(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119894929 A
(43)申请公布日 2025.04.25

(21)申请号 202380056094.1
(22)申请日 2023.06.02
(66)本国优先权数据
PCT/CN2022/097026 2022.06.03 CN
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2025.01.23
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/CN2023/098030 2023.06.02
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/232140 EN 2023.12.07
(71)申请人 礼新医药科技(上海)有限公司
地址 201203 上海市浦东新区蔡伦路999号1号楼5层
(72)发明人 秦莹 李润生 黄文韬 秦霞 孔亮
(74)专利代理机构 北京信诺创成知识产权代理有限公司 11728
专利代理师 吕鹏云 尹吉伟
(51)Int.Cl.
C07K 16/28(2006.01)
C07K 16/30(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

权利要求书2页 说明书16页
序列表（电子公布） 附图4页

(54)发明名称

使用PD-1或PD-L1抑制剂和靶向Claudin 18.2的抗体药物偶联物的癌症治疗

(57)摘要

提供了一种联合疗法,其包括PD-1或PD-L1的抑制剂和靶向claudin 18.2的抗体药物偶联物。

CN 119894929 A

1.一种用于治疗有需要的患者的癌症的方法,包括向所述患者施用PD-1或PD-L1的抑制剂和抗体药物偶联物(ADC),所述抗体药物偶联物包含与抗claudin 18.2抗体共价连接的药物部分,所述抗claudin 18.2抗体包含VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,所述VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:3-8的氨基酸序列。

2.根据权利要求1所述的方法,其中所述抗claudin 18.2抗体包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的VH以及含有SEQ ID NO:2的氨基酸的VL。

3.根据权利要求1或2所述的方法,其中所述抗claudin 18.2抗体与2至10个药物部分,优选2-6个药物部分,更优选3-4个药物部分连接。

4.根据前述权利要求任一项所述的方法,其中所述药物部分是细胞毒性剂或细胞抑制剂。

5.根据权利要求4所述的方法,其中所述药物部分是美登素类或奥瑞他汀。

6.根据权利要求5所述的方法,其中所述药物部分包括DM1或DM4。

7.根据权利要求6所述的方法,其中所述药物部分包括单甲基澳瑞他汀E(MMAE)或单甲基澳瑞他汀F(MMAF)。

8.根据前述权利要求任一项所述的方法,其中所述药物部分通过接头与所述抗体或其片段连接。

9.根据权利要求8所述的方法,其中所述接头在酸性条件下可水解。

10.根据权利要求8所述的方法,其中所述接头包括缬氨酸-瓜氨酸。

11.根据前述权利要求任一项所述的方法,其中所述ADC包含通过缬氨酸-瓜氨酸与抗claudin 18.2抗体偶联的2至6个MMAE或MMAF。

12.根据前述权利要求任一项所述的方法,其中所述PD-L1的抑制剂选自由以下组成的组:阿替利珠单抗、阿维鲁单抗、度伐利尤单抗、KN035、CK-301、AUNP12、CA-170和BMS-986189。

13.根据前述权利要求任一项所述的方法,其中所述PD-1的抑制剂选自由以下组成的组:帕博利珠单抗、纳武利尤单抗、西米普利单抗、多斯塔利单抗、JTX-4014、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、INCMGA00012、AMP-224和AMP-514。

14.根据前述权利要求任一项所述的方法,其中所述抑制剂是特瑞普利单抗。

15.根据前述权利要求任一项所述的方法,其中所述抑制剂和所述ADC各每1至6周施用一次。

16.根据前述权利要求任一项所述的方法,其中所述ADC以0.1mg/kg至10mg/kg的剂量施用。

17.根据权利要求16所述的方法,其中所述ADC以0.2mg/kg、0.4mg/kg、0.8mg/kg、1.6mg/kg、2.0mg/kg或2.4mg/kg的剂量施用。

18.根据权利要求16所述的方法,其中所述ADC以1.2mg/kg至1.8mg/kg的剂量施用。

19.根据前述权利要求任一项所述的方法,其中所述癌症选自由以下组成的组:膀胱癌、肝癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、白血病、淋巴瘤、胰腺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、乳腺癌、尿道癌、头颈癌、胃肠道癌、胃癌、食管癌、卵巢癌、肾癌、黑素瘤、前列腺癌和甲

状腺癌。

20.一种用于治疗有需要的癌症患者的方法,包括向所述患者施用PD-1或PD-L1的抑制剂和vcMMAE偶联的抗claudin 18.2抗体(ADC),其中:

所述抗体包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的VH以及含有SEQ ID NO:2的氨基酸的VL;

每个抗体与2-6个单位的vcMMAE偶联;

所述ADC以1.2mg/kg至1.8mg/kg的剂量施用;

所述癌症是胃肠道癌。

21.根据权利要求20所述的方法,其中所述胃肠道癌是胃癌(GC)或胃食管连接部癌(GJC)。

22.根据权利要求20或21所述的方法,其中所述PD-1或PD-L1的抑制剂是特瑞普利单抗。

23.根据权利要求20或21所述的方法,其中所述PD-1或PD-L1的抑制剂是纳武利尤单抗。

使用PD-1或PD-L1抑制剂和靶向Claudin 18.2的抗体药物偶联物的癌症治疗

背景技术

[0001] 紧密连接蛋白(claudin)是形成紧密细胞连接的重要组分的一类蛋白质。它们建立了一种细胞旁屏障,控制细胞间的分子流动。这些蛋白质在细胞质中具有N端和C端。不同的claudin在不同的组织中表达,它们的功能改变与相应组织的癌症形成有关。Claudin-1在结肠癌中表达,claudin-18在胃癌中表达,claudin-10在肝细胞癌中表达。

[0002] Claudin-18有两种异构体,异构体1和异构体2。异构体2(Claudin 18.2或CLDN18.2)是一种高度选择性的细胞谱系标志物。Claudin 18.2在正常组织中的表达严格局限于胃粘膜的分化上皮细胞,但在胃干细胞区中不存在。Claudin 18.2在恶性转化中保留,并在相当大比例的原发性胃癌及其转移瘤中表达。在胰腺、食道、卵巢和肺肿瘤中也发现了claudin 18.2的频繁异位激活。这些数据表明,CLDN18.2在正常组织中具有高度受限的表达模式,而在多种人类癌症中频繁异位激活。

发明内容

[0003] 本文发现,基于LM-001的抗体药物偶联物能够与抗PD-1抗体协同抑制肿瘤生长。认为这至少归因于LM-001诱导受体介导的抗体内化的出色能力。Claudin 18.2蛋白上对于与LM-001结合很重要的氨基酸残基包括那些对于稳定细胞外环的构象很重要的氨基酸残基(例如,W30、L49、W50、C53、C63和R80)。更重要的是,推测参与结合抗体的残基包括N45、Y46、G48、V54、R55、E56、S58、F60和E62,它们位于第一个细胞外环的β3和β4链之间,以及Y169和G172,它们位于第二个细胞外环的β5中。相比之下,认为已知的抗claudin 18.2抗体仅与其中一个细胞外环结合。

[0004] 根据本公开的一个实施方案,提供了一种用于治疗有需要的患者的癌症的方法,包括向所述患者施用PD-1或PD-L1的抑制剂和抗体药物偶联物(ADC),所述抗体药物偶联物包含与抗claudin 18.2抗体共价连接的药物部分,所述抗claudin 18.2抗体包含VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,所述VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3分别包含SEQ ID NO:3-8的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗claudin 18.2抗体包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的VH以及含有SEQ ID NO:2的氨基酸的VL。

[0005] 在一些实施方式中,所述抗claudin 18.2抗体与2至10个药物部分,优选2至6个药物部分连接。

[0006] 在一些实施方案中,所述药物部分是细胞毒性剂或细胞抑制剂。在一些实施方案中,所述药物部分是美登素类(maytansinoid)或奥瑞他汀(auristatin)。在一些实施方案中,所述药物部分包括DM1或DM4。在一些实施方案中,所述药物部分包括单甲基澳瑞他汀E(MMAE)或单甲基澳瑞他汀F(MMAF)。

[0007] 在一些实施方案中,所述药物部分通过接头与抗体或其片段连接。在一些实施方案中,所述接头在酸性条件下可水解。在一些实施方案中,所述接头包括缬氨酸-瓜氨酸。

[0008] 在一些实施方案中,所述ADC包含通过缬氨酸-瓜氨酸与抗claudin 18.2抗体偶联的2至6个MMAE或MMAF。

[0009] 在一些实施方案中,所述PD-L1的抑制剂选自由以下组成的组:阿替利珠单抗(atezolizumab)、阿维鲁单抗(avelumab)、度伐利尤单抗(durvalumab)、KN035、CK-301、AUNP12、CA-170和BMS-986189。在一些实施方案中,所述PD-1的抑制剂选自由以下组成的组:帕博利珠单抗(pembrolizumab)、纳武利尤单抗(nivolumab)、西米普利单抗(cemiplimab)、多斯塔利单抗(dostarlimab)、JTX-4014、斯巴达珠单抗(spartalizumab)、卡瑞利珠单抗(camrelizumab)、信迪利单抗(sintilimab)、替雷利珠单抗(tislelizumab)、特瑞普利单抗(toripalimab)、INCMGA00012、AMP-224和AMP-514。在一些实施方案中,所述抑制剂是特瑞普利单抗。

[0010] 在一些实施方案中,所述抑制剂和所述ADC各每1至6周施用一次。在一些实施方案中,所述ADC以0.1mg/kg至10mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中,所述ADC以0.2mg/kg、0.4mg/kg、0.8mg/kg、1.6mg/kg、2.0mg/kg或2.4mg/kg的剂量施用。

