



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115135324 A

(43) 申请公布日 2022. 09. 30

(21) 申请号 202080056280.1

(22) 申请日 2020.06.12

(30) 优先权数据

62/861,094 2019.06.13 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.02.08

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/037521 2020.06.12

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/252331 EN 2020.12.17

(71) 申请人 细胞基因公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 B·福克斯 I·阿隆希克 T·周

E·费瓦洛夫

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

专利代理师 封新琴

(51) Int.Cl.

A61K 31/506 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 31/7048 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 31/555 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 33/243 (2019.01)

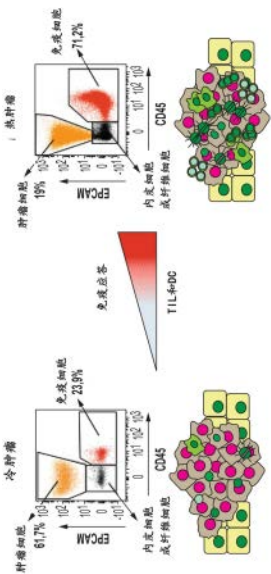
权利要求书5页 说明书33页 附图15页

(54) 发明名称

通过靶向冷肿瘤治疗癌症的方法

(57) 摘要

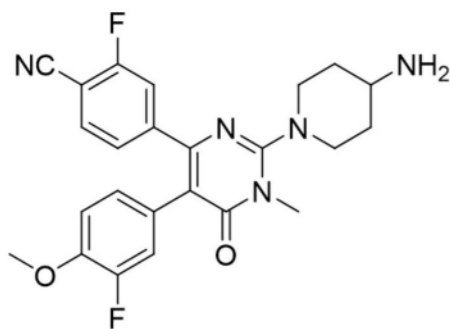
提供了通过向有需要的患者施用4-[2-(4-氨基-哌啶-1-基)-5-(3-氟-4-甲氧基-苯基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-4-基]-2-氟-苄腈(式(I)的化合物)或其药学上可接受的盐以及包含可用于抑制赖氨酸特异性去甲基化酶-1(LSD-1)的化合物的药物组合物来治疗癌症或增生性疾病等的方法。方法还涉及向具有表达RCOR2的增生性细胞的患者施用本文所述的组合物。



1. 一种治疗有需要的受试者的癌症的方法,所述方法包括:

(a) 鉴定患有癌症肿瘤的患者,所述癌症肿瘤是诊断为阳性的冷肿瘤;并且

(b) 向所述患者施用包含治疗有效量的具有式 (I) 结构的化合物或其药学上可接受的盐的组合物,



(I)。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述患者:

(a) 单一检查点抑制剂 (CPI) 疗法失败,对CPI疗法具有最低反应,或对于CPI疗法没有观察到治疗性效果;并且

(b) 相对于患有相同肿瘤类型的其他患者中肿瘤的中值REST辅阻遏物2RCOR2基因表达,所述肿瘤细胞显示RCOR2的高基因表达。

3. 根据权利要求1所述的方法,其中所述患者:

(a) 对于CPI疗法是初治的;并且

(b) 相对于患有相同肿瘤类型的其他患者中肿瘤的中值RCOR2基因表达,所述肿瘤细胞显示RCOR2的高基因表达。

4. 根据权利要求2所述的方法,其中RCOR2的高基因表达在患有相同肿瘤类型的其他患者中的肿瘤表达的前25%中。

5. 根据权利要求2所述的方法,其中RCOR2的高基因表达在患有相同肿瘤类型的其他患者中的肿瘤表达的前10%中。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的方法,其中:

(a) 所述CPI疗法包括抗程序性细胞死亡蛋白1 (PD1) 和/或程序性死亡配体1 (PD-L1) 疗法;并且

(b) 所述患者的癌细胞显示RCOR2的高基因表达。

7. 根据权利要求1-6中任一项所述的方法,其中:

(a) 所述患者的癌症展现出冷肿瘤特征;并且

(b) 所述患者的癌细胞显示RCOR2的高基因表达。

8. 根据权利要求7所述的方法,其中所述冷肿瘤特征由以下定义:

(a) 所述肿瘤内的低CD8 T细胞浸润或无CD8 T细胞浸润;

(b) 基于所述肿瘤内T细胞的存在,展现出T细胞未发炎或T细胞排除。

9. 根据权利要求8所述的方法,其中所述肿瘤内T细胞的存在是通过大量RNA谱分析数据中T细胞标记物的基因表达水平测量或估计的。

10. 根据权利要求1-9中任一项所述的方法,其中所述患者的癌细胞展现出以下基因中的一种或多种的基因表达增加: AK056486、NKAIN1、FAM183A、SAMD13、LINC00622、CHRNA2、

MEX3A、IGSF9、C10RF192、CCDC181、OCLM、PPFIA4、PANK1、B4GALNT4、GAS2、MS4A8、MYRF、RCOR2、FLRT1、AK313893、NXPH4、BC073932、MSI1、CCDC169、FREM2、ATP7B、AF339817、AK124233、GPX2、PAR5、PLA2G4F、IGDCC3、GOLGA6L10、UBE2Q2P2、WDR93、PDIA2、CASKIN1、AK096982、TOX3、AK057689、C16ORF3、AK127378、EFNB3、DNAH2、ANKRD13B、SOCS7、RAMP2-AS1、FAM171A2、ADAM11、METAZOA_SRP_75、CBX2、ZNF850、LOC100379224、TTYH1、VN1R1、MEIS1-AS3、LONRF2、BC022892、KLHL23、AX747067、CCDC108、IRS1、KIF1A、FLRT3、SIM2、IGSF5、CECR5-AS1、FAM227A、AX747137、FGD5P1、ACVR2B、LOC646903、FGFR3、FLJ13197、SLC10A4、TTC23L、MCIDAS、GUSBP9、GPR98、SEMA6A、PCDHGC4、USP49、TMEM151B、AK125212、PACRG、AK123300、COL28A1、SOSTDC1、AK098769、FKBP6、DPY19L2P4、EP0、CTTNBP2、KIAA1549、TAS2R5、FAM86B2、DQ595103、CHD7、AK094577、WNK2、TMEFF1、AL390170、MUM1L1、HS6ST2和PNCK；其中所述基因表达的增加是相对于对照基因的基因表达而言的。

11. 根据权利要求10所述的方法，其中所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述基因中的至少约10%或至少约15%的基因表达增加。

12. 根据权利要求10所述的方法，其中所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述基因中的至少约20%、至少约25%、至少约30%或至少约35%的基因表达增加。

13. 根据权利要求10所述的方法，其中所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述基因中的至少约40%、至少约45%、至少约50%或至少约55%的基因表达增加。

14. 根据权利要求10所述的方法，其中所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述基因中的至少约60%、至少约65%、至少约70%或至少约75%的基因表达增加。

15. 根据权利要求10所述的方法，其中所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述基因中的至少约80%的基因表达增加。

16. 根据权利要求1-15中任一项所述的方法，其中所述患者的癌细胞展现出一种或多种干扰素应答基因的基因表达降低，其中所述基因表达的降低是相对于对照基因的基因表达而言的。

17. 根据权利要求16所述的方法，其中所述干扰素应答基因选自：AC124319.1、ADAR、APOL6、ARID5B、ARL4A、AUTS2、B2M、BANK1、BATF2、BPGM、BST2、BTG1、C1R、C1S、CASP1、CASP3、CASP4、CASP7、CASP8、CCL2、CCL5、CCL7、CD274、CD38、CD40、CD69、CD74、CD86、CDKN1A、CFB、CFH、CIITA、CMKLR1、CMPK2、CMTR1、CSF2RB、CXCL10、CXCL11、CXCL9、DDX58、DDX60、DHX58、EIF2AK2、EIF4E3、EPSTI1、FAS、FCGR1A、FGL2、FPR1、GBP4、GBP6、GCH1、GPR18、GZMA、HELZ2、HERC6、HIF1A、HLA-A、HLA-B、HLA-DMA、HLA-DQA1、HLA-DRB1、HLA-G、ICAM1、IDO1、IFI27、IFI30、IFI35、IFI44、IFI44L、IFIH1、IFIT1、IFIT2、IFIT3、IFITM2、IFITM3、IFNAR2、IFL10RA、IL15、IL15RA、IL18BP、IL2RB、IL4R、IL6、IL7、IRF1、IRF2、IRF4、IRF5、IRF7、IRF8、IRF9、ISG15、ISG20、ISOC1、ITGB7、JAK2、KLRK1、LAP3、LATS2、LCP2、LGALS3BP、LYSE、LYSMD2、1-MAR、METTL7B、MT2A、MEHFD2、MVP、MX1、MX2、MYD88、NAMPT、NCOA3、NFKB1、NFKBIA、NLRC5、NMI、NOD1、NUP93、OAS2、OAS3、OASL、OGFR、P2RY14、PARP12、PARP14、PDE4B、PELI1、PFKP、PIM1、PLA2G4A、PLSCR1、PML、PNP、PNPT1、PSMA2、PSMA3、PSMB10、PSMB2、PSMB8、PSMB9、PSME1、PSME2、PTGS2、PTPN1、PTPN2、PTPN6、RAPGEF6、RBCK1、RIPK1、RIPK2、RNF31、RSAD2、RTP4、SAMD9L、SAMHD1、SECTM1、SELP、SERPING1、SLAMF7、SLC25A28、SOCS1、SOCS3、SOD2、SP110、SPPL2A、SRI、SSPN、ST3GAL5、ST8SIA4、STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、TAP1、TAPBP、TDRD7、

TNFAIP2、TNFAIP3、TNFAIP6、TNFAIP10、TOR1B、TRAFD1、TRIM14、TRIM 21、TRIM25、TRIM 26、TXNIP、UBE2L6、UPP1、USP18、VAMP5、VAMP8、VCAM1、WARS、XAF1、XCL1、ZBP1和ZNF1。

18. 根据权利要求13或14所述的方法,其中所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述干扰素应答基因中的至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%或至少约80%的基因表达降低。

19. 根据权利要求1-18中任一项所述的方法,其中:

(a) 所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶1(LSD-1)的抑制剂;和/或

(b) 所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是LSD-1的可逆拮抗剂;和/或

(c) 所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是LSD-1的可逆抑制剂。

20. 根据权利要求19所述的方法,其中当LSD-1被阻断时,由此实现T细胞的浸润,因此允许抗PDL1和/或抗PD1疗法延缓肿瘤生长和/或减小肿瘤大小。

21. 根据权利要求19或20所述的方法,其中LSD-1被抑制而不能使组蛋白复合体去甲基化,由此实现T细胞的浸润,因此允许抗PDL1和/或抗PD1疗法延缓肿瘤生长和/或肿瘤变大。

22. 根据权利要求19或20所述的方法,其中LSD-1被阻止与RCOR2形成功能性蛋白复合体,由此实现T细胞的浸润,因此允许抗PDL1和/或抗PD1疗法延缓肿瘤生长和/或肿瘤变大。

23. 根据权利要求1-22中任一项所述的方法,其中所述受试者的癌症具有高非同义突变负荷。

24. 根据权利要求1-23中任一项所述的方法,其中:

(a) 同时用治疗有效量的至少一种CPI疗法治疗所述患者,所述至少一种CPI疗法可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法;和/或

(b) 依序用包含所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐的组合物和至少一种CPI疗法治疗所述患者,所述至少一种CPI疗法可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法;和/或

(c) 包含所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐的组合物另外包含至少一种CPI疗法,所述至少一种CPI疗法可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法。

25. 根据权利要求24所述的方法,其中与单独施用包含所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐的组合物或单独施用所述CPI疗法相比,用包含(i)治疗有效量的所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐和(ii)至少一种CPI疗法的组合物进行的治疗组合引起所述患者存活期增加和/或肿瘤生长减慢,所述至少一种CPI疗法可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法。

26. 根据权利要求25所述的方法,其中如通过任何临床公认的方法所测量,肿瘤生长减慢了约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。

27. 根据权利要求25或26所述的方法,其中与单独施用所述组合物和/或单独施用所述抗PDL1和/或抗PD1疗法的患者所展现的平均存活时间相比,所述患者的存活期增加了约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。

28. 根据权利要求24-27中任一项所述的方法,其中所述CPI疗法是选自以下的抗PD1疗

法:

- (a) 纳武单抗;
- (b) 派姆单抗;
- (c) 西米普利单抗;
- (d) 斯巴达珠单抗;
- (e) 卡瑞利珠单抗;
- (f) 信迪利单抗;
- (g) 替雷利珠单抗;
- (h) 特瑞普利单抗;
- (i) AMP-224;
- (j) MEDI0680;
- (k) 度伐鲁单抗;和
- (l) 替雷利珠单抗。

29. 根据权利要求24-27中任一项所述的方法, 其中所述CPI疗法是选自以下的抗PDL1疗法:

- (a) 阿特利珠单抗;
- (b) 阿维鲁单抗;
- (c) 度伐鲁单抗;
- (d) KN035;
- (e) CK-301;
- (f) CA-170;和
- (g) BMS-986189。

30. 根据权利要求1-29中任一项所述的方法, 其中:

- (a) 所述组合物还包含治疗有效量的依托泊苷;或
- (b) 施用包含治疗有效量的依托泊苷的另外的组合物。

31. 根据权利要求1-30中任一项所述的方法, 其中:

(a) 所述组合物还包含治疗有效量的铂, 并且任选地其中所述铂选自顺铂、卡铂、赛利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂和沙铂;或

(b) 施用包含治疗有效量的铂的另外的组合物, 并且任选地其中所述铂选自顺铂、卡铂、赛利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂和沙铂。

32. 根据权利要求1-31中任一项所述的方法, 其中所述患者患有选自以下的癌症: 肺癌、小细胞肺癌 (SCLC)、肺鳞状细胞癌 (LUSC)、头颈部鳞状细胞癌 (HNSC)、HPV阴性头颈部鳞状细胞癌 (HNSC HPV neg)、膀胱癌 (BLCA)、膀胱尿路上皮癌、黑色素瘤、皮肤黑色素瘤 (SKCM)、乳腺癌、三阴性乳腺癌 (TNBC)、卵巢癌 (OV)、胃癌、胃腺癌 (STAD)、肉瘤 (SARC)、神经胶质瘤、神经内分泌肿瘤、晚期实体瘤、前列腺癌、边缘区淋巴瘤、胰腺癌、胰脏腺癌 (PAAD)、胰腺导管腺癌 (PDAC)、胰腺神经内分泌肿瘤 (PNET)、低分级神经胶质瘤 (LGG)、宫颈鳞状细胞癌和子宫颈内腺癌 (CESC)、睾丸生殖细胞肿瘤 (TGCT)、肾透明细胞癌 (KIRC)、肾乳头状细胞癌 (KIRP) 和食管癌 (ESCA)。

33. 根据权利要求1-31中任一项所述的方法, 其中所述患者患有选自以下的癌症: 黑色

素瘤、转移性非小细胞肺癌、头颈部鳞状细胞癌、鳞状细胞肺癌、肾细胞癌、霍奇金淋巴瘤、皮肤鳞状细胞癌 (CSCC)、不是治愈性手术或治愈性放射的候选者的局部晚期CSCC患者、实体瘤和淋巴瘤、复发性或难治性经典霍奇金淋巴瘤、小细胞肺癌 (SCLC)、实体瘤和血液癌症。

34. 根据权利要求1-33中任一项所述的方法, 其中将包含所述式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐的所述组合物每周施用至少一次。

35. 根据权利要求1-33中任一项所述的方法, 其中将包含所述式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐的所述组合物每天、每两天、每3天、每4天、每5天、每周一次、每周两次、每周三次、每两周或以任何其他合适的给药期施用。

36. 根据权利要求1-35中任一项所述的方法, 其中所述式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐是可注射溶液的形式。

37. 根据权利要求1-36中任一项所述的方法, 其中将所述式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐作为静脉注射剂施用。

38. 根据权利要求1-35中任一项所述的方法, 其中所述式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐适于口服施用。

通过靶向冷肿瘤治疗癌症的方法

相关申请的交叉引用

[0001] 本申请要求在35U.S.C.§119(e)下2019年6月13日提交的美国临时申请号62/861,094的优先权,将其全部内容通过引用并入本文。

技术领域

[0002] 本文所述的实施方案提供了用于治疗包括良性肿瘤和恶性肿瘤两者的赘生性疾病的组合物、配制品和方法,其中这样的治疗包括包含施用赖氨酸特异性去甲基化酶-1 (LSD-1) 抑制剂的疗法。在一些方面,施用LSD-1抑制剂用于治疗某些患者群体的赘生性疾病,所述患者群体包括具有上调了RE1沉默转录因子 (REST) 辅阻遏物2 (RCOR2) 的赘生性细胞的受试者。

背景技术

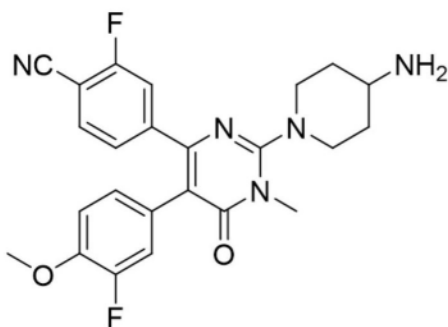
[0003] 仍然需要用于治疗患有癌症的受试者的组合物、配制品和方法,所述癌症例如基底细胞癌、复发性或难治性非霍奇金淋巴瘤 (NHL)、多形性胶质母细胞瘤、间变性星形细胞瘤或其他晚期实体瘤。

[0004] 尽管在过去的20年中已经鉴定出许多癌症疗法,但并非所有的癌症都对当前疗法具有反应。一种有前景的癌症疗法涉及使用免疫检查点抑制剂 (CPI)。CPI疗法是一种癌症免疫疗法形式。所述疗法靶向免疫检查点。免疫检查点保持免疫内环境稳定并预防自身免疫。一些癌症通过激活免疫检查点途径以抑制抗肿瘤免疫应答而逃避免疫监视。检查点抑制剂通过释放免疫系统中的这种“制动”以促进肿瘤细胞的消除而起作用。然而,并非所有的癌症都对CPI疗法具有反应。

[0005] 尽管CPI在许多癌症中具有显著的临床益处,但反应率低 (约10%-30%)。本领域仍然需要治疗赘生性疾病的新方法,特别是对于对当前疗法没有反应的癌症患者群体。本公开文本满足了这种需要。

发明内容

[0006] 在一些方面,本公开文本涉及治疗有需要的受试者的癌症的方法,所述方法包括:(a) 鉴定患有癌症肿瘤的患者,所述癌症肿瘤是诊断为阳性的冷肿瘤;并且 (b) 向所述患者施用包含治疗有效量的具有式 (I) 结构的化合物或其药学上可接受的盐的组合物,



(I)。

[0007] 在一些方面,所述患者(a)单一检查点抑制剂(CPI)疗法失败,对CPI疗法具有最低反应,或对于CPI疗法没有观察到治疗性效果;并且(b)相对于患有相同肿瘤类型的其他患者中肿瘤的中值REST辅阻遏物2RCOR2基因表达,所述肿瘤细胞显示RCOR2的高基因表达。

[0008] 在一些方面,所述患者(a)对于CPI疗法是初治的;并且(b)相对于患有相同肿瘤类型的其他患者中肿瘤的中值RCOR2基因表达,所述肿瘤细胞显示RCOR2的高基因表达。在一些方面,所述RCOR2的高基因表达在患有相同肿瘤类型的其他患者中的肿瘤表达的前25%中。在一些方面,所述RCOR2的高基因表达在患有相同肿瘤类型的其他患者中的肿瘤表达的前10%中。

[0009] 在一些方面,(a)所述CPI疗法包括抗程序性细胞死亡蛋白1(PD1)和/或程序性死亡配体1(PD-L1)疗法;并且(b)所述患者的癌细胞显示RCOR2的高基因表达。在一些方面,(a)所述患者的癌症展现出冷肿瘤特征;并且(b)所述患者的癌细胞显示RCOR2的高基因表达。在一些方面,所述冷肿瘤特征由以下定义:(a)肿瘤内的低CD8⁺T细胞浸润或无CD8⁺T细胞浸润;(b)基于肿瘤内T细胞的存在,展现出T细胞未发炎或T细胞排除。在一些方面,肿瘤内T细胞的存在是通过大量RNA谱分析(bulk RNA profiling)数据中T细胞标记物的基因表达水平测量或估计的。

[0010] 在一些方面,所述患者的癌细胞展现出以下基因中的一种或多种的基因表达增加:AK056486、NKAIN1、FAM183A、SAMD13、LINC00622、CHRNA2、MEX3A、IGSF9、C10RF192、CCDC181、OCLM、PPFIA4、PANK1、B4GALNT4、GAS2、MS4A8、MYRF、RCOR2、FLRT1、AK313893、NXPH4、BC073932、MSI1、CCDC169、FREM2、ATP7B、AF339817、AK124233、GPX2、PAR5、PLA2G4F、IGDCC3、GOLGA6L10、UBE2Q2P2、WDR93、PDIA2、CASKIN1、AK096982、TOX3、AK057689、C16ORF3、AK127378、EFNB3、DNAH2、ANKRD13B、SOCS7、RAMP2-AS1、FAM171A2、ADAM11、METAZOASRP_75、CBX2、ZNF850、LOC100379224、TTYH1、VN1R1、MEIS1-AS3、LONRF2、BC022892、KLHL23、AX747067、CCDC108、IRS1、KIF1A、FLRT3、SIM2、IGSF5、CECR5-AS1、FAM227A、AX747137、FGD5P1、ACVR2B、LOC646903、FGFR3、FLJ13197、SLC10A4、TTC23L、MCIDAS、GUSBP9、GPR98、SEMA6A、PCDHGC4、USP49、TMEM151B、AK125212、PACRG、AK123300、COL28A1、SOSTDC1、AK098769、FKBP6、DPY19L2P4、EP0、CTTNBP2、KIAA1549、TAS2R5、FAM86B2、DQ595103、CHD7、AK094577、WINK2、TMEFF1、AL390170、MUM1L1、HS6ST2和PNCK;其中所述基因表达的增加是相对于对照基因的基因表达而言的。

[0011] 在一些方面,所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述基因中的至少约10%或至少约15%的基因表达增加。在一些方面,所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述基因中的至少约20%、至少约25%、至少约30%或至少约35%的基因表达增加。在一些方面,所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述基因中的至少约40%、至少约45%、至少约50%或至少约55%的基因表达增加。在一些方面,所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述基因中的至少约60%、至少约65%、至少约70%或至少约75%的基因表达增加。在一些方面,所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述基因中的至少约80%的基因表达增加。

[0012] 在一些方面,所述患者的癌细胞展现出一种或多种干扰素应答基因的基因表达降低,其中所述基因表达的降低是相对于对照基因的基因表达而言的。在一些方面,所述干扰素应答基因选自:AC124319.1、ADAR、APOL6、ARID5B、ARL4A、AUTS2、B2M、BANK1、BATF2、BPGM、

