CD27、LFA-1(CD11a、CD18)、ICOS(CD278)、4-1BB(CD137)、4-1BBL、GITR、CD40、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、SLAMF7、NKp80(KLRFI)、CD160、CD19、IL2R $\beta$ 、IL2R $\gamma$ 、IL7R $\alpha$ 、ITGA1、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、TNFR2、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(触觉)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、PAG/Cbp、NKp44、NKp30、NKp46、NKG2D和/或NKG2C。

[0341] CAR的胞内共刺激结构域可来源于一种或多种共刺激分子的胞内结构域。共刺

激分子是熟知的除抗原受体或Fc受体之外的细胞表面分子,其提供T淋巴细胞在与抗原结合时的有效活化和功能所需的第二信号。可用于CAR的示例性共刺激结构域是4-1BB、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54 (ICAM)、CD83、CD134 (OX40)、CD150 (SLAMF1)、CD152 (CTLA4)、CD223 (LAG3)、CD270 (HVEM)、CD278 (ICOS)、DAP10、LAT、NKD2C SLP76、TRIM和ZAP70的胞内结构域。

[0342] CAR的胞内信号传导结构域可来源于例如O'03 $\zeta$ 、CD3 $\epsilon$ 、CD22、CD79a、CD66d或CD39的信号传导结构域。“细胞内信号结构域”是指CAR多肽参与将有效CAR与靶抗原结合的信息转导到免疫效应细胞内部以引发效应细胞功能的部分,所述效应细胞功能例如活化、细胞因子产生、增殖和细胞毒性活性,包括细胞毒性因子向CAR结合的靶细胞的释放,或在抗原结合到胞外CAR结构域后引发的其他细胞反应。

[0343] 位于胞外结构域和跨膜结构域之间的CAR的任选接头可以是长度为约2至100个氨基酸的多肽。接头可包含柔性残基(诸如甘氨酸和丝氨酸)或由所述柔性残基构成,使得相邻的蛋白质结构域相对于彼此自由移动。当希望确保两个相邻结构域不会在空间上彼此干扰时,可使用较长的接头。接头可以是可裂解的或不可裂解的。可裂解接头的示例包括2A接头(例如T2A)、2A样接头或它们的功能等同物,以及它们的组合。接头还可来源于任何免疫球蛋白的铰链区或铰链区的部分。

[0344] 可使用的示例性CAR是例如含有结合本发明的前列腺新抗原的胞外结构域、CD8跨膜结构域和CD3 $\zeta$ 信号传导结构域的CAR。其他示例性CAR含有结合本发明的前列腺新抗原的胞外结构域、CD8或CD28跨膜结构域、CD28、41BB或OX40共刺激结构域和CD3 $\zeta$ 信号传导结构域。

[0345] CAR通过标准分子生物学技术来生成。结合所需抗原的胞外结构域可来源于使用本文所述的技术生成的抗体或其抗原结合片段。

#### [0346] 结局

[0347] 在一些实施方案中,通过本文提供的方法治疗的受试者具有部分应答(PR)或更好的应答。在一些实施方案中,通过本文提供的方法治疗的受试者具有非常良好的部分应答(VGPR)或更好的应答。在一些实施方案中,通过本文提供的方法治疗的受试者具有完全应答(CR)或更好的应答。在一些实施方案中,通过本文提供的方法治疗的受试者具有严格的完全应答(sCR)或更好的应答。在一些实施方案中,PR、VGPR、CR和sCR如IMWG 2016标准所定义。在一些实施方案中,PR被定义为血清M蛋白减少50%以上,并且24小时尿液M蛋白减少>90%或到<200mg/24小时。在一些实施方案中,VGPR被定义为血清和尿液M蛋白水平可通过免疫固定检测但不可通过电泳检测,或血清M蛋白减少>90%加上尿液M蛋白水平<100mg/24h。在一些实施方案中,CR被定义为血清和尿液免疫固定阴性,任何软组织浆细胞瘤消失,并且骨髓中浆细胞<5%。在一些实施方案中,sCR被定义为上述CR定义加上正常FLC比率以及通过免疫组织化学或免疫荧光测得骨髓中不存在克隆细胞。

[0348] 在一些实施方案中,经由本文提供的方法进行的治疗将导致T细胞激活。在一些实施方案中,T细胞激活导致CD25、PD-1、CD4+T细胞上的CD38、CD8+T细胞上的CD38或它们的任何组合中的至少一者的增加。在一些实施方案中,T细胞激活导致CD25的增加。在一些实施方案中,T细胞激活导致PD-1的增加。在一些实施方案中,T细胞激活导致CD4+T细胞上的CD38的增加。在一些实施方案中,T细胞激活导致CD8+T细胞上的CD38的增加。在一些实施方

案中,经由本文提供的方法进行的治疗将导致CD38+CD8+T细胞、CD38+CD4+T细胞、Tregs T细胞或它们的任何组合中的至少一者的频率增加。在一些实施方案中,经由本文提供的方法进行的治疗将导致CD38+CD8+T细胞的频率增加。在一些实施方案中,经由本文提供的方法进行的治疗将导致CD38+CD4+T细胞的频率增加。在一些实施方案中,经由本文提供的方法进行的治疗将导致Tregs T细胞的频率增加。

[0349] 在一些实施方案中,当作为单一疗法施用,本文提供的方法导致该方法的组分的活性增强,或导致该方法的组分的功效增加。在一些实施方案中,与没有抗CD38抗体的治疗相比,经由本文提供的方法进行的治疗导致GPCR5DxCD3双特异性抗体的活性增强。在一些实施方案中,与没有GPCR5DxCD3双特异性抗体的治疗相比,经由本文提供的方法进行的治疗导致抗CD38抗体的活性增强。

[0350] 编号的实施方案

[0351] 本公开还提供了以下编号的实施方案:

[0352] 1.一种治疗对其有需要的受试者的癌症的方法,所述方法包括:

[0353] (1)以每1周-2周60 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg的剂量向所述受试者施用GPCR5DxCD3双特异性抗体,以及

[0354] (2)以每1周-4周1200mg至2400mg的剂量向所述受试者皮下施用抗CD38抗体。

[0355] 1a.一种治疗对其有需要的受试者的癌症的方法,所述方法包括:

[0356] (1)以每1周-2周60 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg的剂量向所述受试者静脉内施用GPCR5DxCD3双特异性抗体,以及

[0357] (2)以每1周-4周1200mg至2400mg的剂量向所述受试者皮下施用抗CD38抗体。

[0358] 1a1.根据实施方案1a所述的方法,其中以每周60 $\mu$ g/kg的剂量向所述受试者静脉内施用所述GPCR5DxCD3双特异性抗体。

[0359] 1a2.根据实施方案1a或1a1所述的方法,其中以每周、每两周、每三周或每四周1800mg的剂量皮下施用所述抗CD38抗体。

[0360] 1a3.根据实施方案1a1所述的方法,其中在所述治疗的第1周至第8周期间每周一次,在所述治疗的第9周至第24周期间每两周一次,并且在所述治疗的第24周后每四周一次以1800mg的剂量皮下施用所述抗CD38抗体。

[0361] 2.根据实施方案1所述的方法,所述方法包括:

[0362] (1)以每1周-2周300 $\mu$ g/kg至1200 $\mu$ g/kg的剂量向所述受试者皮下施用所述GPCR5DxCD3双特异性抗体,以及

[0363] (2)以每1周-4周1600mg至2000mg的剂量向所述受试者皮下施用所述抗CD38抗体。

[0364] 3.根据实施方案2所述的方法,所述方法还包括在步骤(1)之前以低于步骤(1)中所用的剂量向所述受试者皮下施用所述GPCR5DxCD3双特异性抗体。

[0365] 3a.根据实施方案3所述的方法,其中在初始施用所述抗CD38抗体后,以低于步骤(1)中所用的剂量向所述受试者皮下施用所述GPCR5DxCD3双特异性抗体,优选地在初始施用所述抗CD38抗体后至少20小时,以低于步骤(1)中所用的剂量初始施用所述GPCR5DxCD3双特异性抗体。

[0366] 3b.根据实施方案3或3a所述的方法,其中在所述初始皮下施用步骤(1)中的400 $\mu$ g/kg的所述GPCR5DxCD3双特异性抗体之前,以5 $\mu$ g/kg至100 $\mu$ g/kg,诸如5 $\mu$ g/kg、10 $\mu$ g/kg、20

$\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $30\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $40\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $50\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $60\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $70\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $80\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $90\mu\text{g}/\text{kg}$ 或 $100\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量或其间的任何值向所述受试者皮下施用所述GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0367] 3c. 根据实施方案3b所述的方法, 其中施用至少两个逐步增加剂量的GPRC5DxCD3, 优选在所述治疗的第2天施用第一个逐步增加剂量, 并且在所述治疗的第4天施用第二个逐步增加剂量。

[0368] 3d. 根据实施方案3c所述的方法, 其中在所述初始皮下施用步骤(1)中的 $400\mu\text{g}/\text{kg}$ 的所述GPRC5DxCD3双特异性抗体之前, 诸如在所述治疗的第2天以 $10\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量, 并且诸如在所述治疗的第4天以 $60\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量向所述受试者皮下施用所述GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0369] 3e. 根据实施方案3至3d中任一项所述的方法, 其中在所述初始皮下施用步骤(1)中的 $800\mu\text{g}/\text{kg}$ 的所述GPRC5DxCD3双特异性抗体之前, 以 $5\mu\text{g}/\text{kg}$ 至 $350\mu\text{g}/\text{kg}$ , 诸如 $5\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $10\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $20\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $30\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $40\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $50\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $60\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $70\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $80\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $90\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $100\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $150\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $200\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $250\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $300\mu\text{g}/\text{kg}$ 或 $350\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量或其间的任何值向所述受试者皮下施用所述GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0370] 3f. 根据实施方案3e所述的方法, 其中施用至少三个逐步增加剂量的GPRC5DxCD3, 优选在所述治疗的第2天施用所述第一个逐步增加剂量, 在所述治疗的第4天施用所述第二个逐步增加剂量, 并且在所述治疗的第8天施用第三个逐步增加剂量。

[0371] 3g. 根据实施方案3f所述的方法, 其中在所述初始皮下施用步骤(1)中的 $800\mu\text{g}/\text{kg}$ 的所述GPRC5DxCD3双特异性抗体之前, 诸如在所述治疗的第2天以 $10\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量, 诸如在所述治疗的第4天以 $60\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量, 并且诸如在所述治疗的第8天以 $300\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量向所述受试者皮下施用所述GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0372] 4. 根据实施方案2至3g中任一项所述的方法, 其中以每周一次或每两周一次 $300\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $400\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $450\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $500\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $550\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $600\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $700\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $750\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $800\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $850\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $900\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $950\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $1000\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $1050\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $1200\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量或其间的任何剂量向所述受试者皮下施用所述GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0373] 4a. 根据实施方案4所述的方法, 其中以每周 $300\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $400\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $450\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $500\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $550\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $600\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $700\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $750\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $800\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $850\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $900\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $950\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $1000\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $1050\mu\text{g}/\text{kg}$ 或 $1200\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量向所述受试者皮下施用所述GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0374] 4b. 根据实施方案4所述的方法, 其中以每两周 $300\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $400\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $450\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $500\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $550\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $600\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $700\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $750\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $800\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $850\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $900\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $950\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $1000\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $1050\mu\text{g}/\text{kg}$ 或 $1200\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量向所述受试者皮下施用所述GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0375] 5. 根据实施方案4所述的方法, 其中以每周 $400\mu\text{g}/\text{kg}$ 或每两周 $400\mu\text{g}/\text{kg}$ 或每两周 $800\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量向所述受试者皮下施用所述GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0376] 6. 根据实施方案5所述的方法, 其中以每周 $400\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量向所述受试者皮下施用所述GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0377] 6a. 根据实施方案5所述的方法, 其中以每两周 $400\mu\text{g}/\text{kg}$ 的剂量向所述受试者皮下施用所述GPRC5DxCD3双特异性抗体。

[0378] 6b. 根据实施方案5所述的方法, 其中以每两周400 $\mu$ g/kg或每两周800 $\mu$ g/kg的剂量向所述受试者皮下施用所述GPCR5DxCD3双特异性抗体。

[0379] 6c. 根据实施方案5所述的方法, 其中以每两周800 $\mu$ g/kg的剂量向所述受试者皮下施用所述GPCR5DxCD3双特异性抗体。

[0380] 6d. 根据实施方案5所述的方法, 其中在前8周以每周400 $\mu$ g/kg的剂量向所述受试者皮下施用所述GPCR5DxCD3双特异性抗体, 随后以每两周800 $\mu$ g/kg的剂量施用所述GPCR5DxCD3双特异性抗体。

[0381] 6e. 根据实施方案5所述的方法, 其中以每周400 $\mu$ g/kg的剂量向所述受试者皮下施用所述GPCR5DxCD3双特异性抗体持续8周, 随后以每两周400 $\mu$ g/kg的剂量施用所述GPCR5DxCD3双特异性抗体。

[0382] 7. 根据实施方案1至6e中任一项所述的方法, 其中在所述治疗的第1周至第8周期间每周一次, 在所述治疗的第9周至第24周期间每两周一次, 并且在所述治疗的第24周后每四周一次以1800mg的剂量向所述受试者皮下施用所述抗CD38抗体。

[0383] 7a. 根据实施方案1至6e中任一项所述的方法, 其中以每周一次所述1800mg的剂量向所述受试者皮下施用所述抗CD38抗体。

[0384] 7b. 根据实施方案1至6e中任一项所述的方法, 其中以每两周一次所述1800mg的剂量向所述受试者皮下施用所述抗CD38抗体。

[0385] 7c. 根据实施方案1至6e中任一项所述的方法, 其中以每三周一次所述1800mg的剂量向所述受试者皮下施用所述抗CD38抗体。

[0386] 7d. 根据实施方案1至6e中任一项所述的方法, 其中以每四周一次所述1800mg的剂量向所述受试者皮下施用所述抗CD38抗体。

[0387] 8. 根据实施方案1至7d中任一项所述的方法, 其中所述抗CD38抗体与rHuPH20, 诸如约30,000U的rHuPH20一起施用或提供用于施用。

[0388] 8a. 根据实施方案1至7d中任一项所述的方法, 所述方法还包括向所述受试者施用rHuPH20以减少所需的注射体积, 从而促进所述抗CD38抗体的所述皮下施用。

[0389] 8b. 根据实施方案8a所述的方法, 其中所述rHuPH20与所述抗CD38抗体一起皮下施用。

[0390] 8c. 根据实施方案8a所述的方法, 其中所述rHuPH20与所述抗CD38抗体分开皮下施用。

[0391] 8d. 根据实施方案8a至8d中任一项所述的方法, 其中以10,000U-50,000U, 诸如10,000U、20,000U、30,000U、40,000U或50,000U或其间的任何值的剂量皮下施用所述rHuPH20。

[0392] 8e. 根据实施方案8a至8d中任一项所述的方法, 其中以30,000U的剂量皮下施用所述rHuPH20。

[0393] 8d. 根据实施方案8至8e中任一项所述的方法, 其中所述rHuPH20和所述抗CD38抗体在相同的药物组合物中一起施用。

[0394] 9. 根据实施方案1至8d中任一项所述的方法, 其中所述GPCR5DxCD3双特异性抗体包含:

[0395] (i) GPCR5D结合结构域, 所述GPCR5D结合结构域包含分别具有SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28和SEQ ID NO:29的氨基酸序列的重链互补决定区 (HCDR) HCDR1、HCDR2和HCDR3的

重链可变区 (VH) 以及分别具有 SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31 和 SEQ ID NO:32 的氨基酸序列的轻链互补决定区 (LCDR) LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的轻链可变区 (VL), 和

[0396] (j) CD3 结合结构域, 所述 CD3 结合结构域包含分别具有 SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18 和 SEQ ID NO:19 的氨基酸序列的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 的 VH 以及分别具有 SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21 和 SEQ ID NO:22 的氨基酸序列的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的 VL。

[0397] 9a. 根据实施方案 9 所述的方法, 其中所述 GPRC5D 结合结构域包含具有 SEQ ID NO:33 的氨基酸序列的所述 VH 和具有 SEQ ID NO:34 的氨基酸序列的所述 VL; 所述 CD3 结合结构域包含具有 SEQ ID NO:23 的氨基酸序列的所述 VH 和具有 SEQ ID NO:24 的氨基酸序列的所述 VL。

[0398] 10. 根据实施方案 9a 所述的方法, 其中所述 GPRC5D<sub>x</sub>CD3 双特异性抗体包含具有 SEQ ID NO:35 的氨基酸序列的第一重链 (HC1)、具有 SEQ ID NO:36 的氨基酸序列的第一轻链 (LC1)、具有 SEQ ID NO:25 的氨基酸序列的第二重链 (HC2) 和具有 SEQ ID NO:26 的氨基酸序列的第二轻链 (LC2)。

