



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114555126 A

(43) 申请公布日 2022.05.27

(21) 申请号 202080056860.0

R · J · 温奎斯特

(22) 申请日 2020.06.11

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

(30) 优先权数据

62/860,182 2019.06.11 US

11256

62/924,356 2019.10.22 US

专利代理人 陈文平 徐志明

62/932,160 2019.11.07 US

(51) Int.CI.

A61K 47/64 (2017.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 38/20 (2006.01)

2022.02.10

A61K 38/17 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61K 9/19 (2006.01)

PCT/EP2020/066234 2020.06.11

A61K 39/395 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

A61K 45/06 (2006.01)

W02020/249693 EN 2020.12.17

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

(71) 申请人 奥克梅斯制药爱尔兰有限公司

地址 爱尔兰都柏林

(72) 发明人 H · C · 洛西 J · 洛佩斯 孙蕾

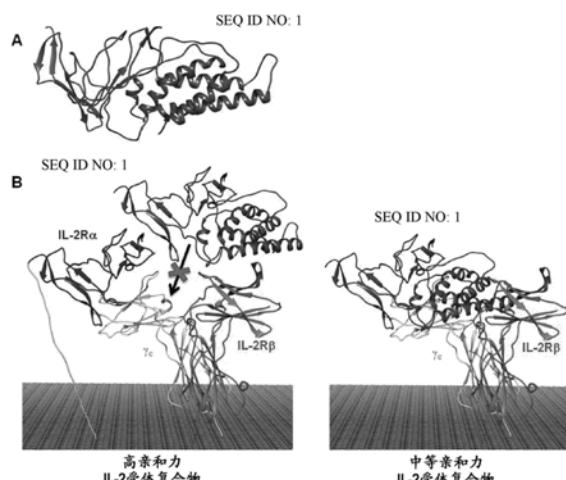
权利要求书3页 说明书40页 附图14页

(54) 发明名称

用于皮下施用癌症免疫疗法的组合物和方法

(57) 摘要

本发明提供用于治疗癌症的组合物、方法和治疗方案，包括向癌症患者定期皮下施用SEQ ID NO:1的融合蛋白，从而导致增强的CD8+T细胞的活化，而对调节性T细胞(T_{reg})扩增具有最小的影响，并提供增强的抗肿瘤功效，同时还减轻T细胞失活/耗竭。



1. 一种治疗患者癌症的方法,其包括向所述患者定期皮下施用一个剂量的SEQ ID NO:1的融合蛋白,其中该定期给药是每约3天一次至每约60天一次。
2. 权利要求1所述的方法,其中所述定期给药是每约3天一次至每约21天一次。
3. 权利要求1所述的方法,其中所述定期给药是每3天一次、每4天一次、每7天一次、每14天一次或每21天一次。
4. 权利要求1所述的方法,其中所述剂量为约0.1mg至约30mg的所述SEQ ID NO:1的融合蛋白。
5. 权利要求1所述的方法,其中所述剂量为1mg、3mg、6mg、10mg、15mg、20mg或30mg。
6. 权利要求1所述的方法,其中所述剂量为约0.1mg至约30mg或者约1 μ g/kg至约500 μ g/kg或基于约60至约70kg成人或基于约12kg至约50kg或更多的儿童的相应固定剂量。
7. 权利要求1所述的方法,其中与每日皮下施用相比,定期皮下施用导致循环CD8+T细胞的增加更多。
8. 权利要求7所述的方法,其中循环CD8+T细胞的所述增加是高于基线至少2倍。
9. 权利要求7所述的方法,其中CD8+T细胞的增加比率比CD4+T调节细胞(Treg)更大。
10. 权利要求1所述的方法,其中所治疗的癌症是肾细胞癌(RCC)、淋巴瘤、黑色素瘤、肝细胞癌(HCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、小细胞肺癌(SCLC)、头颈部鳞状细胞癌(SCCHN)、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、结肠直肠癌、膀胱癌、宫颈癌、甲状腺癌、食道癌、口腔癌、间皮瘤和非黑色素瘤皮肤癌。
11. 权利要求1所述的方法,其中所述患者具有较低的T细胞耗竭风险。
12. 权利要求1所述的方法,其中所述患者具有较低的毛细血管渗漏综合征(CLS)或细胞因子释放综合征(CRS)的风险。
13. 权利要求1所述的方法,其中所述患者具有较低的体重减轻风险。
14. 权利要求1所述的方法,进一步包括向所述患者共同施用治疗有效量的治疗剂。
15. 权利要求14所述的方法,其中所述治疗剂是PARP抑制剂、免疫检查点蛋白抑制剂、细胞毒性剂或化疗剂。
16. 权利要求14所述的方法,其中所述治疗剂是免疫检查点抑制剂。
17. 权利要求16所述的方法,其中所述免疫检查点抑制剂抑制PD-1和PD-L1的相互作用。
18. 权利要求16所述的方法,其中所述免疫检查点抑制剂是派姆单抗。
19. 权利要求1所述的方法,其中由皮下施用引起的患者外周血、血清或血浆中存在的IFN γ 增加的比率与静脉内施用等同剂量相比至少高约2倍。
20. 权利要求1所述的方法,其中由皮下施用引起的患者外周血、血清或血浆中存在的IFN γ 增加的比率与静脉内施用等同剂量相比至少高约5倍。
21. 权利要求1所述的方法,其中由皮下施用引起的存在于患者外周血、血清或血浆中的IFN γ 增加的比率与静脉内施用等同剂量相比高约2倍至约5倍。
22. 权利要求1所述的方法,其中由皮下施用引起的存在于患者外周血、血清或血浆中的IL-6增加的比率与静脉内施用等同剂量相比低至少约2倍。
23. 权利要求1所述的方法,其中所治疗的癌症是实体肿瘤。
24. 权利要求23所述的方法,其中所述实体肿瘤是癌瘤、肉瘤或淋巴瘤。

25. 权利要求1所述的方法,其中所治疗的癌症是血液癌。
26. 权利要求25所述的方法,其中所述血液癌是白血病、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤和多发性骨髓瘤。
27. 权利要求18所述的方法,其中在施用所述SEQ ID NO:1的融合蛋白之前、同时或之后共同施用派姆单抗。
28. 权利要求27所述的方法,其中所述派姆单抗在与所述SEQ ID NO:1的融合蛋白不同的组合物中共同施用。
29. 权利要求27所述的方法,其中通过静脉内注射或输注以200mg的量施用派姆单抗。
30. 权利要求27所述的方法,其中在施用所述SEQ ID NO:1的融合蛋白的第一天施用派姆单抗。
31. 权利要求27所述的方法,其中派姆单抗约每周施用一次。
32. 权利要求27所述的方法,其中派姆单抗约每3周施用一次。
33. 权利要求1所述的方法,其中所述剂量以配制用于皮下施用的药物组合物的形式提供。
34. 权利要求33所述的方法,其中所述药物组合物是准备好施用的稳定水性溶液。
35. 权利要求33所述的方法,其中所述药物组合物是冻干的。
36. 权利要求35所述的方法,其中所述药物组合物用适合注射的药学上可接受的媒剂重构。
37. 权利要求33所述的方法,其中所述剂量包含约1mg至约30mg的所述SEQ ID NO:1的融合蛋白。
38. 权利要求33所述的方法,其中所述剂量包含约1mg、3mg、10mg或30mg的所述SEQ ID NO:1的融合蛋白。
39. 一种治疗患者的癌症的方法,其包括定期向所述患者皮下施用一个剂量的融合蛋白,所述融合蛋白与SEQ ID NO:1的至少约20个氨基酸直至全长的连续序列具有至少80%的序列同一性,其中该定期给药是每约3天一次至每约60天一次。
40. 权利要求1所述的方法,其中与每日皮下施用相比,定期皮下施用导致更高的CD8+T细胞与CD4+T_{reg}的比率。
41. 权利要求7所述的方法,其中循环CD8+细胞的增加是高于基线至少2倍。
42. 权利要求7所述的方法,其中循环CD8+细胞增加的比率相对于循环CD4+T_{reg}细胞增加的比率更大。
43. 权利要求39所述的方法,其中所述患者具有较低的T细胞耗竭风险。
44. 权利要求39所述的方法,其中所述患者具有较低的毛细血管渗漏综合征(CLS)或细胞因子释放综合征(CRS)的风险。
45. 权利要求1所述的方法,其中所述患者具有较低的体重减轻风险。
46. 权利要求39所述的方法,其中与等同的相同剂量的静脉内施用相比,由皮下施用导致的患者外周血、血清或血浆中存在的IFN γ 增加的比率高至少约2倍。
47. 权利要求39所述的方法,其中与等同剂量的静脉内施用相比,由皮下施用导致的患者外周血、血清或血浆中存在的IFN γ 增加的比率高至少约5倍。
48. 权利要求39所述的方法,其中与等同剂量的静脉内施用相比,由皮下施用导致的患

者外周血、血清或血浆中存在的IFN γ 增加的比率高至少约7倍。

49. 权利要求39所述的方法,其中由皮下施用引起的存在于患者的外周血、血清或血浆中的IL-6增加的比率与等同的相同剂量的静脉内施用相比低至少约2倍。

50. 权利要求49的方法,其中由皮下施用引起的存在于患者外周血、血清或血浆中的IL-6增加的比率小于IFN γ 增加的比率。

51. 权利要求1所述的方法,其中所治疗的癌症是实体肿瘤。

52. 权利要求51所述的方法,其中所述实体肿瘤是癌瘤、肉瘤或淋巴瘤。

53. 权利要求1所述的方法,其中所治疗的癌症是血液癌。

54. 权利要求53所述的方法,其中所述血液癌是白血病、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤和多发性骨髓瘤。

55. 权利要求51所述的方法,其中所述实体肿瘤的尺寸减小。

56. 权利要求1所述的方法,其进一步包括,如果癌症再次发生或在所述患者中出现新的癌症,则重复施用所述SEQ ID NO:1的融合蛋白。

57. 权利要求55所述的方法,其进一步包括,如果所述肿瘤再次发生或在所述患者中出现新的肿瘤,则重复施用所述SEQ ID NO:1的融合蛋白。

58. 权利要求1所述的方法,其中所述方法在所述患者中产生至少部分反应。

59. 权利要求1所述的方法,其中所述方法导致患者外周血、血清或血浆中存在的IFN γ 相对于基线的平均倍数变化大于患者外周血、血清或血浆中存在的IL-6相对于基线的平均倍数变化。

用于皮下施用癌症免疫疗法的组合物和方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于2019年6月11日提交的美国临时申请No.62/860,182、2019年11月7日提交的美国临时申请No.62/932,160和2019年10月22日提交的美国临时申请No.62/924,356的权益。前述申请的整体教导在此引入作为参考。

背景技术

[0003] SEQ ID NO:1的融合蛋白是人白细胞介素2(IL-2)变体融合蛋白,其设计用于选择性结合中等亲和力白细胞介素2(IL-2)受体IL-2R $\beta\gamma$ 。SEQ ID NO:1的融合蛋白的选择性是通过与融合于IL-2受体的IL-2R α 链(CD25)的环状序列重组(cp)IL-2的稳定融合来实现的。

[0004] 与天然IL-2相比,SEQ ID NO:1的融合蛋白作为治疗剂的优势在于其对IL-2R $\beta\gamma$ 的选择性靶向和激活,导致CD8+ T细胞和NK细胞亚群的选择性激活,这可以驱动抗肿瘤免疫反应。施用SEQ ID NO:1的融合蛋白对癌症患者有益,因为它降低了CD4+调节性T细胞(T_{reggs})的免疫抑制作用,同时增加了CD8+记忆T细胞,从而募集患者自身的免疫系统以消除癌细胞。SEQ ID NO:1的融合蛋白在施用后也表现出持久的效果,从而进一步改善患者对治疗的反应。

[0005] 融合蛋白通常通过静脉内(IV)施用给予,以便制剂在血流中是直接可用的。然而,如果药物可以皮下给予,这将是有利的。皮下施用是一种最低侵入性的施用方式。皮下施用的便利性和速度提高了患者的依从性,并在需要时更快地获得药物治疗。皮下(SC)施用也是最通用的施用方式,其可用于短期和长期治疗。皮下施用可以通过注射或通过在皮肤表面下植入缓释或定时释放装置来进行。当需要多次注射或装置时,可以轮换注射或装置的部位。皮下制剂通常对患者操作来说容易得多,特别是在患者一生中可能必须定期进行药物治疗。

[0006] 与静脉内(IV)施用相比,某些蛋白质的皮下施用已显示提供更低的C_{max}和更长的T_{max},但同时提供两种施用途径之间相当的药效学作用。如果可以鉴定出SEQ ID NO:1的融合蛋白的皮下制剂和治疗方案的药代动力学(PK)和药效学(PD)、耐受性特征和免疫原性特征与静脉内(IV)递送SEQ ID NO:1的融合蛋白相比相等或甚至超过,则将是理想的。

发明内容

[0007] 本发明提供了用于定期皮下施用根据本发明的SEQ ID NO:1的融合蛋白的组合物、方法和治疗方案,与每天皮下或静脉递送SEQ ID NO:1相比,其提供了将SEQ ID NO:1的融合蛋白递送至需要癌症治疗的患者的某些优势。已经出乎意料地发现,定期皮下施用SEQ ID NO:1的融合蛋白还提供增强的CD8+ T细胞活化,而对调节性T细胞扩增具有最小的影响,从而导致抗肿瘤活性增强,同时还减轻T细胞失活/耗竭。

[0008] 因此,本发明提供了一种治疗患者的癌症的方法,其包括向患者定期皮下施用一个剂量的SEQ ID NO:1的融合蛋白,其中定期给药是每约3天一次至每约60天一次。优选地,定期给药是每约3天一次至每约21天一次。优选地,定期给药是每3天一次、每4天一次、每7

天一次、每14天一次或每21天一次。

[0009] 优选地,本发明提供用于皮下施用的药物组合物,其包含约0.1mg至约30mg剂量的SEQ ID NO:1的融合蛋白。优选地,本发明提供用于皮下施用的药物组合物,其包含以下剂量的SEQ ID NO:1的融合蛋白:约0.1mg至约30mg;约0.3mg至约30mg;约0.3mg至约25mg;约0.3mg至约20mg;约0.3mg至约15mg;约0.3mg至约10mg;约0.3mg至约3mg;约0.3mg至约1mg;约1mg至约30mg;约1mg至约25mg;约1mg至约20mg;约1mg至约15mg;约1mg至约10mg;约1mg至约3mg;约3mg至约30mg;约3mg至约25mg;约3mg至约20mg;约3mg至约15mg;约3mg至约10mg;约10mg至约30mg;约10mg至约25mg;约10mg至约20mg;或约10mg至约15mg。

[0010] 优选地,用于皮下施用的SEQ ID NO:1的剂量以 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 表示,这通常对于基于儿科患者的体重计算剂量是优选的,但也可用于基于成人的体重计算剂量。以 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 计的用于皮下施用的SEQ ID NO:1的优选剂量范围为:约1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约500 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约250 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约100 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约50 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约25 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约15 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约10 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约5 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约500 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约250 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约100 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约50 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约25 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约15 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约10 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约500 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约250 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约100 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约50 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约25 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约500 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约250 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约100 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约500 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约250 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约500 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约350 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约500 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约400 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或者其基于例如60-70kg的成人的相应固定剂量,或基于例如约12kg至约50kg或更多的儿童的相应固定剂量。

[0011] 优选地,SEQ ID NO:1的皮下剂量以 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 计为约5 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约16 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约50 $\mu\text{g}/\text{kg}$;约500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或其基于例如60-70kg的成人的相应固定剂量,或基于例如约12kg至约50kg或更多的儿童的相应固定剂量。

[0012] 优选地,与每日皮下施用相比,定期皮下施用导致更多的CD8+ T细胞扩增。优选地,与每日皮下施用相比,定期皮下施用导致更高的CD8+ T细胞与 T_{reg} 的比率。优选地,循环CD8+ T细胞的增加高于在将SEQ ID NO:1的融合蛋白定期皮下施用于患者之前的基线至少2倍。优选地,被治疗的癌症是肾细胞癌(RCC)、淋巴瘤、黑色素瘤、肝细胞癌(HCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、小细胞肺癌(SCLC)、头颈部鳞状细胞癌(SCCHN)、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、结肠和直肠癌、膀胱癌、宫颈癌、甲状腺癌、食道癌、口腔癌、间皮瘤和非黑色素瘤皮肤癌。优选地其中患者具有较低的T细胞耗竭风险。优选地,患者具有较低的毛细血管渗漏综合征(CLS)或细胞因子释放综合征(CRS)的风险。优选地,患者具有较低的体重减轻风险。优选地,进一步包括向患者共同施用治疗有效量的治疗剂。优选地,该治疗剂是PARP抑制剂、免疫检查点蛋白抑制剂、细胞毒性剂或化疗剂。优选地,治疗剂是免疫检查点蛋白抑制剂。优选地,免疫检查点抑制剂抑制PD-1和PD-L1的相互作用。优选地其中免疫检查点抑制剂是派姆单抗。优选地,由皮下施用引起的患者外周血、血清或血浆中存在的IFN γ 增加的比率与静脉内施用等同剂量相比至少高约2倍。优选地,由皮下施用引起的患者外周血、血清或血浆中存在的IFN γ 增加的比率与静脉内施用等同剂量相比至少高约5倍。优选地,由皮下施用引起的患者外周血、血清或血浆中存在的IFN γ 增加的比率与静脉内施用等同剂量相比

至少高约7倍。优选地,由皮下施用引起的存在于患者外周血、血清或血浆中的IL-6增加的比率与静脉内施用等同剂量相比至少低约2倍。优选地,被治疗的癌症是实体肿瘤。优选地,实体肿瘤是癌瘤、肉瘤或淋巴瘤。优选地,被治疗的癌症是血液癌。优选地,其中所述血液癌为白血病、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤和多发性骨髓瘤。优选地,在施用SEQ ID NO:1的融合蛋白之前、同时或之后共同施用派姆单抗。优选地,派姆单抗在与SEQ ID NO:1的融合蛋白不同的组合物中共同施用。优选地,通过静脉内注射或输注以200mg的量施用派姆单抗。优选地,在施用SEQ ID NO:1的融合蛋白的第一天施用派姆单抗。优选地,派姆单抗约每周施用一次。优选地,派姆单抗约每3周施用一次。优选地,剂量以配制用于皮下施用的药物组合物的形式提供。优选地,药物组合物是准备好施用的稳定水性溶液。优选地,药物组合物是冻干的。优选地,药物组合物用适合注射的药学上可接受的媒剂重构。优选地,药物组合物包含约1mg至约30mg的SEQ ID NO:1的融合蛋白的剂量。优选地,药物组合物包含约1mg、3mg、10mg或30mg的SEQ ID NO:1的融合蛋白的剂量。优选地,融合蛋白是包含氨基酸序列与SEQ ID NO:1的至少约20个氨基酸直至全长的SEQ ID NO:1的连续延伸片段具有至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%或至少约99%的序列同一性的SEQ ID NO:1的融合蛋白的变体。

附图说明

[0013] 图1显示了SEQ ID NO:1的融合蛋白(图面A)及其选择性结合中等亲和力IL-2受体(图面B)的结构模型示意图。图面A和B中的结构模型是利用与三聚体高亲和力受体结合的人IL-2的四元复合物的实验测定的晶体结构产生的(Wang等,Science.2005;310(5751):1159-1163.doi:10.1126/science.1117893)。

[0014] 图2是比较施用每3天一次和每4天一次定期皮下给药的SEQ ID NO:2,和施用每天皮下给药共5天并具有两天停药的FVB小鼠中总CD8+ T细胞扩增的曲线图。

[0015] 图3是比较施用每3天一次、每4天一次定期皮下施用SEQ ID NO:2以及施用每天皮下给药持续5天并两天停药的FVB小鼠中CD8+ T细胞与T_{reg}细胞比率的曲线图。

[0016] 图4是比较施用每3天一次和每4天一次定期皮下给药SEQ ID NO:2以及施用每天皮下给药持续5天并两天停药的FVB小鼠中记忆表型CD8+ T细胞扩增的曲线图。

[0017] 图5是比较施用每3天一次、每4天一次定期皮下给药SEQ ID NO:2以及每天皮下给药持续5天并两天停药的FVB小鼠中记忆表型CD8+ T细胞与T_{reg}的细胞比率的曲线图。

[0018] 图6A是比较在以两种不同剂量(1.5mg/kg和3mg/kg)每3天一次(q3d)定期皮下给药SEQ ID NO:2与每天皮下给药SEQ ID NO:2持续5天(qdx5)和两天停药的携带MC38肿瘤的C57B1/6小鼠中抗肿瘤功效的图。

[0019] 图6B是比较施用每3天一次(q3d)以两种不同剂量(1.5mg/kg和3mg/kg)定期皮下给药SEQ ID NO:2与每天皮下给药持续5天(qdx5)和两天停药的携带MC38肿瘤的小鼠的存活百分比的图。

[0020] 图7是比较施用每3天一次(q3d)以两种不同剂量(1.5mg/kg和3mg/kg)定期皮下给药SEQ ID NO:2与每日皮下给药持续5天(qdx5)和两天停药的携带MC38肿瘤的小鼠的平均体重的图。

[0021] 图8是比较根据本发明以各种静脉内剂量或作为皮下剂量施用SEQ ID NO:1的融

合蛋白的人类患者中IFN γ 相对于基线的最大倍数变化的图。

[0022] 图9是比较根据本发明以各种静脉内剂量或作为皮下剂量施用SEQ ID NO:1的融合蛋白的人类患者中IL-6相对于基线的最大倍数变化的图。

[0023] 图10是比较施用每3天一次(q3d)至每7天一次(q7d)以各种不同剂量定期皮下给药SEQ ID NO:2与每日皮下给药持续5天(qdx5)和两天停药在携带MC38肿瘤的C57B1/6小鼠中的抗肿瘤功效的图。

[0024] 图11是比较每3天一次(q3d)至每7天一次(q7d)以各种不同剂量定期皮下给药SEQ ID NO:2与每日皮下给药持续5天(qdx5)和两天停药在携带MC38肿瘤的C57B1/6小鼠中的平均体重的图。

[0025] 图12是比较每3天一次(q3d)至每7天一次(q7d)以各种不同剂量定期皮下给药SEQ ID NO:2与每日皮下给药持续5天(qdx5)和两天停药在携带MC38肿瘤的C57B1/6小鼠中的存活率的图。

[0026] 图13是比较患有晚期实体肿瘤的患者在第一皮下剂量的SEQ ID NO:1后SEQ ID NO:1的平均(±标准偏差)血清浓度(ng/mL)的图。

[0027] 图14是比较晚期实体肿瘤患者中在第一皮下剂量的SEQ ID NO:1后的平均(±标准误差)最大血清浓度(C_{\max})和从时间0到最后可测量浓度的浓度-时间曲线下面积(AUC_{last})的图。

[0028] 图15是比较晚期实体肿瘤患者中在根据q7d或q21d皮下施用SEQ ID NO:1后总NK细胞、总CD8+ T细胞和 T_{reg} 的平均(±标准误差)绝对计数(细胞/ μ L血液)的图。

[0029] 图16是比较晚期实体肿瘤患者中在根据q7d或q21d皮下施用SEQ ID NO:1后总NK细胞、总CD8+ T细胞和 T_{reg} 的绝对计数(细胞/ μ L血液)相对于基线的平均(±标准误差)倍数变化的图。

[0030] 图17是比较患有晚期实体肿瘤的患者在第一皮下剂量的SEQ ID NO:1后IFN γ 和IL-6的平均(±标准误差)血清浓度(pg/mL)的图。

具体实施方式

[0031] 定义

[0032] 本领域技术人员仅使用常规实验将认识到或能够确定本文所述的根据本发明的具体实施方案的许多等同物。本发明的范围不限于以下描述,而是如所附权利要求中所述。

[0033] 在权利要求中,除非与上下文相反或从上下文明显看出,冠词如“一(a)”、“一个(an)”和“该(the)”可以指一个或多于一个。除非与上下文相反或从上下文明显看出,如果组成员的一个、多于一个或所有存在于、被用于或以其它方式与给定的产品或方法相关,则在一个组的一个或多个成员之间包括“或”的权利要求或说明书被认为是满足的。本发明包括其中所述组中恰好一个成员存在于、使用于或以其它方式与给定产品或方法相关的实施方案。本发明包括其中组成员的多于一个或所有存在于、使用于或以其它方式与给定产品或方法相关的实施方案。

[0034] 还应当注意,术语“包括”是开放式的,并且允许但不要求包括附加的元素或步骤。当本文使用术语“包括”时,术语“由…组成”因此也被涵盖和公开。

[0035] 当给出范围时,其包括端点。而且,应当理解除非另有说明或从上下文和本领域内

技术人员的理解可明显看出,否则表示为范围的值可被认为是在本发明的不同实施方案中所述的范围内的任何具体的值或子范围,至范围下限的单位的十分之一,除非上下文另外明确规定。

[0036] 如本文所用,应用于一个或多个目标值的术语“约”或“大约”是指类似于所述基准值的值。在某些实施方案中,术语“大约”或“约”是指落入所述基准值的任一方向(大于或小于)的10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更小以内的值的范围,除非另有说明或从上下文明显看出(除非这样的数值超过可能值的100%)。

[0037] 如本文所用,术语“基本上”是指表现出所需特征或性质的完全或几乎完全的范围或程度的定性条件。生物领域的普通技术人员将理解,生物和化学现象很少(如果有的话)达到完成和/或进行到完整或者实现或避免绝对结果。因此,术语“基本上”在本文中用于描绘在许多生物和化学现象中固有的完全性的潜在缺乏。

[0038] 术语“药学上可接受的”优选是指已由联邦或州政府的监管机构或美国以外国家的相应机构批准或可批准,或在美国药典或其他公认的药典中列明用于动物,和更具体地说,用于人类。

[0039] 如本文所用,术语“蛋白质”或“肽”是指通过肽键连接在一起的至少两个或更多个氨基酸残基。蛋白质或肽中的氨基酸序列以标准格式显示,即从氨基末端(N-末端)到羧基末端(C-末端)。

[0040] 术语“融合蛋白”是指通过它们各自的N-和C-末端氨基酸残基(反之亦然)之间的肽键,或通过插入的蛋白或肽的N-和C-末端的两个肽键将第一蛋白或肽插入第二蛋白或肽的内部区域中而与其他蛋白或肽连接在一起的蛋白质或肽。肽键是在一个氨基酸的羧基和另一个氨基酸的氨基之间形成的共价化学键。通过在表达宿主中表达融合蛋白基因产生融合蛋白,其中第一蛋白或肽的编码序列被连接至第二蛋白或肽的编码序列。

[0041] “SEQ ID NO:1的融合蛋白”在本文中也称为“cpIL-2:IL-2R α ”并且描述于PCT申请公开号W0 2013/184942中。SEQ ID NO:1的融合蛋白是一种与IL-2受体的IL-2R α 部分的细胞外结构域融合的环状序列重组(cp)的IL-2变体,并具有以下氨基酸序列:

[0042] SKNFHLRPRDLISNINVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVNLAQGSGGGSELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMNCECKRGFRRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWEATERIYHFVVGQMYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTG (SEQ ID NO:1)。

[0043] 本发明还涉及SEQ ID NO:1的融合蛋白的变体的用途,所述变体是具有与SEQ ID NO:1的约20个氨基酸至全长的连续片段具有约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列同一性的氨基酸序列。与SEQ ID NO:1相比,SEQ ID NO:1的变体在限定长度的连续氨基酸(例如,“比较窗口”)上可具有限定的序列同一性。用于比较的序列比对方法是本领域众所周知的。用于比较的序列的最佳比对可以例如通过局部同源性算法(Smith&Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981)),通过同源性比对算法(Needleman&Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970)),通过相似性检索方法(Pearson&Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988)),通过这些算法的计算机化实现(Wisconsin Genetics Software Package, Madison, Wis.的GAP、BESTFIT、FASTA和

TFASTA),或通过人工比对和目视检查(参见例如Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel等,eds.1995supplement))。

[0044] 作为示例,SEQ ID N0:1的融合蛋白的变体可包含与至少20个氨基酸,并且优选约20个氨基酸至约40个氨基酸、约40个氨基酸至约60个氨基酸、约60个氨基酸至约80个氨基酸、约80个氨基酸至约100个氨基酸、约100个氨基酸至约120个氨基酸、约120个氨基酸至约140个氨基酸、约140个氨基酸至约150个氨基酸、约150个氨基酸至约155个氨基酸、约155个氨基酸直至SEQ ID N0:1的全长的SEQ ID N0:1的连续片段具有至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%或至少约99%的氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0045] 术语“IL-2疗法”包括基于IL-2的免疫疗法的施用及其作为免疫疗法的相关生物功能,包括但不限于维持CD4⁺调节性T细胞和CD4⁺ T细胞分化为多种亚群;CD8⁺ T细胞和NK细胞细胞毒性活性的促进,以及响应于抗原的T细胞分化程序的调节,从而促进幼稚CD4⁺ T细胞分化成T辅助-1 (Th1) 和T辅助-2 (Th2) 细胞而同时抑制T辅助-17 (Th17) 分化。因此,本文所用的“IL-2疗法”包括但不限于用rhIL-2或rhIL-2的变体(如SEQ ID N0:1的融合蛋白)的免疫疗法。

[0046] 术语“高剂量IL-2”和“HD IL-2”包括约或至少约600,000国际单位 (IU) /kg体重 (kg) /剂,或约或至少约720,000IU/kg/剂的白介素-2 (IL-2) 的剂量。

[0047] 术语“低剂量IL-2”和“LD IL-2”包括小于约600,000IU/kg体重/剂的白介素-2 (IL-2) 剂量,例如约60,000或约72,000IU/kg/剂,如约60,000至约72,000IU/kg/剂。

[0048] 如本文所用,术语“受试者”或“患者”是指例如用于实验、诊断、预防和/或治疗目的,可施用根据本公开的组合物的任何生物体。典型的受试者包括动物(例如,哺乳动物如小鼠、大鼠、兔、非人类灵长类和人类)和/或植物。优选地,“患者”是指可能寻求或需要治疗、需要治疗、正在接受治疗、将接受治疗的人类受试者,或由受过训练的专业人员对于特定疾病或病症进行护理的受试者。“患者”可以是儿童(>1-17岁)。在其它实施方案中,患者可以是婴儿(1岁及以下)。在其他实施方案中,患者可以是儿科患者,其中术语“儿科”如本领域技术人员所理解的使用。例如,儿科患者包括婴儿、儿童和青少年。

[0049] 本文所用的短语“药学上可接受的”是指在合理的医学判断范围内适用于与人类和动物的组织接触且没有过度毒性、刺激、过敏反应或其它问题或并发症,与合理的益处/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0050] 术语“药学上可接受的赋形剂”是指与本公开的化合物一起施用的稀释剂、辅助剂、赋形剂或载体。药学上可接受的赋形剂通常是无毒的、生物学上可耐受的并且在生物学上适合施用于受试者的物质,例如惰性物质,添加到药理组合物中或以其他方式用作媒剂、载体或稀释剂以促进药剂的施用并且与之相容。赋形剂的例子包括适合于所需的特定剂型的水、任何和所有溶剂、分散介质、稀释剂或其他液体媒剂、分散或悬浮助剂、表面活性试剂、等渗剂、增稠或乳化剂、防腐剂、固体粘合剂、润滑剂等。Remington's The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, A.R.Gennaro (Lippincott, Williams&Wilkins, Baltimore, Md., 2006; 通过引用并入本文) 公开了用于配制药物组合物的各种赋形剂及其已知制备技术。除非任何常规赋形剂介质与物质或其衍生物不相容,例如通过产生任何不期望的生物效应或以有害方式与药物组合物的任何其它组分相互作用,否则其用途预期在

本公开的范围内。

[0051] 术语“重组产生”是指将两个或更多个DNA序列操作和组合在一起的技术,其包括重组、PCR(聚合酶链式反应)、体外诱变和直接DNA合成。这些技术描述于许多出版的书籍和手册中,包括“当代分子生物学指南”(Ausubel eds. 2008. John Wiley&Son)。

[0052] 如本文所用,“组合”、“组合疗法”和/或“组合治疗方案”的任何施用或共同施用形式是指至少两种治疗活性剂或组合物,其可以在单独的或组合的制剂中同时地施用或共同施用,或在分隔数分钟、数小时或数天的不同时间依序地施用或共同施用。通常,每种药剂将以针对该药剂确定的剂量和/或时间表施用。

[0053] 如本文所用,术语“肠胃外”是指旨在作为注射或输液施用的剂型,包括皮下、静脉内、动脉内、腹膜内、心内、鞘内和肌内注射,以及通常通过静脉内途径的输液注射。

[0054] 术语“治疗剂”包括在需要此类治疗的个体中施用用于治疗症状或疾病的SEQ ID NO:1之外或与SEQ ID NO:1组合的任何药剂。这样的附加治疗剂可以包含适合于所治疗的特定适应症的任何活性成分,优选彼此没有不利影响的具有互补活性的那些。优选地,附加治疗剂是抗炎剂。

[0055] 术语“化疗剂”是指可以与癌细胞相互作用从而降低细胞的增殖状态和/或杀死细胞的化合物或其衍生物,例如通过损害细胞分裂或DNA合成、或通过破坏DNA,有效靶向快速分裂的细胞。化疗剂的示例包括但不限于烷化剂(例如环磷酰胺、异环磷酰胺);代谢拮抗剂(例如甲氨蝶呤(MTX)、5-氟尿嘧啶或其衍生物);取代的核苷酸;取代的核苷;DNA去甲基化剂(也称为抗代谢物;例如,阿扎胞苷);抗肿瘤抗生素(例如丝裂霉素、阿霉素);植物来源的抗肿瘤剂(例如长春新碱、长春地辛、TAXOL®、紫杉醇、abraxane);顺铂;卡铂;依托泊苷等。这样的药剂可进一步包括但不限于抗癌剂三甲曲沙(TMTX);替莫唑胺;雷替曲塞;S-(4-硝基苄基)-6-硫代肌苷(NBMPR);6-苄基胍(6-BG);亚硝基脲,亚硝基脲(吡喃阿拉伯糖基-N-甲基-N-亚硝基脲)(Aranose)、卡莫司汀(BCNU, BiCNU)、氯唑菌素、乙基亚硝基脲(ENU)、氟替莫司汀、洛莫司汀(CCNU)、尼莫司汀、N-亚硝基-N-甲基脲(NMU)、瑞莫司汀(MCNU)、司莫司汀、链脲菌素(Streptozotocin);阿糖胞苷;和喜树碱;或其任一的治疗性衍生物。

[0056] 短语“治疗有效量”或“有效量”是指单独或作为药物组合物的一部分并且以单一剂量或作为一系列剂量的部分将药剂向受试者的施用,其量在施用于受试者时能够对疾病、病症或病状的任何症状、方面或特征具有任何可检测的积极作用。治疗有效量可以通过测量相关生理效应来确定,并且可以结合给药方案和受试者病症的诊断分析等来调节。例如,施用后产生的炎性细胞因子的量的测量可以指示是否已经使用治疗有效量。关于与不受调节的细胞分裂相关的癌症或病理,治疗有效量是指具有以下效果的量:(1)减小肿瘤的大小(即肿瘤消退),(2)抑制(即,在一定程度上减缓,优选地停止)异常细胞分裂,例如癌细胞分裂,(3)防止或减少癌细胞的转移,和/或(4)在一定程度上缓解(或优选地消除)与部分地涉及不受调节的或异常的细胞分裂或由其引起的病理(包括例如癌症)相关的一种或多种症状。

[0057] “有效量”也是在施用本发明的治疗活性组合物时产生期望的PD和PK特征和期望的免疫细胞谱型的量。

[0058] 如本文所用的术语疾病(或病状或病症)的“治疗”或“疗法”是指在可能易患疾病

但尚未经历或表现出疾病症状的人类受试者或动物受试者中防止疾病发生(预防性治疗)、抑制疾病(减缓或阻止其发展)、提供疾病症状或副作用的缓解(包括姑息治疗)以及引起疾病消退。术语“治疗”、“治疗的”、“处理”、“治疗性的”和“疗法”并不是必然指完全治愈或消除疾病或病状。疾病或病状的任何不期望的体征或症状的任何程度的任何缓解均可被认为是治疗和/或疗法。此外,治疗可包括可能使患者的总体健康或外观感觉恶化的行动。关于癌症,这些术语还指受癌症影响的个体的预期寿命可能增加或疾病的一种或多种症状将减少。关于癌症,“治疗”还包括增强或延长受试者中的抗肿瘤反应。

[0059] 如本文所用,术语“预防”是指部分或完全延迟感染、疾病、病症和/或病状的发作;部分或完全延迟特定感染、疾病、病症和/或病状的一种或多种症状、特征或临床表现的发作;部分或完全延迟特定感染、疾病、病症和/或病状的一种或多种症状、特征或表现的发作;部分或完全延迟感染、特定疾病、病症和/或病状的进展;和/或降低发展与感染、疾病、病症和障碍和/或病症相关的病理学的风险。

[0060] 在本文所述的癌症的背景下使用的“无进展生存期(PFS)”是指在癌症治疗期间和之后直至患者的客观肿瘤进展或死亡的时间长度。治疗可通过客观或主观参数评估,包括身体检查、神经学检查或心理评估的结果。在优选的方面,PFS可以通过盲法成像中心审核来评估,并且可进一步任选地通过ORR或盲法独立中心审核(BICR)来确认。

[0061] “总生存期(OS)”可以通过Kaplan-Meier方法在某些时间点(例如,1年和2年)的OS率来评估,并且对应95%CI将通过每种肿瘤类型的研究治疗基于Greenwood公式推导。OS率被定义为在该时间点存活的参与者的比例。参与者的OS被定义为从首次给药日期到因任何原因死亡的日期的时间。

[0062] 如本文所用的“完全反应”(CR)是响应于治疗的所有癌症体征的消失。完全反应在本文中也可称为“完全缓解”。

[0063] 如本文所用的术语“部分反应”(PR)是指响应治疗的肿瘤大小、或体内癌症程度的降低。部分反应在本文中也可称为“部分缓解”。

[0064] 如本文所用,术语“癌症”应被赋予其通常含义,作为其中异常细胞分裂不受控制的疾病的统称。

[0065] 如本文所用的术语“减少肿瘤”或“肿瘤消退”是指肿瘤团块的大小或体积减小、受试者中转移的肿瘤的数目减少、癌细胞的增殖状态(癌细胞扩增的程度)减弱等。

[0066] 如本文所用,术语“增强”是指允许受试者或肿瘤细胞改善其对本文公开的治疗的反应的能力。例如,增强的反应可以包括至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或98%或更多的反应性的增加。如本文所用,“增强”还可指增加对治疗(例如包含化学疗法、抗药性免疫活性细胞和免疫检查点抑制剂的组合疗法)有反应的受试者的数目。例如,增强的反应可以指对治疗有反应的受试者的总百分比,其中该百分比为至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或98%或以上。

[0067] “免疫检查点蛋白”调节免疫系统中的T细胞功能。T细胞在细胞介导的免疫中起重要作用。免疫检查点蛋白与向T细胞发送信号的特定配体相互作用,并且基本上切断或抑制T细胞功能。癌细胞通过驱动免疫检查点蛋白在其表面上的高水平表达来利用该系统,这导致控制进入肿瘤微环境的T细胞表面上表达免疫检查点蛋白的T细胞,由此抑制抗癌免疫反

应。因此,本文称为“免疫检查点抑制剂”或“检查点抑制剂”的药剂对免疫检查点蛋白的抑制将导致T细胞功能的恢复和针对癌细胞的免疫反应。免疫检查点蛋白的示例包括但不限于:CTLA-4、PDL1、PDL2、PD1、B7-H3、B7-H4、BTLA、HVEM、TIM3、GAL9、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、A2aR、OX40、B-7家族配体或其组合。优选地,免疫检查点抑制剂与免疫检查点蛋白的配体相互作用,所述免疫检查点蛋白可以是CTLA-4、PDL1、PDL2、PD1、B7-H3、B7-H4、BTLA、HVEM、TIM3、GAL9、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、OX40、A2aR、B-7家族配体或其组合。免疫检查点抑制剂的示例包括但不限于:PD-1拮抗剂、PD-L1拮抗剂、CTLA-4拮抗剂、腺苷A2A受体拮抗剂、B7-H3拮抗剂、B7-H4拮抗剂、BTLA拮抗剂、KIR拮抗剂、LAG3拮抗剂、TIM-3拮抗剂、VISTA拮抗剂或TIGIT拮抗剂。

[0068] SEQ ID NO:1的融合蛋白

[0069] WO 2013/184942中描述的重组人IL-2变体融合蛋白是与IL-2受体的IL-2Ra部分的细胞外结构域融合的环状序列重组(cp)的IL-2变体,并且在本文中称为“SEQ ID NO:1的融合蛋白”,或具有以下氨基酸序列:

[0070] SKNFHLRPRDLISNINVLELGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTGGSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVNLAQGSGGGSELCDDDPPPEIPHATFKAMAYKEGTMNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPPEEQKERKTEMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWEATERIYHFVVGQMYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQLICTG (SEQ ID NO:1)。

[0071] 可以预期与SEQ ID NO:1密切相关的融合蛋白(例如在SEQ ID NO:1的至少约20个氨基酸至全长的连续序列上具有约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%的序列同一性或更高同一性的那些融合蛋白)也可适于根据本发明的方法的施用。

[0072] SEQ ID NO:1的融合蛋白(图1图面A)被设计为选择性地结合并激活中等亲和力IL-2R(图1图面B),而不是高亲和力IL-2R(图1图面B)。SEQ ID NO:1的融合蛋白的IL-2Ra结构域用于在空间上阻碍SEQ ID NO:1的融合蛋白与高亲和力IL-2R的结合,而仍允许与中等亲和力IL-2R的结合。

[0073] 体外和体内非临床药效学(PD)数据支持由SEQ ID NO:1的融合蛋白通过中等亲和力IL-2受体的选择性信号传导,由此导致效应细胞(例如NK细胞和CD8+ T细胞)的选择性活化和扩增,同时最小化免疫抑制性调节T细胞(T_{reg})的活化和扩增。此外,在小鼠体内,SEQ ID NO:1的融合蛋白小鼠替代物(mouse surrogate)在引起效应细胞相对于 T_{reg} 的等同或更大扩增的剂量下展现出相对于rhIL-2改善的耐受性。

[0074] 共同未决的美国专利申请序列号62/860,182所描述的首次人体临床数据表明SEQ ID NO:1的融合蛋白以剂量依赖性方式激活CD8+ T细胞和NK细胞的扩增,具有最小的非剂量依赖性 T_{reg} 激活(即不存在剂量依赖性的 T_{reg} 激活)。因此,相比于例如高剂量rhIL-2,SEQ ID NO:1的融合蛋白可以以高剂量rhIL-2引起等同或更多NK细胞和CD8+ T细胞的扩增相当的浓度在人类患者中给药,但与高剂量rhIL-2相比具有低得多(至少低两倍)的免疫抑制性 T_{reg} 的相对扩增(表2)。

[0075] 下文实施例中描述的非临床和人类临床数据表明,例如,SEQ ID NO:1的融合蛋白的定期皮下给药避免了T细胞耗竭以及调节性CD4+T细胞群压倒CD8+ T细胞的细胞毒性作

用的可能性。

[0076] 药物组合物

[0077] SEQ ID NO:1的融合蛋白优选配制用于通过注射给患者皮下施用。通常,此类组合物是“药物组合物”,其包含SEQ ID NO:1的融合蛋白和一种或多种药学上可接受的或生理学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂。

[0078] 本发明的药物组合物被配制成为与皮下施用相容。药物组合物也可配制成为适合与本文所述的其他治疗活性剂或化合物组合施用,以治疗或预防本公开所涵盖的疾病、障碍和病症。

[0079] 用于皮下施用的药物组合物通常包含治疗有效量的SEQ ID NO:1的融合蛋白和一种或多种药学和生理学可接受的配制试剂。

[0080] 在配制用于皮下施用的药物组合物后,可以优选将其作为溶液、悬浮液、凝胶、乳液、固体或者脱水或冻干粉末储存在无菌小瓶中。此类制剂可以以即用形式、使用前需要重构的冻干形式、使用前需要稀释的液体形式或其他可接受的形式储存。

[0081] 优选地,药物组合物以一次性容器(例如一次性小瓶、安瓿、注射器或自动注射器)提供,而在其他实施方式中提供多次使用容器(例如多次使用小瓶)。可以使用任何药物递送装置来递送药物组合物,包括植入物(例如,可植入泵)和导管系统、慢速注射泵和装置,所有这些都是本领域技术人员所熟知的。通常皮下或肌肉内施用的贮库注射(Depot Injection)也可用于在限定的时间段内释放本文公开的多肽。贮库注射剂通常是基于固体或基于油的并且通常包含至少一种本文所述的制剂组分。本领域普通技术人员熟悉贮库注射剂的可能制剂和用途。

[0082] 药物组合物可以是无菌注射水性或油性悬浮液的形式。该悬浮液可以根据已知技术使用本文提及的那些合适的分散或润湿剂和悬浮剂来配制。无菌注射制剂也可以是在无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌注射溶液或悬浮液。可接受的稀释剂、溶剂和分散介质包括水、林格溶液、等渗氯化钠溶液、Cremophor ELTM(BASF, Parsippany, N.J.)或磷酸盐缓冲盐水(PBS)、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇)及其合适的混合物。此外,无菌的不挥发油通常用作溶剂或悬浮介质。可以使用任何温和的不挥发油,包括合成的甘油单酯或甘油二酯。脂肪酸如油酸可用于制备注射剂。可以通过包含延迟吸收的试剂(例如,单硬脂酸铝或明胶)来实现特定注射制剂的延长吸收。

[0083] 用于皮下递送的制剂中SEQ ID NO:1的融合蛋白的浓度可以广泛变化(例如,按重量计,小于约0.1%,通常为或至少约2%至多达20%至50%或更多)并且通常根据例如所选择的特定施用模式主要基于流体体积、粘度和基于受试者的因素来选择。

[0084] 优选地,本发明提供用于皮下施用的药物组合物,其包含以下剂量的SEQ ID NO:1的融合蛋白:约0.1mg至约30mg;约0.3mg至约30mg;约0.3mg至约25mg;约0.3mg至约20mg;约0.3mg至约15mg;约0.3mg至约10mg;约0.3mg至约3mg;约0.3mg至约1mg;约1mg至约30mg;约1mg至约25mg;约1mg至约20mg;约1mg至约15mg;约1mg至约10mg;约1mg至约3mg;约3mg至约30mg;约3mg至约25mg;约3mg至约20mg;约3mg至约15mg;约3mg至约10mg;约10mg至约30mg;约10mg至约25mg;约10mg至约20mg;或者约10mg至约15mg。

[0085] 优选地,本发明提供用于皮下施用的药物组合物,其包含至少约0.1mg、0.2mg、0.3mg、0.4mg、0.5mg、0.6mg、0.5mg、0.8mg、0.9mg、1mg、1.5mg、2mg、2.5mg、3mg、3.5mg、4mg、

4.5mg、5mg、5.5mg、6mg、6.5mg、7mg、7.5mg、8mg、8.5mg、9mg、9.5mg、10mg、10.5mg、11mg、11.5mg、12mg、12.5mg、13mg、13.5mg、14mg、14.5mg、15mg、15.5mg、16mg、16.5mg、17mg、17.5mg、18mg、18.5mg、19mg、19.5mg、20mg、20.5mg、21mg、21.5mg、22mg、22.5mg、23mg、23.5mg、24mg、24.5mg、25mg、25.5mg、26mg、26.5mg、27mg、27.5mg、28mg、28.5mg、29mg、29.5mg或者30mg剂量的SEQ ID NO:1的融合蛋白。本发明的药物组合物可以任选地包括药学上可接受的赋形剂。

[0086] 优选地,本发明提供了用于皮下施用的药物组合物,其包含以 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 表示的SEQ ID NO:1的融合蛋白的剂量($\mu\text{g}/\text{kg}$ 通常优先用于计算儿科患者的剂量,但也可用于计算成人的剂量),优先以下剂量:约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $500\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $250\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $100\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $50\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $25\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $15\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $10\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $5\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $5\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $500\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $5\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $250\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $5\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $100\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $5\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $50\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $5\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $25\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $5\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $15\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $5\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $10\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $15\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $500\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $15\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $250\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $15\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $100\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $15\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $50\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $15\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $25\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $50\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $500\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $50\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $250\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $50\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $100\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $50\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $50\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $150\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $500\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $150\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $250\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $300\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $400\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $400\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $500\mu\text{g}/\text{kg}$ 或者其基于例如60-70kg的成人的相应固定剂量,或基于例如约12kg至约50kg或更多的儿童的相应固定剂量。

[0087] 皮下给药方案

[0088] 与静脉内(IV)施用途径相比,SEQ ID NO:1的融合蛋白的定期皮下(SC)施用途径预期在血清中产生较低的最大药物浓度,而具有延长的暴露曲线,并且因此与静脉内施用途径相比,可提高耐受性。此外,预计皮下施用途径促进直接递送至淋巴结,相对于静脉内(IV)给药,这可能提供增强的免疫学效果。定期皮下给药时间表(即q3d、q4d、q7d、q14d或q21d)可以提供一种比每日皮下或静脉内给药更方便的替代方案。

[0089] 已经发现,与每日皮下给药方案(例如qdx5)相比,SEQ ID NO:1的融合蛋白的定期皮下施用导致更多的循环CD8+ T细胞扩增,而引起最小的 T_{reg} 差异,从而导致更高的抗肿瘤功效和最小的T细胞耗竭。

[0090] 优选地,SEQ ID NO:1的融合蛋白每约3天一次(q3d)至每约60天一次(q60d)定期施用,优先每3天一次(q3d)至每约21天一次(q21d),并且优先每4天一次(q4d)、每7天一次(q7d)、每14天一次(q14d)或每21天一次(q21d)。

[0091] 优选地,SEQ ID NO:1的融合蛋白以约0.1至30mg的剂量皮下施用。优选地,SEQ ID NO:1的融合蛋白以下剂量皮下施用:约 0.1mg 至约 30mg ;约 0.3mg 至约 30mg ;约 0.3mg 至约 25mg ;约 0.3mg 至约 20mg ;约 0.3mg 至约 15mg ;约 0.3mg 至约 10mg ;约 0.3mg 至约 3mg ;约 0.3mg 至约 1mg ;约 1mg 至约 30mg ;约 1mg 至约 25mg ;约 1mg 至约 20mg ;约 1mg 至约 15mg ;约 1mg 至约 10mg ;约 1mg 至约 3mg ;约 3mg 至约 30mg ;约 3mg 至约 25mg ;约 3mg 至约 20mg ;约 3mg 至约 15mg ;约 3mg 至约 10mg ;约 10mg 至约 30mg ;约 10mg 至约 25mg ;约 10mg 至约 20mg ;或约 10mg 至约 15mg 。

[0092] 优选地,SEQ ID NO:1的融合蛋白按照以 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 表示的剂量(这通常优先用于计算儿科患者的剂量,但也可用于计算成人的剂量),优先以下剂量皮下施用:约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $500\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $250\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $100\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 $50\mu\text{g}/\text{kg}$;约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$

至约25 μ g/kg;约1 μ g/kg至约15 μ g/kg;约1 μ g/kg至约10 μ g/kg;约1 μ g/kg至约5 μ g/kg;约5 μ g/kg至约500 μ g/kg;约5 μ g/kg至约250 μ g/kg;约5 μ g/kg至约100 μ g/kg;约5 μ g/kg至约50 μ g/kg;约5 μ g/kg至约25 μ g/kg;约5 μ g/kg至约15 μ g/kg;约5 μ g/kg至约10 μ g/kg;约15 μ g/kg至约500 μ g/kg;约15 μ g/kg至约250 μ g/kg;约15 μ g/kg至约100 μ g/kg;约15 μ g/kg至约50 μ g/kg;约15 μ g/kg至约25 μ g/kg;约50 μ g/kg至约500 μ g/kg;约50 μ g/kg至约250 μ g/kg;约50 μ g/kg至约100 μ g/kg;约150 μ g/kg至约500 μ g/kg;约150 μ g/kg至约250 μ g/kg;约200 μ g/kg至约500 μ g/kg;约250 μ g/kg至约350 μ g/kg;约300 μ g/kg至约500 μ g/kg;约300 μ g/kg至约400 μ g/kg;约400 μ g/kg至约500 μ g/kg或者其基于例如60-70kg的成人的相应固定剂量,或基于例如约12kg至约50kg或更多的儿童的相应固定剂量。

[0093] 优选地,与基线相比,由定期皮下施用SEQ ID NO:2的融合蛋白引起的循环CD8+ T细胞的增加为至少约2倍、至少约3倍、至少约4倍、至少约5倍、至少约6倍、至少约7倍、至少约8倍、9倍、约10倍或更多。优选地,由定期皮下施用SEQ ID NO:2的融合蛋白引起的循环CD8+ T细胞增加的比率相对于循环T调节细胞增加的比率更大。

[0094] 然而,先前癌症免疫疗法(例如,阿地白介素)的常见限制是由于免疫疗法的持续刺激而导致的T细胞耗竭。通过癌症免疫疗法持续激活CD4+ T细胞和CD8+ T细胞可导致功能性失活/“耗竭”状态甚至细胞死亡。导致T细胞耗竭的过度刺激是不希望的,从而潜在地限制治疗反应的幅度或持续时间。癌症免疫疗法也可能受到调节性T细胞群体的治疗相关增加的影响,这些调节性T细胞群体起到沉默CD8+ T细胞的细胞毒性作用的功能。根据本发明的SEQ ID NO:1的融合蛋白的定期皮下给药可以避免T细胞耗竭和调节性T细胞群压倒CD8+ T细胞的细胞毒性作用的可能性。

[0095] 还发现,例如,本发明的定期给药方案相对于NK细胞显示出对CD8+ T细胞扩增的总体偏好。已知外周和肿瘤环境中CD8+ T细胞的增加预示着对免疫治疗的良好反应。