BST2、BTG1、C1R、C1S、CASP1、CASP3、CASP4、CASP7、CASP8、CCL2、CCL5、CCL7、CD274、CD38、CD40、CD69、CD74、CD86、CDKN1A、CFB、CFH、CIITA、CMKLR1、CMPK2、CMTR1、CSF2RB、CXCL10、CXCL11、CXCL9、DDX58、DDX60、DHX58、EIF2AK2、EIF4E3、EPSTI1、FAS、FCGR1A、FGL2、FPR1、GBP4、GBP6、GCH1、GPR18、GZMA、HELZ2、HERC6、HIF1A、HLA-A、HLA-B、HLA-DMA、HLA-DQA1、HLA-DRB1、HLA-G、ICAM1、ID01、IFI27、IFI30、IFI35、IFI44、IFI44L、IFIH1、IFIT1、IFIT2、IFIT3、IFITM2、IFITM3、IFNAR2、IFL10RA、IL15、IL15RA、IL18BP、IL2RB、IL4R、IL6、IL7、IRF1、IRF2、IRF4、IRF5、IRF7、IRF8、IRF9、ISG15、ISG20、ISOC1、ITGB7、JAK2、KLRK1、LAP3、LATS2、LCP2、LGALS3BP、LYSE、LYSMD2、1-MAR、METTL7B、MT2A、MEHFD2、MVP、MX1、MX2、MYD88、NAMPT、NCOA3、NFKB1、NFKBIA、NLRC5、NMI、NOD1、NUP93、OAS2、OAS3、OASL、OGFR、P2RY14、PARP12、PARP14、PDE4B、PELI1、PFKP、PIM1、PLA2G4A、PLSCR1、PML、PNP、PNPT1、PSMA2、PSMA3、PSMB10、PSMB2、PSMB8、PSMB9、PSME1、PSME2、PTGS2、PTPN1、PTPN2、PTPN6、RAPGEF6、RBCK1、RIPK1、RIPK2、RNF31、RSAD2、RTP4、SAMD9L、SAMHD1、SECTM1、SELP、SERPING1、SLAMF7、SLC25A28、SOCS1、SOCS3、SOD2、SP110、SPPL2A、SRI、SSPN、ST3GAL5、ST8SIA4、STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、TAP1、TAPBP、TDRD7、TNFAIP2、TNFAIP3、TNFAIP6、TNFAIP10、TOR1B、TRAFFD1、TRIM14、TRIM21、TRIM25、TRIM 26、TXNIP、UBE2L6、UPP1、USP18、VAMP5、VAMP8、VCAM1、WARS、XAF1、XCL1、ZBP1和ZNF1。

[0013] 在一些方面,所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述干扰素应答基因中的至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%或至少约80%的基因表达降低。

[0014] 在一些方面,(a)所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶1(LSD-1)的抑制剂;和/或(b)所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是LSD-1的可逆拮抗剂;和/或(c)所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是LSD-1的可逆抑制剂。

[0015] 在一些方面,当LSD-1被阻断时,由此实现T细胞的浸润,因此允许抗PDL1和/或抗PD1疗法阻断T细胞抑制,因此延缓肿瘤生长和/或减小肿瘤大小。在一些方面,LSD-1被抑制而不能使组蛋白复合体去甲基化,由此实现T细胞的浸润,因此允许抗PDL1和/或抗PD1疗法延缓肿瘤生长和/或肿瘤变大。在一些方面,LSD-1被阻止与RCOR2形成功能性蛋白复合体,由此实现T细胞的浸润,因此允许抗PDL1和/或抗PD1疗法延缓肿瘤生长和/或肿瘤变大。

[0016] 在一些方面,所述受试者的癌症具有高非同义突变负荷。在一些方面,(a)同时用治疗有效量的至少一种CPI疗法治疗所述患者,所述至少一种CPI疗法可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法;和/或(b)依序用包含所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐的组合物和至少一种CPI疗法治疗所述患者,所述至少一种CPI疗法可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法;和/或(c)包含所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐的组合物另外包含至少一种CPI疗法,所述至少一种CPI疗法可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法。

[0017] 在一些方面,与单独施用包含所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐的组合物或单独施用所述CPI疗法相比,用包含(i)治疗有效量的所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐和(ii)至少一种CPI疗法的组合物进行的治疗组合引起患者存活期增加和/或肿瘤生长减慢,所述至少一种CPI疗法可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法。

[0018] 在一些方面,如通过任何临床公认的方法所测量,肿瘤生长减慢了约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。在一些方面,与单独施用所述组合物和/或单独施用所述抗PDL1和/或抗PD1疗法的患者所展现的平均存活时间相比,所述患者的存活期增加了约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%或约100%。

[0019] 在一些方面,所述CPI疗法是选自以下的抗PD1疗法:(a) 纳武单抗;(b) 派姆单抗;(c) 西米普利单抗;(d) 斯巴达珠单抗;(e) 卡瑞利珠单抗;(f) 信迪利单抗;(g) 替雷利珠单抗;(h) 特瑞普利单抗;(i) AMP-224;(j) MEDI0680;(k) 度伐鲁单抗;和(l) 替雷利珠单抗。在一些方面,所述CPI疗法是选自以下的抗PDL1疗法:(a) 阿特利珠单抗;(b) 阿维鲁单抗;(c) 度伐鲁单抗;(d) KN035;(e) CK-301;(f) CA-170;和(g) BMS-986189。

[0020] 在一些方面,所述组合物还包含治疗有效量的依托泊苷;或(b) 施用包含治疗有效量的依托泊苷的另外的组合物。在一些方面,(a) 所述组合物还包含治疗有效量的铂,并且任选地所述铂可以选自顺铂、卡铂、赛利铂(exaliplatin)、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂和沙铂;或(b) 施用包含治疗有效量的铂的另外的组合物,并且任选地其中所述铂选自顺铂、卡铂、赛利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂和沙铂。

[0021] 在一些方面,所述患者患有选自以下的癌症:肺癌、小细胞肺癌(SCLC)、肺鳞状细胞癌(LUSC)、头颈部鳞状细胞癌(HNSC)、HPV阴性头颈部鳞状细胞癌(HNSC HPV neg)、膀胱癌(BLCA)、膀胱尿路上皮癌、黑色素瘤、皮肤黑色素瘤(SKCM)、乳腺癌、三阴性乳腺癌(TNBC)、卵巢癌(OV)、胃癌、胃腺癌(STAD)、肉瘤(SARC)、神经胶质瘤、神经内分泌肿瘤、晚期实体瘤、前列腺癌、边缘区淋巴瘤、胰腺癌、胰脏腺癌(PAAD)、胰腺导管腺癌(PDAC)、胰腺神经内分泌肿瘤(PNET)、低分级神经胶质瘤(LGG)、宫颈鳞状细胞癌和子宫颈内腺癌(CESC)、睾丸生殖细胞肿瘤(TGCT)、肾透明细胞癌(KIRC)、肾乳头状细胞癌(KIRP)和食管癌(ESCA)。

[0022] 在一些方面,所述患者患有选自以下的癌症:黑色素瘤、转移性非小细胞肺癌、头颈部鳞状细胞癌、鳞状细胞肺癌、肾细胞癌、霍奇金淋巴瘤、皮肤鳞状细胞癌(CSCC)、不是治愈性手术或治愈性放射的候选者的局部晚期CSCC患者、实体瘤和淋巴瘤、复发性或难治性经典霍奇金淋巴瘤、小细胞肺癌(SCLC)、实体瘤和血液癌症。

[0023] 在一些方面,将包含所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐的所述组合物每周施用至少一次。在一些方面,将包含所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐的所述组合物每天、每两天、每3天、每4天、每5天、每周一次、每周两次、每周三次、每两周或以任何其他合适的给药期施用。在一些方面,所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是可注射溶液的形式。

[0024] 在一些方面,将所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐作为静脉注射剂施用。在一些方面,所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐适于口服施用。

[0025] 前面的一般描述和下面的附图说明以及具体实施方式是示例性和说明性的,并且旨在提供对所要求保护的主题的进一步解释。从以下附图说明和具体实施方式中,本领域技术人员将容易清楚其他目的、优点和新颖特征。

附图说明

[0026] 本专利或申请文件包含至少一幅彩色附图。在请求并支付必要的费用后,官方将会提供带有一幅或多幅彩色附图的本专利或专利申请公开案的副本。

[0027] 图1是自Ramos等人,“Mechanisms of Resistance to Immune Checkpoint Antibodies.”Handb.Exp.Pharmacol. (2017年3月18日)重现的“冷”肿瘤与“热”肿瘤的特征比较。

[0028] 图2形象地绘制出待用本文所述的方法治疗的优选患者群体,其中“CPI”代表免疫检查点抑制剂。基于来自小细胞肺癌(SCLC)肿瘤的免疫组织化学(IHC)结果,图中示出患者群体具有基因RCOR2的高表达,其是具有低T细胞丰度的那些的亚组,是对CPI反应不佳的那些的亚组。

[0029] 图3形象地绘制出待用本文所述的方法治疗的优选患者群体。图3以图形示出优选的患者群体,所述患者群体具有x轴上的RCOR2的高表达或高原神经得分、y轴上的低T细胞浸润和对单一CPI治疗无反应。

[0030] 图4示出鉴定冷肿瘤基因中的共同生物学(基因集)的基因集富集分析的结果,其中对于每种肿瘤类型的“冷”肿瘤中的差异基因的数量:卵巢癌(1,583个基因)、膀胱癌(2,673个基因)和黑色素瘤(1,617个基因)。OV(卵巢癌)=GBM原神经特征、神经发生特征、轴突导向信号传导和Hedgehog信号传导。BLCA(膀胱癌)=GBM原神经特征、神经发生特征、轴突导向信号传导、WNT信号传导和肝配蛋白A信号传导。SKCM(黑色素瘤)=GBM原神经特征、神经发生特征、轴突导向信号传导、WNT信号传导和肝配蛋白A信号传导。重叠=所有三种肿瘤类型共有的与T细胞浸润和干扰素应答基因反相关的核心105原神经基因特征。

[0031] 图5示出原神经T细胞排除基因特征在正常脑中富集。图5中的热图示出105种原神经T细胞排除基因(每行是基因,并且每列是来自GTEx的正常组织样品。彩色示出该基因在样品中的相对表达)。

[0032] 图6A示出展现来自癌细胞系百科全书(CCLE)的癌细胞系的亚组的冷肿瘤和干扰素应答基因的分级聚类的热图。所述图展现具有冷基因特征的癌细胞系的亚组示出冷肿瘤基因的高表达(在图左侧用红色条标记)和干扰素应答基因的低表达(在图左侧用蓝色条标记)。这展现了至少在培养的癌细胞系中冷肿瘤基因的高表达与干扰素应答基因的低表达之间的关系的证据。高表达相比于低表达是相对于其他样品或相对于一组对照样品而言的。

[0033] 图6B示出细胞系的CCLE数据集中原神经排除与IFNG应答的关系的图。

[0034] 图7A和图7B描绘RCOR2(图7B中为蓝色)和KDM1A(也称为LSD-1,图7B中为橙色)在正常组织和肿瘤组织中的表达。RCOR2在大多数正常组织中以低水平表达(图7A),并且在癌症中高度上调(图7B)。相反,与RCOR2相比,LSD1在正常组织中更高地表达(图7A),并且在癌症中相对于正常组织适度上调(图7B)。

[0035] 图8示出展现大约三分之一的LUSC样品具有原神经特征基因的高表达(称为“高排除特征”)以及IFNG应答基因和由T细胞表达的基因的低表达。每行是基因且每列是LUSC样品。彩色示出所述基因在样品中的相对表达。高表达(红色)相比于低表达(绿色)。

[0036] 图9A和图9B示出在各种肿瘤组织类型(包括SCLC)中,RCOR2与T细胞浸润(图9A)和IFNG应答(图9B)反相关。

[0037] 图10A、图10B和图10C示出三种类型癌症中的原神经特征和IFN γ 应答的图：SCLC (n=99) (图10A)、OV (n=430) (图10B) 和LUSC (n=501) (图10C)。这些热图描绘了彼此比较的各种基因特征和基因的相关性(负和正)。图中最强的负相关是在原神经特征基因与IFNG应答和炎症应答的免疫特征之间。

[0038] 图11是热图,描绘了在SCLC中彼此比较的各种基因特征和基因的相关性(负和正)。这个图与图10A的不同之处在于其包括使用更大的105基因原神经特征的20种基因的亚组得到的标记为SCLC_20的得分。与RCOR2本身与免疫途径(炎症应答和IFNG应答)的相关性相比,它展现出与这些免疫途径更强的负相关。作为参考,它还示出105基因原神经特征与免疫途径具有最强的负相关。这20种基因由“SCLC_20”表示,并且这些是与RCOR2共表达的20种基因。

具体实施方式

I. 概述

[0039] 近十年来CPI疗法的出现已经转变了对宽范围的肿瘤类型的癌症治疗。在难以治疗的癌症组织学中已经观察到空前且持久的临床反应。然而,尽管存在这些有前景的长期反应,但是大多数患者未能对免疫检查点阻断具有反应,展现出原发性耐药性。另外,许多最初对治疗具有反应的患者最终会经历继发于获得性耐药性的复发。原发性耐药性和获得性耐药性两者都是癌细胞与免疫系统之间的复杂且不断发展的相互作用的结果。

[0040] 肿瘤诱导适应性免疫应答的能力依赖于癌细胞作为外来物的识别。高肿瘤突变负荷(TMB)与伴随的升高的新抗原表达一起在抗肿瘤免疫中起重要作用。不同肿瘤类型对PD-1/PD-L1检查点抑制剂的反应率倾向于与它们对应的TMB成比例。然而,具有相似TMB的肿瘤对CPI可以具有非常不同的反应,表明对免疫检查点阻断的反应是复杂的、异质的和不一致的,并且存在另外的机制。增加的PD-L1表达与免疫应答相关,并且被用作小细胞肺癌和尿路上皮癌中CPI疗法的生物标记物。另外,在反应性癌症中已经注意到肿瘤浸润性淋巴细胞的数量增加。参见Fares等人, American Society of Clinical Oncology Educational Book, 39:147-164 (2019)。

[0041] 癌症免疫疗法领域的最大挑战之一是了解复杂的耐药性机制和开发有效的组合策略来克服耐药性。根据发生的时间,耐药性可以是原发性的(如在从未具有反应的患者中),或获得性的(其在反应一段时间后出现)。另外,耐药性也可以分为肿瘤细胞的内在耐药性或外在耐药性。当癌细胞改变与免疫识别、细胞信号传导、基因表达和DNA损伤应答相关的过程时,观察到内在耐药性。在整个T细胞激活过程中,在肿瘤细胞外部发生外在耐药性。

[0042] 随着时间的推移,一些肿瘤类型变得对PD1/PD-L1检查点抑制剂疗法有耐药性。本文所述的化合物抑制LSD1,因此增加了肿瘤对抗PD1剂的反应性。LSD1与RCOR2处于功能性复合体中。因此,预期RCOR2表达是具有活性LSD1并将对本文所述的化合物(特别是在其与CPI组合给予时)具有反应的肿瘤的指标。

[0043] 本公开文本描述了用于鉴定展现出对本文所述的化合物和配制品敏感的肿瘤类型的患者和患者群体的多种标记的发现,所述肿瘤类型称为“冷”肿瘤,包括已经变得对CPI有耐药性的肿瘤。

[0044] 肿瘤可以分类为“热”(免疫细胞浸润或发炎)或“冷”(免疫细胞浸润排除或免疫沙漠)。免疫细胞(例如T细胞)浸润到肿瘤中对于许多肿瘤类型是可预后的,是对检查点阻断疗法的反应的预测因子,并且是使过继T细胞疗法有效所需要的。其他免疫细胞类型总体上与肿瘤中T细胞的存在相关。肿瘤中T细胞的丰度可以通过大量RNA数据中T细胞标记物的基因表达来估计。热肿瘤与包括T细胞的免疫细胞的丰富相关,而冷肿瘤与包括T细胞的免疫细胞的缺乏相关。参见Ramos等人,Handb.Exp.Pharmacol.,249:109-128(2017)以及图1。

[0045] 如本文所详述,已经鉴定出用于鉴定“冷”肿瘤的多种指标,包括例如低干扰素应答基因特征、低肿瘤免疫浸润、高原神经排除基因特征和/或高RCOR2表达。在一些方面,“低”或“高”是指在一种或多种适当的实验或临床对照之间的对比。此外,预期用本文所述的化合物(式(I)的化合物及其苯磺酸盐)治疗诊断为“冷”肿瘤阳性的肿瘤增强免疫细胞(例如T细胞)在这些肿瘤中的浸润,预期这对于患有“冷”肿瘤并因此需要增强T细胞浸润的受试者特别有益。

[0046] 在本文所述方法的一个方面,预期本文所述的癌症患者群体中的一个或多个对用所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐的治疗具有特别好的反应。

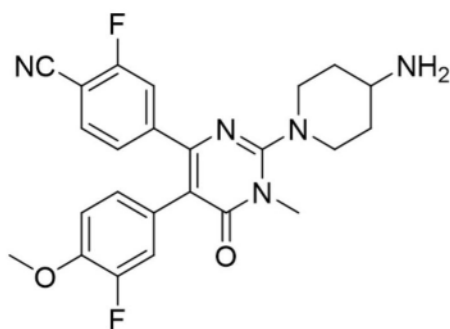
[0047] 在一些方面,所述治疗与一种或多种CPI组合,其中所述癌症患者群体定义为如下群体,其中预期受试者(i)对CPI没有反应,(ii)CPI疗法失败(例如,抗PD1、抗PD1和/或抗PDL1不再起作用),和/或(iii)显示高RCOR2基因表达概况。在一些方面,所述治疗与一种或多种CPI组合,其中所述癌症患者群体定义为如下群体,其中预期受试者(i)对CPI没有反应,(ii)CPI疗法失败(例如,抗PD1、抗PD1和/或抗PDL1不再起作用),和(iii)显示高RCOR2基因表达概况。在一些方面,所述治疗与一种或多种CPI组合,其中所述癌症患者群体定义为如下群体,其中受试者(i)对CPI是初治的,(ii)显示高RCOR2基因表达概况,和(iii)具有低或不可检测的T细胞浸润(冷肿瘤)。

[0048] 在一些方面,所述癌症患者群体被鉴定为包含一种或多种癌症肿瘤的那些,所述癌症肿瘤对于以下诊断为阳性:(1)低干扰素应答基因特征,(2)低免疫细胞浸润,(3)高RCOR2基因表达,和/或(4)高原神经特征。

[0049] 在一些方面,预期本文所述的癌症患者群体中的一个或多个对用本文所述的化合物的治疗具有有利的反应,特别是在所述化合物与CPI组合给予时。

II. 式(I)的化合物

[0050] 在一些方面,本公开文本总体上涉及一种治疗有需要的受试者的癌症的方法,所述方法包括:(a)鉴定具有如本文所述的“冷”肿瘤细胞的癌症受试者;并且(b)向所述患者施用组合物,所述组合物包含治疗有效量的具有式(I)结构的LSD1抑制剂化合物或其药学上可接受的盐如苯磺酸盐,



(I)。

[0051] 上述化合物的化学名称为4-[2-(4-氨基-吡啶-1-基)-5-(3-氟-4-甲氧基-苯基)-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-4-基]-2-氟-苄腈,化学式为 $C_{23}H_{21}F_2N_5O_2$,分子量为437.44,并且CAS号为1821307-10-1。4-[2-(4-氨基-吡啶-1-基)-5-(3-氟-4-甲氧基-苯基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-4-基]-2-氟-苄腈描述于美国专利号US 9,255,097中。

[0052] 在另一方面,所述LSD1抑制剂是所述式(I)的化合物的苯磺酸盐(benzenesulfonic acid salt)(也称为苯磺酸盐(besylate salt))。

[0053] 本文提供了使用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和包含可用于抑制赖氨酸特异性去甲基化酶-1(LSD-1)的化合物的药物组合物治疗复发性和/或难治性实体瘤(包括神经内分泌癌(NEC))和非霍奇金淋巴瘤(NHL)等方法。在一个方面,用本文所述的方法治疗本文所述的优选癌症患者群体。

[0054] 式(I)的化合物描述于美国专利号9,255,097,2016年1月5日提交的美国申请号14/988,022,2016年2月8日提交的美国申请号15/018,814,和国际专利申请号PCT/US2015/028635中,所有这些都要求2014年5月1日提交的美国申请号61/987,354的优先权权益;以及在2015年11月5日提交的美国申请号62/251,507中描述的那些。关于本文所述方法中使用的化合物的背景描述于美国专利号9,255,097和10,328,077中。这些申请中的每一个的内容都出于所有目的通过引用以其整体具体地并入。

[0055] 在一些实施方案中,本文公开的化合物能够通过使生物样品与式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐接触而抑制生物样品中的LSD-1活性。在一些实施方案中,式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐能够调节生物样品中组蛋白-4赖氨酸-3甲基化的水平。在一些实施方案中,式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐能够调节生物样品中组蛋白-3赖氨酸-9甲基化水平。

[0056] 特别地,认为本文所述的化合物通过抑制LSD1而增加对于抗PD1剂的反应。LSD1与RCOR2处于功能性复合体中。因此,预期高RCOR2表达是具有活性LSD1并将对本文所述的化合物(特别是在其与CPI组合给予时)具有反应的肿瘤的指标。

[0057] LSD1与多胺氧化酶和单胺氧化酶具有相当程度的结构相似性和氨基酸同一性/同源性,所有这些(即,MAO-A、MAO-B和LSD-1)都是催化氮-氢键和/或氮-碳键氧化的黄素依赖性胺氧化酶。LSD1还包括N端SWIRM结构域。有两种通过选择性剪接产生的LSD1转录物变体。

[0058] 式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐缺乏显著的MAO-A或MAO-B抑制性活性。在一些实施方案中,式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐抑制LSD1抑制性活性的程度高于其抑制MAO-A和/或MAO-B抑制性活性的程度。

[0059] 不希望受任何理论的束缚,认为本文所述的化合物不阻断LSD1的表达。

III. 免疫检查点抑制剂

[0060] 免疫检查点是指根植到免疫系统的大量抑制性途径,其在正常生理条件下对于保持自身耐受性和调节外周组织中的生理免疫应答的持续时间和幅度以使响应于病原性感染的侧支组织损伤最少化是至关重要的。然而,免疫检查点蛋白的表达通常因肿瘤而失调,而作为重要的免疫耐药性和逃逸机制。

[0061] 因为许多免疫检查点由配体-受体相互作用启动,所以它们可以容易地被抗体阻断或被重组形式的配体或受体调节。因此,抑制这些途径显现是激活治疗性抗肿瘤免疫的有前景的方法。例如,细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4 (CTLA4) 抗体是实现美国食品和药物管理局 (FDA) 批准的这类免疫治疗剂中的第一种。关于另外的免疫检查点蛋白如程序性细胞死亡蛋白1 (PD1) 的抑制剂的初步临床发现表明增强抗肿瘤免疫的广泛且多样的机会,具有产生持久临床反应的潜力。

[0062] 通过阻断免疫检查点实现T细胞激活已经是治疗性操纵内源性抗肿瘤免疫的努力的主要焦点,这归功于T细胞在所有细胞区室中选择性识别源自蛋白质的肽的能力;它们直接识别和杀伤抗原表达细胞(通过CD8+效应T细胞;也称为细胞毒性T淋巴细胞 (CTL)) 的能力;以及它们协调整合了适应性和先天性效应机制的多种免疫应答(通过CD4+辅助性T细胞)的能力。因此,共刺激受体的激动剂或抑制性信号的拮抗剂是目前临床测试中所关注的药剂,两者都引起抗原特异性T细胞应答的放大。

