



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 115054697 B

(45) 授权公告日 2024. 06. 11

(21) 申请号 202210502807.X	(51) Int.Cl.
(22) 申请日 2016.08.18	A61K 45/06 (2006.01)
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 115054697 A	A61K 39/395 (2006.01)
(43) 申请公布日 2022.09.16	A61K 31/52 (2006.01)
(30) 优先权数据 15181925.7 2015.08.21 EP	A61P 35/00 (2006.01)
(62) 分案原申请数据 201680048061.2 2016.08.18	A61P 35/02 (2006.01)
(73) 专利权人 莫佛塞斯公司 地址 德国普兰奈格	(56) 对比文件
(72) 发明人 J·恩德尔 M·温德里里奇 R·博克斯哈默	CN 103703027 A,2014.04.02
(74) 专利代理机构 北京尚诚知识产权代理有限公司 11322 专利代理师 顾小曼 邹亮	CN 103732252 A,2014.04.16
	Tadeusz Robak.Current and emerging monoclonal antibody treatments for chronic lymphocytic leukemia:state of the art.Expert Review of Hematology.2014,第7 卷(第6期),第841页摘要、第843页表2、第845页 左栏第3段和第851页右栏第4段.
	审查员 陈卫星
	权利要求书2页 说明书20页 序列表10页 附图9页

(54) 发明名称
抗-CD19抗体和磷酸肌醇3-激酶抑制剂的组
合及其用途

(57) 摘要
本公开描述了用于治疗非霍奇金淋巴瘤、慢
性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白
血病的抗-CD19抗体和磷酸肌醇3-激酶抑制剂的
药物组合。

1. CD19特异性抗体在制备用于与磷酸肌醇3-激酶抑制剂组合治疗非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病或急性成淋巴细胞性白血病的药物中的用途,其中所述磷酸肌醇3-激酶抑制剂抑制磷酸肌醇3-激酶的p110δ同种型,其中所述抗体包含序列EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGL EWIGYINPYNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTA MYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO:10)的可变重链、序列DIVMTQSPATLSLSPGER ATLSCRSSKSLQNVNGNT YLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ ID NO:11)的可变轻链、序列ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQ KSLSLSPGK (SEQ ID NO:12)的重链恒定结构域、和序列RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:13)的轻链恒定结构域。

2. 根据权利要求1所述的用途,其中所述CD19特异性抗体和所述磷酸肌醇3-激酶抑制剂分别施用。

3. 根据权利要求2所述的用途,其中所述CD19特异性抗体和所述磷酸肌醇3-激酶抑制剂在物理上分别施用。

4. 根据权利要求2所述的用途,其中所述CD19特异性抗体和所述磷酸肌醇3-激酶抑制剂在时间上分别施用。

5. 根据权利要求1所述的用途,其中所述CD19特异性抗体和所述磷酸肌醇3-激酶抑制剂一起施用。

6. 根据权利要求1所述的用途,其中在施用所述CD19特异性抗体之前施用所述磷酸肌醇3-激酶抑制剂。

7. 根据权利要求1所述的用途,其中在施用所述CD19特异性抗体之后施用所述磷酸肌醇3-激酶抑制剂。

8. 根据权利要求1-7中任一项所述的用途,其为在制备用于治疗非霍奇金淋巴瘤的药物中的用途。

9. 根据权利要求8所述的用途,其中所述非霍奇金淋巴瘤为滤泡性淋巴瘤。

10. 根据权利要求8所述的用途,其中所述非霍奇金淋巴瘤为小淋巴细胞性淋巴瘤。

11. 根据权利要求8所述的用途,其中所述非霍奇金淋巴瘤为粘膜相关淋巴样组织淋巴瘤。

12. 根据权利要求8所述的用途,其中所述非霍奇金淋巴瘤为弥漫性大B细胞淋巴瘤。

13. 根据权利要求8所述的用途,其中所述非霍奇金淋巴瘤为Burkitt's淋巴瘤。

14. 根据权利要求8所述的用途,其中所述非霍奇金淋巴瘤为套细胞淋巴瘤。

15. 根据权利要求8所述的用途,其中所述非霍奇金淋巴瘤为边缘区淋巴瘤。

16. 根据权利要求1-7中任一项所述的用途,其为在制备用于治疗慢性淋巴细胞性白血病的药物中的用途。

17. 根据权利要求1-7中任一项所述的用途,其为在制备用于治疗急性成淋巴细胞性白

血病的药物中的用途。

抗-CD19抗体和磷酸肌醇3-激酶抑制剂的组合及其用途

[0001] 本申请是申请日为2016年8月18日、申请号为201680048061.2、发明名称为“组合及其用途”的专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本公开涉及用于治疗非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白血病的抗-CD19抗体和磷酸肌醇3-激酶抑制剂的药物组合。

背景技术

[0003] B细胞是在体液免疫应答中发挥重要作用的淋巴细胞。它们产生于大多数哺乳动物的骨髓中,占循环淋巴液(circulating lymphoid pool)的5-15%。B细胞的主要功能是制备针对各种抗原的抗体,并且是适应性免疫系统的必要组成部分。

[0004] 由于它们在调节免疫系统中的关键作用,B细胞的失调与各种疾病如淋巴瘤和白血病有关。这些疾病包括非霍奇金淋巴瘤(“NHL”),慢性淋巴细胞性白血病(“CLL”)和急性成淋巴细胞性白血病(“ALL”)。

[0005] NHL是源自淋巴细胞的异质性恶性肿瘤。在美国(U.S.),发病率预计在65,000/年,死亡人数大约为20,000(美国癌症协会(American Cancer Society),2006;和SEER Cancer Statistics Review)。该疾病可能在所有年龄发生,通常在40岁以上的成人中开始发作,发病率随着年龄增加。NHL的特征是淋巴结、血液、骨髓和脾中累积的淋巴细胞的克隆增殖,尽管其可以涉及到任何主要器官。目前病理学家和临床医生使用的分类系统是世界卫生组织(WHO)的肿瘤分类法,其将NHL组织成前体和成熟的B-细胞或T-细胞赘生物。PDQ目前将NHL分成对于进入临床试验是惰性(indolent)的或侵袭性的。惰性NHL组主要包括滤泡亚型、小淋巴细胞性淋巴瘤、MALT(粘膜相关淋巴样组织)和边缘区;惰性包括大约50%新诊断的B-细胞NHL患者。侵袭性NHL包括组织学诊断为原发性弥漫性大B细胞(DLBL、DLBCL或DLCL)(所有新诊断的患者中40%具有弥漫性大细胞)、Burkitt's和套细胞的患者。NHL的临床过程是高度变化的。临床过程的主要决定因素是组织学亚型。大多数惰性型NHL被视作是不能治愈的疾病。患者最初对化学疗法或抗体疗法有响应,大多数将会复发。迄今的研究尚未表明早期干预对存活率的改善。在无症状的患者中,“观察并等待”是可接受的,直至患者表现出症状或疾病进展看起来在加速。随着时间的推进,疾病可以转化为更加侵袭性的组织型(histology)。中位存活期为8-10年,惰性型的患者在其疾病的治疗期间常常接受3次或更多次治疗。对有症状的惰性型NHL患者的初始治疗在历史上已经结合化学疗法进行。最常用的药物包括:环磷酰胺、长春新碱和强的松(CVP);或环磷酰胺、阿霉素、长春新碱和强的松(CHOP)。大约70%到80%的患者将会对其初始的化疗有反应,缓解时间将会持续2-3年的量级。最终大多数患者会复发。抗-CD20抗体利妥昔单抗(rituximab)的发现和临床使用已经提供了响应和存活率的显著改善。目前大多数患者的护理标准是利妥昔单抗+CHOP(R-CHOP)或利妥昔单抗+CVP(R-CVP)。干扰素获准与烷基化药物结合用于NHL的最初治疗,但在美国的应用有限。利妥昔单抗疗法已经在若干种NHL显示出是有效的,目前获准作为惰性

(滤泡性淋巴瘤)和侵袭性NHL(弥漫性大B 细胞淋巴瘤)二者的一线治疗。但是,抗-CD20单克隆抗体(mAb)有明显的局限性,包括原发性耐药(复发惰性患者中50%响应)、获得性耐药(再治疗时50%响应率)、罕有完全响应(复发群体中2%完全响应率)和连续的复发模式。最后,许多B细胞并不表达CD20,因此许多B-细胞障碍使用抗-CD20抗体疗法是不能治疗的。

[0006] 除NHL以外,还有几种类型的由B细胞调节异常引起的白血病。CLL是一种B淋巴细胞异常累积造成的成人白血病。在CLL中,恶性淋巴细胞可能看起来是正常和成熟的,但它们不能有效地应对感染。CLL是成人中最常见的白血病形式。男性发展CLL的可能性是女性的两倍。但是,关键风险因素是年龄。75%以上的新病例在年龄50岁以上的患者中诊断出。每年诊断出多于10,000例病例,死亡数为几乎 5,000例每年(美国癌症协会,2006;和SEER Cancer Statistics Review)。CLL是不能治愈的疾病,但大多数情况下进展缓慢。许多患有CLL的人正常、积极地生活许多年。由于其发病缓慢,早期CLL通常不予治疗,因为据信早期CLL干预不会提高生存时间或生活质量。取而代之地,随时间对病情进行监控。初始的CLL治疗取决于确切的诊断和疾病的发展而变化。有数十种药物用于CLL治疗。组合化疗方案例如FCR(氟达拉滨(fludarabine)、环磷酰胺和利妥昔单抗)和BR(Idelalisib 和利妥昔单抗)在新诊断的和复发的CLL中均有效。异基因骨髓(干细胞)移植由于其风险性极少作为CLL一线治疗使用。