[0096] SEQ ID NO:1的融合蛋白的定期皮下给药的另一个令人惊讶的益处是可以递送更高的总体剂量,而具有提高的耐受性和降低的给药频率,同时实现相当或更好的抗肿瘤功效并避免T细胞耗竭。

[0097] 还令人惊讶地发现,当以每约3天一次(q3d)至每约60天一次(q60d),优选每3天一次(q3d)至每约21天一次(q21d),和优选每4天一次(q4d)、每7天一次(q7d)、每14天一次(q14d)或每21天一次(q21d)约0.3至30mg的剂量定期施用时,皮下施用SEQ ID NO:1的融合蛋白提供了其他理想和意想不到的PD、PK和免疫细胞谱结果,包括在q7d皮下施用后患者血清中测量的IFN γ 细胞因子水平相对于基线的最大变化倍数比qdx5静脉内施用等同剂量的SEQ ID NO:1的最大变化倍数大至少2倍,优选大2至5倍。

[0098] 在q7d皮下施用后患者血清中测量的IL-6细胞因子水平相对于基线的最大变化倍数比qdx5静脉内施用等同剂量的SEQ ID NO:1的最大变化倍数小至少2倍,优选小2至5倍。

[0099] IFN γ 是一种具有抗肿瘤和免疫调节特性的多效细胞因子。IFN γ 直接充当细胞毒性CD8+ T细胞差异信号,且它对于诱导细胞毒性T细胞前体的增殖至关重要。IFN γ 还上调APC上的细胞表面II类MHC,从而促进调节性CD4+ T细胞的肽特异性活化。此外,IFN γ 激活巨噬细胞,使其朝向促炎特性、抗肿瘤特性。

[0100] 另一方面,IL-6是一种由包括癌细胞的肿瘤微环境中的各种细胞释放的促炎细胞因子。IL-6在肿瘤细胞的增殖和分化中起关键作用。已在几种癌症中证实血清和肿瘤部位

的IL-6水平升高。通常这种增加伴随着不良预后和较低的存活率。IL-6的下调与对癌症治疗的更好反应相关。

[0101] 优选地,本发明的给药方案提供了约每3天(q3d)、约每4天(q4d)、约每5天(q5d)、约每6天(q6d)、约每7天(q7d)、约每8天(q8d)、约每9天(q9d)、约每10天(q10d)、约每11天(q11d)、约每12天(q12d)、约每13天(q13d)、约每14天(q14d)、约每15天(q15d)、约每16天(q16d)、约每17天(q17)、约每18天(q18d)、约每19天(q19d)、约每20天(q20d)、约每21天、约每22天、约每23天、约每24天、约每25天、约每26天、约每27天或者约每28天皮下施用包含SEQ ID NO:1的融合蛋白的药物组合物。

[0102] 优选地,SEQ ID NO:1的融合蛋白以约0.1mg、1mg、3mg、6mg、10mg或30mg的剂量约每3天一次(q3d)、约每4天一次(q4d)、约每7天一次(q7d)、约每14天一次(q14d)或约每21天一次(q21d)皮下施用。

[0103] 优选地,用于施用融合蛋白的给药方案提供一个或多个疗程。第一疗程可以在1-90天范围的多天时间段内进行。优选地,单个疗程持续7天、14天、21天、4周、6周、8周、10周、12周、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月或更长的时间。疗程可以包括在该疗程中一次或多次皮下施用SEQ ID NO:1的融合蛋白。可以有一个或多个连续的疗程,如第一疗程,然后是第二疗程,优选在两个疗程之间有一段时间,如一天至一年。

[0104] 优选地,第一疗程包括每3天一次皮下施用SEQ ID NO:1的融合蛋白持续2-3周,每4天一次持续2-3周,每7天一次持续2-3周,或每21天一次,其可重复2或3次。

[0105] 适合皮下施用的包含SEQ ID NO:1的融合蛋白的制剂和药物组合物以及对这些用途有效的量将取决于疾病或病症的严重程度以及患者健康的一般状态。可以根据患者需要和耐受的剂量和频率单次或多次施用该制剂。

[0106] 通常,本文所述的使用SEQ ID NO:1的融合蛋白的单一疗法或任何组合疗法的施用参数规定剂量量小于可能对受试者产生不可逆毒性的量(即,最大耐受剂量“MTD”)且不小于对受试者产生可测量效果所需的量。这样的量是通过例如与ADME相关的药代动力学和药效学参数并考虑施用途径和其它因素来确定的。

[0107] 有效剂量(ED)是在服用它的受试者的某些部分中产生治疗反应或所需效果的药剂的剂量或量。药剂的“中值有效剂量”或ED50是在其所施用的群体的50%中产生治疗反应或所需效果的药剂的剂量或量。尽管ED50通常用作药剂效果的合理预期的量度,但考虑到所有相关因素,其不一定是临床医生认为合适的剂量。因此,在一些情况下,有效量可以大于计算的ED50,在其他情况下,有效量可以小于计算的ED50,并且在另外的其他情况下,有效量可以与计算的ED50相同。

[0108] 此外,SEQ ID NO:1的融合蛋白的有效剂量可以是当以一个或多个剂量施用于受试者时,相对于健康受试者产生期望结果的量。例如,对于经历特定病症的受试者,有效剂量可以是改善该病症的诊断参数、量度、标志物等至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或超过90%的剂量,其中100%被定义为正常受试者表现出的诊断参数、量度、标志物等。

[0109] 优选地,如果在初始治疗后癌症再次发生,则向患者再次施用SEQ ID NO:1的融合

蛋白。例如,如果患者最初接受实体肿瘤的治疗,并且肿瘤复发或发生更多肿瘤,则作为例如SEQ ID NO:1的另一疗程或系列疗程向患者施用SEQ ID NO:1。

[0110] 优选地,通过皮下注射将SEQ ID NO:1的融合蛋白皮下注射到患者的相同部位(例如,施用于上臂、大腿前表面、腹部下部或上背部)以进行重复或连续注射。优选将SEQ ID NO:1的融合蛋白施用于患者的不同或轮换部位。优选地,SEQ ID NO:1的融合蛋白通过皮下植入装置施用。优选地,植入装置提供SEQ ID NO:1的融合蛋白的定时释放。优选地,植入装置提供SEQ ID NO:1的蛋白质的连续释放。

[0111] 本发明提供了包含在“单位剂型”中的剂量。短语“单位剂型”是指物理上离散的单位,每个单位包含单独或与一种或多种足以产生所需效果的额外补充治疗剂(例如免疫检查点抑制剂)组合的预定量的SEQ ID NO:1的融合蛋白。应当理解,单位剂型的参数将取决于具体的药剂和要达到的效果。

[0112] 与免疫检查点蛋白抑制剂的组合疗法

[0113] 优选地,SEQ ID NO:1的融合蛋白与下文所述的另一种治疗剂和/或抗癌剂一起施用。优选地,治疗剂是免疫检查点抑制剂派姆单抗。优选地,派姆单抗在与SEQ ID NO:1的融合蛋白不同的组合物中,在输注SEQ ID NO:1之前、之后或同时施用。优选地,派姆单抗以约200 μ g的剂量,或按照通常约每21天一次的标准处方建议施用。优选地,派姆单抗在SEQ ID NO:1的每个疗程的第一天施用。示例性治疗方案如图2所示。优选地,当将SEQ ID NO:1的融合蛋白与派姆单抗共同施用时,SEQ ID NO:1治疗的第一疗程和所有后续疗程通常为约21天疗程,其中SEQ ID NO:1的融合蛋白仅每3、4、7、10、14或21天一次皮下施用,并且派姆单抗每21天施用一次。

[0114] 本发明的和以上所述的所有给药方案优选导致患者体内循环NK细胞和CD8+ T细胞增加,而对调节性T细胞扩增具有最小的影响。优选地,本发明的所有给药方案导致CD8+ T细胞增加的比率大于患者中循环T_{reg}细胞增加的比率。与高剂量或低剂量rhIL-2疗法相比,本发明的所有给药方案要求比每天3次高剂量或低剂量rhIL-2给药更低频率的给药。

[0115] 优选地,SEQ ID NO:1的融合蛋白及其药物组合物与一种或多种免疫检查点抑制剂组合以治疗和/或预防各种疾病、障碍和病症(例如癌症),其通过采用尽量减少与施用单个疗法本身相关的任何副作用的特定给药参数来实现。举例来说,在包含免疫检查点抑制剂(例如派姆单抗)的治疗方案中添加SEQ ID NO:1的融合蛋白的定期皮下施用可允许降低实现治疗目标所需的免疫检查点抑制剂的量,从而减少(甚至消除)严重和致命的免疫介导的不良反应,这些不良反应促使FDA要求对某些免疫检查点抑制剂(例如派姆单抗)发出“黑盒”警告。

[0116] 将本发明的治疗方案施用于患者直到患者治愈或直到患者不再受益于该治疗方案。

[0117] 改善的安全性特性

[0118] 与每日皮下或静脉内施用相比,定期皮下给药的潜在优势包括:(i)降低与涉及癌症免疫治疗的持续T细胞刺激相关的T细胞耗竭风险;(ii)降低由癌症免疫治疗导致的调节性T细胞刺激压倒CD8+ T细胞刺激的风险;(iii)较低的药物血清峰值浓度和延长的暴露曲线,这可导致更温和的安全性特征和更高的耐受性;(iv)淋巴吸收,这可促进直接免疫效应;(v)比每日住院静脉给药更方便的给药时间表,(vi)较低的患者体重减轻的风险;(vii)

SEQ ID N0:1的融合蛋白的更高有效剂量,但给药频率更低,以及(viii)降低升高的促炎细胞因子产生的风险。本发明的方法降低了通常与静脉内给药或每日皮下给药相关的副作用的风险以及降低通常与高剂量IL-2治疗(例如阿地白介素)相关的副作用的风险,同时保持IL-2治疗所需的治疗活性。此类副作用包括但不限于毛细血管渗漏综合征(CLS)和细胞因子释放综合征(CRS),这是另一种与细胞因子免疫治疗相关的综合征,其通常伴随CLS和/或与CLS重叠。

[0119] 此外,如本文所用,“改善的安全性特性”或“较低的副作用风险”或“副作用的频率或严重程度降低”可以是通常与IL-2治疗相关的副作用或症状的表现降低约1%、降低约2%、降低约3%、降低约4%、降低约5%、降低约6%、降低约7%、降低约8%、降低约9%、降低约10%、降低约20%、降低约30%、降低约40%、降低约50%、降低约60%、降低约70%、降低约80%、降低约90%、降低约100%,并减轻可能是静脉内或每天皮下施用SEQ ID N0:1的结果的效应。

[0120] 优选地,根据本发明的SEQ ID N0:1的融合蛋白的给药方案降低了毛细血管渗漏综合征(CLS)(本文也称为血管渗漏综合征(VLS))的频率和严重性。其他副作用的风险包括但不限于:细胞因子释放综合征(CRS)。CRS是一种严重的免疫疗法的副作用,其症状可能在临幊上与CLS的症状重叠,且也可能引起与CRS完全不同的症状。CRS被认为是由释放大量细胞因子(包括IL-6、IFN- γ 、TNF、IL-2、IL-2-受体 α 、IL-8、IL-10和GMCSF)的T细胞增殖导致的。CRS患者可经历以下任何一种或多种:发烧、心血管症状(包括心动过速、低血压、心律失常、心脏射血分数降低)、肺部症状(包括水肿、缺氧、呼吸困难和肺炎)、通常由肾灌注减少引起的急性肾伤害、肝和肠胃症状(包括血清转氨酶和胆红素升高、腹泻、结肠炎、恶心和腹痛)、血液学症状(包括血细胞减少如3-4级贫血症、血小板减少症、白细胞减少症、嗜中性白细胞减少症和淋巴细胞减少症)、凝血紊乱(包括延长前凝血酶时间和活化部分凝血活酶时间(PTT))、D-二聚体升高、低血纤蛋白原、弥散性血管内凝血、巨噬细胞活化综合征(MAS)、出血、B细胞发育不全和低丙球蛋白血症)、感染性疾病(包括菌血症、沙门氏菌、尿路感染、病毒感染如流感、呼吸道合胞病毒和带状疱疹病毒)、肌肉骨骼症状(包括肌酸激酶升高、肌痛和虚弱)、神经症状(包括谵妄、精神错乱和癫痫)。

[0121] MAS与CRS在临幊上重叠,受试者可能经历肝脾肿大、淋巴结病、全血细胞减少症、肝功能障碍、弥散性血管内凝血、低纤维蛋白原血症、高铁蛋白血症和高甘油三酯血症。与CRS一样,患有MAS的受试者表现出细胞因子(包括IFN- γ 和GMCSF)的水平升高。优选地,根据本发明的SEQ ID N0:1的融合蛋白的给药方案降低了MAS的频率和严重性。

[0122] 免疫疗法(包括IL-2疗法)的另一个副作用是肿瘤溶解综合征(TLS),其发生在由于疗法导致细胞死亡而释放细胞内容物时,最通常发生于淋巴瘤和白血病。TLS的特征在于血液离子和代谢物失衡,并且其症状包括恶心、呕吐、急性尿酸肾病、急性肾衰竭、癫痫、心律失常和死亡。优选地,根据本发明的SEQ ID N0:1的融合蛋白的给药方案降低了TLS的频率和严重性。

[0123] 神经毒性可由免疫疗法(包括IL-2疗法)引起,且其症状可包括脑水肿、谵妄、幻觉、言语障碍、运动不能性缄默症、头痛、精神错乱、觉醒的改变、共济失调、失用症、面神经麻痹、震颤、辨距不良和癫痫。优选地,根据本发明的SEQ ID N0:1的融合蛋白的给药方案降低了神经毒性的频率和严重性。

[0124] 经历IL-2免疫疗法的患者可发生一种或多种不一定由CLS、CRS、MAS或TLS引起的副作用或症状,包括贫血、失语症、心律失常、关节痛、背痛、血液和骨髓障碍、血液和淋巴系统障碍,心脏障碍、寒战、凝血障碍、结肠炎、神志不清、全身症状、咳嗽、食欲减退、腹泻、定向障碍、眩晕、呼吸困难、脑病、疲劳、发烧、胃肠障碍、一般心血管障碍、出血、肝障碍、高血糖症、低钾血症、甲状腺功能减退、ALT增加、AST增加、C反应蛋白增加、感染发热性中性粒细胞减少症、白细胞减少症、萎靡、异常代谢实验室测试结果、代谢营养障碍、粘膜炎症、肌肉骨骼障碍、肌痛恶心、神经系统障碍、神经障碍、中性粒细胞减少症水肿、疼痛、掌跖红斑、感觉异常、肺炎、瘙痒、肺部障碍、发热、皮疹、肾泌尿生殖系统障碍、呼吸系统障碍、皮肤和皮下组织障碍、嗜睡、言语障碍、出汗胸纵隔疾病、血小板减少症、震颤、肿瘤闪耀(tumor flare)、肿瘤溶解综合征、血管障碍和呕吐。优选地,根据本发明的SEQ ID NO:1的融合蛋白的给药方案降低了这些其他副作用的频率和严重性。

[0125] 癌症适应症

[0126] 使用SEQ ID NO:1的融合蛋白的本发明的治疗方案可用于治疗许多类型的癌症。如本文所用,术语“癌症”应被赋予其通常含义,作为其中异常细胞分裂不受控制的疾病的总称。特别地,并且在本发明的实施方案的背景下,癌症是指血管生成相关的癌症。癌细胞可以侵入附近的组织并且可以通过血液和淋巴系统扩散到身体的其它部分。存在几种主要类型的癌症,例如,癌瘤(carcinoma)是开始于皮肤或或者内衬或覆盖内脏器官的组织的癌症。肉瘤是开始于骨、软骨、脂肪、肌肉、血管或其它结缔组织或支持组织的癌症。白血病是开始于血液形成组织(如骨髓)并导致大量异常血细胞产生并进入血流的癌症。淋巴瘤是开始于免疫系统的细胞的癌症。

[0127] 当正常细胞丧失其以特定的、受控的和协调的单元发挥作用的能力时,肿瘤形成。通常,实体肿瘤是通常不包含囊肿或液体区域的异常组织块(一些脑肿瘤确实具有充满液体的囊肿和中心坏死区域)。单个肿瘤甚至可以在其内具有不同的细胞群,且具有不同的出错过程。实体肿瘤可以是良性的(不是癌性的)或恶性的(癌性的)。不同类型的实体肿瘤以形成它们的细胞类型被命名。实体肿瘤的示例是肉瘤、癌瘤和淋巴瘤。白血病(血液的癌)通常不形成实体肿瘤。

[0128] 代表性癌症包括但不限于急性成淋巴细胞性白血病,成人;急性淋巴细胞白血病,儿童;急性骨髓性白血病,成人;肾上腺皮质癌;肾上腺皮质癌,儿童;AIDS相关淋巴瘤;AIDS相关的恶性肿瘤;肛门癌;星形细胞瘤,儿童期小脑;星形细胞瘤,儿童期脑;胆管癌,肝外;膀胱癌;膀胱癌,儿童;骨癌,骨肉瘤/恶性纤维组织细胞瘤;胶质母细胞瘤,儿童;胶质母细胞瘤,成人;脑干胶质瘤,儿童;脑肿瘤,成人;脑肿瘤,脑干胶质瘤,儿童;脑肿瘤,小脑星形细胞瘤,儿童;脑肿瘤,脑星形细胞瘤/恶性胶质瘤,儿童;脑肿瘤,室管膜瘤,儿童;脑肿瘤,成神经管细胞瘤,儿童;脑肿瘤、幕上原始神经外胚层肿瘤,儿童;脑肿瘤,视觉通路和下丘脑胶质瘤,儿童;脑肿瘤,儿童(其他);乳腺癌;乳腺癌和妊娠;乳腺癌,儿童;乳腺癌,男性;支气管腺瘤/类癌,儿童;类癌瘤,儿童;类癌瘤,胃肠;肾上腺皮质癌;癌瘤,胰岛细胞;原发性未知癌;原发性中枢神经系统淋巴瘤;小脑星形细胞瘤,儿童;脑星形细胞瘤/恶性胶质瘤,儿童;子宫颈癌;儿童期癌症;慢性淋巴细胞性白血病;慢性髓性白血病;慢性骨髓增生性疾病;腱鞘透明细胞肉瘤;结肠癌;结肠直肠癌,儿童;皮肤T细胞淋巴瘤;子宫内膜癌;室管膜瘤,儿童;上皮癌,卵巢;食道癌;食管癌,儿童;尤文氏肿瘤家族;颅外生殖细胞肿瘤,儿

童;性腺外生殖细胞肿瘤;肝外胆管癌;眼癌,眼内黑素瘤;眼癌,视网膜母细胞瘤;胆囊癌;胃(胃的)癌;胃(胃的)癌,儿童;胃肠类癌瘤;生殖细胞肿瘤,颅外,儿童;生殖细胞肿瘤,性腺外;生殖细胞肿瘤,卵巢;妊娠滋养细胞肿瘤;神经胶质瘤,儿童期脑干;神经胶质瘤,儿童视觉通路和下丘脑;毛细胞白血病;头颈癌;肝细胞(肝)癌,成人(原发性);肝细胞(肝)癌,儿童(原发性);霍奇金淋巴瘤,成人;霍奇金淋巴瘤,儿童;妊娠期间的霍奇金淋巴瘤;下咽癌;下丘脑和视觉通路胶质瘤,儿童;眼内黑素瘤;胰岛细胞癌(内分泌胰腺);卡波济肉瘤;肾癌;喉癌;喉癌,儿童;白血病,急性淋巴母细胞,成人;白血病,急性淋巴母细胞,儿童;白血病,急性骨髓性,成人;白血病,急性骨髓性,儿童;白血病,慢性淋巴细胞性;白血病,慢性髓性;白血病,毛细胞;唇和口腔癌;肝癌,成人(原发性);肝癌,儿童(原发性);肺癌,非小细胞肺癌,小细胞肺癌;成淋巴细胞性白血病,急性成人;成淋巴细胞性白血病,儿童急性;淋巴细胞性白血病,慢性;淋巴瘤,AIDS相关;淋巴瘤,中枢神经系统(原发性);淋巴瘤,皮肤T细胞;淋巴瘤,霍奇金氏,成人;淋巴瘤,霍奇金;儿童;妊娠期霍奇金淋巴瘤;淋巴瘤,非霍奇金,成人;淋巴瘤,非霍奇金,儿童;妊娠期非霍奇金淋巴瘤;淋巴瘤,原发性中枢神经系统;巨球蛋白血症,瓦尔登斯特伦氏;男性乳腺癌;恶性间皮瘤,成人;恶性间皮瘤,儿童;恶性胸腺瘤;成神经管细胞瘤,儿童;黑素瘤;黑素瘤,眼内;默克尔细胞癌;间皮瘤,恶性;转移性鳞状颈部癌伴隐匿性原发性;多发性内分泌瘤综合征,儿童;多发性骨髓瘤/浆细胞肿瘤;蕈样肉芽肿病;骨髓发育不良综合征;髓性白血病,慢性;髓样白血病,儿童急性;骨髓瘤,多发性;骨髓增生性疾病,慢性;鼻腔和鼻旁窦癌;鼻咽癌;鼻咽癌,儿童;成神经细胞瘤;神经纤维瘤;非霍奇金淋巴瘤,成人;非霍奇金淋巴瘤,儿童;妊娠期非霍奇金淋巴瘤;非小细胞肺癌;口腔癌,儿童;口腔和唇癌;口咽癌;骨肉瘤/骨的恶性纤维组织细胞瘤;卵巢癌,儿童;卵巢上皮癌;卵巢生殖细胞肿瘤;卵巢低恶性潜在肿瘤;胰腺癌;胰腺癌,儿童的、胰腺癌,胰岛细胞;鼻旁窦和鼻腔癌;甲状腺癌;阴茎癌;嗜铬细胞瘤;松果体和幕上原始神经外胚层肿瘤,儿童;垂体肿瘤;浆细胞肿瘤/多发性骨髓瘤;胸膜肺母细胞瘤;妊娠和乳腺癌;妊娠和霍奇金淋巴瘤;妊娠和非霍奇金淋巴瘤;原发性中枢神经系统淋巴瘤;原发性肝癌,成人;原发性肝癌,儿童;前列腺癌;直肠癌;肾细胞(肾)癌;肾细胞癌,儿童;肾盂和输尿管,移行细胞癌;成视网膜细胞瘤;横纹肌肉瘤,儿童;唾液腺癌;唾液腺癌,儿童;肉瘤,尤因肿瘤家族;肉瘤,卡波济氏肉瘤;骨肉瘤/恶性纤维组织细胞瘤;肉瘤,横纹肌肉瘤,儿童;肉瘤,软组织,成人;肉瘤,软组织,儿童;塞扎里综合征;皮肤癌;皮肤癌,儿童;皮肤癌(黑素瘤);皮肤癌,默克尔细胞;小细胞肺癌;小肠癌;软组织肉瘤,成人;软组织肉瘤,儿童;鳞状颈癌伴隐匿性原发性,转移性;胃(胃的)癌;胃(胃的)癌,儿童;幕上原始神经外胚层肿瘤,儿童;T细胞淋巴瘤,皮肤;睾丸癌;胸腺癌,儿童;胸腺癌,恶性;甲状腺癌;甲状腺癌,儿童;肾盂和输尿管的移行细胞癌;滋养层肿瘤,妊娠;原发部位未知,儿童期癌症;儿童期罕见癌症;输尿管和肾盂,移行细胞癌;尿道癌;子宫肉瘤;阴道癌;视觉神经通路和下丘脑胶质瘤,儿童;外阴癌;瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症;和维尔姆斯瘤,等。

[0129] 肿瘤可分类为恶性或良性的。在这两种情况下,存在细胞的异常聚集和增殖。在恶性肿瘤的情况下,这些细胞表现的更具有侵略性,获得增强的侵袭性的特性。最终,肿瘤细胞甚至可以获得脱离它们所起源的微观环境、扩散至身体的另一区域(具有非常不同的环境,通常不利于它们的生长)并在该新位置继续它们的快速生长和分裂的能力。这被称为转移。一旦恶性细胞转移,实现治愈就更加困难。良性肿瘤具有较低的侵入倾向并且转移的可

能性较低。

[0130] 如本文所用的术语“减少肿瘤”是指肿瘤块的大小或体积的减小,受试者中转移的肿瘤的数量减少,癌细胞的增殖状态(癌细胞倍增的程度)减少等。

[0131] 本发明的治疗方案特别适用于治疗实体肿瘤,其包括但不限于:淋巴瘤、黑素瘤、肾细胞癌(RCC)、肝细胞癌(HCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、小细胞肺癌(SCLC)、头颈部鳞状细胞癌(SCCHN)并且包括晚期实体肿瘤和先前已接受抗癌疗法治疗但对先前疗法不显效的肿瘤。

[0132] 补充免疫疗法和其他组合疗法

[0133] 虽然SEQ ID N0:1的融合蛋白可以在根据本发明的治疗方案中用作单一疗法,但在本发明的背景下也考虑了SEQ ID N0:1的融合蛋白与其它抗癌治疗的组合。其它治疗性治疗方案包括其它治疗性免疫疗法,例如过继性细胞转移方案、抗原特异性疫苗接种、DNA修复蛋白的抑制(例如核酸酶聚(腺昔5'-二磷酸核糖)聚合酶的抑制剂(“聚(ADP-核糖)聚合酶”PARP抑制剂)和免疫检查点抑制性分子的阻断,例如细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(CTLA-4)和程序性死亡1(PD-1)抗体。

[0134] 免疫检查点蛋白调节免疫系统中的T细胞功能。T细胞在细胞介导的免疫中起重要作用。免疫检查点蛋白与向T细胞内发送信号的特定配体相互作用,并且基本上切断或抑制T细胞功能。癌细胞通过驱动检查点蛋白在其表面上的高水平表达来利用该系统,这导致控制进入肿瘤微环境的T细胞表面上表达免疫检查点蛋白的T细胞,由此抑制抗癌免疫反应。因此,本文称为“免疫检查点蛋白(ICP)抑制剂”的药剂对免疫检查点蛋白的抑制将导致T细胞功能的恢复和针对癌细胞的免疫反应。免疫检查点蛋白的示例包括但不限于:CTLA-4、PDL1、PDL2、PD1、B7-H3、B7-H4、BTLA、HVEM、TIM3、GAL9、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、A2aR、OX40、B-7家族配体或其组合。优选地,免疫检查点抑制剂与免疫检查点蛋白的配体相互作用,所述免疫检查点蛋白可以是CTLA-4、PDL1、PDL2、PD1、B7-H3、B7-H4、BTLA、HVEM、TIM3、GAL9、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、OX40、A2aR、B-7家族配体或其组合。优选地,免疫检查点抑制剂是生物治疗剂或小分子。优选地,免疫检查点蛋白抑制剂是单克隆抗体、人源化抗体、全人抗体、融合蛋白或其组合。优选地,PD1免疫检查点蛋白抑制剂包含一种或多种抗PD-1抗体,包括纳武单抗和派姆单抗。