[0063] 表1. 免疫检查点靶标的非限制性列表。示例性CPI包括但不限于抗PDL1和/或抗PD1。

表1	
靶标	生物功能
CTLA4	抑制性受体
PD1	抑制性受体
PDL1	PD1的配体
LAG3	抑制性受体
B7.1	共刺激分子
B7-H3	抑制性配体
B7-H4	抑制性配体
TIM3	抑制性受体
VISTA	抑制性受体
CD137	共刺激分子
OX-40	共刺激受体
CD40	共刺激分子
CD27	共刺激受体
CCR4	共刺激受体
GITR	共刺激受体
NKG2D	激活性受体
KIR	共刺激受体
CTLA4, 细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4; LAG3, 淋巴细胞激活基因3; PD1, 程序性细胞死亡蛋白1; PDL, PD1配体; TIM3, T细胞膜蛋白3; VISTA, T细胞激活的V结构域免疫球蛋白(Ig)抑制因子; KIR, 杀伤细胞IgG样受体。	

[0064] 目前批准的或正在开发的免疫CPI包括但不限于YERVOY® (伊匹单抗)、OPDIVO™

(纳武单抗)、KEYTRUDA®(派姆单抗)、曲美木单抗、加利昔单抗、MDX-1106、BMS-936558、MEDI4736、MPDL3280A、MEDI6469、BMS-986016、BMS-663513、PF-05082566、IPH2101、KW-0761、CDX-1127、CP-870、CP-893、GSK2831781、MSB0010718C、MK3475、CT-011、AMP-224、MDX-1105、IMP321和MGA271,以及针对表1中提到的免疫检查点蛋白的许多其他抗体和/或融合蛋白。可以被检查点抑制剂(CPI)靶向的常见免疫检查点蛋白包括但不限于B7.1、B7-H3、LAG3、CD137、KIR、CCR4、CD27、OX40、GITR、CD40、CTLA4、PD-1和PD-L1。

[0065] 在一些方面,所述CPI疗法选自抗PD-1、抗PDL1、抗CTLA4、抗LAG3、抗B7.1、抗B7H3、抗B7H4、抗TIM3、抗VISTA、抗CD137、抗OX40、抗CD40、抗CD27、抗CCR4、抗GITR、抗NKG2D和抗KIR中的一种或多种。

IV. “冷”肿瘤的标记

[0066] 在一些方面,优选的癌症患者群体被鉴定为包含一种或多种“冷”癌症肿瘤的那些,所述“冷”癌症肿瘤对于以下诊断为阳性:(1)低干扰素特征,(2)低免疫细胞浸润,(3)高RCOR2表达,和/或(4)高原神经特征。在一些方面,优选的癌症患者群体被鉴定为包含一种或多种“冷”癌症肿瘤的那些,所述“冷”癌症肿瘤对于高RCOR2表达和/或高原神经特征诊断为阳性。在一些方面,优选的癌症患者群体被鉴定为患有展现出RCOR2的高表达的癌症的那些。在一些方面,优选的癌症患者群体被鉴定为患有展现出高原神经特征的癌症的那些。在一些方面,优选的癌症患者群体被鉴定为患有展现出RCOR2的高表达和高原神经特征的癌症的那些。

[0067] 在一些方面,优选的癌症患者群体被鉴定为相对于患有相同肿瘤类型的其他患者中肿瘤的平均RCOR2基因表达,对于RCOR2的高基因表达诊断为阳性的那些。在一些方面,优选的癌症患者群体被鉴定为相对于患有相同肿瘤类型的其他患者中肿瘤的中值RCOR2基因表达,对于RCOR2的高基因表达诊断为阳性的那些。在一些方面,RCOR2的高基因表达在患有相同肿瘤类型的其他患者中的肿瘤表达的前5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、90%或95%中。在一些方面,RCOR2的高基因表达在患有相同肿瘤类型的其他患者中的肿瘤表达的前50%中。

[0068] 在一些方面,图2和图3形象地绘制出待用本文所述的方法治疗的优选的患者群体。图2示出患有富含T细胞的“热”肿瘤的患者群体,所述患者群体对单一药剂CPI治疗具有反应。然而,患有具有低/无T细胞浸润的“冷”肿瘤的患者群体对用单一药剂CPI的治疗没有反应。含有具有RCOR2高表达的癌细胞的患者可以受益于用LSD1抑制剂式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐的治疗。这是因为LSD1抑制剂是LSD1的可逆拮抗剂,预期其允许T细胞浸润,因此增强CPI如抗PD1化合物对抗癌细胞的活性。类似地,图3以图形示出优选的患者群体,所述患者群体具有RCOR2特征的高表达,因此具有低T细胞浸润且对单一CPI治疗无反应。

[0069] 如以下实施例中所述,使用TCGA RNA-Seq数据来鉴定与T细胞排除(TCE) (“冷”肿瘤)相关的基因。利用具有一系列热肿瘤样品和冷肿瘤样品、对IO疗法具有不同反应率和在数据集中的大量患者的肿瘤类型:卵巢癌(OV, n=430);膀胱癌(BLCA, n=411);和黑色素瘤(SKCM, n=368)。在每种肿瘤类型内,样品根据单基因CD8A的表达排序,并分成四分位数,其中第1个四分位数(最低表达)标记为冷,且第4个四分位数(最高表达)标记为热。参见图4(示出3种肿瘤类型中基因表达的重叠;发现与T细胞排除相关的核心105原神经基因特征在

所有三种肿瘤类型中是共有的。

[0070] 在样品的第1个四分位数和第4个四分位数之间的差异基因表达分析对于每种肿瘤类型鉴定出两组基因。热基因-例如在热样品中具有显著更高表达的基因(高CD8A)和冷基因-例如在冷样品中具有显著更高表达的基因(低CD8A)。对每个基因列表进行途径和基因特征分析,并且存在在多种肿瘤类型中共有的105原神经T细胞排除基因特征。因此,在所有三种肿瘤类型(OV、BLCA和SKCM)中,鉴定出核心105原神经基因特征。参见图4。

[0071] 图5示出原神经T细胞排除基因特征在正常脑中富集。图5中的热图示出105种原神经T细胞排除基因(每行是基因,并且每列是来自GTEx的正常组织样品,彩色示出所述基因在样品中的相对表达)。与其他GBM亚型(TCGA,数据未示出)相比,50%的基因在脑中示出最高表达,并且60%的基因在原神经GBM中示出更高表达。图6A示出展现癌细胞系的亚组具有原神经特征的高表达和干扰素应答基因的低表达的热图,并且图6B示出原神经排除与IFNG应答的关系的图。

[0072] 图7A示出与RCOR2相比,KDM1A(LSD-1)在正常组织中更高度地表达。在图7B中,RCOR2在不同癌症类型中示出比LSD1更大的动态表达范围。

[0073] 表2.与“冷”肿瘤相关的另外基因涉及调节组蛋白和DNA甲基化。

符号	名称	注释
RCOR2	REST辅阻遏物2	激活KDM1A
KDM1A	赖氨酸(K)特异性去甲基化酶1A	H3K4去甲基化酶
CHD7	染色质域螺旋酶DNA结合蛋白7	与H3K4me相互作用
CHD4	染色质域螺旋酶DNA结合蛋白4	染色质重塑剂,调节H3K4me水平
CHD6	染色质域螺旋酶DNA结合蛋白6	染色质重塑剂
MBTD1	含mbt结构域的蛋白1	稳定H3K4me1和H3K20me1
TET1	tet甲基胞嘧啶双加氧酶1	DNA甲基化
TET3	tet甲基胞嘧啶双加氧酶3	DNA甲基化
CBX2	染色框同源物2	染色质重塑和组蛋白的修饰

[0074] 105原神经基因特征包括以下105种基因:AK056486、NKAIN1、FAM183A、SAMD13、LINC00622、CHRNA2、MEX3A、IGSF9、C10RF192、CCDC181、OCLM、PPFIA4、PANK1、B4GALNT4、GAS2、MS4A8、MYRF、RCOR2、FLRT1、AK313893、NXPH4、BC073932、MSI1、CCDC169、FREM2、ATP7B、AF339817、AK124233、GPX2、PAR5、PLA2G4F、IGDCC3、GOLGA6L10、UBE2Q2P2、WDR93、PDIA2、CASKIN1、AK096982、TOX3、AK057689、C16ORF3、AK127378、EFNB3、DNAH2、ANKRD13B、SOCS7、RAMP2-AS1、FAM171A2、ADAM11、METAZOASRP_75、CBX2、ZNF850、LOC100379224、TTYH1、VN1R1、MEIS1-AS3、LONRF2、BC022892、KLHL23、AX747067、CCDC108、IRS1、KIF1A、FLRT3、SIM2、IGSF5、CECR5-AS1、FAM227A、AX747137、FGD5P1、ACVR2B、LOC646903、FGFR3、FLJ13197、SLC10A4、TTC23L、MCIDAS、GUSBP9、GPR98、SEMA6A、PCDHGC4、USP49、TMEM151B、AK125212、PACRG、AK123300、COL28A1、SOSTDC1、AK098769、FKBP6、DPY19L2P4、EPO、CTTNBP2、KIAA1549、TAS2R5、FAM86B2、DQ595103、CHD7、AK094577、WNK2、TMEFF1、AL390170、MUM1L1、HS6ST2和PNCK。105原神经基因特征与胶质母细胞瘤(GBM)中的包括175种原神经基因的原神经基因特征相似。

[0075] 在一些方面中,所述原神经基因特征包括以下141种基因:CASKIN1、CBX2、CHD7、

CHRNA2、CHRNA3、EFNA3、FREM2、KCNMB2、KDM1A、KDM5B、KIAA1549、KIF1A、LRP4、MEX3A、MSI1、NKAIN1、ONECUT2、OTUD3、RCOR2、RIMKLA、SBK1、SOCS7、TET3、TMEFF1、WNK2、ACVR2B、ADAM11、ADAMTS20、ALX3、ANKRD13B、ATP7B、B4GALNT4、C16orf3、C1orf192、CCDC108、CCDC150、CCDC169、CCDC181、CDH8、CECR2、CENPV、CNTNAP5、COL28A1、COL6A4P1、CTTNBP2、DNAH2、DNAJB7、EP0、FAM171A2、FAM183A、FAM227A、FAM84A、FAM86B2、FGD5P1、FGF12、FGFR3、FKBP6、FLJ13197、FLRT1、FLRT3、FSIP2、GAS2、GDF11、GOLGA6L10、GPR125、GPR98、GPX2、GUSBP9、HOXC13、HS6ST2、IGDCC3、IGSF11、IGSF5、IGSF9、INA、IRS1、ISM2、KC6、KIAA1804、KLHL11、KLHL23、LINC00470、LINC00622、LOC100379224、LOC100631378、LOC148709、LOC641515、LOC646903、LONRF2、LPHN3、MCIDAS、MED12L、MS4A8、MUM1L1、MYRF、NKPD1、NRG4、NXPH4、OCLM、PACRG、PANK1、PAR5、PARD6G、PCDHB11、PCDHGA1、PCDHGC4、PDIA2、PGAP1、PIANP、PLA2G4F、PLCB1、PLCE1、PNCK、PPFIA4、PPM1L、SAMD13、SEMA6A、SERPINB12、SIM2、SLC10A4、SLC30A10、SLC9A4、SLC01A2、SOSTDC1、STOX2、SYT14、SYT2、TAS2R5、TMEM151B、TOX3、TRIM45、TTC23L、TTYH1、UBE2Q2P2、USP49、VN1R1、WDR72、WDR93、ZBTB12、ZNF663和ZNF850。

[0076] 在一些方面,所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述基因中的至少约10%或至少约15%的基因表达增加。在一些方面,所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述基因中的至少约20%、至少约25%、至少约30%或至少约35%的基因表达增加。在一些方面,所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述基因中的至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%或至少约75%的基因表达增加。在一些方面,所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述基因中的至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%或至少约85%的基因表达增加。在一些方面,所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述基因中的至少约90%的基因表达增加。

[0077] 在一些方面,利用本文称为SCLC_20的原神经特征基因的亚组作为冷肿瘤类型的标记。所述SCLC_20原神经特征基因如下:RCOR2、NKAIN1、MSI1、CBX2、IGDCC3、GPC2、CECR2、KLHL23、TMEFF1、MEX3A、KIAA1549、FAM171A2、CENPV、INA、TMEM151B、KIF1A、SYT14、ONECUT2、KDM1A和CHRNA2。在一些方面,冷肿瘤的标记包括SCLC_20原神经特征基因中的一种或多种的高或增加的表达。在一些方面,冷肿瘤的标记包括SCLC_20原神经特征基因中的一种或多种、两种或更多种、三种或更多种、四种或更多种、五种或更多种、六种或更多种、七种或更多种、八种或更多种、九种或更多种、十种或更多种、十一种或更多种、十二种或更多种、十三种或更多种、十四种或更多种、十五种或更多种、十六种或更多种、十七种或更多种、十八种或更多种、十九种或更多种或二十种的高或增加的表达。在一些方面,所述SCLC_20的高或增加的表达是相对于对照样品而言的。在一些方面,所述对照样品缺乏冷肿瘤细胞。

[0078] 在一些方面,称为亚组1的原神经特征基因亚组包含以下或由以下组成:RCOR2、MSI1、CBX2、IGDCC3、TMEFF1、MEX3A、KIAA1549、FAM171A2、KIF1A、KDM5B、SBK1、LRP4、TET3、CASKIN1、NKAIN1、KDM1A、CECR2、KLHL23、CENPV、TMEM151B。在一些方面,冷肿瘤的标记包括亚组1原神经特征基因中的一种或多种的高或增加的表达。在一些方面,冷肿瘤的标记包括亚组1原神经特征基因中的一种或多种、两种或更多种、三种或更多种、四种或更多种、五种或更多种、六种或更多种、七种或更多种、八种或更多种、九种或更多种、十种或更多种、十

一种或更多种、十二种或更多种、十三种或更多种、十四种或更多种、十五种或更多种、十六种或更多种、十七种或更多种、十八种或更多种、十九种或更多种或二十种的高或增加的表达。在一些方面,亚组1原神经特征基因的高或增加的表达是相对于对照样品而言的。在一些方面,所述对照样品缺乏冷肿瘤细胞。

[0079] 在一些方面,使用诸如单样品基因集富集分析(ssGSEA)的方法[Barbie等人(2009)Systematic RNA interference reveals that oncogenic KRAS-driven cancers require TBK1.Nature,462:108-112.],使用例如GSVA R包(Hänzelmann等人,(2013).“GSVA:gene set variation analysis for microarray and RNA-Seq data.”BMC Bioinformatics,14,7.doi:10.1186/1471-2105-14-7,[www].biomedcentral.com/1471-2105/14/7],组合使用从对于特征中的单独基因进行的RNA测序得到的表达值,产生综合总得分。在一些方面,由原神经特征定义的冷癌症肿瘤是具有大于-0.05的原神经ssGSEA总得分的肿瘤。在一些方面,由原神经特征定义的冷癌症肿瘤是具有至少-0.05、至少-0.06、至少-0.07、至少-0.08、至少-0.09、至少-0.1、至少-0.15、至少-0.2、至少-0.25、至少-0.3、至少-0.35、至少-0.4、至少-0.45、至少-0.5、至少-0.55、至少-0.6、至少-0.65、至少-0.7、至少-0.75、至少-0.8、至少-0.85、至少-0.9或至少-0.95的原神经ssGSEA总得分的肿瘤。在一些方面,由原神经特征定义的冷癌症肿瘤是具有在-0.05至-0.95之间、在-0.05至-0.55之间、在-0.55至-0.95之间、在-0.1至-0.25之间、在-0.25至-0.55之间或在-0.75至-0.95之间的原神经ssGSEA总得分的肿瘤。

[0080] 在一些方面,所述原神经ssGSEA总得分基于下述亚组A的干扰素应答基因计算。在一些方面,所述原神经ssGSEA总得分基于亚组A的干扰素应答基因的至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%计算。

[0081] 在一些方面,所述原神经ssGSEA总得分基于下述200种干扰素应答基因计算。在一些方面,所述原神经ssGSEA总得分基于下述200种干扰素应答基因的至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%计算。

[0082] GSEA是一种设计用于评估功能相关基因在基于RNA测序数据的情况下在两个明确定义的样品组之间形成集合的协同行为的方法。因为GSEA不依赖于关注的“基因列表”,而是依赖于基因的整体排序,所以已经表明GSEA提供了更大的灵敏度来发现小量级的在特定功能相关基因集中协同作用的基因表达变化。ssGSEA计算每个样品的基因集富集得分,作为基因集内外基因表达排序的经验累积分布函数的归一化差异。

[0083] 在一些方面,一些冷细胞系具有(1)原神经特征、(2)SCLC_20原神经特征和/或(3)亚组1原神经特征的高表达以及干扰素应答基因的低表达。

[0084] 所述干扰素应答基因包括:AC124319.1、ADAR、APOL6、ARID5B、ARL4A、AUTS2、B2M、BANK1、BATF2、BPGM、BST2、BTG1、C1R、C1S、CASP1、CASP3、CASP4、CASP7、CASP8、CCL2、CCL5、CCL7、CD274、CD38、CD40、CD69、CD74、CD86、CDKN1A、CFB、CFH、CIITA、CMKLR1、CMPK2、CMTR1、CSF2RB、CXCL10、CXCL11、CXCL9、DDX58、DDX60、DHX58、EIF2AK2、EIF4E3、EPSTI1、FAS、FCGR1A、FGL2、FPR1、GBP4、GBP6、GCH1、GPR18、GZMA、HELZ2、HERC6、HIF1A、HLA-A、HLA-B、HLA-DMA、HLA-DQA1、HLA-DRB1、HLA-G、ICAM1、IDO1、IFI27、IFI30、IFI35、IFI44、IFI44L、IFIH1、IFIT1、IFIT2、IFIT3、IFITM2、IFITM3、IFNAR2、IFL10RA、IL15、IL15RA、IL18BP、IL2RB、IL4R、IL6、IL7、IRF1、IRF2、IRF4、IRF5、IRF7、IRF8、IRF9、ISG15、ISG20、ISOC1、ITGB7、JAK2、

KLRK1、LAP3、LATS2、LCP2、LGALS3BP、LYSE、LYSMD2、1-MAR、METTL7B、MT2A、MEHFD2、MVP、MX1、MX2、MYD88、NAMPT、NCOA3、NFKB1、NFKBIA、NLRC5、NMI、NOD1、NUP93、OAS2、OAS3、OASL、OGFR、P2RY14、PARP12、PARP14、PDE4B、PELI1、PFKP、PIM1、PLA2G4A、PLSCR1、PML、PNP、PNPT1、PSMA2、PSMA3、PSMB10、PSMB2、PSMB8、PSMB9、PSME1、PSME2、PTGS2、PTPN1、PTPN2、PTPN6、RAPGEF6、RBCK1、RIPK1、RIPK2、RNF31、RSAD2、RTP4、SAMD9L、SAMHD1、SECTM1、SELP、SERPING1、SLAMF7、SLC25A28、SOCS1、SOCS3、SOD2、SP110、SPPL2A、SRI、SSPN、ST3GAL5、ST8SIA4、STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、TAP1、TAPBP、TDRD7、TNFAIP2、TNFAIP3、TNFAIP6、TNFAIP10、TOR1B、TRAFFD1、TRIM14、TRIM 21、TRIM25、TRIM 26、TXNIP、UBE2L6、UPP1、USP18、VAMP5、VAMP8、VCAM1、WARS、XAF1、XCL1、ZBP1和ZNF1。

[0085] 在一些方面,称为亚组A的干扰素应答基因亚组包括B2M、APOL6、CD86、IL15、IRF1、LCP2、CASP1、PSMB10、HLA-DMA、CD74、IL15RA、HLA-DRB1、FGL2、HLA-B、KLRK1、IL7、STAT4、CIITA、IL10RA和SAMD9L。

[0086] 在一些方面,干扰素应答基因和/或干扰素应答基因亚组A的低表达是小于0.2的单样品基因集富集分析(ssGSEA)总得分。在一些方面,干扰素应答基因和/或干扰素应答基因亚组A的低表达是小于0.2、小于0.175、小于0.15、小于0.125、小于0.1、小于0.075、小于0.05、小于0.025或小于0.001的ssGSEA总得分。在一些方面,干扰素应答基因和/或干扰素应答基因亚组A的低表达是在0.001至0.2之间、在0.001至0.175之间、在0.001至0.15之间、在0.001至0.125之间、在0.001至0.1之间、在0.001至0.075之间、在0.001至0.025之间、在0.025至0.2之间、在0.025至0.175之间、在0.025至0.15之间、在0.025至0.125之间、在0.025至0.1之间、在0.025至0.075之间、在0.025至0.05之间、在0.05至0.2之间、在0.05至0.175之间、在0.05至0.15之间、在0.05至0.125之间、在0.05至0.1之间、在0.05至0.075之间、在0.075至0.2之间、在0.075至0.15之间、在0.075至0.1之间、在0.1至0.2之间、在0.1至0.175之间、在0.1至0.15之间、在0.1至0.125之间、在0.125至0.2之间、在0.125至0.175之间、在0.125至0.15之间、在0.15至0.2之间、在0.15至0.175之间和在0.175至0.2之间的ssGSEA总得分。

[0087] 在一些方面,当通过测定蛋白质表达和RNA的任何手段测量时,干扰素应答基因中的一种或多种的表达的缺乏相当于没有可测量的例如AC123419.1蛋白质/mRNA的表达。

[0088] 在一些方面,所述患者的癌细胞在测量表达水平的情况下展现出所述干扰素应答基因中的至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%或至少约80%的基因表达降低。

[0089] 在一些方面,优选的癌症患者群体被鉴定为包含一种或多种“冷”肿瘤的那些,所述“冷”肿瘤对于在一种或多种肿瘤中的低免疫细胞浸润诊断为阳性。在一些方面,低免疫细胞浸润是淋巴细胞的减少或缺失。在一些方面,低免疫细胞浸润是肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)的减少或缺失。在一些方面,低免疫细胞浸润是树突细胞的减少或缺失。在一些方面,低免疫细胞浸润是髓样细胞的减少或缺失。在一些方面,低免疫细胞浸润是NK细胞的减少或缺失。在一些方面,低免疫细胞浸润是巨噬细胞的减少或缺失。在一些方面,低免疫细胞浸润是T细胞的减少或缺失。在一些方面,低免疫细胞浸润是CD8+T细胞的减少或缺失。在一些方面,低免疫细胞浸润是CD4+T细胞的减少或缺失。在一些方面,低免疫细胞浸润是CD4+T细胞的减少或缺失。在一些方面,低免疫细胞浸润是CD4+T细胞的减少或缺失。

CD8+T细胞的减少或缺失。

[0090] 在一些方面,低免疫细胞浸润是淋巴细胞、TIL、树突细胞、髓样细胞、巨噬细胞、T细胞、CD8+T细胞、CD4+T细胞和/或CD8+/CD4+T细胞的减少或缺失。

[0091] 在一些方面,低免疫细胞浸润是在一种或多种肿瘤中免疫细胞浸润的量减少至少约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%或约95%。在一些方面,所述减少是相对于对照、“热”肿瘤或非“冷”肿瘤测量的。

[0092] 在一些方面,肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)是CD4+淋巴细胞。在一些方面,TIL是CD8+淋巴细胞。在一些方面,TIL是CD4+淋巴细胞和CD8+淋巴细胞两者。在一些方面,TIL是CD4-T细胞。在一些方面,TIL是CD8-TIL。在一些方面,TIL是CD4-/CD8-。

[0093] 在一些方面,肿瘤内免疫细胞浸润的存在是通过大量RNA谱分析数据中T细胞标记物的基因表达水平测量或估计的。在一些方面,肿瘤内的免疫细胞浸润是通过细胞分选方法测量的。在一些方面,免疫细胞浸润是通过免疫组织化学方法测量的。在一些方面,免疫细胞浸润是通过免疫组织化学方法利用福尔马林固定的石蜡包埋组织(FFPE)测量的。