[0007] 另一类型的白血病是ALL,也称作急性淋巴细胞性白血病。ALL 的特征是骨髓中的恶性、不成熟的白细胞(也称作成淋巴细胞)过度产生和连续增殖。“急性”是指循环的淋巴细胞(“胚细胞”(blasts))的未分化、不成熟的状态,以及疾病迅速发展,如果不予治疗预期寿命为数周至数月。ALL最常见于儿童,发病高峰为年龄4-5岁。年龄 12-16岁的儿童更易死于该病。目前,至少80%的儿童ALL被视为是可治愈的。每年诊断出少于4,000例病例,死亡数为几乎1,500例每年(美国癌症协会,2006;和SEER Cancer Statistics Review)。

[0008] 人CD 19分子是在人B细胞表面上表达的结构确切的细胞表面受体,这些B细胞包括但不限于,前B细胞——早期发育的B细胞(即不成熟B细胞)、通过终末分化成为浆细胞的成熟B细胞以及恶性B 细胞。CD 19由大多数前-B急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、非霍奇金淋巴瘤、B细胞慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、前淋巴细胞性白血病、毛细胞白血病、常见的急性淋巴细胞性白血病和一些Null型急性成淋巴细胞性白血病表达(Nadler等人, J.Immunol., 131:244-250 (1983); Loken等人, Blood, 70:1316-1324 (1987); Uckun等人, Blood, 71:13-29 (1988); Anderson等人, 1984. Blood, 63:1424-1433 (1984); Scheuermann, Leuk.Lymphoma, 18:385-397 (1995))。CD 19在浆细胞上的表达进一步表明其可以在分化的B细胞肿瘤例如多发性骨髓瘤、浆细胞瘤、Waldenstrom's肿瘤上表达(Grossbard等人, Br.J.Haematol, 102:509-15 (1998); Treon等人, Semin.Oncol, 30:248-52 (2003))。

[0009] 因此,CD19抗原是非霍奇金淋巴瘤(包括本文所述的各种亚型)、慢性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白血病的治疗中的免疫疗法靶标。

[0010] 已经显示了某些CD19疗法。对三名患有晚期CLL的患者施用表达包含CD3- ζ 和4-1BB共刺激结构域的抗-CD19嵌合抗原受体(CAR)的T细胞。Kalos等人, T cells with Chimeric Antigen Receptors Have Potent Antitumor Effects and Can Establish Memory in Patients with Advanced Leukemia, Science Translational Medicine, vol.3, no.95 (2011 年8月10日), 其通过引用整体并入。通过引用整体并入的Sadelain 等

人, The promise and potential pitfalls of chimeric antigen receptors, Current Opinion in Immunology, Elsevier, vol. 21, no. 2, 2 April 2009, 也描述了抗-CD19嵌合抗原受体(CAR)。

[0011] 在W02007076950(US2007154473)中讨论了CD19抗体在非特异性B细胞淋巴瘤中的用途, 这两篇文献均通过引用整体并入。

[0012] 在Scheuermann等人的“CD19 Antigen in Leukemia and Lymphoma Diagnosis and Immunotherapy, Leukemia and Lymphoma, Vol. 18, 385-397 (1995)”中描述了在CLL、NHL和ALL中使用CD19抗体, 其通过引用整体并入。

[0013] 在W02005012493(US7109304)、W02010053716(US12/266,999) (Immunomedics); W02007002223(US8097703) (Medarex); W02008022152(12/377,251)和W02008150494(Xencor)、W02008031056(US11/852,106) (Medimmune); W0 2007076950 (US11/648,505) (Merck Patent GmbH); W0 2009/052431(US12/253,895) (Seattle Genetics); 以及W02010095031(12/710,442) (Glenmark Pharmaceuticals)、W02012010562和W02012010561(International Drug Development)、W02011147834(Roche Glycart) 和W02012/156455(Sanofi)中描述了另外的CD19特异性的抗体, 它们全部通过引用整体并入。

[0014] W02010151341(US13/377,514) (The Feinstein Institute); US5686072 (University of Texas)和W02002022212(PCT/US01/29026) (IDEC Pharmaceuticals), W02013/024097(14/126,928) (MorphoSys AG)和W02013/024095(14/127,217) (MorphoSys AG)中描述了CD19 特异性的抗体与其他试剂的结合, 其全部通过引用整体并入。2014年 4月5-9日在加利福尼亚州圣地亚哥举行的AACR 2014年会中标题为Drug synergies observed for antibody and toxin components of SAR3419ADC contribute to overall conjugate efficacy and can be combination drug or tumor cell line dependent的摘要4765公开了含有在某些细胞系中的 PI3K抑制剂的SAR3419抗-CD19抗体药物结合物(ADC)。

[0015] 某些磷酸肌醇3-激酶抑制剂是可商购的。Idelalisib, 也被称为 GS-1101或CAL-101, 由Gilead销售, 在美国有一个商品名Zydelig。在美国专利第6,800,620;8,865,730;8,980,901;RE44599;和RE44638 中描述了Idelalisib, 它们全部通过引用整体并入。

[0016] 显然, 尽管在抗癌剂的发现和发展中近来有进展, 但涉及表达 CD19的肿瘤的许多形式的癌症仍然具有不良的预后。因此, 需要改进的治疗这类癌症的方法。

发明内容

[0017] 现有技术既没有单独也没有组合地表明示例性抗体和Idelalisib的组合在治疗非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白血病中的协同作用。

[0018] 一方面, 本公开涉及CD19特异性抗体与磷酸肌醇3-激酶抑制剂的协同组合。这样的组合可用于治疗B细胞恶性肿瘤, 如非霍奇金淋巴瘤(NHL)、慢性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白血病(ALL)。

[0019] 体外模型被认为指示了某些化合物或化合物的组合如何在人类中起作用。对多种细胞系进行了测试, 例如, MEC-1细胞(DSMZ# ACC497)——一种慢性B细胞白血病细胞系。这种体外模型中的 MEC-1细胞表明组合将如何在人类慢性淋巴细胞白血病(CLL)的治疗中起

作用。

[0020] 另外,当化合物在体外结合时,人们预期组合仅具有叠加作用。令人惊奇的是,发明人发现,与单独的抗体和Idelalisib相比,特异性针对CD19的特定抗体与Idelalisib的组合在体外介导协同水平的特异性细胞杀灭。

[0021] 具体而言,本发明人发现,与单独的抗体和Idelalisib相比, MOR00208和Idelalisib的组合在MEC-1细胞中体外介导协同水平的特异性细胞杀灭。

[0022] 此外,发明人还出人意料地发现,与单独的抗体和Idelalisib相比, CD19特异性的特定抗体和Idelalisib的组合具有某些优越的功能特性。

[0023] 总之,示例性抗-CD19抗体和Idelalisib的组合在与CLL有关的模型中起协同作用。由于CLL是与B细胞相关的病症,而CD19在B细胞上高度表达,示例性的组合将具有相同的作用机制,并且还应该在其它B细胞相关病症(例如NHL和ALL)的治疗中起协同作用。

[0024] 因此,示例性的CD19特异性抗体和Idelalisib的组合在人非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白血病的治疗中应该是有效的。临床试验证实了示例的CD19特异性抗体和 Idelalisib的预期功效。

[0025] 由于Idelalisib和其他磷酸肌醇3-激酶抑制剂的作用机制相似,因为它们通过抑制作为PI3K/AKT/mTOR通路的一部分的一种或多种磷酸肌醇3-激酶而起作用,所述PI3K/AKT/mTOR通路对许多细胞功能诸如生长控制、代谢和翻译起始而言是重要的信号传导通路,相信当用示例的抗-CD19抗体与除Idelalisib之外的磷酸肌醇3-激酶抑制剂的组合治疗患有非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白血病的人时也应该看到协同作用。

[0026] 由于示例的抗-CD19抗体和其它抗-CD19抗体结合CD19,所以当用任何抗-CD19抗体与磷酸肌醇3-激酶抑制剂(例如Idelalisib)治疗患有非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白血病的人时,也应当看到协同作用。

[0027] 本公开的一个方面包括CD19特异性抗体以及Idelalisib的协同组合,其中CD19特异性抗体包含:序列SYVMH(SEQ ID NO:1)的HCDR1区,序列NPYNDG(SEQ ID NO:2)的HCDR2区,序列 GTYYYGTRVFDY(SEQ ID NO:3)的HCDR3区,序列RSSKSLQNVNGNTYLY(SEQ ID NO:4)的LCDR1区,序列RMSNLNS (SEQ ID NO:5)的LCDR2区和序列MQHLEYPIT (SEQ ID NO:6)的LCDR3区。在优选的方面,该组合用于治疗非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白血病。

附图说明

[0028] 图1显示了MOR00208的可变结构域的氨基酸序列。

[0029] 图2显示了MOR00208的Fc区的氨基酸序列。

[0030] 图3-6显示了来自四个独立实验的MOR00208与Idelalisib的组合在MEC-1细胞中的ADCC剂量响应曲线。

[0031] 图7-10显示了来自四个独立实验的不同剂量的MOR00208与 Idelalisib的組合的CI曲线。

具体实施方式

[0032] “协同性”、“协同作用”或“协同的”是指超过组合的预期叠加效果。在本文中,组合的“协同性”、“协同作用”或“协同的”效果通过Chou等人、Clarke等人和/或Webb等人的方法确定。参见:Ting-Chao Chou, 药物组合研究中协同作用和拮抗作用的理论基础、实验设计和计算模拟(Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies), Pharmacol Rev 58: 621-681 (2006), 在此将其全文并入作为参考。另外参见:Clarke等人, 乳腺癌和其他模型中实验细胞毒性剂体内研究中实验设计和终点分析中的问题(Issues in experimental design and endpoint analysis in the study of experimental cytotoxic agents in vivo in breast cancer and other models), Breast Cancer Research and Treatment 46:255-278 (1997), 在此将其全文并入作为参考。另外参见:Webb, J.L. (1963) 酶和代谢抑制剂(Enzyme and Metabolic Inhibitors), Academic Press, New York, 在此将其全文并入作为参考。