[0135] 本文所述的组合疗法方法包括施用与SEQ ID N0:1的融合蛋白组合的至少一种检查点蛋白抑制剂。本发明不限于任何特定的检查点蛋白抑制剂,只要当该检查点蛋白抑制剂以有效量作为单一疗法或与SEQ ID N0:1的融合蛋白组合施用时抑制靶检查点蛋白的一种或多种活性。在一些情况下,由于例如协同效应,检查点蛋白抑制剂对检查点蛋白的最小抑制在SEQ ID N0:1的存在下可能是足够的。许多检查点蛋白抑制剂是本领域内已知的。

[0136] 示例性的基于PD-1/PD-L1的免疫检查点抑制剂包括基于抗体的治疗剂。使用基于PD-1/PD-L1的免疫检查点抑制的示例性治疗方法描述于美国专利No.8,728,474和9,073,994和欧洲专利No.1537878B1中,并且例如包括抗PD-1抗体的用途。示例性的抗PD-1抗体描述于例如美国专利No.8,952,136、8,779,105、8,008,449、8,741,295、9,205,148、9,181,342、9,102,728、9,102,727、8,952,136、8,927,697、8,900,587、8,735,553和7,488,802中。示例性的抗PD-1抗体包括,例如纳武单抗(**OPDIVO®**,Bristol-Myers Squibb Co.)、派姆单抗(**KEYTRUDA®**,Merck Sharp&Dohme Corp.)、PDR001(Novartis

Pharmaceuticals) 和Pidilizumab (CT-011, Cure Tech)。示例性的抗PD-L1抗体描述于例如美国专利No. 9,273,135、7,943,743、9,175,082、8,741,295、8,552,154和8,217,149中。示例性的抗PD-L1抗体包括例如阿替利珠单抗 (TECENTRIQ®, Genentech)、度伐单抗 (AstraZeneca)、MEDI4736、阿维鲁单抗和BMS 936559 (Bristol Myers Squibb Co.)。

[0137] 在某些实施方案中,本文所述的方法或组合物与CTLA-4抑制剂组合施用。在CTLA-4通路中,T细胞上的CTLA-4与抗原呈递细胞(而不是癌细胞)表面上的其配体(例如CD80,也称为B7-1和CD86)的相互作用导致T细胞抑制。示例性的基于CTLA-4的免疫检查点抑制方法描述于美国专利No. 5,811,097、5,855,887、6,051,227中。示例性抗CTLA-4抗体描述于美国专利No. 6,984,720、6,682,736、7,311,910; 7,307,064、7,109,003、7,132,281、6,207,156、7,807,797、7,824,679、8,143,379、8,263,073、8,318,916、8,017,114、8,784,815和8,883,984,国际 (PCT) 公开号W098/42752、W000/37504和W001/14424,以及欧洲专利No. EP1212422B1中。示例性的CTLA-4抗体包括伊匹单抗或替西木单抗 (Tremelimumab)。

[0138] 优选地,本发明的方法或组合物与 (i) PD-1或PD-L1抑制剂,例如本文公开的PD-1或PD-L1抑制剂,和 (ii) CTLA-4抑制剂,例如本文公开的CTLA-4抑制剂组合施用。

[0139] FDA批准的免疫检查点蛋白抑制剂的示例包括:

- [0140] • 伊匹单抗 (YERVOY®)
- [0141] • 派姆单抗 (KEYTRUDA®)
- [0142] • 阿替利珠单抗 (TECENTRIQ®)
- [0143] • 度伐单抗 (IMFINZ®)
- [0144] • 阿维鲁单抗 (BAVENCIO®)
- [0145] • 纳武单抗 (OPDIVO®)。

[0146] 本发明的优选治疗方案组合根据本发明皮下施用的SEQ ID NO:1的融合蛋白与免疫检查点抑制剂(派姆单抗)。优选地,在根据本发明的治疗方案的每个治疗周期的第一天施用派姆单抗。优选地,根据制造商的建议施用200mg派姆单抗,通常每3周或21天一次。

[0147] 除了免疫检查点抑制剂之外或代替免疫检查点抑制剂,使用根据本发明的SEQ ID NO:1的融合蛋白的治疗方案还可以与其他治疗剂和/或抗癌剂组合。优选地,治疗剂和/或抗癌剂是抗体。优选地,治疗剂是治疗性蛋白质。优选地,治疗剂是小分子。优选地,抗癌剂是抗原。优选地,治疗剂是细胞群体。优选地,治疗剂是治疗性抗体。优选地,治疗剂是另一种细胞毒性剂和/或化疗剂。本文所用的术语“细胞毒性剂”是指抑制或阻止细胞功能和/或引起细胞死亡或破坏的物质。“化疗剂”包括可用于治疗癌症的化合物。

[0148] 抗体

[0149] 优选地,SEQ ID NO:1的皮下施用可以与治疗性抗体组合。产生抗体及其抗原结合片段的方法是本领域熟知的,并且公开于例如美国专利No. 7,247,301、US2008/0138336和美国专利No. 7,923,221中,所有这些以全文引用的方式并入本文中。可用于本发明的方法的治疗性抗体包括但不限于批准用于临床试验或开发用于临床用途的任何本领域公认的治疗性抗体。在一些实施方案中,多于一种治疗性抗体可以包括在本发明的组合疗法中。治疗性抗体的非限制性示例包括但不限于以下:

- [0150] • 曲妥单抗 (HERCEPTINTM, Genentech, South San Francisco, Calif.) , 其用于治疗HER-2/neu阳性乳腺癌或转移性乳腺癌;
- [0151] • 贝伐单抗 (Genentech的AVASTINTM) , 其用于治疗结肠直肠癌、转移性结肠直肠癌、乳腺癌、转移性乳腺癌、非小细胞肺癌或肾细胞癌;
- [0152] • 利妥昔单抗 (Genentech的RITUXANTM) , 其用于治疗非霍奇金淋巴瘤或慢性淋巴细胞性白血病;
- [0153] • 帕妥珠单抗 (Genentech的OMNITARGTM) , 其用于治疗乳腺癌、前列腺癌、非小细胞肺癌或卵巢癌;
- [0154] • 西妥昔单抗 (ImClone Systems Incorporated, New York, N.Y. 的ERBITUXTM) , 其可用于治疗结肠直肠癌、转移性结肠直肠癌、肺癌、头颈癌、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、脑癌、胰腺癌、食道癌、肾细胞癌、前列腺癌、宫颈癌或膀胱癌;
- [0155] • IMC-1C11 (ImClone Systems Incorporated) , 其用于治疗结肠直肠癌、头颈癌以及其他潜在的癌症靶标;
- [0156] • 托西莫单抗和托西莫单抗与碘I¹³¹ (Corixa Corporation, Seattle, Wash的BEXXARTM) , 其用于治疗非霍奇金淋巴瘤, 其可以是CD20阳性的、滤泡性的非霍奇金淋巴瘤; 具有和不具有转化, 其疾病是利妥昔单抗难治的并且在化疗后复发;
- [0157] • In¹¹¹替伊莫单抗; Y⁹⁰替伊莫单抗; I¹¹¹替伊莫单抗和Y⁹⁰替伊莫单抗 (Biogen Idec, Cambridge, Mass的ZEVALINTM) , 其用于治疗淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤, 其可包括复发性滤泡性淋巴瘤; 复发性或难治性、低度或滤泡性非霍奇金淋巴瘤; 或转化的B细胞非霍奇金淋巴瘤;
- [0158] • EMD 7200 (EMD Pharmaceuticals, Durham, N.C.) , 其用于治疗非小细胞肺癌或宫颈癌;
- [0159] • SGN-30 (Seattle Genetics, Bothell, Wash的靶向CD30抗原的遗传工程化单克隆抗体) , 其用于治疗霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤;
- [0160] • SGN-15 (Seattle Genetics的靶向Lewis γ 相关抗原的遗传工程化单克隆抗体, 其缀合至阿霉素) , 其用于治疗非小细胞肺癌;
- [0161] • SGN-33 (Seattle Genetics的靶向CD33抗原的人源化抗体) , 其用于治疗急性髓性白血病 (AML) 和骨髓增生异常综合征 (MDS) ;
- [0162] • SGN-40 (Seattle Genetics的靶向CD40抗原的人源化单克隆抗体) , 其用于治疗多发性骨髓瘤或非霍奇金淋巴瘤;
- [0163] • SGN-35 (Seattle Genetics的靶向CD30抗原的遗传工程化单克隆抗体, 其缀合至澳瑞他汀E) , 其用于治疗非霍奇金淋巴瘤;
- [0164] • SGN-70 (Seattle Genetics的靶向CD70抗原的人源化抗体) , 其用于治疗肾癌和鼻咽癌;
- [0165] • SGN-75 (Seattle Genetics的由SGN70抗体和澳瑞他汀衍生物组成的缀合物) ; 以及
- [0166] • SGN-17/19 (Seattle Genetics的与美法仑前药缀合的包含抗体和酶的融合蛋白) , 其用于治疗黑素瘤或转移性黑素瘤。
- [0167] 用于本发明方法的治疗性抗体不限于本文所述的那些。例如, 下列批准的治疗性

抗体也可用于本发明的方法中:用于间变性大细胞淋巴瘤和霍奇金淋巴瘤的本妥昔单抗(ADCETRISTM)、用于黑素瘤的伊匹单抗(MDX-101;YERVOYTM)、用于慢性淋巴细胞性白血病的奥法木单抗(ARZERRATM)、用于结肠直肠癌的帕尼单抗(VECTIBIXTM)、用于慢性淋巴细胞性白血病的阿仑单抗(CAMPATHTM)、用于慢性淋巴细胞性白血病的奥法木单抗(ARZERRATM)、用于急性骨髓性白血病的吉妥珠单抗(MYLOTARGTM)。

[0168] 根据本发明使用的抗体还可以靶向由免疫细胞表达的分子,例如但不限于替西木单抗(CP-675,206)和伊匹单抗(MDX-010),其靶向CTLA4且具有肿瘤排斥,防止再激发和增强肿瘤特异性T细胞反应的作用;OX86,其靶向OX40并增加肿瘤位点处的抗原特异性CD8+T细胞并增强肿瘤排斥;CT-011,其靶向PD1并具有维持和扩增肿瘤特异性记忆T细胞和激活NK细胞的作用;BMS-663513,其靶向CD137并引起已建立肿瘤的消退,以及CD8+T细胞的扩增和维持,和达利珠单抗(ZENAPAXTM),其靶向CD25并引起CD4+CD25+FOXP3+Treg的瞬时耗竭并增强肿瘤消退和增加效应T细胞的数目。这些抗体的更详细讨论可参见例如Weiner等,Nature Rev.Immunol 2010;10:317-27。

[0169] 优选地,抗体是促炎性和/或促致瘤性细胞因子靶向抗体,其包括但不限于抗TNF抗体、抗IL-1Ra受体靶向抗体、抗IL-1抗体、抗IL-6受体抗体和抗IL-6抗体。优选的抗体包括靶向促炎性T辅助17型细胞(TH17)的那些。

[0170] 所述治疗性抗体可以是抗体的片段;包含抗体的复合物;或包含抗体的缀合物。抗体可以任选地是嵌合的或人源化的或全人的。

[0171] 治疗性蛋白和多肽

[0172] 优选地,本发明的方法包括根据本发明的治疗方案将SEQ ID NO:1的融合蛋白与治疗性蛋白或肽组合皮下施用。有效治疗癌症的治疗性蛋白是本领域熟知的。优选地,治疗性多肽或蛋白是“自杀蛋白”,其本身或在其它化合物存在下引起细胞死亡。

[0173] 这种自杀蛋白的代表性示例是单纯疱疹病毒的胸苷激酶。另外的示例包括水痘带状疱疹病毒的胸苷激酶、细菌基因胞嘧啶脱氨酶(其将5-氟胞嘧啶转化为高毒性化合物5-氟尿嘧啶)、p450氧化还原酶、羧肽酶G2、β-葡糖醛酸酶、青霉素-V-酰胺酶、青霉素-G-酰胺酶、β-内酰胺酶、硝基还原酶、羧肽酶A、亚麻苦苷酶(也称为β-葡糖苷酶)、大肠杆菌gpT基因和大肠杆菌Deo基因,尽管其它基因是本领域已知的。在一些实施方案中,自杀蛋白将前药转化为毒性化合物。

[0174] 如本文所用,“前药”是指可用于本发明方法的可转化为毒性产物(即对肿瘤细胞有毒性)的任何化合物。前药通过自杀蛋白转化为毒性产物。此类前药的代表性示例包括:用于胸苷激酶的更昔洛韦、阿昔洛韦和FIAU(1-(2-脱氧-2-氟-β-D-阿拉伯呋喃糖基)-5-碘-尿嘧啶);用于氧化还原酶的异环磷酰胺;用于VZV-TK的6-甲氧基嘌呤阿拉伯糖苷;用于胞嘧啶脱氨酶的5-氟胞嘧啶;用于β-葡糖醛酸酶的多柔比星;用于硝基还原酶的CB1954和呋喃西林;和用于羧肽酶A的N-(氨基乙酰基)-L-苯丙氨酸或N-(3-氯丙酰基)-L-苯丙氨酸。前药可以由本领域内的普通技术人员容易地施用。本领域技术人员能够容易地确定前药的最合适剂量和施用途径。

[0175] 优选地,治疗性蛋白或多肽是癌抑制剂,例如p53或Rb,或编码这种蛋白或多肽的核酸。本领域技术人员熟知各种这样的癌抑制剂以及如何获得它们和/或编码它们的核酸。

[0176] 抗癌/治疗性蛋白或多肽的其它示例包括促凋亡治疗性蛋白和多肽,例如p15、p16

或p21^{WAF-1}。

[0177] 细胞因子和编码它们的核酸也可用作治疗性蛋白和多肽。示例包括:GM-CSF(粒细胞巨噬细胞集落刺激因子);TNF- α (肿瘤坏死因子 α);干扰素(包括但不限于IFN- α 和IFN- γ);和白细胞介素(包括但不限于白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素- β (IL-beta)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-5(IL-5)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-7(IL-7)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-12(IL-12)、白细胞介素-13(IL-13)、白细胞介素-14(IL-14)、白细胞介素-15(IL-15)、白细胞介素-16(IL-16)、白细胞介素-18(IL-18)、白细胞介素-23(IL-23)、白细胞介素-24(IL-24)),尽管其它实施方案是本领域已知的。

[0178] 杀细胞基因的其它示例包括但不限于突变的细胞周期蛋白G1基因。举例来说,杀细胞基因可以是细胞周期蛋白G1蛋白的显性负突变(例如W0/01/64870)。

[0179] 疫苗

[0180] 优选地,本发明的治疗方案包括SEQ ID NO:1的融合蛋白的皮下施用与用于刺激癌症特异性免疫反应的癌症疫苗的施用的组合,例如先天免疫反应和适应性免疫反应,以产生针对癌症的宿主免疫(参见例如Overwijk等,Journal of Experimental Medicine 2008;198:569-80)。示例性疫苗包括但不限于例如抗原疫苗、全细胞疫苗、树突状细胞疫苗和DNA疫苗。根据疫苗的具体类型,疫苗组合物可包括一种或多种已知增强受试者对疫苗的免疫反应的合适佐剂。

[0181] 疫苗可以是例如基于细胞的(即使用来自患者自身癌细胞的细胞来鉴定和获得抗原而产生的)。示例性疫苗包括基于肿瘤细胞的疫苗和基于树突状细胞的疫苗,其中将来自受试者的活化免疫细胞与其它蛋白质一起递送给该同一受试者,以进一步促进这些肿瘤抗原引发的免疫细胞的免疫活化。基于肿瘤细胞的疫苗包括全肿瘤细胞和基因修饰的肿瘤细胞。可以任选地加工全肿瘤细胞疫苗以增强抗原呈递,例如通过照射肿瘤细胞或肿瘤裂解物。根据所用疫苗的类型,疫苗施用还可以伴随佐剂,例如卡介苗(BCG)或匙孔血蓝蛋白(KLH)。也可以使用质粒DNA疫苗,并且可以通过直接注射或基因枪施用。还考虑使用肽疫苗、病毒基因转移载体疫苗和抗原修饰的树突状细胞(DC)。

[0182] 优选地,所述疫苗是基于治疗性癌症肽的疫苗。肽疫苗可使用已知序列或从受试者自身肿瘤分离的抗原来产生,并且包括新抗原和修饰的抗原。示例性的基于抗原的疫苗包括其中抗原是肿瘤特异性抗原的那些。例如,肿瘤特异性抗原可以选自癌症-睾丸(cancer-testis)抗原、分化抗原和广泛存在的过表达的肿瘤相关抗原等。当用于本发明的方法时,基于来自肿瘤相关抗原的肽的重组肽疫苗可以与佐剂或免疫调节剂一起施用或配制。用于基于肽的疫苗的示例性抗原包括但不限于以下抗原,因为该列表仅是说明性的。例如,肽疫苗可包含癌症-睾丸抗原如MAGE、BAGE、NY-ESO-1和SSX-2,它们由在成人组织中正常沉默但在肿瘤细胞中转录再活化的基因编码。或者,肽疫苗可包含组织分化相关抗原,即正常组织来源并由正常组织和肿瘤组织共有的抗原。例如,疫苗可包含黑素瘤相关抗原如gp100、Melan-A/Mart-1、MAGE-3或酪氨酸酶;或者可以包含前列腺癌抗原如PSA或PAP。疫苗可包含乳腺癌相关抗原,例如乳腺珠蛋白-A。可包含在用于本方法的疫苗中的其它肿瘤抗原包括例如CEA、MUC-1、HER1/Nue、hTERT、ras和B-raf。可用于疫苗的其它合适抗原包括与癌症干细胞或EMT过程相关的SOX-2和OCT-4。

[0183] 抗原疫苗包括多抗原和单抗原疫苗。示例性癌抗原可包括具有约5至约30个氨基酸、或约6至25个氨基酸、或约8至20个氨基酸的肽。

[0184] 如上所述,免疫刺激佐剂(不同于RSLAIL-2)可用于疫苗,特别是基于肿瘤相关抗原的疫苗,以帮助产生有效的免疫反应。例如,疫苗可并入病原体相关分子模式(PAMP)以帮助提高免疫力。其它合适的佐剂包括单磷酰脂质A或其它脂多糖;Toll样受体(TLR)激动剂,例如咪喹莫特、瑞喹莫德(R-848)、TLR3、IMO-8400和雷他莫德。适用的其它佐剂包括热休克蛋白。

[0185] 遗传疫苗通常使用携带表达盒的病毒或质粒DNA载体。在施用后,它们转染体细胞或树突状细胞作为炎性反应的一部分,从而导致交叉引发或直接抗原呈递。优选地,遗传疫苗是在一次免疫中提供多种抗原递送的疫苗。遗传疫苗包括DNA疫苗、RNA疫苗和基于病毒的疫苗。

[0186] 用于本发明方法的DNA疫苗是构建用于递送和表达肿瘤抗原的细菌质粒。DNA疫苗可通过任何合适的施用方式施用,例如皮下或皮内注射,但也可直接注射到淋巴结中。其它递送模式包括例如基因枪、电穿孔、超声、激光、脂质体、微粒和纳米颗粒。

[0187] 优选地,疫苗包含一种新抗原或多种新抗原。优选地,疫苗是基于新抗原的疫苗。优选地,基于新抗原的疫苗(NBV)组合物可以编码串联的多种癌症新抗原,其中每种新抗原是衍生自癌细胞中突变的蛋白质的多肽片段。例如,新抗原疫苗可以包含含有编码多种免疫原性多肽片段(每一种为癌细胞中突变的蛋白质的多肽片段)的核酸构建体的第一载体,其中每种免疫原性多肽片段包含一个或多个突变的氨基酸,所述突变的氨基酸侧翼为来自原始蛋白质的可变数量的野生型氨基酸,并且每种多肽片段头尾相连以形成免疫原性多肽。形成免疫原性多肽的每个免疫原性多肽片段的长度可以变化。

[0188] 也可以使用病毒基因转移载体疫苗;在这样的疫苗中,重组工程病毒、酵母、细菌等被用于将癌症特异性蛋白引入患者的免疫细胞。在可以是肿瘤裂解性或非肿瘤裂解性的基于载体的方法中,由于例如其固有的免疫刺激性质,载体可以提高疫苗的效力。示例性的基于病毒的载体包括来自痘病毒科的载体,如痘苗病毒、改性痘苗病毒株Ankara和禽痘病毒。还适合使用的是癌症疫苗PROSTVAC,其含有可复制的痘苗病毒启动载体和不可复制的禽痘加强载体(fowlpox-boosting vector)。每个载体含有PSA的转基因和三种共刺激分子CD80、CD54和CD58,统称为TRICOM。其它合适的基于载体的癌症疫苗包括Trovax和TG4010(编码MUC1抗原和IL-2)。使用的其它疫苗包括基于细菌和酵母的疫苗,例如重组单核细胞增生李斯特菌和酿酒酵母。

[0189] 前述疫苗可与佐剂和其它免疫增强剂组合和/或配制以增强功效。根据具体的疫苗,施用可以是肿瘤内或非肿瘤内的(即全身性的)。

[0190] 可用于疫苗接种的其它癌症抗原包括但不限于(i)肿瘤特异性抗原,(ii)肿瘤相关抗原,(iii)表达肿瘤特异性抗原的细胞,(iv)表达肿瘤相关抗原的细胞,(v)肿瘤上的胚胎抗原,(vi)自体肿瘤细胞,(vii)肿瘤特异性膜抗原,(viii)肿瘤相关膜抗原,(ix)生长因子受体,(x)生长因子配体,和(xi)与癌症相关的任何其它类型的抗原或抗原呈递细胞或物质。

[0191] 癌抗原可以是上皮癌抗原(例如乳腺、胃肠、肺)、前列腺特异性癌抗原(PSA)或前列腺特异性膜抗原(PSMA)、膀胱癌抗原、肺(例如小细胞肺)癌抗原、结肠癌抗原、卵巢癌抗

原、脑癌抗原、胃癌抗原、肾细胞癌抗原、胰腺癌抗原、肝癌抗原、食道癌抗原、头颈癌抗原或结肠直肠癌抗原。

[0192] 在另一个实施方案中,癌抗原是淋巴瘤抗原(例如非霍奇金淋巴瘤或霍奇金淋巴瘤)、B细胞淋巴瘤癌抗原、白血病抗原、骨髓瘤(即多发性骨髓瘤或浆细胞骨髓瘤)抗原、急性成淋巴细胞性白血病抗原、慢性骨髓性白血病抗原或急性骨髓性白血病抗原。所描述的癌抗原仅是示例性的,并且在本发明中可以靶向任何癌抗原。

[0193] 优选地,癌抗原是在所有人类腺癌(胰腺、结肠、乳腺、卵巢、肺、前列腺、头和颈)上发现的粘蛋白-1蛋白或肽(MUC-1),其包括多发性骨髓瘤和一些B细胞淋巴瘤。患有炎性肠病(克罗恩病或溃疡性结肠炎)的患者发生结肠直肠癌的风险增加。MUC-1是I型跨膜糖蛋白。MUC-1的主要胞外部分具有大量由20个氨基酸组成的串联重复,其包含免疫原性表位。在一些癌症中,其以被免疫系统识别的非糖基化形式暴露(GendleR等,J Biol Chem 1990;265:15286-15293)。

[0194] 在另一个实施方案中,癌抗原是与黑素瘤和结肠癌相关的突变B-Raf抗原。这些突变的绝大多数代表在核苷酸1796处T-A的单核苷酸变化,其导致在B-Raf的活化区段内的残基599处缬氨酸变为谷氨酸。Raf蛋白也作为活化的RAS蛋白的效应物与癌症间接相关,该活化的RAS蛋白为存在于所有人类癌症的约三分之一中的致癌形式。正常的非突变B-Raf参与细胞信号传导,将信号从细胞膜传递至细胞核。该蛋白质通常仅在需要传递信号时才有活性。相反,已经报道突变体B-Raf是持续活性的,从而破坏信号传递(Mercer和Pritchard,Biochim Biophys Acta (2003) 1653 (1) :25-40; Sharkey等,Cancer Res. (2004) 64 (5) :1595-1599)。

[0195] 优选地,癌抗原是人表皮生长因子受体-2(HER-2/neu)抗原。具有过表达HER-2/neu的细胞的癌症被称为HER-2/neu⁺癌症。示例性HER-2/neu⁺癌症包括前列腺癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、皮肤癌、肝癌(例如肝细胞癌)、肠癌和膀胱癌。

[0196] HER-2/neu具有与表皮生长因子受体(EGFR)具有40%同源性的大约645aa的细胞外结合结构域(ECD)、高度疏水的跨膜锚定结构域(TMD)和与EGFR具有80%同源性的大约580aa的羧基端细胞内结构域(ICD)。HER-2/neu的核苷酸序列可获自GENBANKTM。登录号AH002823(人HER-2基因、启动子区和外显子1);M16792(人HER-2基因,外显子4);M16791(人HER-2基因,外显子3);M16790(人HER-2基因,外显子2);和M16789(人HER-2基因、启动子区和外显子1)。HER-2/neu蛋白的氨基酸序列可从GENBANKTM获得。登录号AAA58637。基于这些序列,本领域技术人员可以使用已知的试验开发HER-2/neu抗原以发现产生有效免疫反应的适当表位。

[0197] 示例性HER-2/neu抗原包括p369-377(HER-2/neu衍生的HLA-A2肽);dHER2(Corixa Corporation);li-Key MHC II类表位杂合体(Generex Biotechnology Corporation);肽P4(氨基酸378-398);肽P7(氨基酸610-623);肽P6(氨基酸544-560)和P7的混合物;肽P4、P6和P7的混合物;HER2[9₇₅₄]等。

[0198] 优选地,癌抗原是表皮生长因子受体(EGFR)抗原。EGFR抗原可以是EGFR变体1抗原、EGFR变体2抗原、EGFR变体3抗原和/或EGFR变体4抗原。具有过表达EGFR的细胞的癌症被称为EGFR癌症。示例性EGFR癌症包括肺癌、头颈癌、结肠癌、结肠直肠癌、乳腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、脑癌和膀胱癌。

[0199] 优选地,癌抗原是血管内皮生长因子受体(VEGFR)抗原。VEGFR被认为是癌症诱导的血管生成的调节剂。具有过表达VEGFR的细胞的癌症称为 $VEGFR^+$ 癌症。示例性 $VEGFR^+$ 癌症包括乳腺癌、肺癌、小细胞肺癌、结肠癌、结肠直肠癌、肾癌、白血病和淋巴细胞性白血病。

[0200] 优选地,癌抗原是前列腺特异性抗原(PSA)和/或前列腺特异性膜抗原(PSMA),其在雄激素非依赖性前列腺癌中普遍表达。

[0201] 优选地,癌抗原是Gp-100。糖蛋白100(gp100)是黑素瘤相关的肿瘤特异性抗原。

[0202] 优选地,癌抗原是癌胚抗原(CEA)。具有过表达CEA的细胞的癌症被称为 CEA^+ 癌症。示例性 CEA^+ 癌症包括结肠直肠癌、胃癌和胰腺癌。示例性的CEA抗原包括CAP-1(即CEA aa 571-579)、CAP1-6D、CAP-2(即CEA aa 555-579)、CAP-3(即CEA aa 87-89)、CAP-4(CEA aa 1-11)、CAP-5(即CEA aa 345-354)、CAP-6(即CEA aa 19-28)和CAP-7。