[0399] 11. 根据实施方案 1 至 8d 中任一项所述的方法, 其中所述 GPRC5D<sub>x</sub>CD3 双特异性抗体包括塔奎妥单抗 (也称为 JNJ-564 或 JNJ-64407564)、Kodama 等人, *Mol Cancer Ther.* 2019. 18 (9): 1555-1564 中描述的 GPRC5D<sub>x</sub>CD3 双特异性抗体, 或使用以下结构域的双特异性抗体: 美国专利号 10,590,196、10,906,956 或 WO2020/092854 中描述的 GPRC5D 人结合结构域, 或者与塔奎妥单抗或此类 GPRC5D 结合结构域竞争以用于与人 GPRC5D 结合的 GPRC5D 结合结构域。

[0400] 11a. 根据实施方案 1 至 8d 中任一项所述的方法, 其中所述 GPRC5D<sub>x</sub>CD3 双特异性抗体包含抗原结合片段, 诸如 Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fd 或 Fv 片段。

[0401] 11b. 根据实施方案 1 至 8d 中任一项所述的方法, 其中所述 GPRC5D<sub>x</sub>CD3 双特异性抗体是嵌合的、人源化的或人的。

[0402] 11c. 根据实施方案 1 至 8d 中任一项所述的方法, 其中所述 GPRC5D<sub>x</sub>CD3 双特异性抗体是 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 同种型。

[0403] 11d. 根据实施方案 1 至 8d 中任一项所述的方法, 其中所述 GPRC5D<sub>x</sub>CD3 双特异性抗体是 IgG4 同种型。

[0404] 12. 根据实施方案 1 至 11d 中任一项所述的方法, 其中所述抗 CD38 抗体包含分别具有 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:9 的氨基酸序列的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 的 VH 以及分别具有 SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11 和 SEQ ID NO:12 的氨基酸序列的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的 VL。

[0405] 12a. 根据实施方案 1 至 11d 中任一项所述的方法, 其中所述抗 CD38 抗体包含 a) SEQ ID NO:38 的所述 VH 和 SEQ ID NO:39 的所述 VL; b) SEQ ID NO:40 的所述 VH 和 SEQ ID NO:41 的所述 VL; c) SEQ ID NO:42 的所述 VH 和 SEQ ID NO:43 的所述 VL; 或 d) SEQ ID NO:44 的所述 VH 和 SEQ ID NO:45 的所述 VL。

[0406] 12b. 根据实施方案 1 至 11d 中任一项所述的方法, 其中所述 CD38 抗体包含具有 SEQ ID NO:5 的氨基酸序列的所述 VH 和具有 SEQ ID NO:6 的氨基酸序列的所述 VL。

[0407] 13. 根据实施方案 1 至 11d 中任一项所述的方法, 其中所述抗 CD38 抗体选自以下项组成的组: 美国专利号 7,829,673 中所述的 mAb003; 美国专利号 7,829,673 中所述的

mAb024;美国专利号8,088,896中所述的MOR-202(MOR-03087);或美国专利号8,153,765中所述的艾萨妥昔单抗;和达雷木单抗。

[0408] 13a.根据实施方案1至11d中任一项所述的方法,其中所述抗CD38抗体包含SEQ ID NO:13的所述HC和SEQ ID NO:14的所述LC。

[0409] 13b.根据实施方案1至11d中任一项所述的方法,其中所述抗CD38抗体是嵌合的、人源化的或人的。

[0410] 13c.根据实施方案1至11d中任一项所述的方法,其中所述抗CD38抗体是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。

[0411] 13d.根据实施方案1至11a中任一项所述的方法,其中所述抗CD38抗体是IgG1同种型。

[0412] 13e.根据实施方案1至13d中任一项所述的方法,其中所述GPRC5DxCD3双特异性抗体和/或所述抗CD38抗体包含本文所述的一个或多个Fc取代。

[0413] 13f.根据实施方案13e所述的方法,其中所述Fc取代选自自由以下

[0414] 项组成的组: IgG4上的F234A/L235A、IgG1上的L234A/L235A、IgG2上的V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S、IgG4上的F234A/L235A、IgG4上的S228P/F234A/L235A、所有Ig同种型上的N297A、IgG2上的V234A/G237A、IgG1上的K214T/E233P/L234V/L235A/G236 缺失/A327G/P331A/D365E/L358M、IgG2上的H268Q/V309L/A330S/P331S、IgG1上的S267E/L328F、IgG1上的L234F/L235E/D265A、IgG1上的L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S、IgG4上的S228P/F234A/L235A/G237A/P238S和IgG4上的S228P/F234A/L235A/G236缺失/G237A/P238S,其中残基根据EU索引进行编号。

[0415] 13g.根据实施方案13e所述的方法,其中所述Fc取代选自自由以下

[0416] 项组成的组:

[0417] (1) IgG4上的F234A/L235A;

[0418] (2) IgG1上的L234A/L235A;

[0419] (3) IgG2上的V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S;

[0420] (4) IgG4上的F234A/L235A;

[0421] (5) IgG4上的S228P/F234A/L235A;

[0422] (6) 所有Ig同种型上的N297A;

[0423] (7) IgG2上的V234A/G237A;

[0424] (8) IgG1上的K214T/E233P/L234V/L235A/G236缺失/A327G/P331A/D365E/L358M;

[0425] (9) IgG2上的H268Q/V309L/A330S/P331S;

[0426] (10) IgG1上的S267E/L328F;

[0427] (11) IgG1上的L234F/L235E/D265A;

[0428] (12) IgG1上的L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S;

[0429] (13) IgG4上的S228P/F234A/L235A/G237A/P238S和IgG4上的S228P/F234A/L235A/G236缺失/G237A/P238S;和/或

[0430] (14) S228P取代。

[0431] 13h.根据实施方案1至13e中任一项所述的方法,其中所述GPRC5DxCD3双特异性抗体在第一CH3结构域中或在第二CH3结构域中或在所述第一CH3结构域和所述第二CH3结构

域两者中包含一个或多个非对称取代。

[0432] 13i. 根据实施方案13h所述的方法, 其中所述一个或多个非对称取代选自以下项组成的组: F450L/K409R、野生型/F409L\_R409K、T366Y/F405A、T366W/F405W、F405W/Y407A、T394W/Y407T、T394S/Y407A、T366W/T394S、F405W/T394S和T366W/T366S\_L368A\_Y407V、L351Y\_F405A\_Y407V/T394W、T366I\_K392M\_T394W/F405A\_Y407V、T366L\_K392M\_T394W/F405A\_Y407V、L351Y\_Y407A/T366A\_K409F、L351Y\_Y407A/T366V\_K409F、Y407A/T366A\_K409F和T350V\_L351Y\_F405A\_Y407V/T350V\_T366L\_K392L\_T394W。

[0433] 13j. 根据实施方案1至13e中任一项所述的方法, 其中所述GPCR5DxCD3双特异性抗体是IgG4同种型并且包含第一重链(HC1)中第405位处的苯丙氨酸和第409位处的精氨酸, 以及第二重链(HC2)中第405位处的亮氨酸和第409位处的赖氨酸, 其中残基根据EU索引进行编号。

[0434] 13k. 根据实施方案13j所述的方法, 其中所述GPCR5DxCD3双特异性抗体还包含所述HC1和所述HC2两者中第228位处的脯氨酸、第234位处的丙氨酸和第235位处的丙氨酸。

[0435] 14. 根据实施方案1至13k中任一项所述的方法, 其中所述癌症包括血液恶性肿瘤或实体瘤。

[0436] 14a. 根据实施方案14所述的方法, 其中所述血液恶性肿瘤是多发性骨髓瘤、冒烟型多发性骨髓瘤、未明确诊断意义的单克隆丙种球蛋白病(MGUS)、急性淋巴瘤细胞白血病(ALL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、伯基特淋巴瘤(BL)、滤泡性淋巴瘤(FL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、华氏巨球蛋白血症、浆细胞白血病、轻链淀粉样变性(AL)、前体B细胞淋巴瘤细胞白血病、前体B细胞淋巴瘤细胞白血病、急性髓性白血病(AML)、骨髓增生异常综合征(MDS)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、B细胞恶性肿瘤、慢性髓性白血病(CML)、毛细胞白血病(HCL)、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、边缘区B细胞淋巴瘤(MZL)、粘膜相关淋巴组织淋巴瘤(MALT)、浆细胞白血病、间变性大细胞淋巴瘤(ALCL)、白血病或淋巴瘤。

[0437] 14b. 根据实施方案14a所述的方法, 其中所述血液恶性肿瘤是多发性骨髓瘤。

[0438] 14c. 根据实施方案14b所述的方法, 其中所述多发性骨髓瘤是新诊断的多发性骨髓瘤。

[0439] 14d. 根据实施方案14b所述的方法, 其中所述多发性骨髓瘤是复发性或难治性多发性骨髓瘤(RRMM)。

[0440] 14e. 根据实施方案14b所述的方法, 其中所述多发性骨髓瘤是高危多发性骨髓瘤。

[0441] 14f. 根据实施方案14b所述的方法, 其中患有所述高危多发性骨髓瘤的所述受试者具有一种或多种染色体异常, 所述一种或多种染色体异常包括: t(4;14)(p16;q32)、t(14;16)(q32;q23)、del17p、1qAmp、t(4;14)(p16;q32)和t(14;16)(q32;q23)、t(4;

[0442] 14)(p16;q32)和del17p、t(14;16)(q32;q23)和del17p;或t(4;

[0443] 14)(p16;q32)、t(14;16)(q32;q23)和del17p, 或它们的任何组合。

[0444] 14g. 根据实施方案1至14f中任一项所述的方法, 其中所述癌症包括对于治疗具有复发性或难治性的多发性骨髓瘤。

[0445] 14h. 根据实施方案14g所述的方法, 其中所述癌症包括多发性骨

[0446] 髓瘤, 所述多发性骨髓瘤对于用所述抗CD38抗体、来那度胺、硼替佐米、泊马度胺、

卡非佐米、艾萨妥昔单抗、埃罗妥珠单抗、伊沙佐米、美法仑或沙利度胺或它们的任何组合进行的治疗具有复发性或难治性。

[0447] 14i. 根据实施方案1至14中任一项所述的方法,其中所述癌症包括AML。

[0448] 14j. 根据实施方案14i所述的方法,其中所述AML是伴有至少一

[0449] 种遗传异常的AML、伴有多系病态的AML、治疗相关性AML、未分化型AML、不成熟型AML、成熟型AML、急性粒单核细胞白血病、急性单核细胞白血病、急性红白血病、急性巨核细胞白血病、急性嗜碱粒细胞白血病、急性骨髓增殖症伴纤维化或髓样肉瘤。

[0450] 14k. 根据实施方案1至14中任一项所述的方法,其中所述癌症包括任何表达GPCR5D的癌症,诸如多发性骨髓瘤、郁积型多发性骨髓瘤、未明确诊断意义的单克隆丙球蛋白病(MGUS)、B细胞急性淋巴细胞白血病、弥漫性大B细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、华氏巨球蛋白血症、浆细胞白血病、轻链淀粉样变性或非霍奇金淋巴瘤。

[0451] 14l. 根据实施方案1至14中任一项所述的方法,其中所述受试者

[0452] 对于用所述抗CD38抗体或来那度胺或它们的组合进行的治疗具有复发性或难治性。

[0453] 14m. 根据实施方案1至14中任一项所述的方法,其中所述受试者对于用THALOMID<sup>®</sup>(沙利度胺)、REVLIMID<sup>®</sup>(来那度胺)、POMALYST<sup>®</sup>(泊马度胺)、VELCADE<sup>®</sup>(硼替佐米)、NINLARO(伊沙佐米)、KYPROLIS<sup>®</sup>(卡非佐米)、FARADYK<sup>®</sup>(帕比司他)、AREDIA<sup>®</sup>(帕米膦酸钠)、ZOMETA<sup>®</sup>(唑来膦酸)、DARZALEX<sup>®</sup>(达雷木单抗)、Empliciti<sup>®</sup>(埃罗妥珠单抗)、SARCLISA<sup>®</sup>(艾萨妥昔单抗)或Alkeran<sup>®</sup>(美法仑)进行的治疗具有难治性或复发性。

[0454] 14n. 根据实施方案1至14中任一项所述的方法,其中所述受试者对于用DARZALEX<sup>®</sup>(达雷木单抗)进行的治疗具有复发性。

[0455] 15. 一种治疗对其有需要的受试者的多发性骨髓瘤的方法,所述方法包括:

[0456] (1) 向所述受试者皮下施用每周400 $\mu$ g/kg的GPCR5DxCD3双特异性抗体或每两周800 $\mu$ g/kg的GPCR5DxCD3双特异性抗体中的至少一种,以及

[0457] (2) 在所述治疗的第1周至第8周期间每周一次,在所述治疗的第9周至第24周期间每两周一次,并且在所述治疗的第24周后每四周一次向所述受试者皮下施用1800mg的抗CD38抗体,其中所述GPCR5DxCD3双特异性抗体包含SEQ ID NO:35的第一重链(HC1)、SEQ ID NO:36的第一轻链(LC1)、SEQ ID NO:25的第二重链(HC2)和SEQ ID NO:26的第二轻链(LC2),并且所述抗CD38抗体包含SEQ ID NO:13的所述HC和SEQ ID NO:14的所述LC。

[0458] 16. 根据实施方案15所述的方法,所述方法还包括在所述初始皮下施用所述400 $\mu$ g/kg或800 $\mu$ g/kg的GPCR5DxCD3双特异性抗体之前,向所述受试者皮下施用10 $\mu$ g/kg至300 $\mu$ g/kg的所述GPCR5DxCD3双特异性抗体。

[0459] 17. 根据实施方案14至16中任一项所述的方法,其中所述受试者已经接受了针对多发性骨髓瘤的至少一种先前治疗,优选地,所述受试者对于所述至少一种先前治疗具有复发性或难治性,更优选地,所述先前治疗包括蛋白酶体抑制剂(PI)和免疫调节剂(IMiD)中的至少一者。

[0460] 18. 根据实施方案17所述的方法,其中所述受试者对于选自由以下项组成的组的治疗具有难治性或复发性:抗CD38抗体、来那度胺、硼替佐米、泊马度胺、卡非佐米、埃罗妥珠单抗、伊沙佐米、艾萨妥昔单抗、美法仑和沙利度胺或它们的任何组合,优选地,所述受试者对于来那度胺具有难治性。

[0461] 19. 根据实施方案1至18中任一项所述的方法,所述方法还包括向所述受试者施用另一种治疗,诸如泊马度胺和/或地塞米松。

[0462] 20. 根据实施方案1至19中任一项所述的方法,其中所述治疗导致T细胞激活,诸如CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞上的CD25、PD-1、CD38中的至少一者的增加。

[0463] 21. 根据实施方案1至19中任一项所述的方法,其中所述治疗导致CD38<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T细胞、CD38<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T细胞和Tregs T细胞中的至少一者的频率增加。

[0464] 22. 根据实施方案1至19中任一项所述的方法,其中与没有所述抗CD38抗体的治疗相比,所述治疗导致所述GPRC5D<sup>x</sup>CD3双特异性抗体的活性增强。

[0465] 23. 根据实施方案1至19中任一项所述的方法,其中与没有所述<sup>x</sup>CD3双特异性抗体的治疗相比,所述治疗导致所述抗GPRC5D<sup>x</sup>CD38抗体的活性增强。

[0466] 24. 一种GPRC5D<sup>x</sup>CD3双特异性抗体,所述GPRC5D<sup>x</sup>CD3双特异性抗体用于使用根据实施方案1至23中任一项所述的方法治疗对其有需要的受试者的癌症。

[0467] 25. 一种抗CD38抗体,所述抗CD38抗体用于使用根据实施方案1至23中任一项所述的方法治疗对其有需要的受试者的癌症。

[0468] 26. 一种GPRC5D<sup>x</sup>CD3双特异性抗体和抗CD38抗体的组合,所述组合用于使用根据实施方案1至23中任一项所述的方法治疗对其有需要的受试者的癌症。

[0469] 27. GPRC5D<sup>x</sup>CD3双特异性抗体在制造用于使用根据实施方案1至23中任一项所述的方法治疗对其有需要的受试者的癌症的药物方面的用途。

[0470] 28. 抗CD38抗体在制造用于使用根据实施方案1至23中任一项所述的方法治疗对其有需要的受试者的癌症的药物方面的用途。

[0471] 29. GPRC5D<sup>x</sup>CD3双特异性抗体和抗CD38抗体的组合在制造用于使用根据实施方案1至23中任一项所述的方法治疗对其有需要的受试者的癌症的药物方面的用途。

[0472] 30. 一种试剂盒,所述试剂盒包括GPRC5D<sup>x</sup>CD3双特异性抗体、抗CD38抗体和关于使用所述抗体来使用根据实施方案1至23中任一项所述的方法治疗对其有需要的受试者的癌症的说明书。

[0473] 虽然已经概括地描述了本发明,但是本发明的实施方案还将在以下实施例中进一步公开,以下实施例不应理解为限制权利要求的范围。

[0474] 实施例

[0475] 提供以下实施例以进一步描述本文所公开的实施方案中的一些。这些实施例旨在说明而非限制本发明所公开的实施方案。

[0476] 一般材料和方法

[0477] 抗体和试剂

[0478] 抗GPRC5D/抗CD3抗体JNJ-564(也称为JNJ-64407564,塔奎妥单抗)和达雷木单抗由Janssen Pharmaceuticals制备。3930(IgG同种型对照)、GPFC5D<sup>x</sup>Null对照和7008(Null<sup>x</sup>CD3对照)均由Janssen Pharmaceuticals制备,并用作对照抗体。