[0011] 在一些实施方案中,所述癌症选自由以下组成的组:膀胱癌、肝癌、结肠癌、直肠癌、子宫内膜癌、白血病、淋巴瘤、胰腺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、乳腺癌、尿道癌、头颈癌、胃肠道癌、胃癌、食管癌、卵巢癌、肾癌、黑素瘤、前列腺癌和甲状腺癌。

[0012] 在一个具体的实施方案中,提供了一种用于治疗有需要的患者的癌症的方法,包括向所述患者施用PD-1或PD-L1的抑制剂和vcMMAE偶联的抗claudin 18.2抗体(ADC),其中:所述抗体包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:2的氨基酸的VL;每个抗体与2-6个单位的vcMMAE偶联;所述ADC以1.2mg/kg至1.8mg/kg的剂量施用;并且所述癌症是胃肠道癌。

[0013] 在一些实施方案中,所述胃肠道癌是胃癌(GC)或胃食管连接部癌(GJC)。在一些实施方案中,所述PD-1或PD-L1的抑制剂是特瑞普利单抗。在一些实施方案中,所述PD-1或PD-L1的抑制剂是纳武利尤单抗。

附图说明

[0014] 图1显示不同组别荷瘤小鼠的体重变化。数据点代表组别平均体重。误差条代表平均值的标准误差(SEM)。

[0015] 图2显示不同组别荷瘤小鼠的体重相对变化。数据点代表组别平均相对变化体重。误差条代表平均值的标准误差(SEM)。

[0016] 图3显示LLC1/H_CLDN18.2荷瘤小鼠施用测试物后肿瘤生长曲线。数据点代表组别平均值,误差条代表平均值的标准误差(SEM)。

[0017] 图4显示用LM-002(1.6mg/kg或2.0mg/kg)和特瑞普利单抗(240mg)治疗的三名人类患者的反应。

具体实施方式

[0018] 定义

[0019] 应当注意,术语“一个”或“一种”实体是指一个或多个(一种或多种)该实体;例如,“一种抗体”应理解为表示一种或多种抗体。这样,术语“一个”(或“一种”)、“一个(种)或多

个(种)”和“至少一个(种)”在本文中可以互换使用。

[0020] 如本文所用,“抗体”或“抗原结合多肽”是指特异性识别并结合抗原的多肽或多肽复合物。抗体可以是整个抗体及其任何抗原结合片段或单链。因此,术语“抗体”包括任何蛋白质或肽,其含有包含免疫球蛋白分子的至少具有与抗原结合的生物学活性的部分的分子。这样的实例包括但不限于重链或轻链的互补决定区(CDR)或其配体结合部分、重链或轻链可变区、重链或轻链恒定区、框架(FR)区或其任何部分,或结合蛋白的至少一部分。

[0021] 如本文所用,术语“抗体片段”或“抗原结合片段”是抗体的一部分,例如$F(ab')_2$、$F(ab)_2$、Fab'、Fab、Fv、scFv等。无论结构如何,抗体片段都与被完整抗体识别的同一抗原结合。术语“抗体片段”包括适配体、镜像异构体和双体。术语“抗体片段”还包括像抗体一样通过与特定抗原结合形成复合物而起作用的任何合成的或基因工程改造的蛋白。

[0022] 术语抗体涵盖了各种广泛类别的可以从生物化学上被区分的多肽。本领域技术人员将理解,重链被分类为gamma、mu、alpha、delta或epsilon(γ、μ、α、δ、ε),其中有一些子类(例如γ1-γ4)。该链的性质决定了抗体的“类别”分别为IgG、IgM、IgA、IgG或IgE。免疫球蛋白亚类(同种型),例如IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgG_5等,已被很好地表征,并且已知赋予功能特异性。鉴于本公开,这些类别和同种型的每一个的修饰版本对于本领域技术人员而言是容易辨别的,并且因此在本公开的范围内。所有的免疫球蛋白类别显然都在本公开的范围内,下面的讨论通常将针对免疫球蛋白分子的IgG类别。关于IgG,标准免疫球蛋白分子包含两条相同的分子量约为23,000道尔顿的轻链多肽和两条相同的分子量为53,000-70,000的重链多肽。四条链通常通过二硫键以“Y”构型连接,其中轻链将重链括起来,从“Y”的口开始,一直延伸过可变区。

[0023] 本公开的抗体、其抗原结合多肽、变体或衍生物包括但不限于多克隆、单克隆、多特异性、人类、人源化、灵长类化或嵌合的抗体,单链抗体,表位结合片段,例如Fab、Fab'和$F(ab')_2$、Fd、Fv、单链Fv(scFv)、单链抗体、二硫键连接的Fv(sdFv)、包含VK或VH结构域的片段、由Fab表达文库产生的片段和抗独特型(抗Id)抗体(包括例如本文公开的针对LIGHT抗体的抗Id抗体)。本公开的免疫球蛋白或抗体分子可以是任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、类别(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类的免疫球蛋白分子。

[0024] 轻链分为kappa或lambda(κ、λ)。每个重链类别都可以与κ或λ轻链结合。通常,当免疫球蛋白由杂交瘤、B细胞或基因工程改造的宿主细胞产生时,轻链和重链彼此共价键合,两条重链的“尾”部通过共价二硫键或非共价键彼此键合。在重链中,氨基酸序列从Y构型的分叉末端的N-末端延伸到每条链底部的C-末端。

[0025] 轻链和重链均分为结构同源区和功能同源区。术语“恒定”和“可变”在功能上使用。在这方面,应当理解,轻链部分的可变结构域(VK)和重链部分的可变结构域(VH)决定了抗原的识别和特异性。相反地,轻链的恒定结构域(CK)和重链的恒定结构域(CH1、CH2或CH3)赋予重要的生物学特性,比如分泌、跨胎盘迁移、Fc受体结合、互补物结合等。按照惯例,恒定区结构域的编号随着它们变得更远离抗体的抗原结合位点或氨基末端而增加。N-末端部分是可变区,C-末端部分是恒定区;CH3和CK结构域实际上分别包含重链和轻链的羧基末端。

[0026] 如上所述,可变区允许抗体选择性识别并特异性结合抗原上的表位。即,抗体的VK

结构域和VH结构域或互补决定区(CDR)的子集组合形成定义三维抗原结合位点的可变区。这种四级抗体结构形成了存在于Y的各臂终端的抗原结合位点。更具体地说,抗原结合位点由VH和VK链各自上的三个CDR(即CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3)定义。在某些情况下,例如某些源自骆驼科物种或基于骆驼科免疫球蛋白工程改造的免疫球蛋白分子,完整的免疫球蛋白分子可以仅由重链组成,而没有轻链。参见例如Hamers-Casterman等,Nature 363:446-448(1993)。

[0027] 在天然存在的抗体中,在每个抗原结合结构域中存在的六个“互补决定区”或“CDR”是短的、非连续的氨基酸序列,所述氨基酸序列被特异性定位为当在水性环境中该抗体呈现出其三维构型时形成抗原结合结构域。抗原结合结构域中的其余氨基酸(称为“框架”区)显示出较小的分子间可变性。构架区主要采用β-折叠结构,并且CDR形成环,该环连接β-折叠结构,并在某些情况下形成β-折叠结构的一部分。因此,框架区起形成支架的作用,该支架通过链间非共价相互作用将CDR定位在正确的方向上。由定位的CDR形成的抗原结合结构域限定了与免疫反应性抗原上的表位互补的表面。这种互补表面促进抗体与其同源表位的非共价结合。本领域的普通技术人员可以容易地针对任何给定的重链或轻链可变区分别鉴定包含CDR和框架区的氨基酸,因为它们已经被精确地定义(参见“Sequences ofProteins of Immunological Interest”,Kabat,E.等,美国卫生与公共服务部(U.S.Department ofHealth and Human Services),(1983);以及Chothia和Lesk,J.MoI.Biol.,196:901-917(1987))。

[0028] “特异性结合”或“对……具有特异性”通常是指抗体通过其抗原结合结构域与表位结合,并且所述结合需要在抗原结合结构域和表位之间具有一定的互补性。根据该定义,当抗体通过其抗原结合结构域与表位结合比抗体与随机的、不相关的表位结合更容易时,抗体被称为与该表位“特异性结合”。术语“特异性”在本文中用于限定某种抗体与某种表位结合的相对亲和力。例如,可以认为抗体“A”对给定的表位具有比抗体“B”更高的特异性,或者可以说抗体“A”以比对相关表位“D”更高的特异性结合表位“C”。

[0029] 如本文所用,术语“治疗”是指治疗性治疗和预防性或防御性措施,其中目的是预防或减缓(减轻)不期望的生理变化或紊乱,例如癌症的进展。有益的或期望的临床结果包括但不限于无论是可检测的还是不可检测的症状缓解、疾病程度减轻、疾病状态稳定(即不恶化)、疾病进展延迟或减慢、疾病状态改善或减轻,以及缓解(无论是部分还是全部)。“治疗”还可以意味着与如果未接受治疗时所预期的生存期相比,生存期延长。需要治疗的那些受试者包括已经患有病症或紊乱的那些受试者以及那些易于患病症或紊乱的那些受试者或要预防病症或紊乱的那些受试者。

[0030] “受试者”或“个体”或“动物”或“患者”或“哺乳动物”是指需要诊断、预后或治疗的任何受试者,特别是哺乳动物受试者。哺乳动物受试者包括人类、家畜、农场动物以及动物园动物、运动动物或宠物,例如狗、猫、豚鼠、兔子、大鼠、小鼠、马、家牛、奶牛等。