[0203] 优选地,癌抗原是糖抗原10.9(CA19.9)。CA 19.9是与Lewis A血型物质有关的寡糖并且与结肠直肠癌相关。

[0204] 优选地,癌抗原是黑素瘤癌抗原。黑素瘤癌抗原可用于治疗黑素瘤。示例性黑素瘤癌抗原包括MART-1(例如,MART-126-35肽、MART-127-35肽);MART-1/MelanA;pMe117;pMe117/gp100;gp100(例如, gp100肽280-288、gp100肽154-162、gp100肽457-467);TRP-1;TRP-2;NY-ESO-1;p16; β -连环蛋白;mum-1;等。

[0205] 优选地,癌抗原是突变型或野生型ras肽。突变型ras肽可以是突变型K-ras肽、突变型N-ras肽和/或突变型H-ras肽。ras蛋白中的突变通常发生在位置12(例如,精氨酸或缬氨酸替换甘氨酸)、13(例如,天冬酰胺替换甘氨酸)、61(例如,谷氨酰胺替换亮氨酸)和/或59。突变型ras肽可用作肺癌抗原、胃肠癌抗原、肝癌抗原、髓样癌抗原(例如急性白血病、脊髓发育不良),皮肤癌抗原(例如黑素瘤、基底细胞、鳞状细胞),膀胱癌抗原、结肠癌抗原、结肠直肠癌抗原和肾细胞癌抗原。

[0206] 在本发明的另一个实施方案中,癌抗原是突变型和/或野生型p53肽。p53肽可用作结肠癌抗原、肺癌抗原、乳腺癌抗原、肝细胞癌抗原、淋巴瘤癌抗原、前列腺癌抗原、甲状腺癌抗原、膀胱癌抗原、胰腺癌抗原和卵巢癌抗原。

[0207] 癌抗原可以是细胞、蛋白质、肽、融合蛋白、编码肽或蛋白质的DNA、编码肽或蛋白质的RNA、糖蛋白、脂蛋白、磷蛋白、碳水化合物、脂多糖、脂质、其两种或更多种的化学连接的组合,其两种或更多种的融合体,或其两种或更多种的混合物,或编码其两种或更多种的病毒,或编码其两种或更多种的溶瘤病毒。在另一个实施方案中,癌抗原是包含约6至约24个氨基酸;约8至约20个氨基酸;约8至约12个氨基酸;约8至约10个氨基酸;或约12至约20个氨基酸的肽。在一个实施方案中,癌抗原是具有MHC I类结合基序或MHC II类结合基序的肽。在另一个实施方案中,癌抗原包含对应于一个或多个细胞毒性T淋巴细胞(CTL)表位的肽。

[0208] 细胞疗法

[0209] 优选地,本发明的方法包括SEQ ID NO:1的融合蛋白的施用与治疗性细胞疗法的施用组合。可用于治疗癌症的细胞疗法是众所周知的,并且公开于例如美国专利No.7,402,431中。在一个优选的实施方案中,所述细胞疗法是T细胞移植。在优选的方法中,T细胞在移植入受试者之前用IL-2离体扩增。用于细胞疗法的方法公开于例如美国专利No.7,402,431、US2006/0057121、美国专利No.5,126,132、美国专利No.6,255,073、美国专利No.5,

846,827、美国专利No.6,251,385、美国专利No.6,194,207、美国专利No.5,443,983、美国专利No.6,040,177、美国专利No.5,766,920和US2008/0279836中。

[0210] 放射疗法

[0211] 优选地,本发明的治疗方案包括SEQ ID NO:1的融合蛋白的施用与放射疗法进一步组合。术语“放射疗法”可与术语“放疗”互换使用,是使用强能量束杀死癌细胞的癌症治疗类型。放射治疗最常使用X射线,但也可使用 γ 射线、电子束或质子。术语“放射疗法”最通常是指外部射束放射治疗。在这种类型的放疗中,高能量束来自患者身体外部的机器,其将能量束瞄准身体上的精确点。每个环节快速且无痛,持续约15分钟。如本文所用,术语“环节”或“治疗环节”是指每次放疗治疗。放射治疗“方案”或“时间表”通常由在设定的时间段内施用的特定数量的治疗组成,取决于癌症的类型和阶段。

[0212] 小分子

[0213] 优选地,本发明的治疗方案包括SEQ ID NO:1的融合蛋白的皮下施用与抗癌小分子的施用组合。有效治疗癌症的小分子是本领域熟知的并且包括参与肿瘤生长的因子(例如EGFR、ErbB2(也称为Her2)、ErbB3、ErbB4或TNF)的拮抗剂。非限制性示例包括靶向一种或多种酪氨酸激酶受体(例如VEGF受体、FGF受体、EGF受体和PDGF受体)的小分子受体酪氨酸激酶抑制剂(RTKI)。

[0214] 许多治疗性小分子RTKI是本领域已知的,包括但不限于瓦他拉尼(PTK787)、埃罗替尼(TARCEVATM)、OSI-7904、ZD6474(ZACTIMATM)、ZD6126(ANG453)、ZD1839、舒尼替尼(SUTENTTM)、司马沙尼(SU5416)、AMG706、AG013736、伊马替尼(GLEEVECTM)、MLN-518、CEP-701、PKC-412、拉帕替尼(GSK572016)、VELCADETM、AZD2171、索拉非尼(NEXAVARTM)、XL880和CHIR-265。小分子蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂(例如Jiang等,Cancer Metastasis Rev.2008;27:263-72中公开的那些)也可用于实施本发明的方法。这样的抑制剂可以靶向例如HSP2、PRL、PTP1B或Cdc25磷酸酶。

[0215] 靶向Bcl-2/Bcl-XL的小分子(例如US2008/0058322中公开的那些)也可用于实施本发明的方法。用于本发明的其它示例性小分子公开于Zhang等,Nature Reviews:Cancer 2009;9:28-39中。特别地,导致免疫原性细胞死亡的化疗剂(例如蒽环类)(Kepp等,Cancer and Metastasis Reviews 2011;30:61-9)非常适合于与延长PK IL-2的协同作用。

[0216] 其它细胞毒性和化疗剂

[0217] 优选地,本发明的方法包括将SEQ ID NO:1的融合蛋白的皮下施用与化疗剂的施用组合,所述化疗剂包括但不限于烷化剂、抗肿瘤抗生素、抗代谢剂、其它抗肿瘤抗生素和植物来源的药剂。

[0218] 烷化剂是通过与生物学上重要的分子中的氨基、羧基、巯基和磷酸基形成共价键而损害细胞功能的药物。烷基化的最重要的位点是DNA、RNA和蛋白质。烷化剂的活性依赖于细胞增殖,但不是细胞周期阶段特异性的。适用于本发明的烷化剂包括但不限于双氯乙胺类(氮芥类,例如苯丁酸氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺、氮芥、美法仑、尿嘧啶氮芥)、氮丙啶类(例如噻替派)、烷基烷酮磺酸盐(例如白消安)、亚硝基脲(例如BCNU、卡莫司汀、洛莫司汀、链脲佐菌素)、非经典烷化剂(例如,六甲蜜胺、达卡巴嗪和丙卡巴肼)和铂化合物(例如,卡铂、奥沙利铂和顺铂)。

[0219] 抗肿瘤抗生素(如阿霉素)在鸟嘌呤-胞嘧啶和鸟嘌呤-胸腺嘧啶序列处插入DNA,

导致自氧化和形成引起链断裂的游离氧自由基。适用于本发明的其它抗生素药剂包括但不限于蒽环类抗生素(例如多柔比星、柔红霉素、表柔比星、伊达比星和蒽二酮)、丝裂霉素C、博来霉素、更生霉素和普卡霉素。

[0220] 适用于本发明的抗代谢剂包括但不限于氟尿昔、氟尿嘧啶、甲氨蝶呤、亚叶酸、羟基脲、硫鸟嘌呤、巯基嘌呤、阿糖胞苷、喷司他丁、磷酸氟达拉滨、克拉屈滨、天冬酰胺酶和吉西他滨。

[0221] 植物来源的药剂包括紫杉烷类,其是从紫杉属植物的针叶中提取的前体的半合成衍生物。这些药物具有新的14元环(即紫杉烷)。与引起微管分解的长春花生物碱不同,紫杉烷类(例如紫杉醇)促进微管组装和稳定性,因此阻断细胞周期在有丝分裂中。其它植物来源的药剂包括但不限于长春新碱、长春花碱、长春地辛、长春利定、长春瑞滨、依托泊苷、替尼泊昔和多西他赛。

[0222] 用于组合疗法的组合物

[0223] 优选地,SEQ ID NO:1的融合蛋白与一种或多种另外的治疗剂或其它治疗剂(例如治疗性抗体)组合(同时或依次)施用。优选地,在施用一种或多种治疗剂(例如治疗性抗体)之前皮下施用SEQ ID NO:1的融合蛋白。优选地,SEQ ID NO:1的融合蛋白的皮下施用与一种或多种治疗剂(例如治疗性抗体)并行施用。优选地,在一种或多种治疗剂(例如治疗性抗体)的施用之后皮下施用SEQ ID NO:1的融合蛋白。优选地,同时施用SEQ ID NO:1的融合蛋白和一种或多种治疗剂(例如治疗性抗体)。优选地,依次施用SEQ ID NO:1的融合蛋白和一种或多种治疗剂(例如治疗性抗体)。优选地,SEQ ID NO:1的融合蛋白和一种或多种治疗剂(例如治疗性抗体)彼此在1、2或3天内施用。

[0224] 优选地,本发明提供了包含融合蛋白和药学上可接受的稀释剂、载体、增溶剂、乳化剂、防腐剂和/或佐剂的单独药物组合物,以及包含一种或多种治疗剂(例如治疗性抗体)和药学上可接受的稀释剂、载体、增溶剂、乳化剂、防腐剂和/或佐剂的单独的药物组合物。

[0225] 优选地,本发明提供了药物组合物,其在同一组合物中包含SEQ ID NO:1的融合蛋白和一种或多种治疗剂或抗癌剂,以及药学上可接受的稀释剂、载体、增溶剂、乳化剂、防腐剂和/或佐剂。

[0226] 重组产生

[0227] 优选地,SEQ ID NO:1的融合蛋白使用重组技术产生。使用任何合适的构建体和任何合适的宿主细胞,可以将SEQ ID NO:1的融合蛋白作为细胞内蛋白或分泌蛋白产生,所述宿主细胞可以是原核或真核细胞,分别如细菌(例如大肠杆菌)或酵母宿主细胞。可用作宿主细胞的真核细胞的其他例子包括昆虫细胞、哺乳动物细胞和/或植物细胞。在使用哺乳动物宿主细胞的情况下,它们可以包括人类细胞(例如,HeLa、293、H9和Jurkat细胞);小鼠细胞(例如,NIH3T3、L细胞和C127细胞);灵长类细胞(例如,Cos 1、Cos 7和CV1);和仓鼠细胞(例如,中国仓鼠卵巢(CHO)细胞)。

[0228] 可以根据本领域已知的标准程序使用多种适合于表达多肽的宿主-载体系统。参见,例如,Sambrook等,1989Current Protocols in Molecular Biology Cold Spring Harbor Press,New York;and Ausubel et al.1995Current Protocols in Molecular Biology,Eds.Wiley and Sons。将遗传物质引入宿主细胞的方法包括,例如,转化、电穿孔、缀合、磷酸钙方法等。可以选择转移方法以提供引入的编码多肽的核酸的稳定表达。编码多

肽的核酸可以作为可遗传的游离体元件(例如,质粒)提供或可以基因组整合。用于生产目的多肽的多种合适的载体是可商购的。

[0229] 载体可以用于宿主细胞中的染色体外维持或可以用于整合到宿主细胞基因组中。表达载体提供转录和翻译调控序列并且可以提供诱导型或组成型表达,其中编码区在转录起始区及转录和翻译终止区的转录控制下可操作地连接。通常,转录和翻译调控序列可以包括但不限于启动子序列、核糖体结合位点、转录起始和终止序列、翻译起始和终止序列以及增强子或激活子序列。启动子可以是组成型或诱导型的,并且可以是强组成型启动子(例如T7)。

[0230] 表达构建体通常具有位于启动子序列附近的方便的限制性位点,以用于编码感兴趣蛋白质的核酸序列的插入。可以存在于表达宿主中可操作的选择标记以利于选择含有该载体的细胞。此外,表达构建体可以包括额外的元件。例如,表达载体可以具有一个或两个复制系统,从而使其能够维持在生物体中,例如,在用于表达的哺乳动物或昆虫细胞中和在用于克隆和扩增的原核宿主中。此外,表达构建体可以包含选择标记基因以允许选择转化的宿主细胞。选择基因在本领域中是众所周知的并且会随所用的宿主细胞而变化。

[0231] 可以根据本领域已知的方法完成蛋白质的分离和纯化。例如,蛋白质可以从经遗传修饰以组成型和/或在诱导后表达蛋白质的细胞的裂解物分离,或通过免疫亲和纯化从合成反应混合物中分离,这通常涉及将样品与抗蛋白抗体接触,洗涤以去除非特异性结合的物质,并洗脱特异性结合的蛋白质。分离的蛋白质可以通过透析和蛋白质纯化中常用的方法进一步纯化。在一个实施方式中,可以使用金属螯合色谱法分离蛋白质。蛋白质可以包含修饰以促进分离。

[0232] SEQ ID NO:1的融合蛋白可以以基本上纯的或分离的形式制备(例如,不含其他多肽)。多肽可以存在于相对于可能存在的其他组分(例如,其他多肽或其他宿主细胞组分)而言该多肽富集的组合物中。例如,可以提供纯化的融合蛋白,使得融合蛋白存在于基本上不含其他表达蛋白的组合物中,例如低于约90%、低于约60%、低于约50%、低于约40%、低于约30%、低于约20%、低于约10%、低于约5%或低于约1%。

[0233] 优选地,可以使用生物重组表达系统产生SEQ ID NO:1的融合蛋白,该系统通常包括用含有编码SEQ ID NO:1的融合蛋白的遗传模板的DNA载体转染细胞,然后培养细胞以使得它们转录和翻译融合蛋白。通常,然后裂解细胞以提取表达的蛋白质用于随后的纯化。原核和真核体内蛋白质表达系统都适合使用。优选地,SEQ ID NO:1的融合蛋白在CHO细胞中产生。

[0234] 试剂盒

[0235] 还提供了包含配制用于SC施用的SEQ ID NO:1的融合蛋白和任选的任何其它化疗剂或抗癌剂的试剂盒。试剂盒通常为容纳各种组分的物理结构的形式,如下所述,并且可用于例如实施上述方法。试剂盒可包括可能为适合施用于受试者的药物组合物的形式的SEQ ID NO:1的融合蛋白(在例如无菌容器中提供)。药物组合物可以准备好使用的形式或以需要例如在施用前由使用者重构或稀释的形式提供。当组合物为需要由使用者重构的形式时,试剂盒还可包括与SEQ ID NO:1的融合蛋白一起包装或分开包装的缓冲剂、药学上可接受的赋形剂等。当考虑组合疗法(例如SEQ ID NO:1的融合蛋白和一种或多种免疫检查点抑制剂)时,试剂盒可单独地包含几种药剂或它们可能已经在该试剂盒中组合。类似地,当需

要另外的补充疗法(例如SEQ ID NO:1的融合蛋白、免疫检查点抑制剂和另外的补充疗法或药剂)时,试剂盒可以单独包含几种药剂或它们中的两种或更多种可能已经在试剂盒中组合。

[0236] 本发明的试剂盒可设计用于适当维持其中容纳的组分所需的条件(例如冷藏或冷冻)。试剂盒可以含有标签或包装插页,其包括识别其中组分的信息和其使用说明(例如给药参数、活性成分的临床药理学,包括作用机制、药代动力学和药效学、副作用、禁忌症等)。

[0237] 试剂盒的每个组分可以封装在单独的容器内,并且所有各种容器可以在单个包装内。标签或插页可包括制造商信息,例如批号和过期日期。标签或包装插页可以例如整合到容纳组分的物理结构中、单独包含在物理结构内或固定到试剂盒的组件(例如安瓿、注射器或小瓶)上。

[0238] 标签或插页可另外包括或并入计算机可读媒体中,例如磁盘(例如硬盘、卡、存储磁盘)、光盘(例如CD或DVD-ROM/RAM)、DVD、MP3、磁带或电存储介质(例如RAM和ROM)或这些的混合(例如磁/光存储媒体、FLASH介质或记忆型卡)。在一些实施方案中,试剂盒中不存在实际说明书,但提供了用于从远程来源(例如经由互联网网站)获得说明书的手段。

[0239] 实施例

[0240] 实施例1-在动物模型中定期皮下施用以用于限制T细胞耗竭/失活。

[0241] 简介/基本原理

[0242] CD4+ T细胞和CD8+ T细胞的激活可导致功能失活/“耗竭”状态或甚至细胞死亡。对于免疫肿瘤疗法,例如阿地白介素,过度刺激导致T细胞耗竭将对结果造成灾难性影响,从而潜在地限制治疗反应的幅度或持续时间。此外,可以通过调节性T细胞(T_{reg})群体的治疗相关的增加来最小化免疫疗法,这些调节性T细胞(T_{reg})起到沉默CD8+T细胞的细胞毒性作用的功能。本文描述了临床前实验以确定SEQ ID NO:1的融合蛋白的啮齿动物同源物(啮齿动物同源物被标识为SEQ ID NO:2)与恒定给药方案(即啮齿动物同源物或重组IL-2的每日给药方案)相比是否在定期给药方案后表现出改善的药效学特征。验证了IL-2治疗的药效学标志物,其包括给药后对细胞(CD8+ T细胞和NK细胞)和细胞因子(IFN γ 分布)的评估,以及在小鼠同源肿瘤模型中的抗肿瘤功效。

[0243] 此外,阿地白介素临床使用的安全性/副作用限制是血管渗漏综合征。因此,我们还在遵循了序列I的啮齿动物同源物的定期和恒定给药方案的小鼠中,评估了血管渗漏综合征的替代标志物,即肺湿重。

[0244] 实验方法

[0245] 将SEQ ID NO:2(SEQ ID NO:1的融合蛋白的啮齿动物同源物)的定期给药方案施用于具有在多个时间点采集的血液/组织样品的小鼠,以评估记忆表型CD8+ T细胞、NK细胞、 T_{reg} 的数量(即扩增)以及对循环细胞因子(例如IFN γ 、TNF α 和IL-6)水平的影响。给药方案包括每3天一次(Q3D)、每4天一次(q4d)和每7天/每周一次(q7d)给药的化合物,持续2至3周。每日给药方案包括每天给药一次,持续5天(qdx5),然后是2天“停药”,重复此过程以覆盖2周的时间。在研究期间每天测量体重。研究完成后,从所有动物身上切下肺组织并称重(“湿”)一次,然后在干燥程序后再次称重以计算因水而产生的净重,称为“湿肺重”。

[0246] 还在荷瘤小鼠(MC38肿瘤模型)中进行了实验,以评估不同给药方案的抗肿瘤功效。当皮下植入的肿瘤细胞生长到平均肿瘤大小 100mm^3 时开始给药。在媒剂和化合物给药

组中监测肿瘤大小,通常在所有治疗组中n=10。测试的给药方案如下。

[0247] 表1

组#	测试品	批号	剂量 (mg/kg)	剂量体积 (ml/kg)	给药频 率	给药 途径	给药日
[0248]	1 (n=10)	PBS (VEH)	NA	NA	10	Q4d	SC 1,5,9,13,17
	2 (n=10)	Seq ID No. 2	Wx1	3	10	Q3d	SC 1,4,7,10,13,16,19
	3 (n=10)	Seq ID No. 2	Wx1	6	10	Q4d	SC 1,5,9,13,17
	4 (n=10)	Seq ID No. 2	Wx1	9	10	Q4d	SC 1,5,9,13,17
	5 (n=10)	Seq ID No. 2	Wx1	9	10	Q7d	SC 1,8,15
	6 (n=10)	Seq ID No. 2	Wx1	12	10	Q7d	SC 1,8,15
	7 (n=10)	Seq ID No. 2	Wx1	0.8	10	5/2/5/2/5	SC 1-5,8-12,15-19

[0249] SEQ ID NO:2的设计:

[0250] 获得鼠IL-2和IL2Ra序列(分别UniProtKB-P04351和P01590),并且小鼠序列和人序列(UnitProtKB P60568和P01589)的比对用于将小鼠序列映射到SEQ ID NO:1的环状序列重组的人IL-2序列。

[0251] 所得的SEQ ID NO:2的小鼠直系同源物具有以下氨基酸序列:SKSFQLEDAENFISNI RVTVVKLGSNDTFECQFDDESATVVDLRRWIAFCQSIISTSPQGGSSSTQQQQHLEQLLMDLQELLSRMENYR NLKLPRLTFKFYLPKQATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQGSGGGSELCLYDPPEVPNATFKALSYKNGTILNC ECKRGFRRLKELVYMRCGLGSNSNCQCTSNSHDKSRKQVTAQLEHQKEQQTTDMQKPTQSMHQENLTGHCREPP PWKHEDSKRIYHFVEGQSVHYECIPGYKALQRGPAISICKMKCGKTGWTQPQLTCVDGSHHHHHH (SEQ ID NO:2)。

[0252] SEQ ID NO:2的C末端的His-标签用于纯化并且可以存在于表达的蛋白质中或者可以任选地被去除。用于重组产生蛋白质的构建体可以任选地包括信号肽,例如具有以下氨基酸序列的信号肽:MYRMQLLSCIALSLALVTNS (SEQ ID NO:3)。

[0253] 结果

[0254] 一般而言,所有给药方案均具有良好的耐受性,而定期给药方案相对于QDx5给药方案导致改善的耐受性量度。与每日皮下给药方案相比,定期给药方案(Q3D、Q4D、Q7D)与总CD8⁺ T细胞的统计学上更高的增加(图2)以及CD8⁺ T细胞与T_{reg}比率的增加(图3)相关。与每日给药方案相比,定期给药方案(Q3D、Q4D、Q7D)与记忆表型CD8⁺ T细胞的统计学上更高的增加(图4)以及记忆表型CD8⁺ T细胞与T_{reg}比率的增加(图5)相关。此外,与每日给药方案相比,定期给药产生了等相同或更高的抗肿瘤功效(图6)。这些定期给药方案没有显示出显著的体重减轻,这与QDx5方案(其显示出5-10%的体重减轻,而在研究的第6天观察到最低体重)不同(图7)。值得注意的是,更大总SEQ ID NO:2量可以改善的耐受性和更低的给药频率递送(例如以QDx5施用0.4-0.8mg/kg导致在给定周内总共递送每只小鼠2-4mg/kg;3mg/kg Q3D导致在1周内总共施用9mg/kg;3mg/kg Q4D导致在1周内总共递送6mg/kg;6mg/kg Q7D相当于1周内6mg/kg)。

[0255] 与每日给药方案相比,表1中描述的给药方案在荷瘤小鼠(MC38肿瘤模型)(图10-12)中的结果也显示出改善的耐受性和改善的抗肿瘤功效。

[0256] 结论

[0257] 与啮齿动物直系同源物或rIL-2的恒定给药方案相比,SEQ ID NO:1的啮齿动物直

系同源物的定期给药方案与循环药效学标志物(细胞和细胞因子谱)的显著改善相关。重要的是,这种改善的药效学特征与耐受性和抗肿瘤功效量度的改善有关。这些发现与以下工作假设一致,即与更恒定的给药或持续暴露相比,定期或间歇性的SEQ ID NO:1及其啮齿动物直系同源物SEQ ID NO:2暴露将提供意想不到的额外抗肿瘤益处。

[0258] 实施例2-SEQ ID NO:1在人中的SQ和IV施用的比较。

[0259] 研究方案(来自实施例3中描述的1/2期研究的群组1)

[0260] 进行了一项比较SEQ ID NO:1的递增每日静脉内剂量和SEQ ID NO:1的定期(q7d)皮下剂量的研究。如实施例3所述测量血清IFN γ 水平和IL-6水平。

[0261] 静脉内和皮下的等同剂量是通过比较施用SEQ ID NO:1的受试者的灵长类动物和人类PK和PD评估的事后分析中获得的静脉内和皮下暴露量来确定。简而言之,使用美国专利申请序列号62/860,182中描述的正在进行的首次人体临床研究的PK数据预测SEQ ID NO:1在人类皮下施用后的PK,该临床试验中在接受静脉内施用SEQ ID NO:1的晚期实体肿瘤患者中,且IV与SC比例因数基于猴的PK数据估计。在静脉内和皮下施用SEQ ID NO:1后在食蟹猴中评估的SEQ ID NO:1的单剂量PK用于估计猴子中的PK参数来估计IV与SC比例因数。

[0262] 使用预测的PK参数模拟在皮下施用SEQ ID NO:1后人类中SEQ ID NO:1的PK特征。与静脉内1 μ g/kg剂量后在人中观察到的平均Cmax 20ng/mL相比,预计在皮下剂量0.3mg后的SEQ ID NO:1峰值浓度(Cmax)为2.6ng/mL。皮下剂量0.3mg后第一周的总全身暴露量(AUC0-168h)预计为150ng*h/mL,而静脉内施用1 μ g/kg/天,每天一次,共5天后的AUC0-168h为399ng*h/mL。

[0263] 此外,对于皮下施用SEQ ID NO:1,预计在人体中的延长吸收期和然后是缓慢消除期,预计在12小时(Tmax)达到Cmax,和预计终末半衰期(t1/2)为~30小时。相反,在静脉内施用SEQ ID NO:1的30分钟输注结束时观察到Tmax,随后血清浓度水平快速下降,终末半衰期为~5小时。总之,预计每周一次或更低频率的给药方案中0.3mg的皮下剂量导致峰值浓度和每周总暴露低于每天一次以1 μ g/kg/天静脉内施用SEQ ID NO:1连续5天。

[0264] 结果和讨论

[0265] 来自实施例3中描述的正在进行的1/2期单一疗法临床研究方案的群组1的数据显示,与1 μ g/kg SEQ ID NO:1的等同qdx5静脉内施用剂量相比,在q7d皮下施用3mg SEQ ID NO:1时血清IFN γ 短暂升高而IL-6升高最小。

[0266] 在q7d皮下施用后患者血清中测量的IFN γ 细胞因子水平相对于基线的最大倍数变化比qdx5静脉内施用等同剂量的SEQ ID NO:1的融合蛋白大至少2倍(图8)。

[0267] 在q7d皮下施用后患者血清中测量的IL-6细胞因子水平相对于基线的最大倍数变化比qdx5静脉内施用等同剂量的SEQ ID NO:1的融合蛋白小至少2倍(图9)。