[0479] JNJ-564包含CD3结合臂CD3B219和GPCR5D结合臂GC5B596,它们的氨基酸序列分别在表8a和表8b中示出。

[0480] 骨髓和外周血单核细胞

[0481] 通过Ficoll-Hypaque密度梯度离心分离来自健康供体和MM患者的外周血单核细胞(PBMC)和来自MM患者BM抽吸物的骨髓单核细胞(BM-MNC)。

[0482] 来自MM患者的骨髓和血液样本的流式细胞术分析

[0483] 鉴定定位BM的MM细胞,并通过用HuMax-003 (CD38) FITC (该抗体与不同于达雷木单抗所结合的表位的表位结合, Janssen Pharmaceuticals)、CD138 PE、CD56 PC7、CD45 Krome Orange (均得自Beckman Coulter)、CD269 (BCMA) APC (Biolegend)、CD274 (PD-L1) BV421和CD19APC-H7 (均得自Becton Dickinson)对 $1.0 \times 10^6$ 个细胞/mL染色,以分析细胞表面标志物表达水平。鉴定BM或PB免疫细胞亚群,并通过用CD45Krome Orange、CD56 PC7 (均得自Beckman Coulter)、CD14 APC-H7、CD19 APC-H7、CD3 V450、CD4 APC-H7或PE、CD8 FITC、CD45-RA APC、CD127 PE.Cy7、CD62L PE、CD274 (PD-1) BV421、CD16 APC、HLA-DR APC-H7 (均得自Becton Dickinson)和CD25 PE (Dako) 或用CD4BUV395 (BD Biosciences)、CD8 BUV737 (BD Biosciences)、PD-1BV421 (BD Biosciences)、TIM-3BV650 (BD Biosciences)、CD3 BV711 (BD Biosciences)、CD45RO BV786 (BD Biosciences)、CD38 Humab-003-FITC (Janssen)、CD45RA PerCP-Cy5.5 (BD Biosciences)、HLA-DR PE (BD Biosciences)、LAG-3PE-eF610 (ThermoFisher)、CD25 PE-Cy7 (BD Biosciences)、CCR7 AF647 (BD Biosciences)、CD127 APC-eF780 (ThermoFisher)对 $1.0 \times 10^6$ 个细胞/mL染色,以分析细胞表面标志物表达水平。在收集样本后的24小时内分析所有BM样本。

[0484] 使用7激光LSRFORTESSA (Becton Dickinson) 执行流式细胞术分析。每天使用荧光标记的珠 (CS&T珠, Becton Dickinson) 来监测流式细胞仪的性能并验证光学路径和料流流动。该过程实现受控的标准化结果,并且能够确定流式细胞仪内的长期漂移和偶然变化。未观察到可影响结果的变化。使用补偿微珠确定光谱重叠,并使用Diva软件自动计算补偿。使用FACSDiva软件分析流式细胞术数据。

[0485] 细胞遗传学分析

[0486] 通过荧光原位杂交 (FISH) 和单核苷酸多态性 (SNP) 阵列评估纯化的MM细胞中的细胞遗传学异常。高危疾病由del (17p)、del (1p)、amp1 (1q)、t (4;14) 或t (14;16)<sup>2</sup>。

[0487] 多重细胞因子测定

[0488] 使用V-Plex促炎面板1人试剂盒 (Meso Scale Diagnostics), 按照制造商的方案, 分析细胞培养上清液中的细胞因子[干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )、白介素 (IL) -2、IL-6、IL-8、IL-10 和肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ]。

[0489] 统计分析

[0490] 在数据不遵循正态分布的情况下,使用双尾(配对) Student t 检验或Mann-Whitney U 检验或Wilcoxon配对符号秩检验来进行变量之间的比较。使用Spearman的等级相关系数进行变量之间的关联。P值低于0.05被认为是显著的。就JNJ-564和达雷木单抗的联合治疗而言,使用下式计算预期裂解值以测试JNJ-564与达雷木单抗之间仅有累加效应的无效假说:预期裂解% = (使用JNJ-564的裂解% + 使用达雷木单抗的裂解%) - (使用JNJ-564的裂解%  $\times$  使用达雷木单抗的裂解%)。如果观察值显著高于预期值 (P < 0.05), 则拒绝

“累加效应”的无效假设。

[0491] 实施例1:针对复发性或难治性多发性骨髓瘤 (RRMM) (TRIMM-2) 联合施用塔奎妥单抗 (JNJ-564) 与皮下达雷木单抗的1期研究

[0492] 对患有复发性骨髓瘤的成年受试者进行了联合施用塔奎妥单抗与达雷木单抗的皮下 (SC) 给药方案的1b期、开放标记、多中心、多群组研究。两种治疗组合还包括泊马度胺 (以及至少在初始周期中同时使用地塞米松)。在含泊马度胺的治疗组合中,需要通过前3个含全免疫调节剂 (IMiD) 的周期施用地塞米松,以增强IMiD驱动的抗骨髓瘤效果,并用作达雷木单抗和塔奎妥单抗的治疗前药物。本研究的总体目标是在有或没有泊马度胺 (以及至少在初始周期中同时使用地塞米松) 的情况下评价达雷木单抗与塔奎妥单抗联合的安全性,以及评价初步抗肿瘤活性。安全性由研究评价小组 (SET) 监测。

[0493] 目标和终点

[0494] 表10. 针对RRMM联合施用塔奎妥单抗 (JNJ-564) 与皮下达雷木单抗的1期研究的目标和终点。

	目标	终点
	主要	
	第1部分: 鉴定每种治疗组合的 RP2D	剂量限制性毒性的频率和严重程度
	第2部分: 表征所选治疗组合的每种 RP2D 的安全性	不良事件和严重不良事件的频率和严重程度
[0495]	次要	
	● 表征每个研究治疗的药代动力学和药效学	● 血清浓度和药效学标志物
	● 评估每个研究治疗的免疫原性	● 抗药物抗体的存在
	● 评价每种治疗组合的抗肿瘤活性	● ORR ● 临床受益率(MR 或更高) ● 应答持续时间和缓解时间

	目标	终点
	探索性	
[0496]	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 探究药代动力学、药效学、不良事件特性和临床活性之间的关系</li> <li>● 研究应答或抗性的预测性生物标志物</li> <li>● 研究每种治疗组合的免疫调节活性</li> <li>● 评价 MRD 阴性率</li> <li>● 评价 PFS</li> <li>● 评价暴露-应答关系</li> </ul>	

[0497] 缩写:MR=最小应答;MRD=微小残留病;ORR=总响应率;PFS=无进展生存期;RP2D=2期推荐剂量

[0498] 研究设计

[0499] 本研究分2部分进行:

[0500] • 第1部分:剂量递增以建立每种治疗组合的RP2D

[0501] • 第2部分:所选治疗组合在RP2D处的剂量扩展。

[0502] 图1提供了第1部分和第2部分的示意性概述。研究了下列治疗组合:

[0503] • SC达雷木单抗和IV塔奎妥单抗

[0504] • SC达雷木单抗和SC塔奎妥单抗

[0505] • SC达雷木单抗、SC塔奎妥单抗和泊马度胺。

[0506] 第1部分(剂量递增部分)

[0507] 在第1部分(剂量递增)中,所有受试者都将接受多发性骨髓瘤批准剂量的达雷木单抗。如果适用,接受泊马度胺的受试者将以其批准的剂量或以较低的修改剂量接受它。给药方案B被批准用于该研究,其中在周期1第2天开始逐步增加给药。对于随后的群组,SET将基于统计模型使用所有可用的安全性、药代动力学和药效学数据确定逐步增加给药方案和治疗剂量,以鉴定安全和可耐受的RP2D。在本研究中检查的逐步增加和治疗剂量将不超过先前在塔奎妥单抗的单一疗法研究中由SET许可的剂量。相关治疗剂量计划在逐步增加剂量后的28天周期内每周施用;然而,也在群组中研究了其他方案,包括每两周施用。在第1部分中将评价至少30名受试者。招募受试者总数将取决于为鉴定RP2D而探究的剂量水平数量以及每个剂量水平的招募受试者数量。

[0508] 第2部分(剂量扩展部分)

[0509] 在第2部分(NCT04108195CTX)中选择用于进一步研究的每种治疗组合的RP2D将基于由BLRM(贝叶斯逻辑回归模型)基于来自第1部分的发现所推荐的剂量。附加地,如果适用,在确定第2部分中的治疗组合的RP2D之前,SET将审查第1部分中的每种治疗组合的所有可用的安全性、药代动力学、药效学和功效数据。SET可为每种治疗组合选择一个或多个RP2D。对于在第2部分中选择用于研究的每种治疗组合,在每种RP2D中将评价多达大约40名受试者。

[0510] 受试者群体

[0511] 本研究针对患有或多发性骨髓瘤的 $\geq 18$ 岁的受试者进行,这些受试者已经接受了至少3个先前治疗项,包括蛋白酶体抑制剂(PI)和IMiD,或者这些受试者患有对PI和IMiD具有双重难治性的疾病。已经接受了抗CD38疗法 $\leq 90$ 天的受试者被排除在外。对于要被招募到包括泊马度胺的治疗组合的受试者,先前的IMiD疗法应当包括来那度胺。

[0512] 本研究中招募受试者的纳入和排除标准在下文中描述。在筛查时和在研究药物的第一次给药之前已满足所有研究招募标准。

[0513] 纳入标准

[0514] 要求每名受试者满足以下所有研究招募标准:

[0515] 1.  $\geq 18$ 岁。

[0516] 2. 根据IMWG诊断标准记录的初始多发性骨髓瘤诊断。

[0517] 3. 必须具备以下条件之一:

[0518] • 在治疗期间以任何顺序接受了包括PI( $\geq 2$ 个周期或2个月的治疗)和IMiD( $\geq 2$ 个周期或2个月的治疗)在内的至少3个先前治疗项(参见下文的定义)(除了由于前2个周期/月内的严重过敏反应而中断这些治疗中的任一种治疗的受试者之外)。

[0519] o 每个治疗项经历至少1个完整治疗周期,除非疾病进展是对治疗项的最佳应答。

[0520] o 对于没有PI和/或IMiD的先前治疗项,为了满足至少三个先前治疗项的标准,受试者必须经历至少1个完整周期或1个月的治疗,除非疾病进展是对治疗项的最佳应答,或者除非受试者由于不良反应而中断;或者

[0521] • 对PI和IMiD具有双重难治性的疾病。对于已经接受多于一种类型PI的受试者,该疾病必须对最近一种具有难治性。类似地,对于已经接受多于一种类型IMiD的那些受试者,该疾病必须对最近一种具有难治性。

[0522] 注意:在接受最后治疗项时或治疗后12个月内,基于研究者根据Kumar等人2016年(Lancet Oncol.2016;17(8):e328-346.)描述的IMWG 2016标准对应答的确定,受试者必须记录有疾病进展的证据。确认可来自中央或地方测试。另外,在过去6个月内记录有疾病进展的证据并且之后对其最近的治疗项具有难治性 or 无应答的受试者是合格的。于要被招募到包括泊马度胺的治疗组合的受试者,先前的IMiD疗法应当包括来那度胺。单一治疗项可由一种或多种药剂组成,并且可包括诱导、造血干细胞移植和维持疗法。具体地,一个治疗项由以下组成:单一药剂的 $\geq 1$ 个完整周期、由几种药物的组合组成的方案或不同方案的计划继续治疗(例如,在3至6个周期用硼替佐米-地塞米松进行初始治疗,随后进行干细胞移植、巩固治疗和来那度胺维持治疗被认为是1个治疗项)。

[0523] 放射疗法、双膦酸盐或单一短疗程的类固醇(即,小于或等于地塞米松40mg/天的当量,持续4天)将不被认为是先前治疗项。

[0524] 4. 筛查时可测量的疾病由以下任一项定义:

[0525] • 血清单克隆蛋白(M蛋白)水平 $\geq 1.0\text{g/dL}$ (在非IgG骨髓瘤中,M蛋白水平 $\geq 0.5\text{g/dL}$ );或者

[0526] • 尿液M蛋白水平 $\geq 200\text{mg}/24\text{小时}$ ;或者

[0527] • 轻链多发性骨髓瘤:血清Ig游离轻链(FLC) $\geq 10\text{mg/dL}$ ,并且血清Ig $\kappa\lambda$ FLC比率异常。

[0528] 5. 在筛查时和在第1周期第1天给药前,东部肿瘤协作组(ECOG)的表现状态等级为0或1。

[0529] 6. 在第1周期第1天施用达雷木单抗之前,临床实验室值满足以下标准:

[0530] 表11.临床实验室值的标准。

血液学	
血红蛋白	$\geq 8.0\text{g/dL}(\geq 5\text{mmol/L})$ (在前7天没有RBC输注;允许重组人红细胞生成素使用)
血小板	$\geq 50 \times 10^9/\text{L}$ (在前7天没有输注支持)
绝对嗜中性粒细胞计数(ANC)	$\geq 1.0 \times 10^9/\text{L}$ (允许之前的生长因子支持,但是对于G-CSF或GM-CSF必须在7天内没有支持,或者对于聚乙二醇化G-CSF必须在14天内没有支持)
化学	
天冬氨酸转氨酶(AST)和丙氨酸转氨酶(ALT)	$\leq 2.5 \times \text{ULN}$
肌酐清除率	$\geq 30\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ , 基于肾脏病饮食改良公式计算
总胆红素	$\leq 1.5 \times \text{ULN}$ ;除了具有先天性胆红素血症(诸如Gilbert综合征)的受试者之外(在这种情况下,需要直接胆红素 $\leq 1.5 \times \text{ULN}$ )
白蛋白校正的血清钙	$\leq 14\text{mg/dL}(\leq 3.5\text{mmol/L})$ 或游离离子钙 $< 6.5\text{mg/dL}(< 1.6\text{mmol/L})$

[0531] 1. 缩写:G-CSF=粒细胞集落刺激因子;GM-CSF=粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子;

[0533] ULN=正常值上限;RBC=红细胞

[0534] 7. 具有生育潜力的女性在筛查时必须具有阴性的高敏血清 $\beta$ -人绒毛膜促性腺激素( $\beta$ -hCG)妊娠测试( $< 5\text{IU/mL}$ ),并且在研究药物的第一次给药之前1天内具有阴性的尿液或血清妊娠测试,并且必须同意在研究期间进行进一步的血清或尿液妊娠测试。

- [0535] 8. 女性必须符合以下项中的任一项:
- [0536] a. 不具有生育潜力
- [0537] b. 具有生育潜力并且
- [0538] -真正禁欲;
- [0539] -或有一个接受了输精管切除术的唯一伴侣;
- [0540] -或使用至少1种高度有效的不依赖使用者的避孕方法(例如,宫内节育器(IUD)、宫内激素释放系统(IUS)、双侧输卵管结扎术/闭塞、或与排卵抑制相关联的植入式的仅有孕激素的激素避孕)。如果使用激素避孕(例如,口服雌激素/孕激素),则还必须使用具有或不具有杀精子剂
- [0541] (例如,杀精子泡沫/凝胶/膜/乳膏/栓剂)的男用或女用避孕套。
- [0542] -对于接受泊马度胺的受试者,具有生育潜力的女性在接受研究治疗时必须同时进行2种可靠的节育方法,直至研究治疗的最后一次给药后100天:一种突出有效避孕形式(输卵管结扎术、宫内节育器、激素[口服、注射、透皮贴剂、阴道环或植入物]或伴侣的输精管切除术),和1种附加有效避孕方法(男性胶乳或合成避孕套、隔膜或子宫帽)。
- [0543] -对于未接受泊马度胺的受试者,使用口服避孕药的具有生育潜力的女性必须使用附加避孕方法。
- [0544] 受试者必须同意在接受研究药物的同时继续上述操作,直至最后一次给药后100天。具有生育潜力的女性必须同意在最后一次研究药物施用后100天内进行妊娠测试(血清或尿液)。
- [0545] 注意:如果女性在研究开始后变得具有生育潜力,则该女性必须遵守如上所述的点(b.)。
- [0546] 使用口服避孕药的女性除上述要求外,还必须使用附加避孕方法。
- [0547] 9. 在研究期间和在研究药物的最后一次给药后100天内,男性在参与任何允许射精进入他人体内的活动时必须佩戴避孕套(具有或不具有杀精子泡沫/凝胶/膜/乳膏/栓剂)。他的女性伴侣如果有生育潜力,则还必须使用高度有效的避孕方法(例如,宫内节育器(IUD)、宫内激素释放系统(IUS)、与排卵抑制相关联的组合(含雌激素和孕激素)激素避孕等)。
- [0548] 如果男性受试者进行了输精管切除术,则他仍然必须佩戴避孕套(具有或不具有杀精子泡沫/凝胶/膜/乳膏/栓剂),但他的女性伴侣无需使用避孕措施。
- [0549] 10. 女性必须同意在研究期间和在研究药物的最后一次给药后至少100天内不为辅助生殖目的捐献卵子(卵子、卵母细胞)或冷冻卵子以供将来使用。
- [0550] 11. 男性必须同意在研究期间和在研究药物的最后一次给药后至少100天内不为生殖目的捐献精子。
- [0551] 12. 签署知情同意书(ICF),表明他或她了解研究的目的和所需的程序并且愿意并且能够参与本研究。在开始不属于受试者疾病护理标准的任何与研究相关的测试或程序之前,应获得同意。
- [0552] 13. 愿意并且能够遵守该方案中规定的禁止事项和限制条款。
- [0553] 排除标准
- [0554] 任何满足以下标准中的任一者的潜在受试者将被排除在参与本研究之外:

- [0555] 1. 在前90天用抗CD38疗法(例如,达雷木单抗)治疗,或由于与抗CD38疗法相关的不良事件而在任何时间中断了先前的抗CD38疗法。
- [0556] 2. 先前的抗肿瘤疗法如下,在第一剂研究药物之前:
- [0557] • 在21天或至少5个半衰期(以较短者为准)内的靶向疗法、表观遗传疗法或使用研究性药物或侵入式医疗装置的治疗。
- [0558] • 在21天内的单克隆抗体治疗(在前90天内不能使用抗CD38治疗)。
- [0559] • 在21天内的细胞毒性疗法。
- [0560] • 在14天内的PI疗法。
- [0561] • 在7天内的IMiD疗法。
- [0562] • 在21天内的放射疗法。然而,如果放射入口覆盖 $\leq 5\%$ 的骨髓储量,则无论放射疗法的结束日期如何,受试者都具有资格。
- [0563] • 90天内的基因修饰的过继细胞疗法(例如,嵌合抗原受体修饰的T细胞、NK细胞)。
- [0564] 3. 在研究药物的第一次给药前的14天时间段内的相当于 $\geq 140\text{mg}$ 的泼尼松的累积剂量的皮质类固醇。
- [0565] 4. 在研究药物的第一次给药前4周内的减毒活疫苗,除非得到发起人批准。
- [0566] 5. 既往抗癌治疗产生的毒性没有缓解到基线水平或等级 $\leq 1$ 级(除了脱发[任何等级]或外周神经病等级 $\leq 3$ 级)。
- [0567] 6. 干细胞移植:
- [0568] • 接受同种异体移植的受试者必须停止所有免疫抑制药物达 $\geq 42$ 天并且没有移植抗宿主病体征
- [0569] • 在研究药物的第一次给药前 $\leq 12$ 周的自体干细胞移植
- [0570] 7. 活动性中枢神经系统受累或表现出多发性骨髓瘤脑膜受累的临床体征。如果怀疑其中任一项,则需要进行脑磁共振成像(MRI)和腰椎细胞学检查。
- [0571] 8. 活动性浆细胞白血病、华氏巨球蛋白血症、POEMS综合征(多神经病、器官肿大、内分泌病、M蛋白和皮肤变化)或原发性淀粉样轻链淀粉样变性。
- [0572] 9. 已知对人类免疫缺陷病毒呈血清阳性。
- [0573] 10. 乙型肝炎血清阳性(定义为乙型肝炎表面抗原[HBsAg]的测试阳性)。必须使用实时聚合酶链式反应(PCR)测量HBV DNA水平来筛查对感染已缓解的受试者(即,在存在或不存在乙型肝炎表面抗体[抗-HBs]的情况下用针对总乙型肝炎核心抗原[抗-HBc]的抗体呈HBsAg阴性的受试者)。PCR阳性的那些受试者将被排除。例外情况:血清学发现提示HBV疫苗接种(抗-HBs阳性为唯一血清学标志物)和已知具有先前HBV疫苗接种史的受试者不需要通过PCR测试HBV DNA。
- [0574] 11. 活动性丙型肝炎感染,如阳性丙型肝炎病毒(HCV)-RNA测试所测量的。具有丙型肝炎病毒抗体阳性史的受试者必须进行HCV-RNA测试
- [0575] 12. 以下任一种:
- [0576] • 慢性阻塞性肺病(COPD),其中1秒钟的强力呼气量(FEV1) $<$ 预计正常值的50%。注意:FEV1测试是怀疑患有COPD的受试者所必需的,如果FEV1 $<$ 预计正常值的50%,则必须将受试者排除在外。

[0577] • 在过去2年内中度或重度持续性哮喘,或任何类别的不受控制的哮喘。注意:允许当前具有得到控制的间歇性哮喘或得到控制的轻度持续性哮喘的受试者参与本研究。

[0578] 13. 对任何研究干预或其赋形剂具有过敏、超敏反应或不耐受(参考研究者手册和包装说明书)。

[0579] 14. 任何严重的基础医学病症,诸如:

[0580] • 严重的活动性病毒、细菌或不受控制的全身真菌感染的证据

[0581] • 在研究治疗开始前6个月内需要全身免疫抑制治疗的活动性自身免疫疾病。例外情况:患有白癜风、I型糖尿病和基于临床症状和实验室测试确定目前为甲状腺机能正常的先前自身免疫甲状腺炎的参与者是符合条件的,而不管这些病症何时被诊断。

[0582] • 致残性精神病症(例如,酒精或药物滥用)、严重痴呆或精神状态改变。

[0583] • 会损害受试者在研究地点接受、吸收或耐受计划治疗、了解知情同意的能力的任何其他问题,或者研究者认为参与对受试者而言不是最有利的(例如,损害福祉)或可能防止、限制、或混淆方案指定评估的任何状况。

[0584] 15. 以下心脏病症:

[0585] • 纽约心脏协会III级或IV级充血性心力衰竭

[0586] • 招募前≤6个月的心肌梗死或不稳定心绞痛

[0587] • 临床上显著的室性心律失常或不明原因晕厥史(据信非血管迷走神经性的或因为脱水而导致的)

[0588] • 严重非缺血性心肌病史

[0589] • 筛查12导联心电图(ECG),显示按Fridericia公式校正的平均基线QT间期(QTc) >470毫秒

[0590] 16. 怀孕、哺乳或计划在本研究招募时或在研究药物的最后一次给药后100天内怀孕。

[0591] 17. 计划在本研究招募时或在研究药物最后一次给药后100天内成为孩子父亲。

[0592] 18. 在第一次给药2周内的大手术、尚未从手术中完全恢复,或在受试者预期接受研究治疗期间计划进行手术。

[0593] 注意:计划在局部麻醉下进行外科手术的受试者可参与。

[0594] 任何满足以下标准中的任一者的潜在受试者将被排除在参与含泊马度胺的治疗组合之外:

[0595] 19. 受试者先前经历了与泊马度胺相关的不良事件,需要中断治疗。

[0596] 研究干预

[0597] 治疗是在28天周期内施用的。如下以1800mg的剂量通过SC注射向所有受试者施用达雷木单抗:在第1-2周期中每周,在第3-6周期中每2周(Q2W),并且其后每4周。注意,使用重组人透明质酸酶PH20(rHuPH20)以减少所需的注射体积,从而促进达雷木单抗的SC施用。

[0598] 将达雷木单抗SC(Dara)与不同剂量水平的塔奎妥单抗(Tal)联合施用,包括:每周Dara 1800mg+Tal 60μg/kg SC,每周Dara 1800mg+Tal 400μg/kg SC,从第3周期第1天开始每两周Dara 1800mg+Tal 400μg/kg SC(在第1-2周期中每周Tal 400μg/kg SC),以及每两周Dara 1800mg+Tal 800μg/kg SC。每周Dara 1800mg+Tal 400μg/kg SC群组中的一些受试者在第3周期第1天之后切换至Tal 800μg/kg每两周SC给药。除了在第1周期第9天开始逐步

增加给药的60 $\mu$ g/kg塔奎妥单抗SC每周群组外,在第1周期第2天开始塔奎妥单抗的逐步增加给药。当在同一天施用达雷木单抗和塔奎妥单抗时,先施用达雷木单抗。在SC达雷木单抗后至少20小时施用逐步增加剂量1的塔奎妥单抗。在SC达雷木单抗后大约3小时施用随后的逐步增加剂量(如果适用)和第一治疗剂量的塔奎妥单抗。在SC达雷木单抗后大约1小时施用随后的治疗剂量的塔奎妥单抗(当两种研究药物在同一天施用时)。

[0599] 对于涉及达雷木单抗SC、塔奎妥单抗SC和泊马度胺的组的治疗,每天一次口服自施用2mg、4mg或其组合的泊马度胺。泊马度胺群组包括从C2D1开始的2mg、从治疗发作时开始的4mg,以及从C2D1开始的2mg升高至从C4D1开始的4mg。泊马度胺可在治疗组合中的研究药物之前或之后服用。为了最小化并行施用双特异性抗体和泊马度胺时细胞因子释放综合征(CRS)的风险增加的可能性,受试者的初始群组将接受泊马度胺的延迟给药方案。如果SET认为合适,则基于对该方案的安全性数据的审查,可对未来群组的泊马度胺实施降低的起始剂量或较晚的起始日期(例如,第2周期第1天起始)。地塞米松将与前3个完整的含IMiD的周期并行施用。在第1周期的第一周期间,在达雷木单抗SC之前,在第1周期第1天给予20mg地塞米松,并且给予2个附加16mg剂量的地塞米松,在双特异性抗体的逐步增加剂量1和逐步增加剂量2之前各一次。对于第1周期的剩余部分和随后需要的周期,地塞米松将以每周40mg(口服或IV)给予(年龄>75岁或体重指数[BMI]<18.5的受试者除外,他们应仅在达雷木单抗SC施用之前接受20mg的地塞米松)。在达雷木单抗SC之前大约1小时至3小时给予地塞米松(或在不施用达雷木单抗SC的日子给予双特异性抗体)。在上述所需的地塞米松周期后,基于研究者的临床判断,继续使用地塞米松并制定施用方案以增强IMiD驱动的抗骨髓瘤效果。如果由于毒性或不耐受而永久中断泊马度胺,则基于研究者的临床判断也可中断高剂量地塞米松。

[0600] 为了最小化并行施用双特异性抗体和泊马度胺时细胞因子释放综合征(CRS)的风险增加的可能性,受试者的初始群组接受泊马度胺的延迟给药方案(C2D1(第2周期,第1天)或C1D15(第1周期,第15天))。在第一次施用塔奎妥单抗之后或在以该治疗剂量治疗随后的受试者之前,观察第1部分中每个群组中的第一名受试者至少36小时。

[0601] 治疗还包括与SC达雷木单抗和泊马度胺相关联的所需的和任选的治疗前和治疗后药物。针对达雷木单抗的所需的和任选的治疗前和治疗后药物可以是2周糖皮质激素减量。例如,它可以是:对于未接受泊马度胺的受试者,在达雷木单抗施用之前和之后用IV或口服糖皮质激素(例如,甲泼尼龙20mg至100mg,地塞米松4mg至12mg)进行的所需要的治疗;对于所有受试者,在达雷木单抗施用之前所需要的IV或口服抗组胺剂(例如,苯海拉明25mg至50mg或等效物)或退热剂(对乙酰氨基酚650mg至1000mg);以及对于所有受试者,在达雷木单抗施用之前任选的IV或口服糖皮质激素(甲泼尼龙60mg(或地塞米松12mg),或口服白三烯抑制剂(例如,孟鲁司特10mg))。也可能需要IV或口服糖皮质激素(例如,地塞米松,8mg至16mg)、抗组胺剂(例如,苯海拉明25mg至50mg或等效物)或退热剂(对乙酰氨基酚650mg至1000mg)作为针对塔奎妥单抗的预处理,例如,在所有逐步增加剂量和第一治疗剂量之前,或针对在接下来2次随后的塔奎妥单抗给药中经历等级 $\geq$ 2CRS/IRR的受试者。

[0602] 对于在任何治疗组合中具有较高的呼吸系统并发症风险的受试者(例如,患有轻度哮喘的受试者或患有COPD的受试者,其在筛查时的FEV1<80%或在研究期间发展出FEV1<80%而无任何病史),应考虑以下后注射药物:抗组胺剂、短效 $\beta$ 2肾上腺素能受体激动剂诸

如沙丁胺醇、用于肺病的控制药物(例如,用于患有哮喘的受试者的吸入性皮质类固醇±长效 $\beta_2$ 肾上腺素能受体激动剂;长效支气管扩张剂,诸如用于患有COPD的受试者的噻托溴铵或沙美特罗±吸入性皮质类固醇)。

[0603] 研究评估

[0604] 将执行安全性、药代动力学、免疫原性、生物标志物、功效和其他测量。

[0605] 通过例如身体检查(包括神经学评估)、东部肿瘤协作组(ECOG)表现状态、临床实验室测试、生命体征、不良事件监测和同用药物使用来评估安全性。所有不良事件和特殊报告情况,无论是严重还是不严重,都将从获得签名和注明日期的ICF的时间开始到研究药物最后一次给药后直至100天,或者如果更早的话直至随后全身抗癌疗法开始进行报告,并且可包括用于安全性随访的联系。通过NCI-CTCAE v5.0评估不良事件(AE),但细胞因子释放综合征(CRS)和免疫效应细胞相关神经毒性综合征(ICANS)除外,它们根据美国移植与细胞治疗学会(ASTCT)指南分级。必须跟进CRS事件(任何等级),直至恢复或直至没有进一步改善。

[0606] 收集血液和血清或血浆样本用于评估药代动力学和免疫原性(例如,达雷木单抗、rHuPH20或塔奎妥单抗的抗体)。用于剂量扩展的剂量方案(剂量水平和频率)的选择基于在剂量递增期间获得的药代动力学和药效学信息来确定。在预定时间和在研究期间观察到疑似IRR或CRS事件的任何时候收集用于药代动力学和免疫原性分析的样本(在CRS事件的情况下,在开始、24小时和72小时收集样本)。

[0607] 将每个血清样本均匀地分成3等份(1份用于达雷木单抗的药代动力学和免疫原性,1份用于塔奎妥单抗的药代动力学和免疫原性,以及1份备用)。将抗rHuPH20抗体的每个血浆样本分成5等份(3份用于抗rHuPH20抗体,2份用于针对rHuPH20的中和抗体)。为分析药代动力学和免疫原性而收集的样本可用于评价疾病的标志物(诸如sBCMA)或评价安全性或功效方面,其解决了在进一步表征免疫原性的研究期间或之后出现的担忧。对于药代动力学分析,使用经验证的、特异性的和灵敏的测定方法分析血清样本以确定达雷木单抗和塔奎妥单抗的浓度。药代动力学参数包括但不限于曲线下面积(AUC)<sub>(0-t)</sub>、AUC<sub>tau</sub>、C<sub>max</sub>和T<sub>max</sub>,如果有足够的数据可用于估计的话将计算它们。对于免疫原性分析,使用经验证的测定方法对达雷木单抗、rHuPH20和塔奎妥单抗的抗体进行检测和表征。对结合抗体的阳性样本进行达雷木单抗或塔奎妥单抗的中和抗体的测试。对于rHuPH20免疫原性评估,筛查血浆样本中与rHuPH20结合的抗体,并根据需要在确证和滴度测定中进行评估。

[0608] 在第1部分和第2部分两者中都进行了生物标志物评估。生物标志物评估集中于若干主要目标:(1)免疫应答指示T细胞重定向对研究药物应答的潜在贡献;(2)每种治疗组合在已达到CR的患有多发性骨髓瘤的受试者中诱导MRD阴性的能力;(3)细胞因子(诸如IL-6、IL-2和IL-10)或指示免疫应答的其他血清蛋白的血清蛋白质组图谱;(4)骨髓瘤细胞上应答/抗性的生物标志物(诸如GPRC5D和PD-L1);(5)每种治疗组合在具有细胞遗传学修饰(del17p、t(4;14)、t(14;16)或其他高风险分子亚型)的受试者中的临床益处(ORR、应答持续时间[DOR]和缓解时间);和(6)免疫细胞亚群诸如CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞以及可直接影响作用机制的调节性T细胞的免疫表型。可收集附加生物标志物样本以帮助理解无法解释的不良事件。在研究期间观察到或报告疑似IRR或CRS事件的任何时候,也可收集细胞因子的附加样本。

[0609] 疾病评价将由中心实验室执行(可收集附加样本用于由当地实验室分析),直至疾病进展。本研究使用基于IMWG的应答标准(2016年),如Kumar等人(Lancet Oncol.2016;17(8):e328-346.)所述。对于疑似达雷木单抗干扰血清免疫固定电泳(IFE)的受试者,使用抗独特型单克隆抗体的第二反射测定以用于确认达雷木单抗在IFE上的迁移。满足CR的所有其他IMWG标准并且其阳性IFE被确认为达雷木单抗干扰的受试者被认为是完全应答者。对于患有轻链多发性骨髓瘤的受试者,每4周执行血清和尿液IFE以及血清FLC测定。可利用附加血清样本来监测达雷木单抗对IFE的潜在干扰和根据基于IMWG的应答标准所决定的应答。定量免疫球蛋白(QIg,例如IgG、IgA、IgM、IgE和IgD)、通过电泳(SPEP)的M蛋白、血清和尿液中的FLC和IFE测量以及血清 $\beta$ -微球蛋白由中心实验室进行分析。仅基于实验室测试之一的疾病进展必须通过1至3周后执行的至少1次重复研究来确认。疾病评价将在从CR复发后继续,直到确认疾病进展。血清和尿液IFE和血清FLC测定将在筛查时和其后当怀疑CR或sCR时(当血清或24小时尿液M蛋白电泳[通过SPEP或UPEP]为0或不可定量时)执行。高钙血症的出现(校正的血清钙 $>11\text{mg/dL}$ )可指示疾病进展或复发,如果它不是归因于任何其他原因的话。因此,还在血液样本中分析校正的血清钙或游离的离子钙,直至证实疾病进展的发展。