[0033] 术语“抗体”是指单克隆抗体, 包括任意同种型, 例如, IgG、IgM、IgA、IgD和IgE。IgG抗体由两个相同的重链和两个相同的轻链组成, 其通过二硫键连接。每个重链和轻链均含有恒定区和可变区。每个可变区含有三个称作“互补决定区”(“CDR”)或“高变区”的区段, 其主要负责与抗原表位结合。它们被称作CDR1、CDR2和CDR3, 从N-端依次编号。可变区的在CDR外部的更加高度保守的部分称作“骨架区”。“抗体片段”是指Fv、scFv、dsFv、Fab、Fab’F(ab’)2片段或其他片段, 其含有至少一个各自含有CDR和骨架区的可变重链或可变轻链。

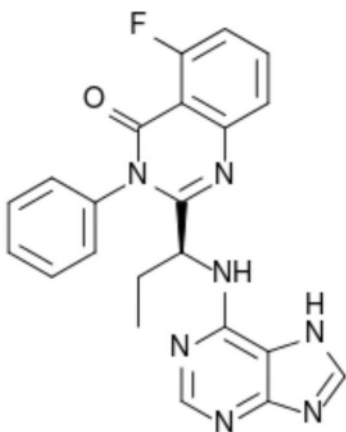
[0034] “磷酸肌醇3-激酶抑制剂”是一类药物, 其通过抑制作为PI3K/AKT/mTOR通路的一部分的一种或多种磷酸肌醇3-激酶而起作用, 所述PI3K/AKT/mTOR通路对许多细胞功能如生长控制、新陈代谢和翻译起始而言是重要的信号传导通路。

[0035] PI3K有许多不同的类别和同种型。I类PI3K具有称为p110的催化亚基, 具有四种类型(同种型)-p110 α 、p110 β 、p110 γ 和p110 δ 。目前研究的抑制剂抑制I类PI3K的一种或多种同种型。

[0036] 磷酸肌醇3-激酶抑制剂至少包括Idelalisib、Duvelisib和Copanlisib。

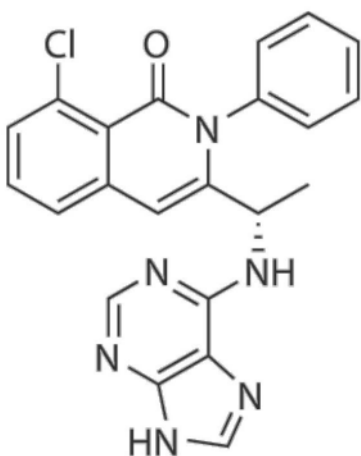
[0037] Idelalisib由Gilead Sciences, Inc. 销售(商品名Zydelig, 也被命名为GS-1101或CAL-101)。目前Idelalisib被标注为用于以下治疗: 在因其他共病因此单用利妥昔单抗被认为是合适疗法的患者中, 与利妥昔单抗结合治疗复发的慢性淋巴细胞性白血病(CLL); 在至少接受过两次在先的全身性治疗的患者中治疗复发的滤泡性B细胞非霍奇金淋巴瘤(FL); 在至少接受过两次在先的全身治疗的患者中治疗复发的小淋巴细胞淋巴瘤(SLL)。该物质作为磷酸肌醇3-激酶抑制剂起作用; 更具体地说, 它阻断磷酸肌醇3-激酶这种酶的 δ 亚型P110 δ 。Idelalisib的化学式是:

[0038]



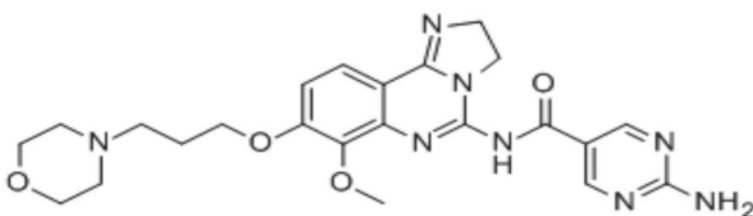
[0039] Duvelisib (IPI-145, INK1197) 是一种新型的选择性PI3K δ/γ (δ 和 γ) 抑制剂。Duvelisib的化学式是:

[0040]



[0041] 由Bayer开发的Copanlisib (BAY 80-6946) 是一种选择性I类磷酸肌醇3-激酶抑制剂。Copanlisib的化学式是:

[0042]



[0043] “VH”是指抗体或抗体片段的免疫球蛋白重链的可变区。“VL”是指抗体或抗体片段的免疫球蛋白轻链的可变区。

[0044] 术语“CD19”是指称作CD19的蛋白,其具有以下同义词:B4、B-淋巴细胞抗原CD19、B-淋巴细胞表面抗原B4、CVID3、分化抗原 CD19、MGC12802和T细胞表面抗原Leu-12。

[0045] 人CD19具有以下氨基酸序列:

[0046]

```
MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTWSRESPLKPKLKL
GLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLG
GLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSLNQSLSQDLTMAPGS
```

[0047] TLWLSCGVPPDSVSRGPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMTGLLLPRATAQDAGK
YYCHRGNLTMSFHLITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRKRK
RMTDPTRRFFKVTPTPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQA
DGALGSRSPPGVGPEEEEEEGEGYEPDSEEDSEFYENDSNLGQDQLSQDGSYENPEDEPLGPE
DEDSFSNAESYENEDEELTQPVARTMDFLSPHGSAWDPSREATSLGSQSYEDMRGILYAAPQLR
SIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGGRMGWTR. (SEQ ID NO: 7)

[0048] “MOR00208”是一种抗-CD19抗体。图1中提供了可变结构域的氨基酸序列。图2中提供了MOR00208的重链和轻链Fc区的氨基酸序列。“MOR00208”、“XmAb 5574”和“MOR208”被用作同义词以描述图1和2中所示的抗体。在美国专利申请序列号12/377,251中描述了MOR00208抗体,其中完整轻链是SEQ ID NO:106,完整重链是SEQ ID NO:87,其通过引用整体并入。

[0049] 已经在ALL、NHL、CLL和小淋巴细胞淋巴瘤(SLL)的人类临床试验中研究了MOR00208。

[0050] 在美国专利第7,109,304号(Immunomedics)(其通过引用整体并入);美国申请序列号11/917,750(Medarex)(其通过引用整体并入);美国申请序列号11/852,106(Medimmune)(其通过引用整体并入);美国申请序列号11/648,505(Merck Patent GmbH)(其通过引用整体并入);美国专利第7,968,687号(Seattle Genetics)(其通过引用整体并入);和美国申请序列号12/710,442(Glenmark Pharmaceuticals)(其通过引用整体并入)中描述了对CD19特异性的其他抗体。

[0051] “Fc区”是指抗体的恒定区,其在人类中可以是IgG1、2、3、4亚类或其它。人类Fc区的序列可在IMGT,Human IGH C-REGIONS, http://www.imgt.org/IMGTrepertoire/Proteins/protein/human/IGH/IGHC/Hu_IGHCallgenes.html (2011年5月16日检索)获得。

[0052] “RefmAb33”是具有以下氨基酸序列的抗体:

[0053] 重链包括Fc区:

[0054] QVTLRSGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTAGMSVGWIRQPPGKALEWLADIWWDDKKH
YNPSLKDRILTISKDTSKNQVVLKVTNMDPADTATYYCARDMIFNFYFDVWGQGTITVTVSSASTKG
PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVT
PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPMLDSGSSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 8)

[0055] 轻链包括Fc区:

[0056] DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCSASSRVGYMHWYQQKPGKAPKLLIYDTSKLASGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISSLQPDFFATYYCFQGSQGYPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYAC
EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 9)

[0057] RefmAb33对于RSV是特异性的,因其与MOR00208享有相同的Fc区,用作同种型对照。

[0058] “组合”是指多于一项,例如,化合物例如抗体与Idelalisib。

[0059] 本公开还涉及包含所述组合的组合、药物和药物组合物。本发明协同组合的两个组分,例如CD19特异性抗体和Idelalisib,可以在物理上或时间上一起、同时、分别或随后给药。

[0060] Idelalisib目前每天两次口服150mg。MOR00208目前静脉内给药,目前每周给药一次或每两周给药一次。在一个实施方式中,在施用CD19特异性抗体(例如MOR00208)之前施

用Idelalisib。在一个实施方式中,在施用CD19特异性抗体(例如MOR00208)之后施用Idelalisib。

[0061] 优选地,两种药物的施用允许两种药物同时在患者中有活性。例如,如果MOR00208每周给药并且Idelalisib每天给药,那么即使两种药物不总是在同一天施用,理想情况下,两种药物的活性物质也同时存在于患者体内。

[0062] “同时”或“一起施用”是指这两种组分在两种组分(药物)同时在患者中有活性的时候施用。“协同作用”暗示两种药物同时在患者中有活性。“同时”或“一起施用”不必指在确切的同一时间或在总是在同一天施用药物。

[0063] 这两种组分可以配制成不同的药物组合物。

[0064] 药物组合物包含活性剂,例如一种用于人类治疗的抗体。药物组合物可以包含可接受的载体或赋形剂。

[0065] “施用”或“给药”包括但不限于,通过可注射形式递送,其包括例如静脉内、肌肉内、皮内、局部、经皮、腹膜内、眼眶内;通过植入或皮下途径或粘膜途径,例如鼻用喷雾或吸入用气溶胶、或作为可摄入的溶液、或作为胶囊剂或片剂口服。

[0066] 化合物或组合的“治疗有效量”是指能够实现可测量的改善、缓解或部分抑制给定疾病或病症的临床表现的量。对于特定治疗用途来说有效的量将取决于疾病或损伤的严重性以及受试者的体重和一般状况。应当理解到,通过构建数值矩阵并对矩阵中不同的点进行试验,可以使用常规实验来实现合适剂量的确定,其均在受训医师或临床科学家普通技术能力范围内。