[0031] 如本文所用,短语比如“需要治疗的患者”或“需要治疗的受试者”包括将通过例如用于检测、用于诊断程序和/或用于治疗而施用本公开的抗体或组合物从而受益的受试者,例如哺乳动物受试者。

[0032] 联合治疗

[0033] 本文发现,基于LM-001的抗体药物偶联物能够与抗PD-1抗体协同抑制肿瘤生长。

例如,治疗后18天,仅抗PD-1抗体(LM-PD1)以5mg/kg达到了10.52％的肿瘤生长抑制(TGI)率(表3);仅ADC LM-002在两种不同剂量下能够分别达到10.30％(2.5mg/kg)和24.45％(5mg/kg)的TGI率。

[0034] 当这两种药剂联合使用时,它们的TGI率分别为48.65％(2.5mg/kg LM-PD1和2.5mg/kg LM-002)和42.63％(2.5mg/kg LM-PD1和5mg/kg LM-002)。这两个TGI率都大于它们各自TGI率的总和,表现出协同作用。同样重要的是,虽然两种不同剂量的LM-002作为单一药剂导致显著的抗肿瘤作用(10.30％vs.24.45％),但联合时并没有这种差异。因此,该结果表明与抗PD-1抗体的联合降低了对LM-002的需求。

[0035] 同样有趣的是,该联合在患有胃癌(GC)或胃食管连接部癌(GJC)的人类患者中进行了测试。再次,联合疗法表现出显著的疗效,导致至少一名患者完全缓解,其余患者部分缓解。令人惊讶的是,当与相同剂量(240mg)的特瑞普利单抗(一种抗人PD-1抗体)联合时,与较低剂量的LM-002(1.6mg/kg)的联合表现出比与较高剂量(2.0mg/kg)的联合更好的疗效。

[0036] 因此,本公开的一个实施方案提供了一种治疗有需要的患者的癌症的方法。在一些实施方案中,该方法需要向所述患者施用PD-1或PD-L1的抑制剂和抗体药物偶联物(ADC),该抗体药物偶联物包含与抗claudin 18.2抗体共价连接的药物部分。

[0037] 在一个实施方案中,还提供了用于治疗患者癌症的PD-1或PD-L1的抑制剂,其中所述患者进一步用ADC进行治疗,所述ADC包含与抗claudin 18.2抗体共价连接的药物部分。还提供了用于治疗患者癌症的ADC,所述ADC包含与抗claudin 18.2抗体共价连接的药物部分,其中所述患者进一步用PD-1或PD-L1的抑制剂进行治疗。另一个实施方案提供了用于治疗癌症的PD-1或PD-L1的抑制剂和ADC,所述ADC包含与抗claudin 18.2抗体共价连接的药物部分。

[0038] 在一些实施方案中,所述抗claudin 18.2抗体包含VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3,其分别包含SEQ ID NO:3-8的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗claudin 18.2抗体包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的VH以及含有SEQ ID NO:2的氨基酸的VL。

[0039] 如所证明的,即使与临床候选药物IMAB362(克劳昔单抗(claudiximab))相比,抗claudin18.2抗体LM-001也具有诱导受体介导的抗体内化的优异能力。据推测,本文公开的抗体诱导受体介导的抗体内化的能力大大增加,这可以归因于这些抗体如何与claudin 18.2蛋白结合。Claudin 18.2蛋白上对于与LM-001结合很重要的氨基酸残基包括那些对于稳定细胞外环构象很重要的氨基酸残基(例如,W30、L49、W50、C53、C63和R80)。W30、L49和W50是W-LW-C-C共识基序的一部分,有助于稳定环1的构象。C53和C63形成β链间二硫键。R80可能对维持细胞表面平行的claudin 18.2分子之间的相互作用或稳定环1的构象很重要。

[0040] 残基N45、Y46、G48、V54、R55、E56、S58、F60、E62、Y169和G172对抗体结合也很重要。其中,N45、Y46、G48、V54、R55、E56、S58、F60和E62位于β3链内,或通过β4链中的C63定位。该区域由SEQ ID NO:9的45-63位残基(NYQGLWRSCVRESSGFTEC)组成,在此称为“β3至β4环”,它是claudin 18.2的第一个细胞外环(环1)的一部分。相比之下,Y169和G172是第二个细胞外环(环2)的β5链(SEQ ID NO:3的169-172位残基;YTFG)的一部分。

[0041] 据推测,本文公开的抗体诱导受体介导的抗体内化的活性大大增加,这是由于它

们能够结合β3至β4环和β5链中的残基。在该情况下,人们认为已知的抗claudin 18.2抗体仅与其中一个环结合。

[0042] 人claudin 18.2序列

[0043]

名称	序列 (SEQ ID NO:9)
人Claudin 18.2 (NP_001002026)	1 MAVTACQGLG FVVSLIGIAG IIAATCMDQW STQDLYNNPV TAVFNYQGLW 51 RSCVRESSGF TECRGYFTLL GLPAMLQAVR ALMIVGIVLG AIGLLVSIFA β3-β4 环 101 LKCIRIGSME DSAKANMTLT SGIMFIVSGL CAIAGVSVFA NMLVTNFWMS 151 TANMYTGMGG MVQTVQTRYT FGAALFVGWV AGGLTLIGGV MMCIACRGLA B5 201 PEETNYKAVS YHASGHSVAY KPGGFKASTG FGSNTKNKKI YDGGARTEDE 251 VQSYPSKHDY V

[0044] 在一个实施方案中,ADC包括共价连接至药物部分的LM-001。所述药物部分可以是与抗体上的偶联点反应的基团或被修饰以包括与抗体上的偶联点反应的基团。例如,药物部分可以通过烷基化(例如,在ε-氨基赖氨酸或抗体的N-末端)、氧化碳水化合物的还原胺化、羟基和羧基之间的酯交换、氨基或羧基的酰胺化以及与巯基结合来连接。

[0045] 在一些实施方案中,每个抗体分子所偶联的药物部分的数量p的范围平均为1至8;1至7、1至6、1至5、1至4、1至3或1至2。在一些实施方案中,p的范围平均为2至8、2至7、2至6、2至5、2至4或2至3。在其他实施方案中,p平均为1、2、3、4、5、6、7或8。在一些实施方案中,p的范围平均为约1至约20、约1至约10、约2至约10、约2至约9、约1至约8、约1至约7、约1至约6、约1至约5、约1至约4、约1至约3、或约1至约2。在一些实施方案中,p的范围为约2至约8、约2至约7、约2至约6、约2至约5、约2至约4或约2至约3。在一些实施方案中,p的范围为1至6、2至5或3至4。

[0046] 例如,当蛋白质的化学活化导致形成游离巯基时,所述蛋白质可以与巯基反应剂偶联。一方面,该试剂是一种实质上对游离巯基具有特异性的试剂。此类试剂包括例如马来酰亚胺、卤代乙酰胺(例如碘代、溴代或氯代)、卤酯(例如碘代、溴代或氯代)、卤代甲基酮(例如碘代、溴代或氯代)、苄基卤化物(例如碘化物、溴化物或氯化物)、乙烯基砜和吡啶巯基。

[0047] 药物可以通过接头与抗体或片段连接。合适的接头包括,例如,可切割的和不可切割的接头。可切割接头通常在细胞内条件下易于切割。合适的可切割接头包括例如可被细胞内蛋白酶切割的肽接头,例如溶酶体蛋白酶或内体蛋白酶。在示例性实施方案中,接头可以是二肽接头,例如缬氨酸-瓜氨酸(val-cit或VC)、苯丙氨酸-赖氨酸(phe-lys)接头或马来酰亚胺基己酸-缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苄氧羰基(maleimidocapronic-valine-citruline-p-aminobenzyloxycarbonyl,mc-Val-Cit-PABA)接头。另一种接头是磺基琥珀酰亚胺基-4-[N-马来酰亚胺甲基]环己烷-1-羧酸酯(Sulfosuccinimidyl-4-[N-

maleimidomethyl]cyclohexane-1-carboxylate,smcc)。Sulfo-smcc偶联通过与巯基(sulfhydryl)(thiol,-SH)反应的马来酰亚胺基团发生,而其Sulfo-NHS酯对伯胺(如在赖氨酸和蛋白质或肽N-末端发现的伯胺)具有反应性。另一种接头是马来酰亚胺已酰基(mc)。其他合适的接头包括在特定pH或pH范围可水解的接头,比如腙接头。其他合适的可切割接头包括二硫键接头。接头可以与抗体共价结合到这样的程度,即抗体必须在细胞内降解以释放药物,例如mc接头等。

[0048] 接头可以包括用于与抗体连接的基团。例如,接头可以包括氨基、羟基、羧基或巯基反应基团(例如,马来酰亚胺、卤代乙酰胺(例如,碘代、溴代或氯代)、卤酯(例如,碘代、溴代或氯代)、卤甲基酮(例如,碘代、溴代或氯代)、苄基卤化物(例如碘化物、溴化物或氯化物)、乙烯基砜和吡啶硫基)。

[0049] 在一些实施方案中,所述药物部分是细胞毒性剂或细胞抑制剂、免疫抑制剂、放射性同位素、毒素等。所述偶联物可以用于抑制肿瘤细胞或癌细胞的增殖,引起肿瘤或癌细胞的凋亡,或用于治疗患者的癌症。偶联物可以相应地用于各种环境以治疗动物癌症。偶联物可以用于将药物递送至肿瘤细胞或癌细胞。不受理论束缚,在一些实施方案中,偶联物与表达claudin 18.2的癌细胞结合或缔合,并且偶联物和/或药物可以通过受体介导的内吞作用被吸收到肿瘤细胞或癌细胞内。