[0610] 将执行骨髓穿刺或活组织检查用于临床评估和生物标志物评价。临床分期(形态学、细胞遗传学和免疫组织化学或免疫荧光或流式细胞术)可由当地实验室进行。将一部分骨髓穿刺液用于免疫表型分析并监测GPC5D、CD38和检查点配体在CD138阳性多发性骨髓瘤细胞中的表达以及检查点在T细胞上的表达。在研究药物的下一次预定给药之前需要骨髓穿刺液样本来确认CR和sCR。在本领域中MRD阴性正在作为无进展生存期(PFS)和OS的潜在替代物进行评价。基线骨髓穿刺液用于确定骨髓瘤克隆,并且治疗后样本将用于评价经历CR/sCR的那些受试者中的MRD阴性。骨髓穿刺液DNA可用于使用下一代测序监测MRD,而血清MRD阴性将经由质谱法评估。

[0611] 在筛查期执行完整的骨骼调查(包括颅骨、整个脊柱、骨盆、胸部、肱骨、股骨和研究者怀疑因疾病受累的任何其他骨),并在不使用IV造影的情况下通过X线照相术或低剂量计算机断层(CT)扫描(或正电子发射断层显像[PET]/CT)进行评价。当评估治疗期间的进展时,应当使用在基线处使用的相同方法。还可包括MRI以用于评价骨病。

#### [0612] 统计分析

[0613] 在本研究中不进行正式的统计假设检验。第1部分(剂量递增)由基于统计模型贝叶斯逻辑回归模型(BLRM)使用控制过量用药的剂量递增(EWOC)原则的改进的连续重新评估方法(mCRM)支持。可鉴定每种治疗组合的一个或多个RP2D。在第2部分(剂量扩展)中,受试者以每个RP2D进行治疗,以进一步评估所选治疗组合的安全性和抗肿瘤活性。

#### [0614] 终点定义

[0615] • ORR被定义为根据IMWG标准具有PR或更好的受试者的比例。研究者将评估对治疗的响应。

[0616] • 临床受益率(ORR+MR)被定义为由研究者评价的根据IMWG标准具有MR或更好的受试者的比例。

[0617] • MRD阴性率被定义为达到MRD阴性状态的受试者的比例。

[0618] • DOR被定义为从初始应答记录(PR或更好)的日期到首次记录的疾病进展证据

(如IMWG标准中所定义)的日期或由于疾病进展而死亡的日期(以先发生者为准)的时间。CR的复发不被认为是疾病进展。对于没有进展的受试者,数据将在任何随后抗骨髓瘤治疗开始之前的最后一次疾病评价时进行审查。

[0619] • 缓解时间被定义为从研究药物的第一次给药的日期到受试者已满足PR或更好的所有标准的第一功效评价之间的时间。

[0620] • PFS被定义为从研究药物的第一次给药的日期到首次记录的疾病进展(如IMWG标准中所定义)的日期或由于任何原因而死亡的日期(以先发生者为准)的时间。对于没有进展而存活的受试者,数据将在任何随后抗骨髓瘤治疗开始之前的最后一次疾病评价时进行审查。

[0621] 初步结果(分析截止日期为2022年4月6日)

[0622] 本研究正在进行,并且截至分析的截止日期,评价了129名用塔奎妥单抗和达雷木单抗+/-泊马度胺治疗的患者。

[0623] 塔奎妥单抗SC+达雷木单抗SC群组

[0624] 以28天周期施用用达雷木单抗和塔奎妥单抗进行的SC治疗(塔奎妥单抗的剂量逐步增加)。将数据合并到1800mg达雷木单抗加塔奎妥单抗中(每周400 $\mu$ g/kg+每两周400 $\mu$ g/kg或800 $\mu$ g/kg+/-泊马度胺)。

[0625] 截至2022年4月6日,初步数据包括用每周400 $\mu$ g/kg的SC塔奎妥单抗治疗剂量与1800mg SC达雷木单抗的组合治疗的14名参与者的结果。从C2D1(第2周期第1天)开始,用隔周一次400 $\mu$ g/kg的SC塔奎妥单抗治疗剂量与1800mg SC达雷木单抗的组合治疗五名参与者。44名参与者的另外群组从C1D15(第1周期第15天)开始,接受隔周一次800 $\mu$ g/kg的SC塔奎妥单抗治疗剂量与1800mg SC达雷木单抗的组合。对于包括泊马度胺的群组,参与者接受每周400 $\mu$ g/kg(n=26)或隔周一次800 $\mu$ g/kg(n=32)的SC塔奎妥单抗与1800mg SC达雷木单抗和从C2D1(第2周期第1天;n=18)开始的2mg泊马度胺或从C1D15(第1周期第15天;n=8)开始的4mg泊马度胺的组合。另外,8名参与者接受隔周一次800 $\mu$ g/kg的SC塔奎妥单抗与1800mg SC达雷木单抗和从C2D1(第2周期第1天)开始的2mg泊马度胺的组合,其中泊马度胺的计划剂量增加至4mg C4D1(第4周期第1天)。所有参与者接受塔奎妥单抗与1800mg达雷木单抗SC的组合。在逐步增加给药期间和第一次治疗剂量的塔奎妥单抗SC以及前2次剂量的达雷木单抗SC,给予地塞米松作为治疗前药物,之后停止给予地塞米松。塔奎妥单抗和达雷木单抗给药群组的总结示于表12中。

[0626] 表12. 塔奎妥单抗和达雷木单抗给药群组(n=129)。

	塔奎妥单抗 <sup>a</sup>	达雷木单抗	患者数量
[0627]	400 $\mu$ g/kg SC QW	1800mg SC	14
	400 $\mu$ g/kg SC Q2W	第 1-2 周期: QW	5
	800 $\mu$ g/kg SC Q2W	第 3-6 周期: Q2W	44
	400 $\mu$ g/kg SC QW+2mg Pom C2D1 或 4mg Pom, 按延迟方案	第 7 周期+: 每月	26
	800 $\mu$ g/kg SC Q2W+2mg pom C2D1		32
	800 $\mu$ g/kg SC Q2W+2mg pom C2D1、4mg C4D1		8

[0628] SC=皮下,QW=每周一次,Q2W=每2周一次,pom=泊马度胺;C2D1=第2周期第1天;C4D1=第4周期第1天

[0629] a. 在全剂量之前1周内给予1至3个逐步增加剂量。注意,术前用药(例如,糖皮质激素、抗组胺剂和退热剂)限于逐步增加剂量和第一全剂量(第一全剂量后不需要类固醇)。

[0630] 所评价的129名受试者的中值年龄范围是63岁(范围为33岁-81岁),并且58名受试者是女性(45.0%)。先前疗法的中值数量为5(范围2-18),79.1%的受试者对最后一个治疗项具有难治性,65.1%为三级难治性,67.4%为五级暴露,以及33.3%为五级难治性。受试者的人口统计学和基线特征的总结示出于表13中。

[0631] 表13. 患者人口统计学和基线特征。

特征	Dara+Tal <sup>a</sup> (n=63)	Dara+Tal+Pom <sup>b</sup> (n=66)	Dara+Tal (n=129)
年龄, 中位数(范围), 岁	64(44-81)	63(33-81)	63(33-81)
女性, n%	33(52.4)	25(37.9)	58(45.0)
种族, n(%)			
白人	49(77.8)	49(74.2)	98(76.0)
黑人/非裔美籍	9(14.3)	7(10.6)	16(12.4)
未报告	5(7.9)	9(13.6)	14(12.9)
自诊断以来的时间, 年, 中值(范围)	6.53(1.6-18.0)	6.78(0.3-18.3)	6.6(0.3-18.3)
基线 ISS 阶段 <sup>c</sup> , n(%)			
I	23(46.0)	34(56.7)	57(51.8)
II	19(38.0)	14(23.3)	33(30.0)
III	8(16.0)	12(20.0)	20(18.2)
高细胞遗传学风险 <sup>d</sup> , n(%)	8(19.5)	16(27.1)	24(24.0)
[0632] 髓外浆细胞瘤 $\geq 1^e$ , n(%)	15(23.8)	12(18.2)	27(20.9)
先前治疗项, n, 中值(范围)	5(2-18)	6(3-17)	5(2-18)
移植前	49(77.8)	52(78.8)	101(78.3)
暴露状态, n(%)			
抗 CD38 <sup>f</sup>	53(84.1)	58(87.9)	111(86.0)
IMiD <sup>g</sup>	62(98.4)	65(98.5)	127(98.4)
先前 BCMA 疗法 <sup>h</sup>	31(49.2)	40(60.6)	71(55.0)
三药 <sup>i</sup>	52(82.5)	58(87.9)	110(85.3)
五种药物 <sup>j</sup>	41(65.1)	46(69.7)	87(67.4)
难治性状态, n(%)			
抗 CD38 <sup>f</sup>	48(76.2)	48(72.7)	96(74.4)
IMiD <sup>g</sup>	58(92.1)	58(87.9)	116(89.9)
三药 <sup>i</sup>	40(63.5)	44(66.7)	84(65.1)
五种药物 <sup>i</sup>	20(31.7)	23(34.8)	43(33.3)
到最后一次治疗	46(73.0)	56(84.8)	102(79.1)

[0633] <sup>a</sup>Dara 1800mg加Tal (400 $\mu$ g/kg SC QW或400 $\mu$ g/kg SC Q2W或800 $\mu$ g/kg SC Q2W);

<sup>b</sup>Dara1800mg加Tal (400 $\mu$ g/kg SC或800 $\mu$ g/kg SC) 加泊马度胺

[0634] <sup>c</sup>根据对于Dara+Tal的n=50、对于Dara+Tal+Pom的n=60、对于全体的n=110计算的百分比;<sup>d</sup>del (17p)、t(4:14)和/或t(14;16);根据对于Dara+Tal的n=41、对于Dara+Tal+Pom的n=50、对于全体的n=100计算的百分比;<sup>e</sup>包括与骨无关的软组织浆细胞瘤;<sup>f</sup>Dara或Isa;<sup>g</sup>沙利度胺、len和/或pom;<sup>h</sup>BCMACAR-T疗法或BCMA非CAR-T疗法;<sup>i</sup> $\geq 1$ PI、 $\geq 1$ IMiD和1抗CD38 mAb;<sup>j</sup> $\geq 2$ PI、 $\geq 2$ IMiD和1抗CD38 mAb。

[0635] BCMA, B细胞成熟抗原; CAR-T, 嵌合抗原T细胞; Dara, 达雷木单抗; IMiD, 免疫调节药物; Isa, 艾萨妥昔单抗; ISS, 国际分期系统; Len, 来那度胺; mAb, 单克隆抗体; PI, 蛋白酶

体抑制剂;Pom,泊马度胺;Q2W,隔周一次;QW,每周一次;SC,皮下;Ta1,塔奎妥单抗。

[0636] 在所有达雷木单抗加塔奎妥单抗群组(1800mg达雷木单抗加塔奎妥单抗(400µg/kg SC QW或400µg/kg SC Q2W或800µg/kg SC Q2W))中,联合疗法是可耐受的并且表现出与两种单一疗法相当的安全特性。未鉴定出新的毒性,并且大多数不良事件(AE)为1级或2级。有62名患者(98.4%)经历了AE,并且49名患者(77.8%)经历了3级或4级AE。34名患者(54%)报告了感染(等级≥3:19%)。51名患者(81%)发生皮肤相关的AE(例如,“皮肤和皮下障碍”的SOC,其中指甲障碍、指甲隆起、脱甲症、脱甲症和指甲营养不良被排除),并且大多数为1级或2级。注意,3名患者(10.3%)患有3级斑丘疹,并且31%的患者经历了指甲障碍(包括指甲障碍、指甲隆起、脱甲症、脱甲症和指甲营养不良)。三名患者(4.8%)发生ICANS事件(等级≥3:1(1.6%))并且所有事件均已缓解。一名患者体内的3级ICANS事件导致塔奎妥单抗相关的治疗中断。用塔奎妥单抗和达雷木单抗治疗的患者的不良事件(AE)的总结示于表14中。

[0637] 表14. 不良事件(AE)。

	最常见的 AE(≥20%), n(%)	Tal+Dara <sup>a</sup> (N=63)	
		任何级别	3/4 级
	血液学		
[0638]	贫血	29(46)	14(22.2)
	血小板减少症	23(36.5)	13(20.6)
	中性粒细胞减少症	22(34.9)	16(25.4)
	淋巴细胞减少症	17(27.0)	17(27.0)
	非血液学		
	CRS	45(71.4)	0(0)
	味觉障碍	37(58.7)	NA
	口干	28(44.4)	0(0)(G4 NA)
	皮肤脱落	24(38.1)	0(0)
	疲劳	20(31.7)	1(1.6)
	发热	16(25.4)	1(1.6)
[0639]	头痛	15(23.8)	0(0)
	恶心	14(22.2)	0(0)
	体重下降	14(22.2)	0(0)
	背痛	14(22.2)	1(1.6)
	食欲降低	13(20.6)	0(0)
	关节痛	13(20.6)	0(0)
	头晕	13(20.6)	0(0)
	咳嗽	13(20.6)	0(0)
	口咽痛	13(20.6)	0(0)

[0640] <sup>a</sup>Dara 1800mg加Ta1(400µg/kg SC QW或400µg/kg SC Q2W或800µg/kg SC Q2W)

[0641] AE,不良事件;CRS,细胞因子释放综合征;Dara,达雷木单抗;ICANS,免疫效应细胞相关神经毒性综合征;N/A:不适用PD,疾病进展;Q2W,隔周一次;QW,每周一次;SC,皮下;SOC,系统器官类别;Ta1,塔奎妥单抗。

[0642] 在所有达雷木单抗加塔奎妥单抗群组(1800mg达雷木单抗加塔奎妥单抗(400µg/kg SC QW或400µg/kg SC Q2W或800µg/kg SC Q2W))中,没有3级或4级细胞因子释放综合征

(CRS) 事件。所有CRS事件均限于1级和2级,并且主要限于逐步增加剂量和全剂量的塔奎妥单抗。所有CRS事件均已缓解。表15总结了CRS事件。

[0643] 表15. 所有达雷木单抗加塔奎妥单抗群组的细胞因子释放综合征 (CRS) 事件。

参数	Ta1+Dara <sup>a</sup> (n=63)
具有CRS的患者, n (%)	45 (71.4)
发作时间, 天 <sup>b</sup> , 中值 (范围)	2 (1-4)
持续时, 天数, 中值 (范围)	2 (1-28)
支持性措施 <sup>c</sup> , n (%)	40 (63.5)
托珠单抗 <sup>d</sup>	20 (31.7)
类固醇	2 (3.2)
氧气	3 (4.8)

[0645] <sup>a</sup>Dara 1800mg加Ta1 (400μg/kg QW+400μg/kg和800μg/kg Q2W); <sup>b</sup>相对于最近的剂量; <sup>c</sup>患者可接受>1种支持性疗法; <sup>d</sup>允许托珠单抗用于所有CRS事件

[0646] Q2W, 隔周一次; QW, 每周一次。

[0647] 在达雷木单抗加每周400μg/kg塔奎妥单抗群组中, 六名参与者 (42.9%) 中断塔奎妥单抗治疗; 四名参与者 (28.6%) 由于疾病进展, 并且2名参与者 (14.3%) 拒绝进一步的研究治疗。在达雷木单抗加每两周400μg/kg塔奎妥单抗群组中, 5名参与者中的四名参与者由于死亡 (n=2 [40%])、TEAE (n=1 [20%]) (治疗紧急不良事件) 和医师决策 (n=1 [20%]) 而中断治疗。在达雷木单抗加每两周800μg/kg塔奎妥单抗群组中, 五名参与者 (11.4%) 由于疾病进展而中断塔奎妥单抗治疗, 各有一名参与者 (2.3%) 由于死亡、TEAE和医师决策而中断治疗。

[0648] 在达雷木单抗加每周400μg/kg (n=10 [71.4%])、每两周800μg/kg (n=34 [77.3%]) 和每两周400μg/kg (n=1 [20%]) SC塔奎妥单抗的各个群组中, 参与者经历了治疗紧急CRS的事件, 所有这些事件都是不严重的1级-2级事件并且已缓解。没有参与者经历CRS的3级或4级治疗紧急症状。对于接受SC塔奎妥单抗的所有参与者, 除了达雷木单抗加每周400μg/kg塔奎妥单抗群组中的一名参与者之外, 其余参与者均经历了≥1TEAE。