[0094] 在一些方面,优选的癌症患者群体被鉴定为包含一种或多种“冷”癌症肿瘤的那些,所述“冷”癌症肿瘤相对于对照组织或非“冷”肿瘤对于RCOR2表达或增加的RCOR2表达诊断为阳性。发现在冷肿瘤类型中RCOR2(也称为REST辅阻遏物2(CoREST2))与T细胞排除基因具有最高相关性。在一些方面,对于正常组织,RCOR2在脑,具体地在皮质中展现出最高表达,在原神经胶质母细胞瘤中特别高地表达。已知RCOR2-LSD1复合体调节组蛋白H3赖氨酸4去甲基化。

[0095] 在一些方面,所述一种或多种肿瘤相对于对照组织展现出RCOR2表达增加至少约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约100%、约125%、约150%、约175%、约200%、约300%、约400%或约500%。

[0096] 在一些方面,RCOR2表达是通过大量mRNA表达,如通过RNA测序或Quantigene测量的。在一些方面,RCOR2表达是通过大量RNA表达使用Quantigene测量的。在一些方面,RCOR2阳性肿瘤由RCOR2 mRNA得分大于0.055定义。在一些方面,将RCOR2 mRNA得分针对对照基因的几何平均值归一化。在一些方面,将RCOR2 mRNA得分针对SCLC细胞系中对照基因PPIB、GUSB、HPRT1的几何平均值归一化。在一些方面,RCOR2阳性肿瘤由RCOR2 mRNA得分为至少0.055、至少0.06、至少0.065、至少0.070、至少0.075、至少0.080、至少0.085、至少0.090、至少0.095、至少0.1、至少0.125、至少0.15、至少0.175、至少0.2、至少0.225、至少0.25、至少0.275、至少0.3、至少0.35、至少0.4、至少0.45、至少0.5、至少0.55、至少0.6、至少0.65、至少0.7、至少0.75、至少0.8、至少0.85、至少0.9或至少0.85定义。在一些方面,RCOR2阳性肿瘤由RCOR2 mRNA得分在0.055至0.95之间、在0.055至0.1之间、在0.1至0.95之间、在0.1至0.5之间、在0.25至0.95之间、在0.25至0.5之间、在0.5至0.95之间、在0.5至0.75之间、在0.75至0.95之间定义。

[0097] 在一些方面,对照基因是管家基因,如GAPDH、ACTB等。在一些方面,利用一种或多种对照基因来对蛋白质表达、mRNA等的高表达、低表达或表达无变化进行相对确定。

[0098] 在一些方面,RCOR2表达是通过蛋白质表达,如通过免疫组织化学(IHC)或免疫荧

光测量的。

[0099] 在一些方面,RCOR2阳性肿瘤由RCOR2蛋白表达值(核H得分)大于60定义。在一些方面,RCOR2蛋白表达值用免疫组织化学测定。在一些方面,RCOR2阳性肿瘤展现出至少60、至少65、至少70、至少75、至少80、至少85、至少90或至少95的RCOR2蛋白表达值。在一些方面,RCOR2阳性肿瘤展现出在60至95之间、在60至90之间、在60至85之间、在60至80之间、在60至75之间、在60至70之间、在60至65之间、在65至90之间、在65至85之间、在65至80之间、在65至75之间、在65至70之间、在70至95之间、在70至90之间、在70至85之间、在70至80之间、在70至75之间、在75至95之间、在75至90之间、在75至85之间、在75至80之间、在80至95之间、在80至90之间、在80至85之间、在85至95之间、在85至90之间或在90至95之间的RCOR2蛋白表达值。

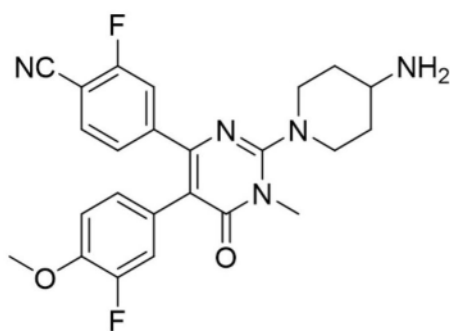
[0100] 在一些方面,H得分(0-300的范围)是每个强度值乘以在此强度下的细胞占100%肿瘤细胞的百分比的乘积的总和。

[0101] $H得分 = (在1+下的\%) * 1 + (在2+下的\%) * 2 + (在3+下的\%) * 3$ 。0=负,1=弱,2=中等,3=强。在一些方面,所述H得分是中值H得分

[0102] 在一些方面,RCOR2阳性肿瘤由来自RNA测序的针对GAPDH表达归一化的RCOR2大量mRNA表达值大于-7.5 ($RCOR2 \log_2 TPM - GAPDH \log_2 TPM$) 定义。TPM=转录物计数/百万份。

V. 药物组合物

[0103] 在一个方面,本文所述方法中使用的化合物是式(I)的化合物,其具有以下结构:



[0104] 在另一方面,本文所述方法中使用的化合物是药学上可接受的盐,诸如但不限于式(I)的化合物的苯磺酸盐(benzenesulfonic acid)(也称为苯磺酸盐(besylate salt))。

[0105] 在一些方面,本公开文本的组合物由或基本上由式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐组成。在一些方面,本公开文本的组合物由或基本上由式(I)的化合物及其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐组成。在一些方面,本公开文本的组合物包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐。在一些方面,本公开文本的组合物包含式(I)的化合物及其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐。

[0106] 在其他方面,本文所述的化合物与药学上合适的或可接受的载体(本文也称为药学上合适的(或可接受的)赋形剂、生理学上合适的(或可接受的)赋形剂或生理学上合适的(或可接受的)载体)组合,所述载体基于所选施用途和如例如在Remington:The Science&Practice of Pharmacy(Gennaro,第21版Mack Pub.Co.,伊斯顿,宾夕法尼亚州(2005))中所述的标准药学实践来选择。

[0107] 本发明提供了一种药物组合物,其包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如

其苯磺酸盐以及一种或多种药学上可接受的载体。如果载体与所述组合物的其他成分相容并且对所述组合物的接受者(即受试者)无害,则一种或多种载体(或一种或多种赋形剂)是可接受的或合适的。

[0108] 一个实施方案提供了一种药物组合物,其包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和药学上可接受的赋形剂。

[0109] 在某些实施方案中,式(I)的化合物基本上是纯的,因为它含有小于约5%、或小于约1%、或小于约0.1%的其他有机小分子,如未反应的中间体或例如在合成方法的一个或多个步骤中产生的合成副产物。

[0110] 在一些方面,所述药物组合物被配制用于口服剂量或可注射剂量。在一些方面,合适的口服剂型包括例如硬或软明胶、甲基纤维素或易于溶解在消化道中的另一种合适材料的片剂、丸剂、小药囊或胶囊。在一些方面,合适的可注射剂量是包含本文所述化合物中的一种或多种的可注射溶液。在一些方面,所述可注射溶液是用于静脉注射的可注射溶液。

[0111] 在一些实施方案中,使用合适的无毒固体载体,其包括例如药物级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、滑石粉、纤维素、葡萄糖、蔗糖、碳酸镁等。(参见,例如 Remington: The Science & Practice of Pharmacy (Gennaro, 第21版 Mack Pub. Co., 伊斯顿, 宾夕法尼亚州(2005))。

[0112] 在一些方面,(a)所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐是赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶1(LSD-1)的抑制剂;和/或(b)所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐是LSD-1的可逆拮抗剂;和/或(c)所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐是LSD-1的可逆抑制剂。在一些方面,当LSD-1被阻断时,由此实现T细胞的浸润,因此允许CPI延缓肿瘤生长和/或减小肿瘤大小,所述CPI可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法。在一些方面,LSD-1被抑制而不能使组蛋白复合体去甲基化,由此实现T细胞的浸润,因此允许CPI疗法延缓肿瘤生长和/或肿瘤变大,所述CPI疗法可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法。在一些方面,LSD-1被阻止与RCOR2形成功能性蛋白复合体,由此实现T细胞的浸润,因此允许CPI疗法延缓肿瘤生长和/或肿瘤变大,所述CPI疗法可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法。在一些方面,所述受试者的癌症具有高非同义突变负荷。

[0113] 在一些方面,(a)所述组合物还包含治疗有效量的依托泊苷;或(b)施用包含治疗有效量的依托泊苷的另外的组合物。在一些方面,(a)所述组合物还包含治疗有效量的铂,并且任选地其中所述铂选自顺铂、卡铂、赛利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂和沙铂;或(b)施用包含治疗有效量的铂的另外的组合物,并且任选地其中所述铂选自顺铂、卡铂、赛利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂和沙铂。

VI. 治疗诊断为阳性的“冷”肿瘤

[0114] 在一些方面,本公开文本涉及治疗有需要的患者的癌症的方法,其包括向所述患者施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐。在本文所述的所有方法中,可以将CPI另外施用到所述受试者。在一些方面,所述有需要的患者是对于一种或多种“冷”肿瘤诊断为阳性的患者,如通过本文所述的以下标记所鉴定:(1)增加的RCOR2表达,(2)低干扰素应答基因特征,(3)减少的肿瘤免疫浸润或无肿瘤免疫浸润,和/或(4)高原神经基因特征。在一些方面,所述有需要的患者是如通过增加的RCOR2表达和/或高原神经基因特征所鉴定的对于一种或多种“冷”肿瘤诊断为阳性的患者。

[0115] 在一些方面,向包含“冷”肿瘤的患者施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐引起所述“冷”肿瘤转化为“热”肿瘤。在一些方面,所述“冷”肿瘤向“热”肿瘤的转化允许免疫细胞浸润到肿瘤中以延缓肿瘤的生长、减小肿瘤的大小/体积和/或破坏肿瘤。在一些方面,所述“冷”肿瘤向“热”肿瘤的转化允许与一种或多种CPI如PD1的伴随疗法有效,甚至在最初对CPI疗法不敏感或变得对CPI疗法不敏感的肿瘤类型中也是如此。

[0116] 在另外的方面,提供了使用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和包含可用于抑制赖氨酸特异性去甲基化酶-1 (LSD-1) 的化合物的药物组合物治疗复发性 and/或难治性实体瘤(包括神经内分泌瘤(NEC)、嗜铬细胞瘤和梅克尔细胞瘤)和非霍奇金淋巴瘤(NHL) 等的方法。复发是指疾病或疾病的体征和症状在改善一段时间后重新出现。难治性是指对治疗没有反应的疾病或病症。难治性癌症是指对治疗没有反应的癌症,并且包括其中癌症在治疗开始时可能具有耐药性或癌症在治疗期间变得具有耐药性的情况。

[0117] 癌症和赘生性疾病的例子包括例如晚期实体瘤、复发性或难治性实体瘤(包括神经内分泌瘤(NEC) 和非霍奇金淋巴瘤)、多形性胶质母细胞瘤、间变性星形细胞瘤、基底细胞癌、肺癌、小细胞肺癌(SCLC)、肺鳞状细胞癌(LUSC)、头颈部鳞状细胞癌(HNSC)、HPV阴性头颈部鳞状细胞癌(HNSC HPV neg)、膀胱癌(BLCA)、膀胱尿路上皮癌、黑色素瘤、皮肤黑色素瘤(SKCM)、乳腺癌、三阴性乳腺癌(TNBC)、卵巢癌(OV)、胃癌、胃腺癌(STAD)、癌(SARC)、前列腺癌和边缘区淋巴瘤。

[0118] 在一些方面,所述患者患有选自以下的癌症:肺癌、小细胞肺癌(SCLC)、肺鳞状细胞癌(LUSC)、头颈部鳞状细胞癌(HNSC)、HPV阴性头颈部鳞状细胞癌(HNSC HPV neg)、膀胱癌(BLCA)、膀胱尿路上皮癌、黑色素瘤、皮肤黑色素瘤(SKCM)、乳腺癌、三阴性乳腺癌(TNBC)、卵巢癌(OV)、胃癌、胃腺癌(STAD)、肉瘤(SARC)、神经内分泌肿瘤、晚期实体瘤、前列腺癌和边缘区淋巴瘤。

[0119] 在一些方面,所述患者患有选自以下的癌症:黑色素瘤、转移性非小细胞肺癌、头颈部鳞状细胞癌、鳞状细胞肺癌、肾细胞癌、霍奇金淋巴瘤、皮肤鳞状细胞癌(CSCC)、不是治愈性手术或治愈性放射的候选者的局部晚期CSCC患者、实体瘤和淋巴瘤、复发性或难治性经典霍奇金淋巴瘤、小细胞肺癌(SCLC)、实体瘤和血液癌症。

[0120] 在一些方面,涉及调节细胞中或受试者中的基因转录的方法,所述方法包括通过将赖氨酸特异性去甲基化酶1暴露于式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐来抑制赖氨酸特异性去甲基化酶1活性。

[0121] 在一些方面,涉及总体上或关于一种或多种特定靶基因调节细胞中或受试者中的去甲基化的方法。调节去甲基化以控制各种细胞功能,包括而不限于:分化;增殖;细胞凋亡;肿瘤发生、白血病发生或其他致癌转化事件;脱发;或性别分化。

[0122] 在一些方面,本公开文本涉及治疗有需要的受试者的癌症的方法,其包括鉴定具有“冷”肿瘤的癌症患者,所述“冷”肿瘤包含展现出以下的细胞:(1)增加的RCOR2表达,(2)低干扰素应答基因特征,(3)减少的肿瘤免疫浸润或无肿瘤免疫浸润,和/或(4)高原神经基因特征;并且向所述患者施用本公开文本的组合物。在一些方面,所述组合物包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐。所述方法可以另外包括施用CPI。

[0123] 在一些方面,鉴定展现出(1)增加的RCOR2表达,(2)低干扰素应答基因特征,(3)减少的肿瘤免疫浸润或无肿瘤免疫浸润,和/或(4)高原神经基因特征的癌细胞的方法包括分

离所述癌细胞或包含所述癌细胞的样品。在一些方面,所述样品是血液样品、淋巴样品和/或组织样品。在一些方面,RCOR2表达、干扰素应答基因特征和/或原神经排除基因特征的测定是测定编码(1)RCOR2、(2)干扰素应答基因特征的基因和/或(3)原神经排除基因特征的基因的mRNA的量。在一些方面,RCOR2表达、干扰素应答基因特征和/或原神经排除基因特征的测定是(1)RCOR2表达、(2)干扰素应答基因特征基因的基因产物和/或(3)原神经排除基因特征基因的基因产物的量的测定。在一些方面,所述基因产物是蛋白质。

[0124] 在一些方面,治疗有需要的受试者的癌症的方法包括鉴定具有癌细胞的癌症患者(所述癌细胞展现出RCOR2的高表达或编码RCOR2的mRNA的高转录),并且向所述患者施用包含治疗有效量的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐的组合物。所述方法可以另外包括施用CPI。

[0125] 在一些方面,治疗有需要的受试者的癌症的方法包括鉴定具有癌细胞的癌症患者(所述癌细胞展现出干扰素应答基因特征基因的基因产物的表达或编码干扰素应答基因特征基因的mRNA的转录),并且向所述患者施用包含治疗有效量的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐的组合物。所述方法可以另外包括施用CPI。

[0126] 在一些方面,治疗有需要的受试者的癌症的方法包括鉴定具有癌细胞的癌症患者(所述癌细胞展现出原神经特征基因的基因产物的表达或编码原神经基因特征基因的mRNA的转录),并且向所述患者施用包含治疗有效量的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐的组合物。所述方法可以另外包括施用CPI。

[0127] 在一些方面,治疗有需要的受试者的癌症的方法包括鉴定具有癌细胞的癌症患者(与“热”肿瘤或非“冷”肿瘤相比,所述癌细胞展现出减少的肿瘤免疫浸润或无肿瘤免疫浸润),并且向所述患者施用包含治疗有效量的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐的组合物。所述方法可以另外包括施用CPI。

[0128] 在一些方面,所述癌细胞是以下癌症中的一种或多种:肺癌、小细胞肺癌(SCLC)、肺鳞状细胞癌(LUSC)、头颈部鳞状细胞癌(HNSC)、HPV阴性头颈部鳞状细胞癌(HNSC HPV neg)、膀胱癌(BLCA)、膀胱尿路上皮癌、黑色素瘤、皮肤黑色素瘤(SKCM)、乳腺癌、三阴性乳腺癌(TNBC)、卵巢癌(OV)、胃癌、胃腺癌(STAD)、肉瘤(SARC)、神经内分泌肿瘤、晚期实体瘤、前列腺癌和边缘区淋巴瘤。

[0129] 在一些方面,所述受试者或患者用CPI如抗程序性细胞死亡蛋白1(PD1)疗法的一种或多种治疗失败。在一些方面,所述受试者或患者用CPI如抗程序性死亡配体1(PD-L1)疗法的一种或多种治疗失败。在一些方面,当受试者或患者的癌症对疗法或治疗没有反应时,所述疗法或治疗失败。在一些方面,当受试者或患者的癌症最初对疗法或治疗具有反应,但所述癌症的疗法或治疗在随后的治疗中无效或有效性大大降低时,所述疗法或治疗失败。

[0130] 在一些方面,所述CPI疗法选自:(a)纳武单抗;(b)派姆单抗;(c)西米普利单抗;(d)斯巴达珠单抗;(e)卡瑞利珠单抗;(f)信迪利单抗;(g)替雷利珠单抗;(h)特瑞普利单抗;(i)AMP-224;(j)MEDI0680;(k)度伐鲁单抗;和(l)替雷利珠单抗。在一些方面,所述抗PDL1疗法选自:(a)阿特利珠单抗;(b)阿维鲁单抗;(c)度伐鲁单抗;(d)KN035;(e)CK-301;(f)CA-170;和(g)BMS-986189。

[0131] 在一些方面,所述患者的癌症展现出冷肿瘤特征。在一些方面,所述患者的癌症展现出冷肿瘤特征。在一些方面,所述患者的癌症对单一药剂CPI疗法没有反应或具有最低反

应。

[0132] 在一些方面,所述患者的癌症对单一药剂CPI疗法没有反应或具有最低反应,并且所述患者的癌细胞展现出RCOR2的高表达或编码RCOR2的mRNA的高转录。

[0133] 在一些方面,所述患者的癌症对单一药剂CPI疗法没有反应或具有最低反应。在一些方面,所述患者的癌症对单一药剂CPI疗法没有反应或具有最低反应,并且所述患者的癌细胞展现出干扰素应答基因特征基因的基因产物的表达或编码干扰素应答基因特征基因的mRNA的转录。

[0134] 在一些方面,所述患者的癌症对单一药剂CPI疗法没有反应或具有最低反应,并且所述患者的癌细胞展现出原神经特征基因的基因产物的表达或编码原神经特征基因的mRNA的转录。

[0135] 在一些方面,所述患者的癌症对单一药剂CPI疗法没有反应或具有最低反应,并且与“热”肿瘤或非“冷”肿瘤相比,所述患者的癌细胞展现出减少的肿瘤免疫浸润或不可检测的肿瘤免疫浸润。

[0136] 在一些方面,所述患者的癌症对单一药剂CPI没有反应或具有最低反应,并且所述患者的癌症展现出一种或多种“冷”肿瘤特征。在一些方面,所述患者的癌症对单一药剂CPI没有反应或具有最低反应,并且所述患者的癌症展现出两种或更多种“冷”肿瘤特征。在一些方面,所述患者的癌症对单一药剂CPI没有反应或具有最低反应,并且所述患者的癌症展现出三种或更多种“冷”肿瘤特征。

[0137] 在一些方面,冷肿瘤特征由肿瘤内的低CD8 T细胞浸润或无CD8 T细胞浸润定义。在一些方面,冷肿瘤特征由基于肿瘤内T细胞的存在而展现出T细胞不发炎或T细胞排除的状态来定义。在一些方面,冷肿瘤特征由肿瘤内的低CD8 T细胞浸润或无CD8 T细胞浸润以及基于肿瘤内T细胞的存在而展现出T细胞不发炎或T细胞排除的状态来定义。

[0138] 在一些方面,肿瘤内T细胞的存在是通过从RNA谱分析数据或大量RNA分析数据测量或估计T细胞标记物的基因表达水平来确定的。

[0139] 在一些方面,所述患者的癌细胞展现出以下基因中的一种或多种的基因表达的增加:AK056486、NKAIN1、FAM183A、SAMD13、LINC00622、CHRNA2、MEX3A、IGSF9、C10RF192、CCDC181、OCLM、PPFIA4、PANK1、B4GALNT4、GAS2、MS4A8、MYRF、RCOR2、FLRT1、AK313893、NXPH4、BC073932、MSI1、CCDC169、FREM2、ATP7B、AF339817、AK124233、GPX2、PAR5、PLA2G4F、IGDCC3、GOLGA6L10、UBE2Q2P2、WDR93、PDIA2、CASKIN1、AK096982、TOX3、AK057689、C16ORF3、AK127378、EFNB3、DNAH2、ANKRD13B、SOCS7、RAMP2-AS1、FAM171A2、ADAM11、METAZOASRP_75、CBX2、ZNF850、LOC100379224、TTYH1、VN1R1、MEIS1-AS3、LONRF2、BC022892、KLHL23、AX747067、CCDC108、IRS1、KIF1A、FLRT3、SIM2、IGSF5、CECR5-AS1、FAM227A、AX747137、FGD5P1、ACVR2B、LOC646903、FGFR3、FLJ13197、SLC10A4、TTC23L、MCIDAS、GUSBP9、GPR98、SEMA6A、PCDHGC4、USP49、TMEM151B、AK125212、PACRG、AK123300、COL28A1、SOSTDC1、AK098769、FKBP6、DPY19L2P4、EPO、CTTNBP2、KIAA1549、TAS2R5、FAM86B2、DQ595103、CHD7、AK094577、WNK2、TMEFF1、AL390170、MUM1L1、HS6ST2和PNCK。在一些方面,所述基因的基因表达的增加是相对于对照基因的基因表达而言的。

[0140] 在一些方面,所述患者的癌细胞展现出以下基因中的一种或多种的基因表达的增加:RCOR2、NKAIN1、MSI1、CBX2、IGDCC3、GPC2、CECR2、KLHL23、TMEFF1、MEX3A、KIAA1549、

FAM171A2、CENPV、INA、TMEM151B、KIF1A、SYT14、ONECUT2、KDM1A和CHRNA2。

[0141] 在一些方面,所述一种或多种基因的基因表达的增加是所列基因数量中的至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%或至少约95%增加。

[0142] 在一些方面,所述一种或多种基因的基因表达的增加是所列基因数量中的至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%增加。

[0143] 在一些方面,所述一种或多种基因的基因表达的增加是所列基因数量中的约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%或约95%增加。

[0144] 在一些方面,所述一种或多种基因的基因表达的增加是增加至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约100%、至少约125%、至少约150%、至少约175%、至少约200%、至少约250%、至少约300%、至少约350%、至少约400%或至少约500%。

[0145] 在一些方面,所述一种或多种基因的基因表达的增加是增加至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少100%、至少125%、至少150%、至少175%、至少200%、至少250%、至少300%、至少350%、至少400%或至少500%。

[0146] 在一些方面,所述一种或多种基因的基因表达的增加是增加约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约100%、约125%、约150%、约175%、约200%、约250%、约300%、约350%、约400%或约500%。