[0067] 本文中的“CDR”由Chothia等人或Kabat等人定义。参见Chothia C, Lesk AM. (1987) 免疫球蛋白高变区的正则结构(Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins). J Mol Biol., 196(4):901-17, 在此将其全文并入作为参考。参见Kabat E.A, Wu T.T., Perry H.M., Gottesman K.S. 和 Foeller C. (1991). 免疫学研究的蛋白质序列(Sequences of Proteins of Immunological Interest). 5th edit., NIH Publication no.91-3242, US Dept. of Health and Human Services, Washington, DC 在此将其全文并入作为参考。

[0068] “交叉竞争”是指抗体或其他结合试剂在标准竞争结合测定中干扰其他抗体或结合试剂与CD19结合的能力。抗体或其他结合试剂能够干扰另一抗体或结合分子与CD19结合的能力或程度,以及相应地是否能根据本发明称为交叉竞争,可以使用标准竞争结合测定来确定。一种合适的测定涉及到使用Biacore技术(例如,通过使用BIAcore 3000 仪器(Biacore, Uppsala, Sweden)), 其可以使用表面等离子体共振技术测量相互作用的程度。另一种测量交叉竞争的测定使用基于ELISA的方法。国际专利申请第WO 2003/48731号中描述了基于其交叉竞争的“表位结合”抗体的高通量方法。

[0069] 术语“表位”包括任何能够与抗体特异性结合或与分子以其他方式相互作用的蛋白决定子(determinant)。表位决定子通常由分子的化学活性表面基团例如氨基酸或碳水化合物类或糖侧链组成,其可以具有特定的三维结构特征,以及特定的电荷特征。表位可以是“线性的”或“构象的”。术语“线性表位”是指蛋白质与相互作用分子(例如抗体)之间的所有相互作用点沿蛋白质的一级氨基酸序列(连续的)线性出现的表位。术语“构象表位”是指其中不连续的氨基酸在三维构象中集合在一起的表位。在构象表位中,相互作用点跨过蛋

白质上彼此隔开的氨基酸残基出现。

[0070] “结合相同表位”是指抗体或其他结合试剂与CD19结合的能力,且其与所例示的抗体具有相同表位。所例示的抗体和其他抗体对于CD19的表位可以使用标准表位图谱技术确定。表位图谱技术是本领域公知的,其包括以下文献中的表位图谱方案:Methods in Molecular Biology, Vol.66 (Glenn E. Morris, Ed., 1996) Humana Press, Totowa, New Jersey。例如,线性表位可以通过以下方法确定:例如,在固体支撑物上同时合成大量的肽——与蛋白分子的一部分对应的肽,并在肽仍然连接在支撑物上的同时使肽与抗体反应。这些技术是本领域已知的,并描述于以下文献中:例如, U.S. 专利第4,708,871号; Geysen等人, (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3998-4002; Geysen等人, (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:78-182; Geysen等人, (1986) Mol. Immunol. 23:709-715。类似地,构象表位很容易通过确定氨基酸的空间构象来鉴定,例如,通过如氢/氘交换、x-射线晶体学和二维核磁共振。参见,例如,表位图谱方案,同上。蛋白的抗原区也可以使用标准抗原性和亲水性图来鉴定,例如,使用如获自Oxford Molecular Group的Omiga 1.0版软件程序来计算的那些。该计算机程序采用Hopp/Woods方法 (Hopp等人, (1981) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:3824-3828) 用于抗原性图谱的确定,并采用Kyte-Doolittle技术 (Kyte等人, (1982) J. Mol. Biol. 157:105-132) 用于亲水性图。

[0071] 实施方式

[0072] 本公开内容的一个方面是用于治疗非霍奇金氏淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白血病的CD19特异性抗体与磷酸肌醇3-激酶抑制剂的组合。在实施方式中,该组合是协同性的。

[0073] 本文中,示例的抗-CD19抗体与Idelalisib的组合在与CLL相关的体外模型中起协同作用。由于CLL是一种B细胞相关疾病,并且CD19在B细胞上高度表达,所以示例的组合应当具有相同的作用机制,还应该在其它B细胞相关病症例如NHL和ALL的治疗中起协同作用。因此,示例的CD19特异性抗体和Idelalisib的组合应该在人的非霍奇金氏淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白血病的治疗中有效。临床试验将证实示例的CD19特异性抗体与Idelalisib的组合的预期功效。

[0074] 对慢性B-细胞白血病细胞系MEC-1细胞 (DSMZ#ACC497) 进行测试。

[0075] 评估另外的细胞系: Ramos细胞 (ATCC号CRL-1596) ——一种人Burkitt's淋巴瘤细胞。HG-3 (DSMZ#ACC765) 和C11 (DSMZ#ACC773) 是慢性淋巴细胞性白血病细胞系。Su-DHL 6 (DSMZ#ACC572) 和U2932 (DSMZ#ACC633) 是弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL) 细胞系。JVM-2 (ATCC® CRL-3002) 是套细胞淋巴瘤细胞系。BALL-1 (DSMZ#ACC742) 是一种急性成淋巴细胞性白血病细胞系。

[0076] 这种体外模型中的MEC-1细胞指示组合将如何在人的慢性淋巴细胞性白血病 (CLL) 的治疗中起作用。这种体外模型中的Ramos细胞指示该组合如何在人的非霍奇金淋巴瘤 (NHL) 的治疗中起作用。这种体外模型中的HG-3和C11细胞指示该组合将如何在人的慢性淋巴细胞性白血病 (CLL) 的治疗中起作用。这种体外模型中的Su-DHL 6和U2932细胞指示该组合将如何在人的非霍奇金淋巴瘤的治疗中起作用。这种体外模型中的JVM-2细胞指示该组合将如何在人的非霍奇金淋巴瘤的治疗中起作用。这种体外模型中的BALL-1细胞指示该组合将如何在人的急性成淋巴细胞性白血病的治疗中起作用。

[0077] Chou指数和Clark等人的数值指示与单独的MOR00208和 Idelalisib相比, MOR00208与Idelalisib的组合在MEC-1细胞的特异性杀灭中明显的协同作用。

[0078] 总之,示例的抗-CD19抗体与Idelalisib的组合在与CLL相关的模型中起协同作用。因此,示例的CD19特异性抗体与Idelalisib的组合应该在人的非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白血病的治疗中有效。

[0079] 由于Idelalisib和其它磷酸肌醇3-激酶抑制剂的作用机制相似,因为它们都是通过抑制作为PI3K/AKT/mTOR通路(一种用于许多细胞功能如生长控制、代谢和翻译起始的重要信号传导通路)的一部分的一种或多种磷酸肌醇3-激酶而起作用,认为当用示例性抗-CD19抗体与除Idelalisib之外的磷酸肌醇3-激酶抑制剂的组合来治疗患有非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白血病的人时,也应该看到协同作用。

[0080] 由于示例的抗-CD19抗体和其它抗-CD19抗体均结合CD19,所以认为在用任何抗-CD19抗体与磷酸肌醇3-激酶治疗患有非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白血病的人时,也应观察到协同性,其中抗-CD19抗体为,例如描述于US专利申请序列号12/377,251(Xencor)、W02005012493、W02010053716(Immunomedics); W02007002223(Medarex); W02008022152(Xencor); W02008031056(Medimmune); W0 2007/076950(Merck Patent GmbH); W0 2009/052431(Seattle Genetics);和W02010095031(Glenmark Pharmaceuticals)的那些,其均通过引用整体并入。

[0081] 在实施方式中,CD19的特异性抗体包括与以下抗体交叉竞争的抗体,所述抗体包含序列SYVMH(SEQ ID NO:1)的HCDR1区、序列NPYNDG(SEQ ID NO:2)的HCDR2区、序列GTYYYGTRVFDY(SEQ ID NO:3)的HCDR3区、序列RSSKSLQNVNGNTYLY(SEQ ID NO:4)的LCDR1区、序列RMSNLNS(SEQ ID NO:5)的LCDR2区和序列MQHLEYPIT(SEQ ID NO:6)的LCDR3区。

[0082] 在实施方式中,CD19的特异性抗体包括与以下抗体结合相同表位的抗体,所述抗体包括序列SYVMH(SEQ ID NO:1)的HCDR1区、序列NPYNDG(SEQ ID NO:2)的HCDR2区、序列GTYYYGTRVFDY(SEQ ID NO:3)的HCDR3区、序列RSSKSLQNVNGNTYLY(SEQ ID NO:4)的LCDR1区、序列RMSNLNS(SEQ ID NO:5)的LCDR2区和序列MQHLEYPIT(SEQ ID NO:6)的LCDR3区。

[0083] 在实施方式中,CD19的特异性抗体包括序列SYVMH(SEQ ID NO:1)的HCDR1区、序列NPYNDG(SEQ ID NO:2)的HCDR2区、序列GTYYYGTRVFDY(SEQ ID NO:3)的HCDR3区、序列RSSKSLQNVNGNTYLY(SEQ ID NO:4)的LCDR1区、序列RMSNLNS(SEQ ID NO:5)的LCDR2区和序列MQHLEYPIT(SEQ ID NO:6)的LCDR3区。

[0084] 在实施方式中,CD19的特异性抗体包括序列EVQLVESGG GLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYVCARGTYYYGTRVFDYWGGTLVTVSS(SEQ ID NO:10)的可变重链和序列DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK(SEQ ID NO:11)的可变轻链。

[0085] 在某些实施方式中,所述抗体包含以下序列的重链恒定结构域:

[0086] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAAPEEK TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPMLEDSDGSFFLYSK

LTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:12)。

[0087] 在实施方式中,CD19特异性抗体包含以下序列的轻链恒定结构域:

[0088] RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:13)。

[0089] 在实施方式中,磷酸肌醇3-激酶抑制剂是Idelalisib。

[0090] 在实施方式中,分别施用该组合的组分,CD19特异性抗体和 Idelalisib。在一个实施方式中,在施用CD19特异性抗体之前施用 Idelalisib。在一个实施方式中,在施用CD19特异性抗体之后施用 Idelalisib。在一个实施方式中,同时或一起施用该组合的组分,CD19 特异性抗体和Idelalisib。

[0091] 在实施方式中,该组合是药物组合物。在实施方式中,该组合物包含可接受的载体。在实施方式中,该组合以有效量施用。

[0092] 在另一方面,包含序列为SYVMH (SEQ ID NO:1)的HCDR1区、序列为NPYNDG (SEQ ID NO:2)的HCDR2区、序列为 GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO:3)的HCDR3区、序列为RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO:4)的LCDR1区、序列为RMSNLNS (SEQ ID NO:5)的LCDR2区、和序列为MQHLEYPIT (SEQ ID NO:6)的LCDR3区的CD19特异性抗体与Idelalisib的协同组合在分离的人PBMC的存在下能够以相较于单独的Idelalisib好至少两倍、三倍、四倍或五倍的功效通过ADCC介导MEC-1细胞的杀灭。

[0093] 本公开内容的一方面包括用于治疗非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白血病的CD19特异性抗体与 Idelalisib的协同组合,所述CD19特异性抗体包含序列为SYVMH (SEQ ID NO:1)的HCDR1区、序列为NPYNDG (SEQ ID NO:2)的HCDR2区、序列为GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO:3)的HCDR3区、序列为RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO:4)的LCDR1区、序列为RMSNLNS (SEQ ID NO:5)的LCDR2区、和序列为MQHLEYPIT (SEQ ID NO:6)的LCDR3区。在实施方式中,非霍奇金淋巴瘤选自滤泡性淋巴瘤、小淋巴细胞性淋巴瘤、粘膜相关淋巴样组织、边缘区、弥漫性大B细胞、Burkitt's和套细胞。

[0094] 另一方面包括一种在有此需要的个体中治疗非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白血病的方法,该方法包括施用CD19特异性抗体和磷酸肌醇3-激酶抑制剂。在该方法的实施方式中,CD19特异性抗体包含序列为SYVMH (SEQ ID NO:1)的 HCDR1区、序列为NPYNDG (SEQ ID NO:2)的HCDR2区、序列为 GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO:3)的HCDR3区、序列为RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO:4)的LCDR1区、序列为 RMSNLNS (SEQ ID NO:5)的LCDR2区、和序列为MQHLEYPIT (SEQ ID NO:6)的LCDR3区。在该方法的实施方式中,抗体包括示例性的 CD19特异性抗体。在该方法的实施方式中,磷酸肌醇3-激酶抑制剂是 Idelalisib。

[0095] 另一方面包括CD19特异性抗体与磷酸肌醇3-激酶抑制剂在制备用于治疗有此需要的个体中的非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病和/或急性成淋巴细胞性白血病的药物中的用途,该方法包括施用包含CD19特异性抗体和磷酸肌醇3-激酶抑制剂的药物。在该方法的实施方式中,所述CD19特异性抗体包含序列为SYVMH (SEQ ID NO:1)的HCDR1区、序列为NPYNDG (SEQ ID NO:2)的HCDR2区、序列为GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO:3)的HCDR3区、序列为RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO:4)的LCDR1区、序列为 RMSNLNS (SEQ ID NO:5)的LCDR2区、和序列为MQHLEYPIT (SEQ ID NO:6)的LCDR3区。在该方法的实施方式中,抗体包括

示例性的 CD19 特异性抗体。在该方法的实施方式中,磷酸肌醇 3-激酶抑制剂是 Idelalisib。

[0096] 实施例

[0097] 实施例1:使用单独的MOR00208和Idelalisib以及其组合对MEC-1 细胞的细胞毒性

[0098] 材料

[0099] 细胞系:慢性B-细胞白血病细胞系MEC-1细胞(DSMZ# ACC497);套细胞淋巴瘤细胞系JVM-2(ATCC®CRL-3002);Ramos 细胞(ATCC号CRL-1596),一种人Burkitt's淋巴瘤细胞;HG-3(DSMZ#ACC765)和C11(DSMZ#ACC773)是慢性淋巴细胞性白血病细胞系;Su-DHL 6(DSMZ#ACC572)、和U2932(DSMZ#ACC633)是弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)细胞系;BALL-1(DSMZ#ACC742)是急性成淋巴细胞性白血病细胞系。

[0100] 所使用细胞系的培养条件遵从供应商的信息。

[0101] 细胞培养基:Iscove's Modified Dulbecco's培养基(IMDM), Invitrogen,目录号:31980-048;RPMI1640,Invitrogen,目录号:31870-074;GlutaMAX,Invitrogen,目录号:35050-38,批次号1654740;FCS:Sigma目录号:F7524,批次号:111M3396。

[0102] NKs:RPMI1640,具有GlutaMAX™,Invitrogen,目录号:31870-074,10%FCS;Biocoll:Biochrome AG,目录号:L6115,批次号:0034D;MACS NK细胞分离试剂盒:Miltenyi Biotec,目录号:130-092-657,批次号:5150327376;Idelalisib:Selleck Chem,批次号:S2226;FCS:Sigma,目录号:F7524,批次号:111M3396;以及与 MOR00208具有相同Fc区的RefmAb33(抗-RSV)。

[0103] 方法

[0104] 在MEC-1细胞系中测试单独的MOR00208和Idelalisib以及其组合的细胞毒性。

[0105] Idelalisib是磷酸肌醇3-激酶抑制剂;更具体地说,它阻断磷酸肌醇3-激酶这种酶的 δ 亚型,P110 δ 。单独的Idelalisib对MEC-1细胞几乎没有细胞毒性作用。MOR00208靶向CD19并通过ADCC介导靶细胞杀灭。

[0106] 以下用作对照:a) MEC-1细胞+RefmAb33+DMSO+NK细胞,b) MEC-1细胞+DMSO+NK细胞,c) MEC-1细胞+DMSO。

[0107] 使用以下参数来测量靶细胞杀灭:浓度为0.3、1、3和10 μ M的 Idelalisib;浓度为1.5、0.015和0.0015 μ g/ml的MOR00208,以及相同浓度下的MOR00208和Idelalisib的组合。

[0108] 在单独的Idelalisib组、单独的MOR00208组和 MOR00208+Idelalisib组合组中,在ADCC试验测定之前,用Idelalisib 预处理靶细胞7天。对靶细胞计数并使用10 μ M CFSE终浓度进行染色。对于DMSO处理的靶细胞,选择2:1的效应物:靶(E:T)比率,对应于 5×10^5 /ml的细胞密度。通过调节抑制剂处理的细胞中的E:T比例,将因Idelalisib处理引起的靶细胞增殖效应包括在内。对NK细胞计数并将其调整至 1×10^6 /ml。靶细胞杀灭试验如下进行:使用96孔板,每孔加入100 μ l靶细胞悬浮液,然后向各孔中加入100 μ l的NK细胞的细胞悬浮液,得到2:1的E:T比率。将抗体在培养基中以 $10^{-0.00001}$ nM 范围内(对应于1.5-0.0000015 μ g/ml)进行稀释。将细胞离心并将靶:效应细胞颗粒重悬于100 μ l含有抗体的培养基或相应的对照溶液中。该试验在37℃的CO₂-培养箱中温育4小时。冰上孵育10分钟后,向每个孔中加入50 μ l DAPI溶液(终浓度1 μ g/ml)并在冰上孵育10分钟。细胞杀灭测定使用FACS-Verse进

行。死亡靶细胞是DAPI阳性的。

[0109] 数据

[0110] 总共进行六次实验,以便测定由MOR00208和Idelalisib的组合介导的对MEC-1细胞的ADCC。在六次实验中的两次中,将数据从分析中排除,因为与仅MEC-1细胞的对照相比,RefmAb对照和单独的 DMSO对照显示25%更高的杀灭。NK细胞的自体反应性妨碍了这两个实验中的正确分析。

[0111] 实验1-4的ADCC剂量响应曲线显示在图3-6中。

[0112] 实验1-4的死细胞的百分比(%) (原始数据) 在下表1-16中示出。

[0113] 实验1

[0114] 表1:10 μ M的Idelalisib

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
[0115] A: 单独的 MOR00208	62,9	63,1	40,3
B: 单独的 Idela, 10μM	11,6	11,6	11,6
C: 对照 (0,03%DMSO/Ref33)	7,4	7,4	7,4
AB: 组合	88,0	86,4	68,2

[0116] 表2 3 μ M的Idelalisib

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
[0117] A: 单独的 MOR00208	62,9	63,1	40,3
B: 单独的 Idela, 3μM	11,3	11,3	11,3
C: 对照(0,03%DMSO/Ref33)	7,4	7,4	7,4
AB: 组合	87,7	87,6	68,1

[0118] 表3 1 μ M的Idelalisib

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
[0119] A: 单独的 MOR00208	62,9	63,1	40,3
B: 单独的 Idela, 1μM	10,8	10,8	10,8
C: 对照 I (0,03%DMSO/Ref33)	7,4	7,4	7,4
AB: 组合	85,9	79,6	65,3

[0120] 表4 0.3 μ M的Idelalisib

[0121]

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
A: 单独的 MOR00208	62,9	63,1	40,3
B: 单独的 Idela, 0.3 μM	6,8	6,8	6,8
C: 对照 (0,03%DMSO/Ref33)	7,4	7,4	7,4
AB: 组合	77,5	78,5	57,6

[0122] 实验2

[0123] 表5 10 μM 的Idelalisib

[0124]

MOR00208 浓度		
10 nM	0.1 nM	0.01 nM
1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$

[0125]

A:单独的 MOR00208	85,6	78,9	52,9
B: 单独的 Idela, 10 μM	14,7	14,7	14,7
C: 对照(0,03%DMSO/Ref33)	19,3	19,3	19,3
AB: 组合	92,5	87,2	52,6