[0268] IFN γ 是一种具有抗肿瘤和免疫调节特性的多效细胞因子。IFN γ 直接充当细胞毒性CD8+ T细胞差异信号,且它对于诱导细胞毒性T细胞前体增殖至关重要。IFN γ 还上调APC上的细胞表面II类MHC,从而促进CD4+ T调节细胞的肽特异性活化。此外,IFN γ 激活巨噬细胞使其朝向促炎特性、抗肿瘤特性。

[0269] 另一方面,IL-6是一种由包括癌细胞的肿瘤微环境中的各种细胞释放的促炎性细胞因子。IL-6在肿瘤细胞的扩增和分化中起关键作用。已在几种癌症中证实血清和肿瘤部

位的IL-6水平升高。通常这种增加伴随着不良预后和较低的存活率。IL-6的下调与对癌症治疗的更好反应相关。

[0270] 实施例3-在晚期实体肿瘤受试者中作为单一疗法和与派姆单抗组合皮下施用的SEQ ID NO:1的融合蛋白的正在进行的1/2期研究。

[0271] SEQ ID NO:1的融合蛋白是环状序列重组的IL-2和IL-2受体 α (IL-2R α) 的融合蛋白,其设计为选择性激活中等亲和力IL-2R (由IL-2R β 和 γ 组成) 用于激活细胞毒性CD8 $^{+}$ T细胞和NK细胞。中等亲和力的IL-2R主要在效应淋巴细胞上表达,其在驱动抗肿瘤免疫反应中起重要作用。野生型IL-2激活由IL-2R α 、 β 和 γ 组成的高亲和力IL-2R,从而在低于携带中等亲和力IL-2R的效应细胞被激活的浓度下驱动免疫抑制性T_{reg}细胞的扩增。中等亲和力IL-2R的选择性激活具有增强肿瘤杀伤的潜力,并且在鼠模型中显示出相对于IL-2具有增强的抗肿瘤活性。

[0272] 缩略语和术语定义列表

缩略语或术语	完全的定义形式
AE	不良事件
CD	分化簇
CR	完全响应
CSA	临床研究协议
CTCAE	不良事件的通用术语标准
ctDNA	循环肿瘤 DNA
DCR	疾病控制率
DLT	剂量限制性毒性
DOR	反应持续时间
ECG	心电图
ECOG PS	东部肿瘤协作组行为状态
eCRF	电子病例报告表
GCP	良好临床规范
HCC	肝细胞癌
iBOR	免疫最佳总体反应
ICF	知情同意书
ICH	国际协调委员会
iCR	免疫完全反应
iDCR	免疫疾病控制率
iDOR	免疫反应持续时间
IEC	独立伦理委员会
IL	白细胞介素
IL-2R	白细胞介素 2 受体
iORR	免疫总体反应率
IPFS	免疫无进展生存期
iPR	免疫部分反应
IRB	机构审查委员会

[0273]

iRECIST	实体肿瘤的免疫反应评估标准
iSD	免疫稳定疾病
iTTR	免疫反应时间
iUPD	免疫未证实进行性疾病

[0274]

[0275] 方案SEQ ID NO:1-

	缩略语或术语	完全定义形式
[0276]	IV	静脉内(地)
	MTD	最大耐受剂量
	NCI	国家癌症研究所
	NK	自然杀伤[细胞]
	NSCLC	非小细胞肺癌
	ORR	总体反应率
	PD	药效学
	PD-1	程序性死亡受体-1
	PD-L1	程序性死亡配体-1
	PFS	无进展生存期
	PK	药代动力学
	PR	部分反应
	q7d	每7天
	q21d	每21天
	RECIST	实体肿瘤的反应评估标准
	RP2D	推荐的2期剂量
	SAE	严重不良事件
	SAP	统计分析计划
	SC	皮下(地)
	SCCHN	头颈部鳞状细胞癌
	SCLC	小细胞肺癌
	SD	稳定的疾病
	SRC	安全性审查委员会
	TEAE	治疗出现的不良事件
	TIL	肿瘤浸润淋巴细胞
	TME	肿瘤微环境
[0277]	Tregs	T调节细胞
	TTR	反应的时间
	ULN	正常上限
	USPI	美国处方信息
	WHO-ATC	世界卫生组织-解剖治疗化学(分类系统)
	WOCBP	有生育能力的妇女

[0278] 整体研究设计和计划

[0279] 这是一项正在进行的1/2期研究。该研究分两个阶段进行：第1阶段是剂量递增阶段，以SC SEQ ID NO:1的多个递增剂量作为导入单药治疗，然后与派姆单抗组合。阶段2是

剂量扩展阶段,其中SC SEQ ID N0:1以RP2D(从阶段1确定)与派姆单抗组合施用。

[0280] 阶段2将基于4种特定肿瘤类型和1种特定肿瘤组织学将受试者纳入5个群组中的1个中。受试者可以保持研究治疗直到确认疾病进展、对皮下SEQ ID N0:1不耐受、被研究者移除、受试者请求或任何其他研究中止标准。至少,只要受试者获得临床益处,受试者就有资格接受研究方案的治疗。

[0281] 阶段1剂量递增

[0282] 确定了SEQ ID N0:1的血清PK和抗SEQ ID N0:1抗体的存在。此外,在整个研究过程中,基于对血液中循环CD8⁺ T细胞、T_{reg} 和NK细胞以及某些细胞因子的血清水平的测量评估了SEQ ID N0:1的PD效果。安全性评估基于AE、生命体征、临床实验室测试和心电图。使用NCI CTCAE 5.0版评估AE的严重程度。

[0283] 在阶段1中,在21天的筛选窗口后,受试者进入6周的单一疗法导入期。受试者在2种不同给药方案(q7d和q21d)之一中用皮下SEQ ID N0:1治疗。在6周的单一疗法导入治疗后,如果受试者耐受SEQ ID N0:1,则将每3周派姆单抗200mg的治疗添加到正在进行的皮下SEQ ID N0:1方案中。接受皮下SEQ ID N0:1和派姆单抗组合治疗的受试者将继续接受研究方案的治疗,只要受试者获得临床益处或直到出现治疗中止或研究中止的任何其他标准。

[0284] 单一疗法起始剂量和方案为0.3mg q7d(群组1)。由于在前3名可评估受试者中未观察到DLT,或在前6名可评估受试者中观察到不超过1次DLT,开始招募群组A2(1.0mg q7d)和群组B2(1.0mg q21d)。

[0285] 从受试者进行入组群组A2和B2时开始,2个给药方案群组轨迹(即,q7d和q21d)的入组将独立进行。如上所述,仅在该轨迹中的先前剂量已被确定为充分可耐受之后,才发生沿群组轨迹的剂量递增。

[0286] 将使用3+3研究设计评估每个群组的安全性和耐受性,允许4至7名受试者超额入组和每群组最少3名可评估受试者接受指定剂量和时间表的皮下SEQ ID N0:1。最高剂量水平群组(q7d或q21d)将招募多达6至7名受试者。

[0287] 如图3所示,后续群组中的剂量将递增至30mg/注射,或直到确定RP2D或达到最大耐受剂量(MTD)。实施例4中提供了剂量递增至每皮下剂量3mg的数据。

[0288] 剂量限制性毒性定义为在皮下SEQ ID N0:1导入单一治疗的前28天内观察到的可能、或许或肯定与皮下SEQ ID N0:1相关的任何以下事件:

[0289] • 4级中性粒细胞计数降低(中性粒细胞减少症),其在下一安排剂量前未恢复到2级(≥ 1000 个细胞/ mm^3)或需要紧急干预(例如,使用造血集落刺激因子)或与有临床意义的感染有关。在没有紧急干预或临床显著感染的情况下,在当前周期中皮下SEQ ID N0:1的给药不会因中性粒细胞减少而停止。

[0290] • 发热性中性粒细胞减少症(绝对中性粒细胞计数[ANC]<1000个细胞/ mm^3 ,温度 $>38.3^\circ\text{C}$ [101°F]),其持续超过48小时或需要紧急干预(例如,使用造血集落刺激因子)或与有临床意义的感染有关。

[0291] • 4级血小板减少症,其在下一剂量前未恢复至 ≤ 2 级。

[0292] • 血小板计数 $<30,000$ 的血小板减少症,伴临床显著出血。

[0293] • 任何3级心脏或中枢神经系统毒性。

[0294] • 肝转氨酶升高高于 $8 \times \text{ULN}$ 或总胆红素高于 $6 \times \text{ULN}$,其在1周内未恢复至 ≤ 2 级或

基线。

- [0295] • 4级低白蛋白血症。
- [0296] • 发热>40°C持续>24小时,与正进行的感染无关。
- [0297] • 需要使用升压药(例如,为了增加血压而施用的苯肾上腺素或多巴胺)的低血压或因需要医疗干预的低血压而延长住院时间(>48小时)。
- [0298] • 符合以下标准的淀粉酶或脂肪酶增加。
- [0299] • >3×ULN伴有急性严重腹痛(3级的其他轻微症状将不被视为DLT)。
- [0300] • 3级或更高级别的恶心、呕吐或腹泻持续超过48小时,尽管进行了最大程度的支持治疗。
- [0301] • 任何其他4级非血液学毒性或任何其他3级非血液学毒性,其在96小时内未消退至≤2级,除疲劳或厌食外。疲劳或厌食症不被视为DLT。
- [0302] • 上述未定义的任何其他毒性或AE,其导致研究者将受试者从研究中移除或永久停止给药(第2周期或之后的剂量延迟不被视为DLT)。
- [0303] 任何符合上述DLT标准的实验室值都必须通过第二结果来确认符合DLT标准。
- [0304] 基于对PK、PD、初步抗肿瘤活性和安全性数据(包括最初4周DLT观察期后观察到的AE)的解释,将选择皮下SEQ ID NO:1治疗的单剂量水平(即mg/注射)和给药时间表(即q7d或q21d)用于在研究的扩展阶段(即RP2D)与派姆单抗组合进行进一步评估。RP2D将等于或小于MTD。
- [0305] 如果在建议的剂量范围内未达到RP2D,将考虑额外的剂量递增,并将通过方案修订将其添加到研究中。可以评估剂量水平低于DLT水平的其他组群以确定每个给药时间表(即q7d和q21d)的MTD。在任何剂量递增之前,已招募受试者参加研究的主要研究者、赞助者的医学监察员和赞助者的某些其他代表(安全审查委员会[SRC])将审查来自当前群组的安全性数据,并决定是否需要剂量递增。
- [0306] 如果给药时间表群组轨迹(即q7d或q21d)之一显示出优异的耐受性、抗肿瘤活性和/或PD反应,则将停止另一个给药时间表的剂量递增。
- [0307] 如果受试者满足特定标准,则可以允许参与研究阶段1的个体受试者增加他/她的剂量(即受试者内剂量递增)。这种递增将受试者的剂量增加到方案定义的剂量水平,该剂量水平是比受试者当前的剂量水平高的一个水平。
- [0308] 如果对于该群组未达到可评估的最小数量,在DLT评估期间接受的少于方案规定的剂量数(即,对于q7d少于4个或对于q21d方案少于2个)的没有DLT的受试者将以相同的剂量水平替换。但是,如果研究者感觉风险/利益比是可接受的,则受试者可以保留在研究中。
- [0309] 在最初的4周DLT观察期之后,将继续密切监测安全性和耐受性。符合DLT标准但在受试者的DLT观察期后出现的不良事件可由SRC审查,并可能导致决定在单一疗法导入阶段停止进一步剂量增加和/或在组合阶段递送剂量。
- [0310] 一旦定义了MTD/RP2D,就可以在开始阶段2之前增加安全扩展群组。从第1周期第1天开始,可以治疗多达12名额外的受试者以评估SEQ ID NO:1和派姆单抗的组合。这个MTD/RP2D扩展群组的目的是描述组合方案的安全性和耐受性,并在将受试者纳入阶段2扩展群组之前确认RP2D。如果在MTD扩展群组中治疗的大约三分之一或更多的受试者经历了DLT,或者如果综合群组评估需要,则可以评估较低的剂量水平。

[0311] 在群组中的最后一名患者完成28天的DLT观察期后,赞助者和临床研究组织的医学监测员和研究员将开会审查所有可用的安全性数据。根据该审查,可以对一种或两种给药时间表(q7d或q21d)采取任何以下行动以获得额外的安全性数据:

- [0312] • 根据方案定义暂停或继续剂量递增
- [0313] • 在一种或两种给药时间表中扩展当前剂量水平
- [0314] • 递减至低于起始剂量水平的剂量(例如0.1mg或0.2mg)
- [0315] • 探索介于当前剂量和先前剂量水平之间的剂量
- [0316] • 探索介于当前剂量和方案中定义的下一个更高剂量水平之间的剂量。
- [0317] 在剂量递增结束时,将根据安全性审查委员会对可用数据的审查,选择q7d或q21d时间表作为继续的时间表。

[0318] 阶段2剂量扩展

[0319] 在阶段2中,在21天的筛选窗口后,具有以下肿瘤类型和特定组织学的受试者将被纳入以下群组:

- [0320] • NSCLC
- [0321] • SCCHN
- [0322] • 不可知鳞状肿瘤(Squamous tumor agnostic)
- [0323] • HCC
- [0324] • SCLC。

[0325] 受试者接受与每3周200mg的派姆单抗组合的RP2D和皮下SEQ ID N0:1的阶段1中确定的推荐给药方案的治疗(接受皮下SEQ ID N0:1和派姆单抗组合治疗的受试者继续接受研究方案的治疗,只要受试者获得临床益处)。

[0326] 研究药物剂量和施用

[0327] 场所必须有现场书面程序,其详细说明在受试者给药期间需要在现场的医护人员、治疗紧急情况(如果发生)所需的设备和药物的可用性以及必要时将受试者转移到医疗机构的过程。应备有紧急复苏设备。

[0328] SEQ ID N0:1给药和施用

[0329] 在阶段1的单一疗法导入期间,SEQ ID N0:1方案由皮下SEQ ID N0:1的1个治疗日组成,q7d(±1天)或q21d(±1天)。在阶段1或2的组合治疗期间,所有治疗周期为每3周。对于q7d给药时间表,皮下SEQ ID N0:1将在每个周期的第1、8和15天以窗口(±1天)施用,且派姆单抗在每个周期的第1天(±1天)施用。对于q21d给药时间表,皮下SEQ ID N0:1和派姆单抗在每个q3w周期的第1天(±3天)施用;然而,皮下SEQ ID N0:1给药必须与派姆单抗保持一致。

[0330] SEQ ID N0:1通过皮下注射q7d和q21d施用,从而持续,只要受试者获得临床益处。注射部位的位置包括手臂后部、大腿或腹部。

[0331] 在单一疗法导入期的第1天,需要在皮下SEQ ID N0:1注射后的8小时的观察期。在随后的注射过程中,受试者可观察较少时间。

[0332] 在阶段1或2中,在皮下SEQ ID N0:1与派姆单抗组合施用的日子,SEQ ID N0:1应在派姆单抗输注前60至90分钟皮下注射施用。在施用派姆单抗之前,监测受试者对SEQ ID N0:1的潜在急性反应至少1小时。

[0333] 派姆单抗单抗给药和施用

[0334] 根据处方信息 (Keytruda USPI) , 派姆单抗作为静脉输注超过30分钟, 以200mg剂量每3周施用, 只要受试者获得临床益处(即客观反应或稳定的疾病[SD])。派姆单抗作为冻干粉或溶液的单剂量小瓶提供。

[0335] 输注和注射部位反应

[0336] 通过皮下注射施用的SEQ ID N0:1可能与局部注射部位反应有关。注射部位反应应由研究者酌情处理。经历3级注射部位反应的受试者可在咨询医学监测员后再次接受皮下SEQ ID N0:1的挑战。4级注射部位反应不应再次使用皮下SEQ ID N0:1挑战。

[0337] 与使用派姆单抗相关的输液相关反应应根据派姆单抗 (Keytruda USPI) 的处方信息进行管理。SEQ ID N0:1药物产品以2mg、10mg和30mg单剂量小瓶提供, 当重构时, 其分别产生1mg/mL、5mg/mL和15mg/mL的SEQ ID N0:1的澄清、无色溶液。

[0338] SEQ ID N0:1以无菌、白色至灰白色、冻干粉末的形式提供, 并与用于重构的无菌0.32%氯化钠稀释剂 (SC盐水稀释剂) 分开提供。

[0339] 在阶段1皮下SEQ ID N0:1单一疗法导入期完成后, 如果受试者耐受治疗, 添加派姆单抗。派姆单抗在30分钟内以200mg剂量每3周静脉输注施用。派姆单抗还在阶段2与皮下SEQ ID N0:1一起施用。派姆单抗在研究地点的药房从商业供应获得, 或在派姆单抗尚未获得批准的国家由赞助商提供。使用说明分发给研究中心, 并提供详细的剂量准备、处理和施用说明。

[0340] 功效评估

[0341] 主要功效终点

[0342] 在阶段2中, 根据RECIST确定5个群组 (NSCLC、SCCHN、不可知鳞状肿瘤、HCC和SCLC) 中的每一个的ORR。

[0343] 次要功效终点

[0344] 肿瘤评估

[0345] 抗肿瘤活性通过在基线时和大约每9周(第10周期后, 应减少到每12周)测量肿瘤疾病的程度来确定。应进行适当的放射学程序(计算机断层扫描、磁共振成像和放射性核素成像)来评估肿瘤疾病的区域。用卡尺测量浅表皮肤肿瘤并拍照以进行评估。要求在整个研究过程中保持初始测量方法。反应的确定根据标准的RECIST标准以及iRECIST进行。肿瘤被评估为完全反应(CR) / 免疫CR(iCR)、部分反应(PR) / 免疫PR(iPR)、SD/免疫SD(iSD)或进行性疾病/免疫进行性疾病(iPD)。请参阅RECIST和iRECIST指南中对于这些肿瘤评估中每一种的定义。出于本研究的目的, 受试者必须符合SD/iSD的定义至少12周, 然后才能确定SD/iSD的评估。

[0346] 在使用免疫治疗剂的研究中, CR、PR或SD可能要等到按照RECIST标准鉴定为疾病进展的肿瘤负荷增加后才会出现。等常规反应标准如RECIST可能无法充分评估免疫治疗剂的活性。放射学评估的进展性疾病可能并不意味着治疗失败, 因为对免疫治疗的反应可能发生在常规PD之后。与细胞毒疗法相比, 免疫疗法中出现可测量的抗肿瘤活性可能需要更长的时间。

[0347] 对于免疫治疗剂, 应允许临幊上不显著的疾病进展, 定义为存在其他反应性病灶的情况下小的新病灶, 即使受试者对免疫治疗有反应, 这也可能发生。稳定的疾病也可能代

表iRECIST的抗肿瘤活性。因此,RECIST和iRECIST用于确保对皮下SEQ ID NO:1的肿瘤反应进行更全面的评估。

[0348] 抗肿瘤活性基于RECIST和iRECIST表示为ORR或免疫ORR (iORR)。所有目标和非目标病灶都通过放射照相或使用照片来测量浅表皮肤肿瘤。确定总体肿瘤反应率。ORR/iORR是表现出CR/iCR或PR或iPR的受试者数量除以可评估抗肿瘤活性的受试者数量。还确定响应的持续时间。在研究的剂量递增部分和研究的剂量扩展组合治疗阶段(阶段2)中,分别计算受试者的ORR/iORR。

[0349] PK、PD和免疫原性评估

[0350] 药代动力学

[0351] 在预定时间点获得用于评估皮下SEQ ID NO:1PK的血清样品。使用经过验证的电化学发光方法对人血清中的SEQ ID NO:1进行定量。进行非区室PK分析以估计SEQ ID NO:1的PK参数。在阶段2中计划的PK抽血期间获得的剩余血清PK样品可以在未来的日期分析派姆单抗浓度。

[0352] 免疫原性

[0353] 关于抗SEQ ID NO:1抗体存在的数据按照治疗群组/剂量水平进行总结。剩余的血清样品将被储存以供将来可能分析抗派姆单抗抗体诱导。

[0354] 药效学和生物标志物

[0355] 在从研究中的所有受试者收集的血液和血清样品中评估各种生物标志物的PD反应。还将从阶段2的受试者收集血浆样品以分离循环肿瘤DNA (ctDNA);这些10-mL样品在筛选、第1周期第8天给药前、第2周期第1天给药前、第3周期第1天给药前、治疗结束时以及在经历CR、PR或SD的受试者的进展时采集。可以对肿瘤组织样品进行另外的生物标志物分析,包括PD-L1表达。也从阶段2受试者收集的基线粪便样品分离DNA,并可用于相关性分析。

[0356] 基于血液的生物标志物

[0357] 在预定时间点从每个受试者获得用于评估皮下SEQ ID NO:1的PD效果的血液样品,如通过外周血中的循环CD8⁺ T细胞、T_{reg}和NK细胞所测量的。经验证的生物标志物测定用于测量外周血中循环CD8⁺ T细胞、T_{reg}和NK细胞的数量及活性。还评估免疫细胞上IL-2受体的表达。

[0358] 从血浆中分离的循环肿瘤DNA可进行遗传和表观遗传分析。此外,在预定时间点从每个受试者获得用于评估血清细胞因子水平的血清样品。使用经过验证的细胞因子分析试剂盒确定多种促炎性细胞因子的浓度,包括干扰素-γ、肿瘤坏死因子-α、IL-1、IL-6和IL-10。

[0359] 肿瘤组织生物标志物

[0360] 肿瘤活检

[0361] 通过活检收集新鲜肿瘤样品是任选的,但在研究期间鼓励使用。愿意接受活检的具有可及肿瘤的受试者应在筛选时(两个阶段)及单一疗法导入期的第29至33天期间(仅阶段1)和组合治疗期的第2周期第8至14天期间(两个阶段)在治疗的同时提供样品。通过免疫组织化学和/或免疫荧光分析这些样品的免疫激活标志物。它们也可用于使用如NanoString的方法进行基因表达分析。治疗时与基线结果的比较可用于证明对肿瘤微环境的药理学影响。基线肿瘤组织的分析用于相关性分析。有关肿瘤样品操作和处理信息,请参

阅实验室手册。

[0362] 实施例4: I期剂量递增研究的结果

[0363] 如实施例3中所讨论的,获得了从剂量递增到q7d和q21d施用的至多3mg的剂量的初始结果,其中3mg群组包括2个个体,其中多达7个个体目前正在招募。得到的数据包括图13-17所示的数据。

[0364] SEQ ID NO:1在皮下(SC)施用后的药代动力学

[0365] SEQ ID NO:1的第一皮下剂量(单一疗法导入周期1第1天)后的SEQ ID NO:1血清浓度-时间曲线如图13所示。SEQ ID NO:1在0.3mg至3mg剂量范围内的平均峰值(C_{max})和总血清暴露(AUC_{last})显示在图14中。在单一皮下剂量的SEQ ID NO:1之后,3mg剂量在给药后8至24小时之间达到峰值血清SEQ ID NO:1浓度,然后以可测量的浓度缓慢下降直至给药后168小时(7天)。对SEQ ID NO:1的全身暴露(C_{max} 和 AUC_{last})随着剂量的增加而提高。在0.3mg至3mg的剂量范围内, C_{max} 的增加大致与剂量成比例,并且 AUC_{last} 的增加大于剂量比例。

[0366] 皮下施用后SEQ ID NO:1的药效学作用

[0367] 每7天一次(Q7D)或每21天一次(Q21D)SC施用SEQ ID NO:1后外周血中总NK细胞、总CD8⁺ T细胞和调节性T细胞(T_{reg})的细胞群体的时间进程如图15所示。图16描绘了总NK细胞、总CD8⁺ T细胞和 T_{reg} 相对于基线的相应倍数变化。

[0368] SEQ ID NO:1诱导循环NK和CD8⁺ T细胞的剂量依赖性增加,而对 T_{reg} 具有最小的影响。

[0369] 在第一皮下剂量的SEQ ID NO:1(单一疗法导入周期1第1天)后,干扰素 γ (IFN γ)和IL-6的血清浓度-时间曲线如图17所示。

[0370] 皮下给药后观察到血清IFN γ 和IL-6浓度的短暂升高,在3mg下更明显。在给药后24小时观察到峰值IFN γ 和IL-6浓度,并在给药后72小时恢复至基线水平。如实施例2中所讨论的,IFN γ 是具有所需的抗肿瘤和免疫调节特性的多效细胞因子。另一方面,IL-6是一种由包括癌细胞的肿瘤微环境中的各种细胞释放的促炎性细胞因子。IL-6的下调与对癌症治疗的更好反应相关。

[0371] 本文提及的专利和科学文献确立了本领域技术人员可获得的知识。本文引用的所有美国专利和已公开或未公开的美国专利申请均以引用的方式并入本文。本文引用的所有公开的外国专利和专利申请均通过引用并入本文。本文引用的所有其他已发表的参考文献、文件、手稿和科学文献均通过引用并入本文。

[0372] 虽然本发明已参照其优选实施例进行了具体展示和描述,但本领域技术人员将理解,在不背离所附权利要求所涵盖的本发明范围的情况下,可以对其中的形式和细节进行各种改变。还应该理解,这里描述的实施例不是相互排斥的,并且来自各种实施例的特征可以根据本发明全部或部分组合。