[0649] 在接受达雷木单抗加塔奎妥单抗的参与者中, 分别为每周400μg/kg群组、每两周400μg/kg群组和每两周800μg/kg群组的14名参与者 (100%)、5名参与者 (100%) 和43名参与者 (97.7%) 报告了TEAE。TEAE的最高比例是味觉障碍、淋巴细胞减少症、中性粒细胞减少症、血小板减少症、指甲障碍、皮疹 (3名参与者具有≥3级)、皮肤脱落和CRS。最常见的全级血液学AE是贫血 (46%为任何级别, 22.2%为3级或4级)、血小板减少症 (36.5%为任何级别, 20.6%为3级或4级) 和中性粒细胞减少症 (34.9%为任何级别, 25.4%为3级或4级)。最常见的全级非血液学AE是CRS (71.4%为任何级别, 0%为3级或4级)、味觉障碍 (58.7%为任何级别, 3级或4级不适用) 和口干 (44.4%为任何级别, 0%为3级, 4级不适用)。34名参与者 (54%) 经历了感染相关的TEAE; 19%的参与者具有≥3级感染相关的TEAE。感染的TEAE是肺炎、Covid-19和上呼吸道感染。注射相关反应的TEAE已有报道, 均为1级-2级。用每两周800μg/kg塔奎妥单抗治疗的群组中的一名受试者表现出DLT (剂量限制性毒性)。

[0650] 截至2022年4月6日, 所有塔奎妥单抗给药水平和达雷木单抗的五十六名参与者进行了≥1次给药后疾病评价 (即, 可评价功效)。应答包括: 7名受试者 (12.5%) 具有严格完全

应答 (sCR), 9名受试者 (16.1%) 具有完全应答 (CR), 20名受试者 (35.7%) 具有非常好的部分应答 (VGPR), 并且9名受试者 (16.1%) 具有部分应答 (PR)。另外, 8名受试者 (14.3%) 具有疾病稳定, 并且3名受试者 (5.4%) 具有作为最佳应答的疾病进展。用达雷木单抗和塔奎妥单抗治疗的患者的总应答率为80.4% (45名受试者)。用400 $\mu$ g/kg和800 $\mu$ g/kg塔奎妥单抗治疗的患者的总应答率的总结示于表10中。

[0651] 对于接受1800mg SC达雷木单抗和每周400 $\mu$ g/kg SC塔奎妥单抗治疗剂量的受试者 (n=14名可评价的受试者), 应答包括: 2名受试者 (14.3%) 具有sCR, 2名受试者 (14.3%) 具有CR, 4名受试者 (28.6%) 具有VGPR, 2名受试者 (14.3%) 具有PR, 并且4名受试者 (28.6%) 具有疾病稳定。对于接受1800mg SC达雷木单抗和每两周400 $\mu$ g/kg SC塔奎妥单抗治疗剂量的受试者 (n=5名可评价的受试者), 应答包括: 1名受试者 (20%) 具有CR, 3名受试者 (60%) 具有VGPR, 并且1名受试者 (20%) 具有疾病进展。对于接受1800mg SC达雷木单抗和每两周800 $\mu$ g/kg SC塔奎妥单抗治疗剂量的受试者 (n=37名可评价的受试者), 应答包括: 5名受试者 (13.5%) 具有sCR, 6名受试者 (16.2%) 具有CR, 13名受试者 (35.1%) 具有VGPR, 7名受试者 (18.9%) 具有PR, 并且4名受试者 (28.6%) 具有疾病稳定。关于用达雷木单抗和塔奎妥单抗 (每周400 $\mu$ g/kg或每两周400 $\mu$ g/kg和800 $\mu$ g/kg) 治疗的患者的附加信息参见表11。

[0652] 因此, 用达雷木单抗 (1800mg) 和塔奎妥单抗 (每周400 $\mu$ g/kg或者每两周400 $\mu$ g/kg或800 $\mu$ g/kg) 治疗在患有多发性骨髓瘤的过度预治疗的患者 (包括具有先前抗CD38治疗的患者) 中表现出初步功效。中值随访时间为5.59个月 (范围: 0.2-19.6)。应答发生在早期 (1个月内) 并且随时间继续加深。接受 $\geq 1$ 种研究治疗且进行了 $\geq 1$ 次基线后应答评价的患者的应答率示于图2中。首次确认缓解的中值应答时间为1个月 (范围: 0.9-6.5)。应答持久并且随时间加深 (图8)。在塔奎妥单抗和达雷木单抗给药组群中没有发生由于疾病进展 (PD) 引起的死亡。当应答者的中值随访时间为6.5个月 (范围: 1.6-19.6) 时, 41名应答者中的37名应答者 (90.2%) 继续接受治疗。注意, 41名应答者中的31名应答者 (75.6%) 具有先前的抗CD38暴露。

[0653] 生物标志物数据表明, 塔奎妥单抗和达雷木单抗的作用机理特征的药效学变化与塔奎妥单抗单一疗法一致。这些数据包括T细胞重新分布, 如通过CD3+T细胞的绝对计数的变化所指示的, 以及CD3+T细胞上的几种T细胞激活标志物 (诸如PD-1、LAG-3、TIM-3、HLA-DR、CD38和CD25) 的表达增加。具体地, 在C1D1开始达雷木单抗给药后, CD38+/CD8+T细胞的比例下降, 这与达雷木单抗的先前数据一致, 但值得注意的是, 尽管同时开始达雷木单抗给药, 但在初始剂量的塔奎妥单抗后, 施用塔奎妥单抗导致CD38+CD8+T细胞的诱导。与塔奎妥单抗单一疗法一致, 在施用塔奎妥单抗和达雷木单抗后也观察到细胞因子的增加; 这些细胞因子包括IL-10、IL-6和IL-2R $\alpha$ 。另外, 塔奎妥单抗在达雷木单抗的存在下的药代动力学特性与在1期塔奎妥单抗单一疗法中观察到的特性一致。

[0654] 在塔奎妥单抗和达雷木单抗给药后早期, T细胞数量短暂降低, 随后在一周内T细胞数量恢复 (图5)。到第3周期第1天 (C3D1), T细胞数量还出现扩增。此外, 通过塔奎妥单抗与达雷木单抗的组合诱导了T细胞激活 (图6)。促炎细胞因子的诱导发生在达雷木单抗和塔奎妥单抗治疗后 (图7)。

[0655] 初步数据还包括以下结果: 用每周400 $\mu$ g/kg SC塔奎妥单抗与1800mg达雷木单抗

SC和4mg泊马度胺的组合 (Ta1400qwDaraPom4) 治疗8名参与者;用每周400 $\mu$ g/kg SC塔奎妥单抗与1800mg达雷木单抗SC和2mg泊马度胺的组合 (Ta1400qwDaraPom2) 治疗18名参与者;并且用每两周800 $\mu$ g/kg SC塔奎妥单抗与1800mg达雷木单抗SC和2mg泊马度胺的组合 (Ta1800q2wDaraPom2) 治疗60名参与者。在每两周400 $\mu$ g/kg和800 $\mu$ g/kg群组中,在第2周期第1天开始施用泊马度胺。在逐步增加给药期间和第一次治疗剂量的塔奎妥单抗SC以及整个第4周期,给予地塞米松作为治疗前药物。参与者人口统计资料详述表13中。用塔奎妥单抗、和达雷木单抗和泊马度胺治疗的患者的应答率的详细总结示于表16中。

[0656] 在3个单独群体中,提供了塔奎妥单抗和泊马度胺受试者与1800mg达雷木单抗的组的安全性数据:800 $\mu$ g/kg塔奎妥单抗和从第2周期第1天开始的2mg泊马度胺(如果满足特定标准,则在C4D1增加至4mg)(群组19, n=8);每周400 $\mu$ g/kg塔奎妥单抗和从第1周期第15天开始的4mg泊马度胺(群组8, n=8);以及合并的每周400 $\mu$ g/kg塔奎妥单抗或每周800 $\mu$ g/kg塔奎妥单抗和从第2周期第1天开始的2mg Pom(群组12、13和18, n=50)。

[0657] 在用800 $\mu$ g/kg塔奎妥单抗和从第2周期第1天开始的pom与1800mg达雷木单抗的组合治疗的八名参与者中,有五名(62.5%)参与者报告严重不良事件。五名参与者(62.5%)经历CRS,所有参与者都是1级。六名参与者(75%)具有 $\geq 1$ TEAE,最常见的事件是淋巴细胞减少症(50%)、头痛(37.5%)、皮肤脱落(25%)和味觉障碍(25%)。

[0658] 在用1800mg达雷木单抗与每周400 $\mu$ g/kg塔奎妥单抗和从第4周期第1天开始的4mg Pom的组合治疗的八名受试者中,报告了一例血小板减少症的DLT。四名参与者(50%)报告严重不良事件。五名参与者(62.5%)经历CRS,所有参与者都是1级-2级。没有参与者报告与塔奎妥单抗SC相关的神经毒性。八名参与者(100%)具有 $\geq 1$ TEAE,最常见的事件是中性粒细胞减少症(75%)、味觉障碍(75%)、发热(75%)、疲劳(62.5%)、贫血(50%)、腹泻(50%)、头痛(50%)、口干(37.5%)、食欲降低(37.5%)、瘙痒(37.5%)、指甲障碍(37.5%)、失眠(37.5%)和Covid-19(37.5%)。

[0659] 在用每周400 $\mu$ g/kg塔奎妥单抗或每周800 $\mu$ g/kg塔奎妥单抗和2mg Pom与1800mg达雷木单抗的组合治疗的合并群体的50名参与者中,报告了一例中性粒细胞减少症的DLT。22名参与者(44%)报告严重不良事件。34名参与者(68%)经历CRS,所有参与者都是1级-2级。48名参与者(96%)具有 $\geq 1$ TEAE。最常见的事件是味觉障碍(72%)、中性粒细胞减少症(64%)、口干(62%)、皮肤脱落(44%)、疲劳(42%)、淋巴细胞减少症(36%)、头痛(34%)、血小板减少症(30%)和贫血(30%)。

[0660]

表 16. 针对指示群组的基于研究者评估的总体最佳应答的总结。

TEFRESP02A1_ASH: 基于研究者评估的总体最佳应答的总结; 研究者可评价应答的受试者(研究 64407564MMY1002) 塔奎妥单抗	
400µg/kg(SC3 和 SC6)+800µg/kg(SC7 和 SC15)	
56	
分析集: 研究者可评价应答的受试者	
应答类别	
严格完全应答(sCR)	7(12.5%)
未确认	0
完全应答(CR)	9(16.1%)
未确认	3
非常良好的部分应答(VGPR)	20(35.7%)
未确认	5
部分应答(PR)	9(16.1%)
未确认	4
最小应答(MR)	0
未确认	-
疾病稳定(SD)	8(14.3%)
疾病进展(PD)	3(5.4%)
不可评价(NE)	0
总应答(sCR+CR+VGPR+PR)	45(80.4%)
临床益处(总应答+MR)	45(80.4%)
VGPR或更好(sCR+CR+VGPR)	36(64.3%)
CR或更好(sCR+CR)	16(28.6%)

研究者可评价应答的受试者: 受试者已接受至少一次研究治疗并由研究者进行了至少一次基线后应答评价。  
注意: 由研究者基于 IMWG 标准评估应答。确认的应答需要至少两次连续的相同研究者的应答评估。

[0661]

在该数据审查时，未确认的应答者不具有两次连续的研究者应答评估来确认应答。  
以每组中的受试者数量作为分母来计算百分比。

[TEFRESP02A1\_ASH.RTF] [JNJ-64407564\MMY1002\DBR\_TAL\_EOP2\RE\_TAL\_EOP2\PROD\TEFRESP02A1\_ASH.SAS] 20SEP2021, 15:36

[0662]

表 17. 基于研究者评估（研究者可评价应答的受试者）的总体最佳应答的总结。

TEFRESP02A1: 基于研究者评估的总体最佳应答的总结; 研究者可评价应答的受试者 (研究64407564MIMY1002)	塔奎妥单抗												
	SC每周						SC每两周						
	Dara 1800mg+Tal 400µg/kg		Pom 4mg del+Dara 1800mg+Tal 400µg/kg		2mg+Dara 1800mg+Tal 400µg/kg		Dara 1800mg+Tal 400µg/kg		Dara 1800mg+Tal 800µg/kg		Pom 2mg+Dara 1800mg+Tal 800µg/kg		总Tal
分析集: 研究者可评价应答的受试者	14	8	8	18	5	37	26	108	186				
应答类别	2(14.3%)	1(12.5%)	3(16.7%)	0	0	5(13.5%)	3(11.5%)	14(13.0%)	18(9.7%)				
严格完全应答(sCR)	2(14.3%)	2(25.0%)	0	0	1(20.0%)	6(16.2%)	3(11.5%)	14(13.0%)	28(15.1%)				
完全应答(CR)	4(28.6%)	4(50.0%)	8(44.4%)	3(60.0%)	3(60.0%)	13(35.1%)	11(42.3%)	43(39.8%)	78(41.9%)				
非常良好的部分应答 (VGPR)	2	1	2	0	0	2	2	13	11				
未确认	2(14.3%)	1(12.5%)	7(27.8%)	0	0	7(18.9%)	3(11.5%)	18(16.7%)	22(11.8%)				
部分应答(PR)	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
最小应答(MR)	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
未确认	4(28.6%)	0	2(11.1%)	0	0	4(10.8%)	5(19.2%)	15(13.9%)	29(15.6%)				
疾病稳定(SD)	0	0	0	1(20.0%)	1(20.0%)	2(5.4%)	1(25.0%)	4(3.7%)	11(5.9%)				
疾病进展(PD)	0	0	0	0	0	0	0	0	1(1.2%)				
不可评价(NE)	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
总应答	10(71.4%)	8(100%)	16(88.9%)	4(80.0%)	31(83.8%)	20(76.9%)	89(82.4%)	146(78.5%)					

[0663]

**TEFRESP02A1:** 基于研究者评估的总体最佳应答的总结; 研究者可评价应答的受试者 (研究 64407564MMY1002) 塔奎妥单抗

	SC每周		SC每两周		总Tal	总体合计
	Pom		Dara			
	Pom 4mg del+Dara 1800mg+Tal 400µg/kg	Dara 2mg+Dara 1800mg+Tal 400µg/kg C2D1	Dara 1800mg+Tal 400µg/kg C2D1	Dara 1800mg+Tal 800µg/kg CID15	Pom 2mg+Dara 1800mg+Tal 800µg/kg C2D1	
临床益处(总应答+MR)	10(71.4%)	8(100%)	4(80.0%)	31(83.8%)	20(76.9%)	89(82.4%)
VGPR或更好	8(57.1%)	7(87.5%)	3(60.0%)	24(64.9%)	17(65.4%)	71(65.7%)
CR或更好(sCR+CR)	4(28.6%)	3(37.5%)	1(20.0%)	11(29.7%)	6(23.1%)	28(25.9%)
						46(78.5%)

研究者可评价应答的受试者: 受试者已接受至少一次研究治疗并由研究者进行了至少一次基线后应答评价。  
 注意: 由研究者基于IMWG标准评估应答。确认的应答需要至少两次连续的相同研究者的应答评估。  
 在该数据审查时, 未确认的应答者不具有两次连续的研究者应答评估来确认应答。  
 以每组中的受试者数量作为分母来计算百分比。

[TEFRESP02A1.RTF] [JNJ-64407564MMY1002\DBR\_TAL\_EOP2\RE\_TAL\_EOP2\PROD\TEFRESP02A1.SAS] 20SEP2021, 15:36

[0664] 截至2022年4月6日,所有塔奎妥单抗、达雷木单抗和泊马度胺给药水平的五十四名参与者进行了≥1次给药后疾病评价(即可评价功效)。应答包括:6名受试者(13.6%)具