[0126] 表6 3 μM 的Idelalisib

[0127]

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
A: 单独的 MOR00208	85,6	78,9	52,9
B:单独的 Idela, 3 μM	14,6	14,6	14,6
C: 对照(0,03%DMSO/Ref33)	19,3	19,3	19,3
AB: 组合	90,9	83,9	51,8

[0128] 表7 1 μM 的Idelalisib

[0129]

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
A: 单独的 MOR00208	85,6	78,9	52,9
B: 单独的 Idela, 1 μM	20,7	20,7	20,7
C: 对照(0,03%DMSO/Ref33)	19,3	19,3	19,3
AB: 组合	94,2	86,5	63,4

[0130] 表8 0.3 μM 的Idelalisib

[0131]

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
A: 单独的 MOR00208	85,6	78,9	52,9
B: 单独的 Idela, 0.3 μM	20,8	20,8	20,8
C: 对照(0,03%DMSO/Ref33)	19,3	19,3	19,3
AB: 组合	93,9	89,3	60,9

[0132] 实验3

[0133] 表9 10 μ M的Idelalisib

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: 单独的 MOR00208	62,0	59,5	43,5
B: 单独的 Idela, 10 μ M	11,5	11,5	11,5
C: 对照(0,03%DMSO/Ref33)	19,1	19,1	19,1
AB: 组合	81,3	73,0	48,9

[0135] 表10 3 μ M的Idelalisib

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: 单独的 MOR00208	62,0	59,5	43,5
B: 单独的 Idela, 3 μ M	14,0	14,0	14,0
C: 对照(0,03%DMSO/Ref33)	19,1	19,1	19,1
AB: 组合	81,1	74,0	46,8

[0137] 表11 1 μ M的Idelalisib

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: 单独的 MOR00208	62,0	59,5	43,5
B: 单独的 Idela, 1 μ M	18,7	18,7	18,7
C: 对照(0,03%DMSO/Ref33)	19,1	19,1	19,1
AB: 组合	83,9	78,5	52,7

[0139] 表12 0.3 μ M的Idelalisib

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μ g/ml	0.015 μ g/ml	0.0015 μ g/ml
A: 单独的 MOR00208	62,0	59,5	43,5
B: 单独的 Idela, 0.3 μ M	17,3	17,3	17,3
C: 对照(0,03%DMSO/Ref33)	19,1	19,1	19,1
AB: 组合	80,4	73,7	50,8

[0141] 实验4

[0142] 表13 10 μ M的Idelalisib

[0143]

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
A: 单独的 MOR00208	74,6	73,3	56,3
B: 单独的 Idela, 10 μM	12,1	12,1	12,1
C: 对照(0,03%DMSO/Ref33)	21,4	21,4	21,4
AB: 组合	90,6	88,0	68,9

[0144] 表14 3 μM 的Idelalisib

[0145]

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$

[0146]

A: 单独的 MOR00208	74,6	73,3	56,3
B: 单独的 Idela, 3 μM	13,8	13,8	13,8
C:对照(0,03%DMSO/Ref33)	21,4	21,4	21,4
AB: 组合	91,9	88,5	66,2

[0147] 表15 1 μM 的Idelalisib

[0148]

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
A: 单独的 MOR00208	74,6	73,3	56,3
B: 单独的 Idela, 1 μM	15,9	15,9	15,9
C:对照(0,03%DMSO/Ref33)	21,4	21,4	21,4
AB: 组合	91,7	89,9	67,4

[0149] 表16 0.3 μM 的Idelalisib

[0150]

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
A: 单独的 MOR00208	74,6	73,3	56,3
B: 单独的 Idela, 0.3 μM	15,5	15,5	15,5
C: 对照(0,03%DMSO/Ref33)	21,4	21,4	21,4
AB: 组合	90,4	87,7	66,1

[0151] 协同作用的计算:Clarke等人

[0152] 当一种药物具有低活性时,如此处单独的Idelalisib对MEC-1细胞具有低细胞毒性活性,可以通过组合与单独的抑制药物显著不同的统计学证据确定协同作用。参见Clarke等人,Issues in experimental design and endpoint analysis in the study of experimental cytotoxic agents in vivo in breast cancer and other models, Breast Cancer Research and Treatment 46:255-278(1997),其通过引用整体并入。

[0153] 以下列方式分析表1-16的死细胞%(原始数据):

[0154] 拮抗(AB)/C<(A/C)×(B/C)

[0155] 叠加(AB)/C=(A/C)×(B/C)

[0156] 协同(AB)/C>(A/C)×(B/C)

[0157] 其中A是单独使用MOR00208的处理;B是单独使用Idelalisib的处理;C是对对照DMSO+RefMab33的响应;AB是A和B处理的组合。

[0158] 实验1

[0159] 表17:表1所示数据的Clarke分析

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	12,0	11,7	9,3
(A/C)x(B/C)	13,5	13,5	8,6

[0161] 表18表2所示数据的Clarke分析

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	11,9	11,9	9,3
(A/C)x(B/C)	13,1	13,1	8,4

[0163] 表19表3所示数据的Clarke分析

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	11,7	10,8	8,9
(A/C)x(B/C)	12,5	12,5	8,0

[0165] 表20表4所示数据的Clarke分析

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	10,5	10,7	7,8
(A/C)x(B/C)	7,9	7,9	5,0

[0167] 实验2

[0168] 表21表5所示数据的Clarke分析

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	4,8	4,5	2,7
(A/C)x(B/C)	3,4	3,1	2,1

[0170] 表22表6所示数据的Clarke分析

[0171]

MOR00208 浓度			
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	4,7	4,4	2,7
(A/C)x(B/C)	3,4	3,1	2,1

[0172] 表23表7所示数据的Clarke分析

[0173]

MOR00208 浓度			
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	4,9	4,5	3,3
(A/C)x(B/C)	4,8	4,4	3,0

[0174] 表24表8所示数据的Clarke分析

[0175]

MOR00208 浓度			
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	4,9	4,6	3,2
(A/C)x(B/C)	4,8	4,4	3,0

[0176] 实验3

[0177] 表25表9所示数据的Clarke分析

[0178]

MOR00208 浓度			
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	4,3	3,8	2,6
(A/C)x(B/C)	2,0	1,9	1,4

[0179] 表26表10所示数据的Clarke分析

[0180]

MOR00208 浓度			
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	4,2	3,9	2,5
(A/C)x(B/C)	2,4	2,3	1,7

[0181] 表27表11所示数据的Clarke分析

[0182]

MOR00208 浓度			
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	4,4	4,1	2,8
(A/C)x(B/C)	3,2	3,1	2,2

[0183] 表28表12所示数据的Clarke分析

[0184]

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	4,2	3,9	2,7
(A/C)x(B/C)	2,9	2,8	2,1

[0185] 实验4

[0186] 表29表13所示数据的Clarke分析

[0187]

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	4,2	4,1	3,2
(A/C)x(B/C)	2,0	1,9	1,5

[0188] 表30表14所示数据的Clarke分析

[0189]

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	4,3	4,1	3,1
(A/C)x(B/C)	2,2	2,2	1,7

[0190] 表31表15所示数据的Clarke分析

[0191]

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$
(AB)/C	4,3	4,2	3,1
(A/C)x(B/C)	2,6	2,5	2,0

[0192] 表32表16所示数据的Clarke分析

[0193]

	MOR00208 浓度		
	10 nM	0.1 nM	0.01 nM
	1.5 $\mu\text{g/ml}$	0.015 $\mu\text{g/ml}$	0.0015 $\mu\text{g/ml}$

[0194]

(AB)/C	4,2	4,1	3,1
(A/C)x(B/C)	2,5	2,5	1,9

[0195] 结果

[0196] 使用Clarke等人的方法,在各浓度下的实验2-4显示了 MOR00208+Idelalisib组合的明显协同作用。然而,实验1在一些浓度下没有显示出协同作用,因为Idelalisib组(见表1-3)显示了较弱的作用,这种作用略高于对照(比对照高约4%)。这个与对照相比较小的(~4%)差异在其他对照的范围内,因此可以归因于实验设置。

[0197] 协同作用计算:组合指数(CI)

[0198] 为了证实以上使用Clarke等人计算的协同作用的结果,将组合指数(CI)方法应用于表1-16的死细胞%(原始数据)。对于CI计算,我们使用0.3、1.3和10 μM 的Idelalisib和三个MOR208浓度(1.5、0.015和0.0015 $\mu\text{g/ml}$)。

[0199] 在通过引用整体并入的Ting-Chao Chou, Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies, Pharmacol Rev 58:621-681 (2006)和通过引用整体并入的Chou TC, Talalay P, Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Adv Enzyme Regul 22:27-55 (1984)中描述了这样的计算。Chou-Talalay的方法使用CI-等效线方法(CI-isobol method)进行。

[0200] 中值效应方程

[0201] 中值效应方程将抑制剂(如药物)的作用建模为 $F_a/F_u = (D/D_{50})^{-m}$, 其中D是剂量, F_a 和 F_u 是受和不受剂量D影响的系统分数 ($F_a + F_u = 1$); D_{50} 是产生中值效应的剂量(例如IC₅₀、ED₅₀、LD₅₀)。常数m确定剂量效应曲线的形状。

[0202] 我们使用GraphPad Prism进行非线性回归计算来估计参数m和D₅₀。

[0203] CI-等效线方法

[0204] CI-等效线方法提供药物之间协同效果的定量评估。组合指数(CI)是从单一和组合药物治疗的剂量-效应数据估算的。CI值小于1表示协同效应; CI=1表示叠加效应; CI>1表示拮抗效应。CI值离1越远, 药物相互作用(协同或拮抗)越明显。