[0147] 在一些方面,所述患者的癌细胞展现出一种或多种干扰素应答基因的基因表达降低,其中所述基因表达的降低是相对于对照基因的基因表达而言的。在一些方面,所述干扰素应答基因选自AC124319.1、ADAR、APOL6、ARID5B、ARL4A、AUTS2、B2M、BANK1、BATF2、BPGM、BST2、BTG1、C1R、C1S、CASP1、CASP3、CASP4、CASP7、CASP8、CCL2、CCL5、CCL7、CD274、CD38、CD40、CD69、CD74、CD86、CDKN1A、CFB、CFH、CIITA、CMKLR1、CMPK2、CMTR1、CSF2RB、CXCL10、CXCL11、CXCL9、DDX58、DDX60、DHX58、EIF2AK2、EIF4E3、EPSTI1、FAS、FCGR1A、FGL2、FPR1、GBP4、GBP6、GCH1、GPR18、GZMA、HELZ2、HERC6、HIF1A、HLA-A、HLA-B、HLA-DMA、HLA-DQA1、HLA-DRB1、HLA-G、ICAM1、IDO1、IFI27、IFI30、IFI35、IFI44、IFI44L、IFIH1、IFIT1、IFIT2、IFIT3、IFITM2、IFITM3、IFNAR2、IFL10RA、IL15、IL15RA、IL18BP、IL2RB、IL4R、IL6、IL7、IRF1、IRF2、IRF4、IRF5、IRF7、IRF8、IRF9、ISG15、ISG20、ISOC1、ITGB7、JAK2、KLRK1、LAP3、LATS2、LCP2、LGALS3BP、LYSE、LYSMD2、1-MAR、METTL7B、MT2A、MEHFD2、MVP、MX1、MX2、MYD88、NAMPT、NCOA3、NFKB1、NFKBIA、NLRC5、NMI、NOD1、NUP93、OAS2、OAS3、OASL、OGFR、P2RY14、PARP12、PARP14、

PDE4B、PELI1、PFKP、PIM1、PLA2G4A、PLSCR1、PML、PNP、PNPT1、PSMA2、PSMA3、PSMB10、PSMB2、PSMB8、PSMB9、PSME1、PSME2、PTGS2、PTPN1、PTPN2、PTPN6、RAPGEF6、RBCK1、RIPK1、RIPK2、RNF31、RSAD2、RTP4、SAMD9L、SAMHD1、SECTM1、SELP、SERPING1、SLAMF7、SLC25A28、SOCS1、SOCS3、SOD2、SP110、SPPL2A、SRI、SSPN、ST3GAL5、ST8SIA4、STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、TAP1、TAPBP、TDRD7、TNFAIP2、TNFAIP3、TNFAIP6、TNFAIP10、TOR1B、TRAFD1、TRIM14、TRIM21、TRIM25、TRIM 26、TXNIP、UBE2L6、UPP1、USP18、VAMP5、VAMP8、VCAM1、WARS、XAF1、XCL1、ZBP1和ZNFX1。

[0148] 在一些方面,所述患者的癌细胞展现出干扰素应答基因中的至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%或至少约95%的基因表达降低。

[0149] 在一些方面,所述患者的癌细胞展现出干扰素应答基因中的至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%的基因表达降低。

[0150] 在一些方面,所述患者的癌细胞展现出干扰素应答基因中的约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%或约95%的基因表达降低。

[0151] 在一些方面,所述患者的癌细胞展现出干扰素应答的基因表达降低至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%或至少约95%。

[0152] 在一些方面,所述患者的癌细胞展现出干扰素应答的基因表达降低至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%。

[0153] 在一些方面,所述患者的癌细胞展现出干扰素应答的基因表达降低约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%或约95%。

[0154] 在一些方面,所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐是赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶1(LSD-1)的抑制剂。在一些方面,所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐是LSD-1的可逆拮抗剂。在一些方面,所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐是LSD-1的可逆抑制剂。在一些方面,所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐是赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶1(LSD-1)的抑制剂,是LSD-1的可逆拮抗剂,和/或是LSD-1的可逆抑制剂。

[0155] 在一些方面,当LSD-1被阻断时,由此实现T细胞的浸润,因此允许CPI疗法延缓肿瘤生长和/或减小肿瘤大小,所述CPI疗法可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法。

[0156] 在一些方面,当LSD-1被抑制而不能使组蛋白复合体去甲基化时,由此实现T细胞的浸润,因此允许CPI疗法延缓肿瘤生长和/或肿瘤变大,所述CPI疗法可以是抗PDL1和/或

抗PD1疗法。在一些方面，LSD-1被阻止与RCOR2形成功能性蛋白复合体，由此实现T细胞的浸润，因此允许CPI疗法延缓肿瘤生长和/或肿瘤变大，所述CPI疗法可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法。

[0157] 在一些方面，施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法(其可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法)引起对“冷”肿瘤诊断为阳性的肿瘤中的T细胞浸润，其中与施用前或施用安慰剂的情况下的T细胞浸润相比，所述T细胞浸润增加至少约10%、至少约25%、至少约75%、至少约100%、至少约125%、至少约150%、至少约175%、至少约200%、至少约250%、至少约300%、至少约400%、至少约500%、至少约600%、至少约700%、至少约800%、至少约900%或至少约1000%。

[0158] 在一些方面，施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法(其可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法)引起对“冷”肿瘤诊断为阳性的肿瘤中的T细胞浸润，其中与施用前或施用安慰剂的情况下的T细胞浸润相比，所述T细胞浸润增加至少10%、至少25%、至少75%、至少100%、至少125%、至少150%、至少175%、至少200%、至少250%、至少300%、至少400%、至少500%、至少600%、至少700%、至少800%、至少900%或至少1000%。

[0159] 在一些方面，施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法(其可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法)引起对“冷”肿瘤诊断为阳性的肿瘤中的T细胞浸润，其中与施用前或施用安慰剂的情况下的T细胞浸润相比，所述T细胞浸润增加约10%、约25%、约75%、约100%、约125%、约150%、约175%、约200%、约250%、约300%、约400%、约500%、约600%、约700%、约800%、约900%或约1000%。

[0160] 在一些方面，施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法引起肿瘤生长的抑制，所述CPI疗法可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法。在一些方面，肿瘤生长的抑制是肿瘤生长速率降低、肿瘤生长完全抑制、肿瘤扩散降低和/或肿瘤扩散完全抑制。

[0161] 在一些方面，施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法引起肿瘤大小减小，所述CPI疗法可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法。在一些方面，施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法引起肿瘤大小减小至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%或至少约95%，所述CPI疗法可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法。

[0162] 在一些方面，施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法引起肿瘤大小减小至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%，所述CPI疗法可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法。

[0163] 在一些方面，施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法引起肿瘤大小减小约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%或约95%，

所述CPI疗法可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法。

[0164] 在一些方面,施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐的同时用治疗有效量的至少一种CPI疗法治疗,所述至少一种CPI疗法可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法。

[0165] 在一些方面,用治疗量的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和治疗有效量的至少一种CPI疗法同时治疗患者,所述至少一种CPI疗法可以是抗PDL1和/或抗PDL1疗法。

[0166] 在一些方面,依序用治疗量的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和治疗有效量的至少一种CPI疗法治疗患者,所述至少一种CPI疗法可以是抗PDL1和/或抗PDL1疗法。

[0167] 在一些方面,包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐的组合物另外包含至少一种CPI疗法,所述至少一种CPI疗法可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法。

[0168] 在一些方面,与单独施用包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐的组合物或CPI疗法相比,用包含(i)治疗有效量的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和(ii)至少一种CPI疗法的组合物进行的治疗组合引起患者存活期增加和/或肿瘤生长减慢,所述至少一种CPI疗法可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法。

[0169] 在一些方面,施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法引起肿瘤生长速率减慢,所述CPI疗法可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法。在一些方面,施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法引起肿瘤生长速率减慢至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%或至少约95%,所述CPI疗法可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法。

[0170] 在一些方面,施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法引起肿瘤生长速率减慢至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%,所述CPI疗法可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法。

[0171] 在一些方面,施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法引起肿瘤生长速率减慢约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%或约95%,所述CPI疗法可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法。

[0172] 在一些方面,与单独施用组合物和/或单独施用CPI疗法的患者所展现出的平均存活时间相比,施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法引起患者的存活期增加至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%或至少约95%,所述CPI疗法可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法。

[0173] 在一些方面,与单独施用组合物和/或单独施用CPI疗法的患者所展现出的平均存

活时间相比,施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法引起患者的存活期增加至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%,所述CPI疗法可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法。

[0174] 在一些方面,与单独施用组合物和/或单独施用CPI疗法的患者所展现出的平均存活时间相比,施用式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法引起患者的存活期增加约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%或约95%,所述CPI疗法可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法。

[0175] 在一些方面,所述抗PD1疗法选自:纳武单抗、派姆单抗、西米普利单抗、斯巴达珠单抗、卡瑞利珠单抗、信迪利单抗、替雷利珠单抗、特瑞普利单抗、AMT-224、MEDI0680、度伐鲁单抗和替雷利珠单抗。

[0176] 在一些方面,所述抗PDL1疗法选自:阿特利珠单抗、阿维鲁单抗、度伐鲁单抗、KN035、CK-301、CA-170和BMS-986189。

[0177] 在一些方面,包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法的组合物还包含有效量的依托泊苷。

[0178] 在一些方面,向有需要的患者施用包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法的组合物还包括施用有效量的依托泊苷,所述CPI疗法可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法。

[0179] 在一些方面,包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法的组合物还包含治疗有效量的铂,所述CPI疗法可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法。在一些方面,所述铂选自顺铂、卡铂、赛利铂、奈达铂、四硝酸三铂、菲铂、吡铂和沙铂。

[0180] 在一些方面,施用包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法的组合物的患者患有选自以下的癌症:肺癌、小细胞肺癌(SCLC)、肺鳞状细胞癌(LUSC)、头颈部鳞状细胞癌(HNSC)、HPV阴性头颈部鳞状细胞癌(HNSC HPV neg)、膀胱癌(BLCA)、膀胱尿路上皮癌、黑色素瘤、皮肤黑色素瘤(SKCM)、乳腺癌、三阴性乳腺癌(TNBC)、卵巢癌(OV)、胃癌、胃腺癌(STAD)、肉瘤(SARC)、神经内分泌肿瘤、晚期实体瘤、前列腺癌和边缘区淋巴瘤,所述CPI疗法可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法。

[0181] 在一些方面,施用包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和CPI疗法的组合物的患者患有选自以下的癌症:黑色素瘤、转移性非小细胞肺癌、头颈部鳞状细胞癌、鳞状细胞肺癌、肾细胞癌、霍奇金淋巴瘤、皮肤鳞状细胞癌(CSCC)、不是治愈性手术或治愈性放射的候选者的局部晚期CSCC患者、实体瘤和淋巴瘤、复发性或难治性经典霍奇金淋巴瘤、小细胞肺癌(SCLC)、实体瘤和血液癌症,所述CPI疗法可以是抗PD1疗法和/或抗PDL1疗法。

[0182] 在一些方面,将包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐的组合物每周施用至少一次。

[0183] 在一些方面,(a)同时用治疗有效量的至少一种CPI治疗患者,所述CPI例如可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法;和/或(b)依序用包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐的组合物和至少一种CPI治疗患者,所述CPI可以是抗PDL1和/或抗PD1疗法;和/或

(c) 包含式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐的组合物另外包含至少一种 CPI, 所述 CPI 可以是抗 PDL1 和/或抗 PD1 疗法。

[0184] 在一些方面, 与单独施用包含式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐的组合物或单独施用 CPI 相比, 用包含 (i) 治疗有效量的式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐和 (ii) 至少一种 CPI 的组合物进行的治疗组合引起患者存活期增加和/或肿瘤生长减慢, 所述 CPI 可以是抗 PDL1 和/或抗 PD1 疗法。

[0185] 在一些方面, 如通过任何临床公认的方法所测量, 肿瘤生长减慢了约 5%、约 10%、约 15%、约 20%、约 25%、约 30%、约 35%、约 40%、约 45%、约 50%、约 55%、约 60%、约 65%、约 70%、约 75%、约 80%、约 85%、约 90%、约 95% 或约 100%。

[0186] 在一些方面, 与单独施用组合物和/或单独施用 CPI 的患者所展现出的平均存活时间相比, 患者的存活期增加了约 5%、约 10%、约 15%、约 20%、约 25%、约 30%、约 35%、约 40%、约 45%、约 50%、约 55%、约 60%、约 65%、约 70%、约 75%、约 80%、约 85%、约 90%、约 95% 或约 100%。

[0187] 在一些方面, 将包含式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐的组合物每天、每两天、每三天、每 4 天、每 5 天、每 6 天、每周一次、每周两次、每周三次、每两周、每月一次、每月两次、每月三次、每月四次、每两个月、每三个月、每四个月、每五个月、每六个月或任何其他合适的给药期施用。

[0188] 在一些方面, 将包含式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐的组合物以片剂、丸剂、小药囊或胶囊的形式施用。在一些方面, 包含式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐的组合物适于口服施用。

[0189] 包含式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐如其苯磺酸盐的组合物剂量根据患者 (例如人) 的状况 (即, 疾病的阶段、一般健康状况、年龄和其他因素) 而不同。

[0190] 将药物组合物以适于待治疗 (或预防) 的疾病的方式施用。适当的剂量和合适的施用持续时间和频率将由诸如患者的状况、患者疾病的类型和严重程度、活性成分的特定形式和施用方法等因素决定。通常, 适当的剂量和治疗方案以足以提供治疗和/或预防益处 (例如改善的临床结局, 如更频繁的完全或部分缓解, 或更长的无病和/或总存活期, 或症状严重程度减轻) 的量提供一种或多种组合物。通常使用实验模型和/或临床试验来确定最佳剂量。最佳剂量取决于患者的身体质量、体重或血容量。

[0191] 口服剂量通常在约 1.0mg 至约 1000mg 的范围内, 每天一次至四次或更多次。

VII. 定义

[0192] 提供以下定义以促进对在整个说明书中使用的某些术语的理解。

[0193] 除非另外定义, 否则本文使用的技术和科学术语具有本领域普通技术人员通常理解的含义。可以使用本领域普通技术人员已知的任何合适的材料和/或方法来实施本文所述的方法。

[0194] 除非上下文另有明确规定, 否则如本文中和所附权利要求中所用, 单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括复数个指示物。因此, 例如, 提及“一种药剂”包括多种这样的药剂, 并且提及“所述细胞”包括提及一个或多个细胞 (或多个细胞) 及其本领域技术人员已知的等效物, 等等。当本文针对物理特性 (如分子量) 或化学特性 (如化学式) 使用范围时, 旨在包括范围的所有组合和子组合及其中的具体实施方案。

[0195] 当提及数字或数值范围时,术语“约”意指所提及的数字或数值范围是在实验变异性内(或在统计实验误差内)的近似值,并且因此,所述数字或数值范围在一些情况下将在所陈述的数字或数值范围的1%与15%之间变化。术语“包含”(以及相关术语,如“包含(comprise或comprises)”或“具有”或“包括”)不旨在排除在本文描述的其他某些实施方案(例如任何物质组合物、组合物、方法或过程等的实施方案)中,“由所描述的特征组成”或“基本上由所描述的特征组成”。

[0196] 如本文所用的术语“施用”包括开出施用的处方以及实际施用,并且包括由被治疗的受试者或由另一个受试者实际施用。

[0197] 如本文所用,短语“对一种或多种‘冷’肿瘤诊断为阳性”是指肿瘤或患有肿瘤的患者展现出下列“冷”肿瘤标记中的一种或多种:增加的RCOR2表达、展现出干扰素应答基因特征、展现出原神经基因特征和/或展现出减少的肿瘤免疫细胞浸润或未展现出可检测的肿瘤免疫细胞浸润。

[0198] 如本文所用,“干扰素应答基因特征”是指AC124319.1、ADAR、APOL6、ARID5B、ARL4A、AUTS2、B2M、BANK1、BATF2、BPGM、BST2、BTG1、C1R、C1S、CASP1、CASP3、CASP4、CASP7、CASP8、CCL2、CCL5、CCL7、CD274、CD38、CD40、CD69、CD74、CD86、CDKN1A、CFB、CFH、CIITA、CMKLR1、CMPK2、CMTR1、CSF2RB、CXCL10、CXCL11、CXCL9、DDX58、DDX60、DHX58、EIF2AK2、EIF4E3、EPSTI1、FAS、FCGR1A、FGL2、FPR1、GBP4、GBP6、GCH1、GPR18、GZMA、HELZ2、HERC6、HIF1A、HLA-A、HLA-B、HLA-DMA、HLA-DQA1、HLA-DRB1、HLA-G、ICAM1、IDO1、IFI27、IFI30、IFI35、IFI44、IFI44L、IFIH1、IFIT1、IFIT2、IFIT3、IFITM2、IFITM3、IFNAR2、IFL10RA、IL15、IL15RA、IL18BP、IL2RB、IL4R、IL6、IL7、IRF1、IRF2、IRF4、IRF5、IRF7、IRF8、IRF9、ISG15、ISG20、ISOC1、ITGB7、JAK2、KLRK1、LAP3、LATS2、LCP2、LGALS3BP、LYSE、LYSMD2、1-MAR、METTL7B、MT2A、MEHFD2、MVP、MX1、MX2、MYD88、NAMPT、NCOA3、NFKB1、NFKBIA、NLRC5、NMI、NOD1、NUP93、OAS2、OAS3、OASL、OGFR、P2RY14、PARP12、PARP14、PDE4B、PELI1、PFKP、PIM1、PLA2G4A、PLSCR1、PML、PNP、PNPT1、PSMA2、PSMA3、PSMB10、PSMB2、PSMB8、PSMB9、PSME1、PSME2、PTGS2、PTPN1、PTPN2、PTPN6、RAPGEF6、RBCK1、RIPK1、RIPK2、RNF31、RSAD2、RTP4、SAMD9L、SAMHD1、SECTM1、SELP、SERPING1、SLAMF7、SLC25A28、SOCS1、SOCS3、SOD2、SP110、SPPL2A、SRI、SSPN、ST3GAL5、ST8SIA4、STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、TAP1、TAPBP、TDRD7、TNFAIP2、TNFAIP3、TNFAIP6、TNFAIP10、TOR1B、TRAFFD1、TRIM14、TRIM 21、TRIM25、TRIM 26、TXNIP、UBE2L6、UPP1、USP18、VAMP5、VAMP8、VCAM1、WARS、XAF1、XCL1、ZBP1和ZNF1。

[0199] 如本文所用,“干扰素应答特征亚组A”是指B2M、APOL6、CD86、IL15、IRF1、LCP2、CASP1、PSMB10、HLA-DMA、CD74、IL15RA、HLA-DRB1、FGL2、HLA-B、KLRK1、IL7、STAT4、CIITA、IL10RA和SAMD9L。

[0200] 如本文所用,“原神经基因特征”或“原神经特征”可互换地指本文所述的105种基因的列表和141种基因的列表。如果提及特定列表,则将指定“105基因列表”或“141基因列表”。

[0201] 原神经特征105基因列表如下:K056486、NKAIN1、FAM183A、SAMD13、LINC00622、CHRNA2、MEX3A、IGSF9、C10RF192、CCDC181、OCLM、PPFIA4、PANK1、B4GALNT4、GAS2、MS4A8、MYRF、RCOR2、FLRT1、AK313893、NXPH4、BC073932、MSI1、CCDC169、FREM2、ATP7B、AF339817、AK124233、GPX2、PAR5、PLA2G4F、IGDCC3、GOLGA6L10、UBE2Q2P2、WDR93、PDIA2、CASKIN1、

AK096982、TOX3、AK057689、C16ORF3、AK127378、EFNB3、DNAH2、ANKRD13B、SOCS7、RAMP2-AS1、FAM171A2、ADAM11、METAZOA_SRP_75、CBX2、ZNF850、LOC100379224、TTYH1、VN1R1、MEIS1-AS3、LONRF2、BC022892、KLHL23、AX747067、CCDC108、IRS1、KIF1A、FLRT3、SIM2、IGSF5、CECR5-AS1、FAM227A、AX747137、FGD5P1、ACVR2B、LOC646903、FGFR3、FLJ13197、SLC10A4、TTC23L、MCIDAS、GUSBP9、GPR98、SEMA6A、PCDHGC4、USP49、TMEM151B、AK125212、PACRG、AK123300、COL28A1、SOSTDC1、AK098769、FKBP6、DPY19L2P4、EP0、CTTNBP2、KIAA1549、TAS2R5、FAM86B2、DQ595103、CHD7、AK094577、WNK2、TMEFF1、AL390170、MUM1L1、HS6ST2和PNCK。

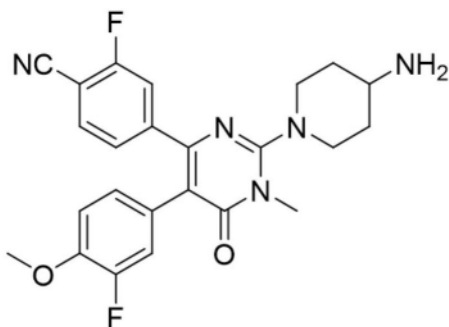
[0202] 原神经特征141基因列表如下：CASKIN1、CBX2、CHD7、CHRNA2、CHRNA3、EFNB3、FREM2、KCNMB2、KDM1A、KDM5B、KIAA1549、KIF1A、LRP4、MEX3A、MSI1、NKAIN1、ONECUT2、OTUD3、RCOR2、RIMKLA、SBK1、SOCS7、TET3、TMEFF1、WNK2、ACVR2B、ADAM11、ADAMTS20、ALX3、ANKRD13B、ATP7B、B4GALNT4、C16orf3、C1orf192、CCDC108、CCDC150、CCDC169、CCDC181、CDH8、CECR2、CENPV、CNTNAP5、COL28A1、COL6A4P1、CTTNBP2、DNAH2、DNAJB7、EP0、FAM171A2、FAM183A、FAM227A、FAM84A、FAM86B2、FGD5P1、FGF12、FGFR3、FKBP6、FLJ13197、FLRT1、FLRT3、FSIP2、GAS2、GDF11、GOLGA6L10、GPR125、GPR98、GPX2、GUSBP9、HOXC13、HS6ST2、IGDCC3、IGSF11、IGSF5、IGSF9、INA、IRS1、ISM2、KC6、KIAA1804、KLHL11、KLHL23、LINC00470、LINC00622、LOC100379224、LOC100631378、LOC148709、LOC641515、LOC646903、LONRF2、LPHN3、MCIDAS、MED12L、MS4A8、MUM1L1、MYRF、NKPD1、NRG4、NXPH4、OCLM、PACRG、PANK1、PAR5、PARD6G、PCDHB11、PCDHGA1、PCDHGC4、PDIA2、PGAP1、PIANP、PLA2G4F、PLCB1、PLCE1、PNCK、PPFIA4、PPM1L、SAMD13、SEMA6A、SERPINB12、SIM2、SLC10A4、SLC30A10、SLC9A4、SLC01A2、SOSTDC1、STOX2、SYT14、SYT2、TAS2R5、TMEM151B、TOX3、TRIM45、TTC23L、TTYH1、UBE2Q2P2、USP49、VN1R1、WDR72、WDR93、ZBTB12、ZNF663和ZNF850。

[0203] 如本文所用，“受试者”、“患者”或“个体”是指任何受试者、患者或个体，并且这些术语在本文中可互换使用。在这方面，术语“受试者”、“患者”和“个体”包括哺乳动物，并且特别是人。当结合“有需要”使用时，术语“受试者”、“患者”或“个体”意指具有指定症状或障碍或处于指定症状或障碍的风险中的任何受试者、患者或个体。