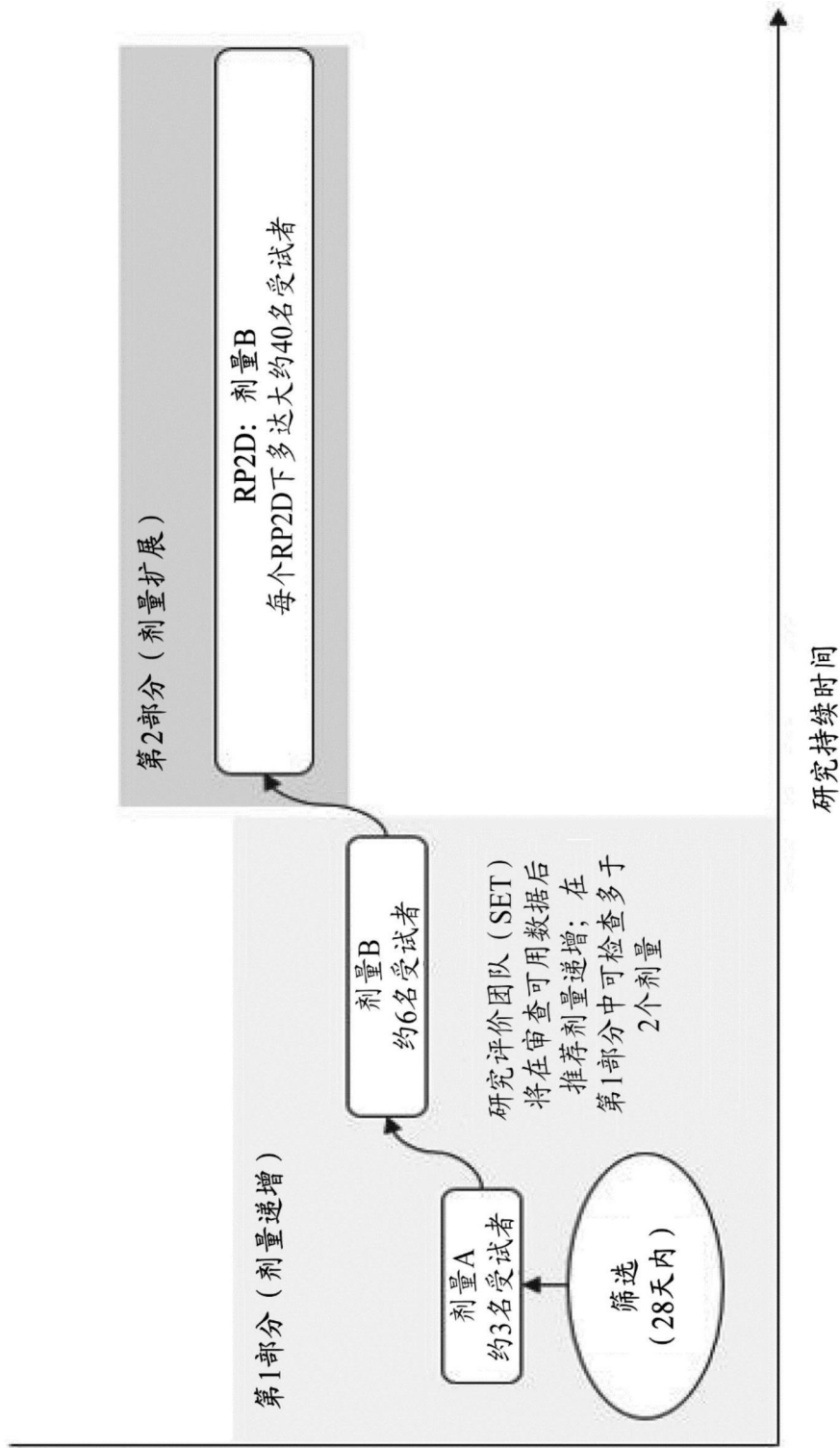
有严格完全应答 (sCR), 3名受试者 (6.8%) 具有CR, 19名受试者 (43.2%) 具有非常好的部分应答 (VGPR), 并且8名受试者 (18.2%) 具有部分应答 (PR)。另外, 7名受试者 (15.9%) 具有疾病稳定, 并且1名受试者 (2.3%) 具有作为最佳应答的疾病进展。还可参见图2。

[0665] 对于接受1800mg SC达雷木单抗、每周400 $\mu$ g/kg SC塔奎妥单抗和4mg泊马度胺治疗剂量的受试者 (n=8名可评价的受试者), 应答包括: 1名受试者 (12.5%) 具有sCR, 2名受试者 (25%) 具有CR, 4名受试者 (50%) 具有VGPR, 并且1名受试者 (12.5%) 具有部分应答。对于接受1800mg SC达雷木单抗、每周400 $\mu$ g/kg SC塔奎妥单抗和2mg泊马度胺治疗剂量的受试者 (n=18名可评价的受试者), 应答包括: 3名受试者 (16.7%) 具有sCR, 8名受试者 (44.4%) 具有VGPR, 5名受试者 (27.8%) 具有PR, 并且2名受试者 (11.1%) 具有疾病稳定。对于接受1800mg SC达雷木单抗、每两周800 $\mu$ g/kg SC塔奎妥单抗和2mg泊马度胺治疗剂量的受试者 (n=26名可评价的受试者), 应答包括: 3名受试者 (11.5%) 具有sCR, 3名受试者 (11.5%) 具有CR, 11名受试者 (42.3%) 具有VGPR, 3名受试者 (11.5%) 具有PR, 5名受试者 (19.2%) 具有疾病稳定, 并且1名受试者 (3.8%) 具有疾病进展。截至2022年4月6日, 对于用每周400 $\mu$ g/kg塔奎妥单抗和2mg泊马度胺然后从第4周期第1天开始4mg泊马度胺治疗的八名受试者的群组, 没有功效数据。

[0666] 总体而言, 这些数据是有前景的并且值得进一步研究。因此, 将进行3期研究, 该项研究检查了以下三个比较项在患有RRMM的患者体内的施用: 塔奎妥单抗、达雷木单抗SC和泊马度胺 (Tal-Dara-Pom); 塔奎妥单抗和达雷木单抗SC (Tal-Dara); 达雷木单抗SC、泊马度胺和地塞米松 (DPd)。

[0667] 本领域的技术人员将会知道可对本发明的优选实施方案作出许多改变和修改, 而且此类改变和修改可在不脱离本发明的实质的情况下进行。因此, 所附权利要求书旨在覆盖落入本发明的真实实质和范围内的所有此类等同变化。