[0050] 一旦进入细胞内,偶联物内(例如,在接头中)的一个或多个特定肽序列被一种或多种肿瘤细胞或癌细胞相关的蛋白酶水解切割,导致药物释放。然后释放的药物在细胞内自由迁移并诱导细胞毒性或细胞抑制或其他活性。在一些实施方案中,药物在肿瘤细胞或癌细胞外从抗体上切割下来,药物随后穿透细胞,或在细胞表面起作用。

[0051] 药物部分或有效载荷的实例选自由以下组成的组:DM1(美登素、N2'-脱乙酰基-N2'-(3-巯基-1-氧代丙基)-或N2'-脱乙酰基-N2'-(3-巯基-1-氧代丙基)-美登素)、mc-MMAD(6-马来酰亚胺已酰基-单甲基澳瑞他汀-D或N-甲基-L-缬氨酰-N-[(1S,2R)-2-甲氧基-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代-3-[[(1S)-2-苯基-1-(2-噻唑基)乙基]氨基]丙基]-1-吡咯烷基]-1-[(1S)-1-甲基丙基]-4-氧代丁基]-N-甲基-(9Cl)-L-缬氨酰胺)、mc-MMAF(马来酰亚胺已酰基-单甲基澳瑞他汀F或N-[6-(2,5-二氢-2,5-二氧代-1H-吡咯-1-基)-1-氧代已基]-N-甲基-L-缬氨酰-L-缬氨酰-(3R,4S,5S)-3-甲氧基-5-甲基-4-(甲氨基)庚酰基-(αR,βR,2S)-β-甲氧基-α-甲基-2-吡咯烷丙酰基-L-苯丙氨酸)和mc-Val-Cit-PABA-MMAE(6-马来酰亚胺已酰基-ValcCit-(对氨基苄氧羰基)-单甲基澳瑞他汀E或N-[[[4-[[N-[6-(2,5-二氢-2,5-二氧代-1H-吡咯-1-基)-1-氧代已基]-L-缬氨酰-N5-(氨基羰基)-L-鸟氨酰基]氨基]苯基]甲氧基]羰基]-N-甲基-L-缬氨酰-N-[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[(1R,2S)-2-羟基-1-甲基-2-苯乙基]氨基]-1-甲氧基-2-甲基-3-氧代丙基]-1-吡咯烷基]-2-甲氧基-1-[(1S)-1-甲基丙基]-4-氧代丁基]-N-甲基-L-缬氨酰胺)。DM1是微管蛋白抑制剂美登素的衍生物,而MMAD、MMAE和MMAF是奥瑞他汀衍生物。在一些实施方案中,药物部分选自由mc-MMAF和mc-Val-Cit-PABA-MMAE组成的组。在一些实施方案中,药物部分是美登素类(maytansinoid)或奥瑞他汀。

[0052] 在一些实施方案中,抗体LM001通过Val-Cit接头与MMAE偶联。在一些实施方案中,抗体LM001通过Val-Cit接头与MMAF偶联。在一些实施方案中,每个抗体与1-20、2-20、2-8、2-6、2-5或3-4个Val-Cit-MMAE或Val-Cit-MMAF偶联。

[0053] PD-1或PD-L1的抑制剂是指能够抑制细胞表面存在的PD-1和PDL1免疫检查点蛋白活性的任何治疗剂、小分子或抗体。PD-1和PD-L1抑制剂的作用是抑制程序性死亡配体1(PD-L1)与其受体程序性细胞死亡蛋白1(PD-1)的结合。这些细胞表面蛋白的相互作用参与免疫系统的抑制,并在感染后发生,以限制旁观者宿主细胞的杀伤并预防自身免疫性疾病。

[0054] 在一些实施方案中,PD-1或PD-L1抑制剂是抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体。示例PD-1抑制剂包括但不限于阿替利珠单抗、阿维鲁单抗、度伐利尤单抗、KN035、CK-301、AUNP12、CA-170和BMS-986189。示例PD-L1抑制剂包括但不限于帕博利珠单抗、纳武利尤单抗、西米普利单抗、多斯塔利单抗、JTX-4014、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、INCMGA00012、AMP-224和AMP-514。

[0055] 帕博利珠单抗(Pembrolizumab)(以前的MK-3475或lambrolizumab、Keytruda)由默克公司(Merck)开发,并于2014年首次获得美国食品药品管理局批准用于治疗黑色素瘤。后来被批准用于转移性非小细胞肺癌和头颈部鳞状细胞癌。2017年,它成为首个基于肿瘤基因突变而不是肿瘤部位而被批准使用的免疫治疗药物。

[0056] 纳武利尤单抗(Nivolumab)(Opdivo)由百时美施贵宝公司(Bristol-Myers Squibb)开发,并于2014年首次获得FDA批准用于治疗黑色素瘤。后来被批准用于鳞状细胞肺癌、肾细胞癌和霍奇金淋巴瘤。

[0057] 西米普利单抗(Cemiplimab)(Libtayo)由再生元制药(Regeneron Pharmaceuticals)开发,于2018年首次获得FDA批准,用于治疗不适合进行治疗性手术或治疗性放疗的皮肤鳞状细胞癌(CSCC)或局部晚期CSCC。

[0058] 多斯塔利单抗(Dostarlimab)(Jemperli)由葛兰素史克公司(GlaxoSmithKline)开发,于2021年4月首次获得FDA批准用于治疗错配修复缺陷(dMMR)复发性或晚期子宫内膜癌。2021年8月17日,FDA加速批准用于治疗错配修复缺陷(dMMR)复发性或晚期实体瘤。

[0059] JTX-4014由Jounce Therapeutics开发,截至2020年进入I期试验。斯巴达珠单抗(Spartalizumab)(PDR001)是诺华(Novartis)开发的用于治疗实体瘤和淋巴瘤的PD-1抑制剂,截至2018年已进入III期试验。卡瑞利珠单抗(Camrelizumab)(SHR1210)是江苏恒瑞医药股份有限公司推出的抗PD-1单克隆抗体,最近在中国获得有条件批准,用于治疗复发或难治性经典霍奇金淋巴瘤。

[0060] 信迪利单抗(Sintilimab)(IBI308)是信达生物(Innovent)和礼来公司(Eli Lilly)为非小细胞肺癌(NSCLC)患者开发的人抗PD-1抗体。替雷利珠单抗(Tislelizumab)(BGB-A317)是一种人源化IgG4抗PD-1单克隆抗体,处于实体瘤和血液系统癌症的关键性3期和2期临床试验中。

[0061] 特瑞普利单抗(Toripalimab)(JS 001)是一种抗PD-1的人源化IgG4单克隆抗体,处于临床研究中。INCMGA00012(MGA012)是一种人源化IgG4单克隆抗体,由因赛特(Incyte)和MacroGenics开发。AMP-224正在由阿斯利康(AstraZeneca)/MedImmune和葛兰素史克开发。AMP-514(MEDI0680)正在由阿斯利康开发。

[0062] 阿替利珠单抗(Atezolizumab)(Tecentriq)是由罗氏基因泰克公司(Roche Genentech)开发的完全人源化IgG1(免疫球蛋白1)抗体。2016年,FDA批准阿替利珠单抗用于尿路上皮癌和非小细胞肺癌。

[0063] 阿维鲁单抗(Avelumab)(Bavencio)是由默克雪兰诺公司(Merck Serono)和辉瑞

公司(Pfizer)开发的全人IgG1抗体。阿维鲁单抗被FDA批准用于治疗转移性默克尔细胞癌。它在胃癌III期临床试验中失败。

[0064] 度伐利尤单抗(Durvalumab)(Imfinzi)是由阿斯利康公司开发的全人IgG1抗体。度伐利尤单抗被FDA批准用于治疗化放疗后尿路上皮癌和无法切除的非小细胞肺癌。

[0065] 还有一些PD-L1抑制剂正处于开发实验阶段。KN035是一种皮下制剂形式的PD-L1抗体,目前正在美国、中国和日本进行临床评估。Checkpoint Therapeutics的CK-301是一种由Dana Farber开发的PD-L1抑制剂,目前正在进行NSCLC的3期试验。

[0066] AUNP12是一种29-mer肽,是Aurigene和Laboratoires Pierre Fabre开发的首个消化性PD-1/PD-L1抑制剂,在体外实验结果良好后,目前正在临床试验中进行评估。

[0067] CA-170由Aurigene/Curis公司发现,是PD-L1和VISTA拮抗剂,被证明是一种体外强效的小分子抑制剂。该化合物目前正处于针对间皮瘤患者进行的I期临床试验。

[0068] BMS-986189是由百时美施贵宝发现的大环肽,目前正在健康受试者身上研究其药代动力学、安全性和耐受性。

[0069] 在一个具体实施方案中,PD-1抑制剂是特瑞普利单抗。在另一个实施方案中,PD-1抑制剂是纳武利尤单抗。

[0070] 癌症的非限制性实例包括膀胱癌、乳腺癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、食道癌、头颈癌、肾癌、白血病、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑色素瘤、胰腺癌、前列腺癌和甲状腺癌。在一些实施方案中,所述癌症是胃癌、胰腺癌、食道癌、卵巢癌和肺癌中的一种或多种。