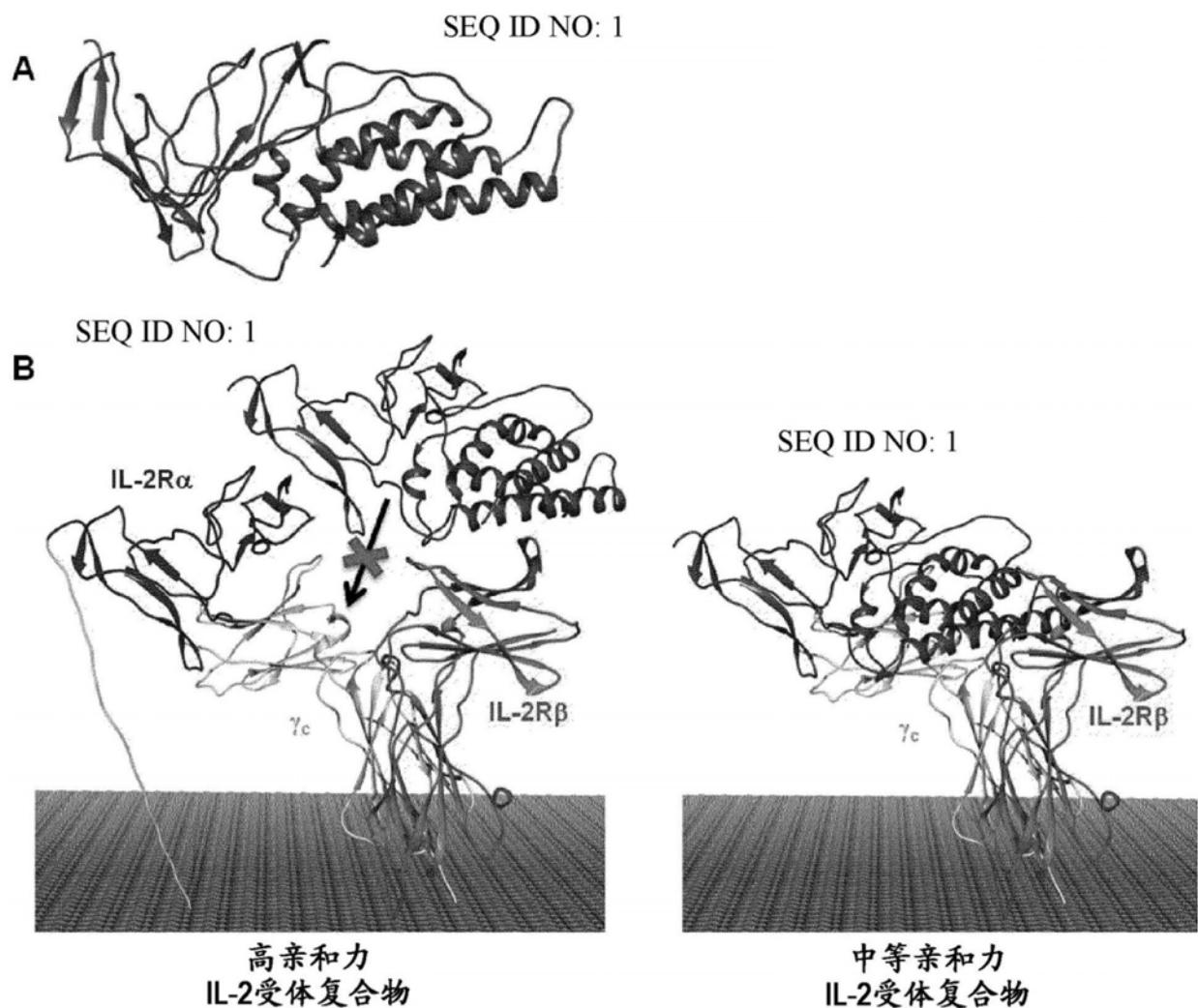


图1

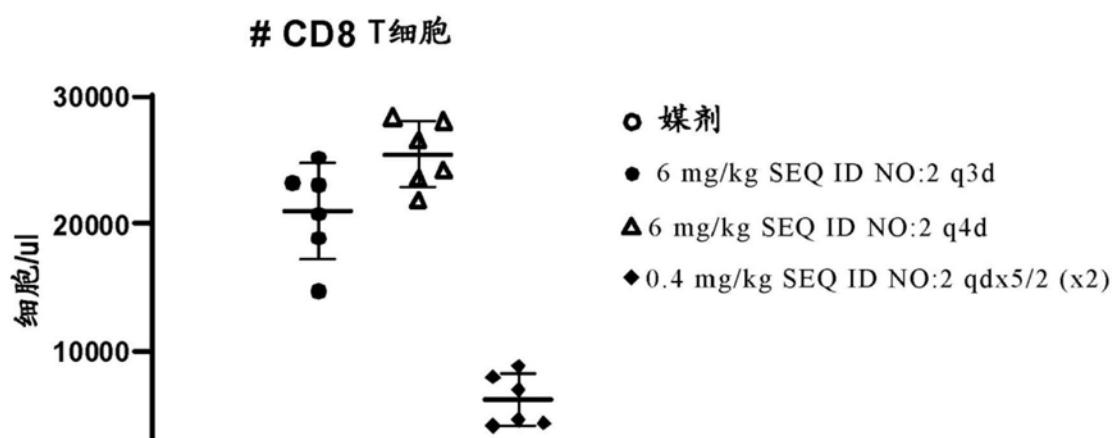


图2

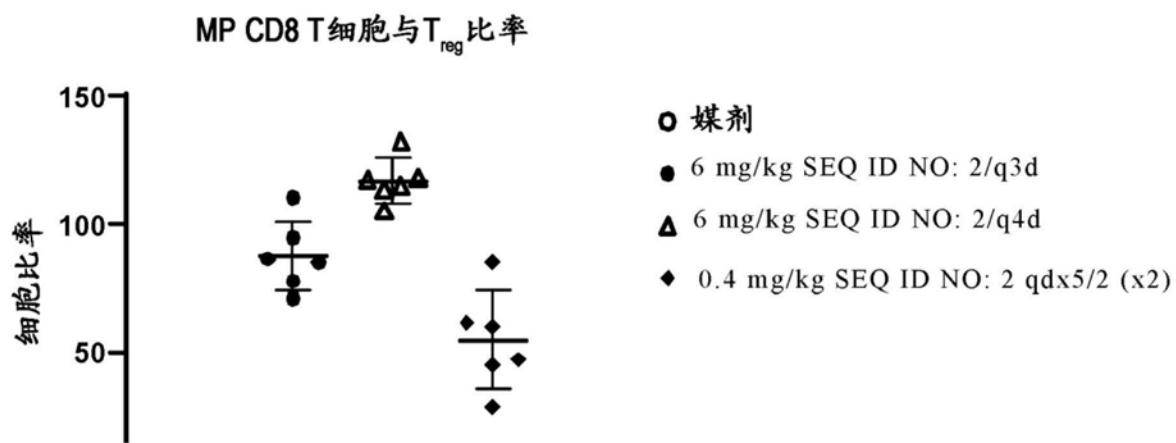


图3

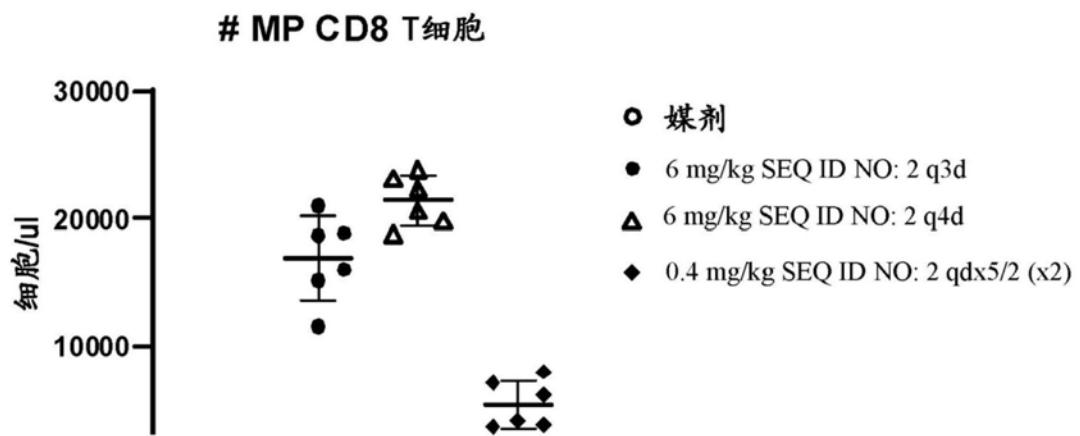


图4

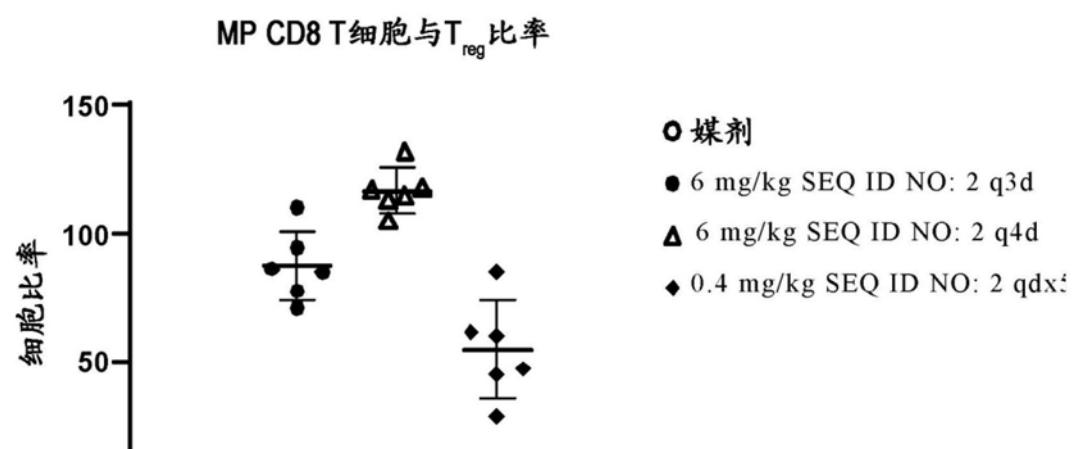


图5

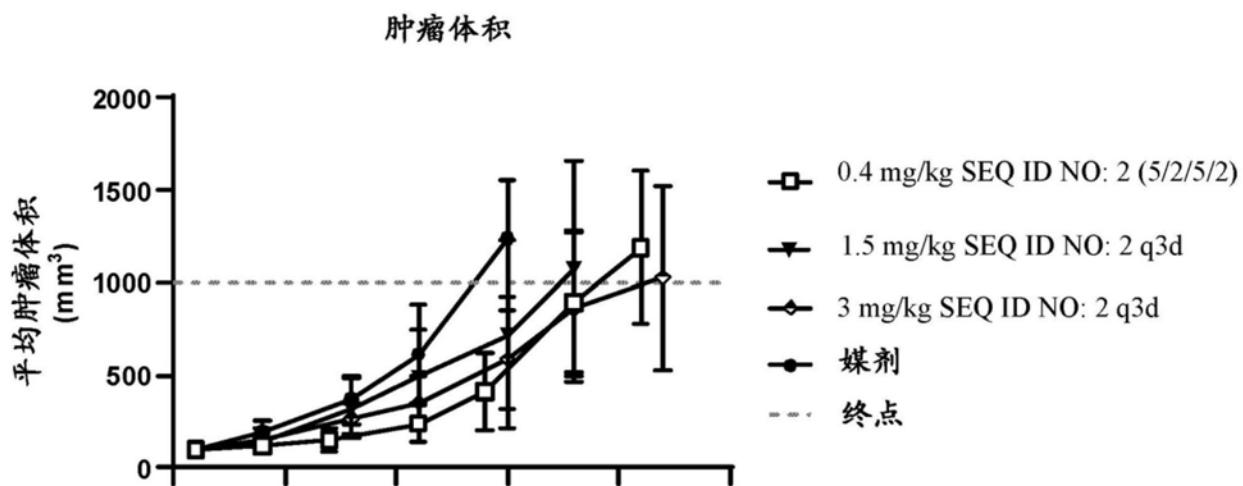


图6A

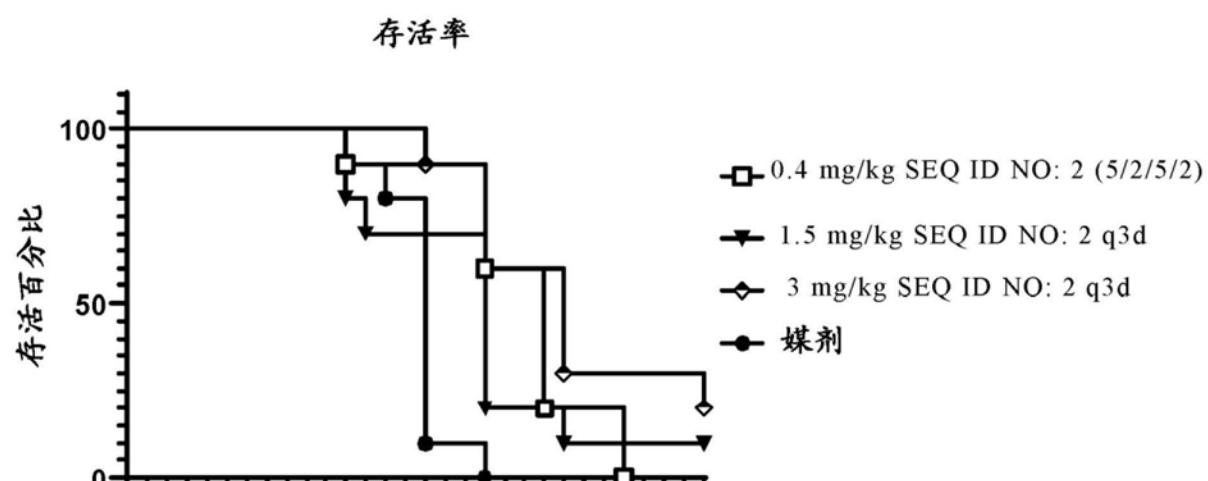


图6B

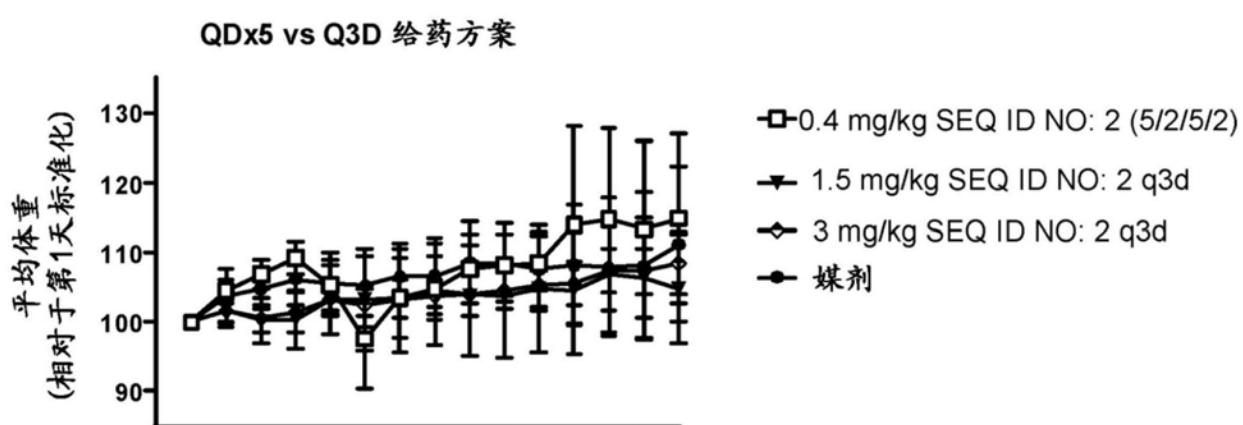


图7

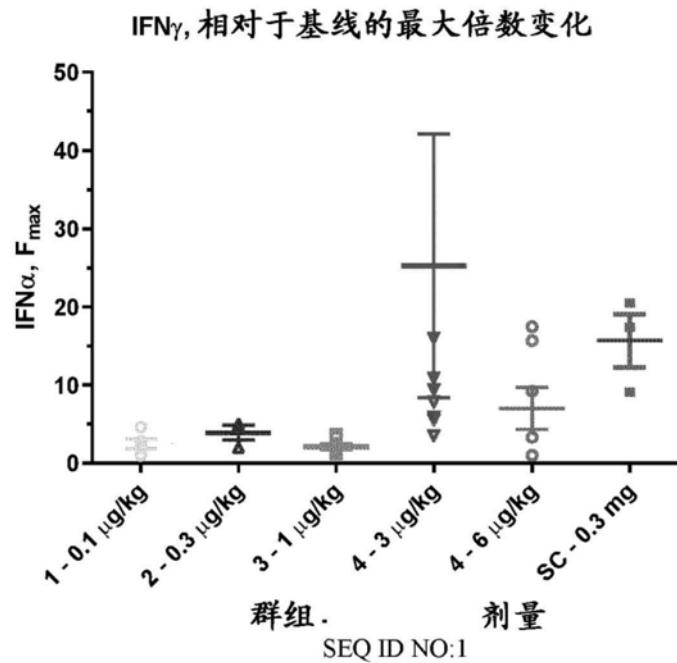


图8

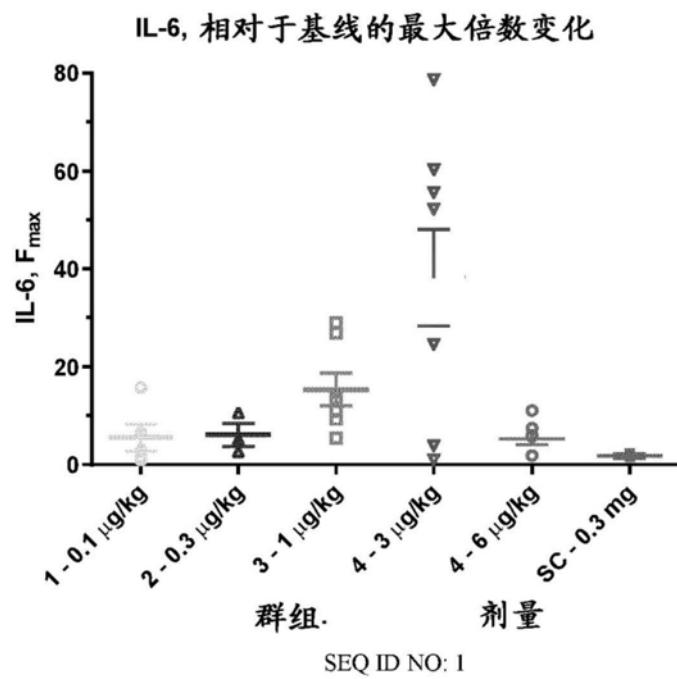


图9

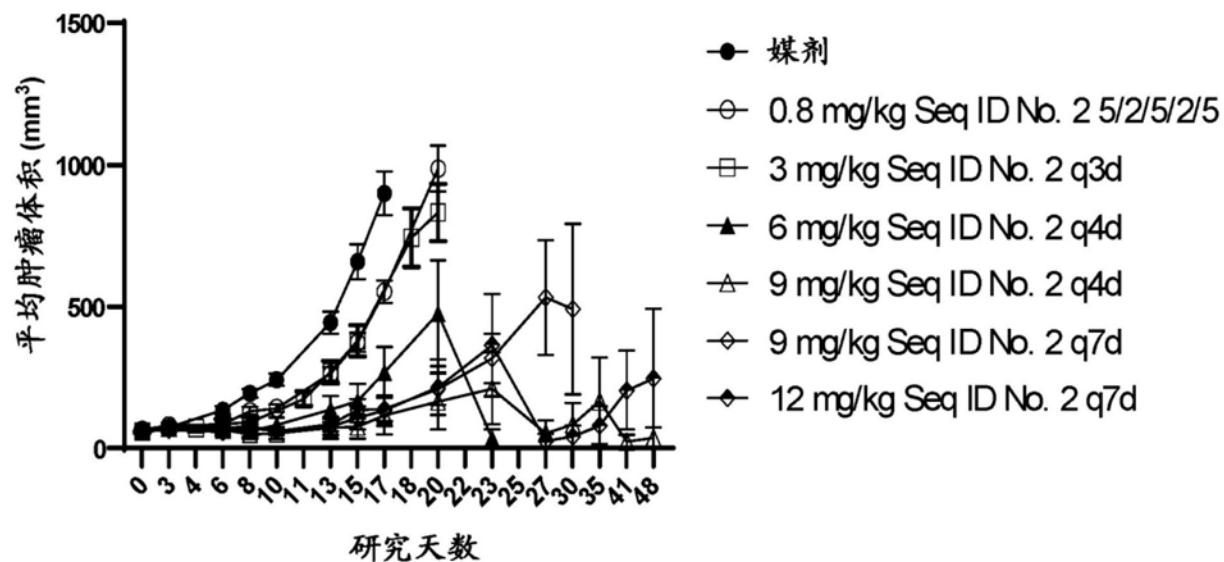


图10

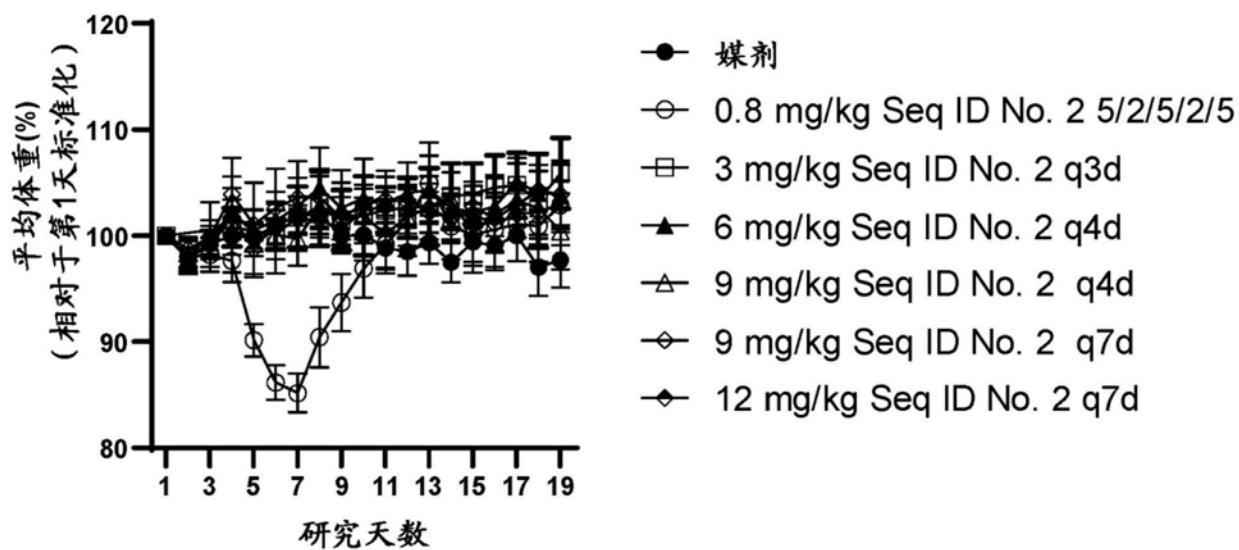


图11