[0204] 如本文所用，短语“剂量”或“量”的上下文中的“治疗有效”或“有效”意指提供施用一种或多种化合物的特定药理学效果的剂量或量。要强调的是，治疗有效量在给定的受试者中并不总是有效实现预期的效果，即使本领域技术人员认为这样的剂量是治疗有效量。仅为了方便起见，本文提供了示例性剂量。本领域技术人员可以根据本文公开的方法调整这样的量以治疗患有指定症状或障碍的特定受试者。治疗有效量可以基于施用途径和剂型而变化。

[0205] 术语“治疗(treatment)”、“治疗(treating)”或其任何变型包括减少、改善或消除(i)一种或多种指定症状和/或(ii)指定障碍的一种或多种症状或影响。术语“预防(prevention)”、“预防(preventing)”或其任何变型包括减少、改善或消除发展(i)一种或多种指定症状和/或(ii)指定障碍的一种或多种症状或影响的风险。

[0206] 术语“4-[2-(4-氨基-吡啶-1-基)-5-(3-氟-4-甲氧基-苯基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-4-基]-2-氟-苄腈”是指式(I)的化合物，其具有以下结构



[0207] 所述式(I)的化合物描述于美国专利申请号9,255,097中。

[0208] “药学上可接受的盐”包括酸加成盐和碱加成盐两种。本文所述的任何一种取代的杂环衍生化合物的药学上可接受的盐旨在涵盖任何和所有药学上合适的盐形式。优选的本文所述化合物的药学上可接受的盐是药学上可接受的酸加成盐和药学上可接受的碱加成盐。

[0209] “药学上可接受的酸加成盐”是指保留游离碱的生物有效性和特性(其不是生物学上或其他方面不希望的)的那些盐,并且是与无机酸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、氢碘酸、氢氟酸、亚磷酸等形成的。还包括与有机酸形成的盐,所述有机酸例如脂族单羧酸和二羧酸、苯基取代的链烷酸、羟基链烷酸、链烷二酸、芳族酸、脂族和芳族磺酸等,并且包括例如乙酸、三氟乙酸、丙酸、乙醇酸、丙酮酸、草酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、对-甲苯磺酸、水杨酸等。因此,示例性盐包括硫酸盐、焦硫酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、硝酸盐、磷酸盐、磷酸一氢盐、磷酸二氢盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、乙酸盐、三氟乙酸盐、丙酸盐、辛酸盐、异丁酸盐、草酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、辛二酸盐、癸二酸盐、富马酸盐、马来酸盐、扁桃酸盐、苯甲酸盐、氯苯甲酸盐、甲基苯甲酸盐、二硝基苯甲酸盐、邻苯二甲酸盐、苯磺酸盐、甲苯磺酸盐、苯基乙酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、苹果酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐等。还考虑了氨基酸的盐,如精氨酸盐、葡糖酸盐和半乳糖醛酸盐(参见例如Berge S.M.等人, *Pharmaceutical Salts*, J.Pharma.Sci.66:1-19(1997))。在一些实施方案中,根据技术人员熟悉的方法和技术,通过使游离碱形式与足量的所需酸接触以产生盐来制备碱性化合物的酸加成盐。

[0210] “药学上可接受的碱加成盐”是指保留游离酸的生物有效性和特性(其不是生物学上或其他方面不希望的)的盐。这些盐是通过将无机碱或有机碱加成到游离酸上来制备的。在一些实施方案中,药学上可接受的碱加成盐是用金属或胺如碱金属和碱土金属或有机胺形成的。衍生自无机碱的盐包括但不限于钠盐、钾盐、锂盐、铵盐、钙盐、镁盐、铁盐、锌盐、铜盐、锰盐、铝盐等。衍生自有机碱的盐包括但不限于以下的盐:伯胺、仲胺和叔胺;取代的胺,包括天然存在的取代的胺;环状胺和碱性离子交换树脂,例如异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、二乙醇胺、2-二甲基氨基乙醇、2-二乙基氨基乙醇、二环己基胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、N,N-二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、海巴明、胆碱、甜菜碱、乙二胺、亚乙基二苄胺、N-甲基葡糖胺、葡糖胺、甲基葡糖胺、可可碱、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶、聚胺树脂等。参见Berge等人,同上。

[0211] 如本文所用,“治疗(treatment)”或“治疗(treating)”或“缓和”或“改善”可互换使用。这些术语是指用于获得有益或所需结果的方法,所述结果包括但不限于治疗益处和/

或预防益处。“治疗益处”意指根除或改善所治疗的潜在障碍。此外,通过根除或改善与潜在障碍相关的一种或多种生理症状来实现治疗益处,使得在患者中观察到改善,尽管所述患者仍患有潜在障碍。为了预防益处,在一些实施方案中,将组合物施用到具有发展特定疾病风险的患者,或者施用到报告疾病的一种或多种生理学症状的患者,即使可能尚未对此疾病作出诊断。

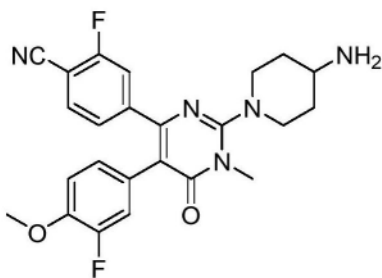
[0212] 如本文所用,“非同义突变负荷”是来自患者/受试者的肿瘤基因组中非同义突变碱基的总数除以所覆盖的基因组的Mb。相对于患有相同类型或分类的肿瘤的其他患者/受试者的非同义突变负荷来确定高或低非同义突变负荷。因此,高和低的确定是相对于实验/临床对照而言的。参见Fernandez等人,(2019),JCO Precis Oncol,3:10.1200/P0/18.00400)。

实施例

[0213] 除非另有说明,否则试剂和溶剂均以从商业供应商处获得的形式使用。对于对水分和/或氧气敏感的合成转化,使用无水溶剂和烘干的玻璃器皿。产率没有优化。反应时间是近似的,并且没有优化。除非另有说明,否则柱色谱和薄层色谱(TLC)在硅胶上进行。光谱以ppm(δ)给出,并且偶联常数J以赫兹报告。对于质子谱,使用溶剂峰作为参考峰。

实施例1

[0214] 本实施例的目的是描述4-[2-(4-氨基-哌啶-1-基)-5-(3-氟-4-甲氧基-苯基)-1-甲基-6-氧代-1,6-二氢-嘧啶-4-基]-2-氟-苄腈(式(I)的化合物)的制备,所述化合物具有以下结构:



[0215] 向N-[1-[4-(4-氰基-3-氟苯基)-5-(3-氟-4-甲氧基苯基)-1-甲基-6-氧代嘧啶-2-基]哌啶-4-基]氨基甲酸叔丁酯(5.2g,9.44mmol)在EA(20mL)中的溶液中添加在EA(30mL)中的1N HCl。在室温下搅拌混合物2小时。真空浓缩溶剂,得到为HCl盐的标题化合物(4.05g,88%)。¹H NMR(400MHz,CD₃OD): δ 1.77-1.79(m,2H),2.02-2.04(m,2H),2.99-3.04(m,2H),3.26-3.00(m,1H),3.38(s,3H),3.73(s,3H),3.73-3.75(m,2H),6.67-6.68(m,1H),6.84-6.95(m,2H),7.12-7.14(m,1H),7.24-7.36(m,1H),7.46-7.50(m,1H)。C₂₄H₂₃F₂N₅O₂的[M+H]⁺计算值:452;实测值:452。

实施例2:作为冷肿瘤生物标记物的T细胞排除特征和RCOR2

[0216] 本实施例的目的是评价RCOR2充当冷肿瘤生物标记物的能力。这种标记物可以在治疗癌症的方法中用于靶向RCOR2表达。

[0217] 使用RNA-seq数据来鉴定与T细胞排除(TCE) (“冷”肿瘤)相关的基因。利用具有一系列热肿瘤样品和冷肿瘤样品、对IO疗法具有不同反应率和在数据集中的大量患者的肿瘤类型:卵巢癌(OV,n=430);膀胱癌(BLCA,n=411);和黑色素瘤(SKCM,n=368)。在每种肿瘤类型内,样品根据单基因CD8A的表达排序,并分成四分位数,其中第1个四分位数(最低表

达)标记为冷,且第4个四分位数(最高表达)标记为热。

[0218] 在样品的第1个四分位数和第4个四分位数之间的差异基因表达分析对于每种肿瘤类型鉴定出两组基因。热基因-例如在热样品中具有显著更高表达的基因(高CD8A)和冷基因-例如在冷样品中具有显著更高表达的基因(低CD8A)。对每个基因列表进行途径和基因特征分析,并且存在在多种肿瘤类型中共有的105原神经T细胞排除基因特征。因此,在所有三种肿瘤类型(OV、BLCA和SKCM)中,鉴定出核心105原神经基因特征。

[0219] 105原神经基因特征包括以下105种基因:AK056486、NKAIN1、FAM183A、SAMD13、LINC00622、CHRNA2、MEX3A、IGSF9、C10RF192、CCDC181、OCLM、PPFIA4、PANK1、B4GALNT4、GAS2、MS4A8、MYRF、RCOR2、FLRT1、AK313893、NXPH4、BC073932、MSI1、CCDC169、FREM2、ATP7B、AF339817、AK124233、GPX2、PAR5、PLA2G4F、IGDCC3、GOLGA6L10、UBE2Q2P2、WDR93、PDIA2、CASKIN1、AK096982、TOX3、AK057689、C16ORF3、AK127378、EFNB3、DNAH2、ANKRD13B、SOCS7、RAMP2-AS1、FAM171A2、ADAM11、METAZOASRP_75、CBX2、ZNF850、LOC100379224、TTYH1、VN1R1、MEIS1-AS3、LONRF2、BC022892、KLHL23、AX747067、CCDC108、IRS1、KIF1A、FLRT3、SIM2、IGSF5、CECR5-AS1、FAM227A、AX747137、FGD5P1、ACVR2B、LOC646903、FGFR3、FLJ13197、SLC10A4、TTC23L、MCIDAS、GUSBP9、GPR98、SEMA6A、PCDHGC4、USP49、TMEM151B、AK125212、PACRG、AK123300、COL28A1、SOSTDC1、AK098769、FKBP6、DPY19L2P4、EPO、CTTNBP2、KIAA1549、TAS2R5、FAM86B2、DQ595103、CHD7、AK094577、WNK2、TMEFF1、AL390170、MUM1L1、HS6ST2和PNCK。

[0220] 105原神经基因特征与胶质母细胞瘤(GBM)中的包括175种原神经基因的原神经基因特征相似。冷细胞系的一个亚组具有原神经特征的高表达和干扰素应答基因的低表达。干扰素应答基因包括:AC124319.1、ADAR、APOL6、ARID5B、ARL4A、AUTS2、B2M、BANK1、BATF2、BPGM、BST2、BTG1、C1R、C1S、CASP1、CASP3、CASP4、CASP7、CASP8、CCL2、CCL5、CCL7、CD274、CD38、CD40、CD69、CD74、CD86、CDKN1A、CFB、CFH、CIITA、CMKLR1、CMPK2、CMTR1、CSF2RB、CXCL10、CXCL11、CXCL9、DDX58、DDX60、DHX58、EIF2AK2、EIF4E3、EPSTI1、FAS、FCGR1A、FGL2、FPR1、GBP4、GBP6、GCH1、GPR18、GZMA、HELZ2、HERC6、HIF1A、HLA-A、HLA-B、HLA-DMA、HLA-DQA1、HLA-DRB1、HLA-G、ICAM1、IDO1、IFI27、IFI30、IFI35、IFI44、IFI44L、IFIH1、IFIT1、IFIT2、IFIT3、IFITM2、IFITM3、IFNAR2、IFL10RA、IL15、IL15RA、IL18BP、IL2RB、IL4R、IL6、IL7、IRF1、IRF2、IRF4、IRF5、IRF7、IRF8、IRF9、ISG15、ISG20、ISOC1、ITGB7、JAK2、KLRK1、LAP3、LATS2、LCP2、LGALS3BP、LYSE、LYSMD2、1-MAR、METTL7B、MT2A、MEHFD2、MVP、MX1、MX2、MYD88、NAMPT、NCOA3、NFKB1、NFKBIA、NLRC5、NMI、NOD1、NUP93、OAS2、OAS3、OASL、OGFR、P2RY14、PARP12、PARP14、PDE4B、PELI1、PFKP、PIM1、PLA2G4A、PLSCR1、PML、PNP、PNPT1、PSMA2、PSMA3、PSMB10、PSMB2、PSMB8、PSMB9、PSME1、PSME2、PTGS2、PTPN1、PTPN2、PTPN6、RAPGEF6、RBCK1、RIPK1、RIPK2、RNF31、RSAD2、RTP4、SAMD9L、SAMHD1、SECTM1、SELP、SERPING1、SLAMF7、SLC25A28、SOCS1、SOCS3、SOD2、SP110、SPPL2A、SRI、SSPN、ST3GAL5、ST8SIA4、STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、TAP1、TAPBP、TDRD7、TNFAIP2、TNFAIP3、TNFAIP6、TNFAIP10、TOR1B、TRAFFD1、TRIM14、TRIM 21、TRIM25、TRIM 26、TXNIP、UBE2L6、UPP1、USP18、VAMP5、VAMP8、VCAM1、WARS、XAF1、XCL1、ZBP1和ZNF1。

[0221] 发现在冷肿瘤类型中RCOR2与T细胞排除基因具有最高相关性。另外,对于正常组织,RCOR2在脑,具体地在皮质中展现出最高表达,在原神经胶质母细胞瘤中特别高地表达。

最后,已知RCOR2-LSD1复合体调节组蛋白H3赖氨酸4去甲基化。

[0222] RCOR2和原神经特征的评价促成将RCOR2和原神经特征鉴定为与IFNG应答中的T细胞浸润反相关。

实施例3:小细胞肺癌 (SCLC) 中的RCOR2和原神经T细胞特征

[0223] 本实施例的目的是评价如下能力:在小细胞肺癌 (SCLC) 中靶向RCOR2和原神经T细胞特征,作为优化有效癌症治疗的方法。

[0224] 在小细胞肺癌中,RCOR2与T细胞浸润(图9A)和干扰素 γ (IFNG或IFN γ) 应答(图9B)反相关。在鉴定SCLC中的表达相关性的热图中,原神经特征和RCOR2展现出与IFN γ 应答的强反相关性(图10A),并且原神经特征得分总体上显示比仅单独的RCOR2更稳健的关系。

[0225] 与仅单独的RCOR2相比,基于RCOR2共表达基因的排除特征的亚组具有更强的反相关性(图11)。这种减少的特征由RCOR2、NKAIN1、MSI1、CBX2、IGDCC3、GPC2、CECR2、KLHL23、TMEFF1、MEX3A、KIAA1549、FAM171A2、CENPV、INA、TMEM151B、KIF1A、SYT14、ONECUT2、KDM1A和CHRNA2组成。

[0226] 虽然已经说明和描述了某些实施方案,但是应理解,在不脱离如所附权利要求中限定的本技术的更广泛方面的情况下,可以根据本领域的普通技术在其中进行改变和修改。

[0227] 本文说明性描述的实施方案可以在不存在本文未具体公开的任何一个或多个要素、一个或多个限制的情况下进行合适的实践。因此,例如,术语“包含”、“包括”、“含有”等应被扩展地且无限制地解读。另外,本文采用的术语和表述已经用作描述性术语而非限制性术语,并且没有意图使用这类术语和表述来排除所示或所述的特征的任何等同物或其部分,但是应认识到在所要求保护的技术的范围内的各种修改是可能的。另外,短语“基本上由……组成”将被理解为包括那些具体叙述的要素和那些实质上不影响所要求保护的技術的基本和新颖特征的另外要素。短语“由……组成”排除未指定的任何要素。

[0228] 本公开文本不受限于本申请中描述的特定实施方案。如本领域技术人员所清楚地,可以在不脱离其精神和范围的情况下进行许多修改和变化。本领域技术人员从前面的描述中将清楚除了本文列举的那些方法和组合物外的在本公开文本的功能上等同的方法和组合物。这样的修改和变化旨在落入所附权利要求的范围内。本公开文本仅由所附权利要求的权项以及这样的权利要求有权要求的等同物的全部范围来限制。应理解,本公开文本不限于特定的方法、试剂、化合物或组合物,其当然可以变化。还应理解,本文使用的术语仅是用于描述特定实施方案的目的,并且不意图具有限制性。

[0229] 另外,在根据马库什组 (Markush group) 描述本公开文本的特征或方面的情况下,本领域技术人员将认识到,本公开文本也由此根据马库什组的任何单独成员或成员亚组来描述。

[0230] 如本领域技术人员将理解的,出于任何和所有目的,特别是在提供书面描述方面,本文公开的所有范围还涵盖其任何和所有可能的子范围(包含端点)及子范围的组合。任何列出的范围都可以被容易地识别为充分描述相同的范围并使相同的范围能够分解成至少相等的两等份、三等份、四等份、五等份、十等份等。作为非限制性例子,本文讨论的每个范围都可以容易地分解成下三分之一、中三分之一和上三分之一等。如本领域技术人员还将

理解的,诸如“至多”、“至少”、“大于”、“小于”等所有语言包括所列举的数字,并且是指可以随后分解成如上讨论的子范围的范围。最后,如本领域技术人员将理解的,范围包括每个单独成员。