[0071] 可以用本公开的抗体或其变体或衍生物治疗、预防、诊断和/或预后的、与细胞存活提高有关的其他疾病或病症包括但不限于:恶性肿瘤以及相关的紊乱的进展和/或转移,恶性肿瘤以及相关的疾病为例如白血病(包括急性白血病(例如,急性淋巴细胞白血病、急性髓性白血病(包括髓母细胞性(myeloblastic)、早幼粒细胞性(promyelocytic)、髓单核细胞性、单核细胞性和红细胞性白血病))和慢性白血病(例如,慢性髓性(粒细胞性(granulocytic))白血病和慢性淋巴细胞性白血病))、真性红细胞增多症、淋巴瘤(例如霍奇金氏病(Hodgkin'sdisease)和非霍奇金氏病)、多发性骨髓瘤、华氏巨球蛋白血症(Waldenstrom'smacroglobulinemia)、重链病和实体瘤,实体瘤包括但不限于肉瘤和癌瘤,例如纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、成骨肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮肉瘤(lymphangioendotheliosarcoma)、滑膜瘤、间皮瘤、尤因氏肿瘤(Ewing's tumor)、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、结肠癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管癌、肾细胞癌、肝癌、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎癌、威尔姆氏肿瘤(Wilm's tumor)、宫颈癌、睾丸癌、肺癌、小细胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神经胶质瘤、星形细胞瘤、髓母细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、血管母细胞瘤、听神经瘤、少突胶质细胞瘤、脑膜瘤(menangioma)、黑素瘤、神经母细胞瘤和视网膜母细胞瘤。

[0072] 用于任何特定患者的具体剂量和治疗方案将取决于多种因素,包括所使用的特定抗体、其变体或衍生物,患者的年龄、体重、总体健康状况、性别、饮食、以及给药时间、排泄率、联合用药和正在治疗的特定疾病的严重程度。医疗护理人员对这些因素的判断在本领域普通技术范围内。该量还将取决于待治疗的个体患者、给药途径、制剂类型、所用化合物的特性、疾病的严重程度和所需的效果。所使用的量可以通过本领域公知的药理学和药代

动力学原理确定。

[0073] 抗体、片段或抗体药物偶联物的施用方法包括但不限于皮内、肌内、腹膜内、静脉内、皮下、鼻内、硬膜外和口服途径。抗原结合多肽或组合物可以通过任何方便的途径施用，例如通过输注或团注，通过经上皮或粘膜皮肤内层(例如口腔粘膜、直肠和肠粘膜等)吸收，并且可以与其他生物活性剂一起施用。因此，含有本公开的抗原结合多肽的药物组合物可以口服、直肠、肠胃外、脑池内、阴道内、腹膜内、局部(如通过粉剂、软膏、滴剂或透皮贴剂)、口腔施用，或作为口腔或鼻腔喷雾剂。

[0074] 如本文所用的术语“肠胃外”是指施用方式，包括静脉内、肌内、腹膜内、胸骨内、皮下和关节内注射和输注。

[0075] 在一些实施方案中，所述PD-L1或PD-1抑制剂每1周、每2周、或每3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周或10周施用一次。在一些实施方案中，所述ADC每1周、每2周、或每3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周或10周施用一次。

[0076] 在一些实施方案中，所述PD-L1或PD-1抑制剂和所述ADC在同一天施用。在一些实施方案中，所述PD-L1或PD-1抑制剂和所述ADC在同一医疗就诊期间施用。在一些实施方案中，所述PD-L1或PD-1抑制剂和所述ADC分别施用。在一些实施方案中，所述PD-L1或PD-1抑制剂和所述ADC以联合制剂形式施用。

[0077] 在一些实施方案中，所述PD-L1或PD-1抑制剂(例如，特瑞普利单抗)以约0.1mg/kg至10mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中，每次剂量为至少0.1mg/kg、0.2mg/kg、0.4mg/kg、0.5mg/kg、0.8mg/kg、1mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.6mg/kg、1.8mg/kg、2mg/kg、2.4mg/kg、2.5mg/kg、2.8mg/kg、3mg/kg、3.5mg/kg、4mg/kg或5mg/kg。在一些实施方案中，每次剂量不高于0.2mg/kg、0.4mg/kg、0.5mg/kg、0.8mg/kg、1mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.6mg/kg、1.8mg/kg、2mg/kg、2.4mg/kg、2.5mg/kg、2.8mg/kg、3mg/kg、3.5mg/kg、4mg/kg、5mg/kg或10mg/kg。在一些实施方案中，每次剂量为0.2mg/kg、0.4mg/kg、0.8mg/kg、1.6mg/kg、2.0mg/kg或2.4mg/kg。

[0078] 在一些实施方案中，所述ADC以约0.1mg/kg至10mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中，每次剂量为至少0.1mg/kg、0.2mg/kg、0.4mg/kg、0.5mg/kg、0.8mg/kg、1mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.6mg/kg、1.8mg/kg、2mg/kg、2.4mg/kg、2.5mg/kg、2.8mg/kg、3mg/kg、3.5mg/kg、4mg/kg或5mg/kg。在一些实施方案中，每次剂量不高于0.2mg/kg、0.4mg/kg、0.5mg/kg、0.8mg/kg、1mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.6mg/kg、1.8mg/kg、2mg/kg、2.4mg/kg、2.5mg/kg、2.8mg/kg、3mg/kg、3.5mg/kg、4mg/kg、5mg/kg或10mg/kg。在一些实施方案中，每次剂量为0.2mg/kg、0.4mg/kg、0.8mg/kg、1.6mg/kg、2.0mg/kg或2.4mg/kg。

[0079] 如实施例4和图4所示，更高剂量的ADC并不一定导致更高的疗效。事实上，在接受测试的GC和GEJ患者中，较低剂量的ADC(1.6mg/kg)比较高剂量(2.0mg/kg)产生更高的(甚至完全)反应。因此，在一些实施方案中，ADC的每次剂量为1.0mg/kg至2.0mg/kg。在一些实施方案中，ADC的每次剂量为1.2mg/kg至1.9mg/kg。在一些实施方案中，ADC的每次剂量为1.2mg/kg至1.8mg/kg。在一些实施方案中，ADC的每次剂量为1.4mg/kg至1.8mg/kg。在一些实施方案中，ADC的每次剂量为1.5mg/kg至1.7mg/kg。在一些实施方案中，ADC的每次剂量为1.55mg/kg至1.65mg/kg。在一些实施方案中，被治疗的癌症是胃肠道癌，例如GC或GEJ。

[0080] 在一个具体的实施方案中，提供了一种用于治疗有需要的患者的癌症的方法，包

括向所述患者施用PD-1或PD-L1的抑制剂和vcMMAE偶联的抗claudin 18.2抗体(ADC),其中:所述抗体包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的VH以及含有SEQ ID NO:2的氨基酸的VL;每个抗体与2-6个单位的vcMMAE偶联;所述ADC以1.2mg/kg至1.8mg/kg的剂量施用;并且所述癌症是胃肠道癌。

[0081] 在一些实施方案中,所述胃肠道癌是胃癌(GC)或胃食管连接部癌(GJC)。在一些实施方案中,所述PD-1或PD-L1的抑制剂是特瑞普利单抗。在一些实施方案中,所述PD-1或PD-L1抑制剂是纳武利尤单抗。

[0082] 组合物

[0083] 本公开还提供药物组合物。这样的组合物包含有效量的抗体、片段或抗体药物偶联物,以及可接受的载体。

[0084] 在一个具体的实施方案中,术语“药学上可接受的”是指由联邦或州政府的监管机构批准或在美国药典或其他公认的药典中列出的用于动物的,尤其是人类的。进一步地,“药学上可接受的载体”将通常是任何类型的无毒固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、封装材料或制剂助剂。

[0085] 术语“载体”是指与治疗剂一起施用的稀释剂、辅助剂、辅料或赋形剂。这样的药物载体可以是无菌液体,比如水和油,包括石油、动物、植物或合成来源的那些油,例如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。当药物组合物静脉内给药时,水是优选的载体。盐溶液以及葡萄糖水溶液和甘油溶液也可以用作液体载体,特别是用于注射溶液。合适的药物辅料包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇等。如果需要,该组合物还可以含有少量的湿润剂或乳化剂,或pH缓冲剂,比如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐。还设想了抗菌剂,比如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂,比如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂,比如乙二胺四乙酸;以及用于调节张度(tonicity)的试剂,比如氯化钠或右旋糖(dextrose)。这些组合物可以采取溶液、悬浮液、乳剂、片剂、丸剂、胶囊、粉剂、缓释制剂等形式。该组合物可以与传统的粘合剂和载体(例如甘油三酯)一起配制成栓剂。口服制剂可以包括标准载体,比如药用级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。合适的药物载体的实例在E.W.Martin的《Remington’s Pharmaceutical Sciences》中有描述,其通过引用并入本文。这样的组合物将包含治疗有效量的抗原结合多肽,优选地以纯化形式,与适量的载体一起,以提供用于向患者适当施用的形式。该制剂应与施用方式相适应。可以将肠胃外制剂封装在玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。

[0086] 在一个实施方案中,所述组合物根据常规程序被配制成适于静脉内施用于人类的药物组合物。通常,用于静脉内施用的组合物是在无菌等渗水性缓冲液中的溶液。必要时,该组合物还可以包括增溶剂和局部麻醉剂,比如利多卡因,以减轻注射部位的疼痛。通常,将成分以单位剂型单独提供或混合提供,例如,作为干燥的冻干粉或无水浓缩物提供在密闭容器中,比如指示活性剂的量的安瓿或小药囊中。在组合物通过输注施用的情况下,可以用装有无菌药用级水或盐水的输液瓶分配。在组合物通过注射施用的情况下,可以提供一安瓿的无菌注射用水或盐水,以使得可以在施用之前将成分混合。