[0668] 本文档所引用或描述的每项专利、专利申请和公布的公开内容均据此全文以引用方式并入本文。



缩写: RP2D=2期推荐剂量。

图1

应答率<sup>a</sup>

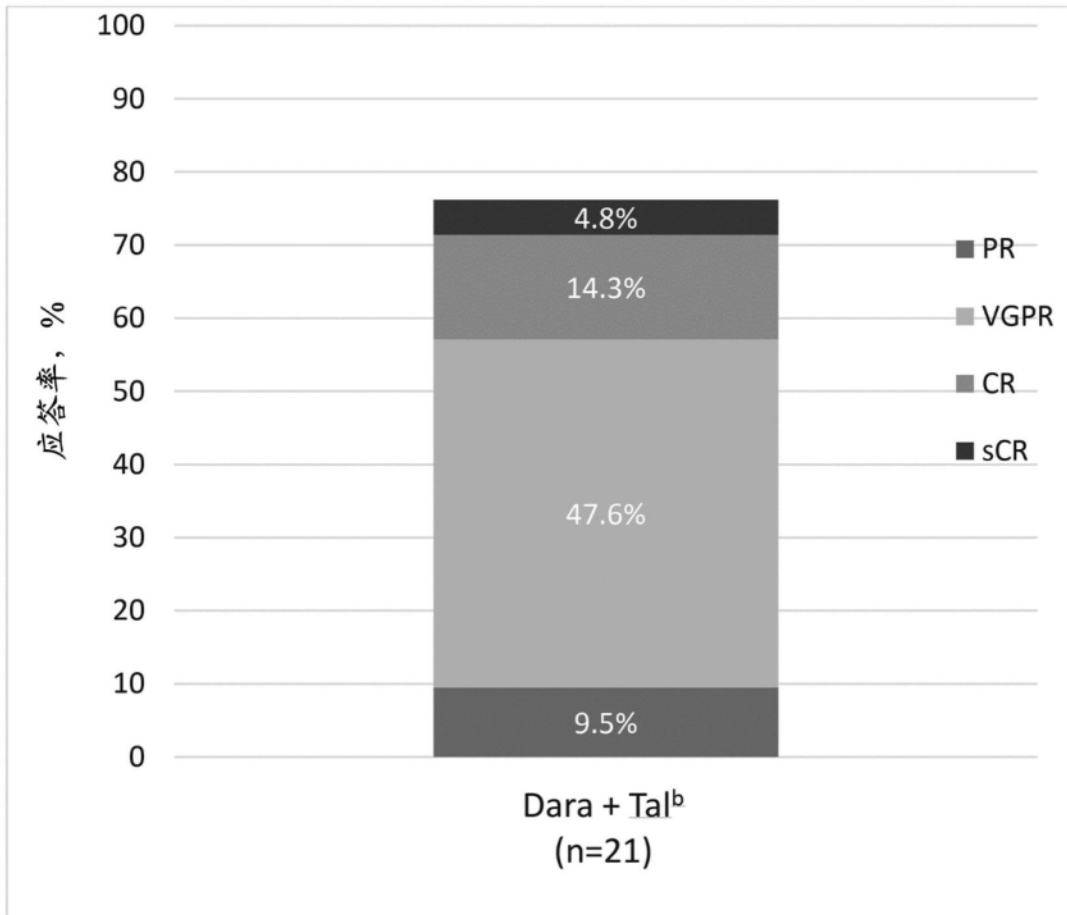


图2

最大CRS级别<sup>e</sup>

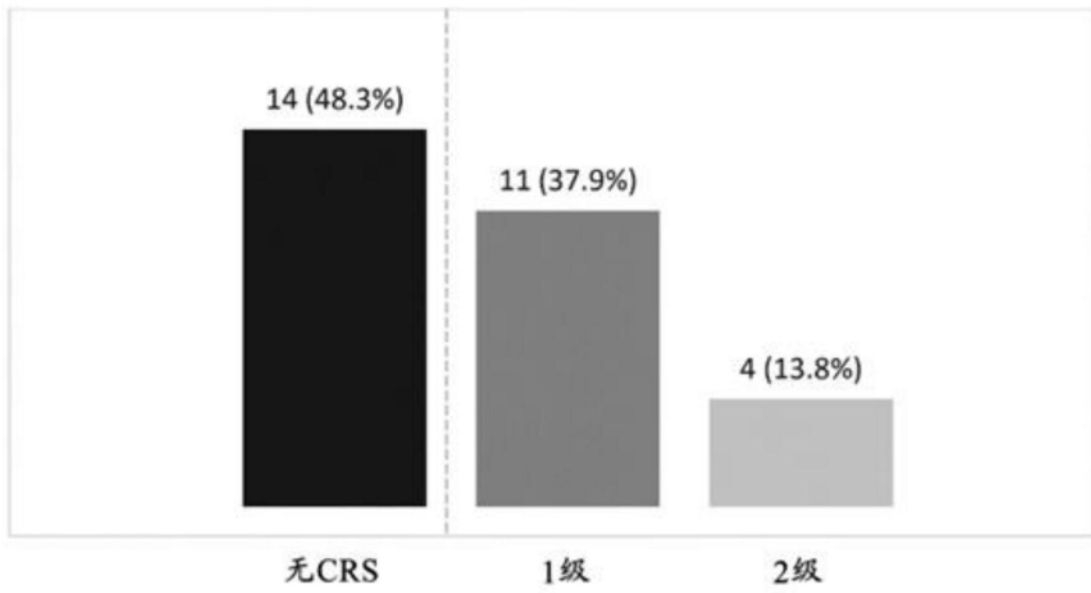


图3

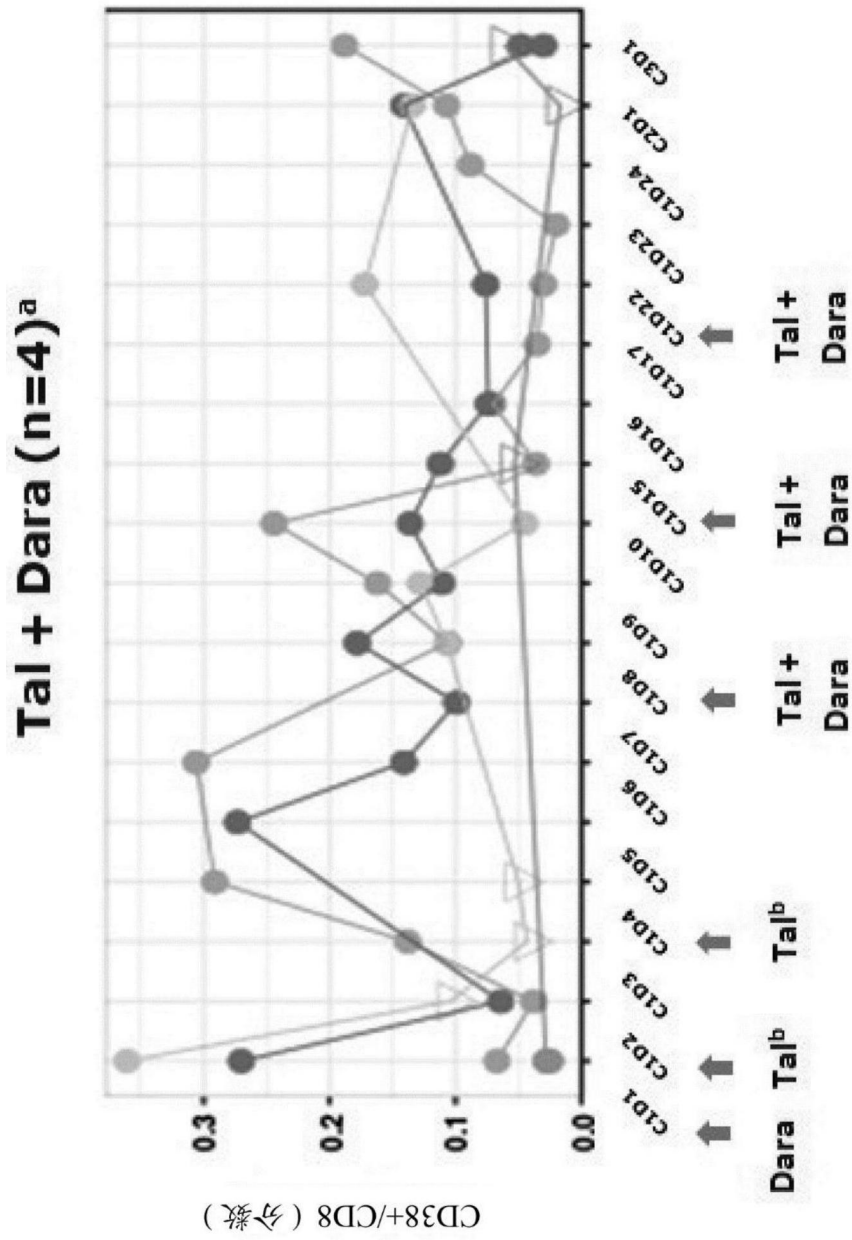


图4

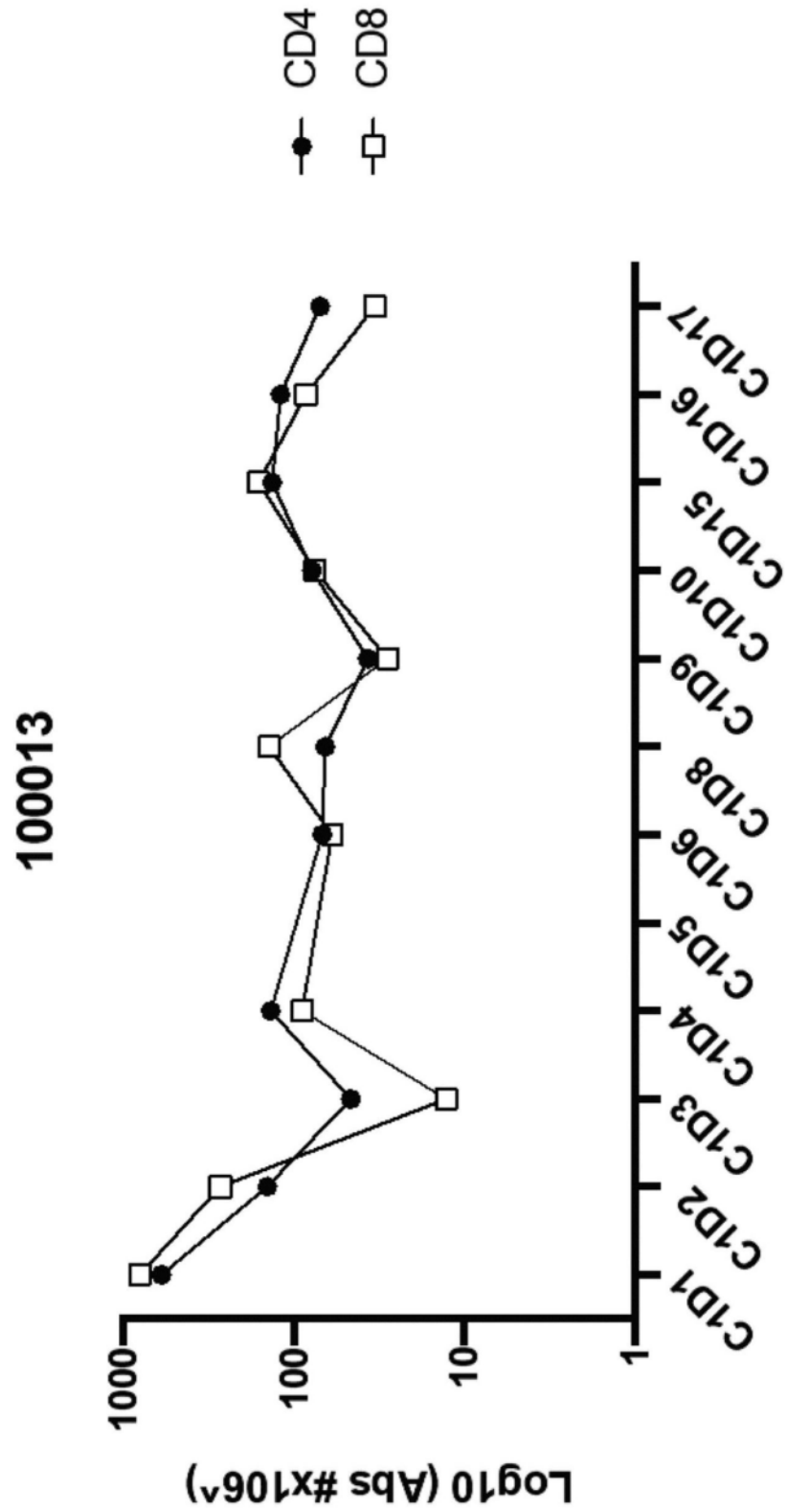


图5

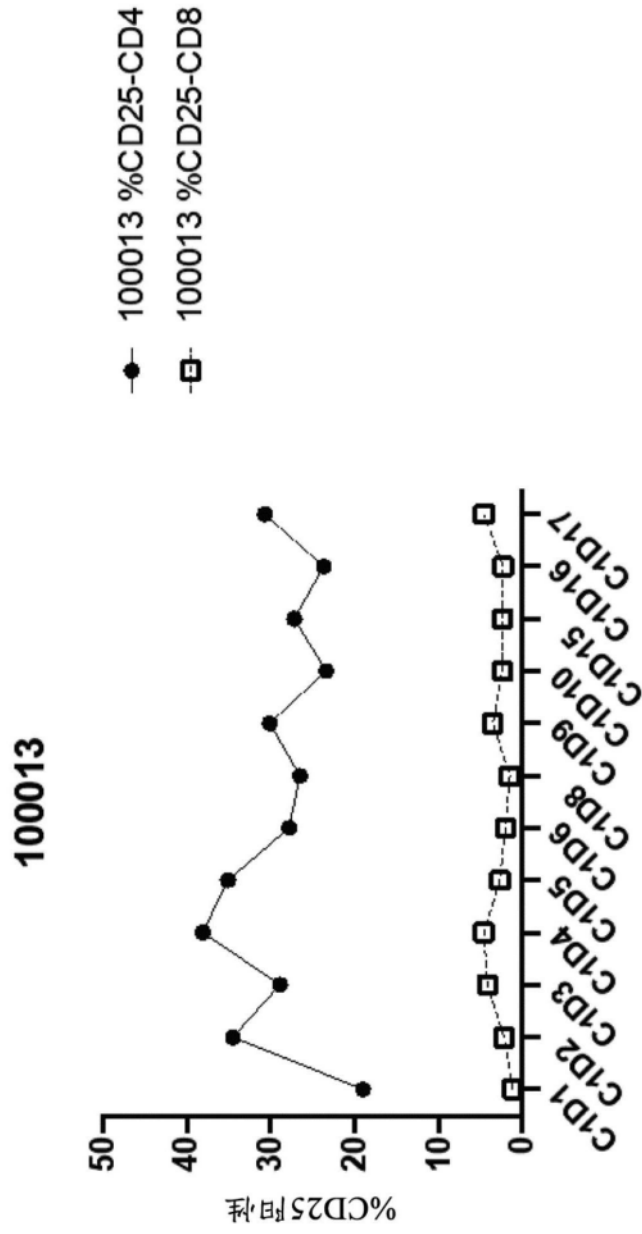


图6

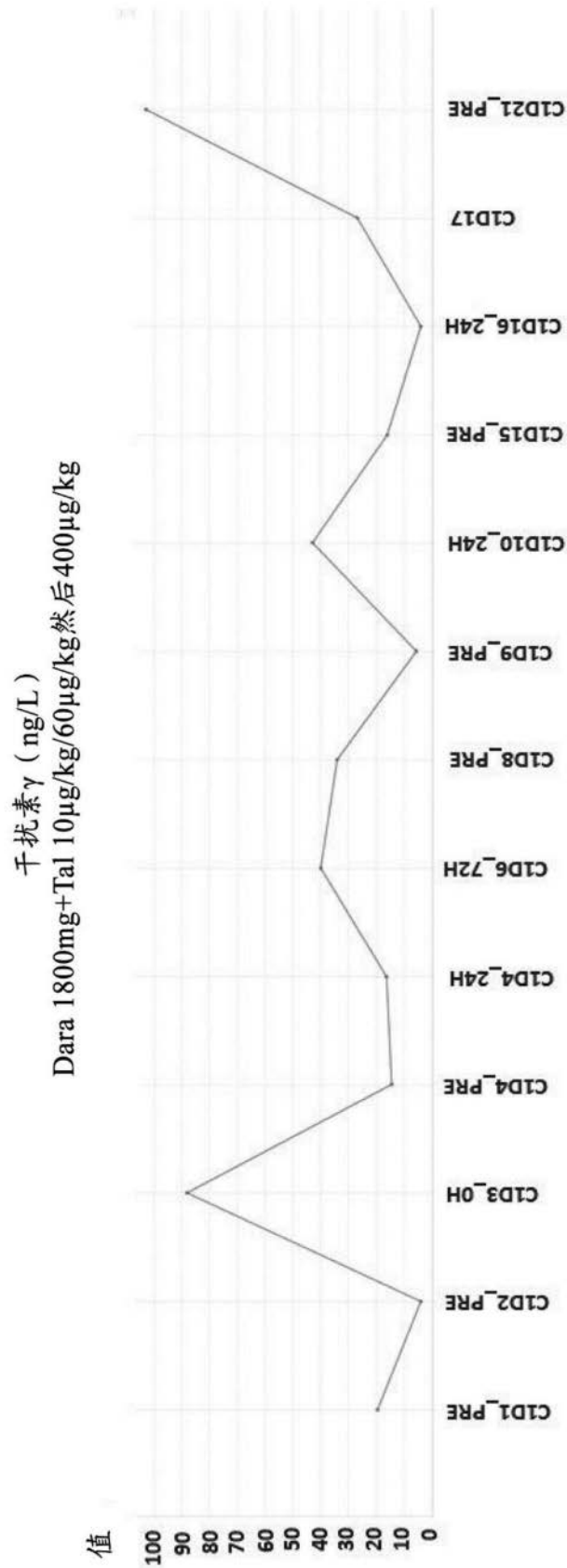


图7A

肿瘤坏死因子 (ng/L)  
Dara 1800mg+Tal 10μg/kg/60μg/kg然后400μg/kg QW SC

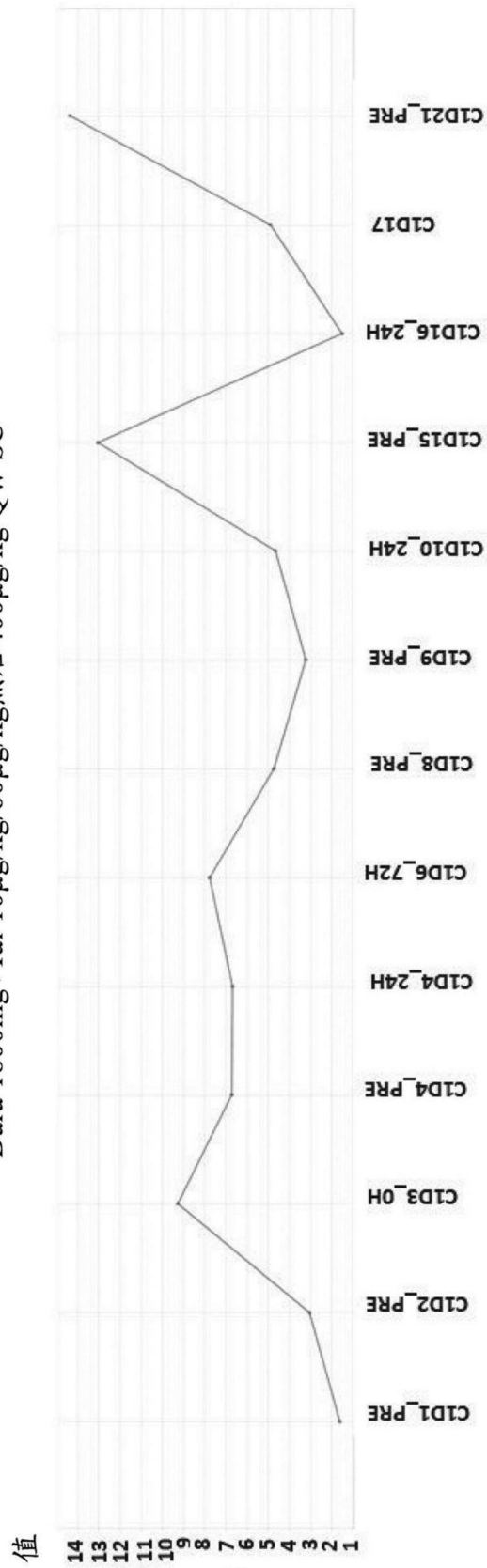


图7B

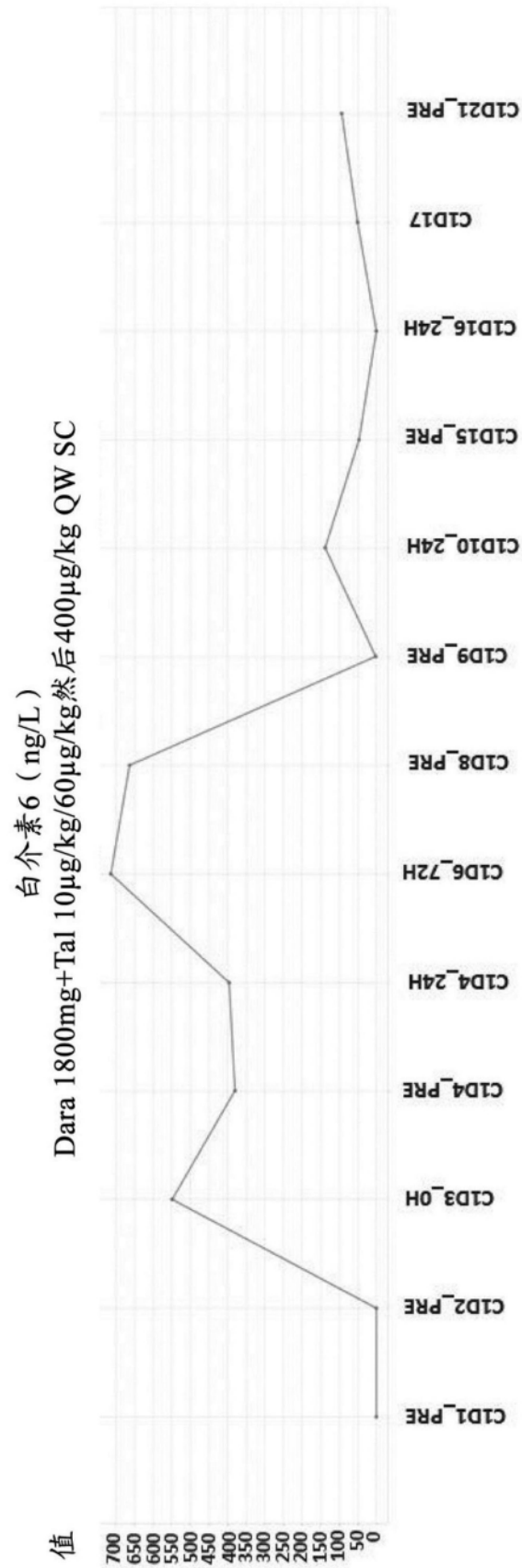


图7C

白介素8 (ng/L)  
Dara 1800mg+Tal 10μg/kg/60μg/kg,然后400μg/kg QW SC

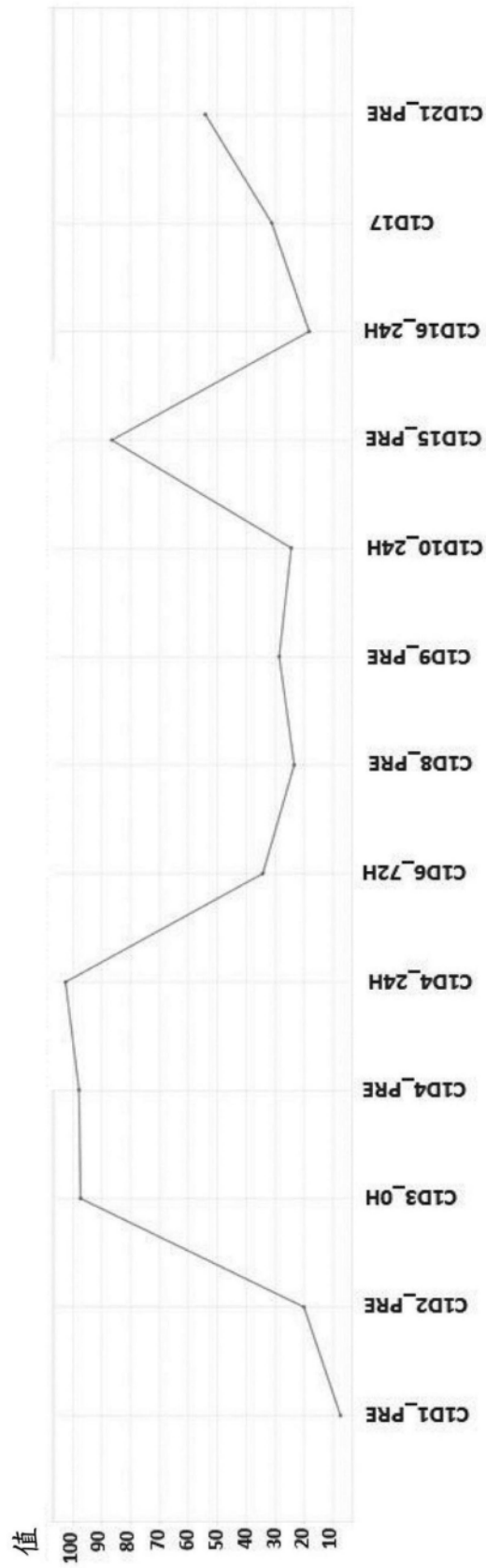


图7D

塔奎妥单抗+达雷木单抗

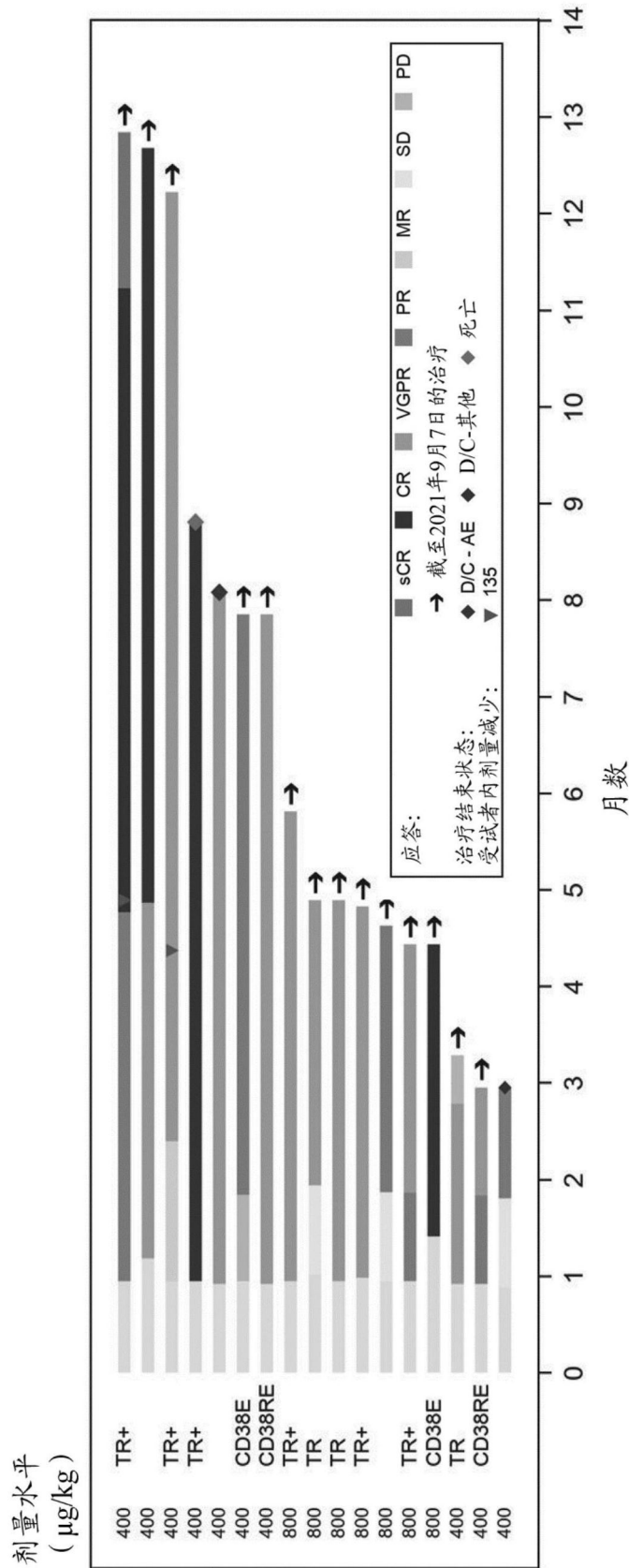


图8