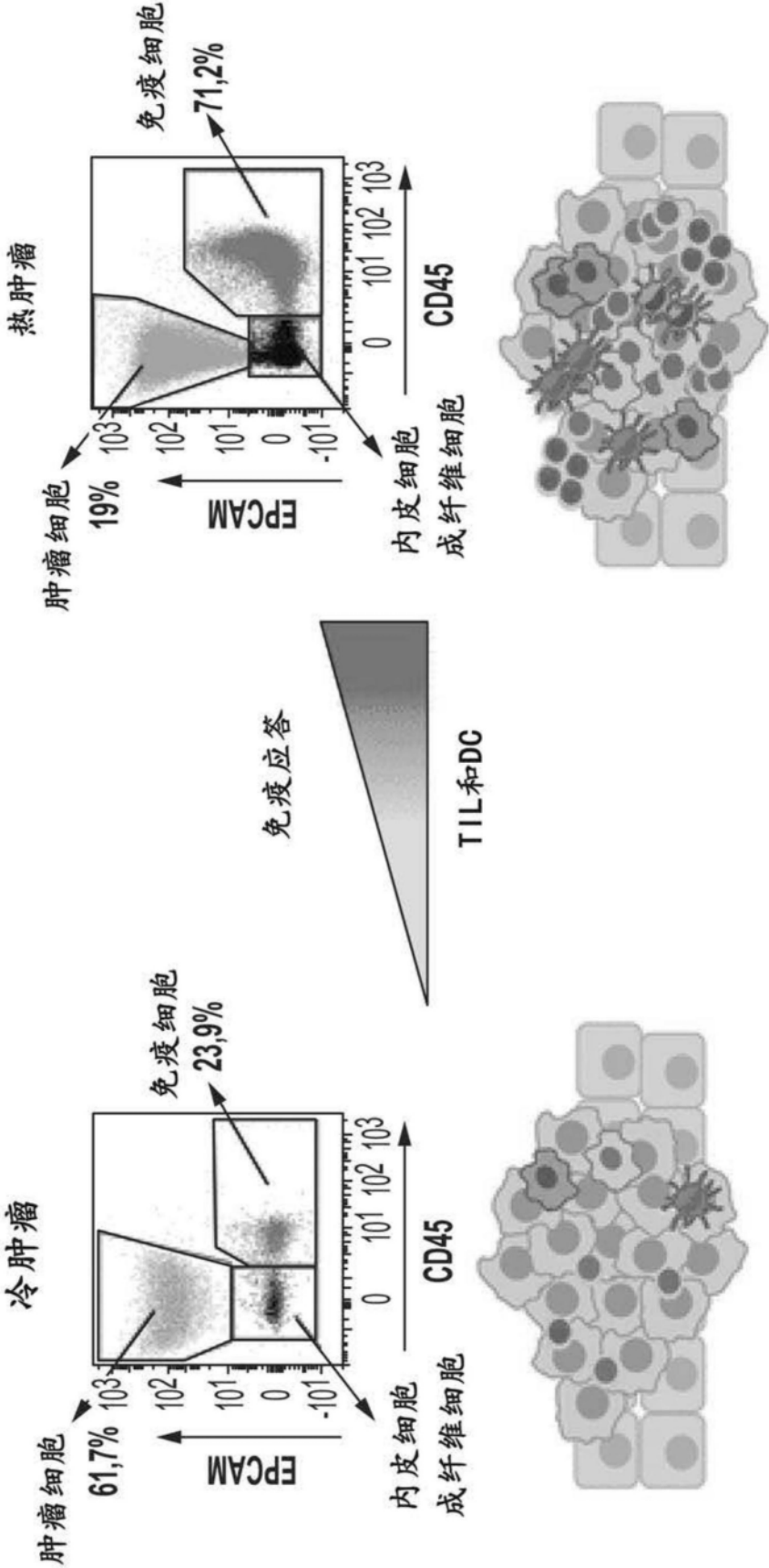


FIG.1

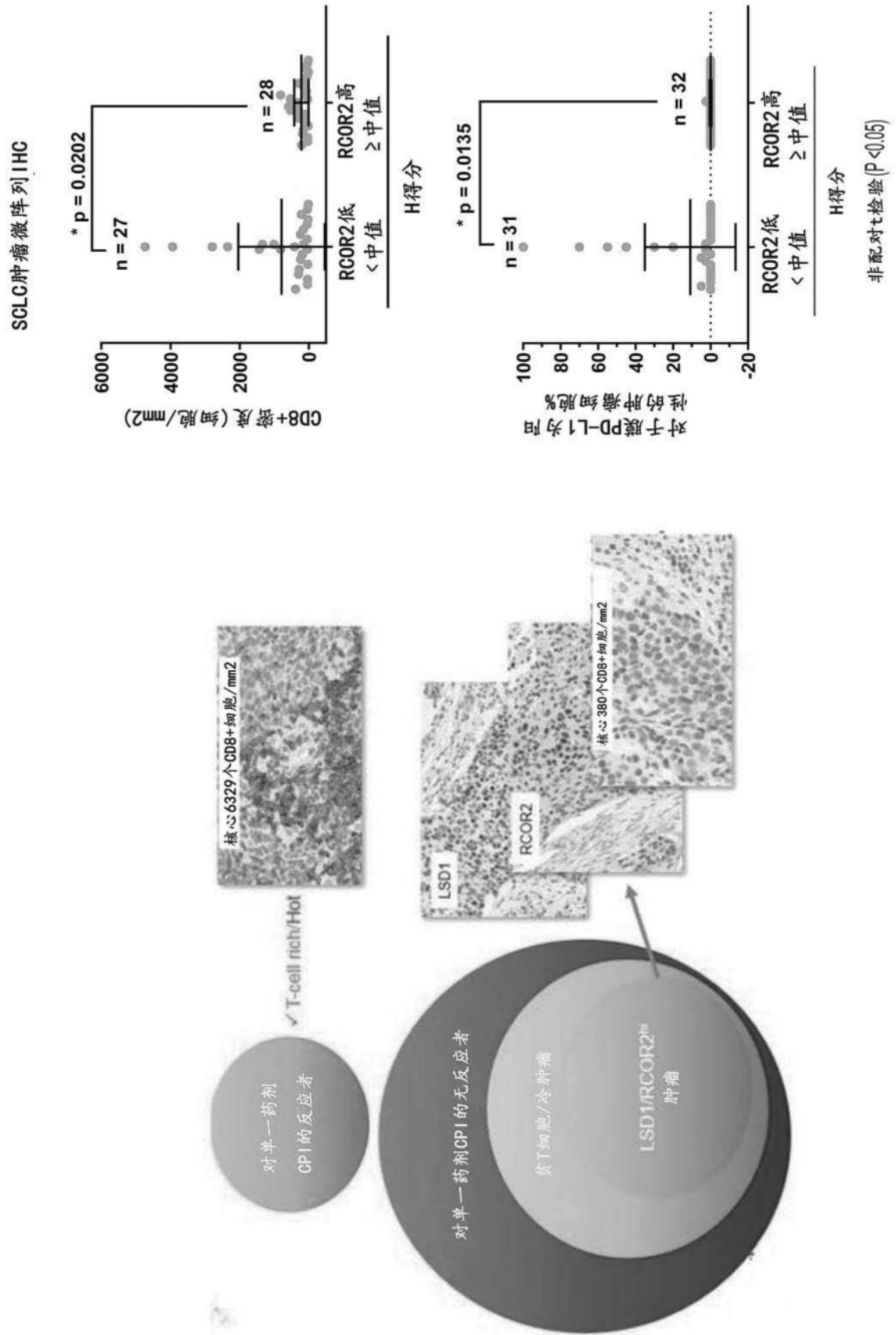


FIG.2

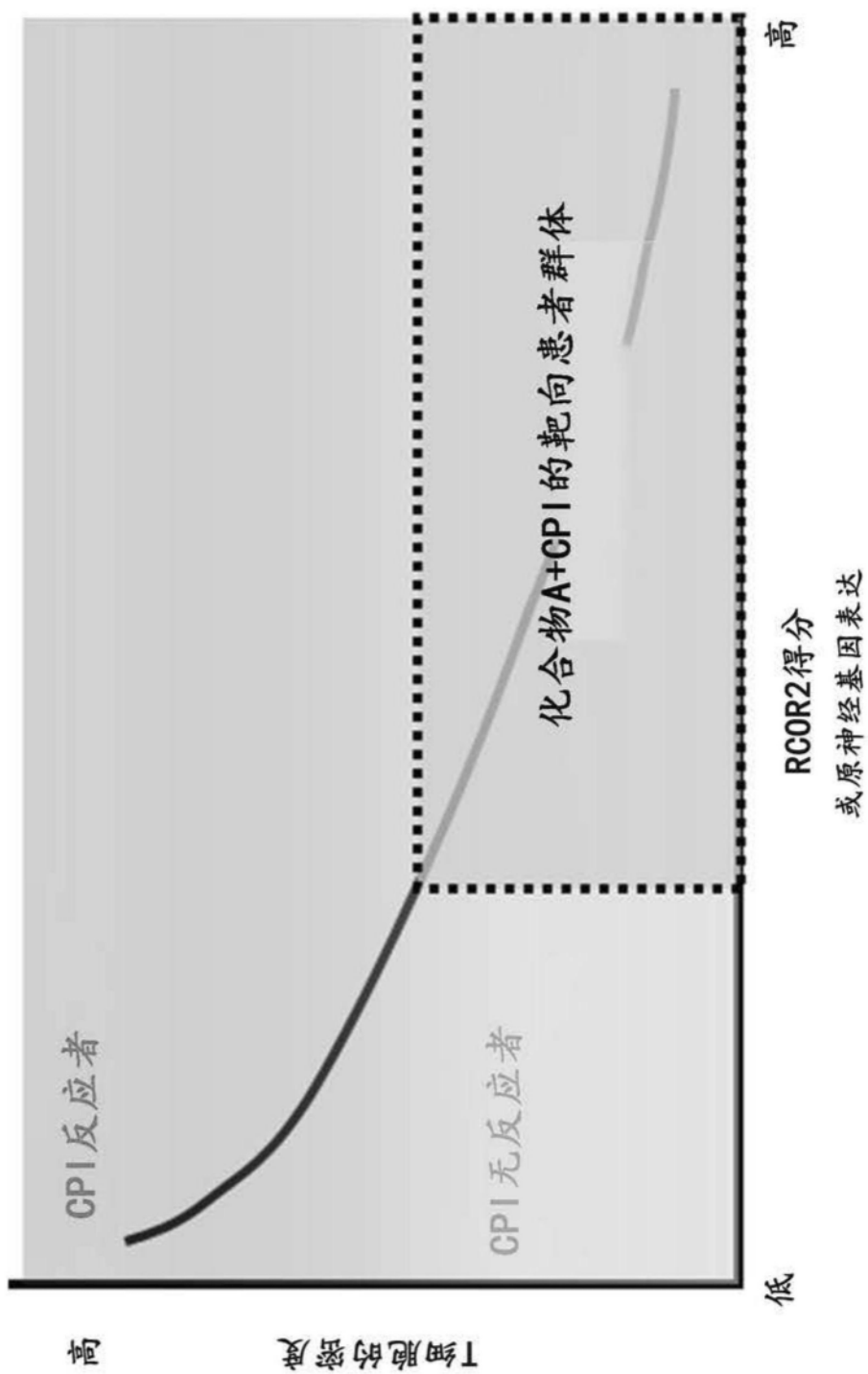


FIG.3

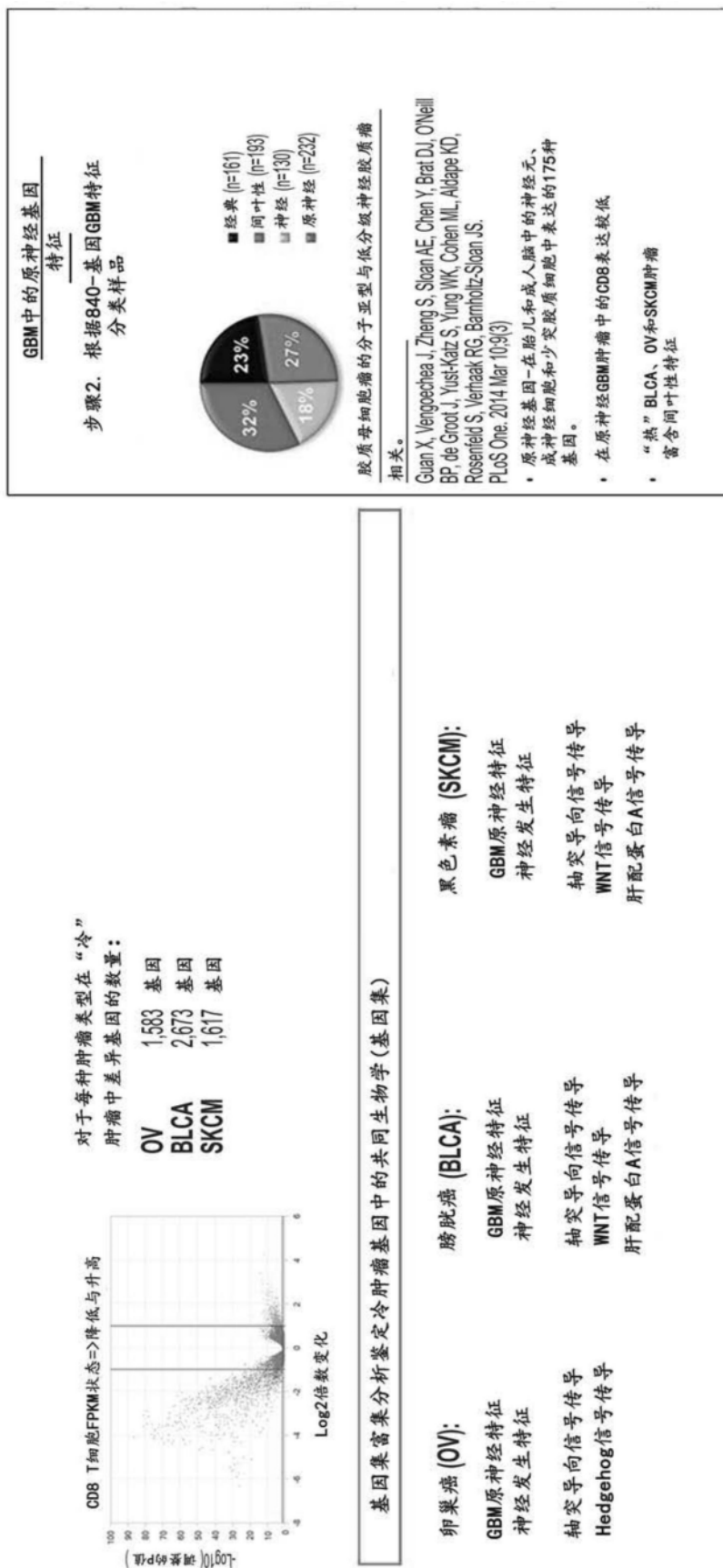


FIG. 4

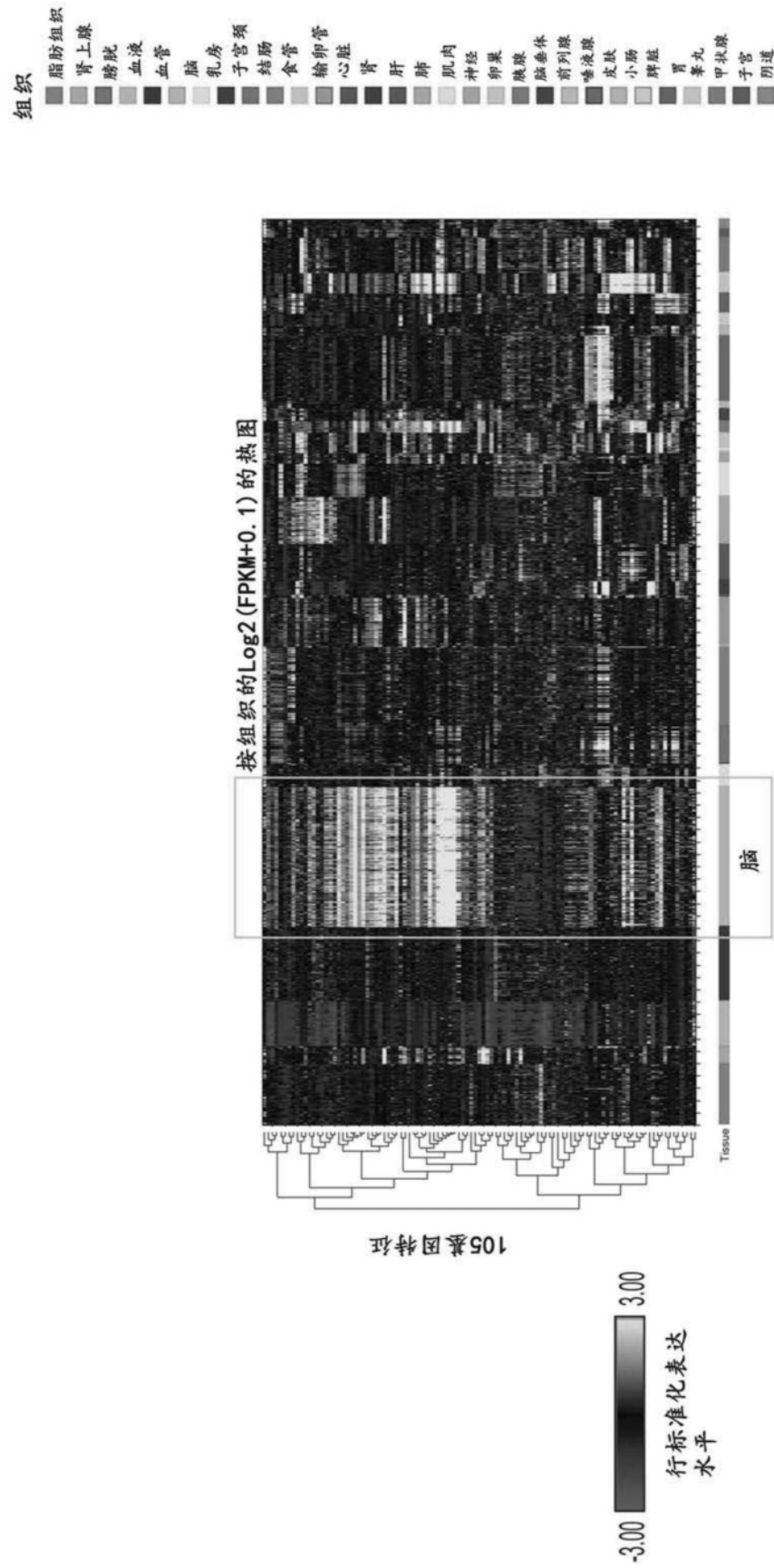


FIG.5

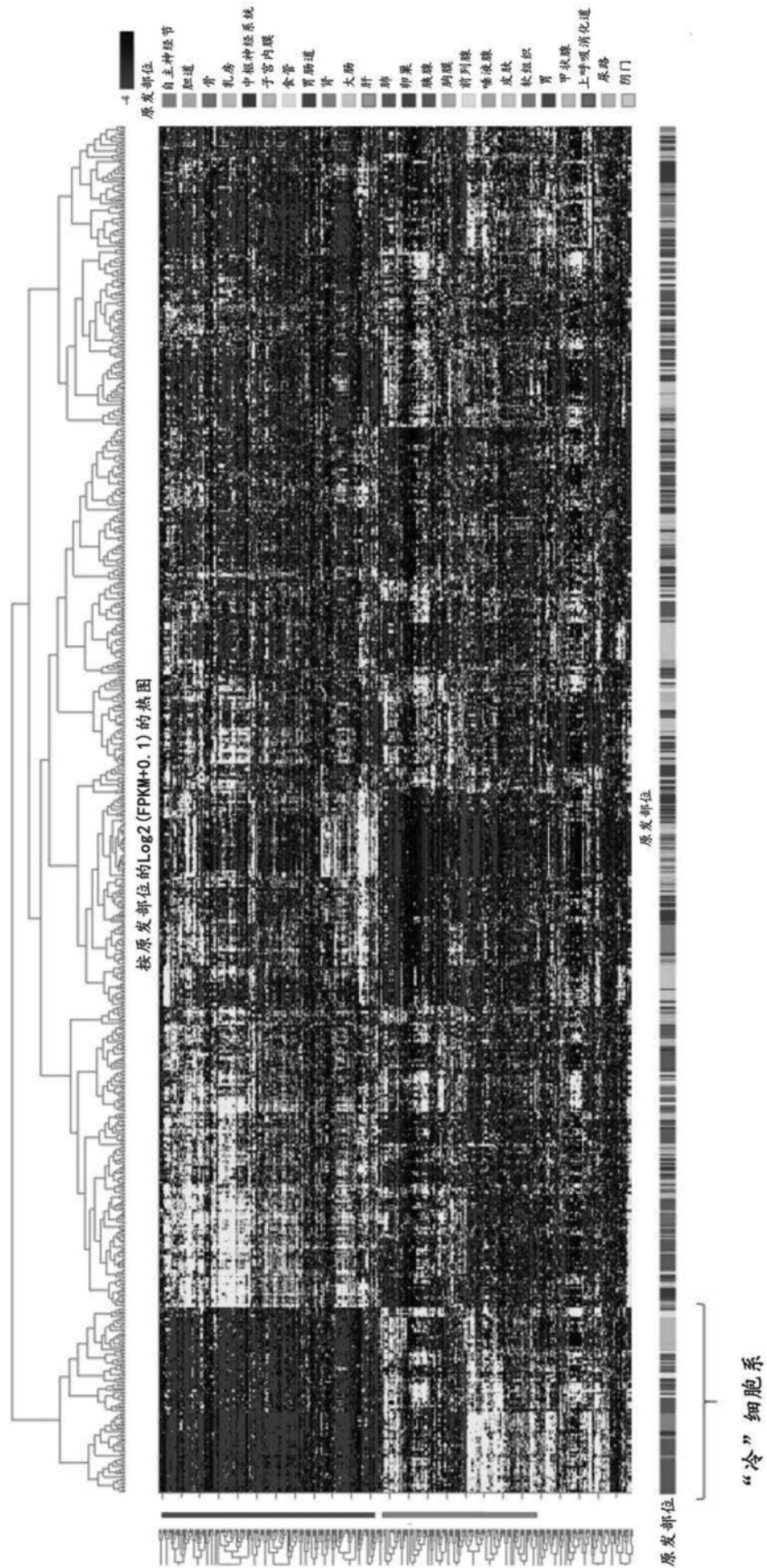


FIG.6A

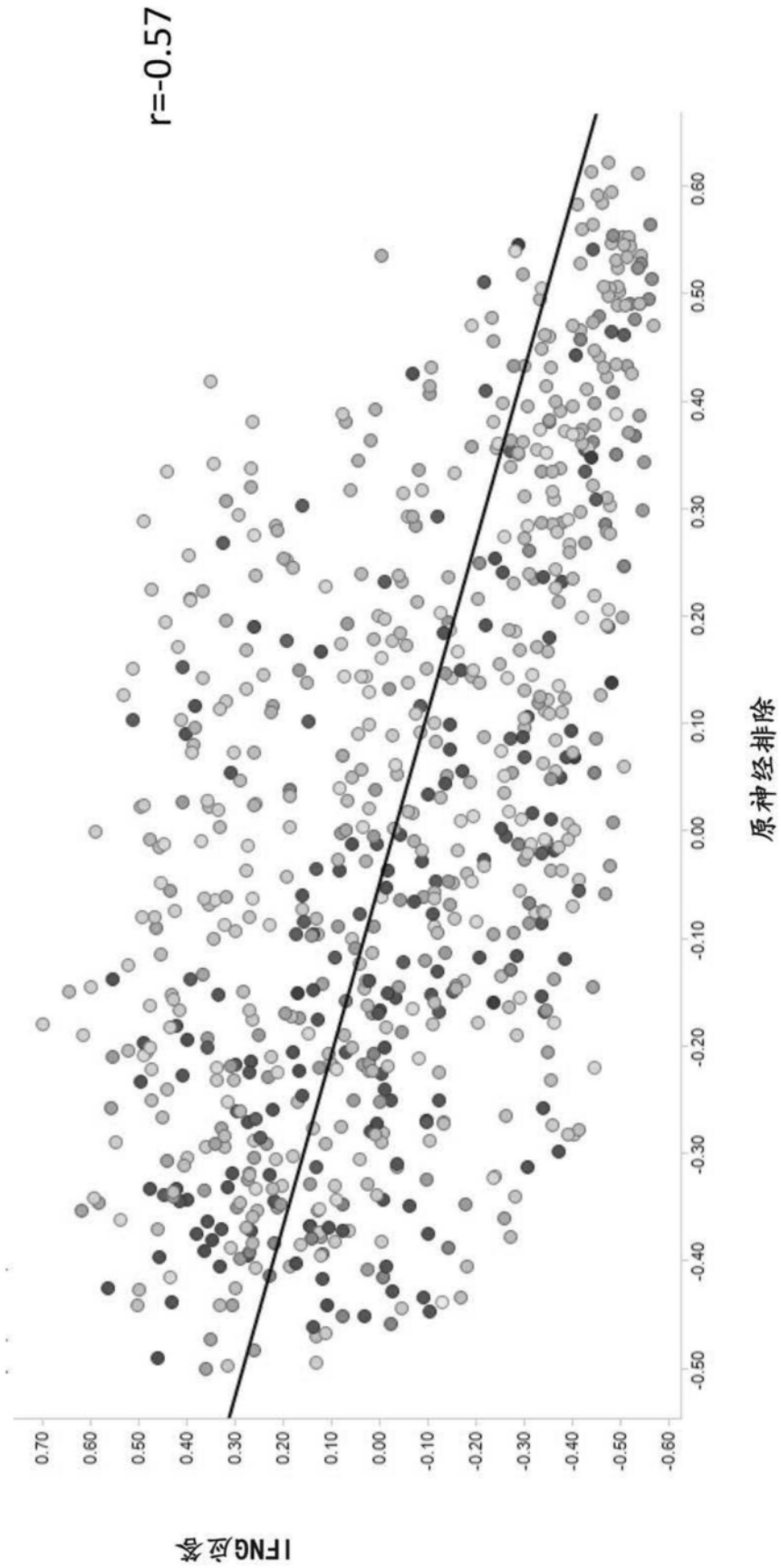


FIG.6B

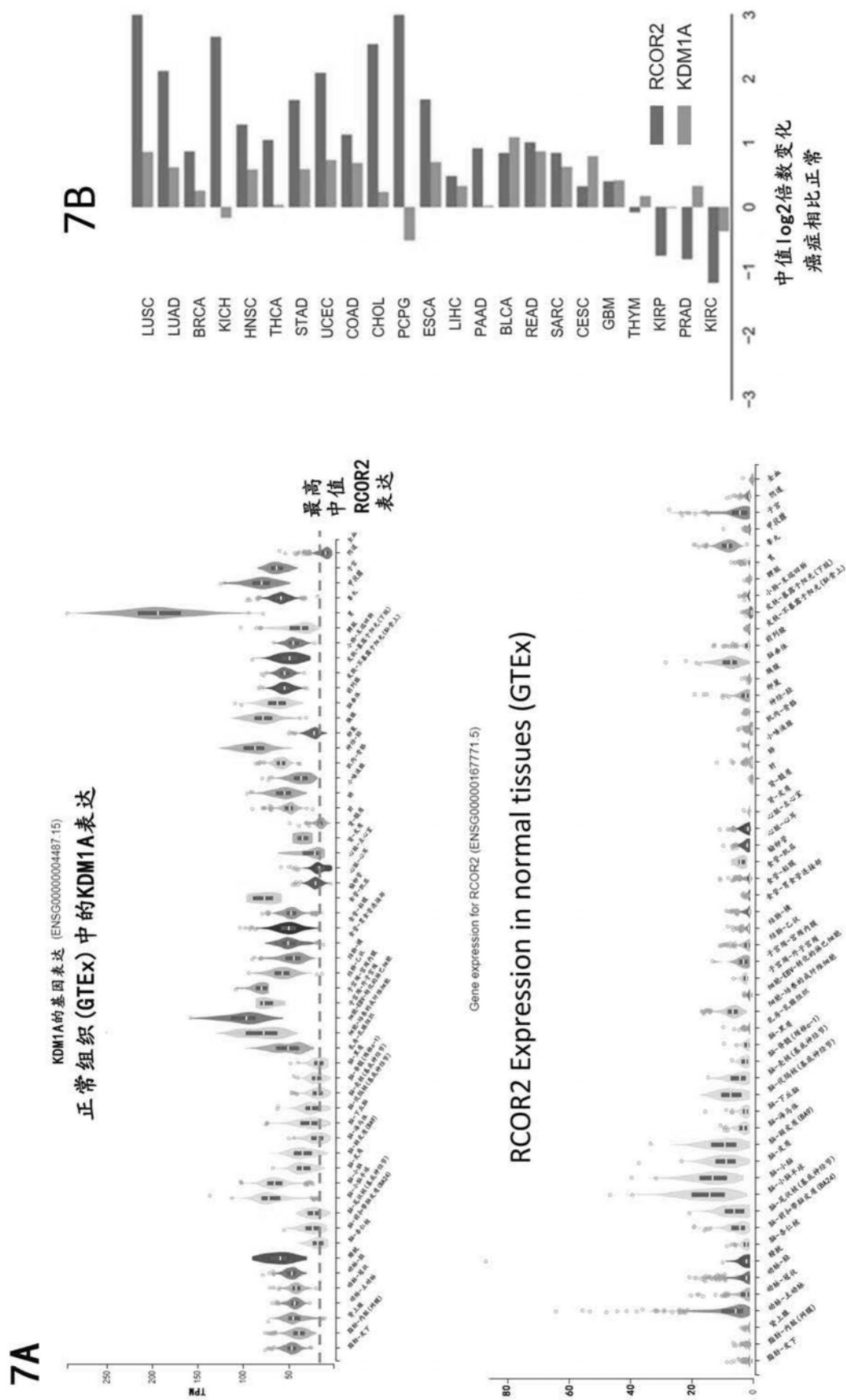