[0087] 实施例

[0088] 实施例1:抗claudin 18.2抗体药物偶联物的制备和测试

[0089] 本实施例制备了一种抗体药物偶联物(ADC),其抗体为WO2019219089中所公开的抗体4F11E2 HC N55E-LC S32A(“LM-001”)。LM-001具有以下序列。

[0090] 表1 LM-001序列

[0091]

名称	序列	SEQ ID NO:
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**TFGMH**WVRQAPGKGLEWVS **YITSGESPIYFTDTVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR **SSYYGNSMDY**WGQGTLVTVSS	1
VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**RSSQSLLNAGNRKNYLT**WYQQKPGQP PKLLIY**WASTRES**GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QNAY SYPFT**FGGGTKLEIK	2
VH CDR1	TFGMH (246)	3

[0092]

VH CDR2	YITSGESPIYFTDTVKG (311)	4
VH CDR3	SSYYGNSMDY (294)	5
VL CDR1	RSSQSLLNAGNRKNYLT (309)	6
VL CDR2	WASTRES (227)	7
VL CDR3	QNAYSYPFT (13)	8

[0093] 已确定claudin 18.2蛋白的残基W30、N45、Y46、G48、L49、W50、C53、V54、R55、E56、S58、F60、E62、C63、R80、Y169和G172参与了与该抗体的结合。W30是claudin 18.2蛋白第一个胞外域前半部分残基簇的一部分。N45、Y46、G48、L49、W50、C53、V54、R55、E56、S58、F60、E62和C63位于同一胞外域内的第二残基簇中。另一方面,Y169和G172位于或靠近第二个胞外域。Claudin 18.2具有四个跨膜片段、一个短的细胞内N端、一个大的第一个细胞外环(环1或ECS1)(其中包含共识W-LW-C-C基序)、一个较短的第二个细胞外环(环2或ECS2)和一个细胞内C端尾。环1包括四条β链β1、β2、β3和β4,环包括一条β链β5。

[0094] 为了制备ADC(称为LM-002),将抗体与约三倍的TCEP混合,并在37℃下搅拌2小时。反应体系快速滴加八倍的VC-MMAE,并在冰上孵育1小时,并相对药物接头加入20倍过量的半胱氨酸以熄灭反应。最后,通过PBS平衡的Sephadex G-25洗脱来纯化ADC产物,并通过离心超滤进行浓缩。在无菌条件下通过0.2μm过滤器过滤偶联物并储存在-80℃下以供分析和测试。通过紫外光谱法分析药物抗体比例,通过SEC-HPLC分析单体含量,通过RP-HPLC分析游离药物含量。vcMMAE偶联的LM-001的药物抗体比(DAR)为3.76。

[0095] 实施例2:抗体药物偶联物和PD-1抗体联合

[0096] 本实施例在具有表达人CLDN18.2的LLC1(Lewis肺癌)细胞的C57BL/6小鼠模型中评估了LM-002和抗PD1抗体(LM-PD1)单独作为单一药剂以及LM-002与抗PD1抗体联合的抗肿瘤功效。

[0097] 下表2示出了实验设计。

[0098] 表2功效研究的组别和治疗

[0099]

组别	N[a]	给药水平 (mg/kg)	给药体积[b] (mL/kg)	给药途径	给药方案[c]
PBS	8	N/A	10	i.p.	biw*3 周
LM-PD1	8	5	10	i.p.	biw*2 周
LM-002	8	2.5	5	i.v.	qw*3 周
LM-002	8	5	5	i.v.	qw*3 周
LM-002+ LM-PD1	8	2.5+5	5+10	i.v.+i.p.	qw*3 周+biw*2 周
LM-002+ LM-PD1	8	5+5	5+10	i.v.+i.p.	qw*3 周+biw*2 周

[0100] a.每组动物的数量

[0101] b.给药体积:基于体重调整给药体积,5μL/g或10μL/g。如果体重减轻>15%,可以调整治疗方案。

[0102] c.QW:一周一次;biw:一周两次

[0103] 细胞培养

[0104] LLC1/H_CLDN18.2肿瘤细胞在37℃、空气中5%CO_2环境下体外维持在DMEM培养基中,该DMEM培养基中添加有10%胎牛血清(FBS)、100U/mL青霉素和100μg/mL链霉素。肿瘤细胞每周常规进行两次传代培养。收获处于指数生长期的细胞并计数以进行肿瘤接种。

[0105] 肿瘤接种

[0106] 每只小鼠在右腋窝(侧面)皮下接种0.1mL PBS中的LLC1/H_CLDN18.2肿瘤细胞(0.3×10^6)以进行肿瘤发展。当肿瘤体积达到约50mm^3时,即细胞接种后第10天,根据肿瘤体积将动物随机分组。LM-002和LM-PD1开始给药进行疗效研究。各组中的测试物施用情况及动物数目如表2所示。

[0107] 观察结果

[0108] 研究中与动物处理、护理和治疗相关的所有程序均按照B&K和Medsyin机构动物护理和使用委员会(IACUC)批准的指南进行,并遵循实验室动物护理评估和认证协会(AAALAC)的指导。在常规监测期间,每天检查动物肿瘤生长和治疗对正常行为的任何影响,例如活动能力、食物和水消耗(仅通过观察)、体重增加/减少(每两天或每周两次测量体重)、眼睛/毛发打结和协议中规定的任何其他异常影响。根据每个子集中的动物数量记录死亡和观察到的临床症状。

[0109] 肿瘤测量和终点

[0110] 主要终点是观察肿瘤生长是否可以被延迟或小鼠是否可以被治愈。当1)对照组的平均肿瘤体积达到2000mm^3以上,2)或小鼠已接受3周治疗时,即为实验终点。当满足一个条件时,实验将终止。

[0111] 使用卡尺(No.105688,sylvac Dantsin)在二维方向上每周测量肿瘤大小三次,并使用以下公式以mm^3为单位表示体积:$V=0.5a\times b^2$,其中a和b分别是肿瘤的长径和短径。然后将肿瘤大小用于计算T/C(%)值。T/C(%)使用以下公式计算:T/C%=(Ti-T0)/(Vi-V0)×100,Ti为治疗组在规定日的平均肿瘤体积,T0为治疗组在治疗第一天的平均肿瘤体积,Vi是载体对照组在与Ti同一天的平均肿瘤体积,V0是载体组在治疗第一天的平均肿瘤体积。

[0112] 使用以下公式计算每组的TGI(肿瘤生长抑制):TGI(%)=[100-T/C]%。根据药物

审查中心抗肿瘤药物的指导原则,t/C%≤40%,认为该药物有效。根据NIH指南,TGI%≥58%,认为该药物有效。

[0113] 统计分析

[0114] 提供各组别各时间点肿瘤体积的汇总统计信息,包括平均值和平均值的标准误差(SEM)(详见第10.1节表6)。对治疗时间点获得的数据进行组间肿瘤体积差异的统计分析。P值由Microsoft Excel 2013计算。

[0115] 进行T检验以比较各组间的肿瘤体积。p值<0.05被认为具有统计学意义。

[0116] 结果

[0117] 根据实验要求,于第18天完成研究。不同组别的肿瘤体积的详细信息如下所示。

[0118] 体重

[0119] 定期监测LLC1/H_CLDN18.2荷瘤小鼠体重,作为毒性的间接衡量指标。治疗后,各组小鼠体重均未明显下降。给药后LLC1/H_CLDN18.2荷瘤小鼠的体重详细变化及体重相对变化如图1和图2所示。给药后LLC1/H_CLDN18.2荷瘤小鼠的肿瘤生长曲线如图3所示。数据如表3-4所示。

[0120] 表3治疗后T/C(%)、TGI(%)(N=8)

[0121]

T/C(%) **治疗后天数**	**0**	**4**	**6**	**8**	**11**	**13**	**15**	**18**
G2:LM-PD1 5mpk	-	87.27	80.89	95.60	82.49	92.98	92.02	89.48
G3:LM-002 2.5mpk	-	91.50	82.97	81.98	75.78	78.41	88.81	89.70
G4:LM-002 5mpk	-	74.72	69.45	85.66	74.92	77.54	80.05	75.55
G5:LM-002+ LM-PD1 2.5mpk+5mpk	-	87.46	69.48	55.75	46.43	46.78	62.01	51.35
G6:LM-002+ LM-PD1 5mpk+5mpk	-	75.35	65.78	68.03	52.40	53.09	64.57	57.37
TGI(%) **治疗后天数**	**0**	**4**	**6**	**8**	**11**	**13**	**15**	**18**
G2:LM-PD1 5mpk	-	12.73	19.11	4.40	17.51	7.02	7.98	10.52
G3:LM-002 2.5mpk	-	8.50	17.03	18.02	24.22	21.59	11.19	10.30
G4:LM-002 5mpk	-	25.28	30.55	14.34	25.08	22.46	19.95	24.45
G5:LM-002+ LM-PD1 2.5mpk+5mpk	-	12.54	30.52	44.25	53.57	53.22	37.99	48.65
G6:LM-002+ LM-PD1 5mpk+5mpk	-	24.65	34.22	31.97	47.60	46.91	35.43	42.63

[0122] 表4不同组别不同时间点的P值

[0123]