[0205] 形式上, 组合药物治疗的组合指数(CI)定义为

[0206]
$$CI = D_1/D_{x1} + D_2/D_{x2}$$

[0207] 这里D₁和D₂分别是组合的药物1和药物2的剂量; D_{x1}和D_{x2}是仅用药物1和药物2进行治疗会产生与组合相同效果时的剂量。剂量D_{x1}和D_{x2}需要从单一药物治疗的剂量-效应数据估算。基本上, 中值效应方程拟合到每个药物的数据。从药物的中值效应方程, 我们可以估计产生效应(即 F_a , F_u)所需的剂量(即D)。点离叠加线越远, 1与CI的差别越大, (协同或拮抗)效应越强。

[0208] 结果

[0209] 图7-10显示了基于Chou的协同计算所产生的曲线。Chou指数值表明与单独的MOR00208和Idelalisib相比, MOR00208和Idelalisib的组合在所有实验1-4中在MEC-1细胞的特异性杀灭中显示了明显的协同作用。

[0210] MOR00208和Idelalisib的组合在MEC-1CLL细胞系中协同地起作用。因此, 认为MOR00208和Idelalisib的组合在人CLL的治疗中是协同的。

[0211] 此外, 还认为MOR00208和Idelalisib的组合在人类非霍奇金淋巴瘤(NHL)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)和急性成淋巴细胞性白血病(ALL)的治疗中也协同地起作用。

[0212] 应当理解到, 尽管说明了示例性的实施方式, 但说明书、具体实施例和数据均以例证的方式给出, 并无意于对本发明进行限定。从本文包含的讨论、公开内容和数据, 本发明中的各种变化和修改对于技术人员来说将会是显而易见的, 因此视作本发明的一部分。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 莫佛塞斯公司
- [0003] <120> 组合及其用途
- [0004] <130> MS228
- [0005] <150> EP15181925.7
- [0006] <151> 2015-08-21
- [0007] <160> 13
- [0008] <170> PatentIn 版本 3.5
- [0009] <210> 1
- [0010] <211> 5
- [0011] <212> PRT
- [0012] <213> 人工序列
- [0013] <220>
- [0014] <223> CDR
- [0015] <400> 1
- [0016] Ser Tyr Val Met His
- [0017] 1 5
- [0018] <210> 2
- [0019] <211> 6
- [0020] <212> PRT
- [0021] <213> 人工序列
- [0022] <220>
- [0023] <223> CDR
- [0024] <400> 2
- [0025] Asn Pro Tyr Asn Asp Gly
- [0026] 1 5
- [0027] <210> 3
- [0028] <211> 12
- [0029] <212> PRT
- [0030] <213> 人工序列
- [0031] <220>
- [0032] <223> CDR
- [0033] <400> 3
- [0034] Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr
- [0035] 1 5 10
- [0036] <210> 4
- [0037] <211> 16
- [0038] <212> PRT

[0039]	<213>	人工序列
[0040]	<220>	
[0041]	<223>	CDR
[0042]	<400>	4
[0043]	Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr	
[0044]	1	5 10 15
[0045]	<210>	5
[0046]	<211>	7
[0047]	<212>	PRT
[0048]	<213>	人工序列
[0049]	<220>	
[0050]	<223>	CDR
[0051]	<400>	5
[0052]	Arg Met Ser Asn Leu Asn Ser	
[0053]	1	5
[0054]	<210>	6
[0055]	<211>	9
[0056]	<212>	PRT
[0057]	<213>	人工序列
[0058]	<220>	
[0059]	<223>	CDR
[0060]	<400>	6
[0061]	Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Ile Thr	
[0062]	1	5
[0063]	<210>	7
[0064]	<211>	556
[0065]	<212>	PRT
[0066]	<213>	智人(Homo sapiens)
[0067]	<400>	7
[0068]	Met Pro Pro Pro Arg Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Leu Thr Pro Met	
[0069]	1	5 10 15
[0070]	Glu Val Arg Pro Glu Glu Pro Leu Val Val Lys Val Glu Glu Gly Asp	
[0071]		20 25 30
[0072]	Asn Ala Val Leu Gln Cys Leu Lys Gly Thr Ser Asp Gly Pro Thr Gln	
[0073]		35 40 45
[0074]	Gln Leu Thr Trp Ser Arg Glu Ser Pro Leu Lys Pro Phe Leu Lys Leu	
[0075]		50 55 60
[0076]	Ser Leu Gly Leu Pro Gly Leu Gly Ile His Met Arg Pro Leu Ala Ile	
[0077]	65	70 75 80

[0078]	Trp	Leu	Phe	Ile	Phe	Asn	Val	Ser	Gln	Gln	Met	Gly	Gly	Phe	Tyr	Leu
[0079]					85					90					95	
[0080]	Cys	Gln	Pro	Gly	Pro	Pro	Ser	Glu	Lys	Ala	Trp	Gln	Pro	Gly	Trp	Thr
[0081]					100					105					110	
[0082]	Val	Asn	Val	Glu	Gly	Ser	Gly	Glu	Leu	Phe	Arg	Trp	Asn	Val	Ser	Asp
[0083]					115					120					125	
[0084]	Leu	Gly	Gly	Leu	Gly	Cys	Gly	Leu	Lys	Asn	Arg	Ser	Ser	Glu	Gly	Pro
[0085]					130					135					140	
[0086]	Ser	Ser	Pro	Ser	Gly	Lys	Leu	Met	Ser	Pro	Lys	Leu	Tyr	Val	Trp	Ala
[0087]					145					150					155	
[0088]	Lys	Asp	Arg	Pro	Glu	Ile	Trp	Glu	Gly	Glu	Pro	Pro	Cys	Leu	Pro	Pro
[0089]					165					170					175	
[0090]	Arg	Asp	Ser	Leu	Asn	Gln	Ser	Leu	Ser	Gln	Asp	Leu	Thr	Met	Ala	Pro
[0091]					180					185					190	
[0092]	Gly	Ser	Thr	Leu	Trp	Leu	Ser	Cys	Gly	Val	Pro	Pro	Asp	Ser	Val	Ser
[0093]					195					200					205	
[0094]	Arg	Gly	Pro	Leu	Ser	Trp	Thr	His	Val	His	Pro	Lys	Gly	Pro	Lys	Ser
[0095]					210					215					220	
[0096]	Leu	Leu	Ser	Leu	Glu	Leu	Lys	Asp	Asp	Arg	Pro	Ala	Arg	Asp	Met	Trp
[0097]					225					230					235	
[0098]	Val	Met	Glu	Thr	Gly	Leu	Leu	Leu	Pro	Arg	Ala	Thr	Ala	Gln	Asp	Ala
[0099]					245					250					255	
[0100]	Gly	Lys	Tyr	Tyr	Cys	His	Arg	Gly	Asn	Leu	Thr	Met	Ser	Phe	His	Leu
[0101]					260					265					270	
[0102]	Glu	Ile	Thr	Ala	Arg	Pro	Val	Leu	Trp	His	Trp	Leu	Leu	Arg	Thr	Gly
[0103]					275					280					285	
[0104]	Gly	Trp	Lys	Val	Ser	Ala	Val	Thr	Leu	Ala	Tyr	Leu	Ile	Phe	Cys	Leu
[0105]					290					295					300	
[0106]	Cys	Ser	Leu	Val	Gly	Ile	Leu	His	Leu	Gln	Arg	Ala	Leu	Val	Leu	Arg
[0107]					305					310					315	
[0108]	Arg	Lys	Arg	Lys	Arg	Met	Thr	Asp	Pro	Thr	Arg	Arg	Phe	Phe	Lys	Val
[0109]					325					330					335	
[0110]	Thr	Pro	Pro	Pro	Gly	Ser	Gly	Pro	Gln	Asn	Gln	Tyr	Gly	Asn	Val	Leu
[0111]					340					345					350	
[0112]	Ser	Leu	Pro	Thr	Pro	Thr	Ser	Gly	Leu	Gly	Arg	Ala	Gln	Arg	Trp	Ala
[0113]					355					360					365	
[0114]	Ala	Gly	Leu	Gly	Gly	Thr	Ala	Pro	Ser	Tyr	Gly	Asn	Pro	Ser	Ser	Asp
[0115]					370					375					380	
[0116]	Val	Gln	Ala	Asp	Gly	Ala	Leu	Gly	Ser	Arg	Ser	Pro	Pro	Gly	Val	Gly

[0117]	385	390	395	400
[0118]	Pro Glu Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu Glu			
[0119]	405	410	415	
[0120]	Asp Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Leu Gly Gln Asp Gln Leu			
[0121]	420	425	430	
[0122]	Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu Gly			
[0123]	435	440	445	
[0124]	Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn Glu			
[0125]	450	455	460	
[0126]	Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu Ser			
[0127]	465	470	475	480
[0128]	Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu Gly			
[0129]	485	490	495	
[0130]	Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Ile Leu Tyr Ala Ala Pro Gln			
[0131]	500	505	510	
[0132]	Leu Arg Ser Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp Ala			
[0133]	515	520	525	
[0134]	Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala Trp			
[0135]	530	535	540	
[0136]	Gly Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Thr Arg			
[0137]	545	550	555	
[0138]	<210> 8			
[0139]	<211> 450			
[0140]	<212> PRT			
[0141]	<213> 人工序列			
[0142]	<220>			
[0143]	<223> mab			
[0144]	<400> 8			
[0145]	Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln			
[0146]	1	5	10	15
[0147]	Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala			
[0148]	20	25	30	
[0149]	Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu			
[0150]	35	40	45	
[0151]	Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser			
[0152]	50	55	60	
[0153]	Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val			
[0154]	65	70	75	80
[0155]	Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr			