FIG. 7

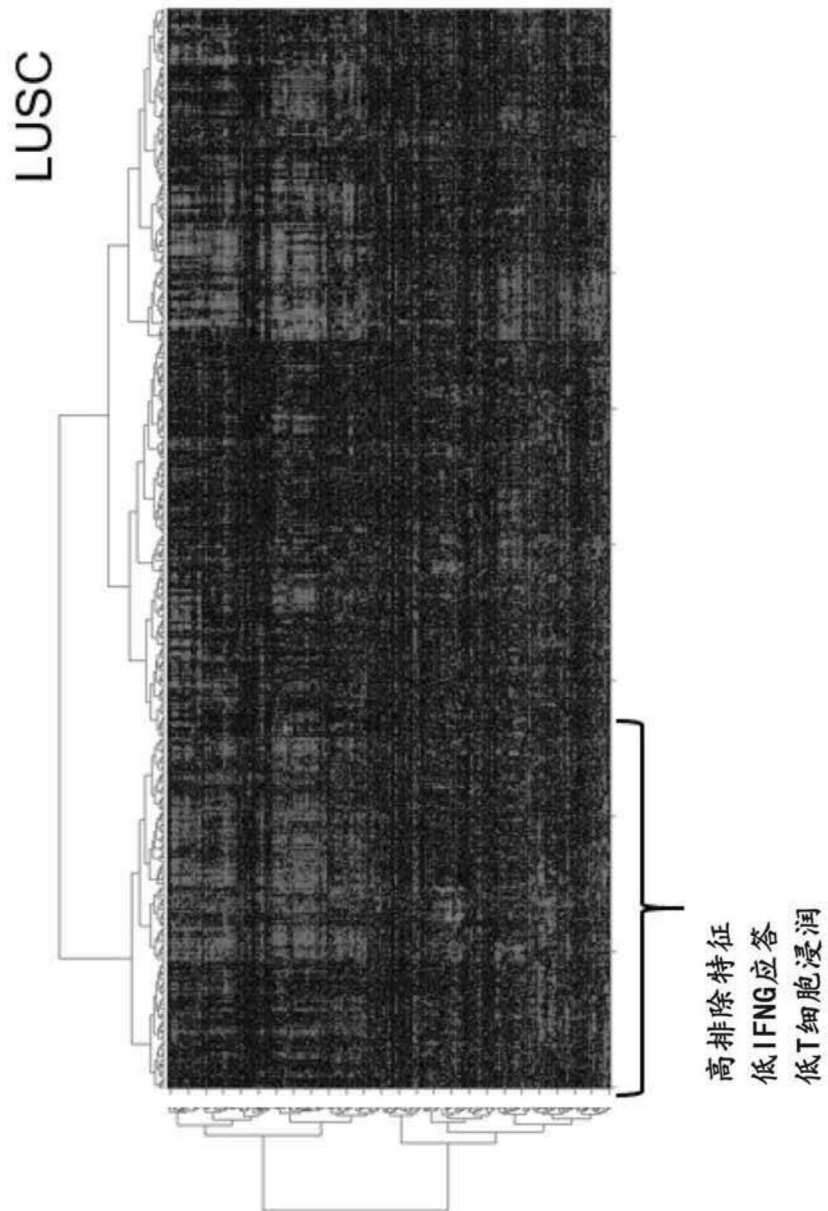


FIG.8

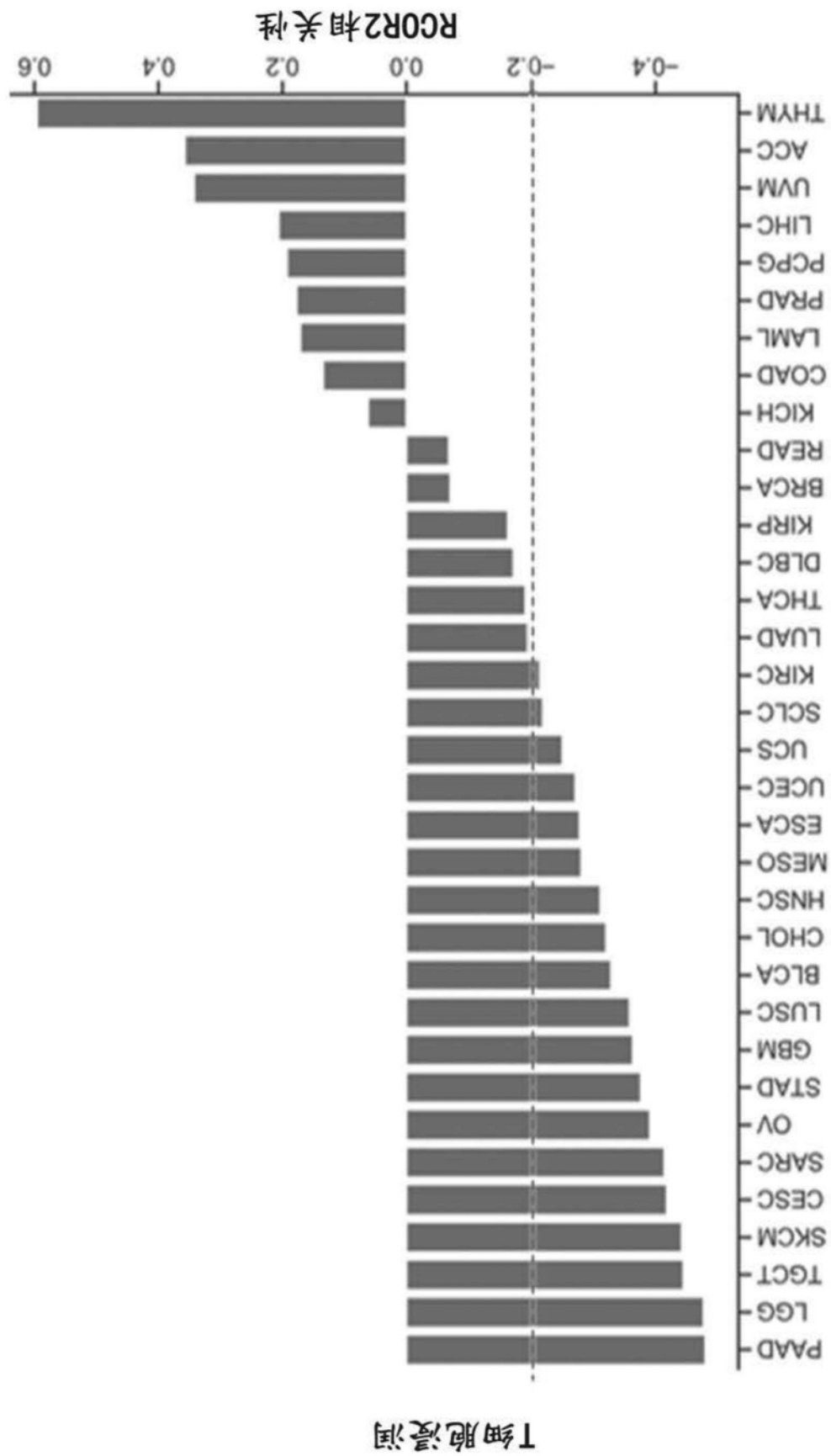


FIG. 9A

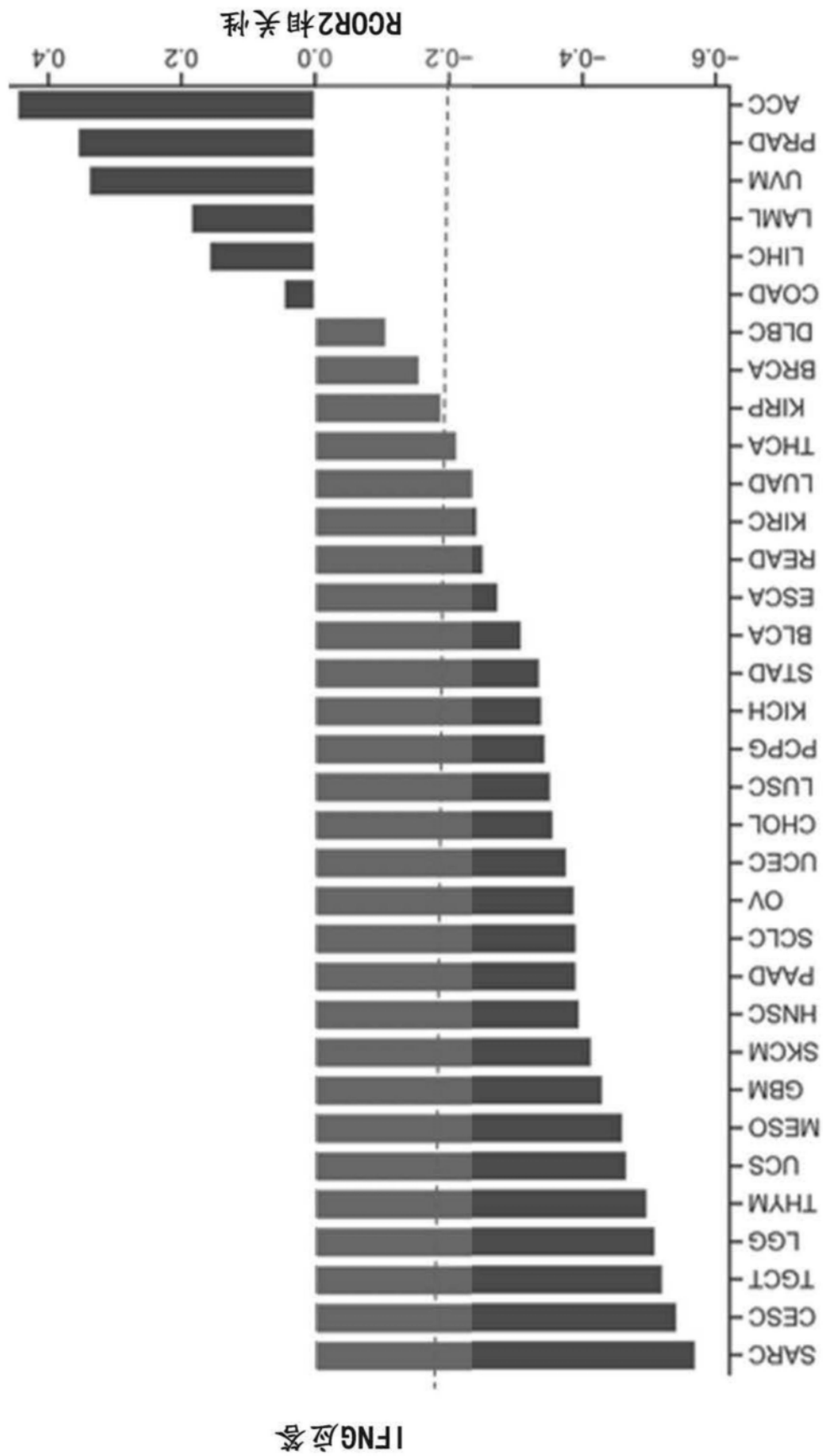


FIG.9B

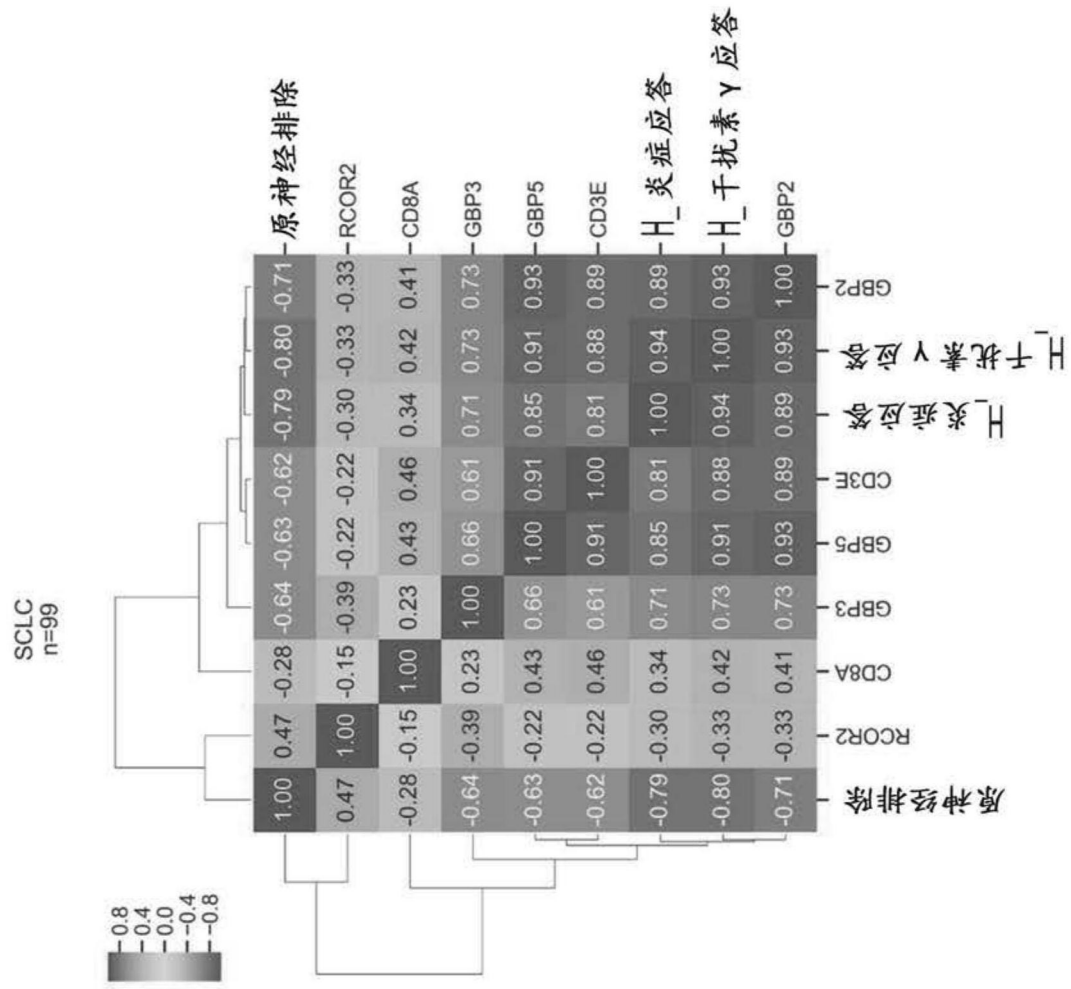


FIG.10A

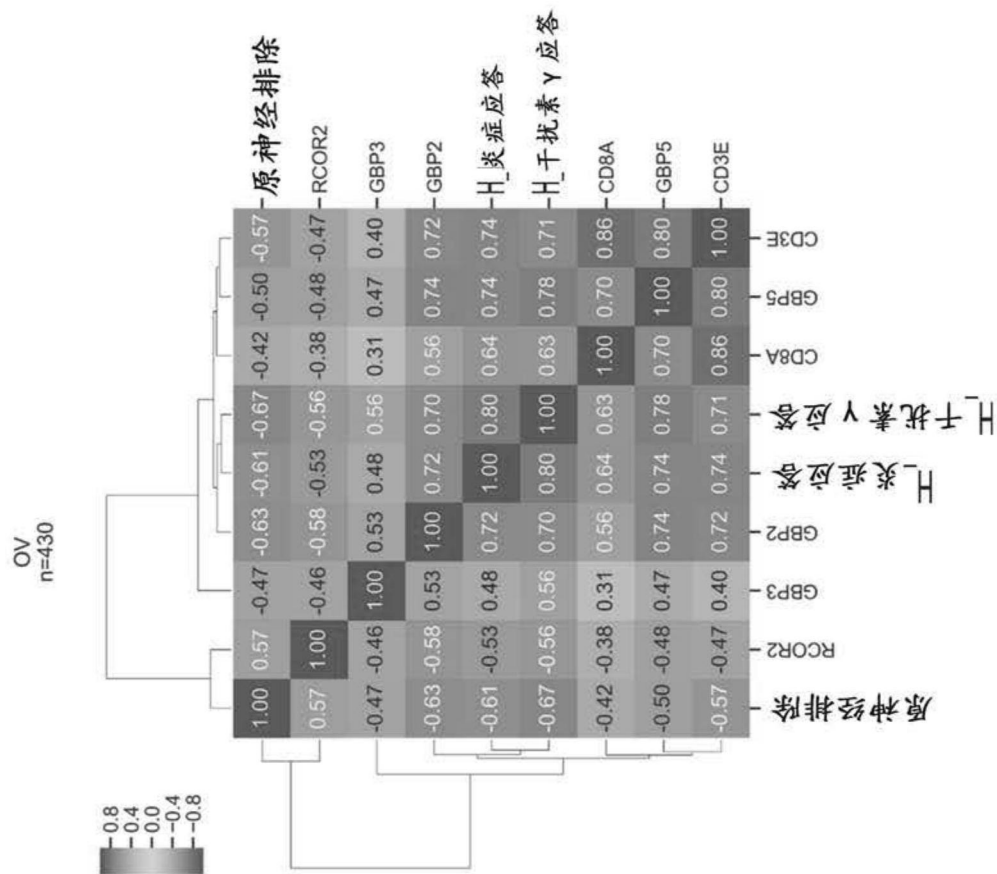


FIG.10B

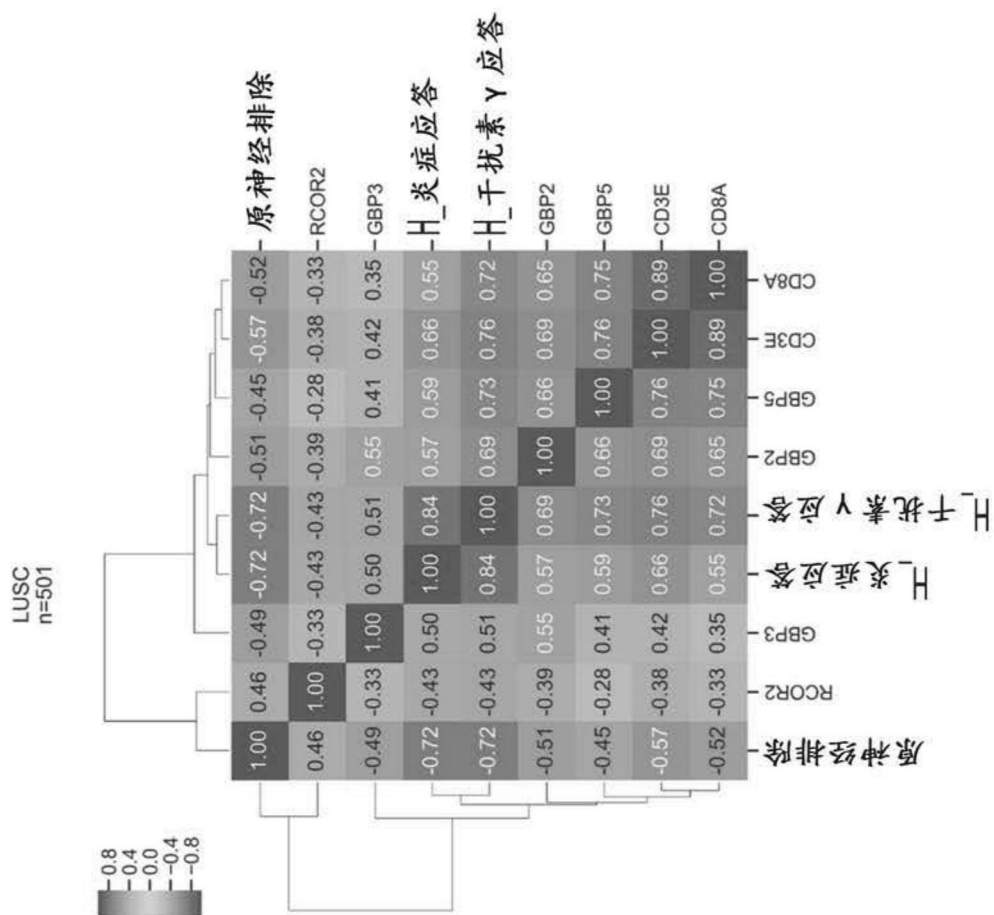


FIG.10C

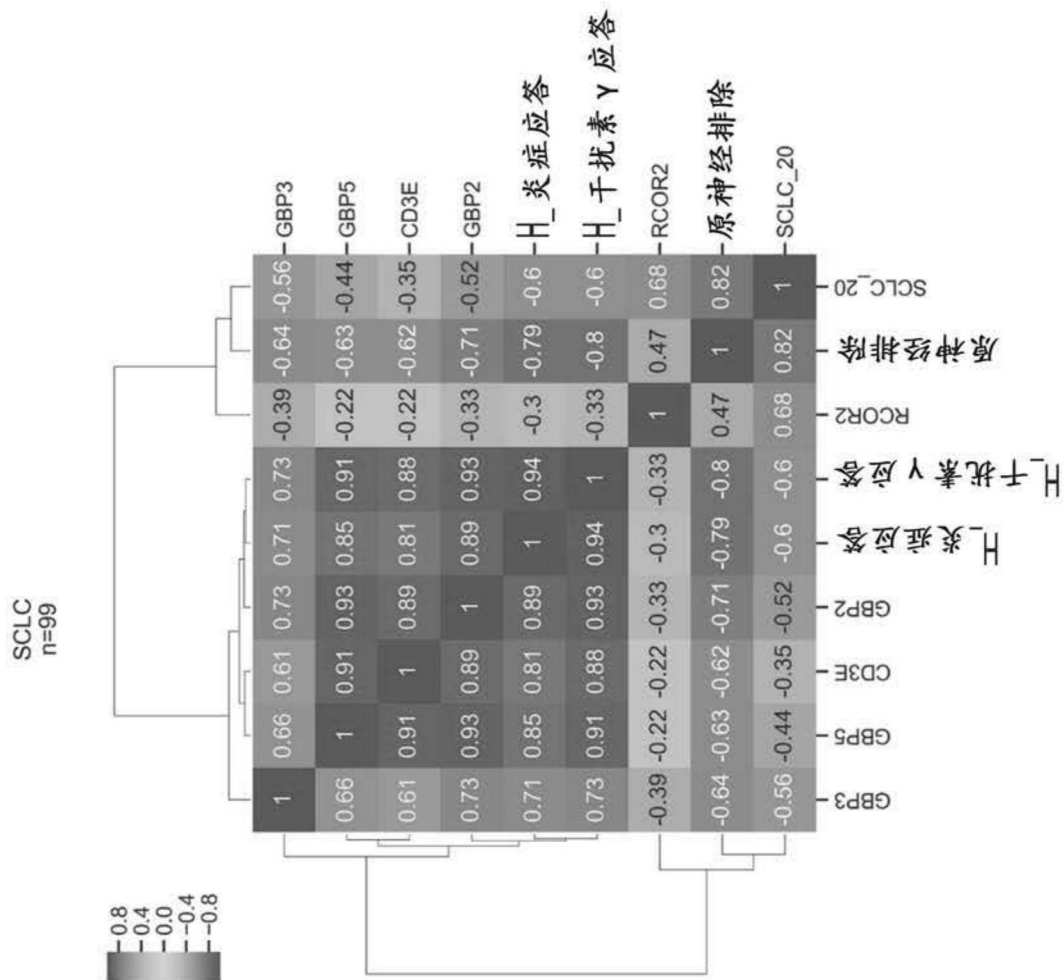


FIG.11