P值 vs. PBS组 治疗后天数	0	4	6	8	11	13	15	18
G2:LM-PD1 5mpk	0.9977	0.6707	0.2109	0.8730	0.4164	0.6949	0.6253	0.5588
G3:LM-002 2.5mpk	0.9945	0.8139	0.4942	0.5498	0.3525	0.3514	0.6538	0.5988
G4:LM-002 5mpk	0.9818	0.349	0.0844	0.6033	0.2705	0.2125	0.2232	0.0452
G5:LM-002+ LM-PD1 2.5mpk+5mpk	0.9937	0.6465	0.0675	0.0725	0.0106	0.002	0.0116	0.0002
G6:LM-002+ LM-PD1 5mpk+5mpk	0.9836	0.3783	0.0247	0.1997	0.0302	0.007	0.0139	0.0008

[0124]

P值 vs. 抗PD1组 治疗后天数	0	4	6	8	11	13	15	18
G5:LM-002+ LM-PD1 2.5mpk+5mpk	0.9954	0.9930	0.4358	0.0754	0.0085	0.0015	0.0250	0.0277
G6:LM-002+ LM-PD1 5mpk+5mpk	0.9798	0.6416	0.2364	0.2270	0.0505	0.0073	0.0307	0.0623

[0125] 本实施例旨在测试抗体(LM-002和LM-PD1)在LLC1/H_CLDN18.2模型中的抗肿瘤效果。给药后第18天小鼠的体重变化以及体重相对变化如图1-2所示。给药期间,所有组别的小鼠均未出现明显体重下降,给药组小鼠耐受性良好。

[0126] 给药后,PBS组、LM-PD1(5mg/kg)组、LM-002(2.5mg/kg)组、LM-002(5mg/kg)组、LM-002(2.5mg/kg)+LM-PD1(5mg/kg)组、以及LM-002(5mg/kg)+LM-PD1(5mg/kg)组的平均肿瘤体积分别为2399.71mm^3、2153.09mm^3、2158.26mm^3、1826.44mm^3、1259.28mm^3、1400.26mm^3(图3)。LM-PD1(5mg/kg)组、LM-002(2.5mg/kg)组、LM-002(5mg/kg)组、LM-002(2.5mg/kg)+LM-PD1(5mg/kg)组以及LM-002(5mg/kg)+LM-PD1(5mg/kg)组的T/C分别为89.48%、89.70%、75.55%、51.35%、57.37%。TGI分别为10.52%、10.3%、25.45%、48.65%、42.63%(表3)。T/C%<40%和TGI%>58%表明治疗有效。

[0127] 治疗组相比于载体组的p值如表4所示。实验结束时(第18天),与PBS组相比,5mg/kg的LM-002组以及联合组均表现出显著的抗肿瘤活性,与LM-PD1单药组相比,LM-002(2.5mg/kg)+LM-PD1(5mg/kg)的联合表现出明显更高的抗肿瘤活性(P=0.0277)。有趣的是,与较高剂量LM-002(5mg/kg)+LM-PD1(5mg/kg)组相比,较低剂量LM-002(2.5mg/kg)+LM-PD1(5mg/kg)组具有不逊色的抗肿瘤作用。

[0128] 实施例3临床试验方案

[0129] 抗claudin 18.2抗体药物偶联物LM-002与抗PD-1抗体特瑞普利单抗的联合将在临床试验中进行测试。

[0130] 特瑞普利单抗将以240mg静脉注射的方式施用,每3周一次。LM-002将在第1天以每三周一次的方式静脉注射施用。对于I期,有2个预定义的LM-002给药水平(0.2mg/kg、0.4mg/kg)。对于Ib期,6个预定义给药水平的LM-002(0.2mg/kg、0.4mg/kg、0.8mg/kg、

1.6mg/kg、2.0mg/kg和2.4mg/kg)与固定剂量的特瑞普利单抗(240mg/kg)联合。

[0131] 将晚期实体瘤患者纳入该试验。

[0132] 实施例4临床试验结果

[0133] 抗claudin 18.2抗体药物偶联物LM-002(1.6mg/kg和2.0mg/kg)和抗PD-1抗体特瑞普利单抗(240mg)的联合在一项初步人体试验中进行了测试。接受治疗的患者患有胃癌(GC)或胃食管连接部癌(GEJ)。

[0134] 本次试验纳入了8名患者,其中3名患者可进行基线肿瘤评估,并至少进行过一次靶病变基线后评估。他们的反应如图4的图表所示,非常积极。一名患者完全缓解(CR),两名患者部分缓解(PR)。有趣的是,与较高LM-002剂量(2.0mg/kg)的联合相比,较低剂量(1.6mg/kg)LM-002的联合明显更有效。

[0135] ***

[0136] 本公开的范围不受所描述的具体实施方案的限制,所述具体实施方案旨在作为本公开的各个方面的单一说明,并且任何在功能上等效的组合物或方法均在本公开的范围内。对本领域技术人员显而易见的是,在不脱离本公开的精神或范围的情况下,可以对本公开的方法和组合物进行各种修改和变化。因此,本公开旨在覆盖本公开的修改和变化,只要这些修改和变化落入所附权利要求及其等效物的范围内。

[0137] 本说明书中提及的所有出版物和专利申请均以引用方式并入本文,其程度就如同每个单独的出版物或专利申请被特别地和单独地指示为以引用方式并入一样。

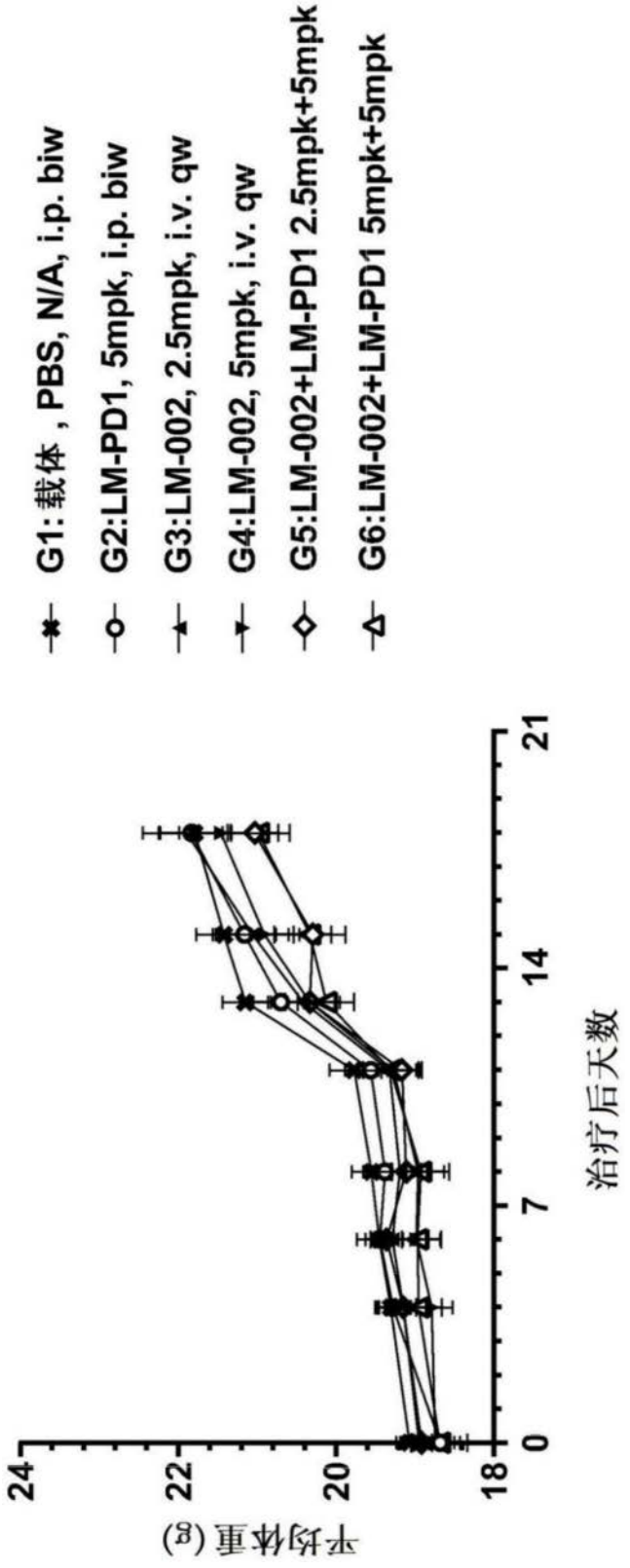
G1: 载体 , PBS, N/A, i.p. biw
G2:LM-PD1, 5mpk, i.p. biw
G3:LM-002, 2.5mpk, i.v. qw
G4:LM-002, 5mpk, i.v. qw
G5:LM-002+LM-PD1 2.5mpk+5mpk
G6:LM-002+LM-PD1 5mpk+5mpk
平均体重 (g)
24
22
20
18
0
7
14
21
治疗后天数