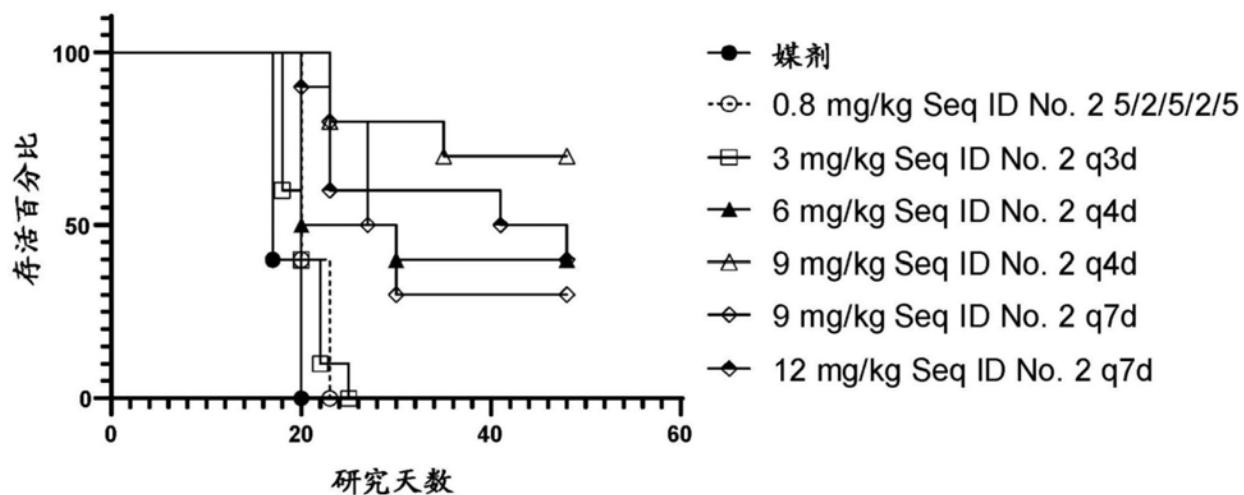


图12

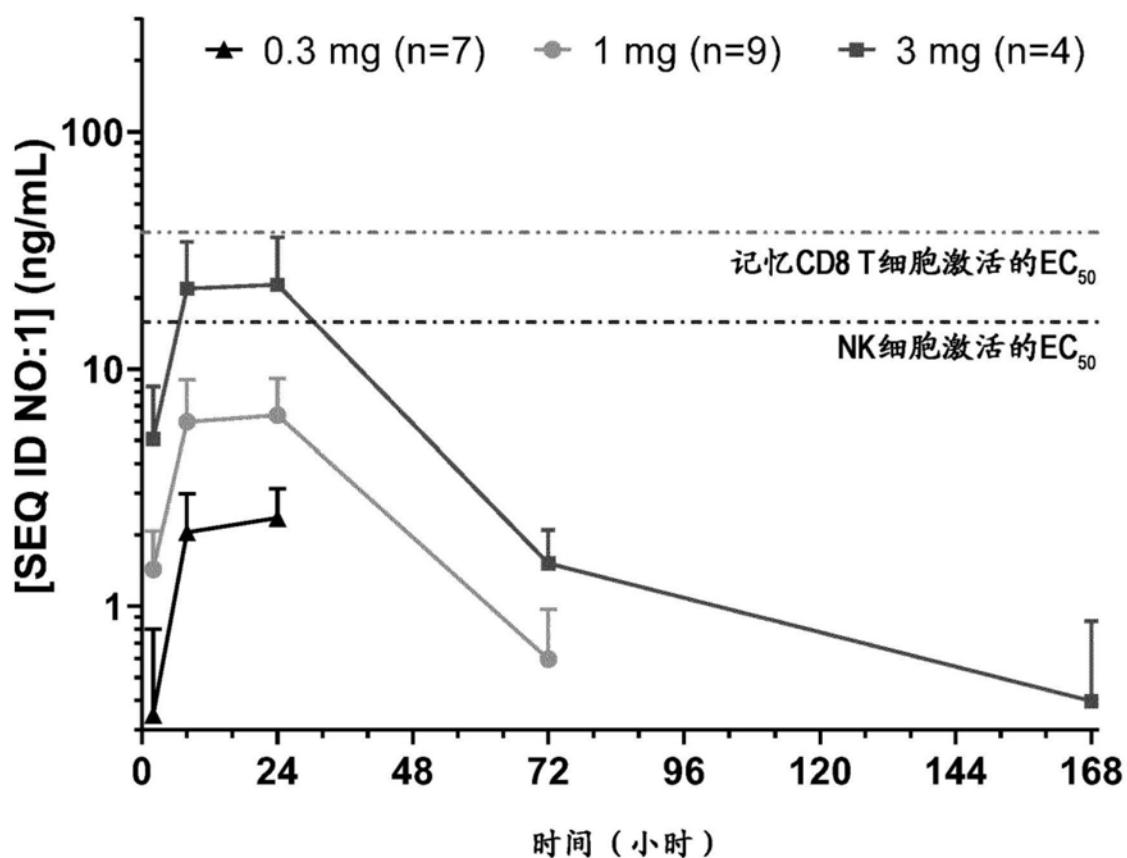


图13

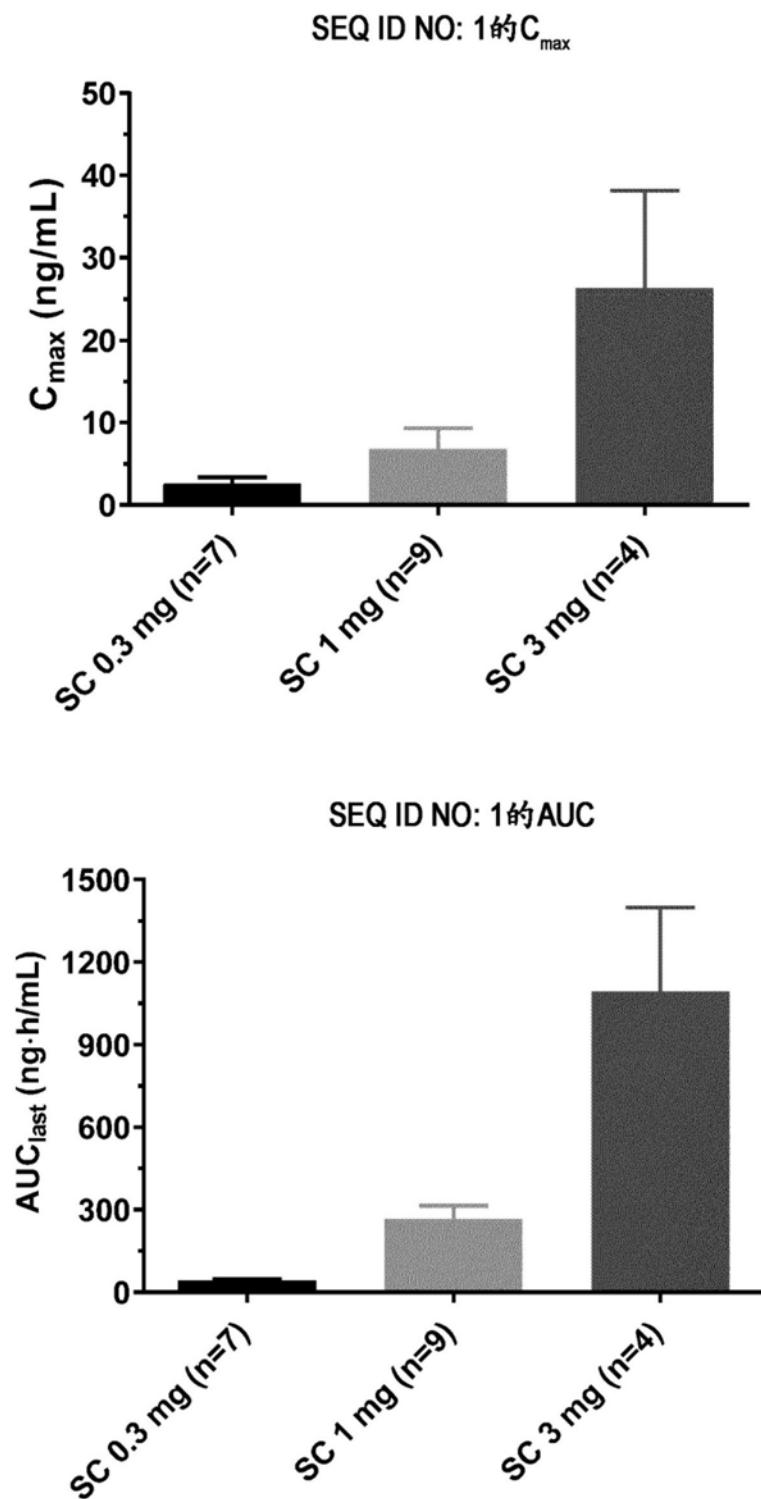


图14

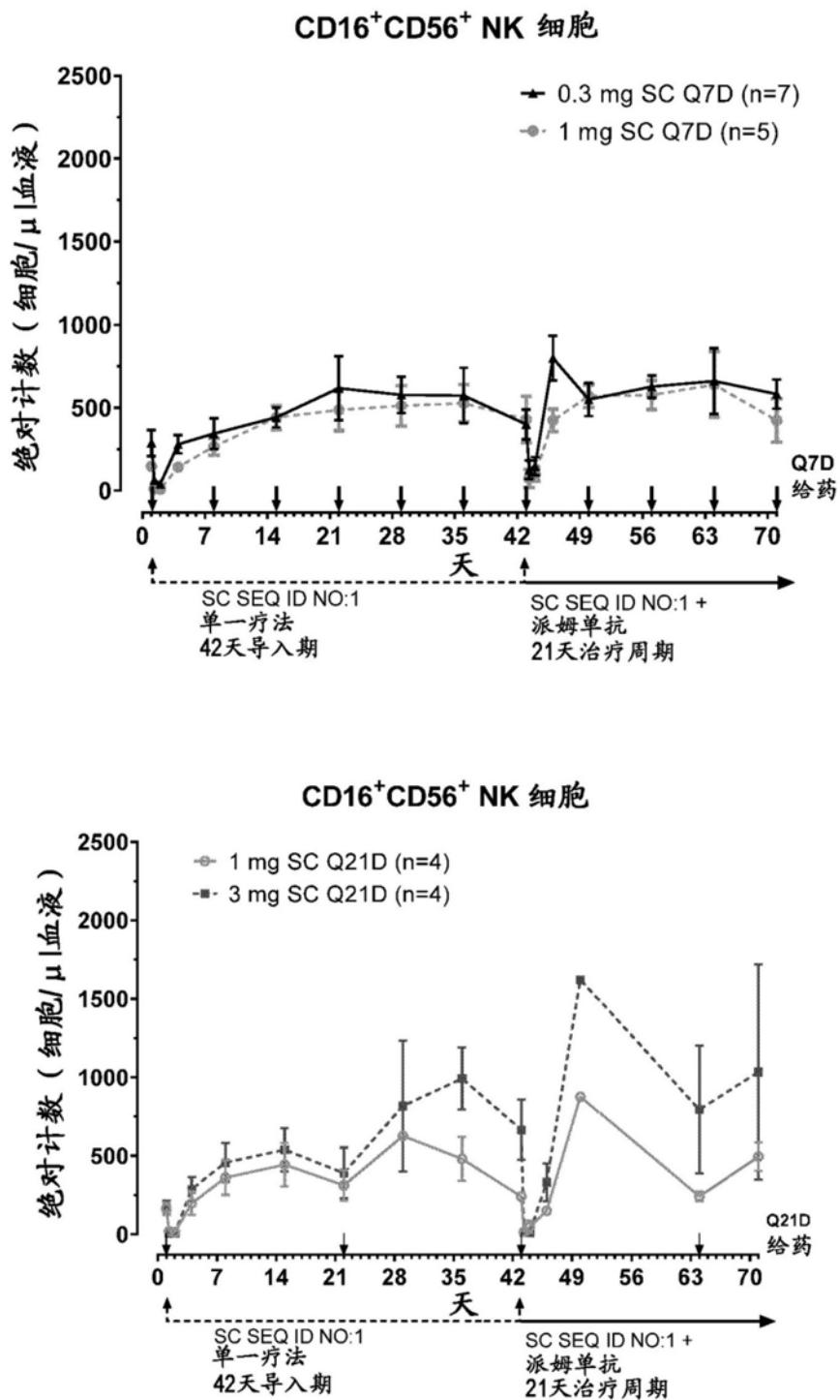


图15

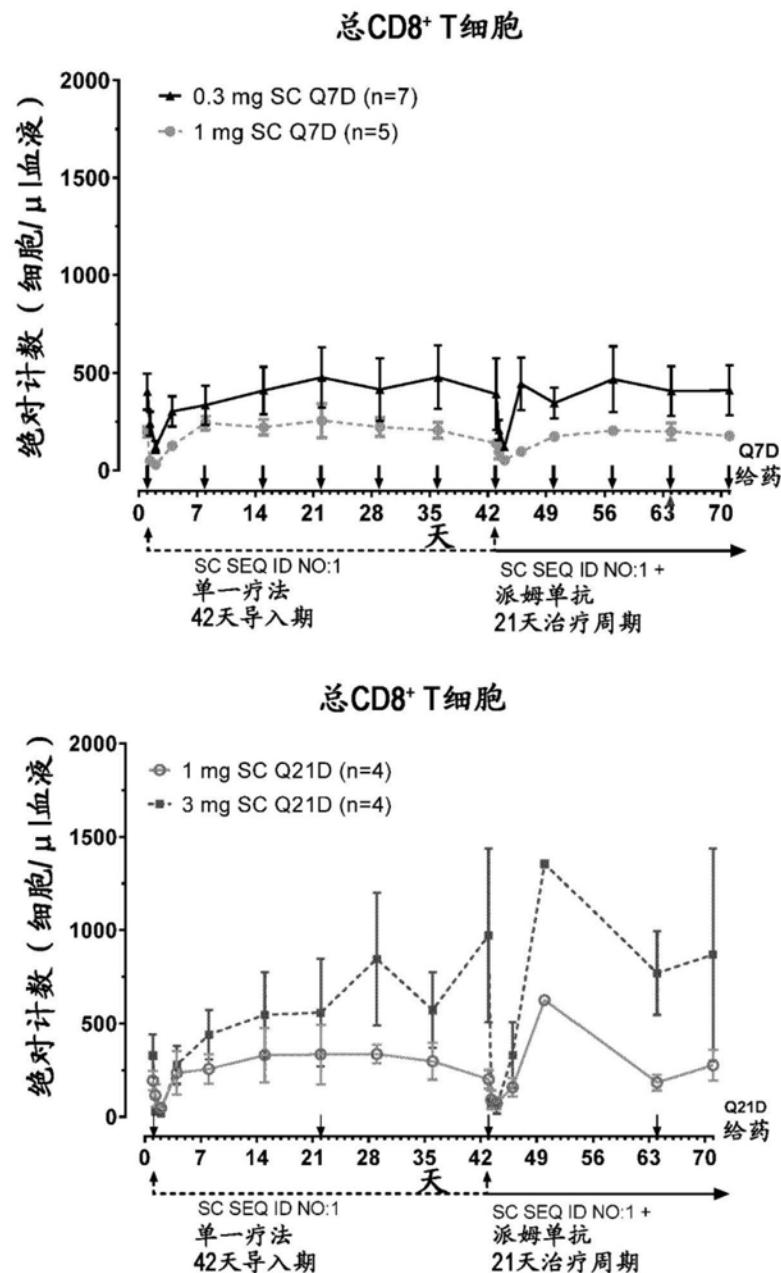


图15 (续)

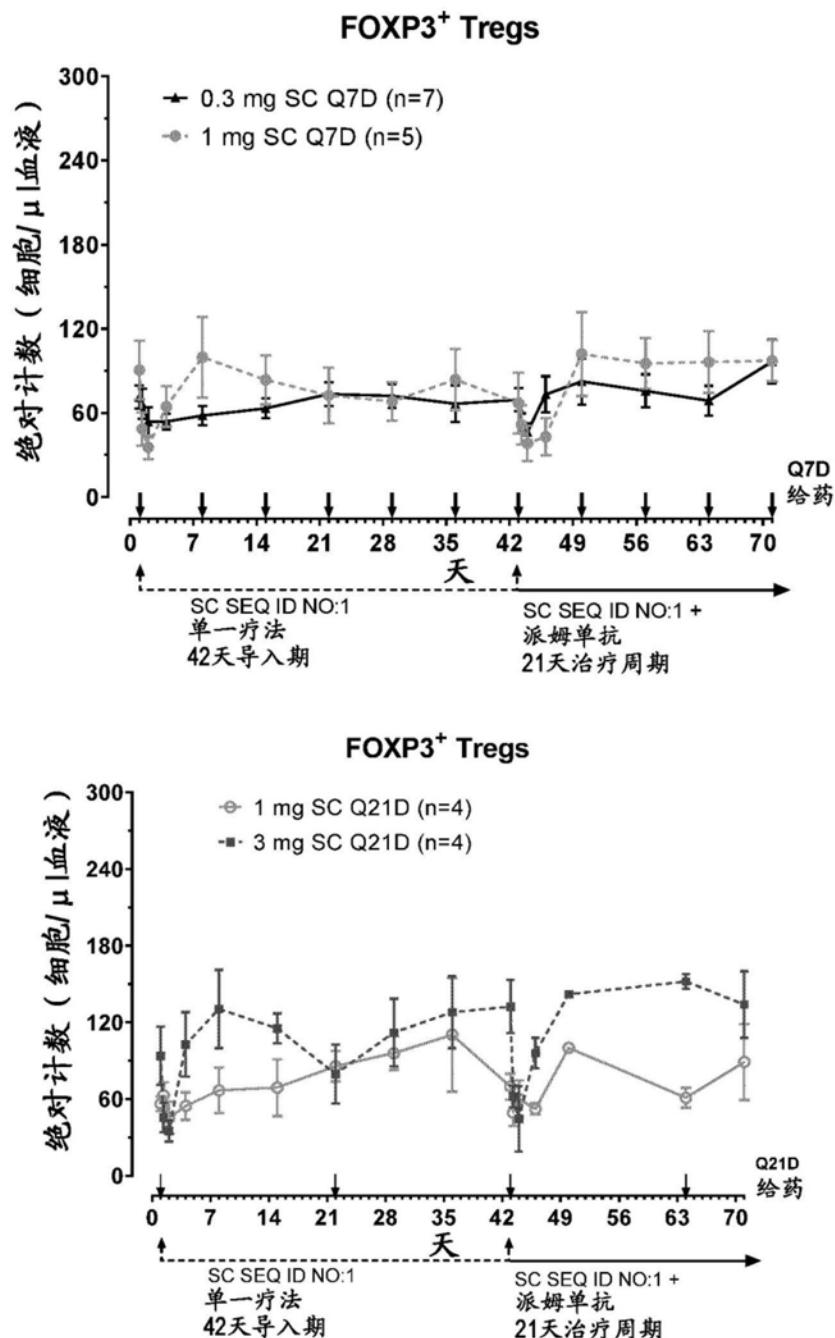


图15 (续)

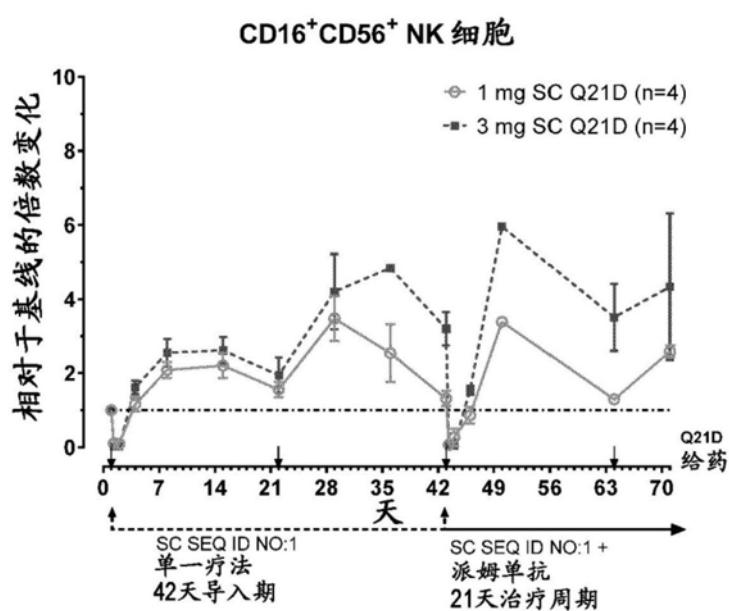
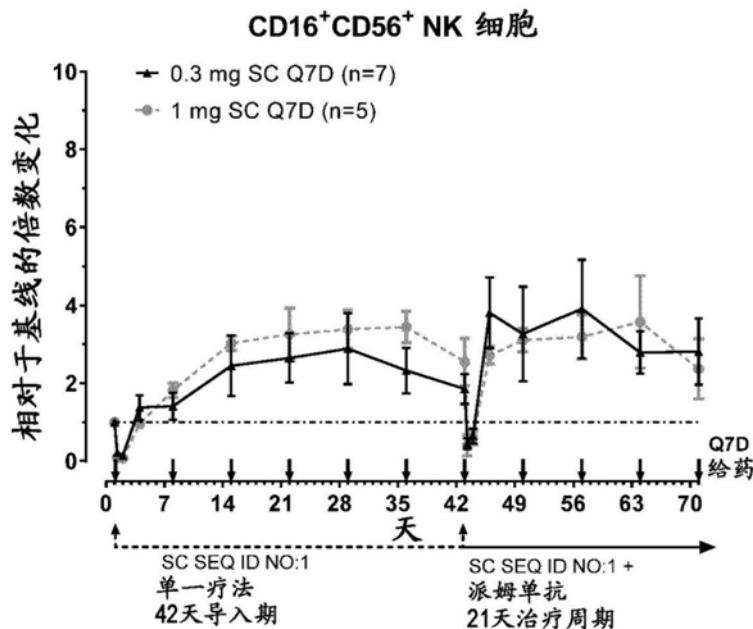


图16

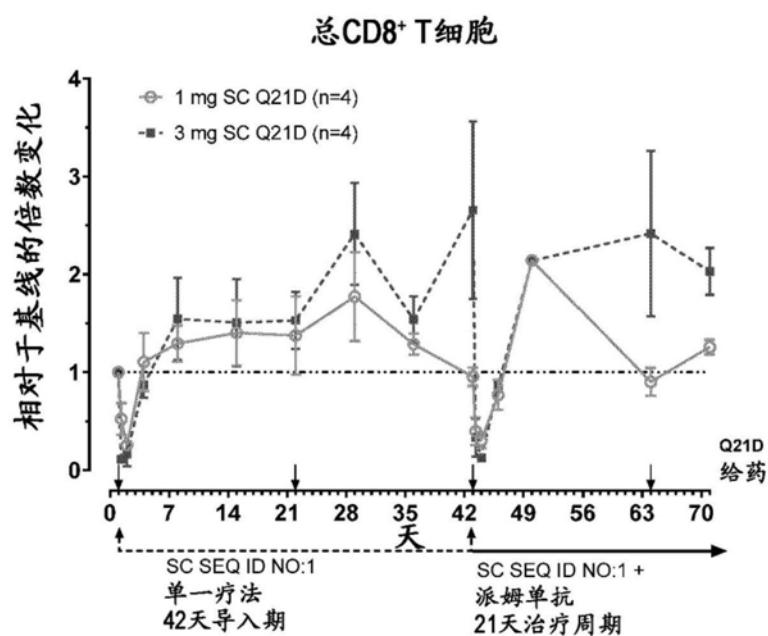
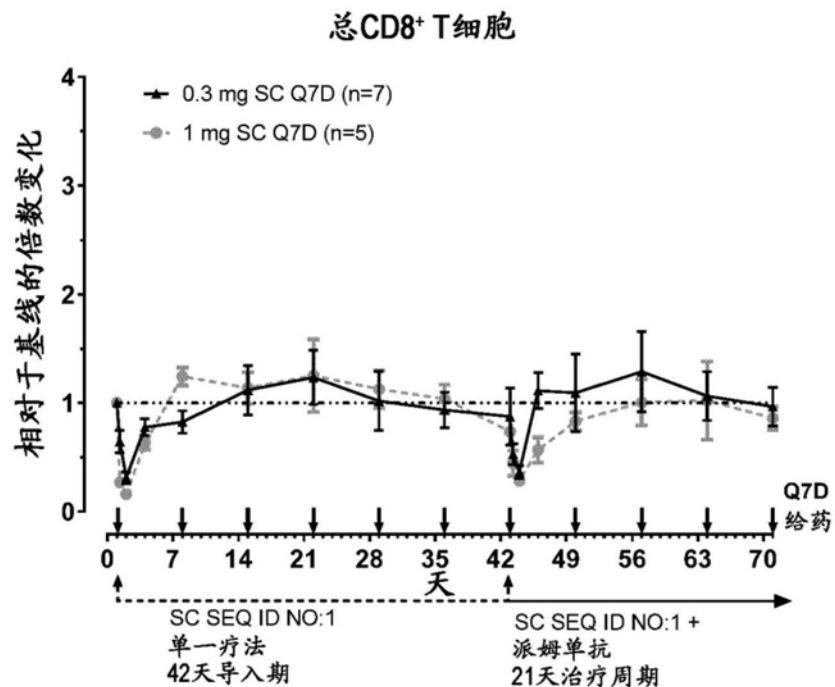


图16 (续)

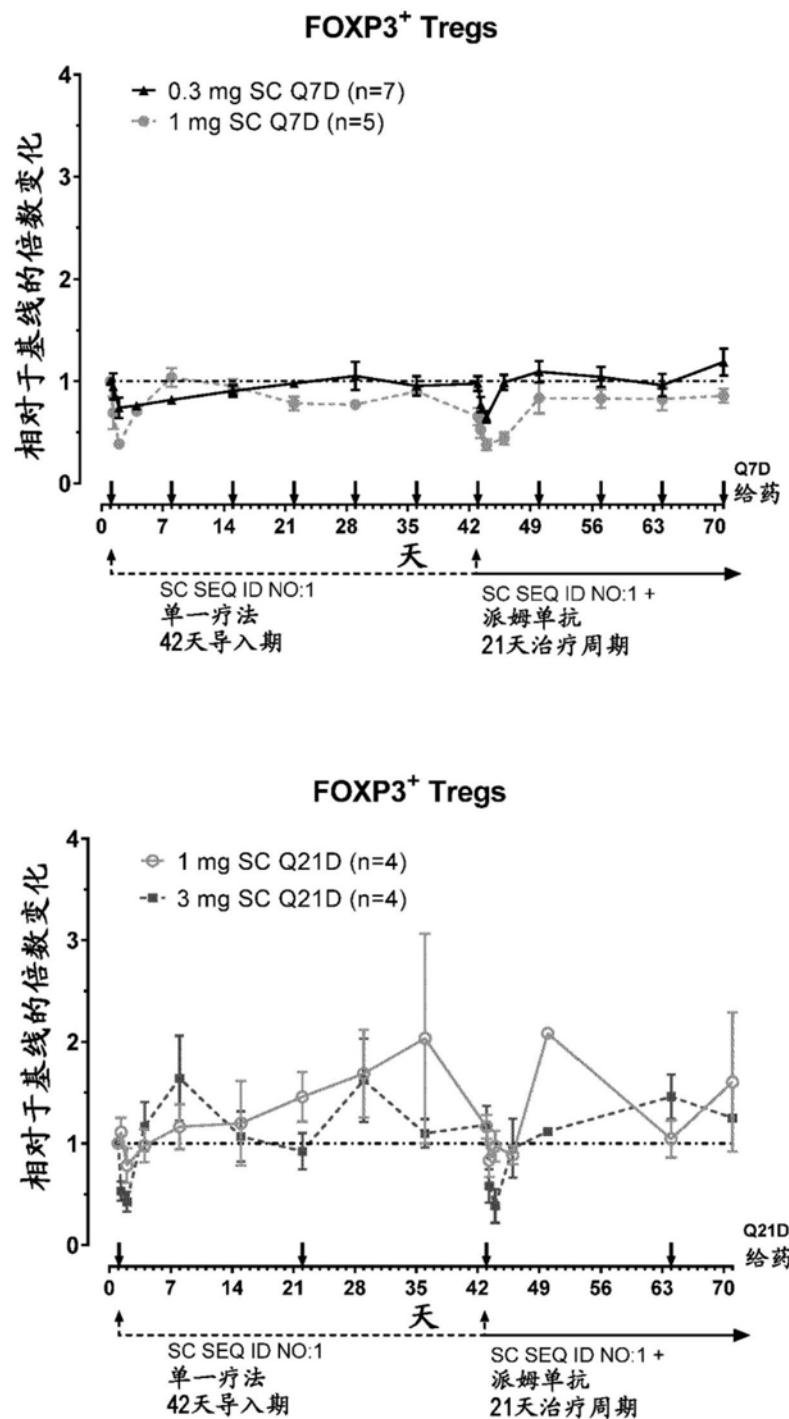


图16 (续)

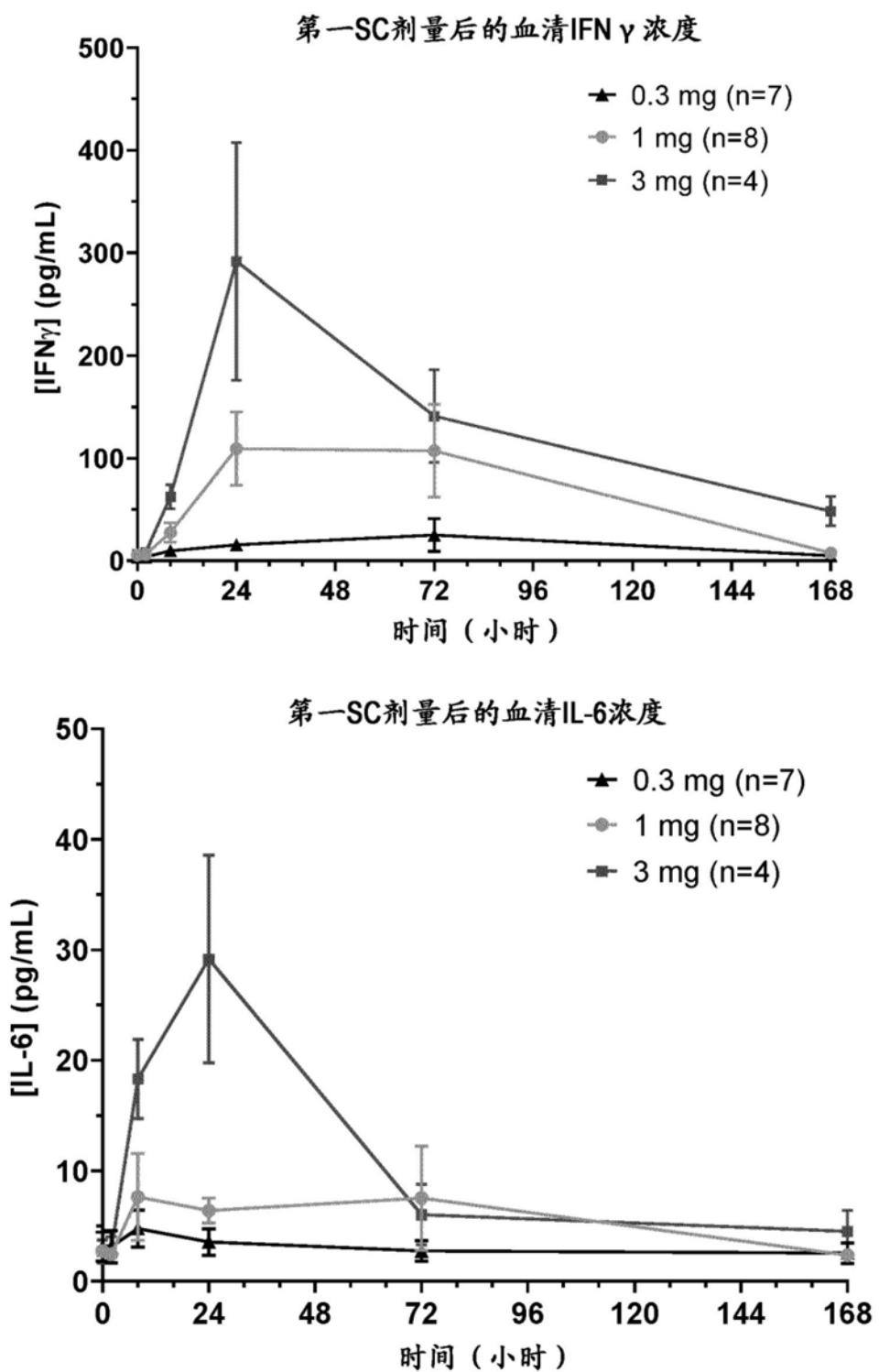


图17