图1

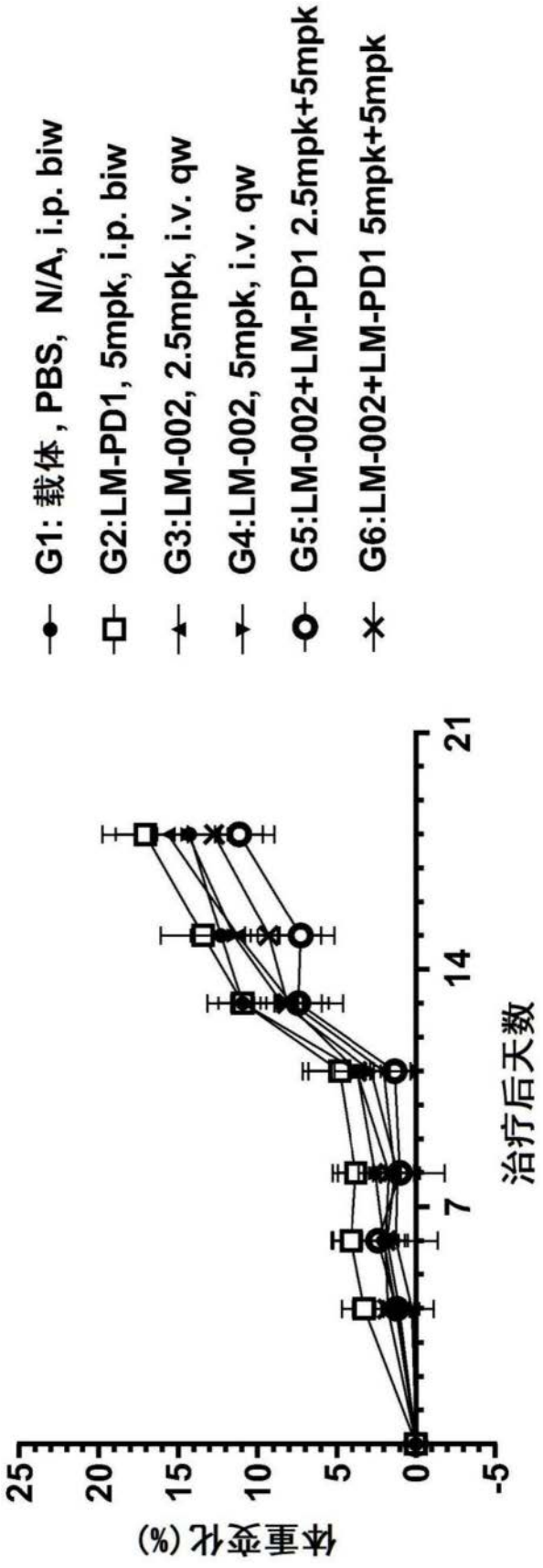
G1: 载体 , PBS, N/A, i.p. biw
G2:LM-PD1, 5mpk, i.p. biw
G3:LM-002, 2.5mpk, i.v. qw
G4:LM-002, 5mpk, i.v. qw
G5:LM-002+LM-PD1 2.5mpk+5mpk
G6:LM-002+LM-PD1 5mpk+5mpk
体重变化(%)
25
20
15
10
5
0
-5
7
14
21
治疗后天数

图2

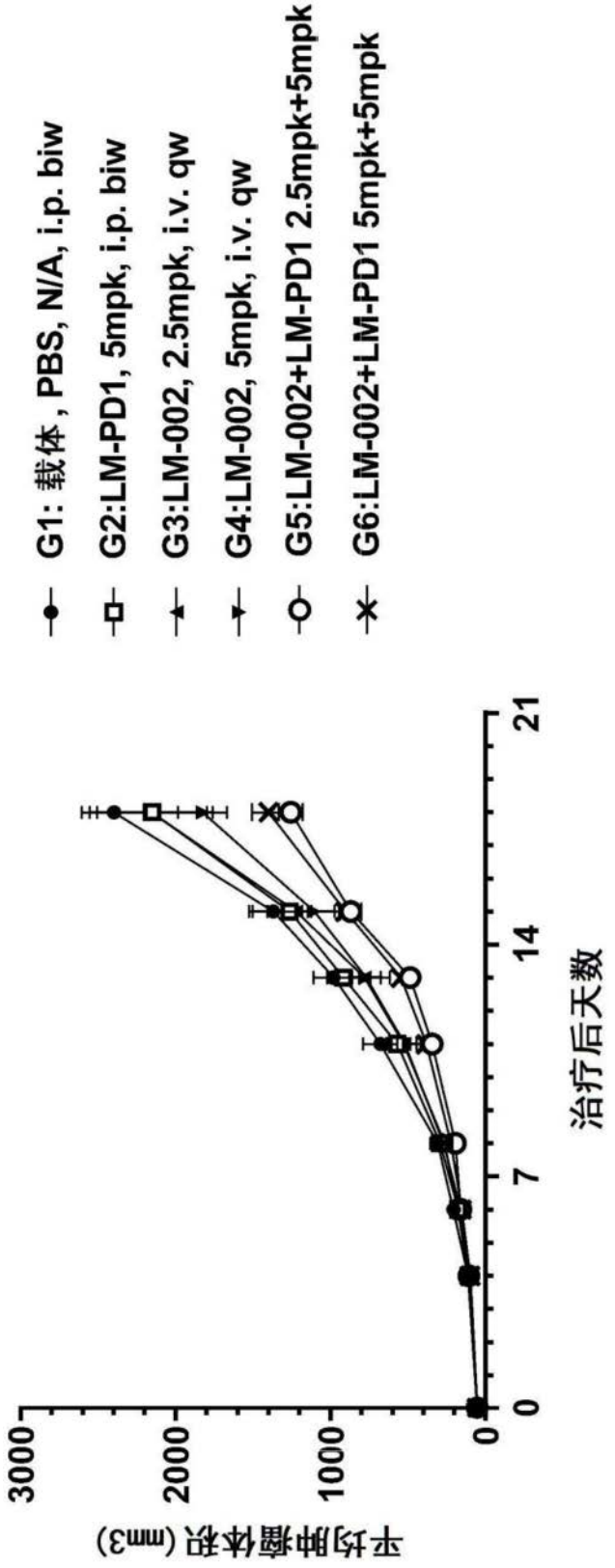
G1: 载体 , PBS, N/A, i.p. biw
G2:LM-PD1, 5mpk, i.p. biw
G3:LM-002, 2.5mpk, i.v. qw
G4:LM-002, 5mpk, i.v. qw
G5:LM-002+LM-PD1 2.5mpk+5mpk
G6:LM-002+LM-PD1 5mpk+5mpk
平均肿瘤体积 (mm3)
3000
2000
1000
0
0
7
14
21
治疗后天数

图3

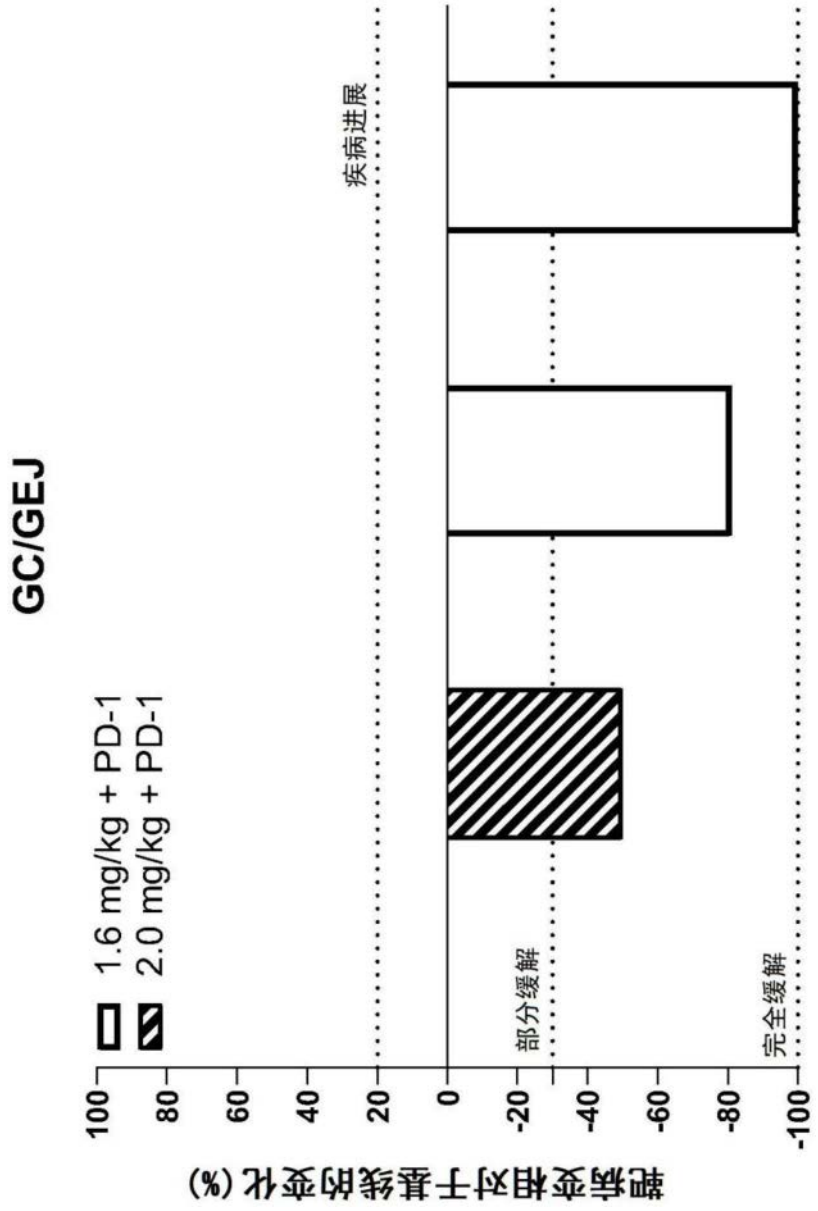
GC/GEJ
1.6 mg/kg + PD-1
2.0 mg/kg + PD-1
疾病进展
部分缓解
完全缓解
100
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
靶病变相对于基线的变化 (%)

图4