[0156]					85					90					95				
[0157]	Cys	Ala	Arg	Asp	Met	Ile	Phe	Asn	Phe	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln			
[0158]					100					105					110				
[0159]	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val			
[0160]					115					120					125				
[0161]	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala			
[0162]					130					135					140				
[0163]	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser			
[0164]	145							150				155				160			
[0165]	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val			
[0166]					165					170					175				
[0167]	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro			
[0168]					180					185					190				
[0169]	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys			
[0170]					195					200					205				
[0171]	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp			
[0172]					210					215					220				
[0173]	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly			
[0174]	225							230				235				240			
[0175]	Pro	Asp	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile			
[0176]					245					250					255				
[0177]	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu			
[0178]					260					265					270				
[0179]	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His			
[0180]					275					280					285				
[0181]	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg			
[0182]					290					295					300				
[0183]	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys			
[0184]	305							310				315				320			
[0185]	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Glu	Glu			
[0186]					325					330					335				
[0187]	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr			
[0188]					340					345					350				
[0189]	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu			
[0190]					355					360					365				
[0191]	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp			
[0192]					370					375					380				
[0193]	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met			
[0194]	385							390				395				400			

[0195]	Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
[0196]	405 410 415
[0197]	Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
[0198]	420 425 430
[0199]	Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
[0200]	435 440 445
[0201]	Gly Lys
[0202]	450
[0203]	<210> 9
[0204]	<211> 213
[0205]	<212> PRT
[0206]	<213> 人工序列
[0207]	<220>
[0208]	<223> mab
[0209]	<400> 9
[0210]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0211]	1 5 10 15
[0212]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
[0213]	20 25 30
[0214]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
[0215]	35 40 45
[0216]	Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
[0217]	50 55 60
[0218]	Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
[0219]	65 70 75 80
[0220]	Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
[0221]	85 90 95
[0222]	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
[0223]	100 105 110
[0224]	Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
[0225]	115 120 125
[0226]	Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
[0227]	130 135 140
[0228]	Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
[0229]	145 150 155 160
[0230]	Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
[0231]	165 170 175
[0232]	Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
[0233]	180 185 190

[0234]	Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
[0235]	195 200 205
[0236]	Asn Arg Gly Glu Cys
[0237]	210
[0238]	<210> 10
[0239]	<211> 121
[0240]	<212> PRT
[0241]	<213> 人工序列
[0242]	<220>
[0243]	<223> mab
[0244]	<400> 10
[0245]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
[0246]	1 5 10 15
[0247]	Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
[0248]	20 25 30
[0249]	Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
[0250]	35 40 45
[0251]	Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
[0252]	50 55 60
[0253]	Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
[0254]	65 70 75 80
[0255]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
[0256]	85 90 95
[0257]	Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
[0258]	100 105 110
[0259]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0260]	115 120
[0261]	<210> 11
[0262]	<211> 112
[0263]	<212> PRT
[0264]	<213> 人工序列
[0265]	<220>
[0266]	<223> mab
[0267]	<400> 11
[0268]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[0269]	1 5 10 15
[0270]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val
[0271]	20 25 30
[0272]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser

[0273]	35	40	45
[0274]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Asn Ser Gly Val Pro		
[0275]	50	55	60
[0276]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile		
[0277]	65	70	75
[0278]	Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His		
[0279]	85	90	95
[0280]	Leu Glu Tyr Pro Ile Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
[0281]	100	105	110
[0282]	<210> 12		
[0283]	<211> 330		
[0284]	<212> PRT		
[0285]	<213> 人工序列		
[0286]	<220>		
[0287]	<223> mab		
[0288]	<400> 12		
[0289]	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys		
[0290]	1	5	10
[0291]	Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
[0292]	20	25	30
[0293]	Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
[0294]	35	40	45
[0295]	Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
[0296]	50	55	60
[0297]	Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
[0298]	65	70	75
[0299]	Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
[0300]	85	90	95
[0301]	Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys		
[0302]	100	105	110
[0303]	Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro		
[0304]	115	120	125
[0305]	Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
[0306]	130	135	140
[0307]	Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp		
[0308]	145	150	155
[0309]	Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
[0310]	165	170	175
[0311]	Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val		

[0312]	180							185							190													
[0313]	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn												
[0314]	195							200							205													
[0315]	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Glu	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly												
[0316]	210							215							220													
[0317]	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu												
[0318]	225							230							235							240						
[0319]	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr												
[0320]	245							250							255													
[0321]	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn												
[0322]	260							265							270													
[0323]	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe												
[0324]	275							280							285													
[0325]	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn												
[0326]	290							295							300													
[0327]	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr												
[0328]	305							310							315							320						
[0329]	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys																		
[0330]	325							330																				
[0331]	<210> 13																											
[0332]	<211> 107																											
[0333]	<212> PRT																											
[0334]	<213> 人工序列																											
[0335]	<220>																											
[0336]	<223> mab																											
[0337]	<400> 13																											
[0338]	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu												
[0339]	1 5 10 15																											
[0340]	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe												
[0341]	20							25							30													
[0342]	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln												
[0343]	35							40							45													
[0344]	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser												
[0345]	50							55							60													
[0346]	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu												
[0347]	65							70							75							80						
[0348]	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser												
[0349]	85							90							95													
[0350]	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys																	

[0351]	100	105
--------	-----	-----

MOR00208可变重链结构域的氨基酸序列为：
(CDR为粗体且有下划线)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFT**SYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY**
NDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCAR**GTYYYGTRVFDYWG**
QGTLTVSS (SEQ ID NO: 10)

MOR00208可变轻链结构域的氨基酸序列为：
(CDR为粗体且有下划线)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSC**RSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR**
MSNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYC**MQHLEYPIT**FGAGTKLEIK (SEQ
ID NO: 11)

MOR00208 HCDR1的氨基酸序列为：SYVMH (SEQ ID NO: 1)

MOR00208 HCDR2的氨基酸序列为：NPYNDG (SEQ ID NO: 2)

MOR00208 HCDR3的氨基酸序列为：GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3)

MOR00208 LCDR1的氨基酸序列为：RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4)

MOR00208 LCDR2的氨基酸序列为：RMSNLNS (SEQ ID NO: 5)

MOR00208 LCDR3的氨基酸序列为：MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6)

图1

Fc区的序列

MOR00208重链Fc区的氨基酸序列：

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
NSTFRVSVLTTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 12).

MOR00208轻链Fc区的氨基酸序列：

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKD STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 13)

图2

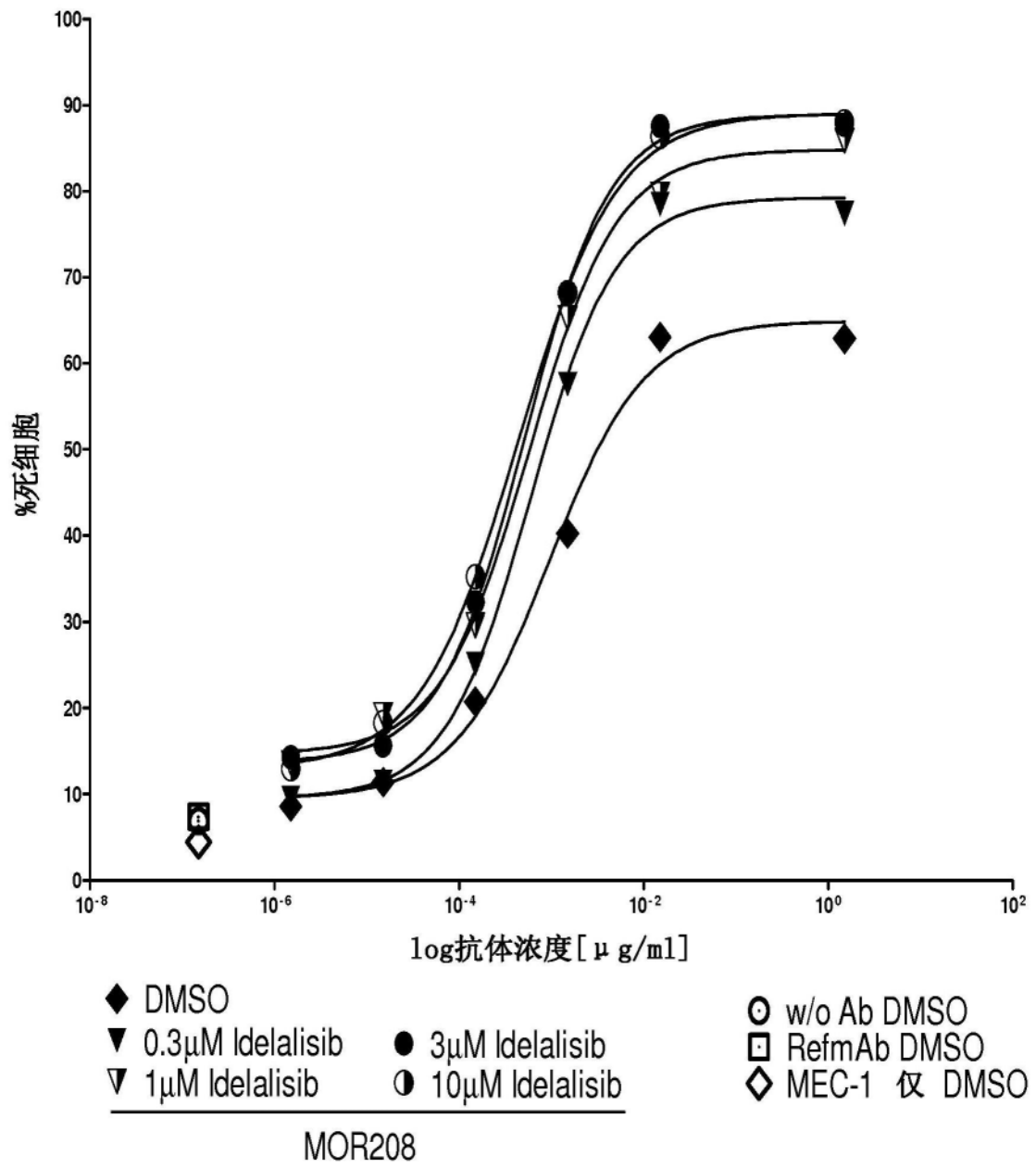


图3

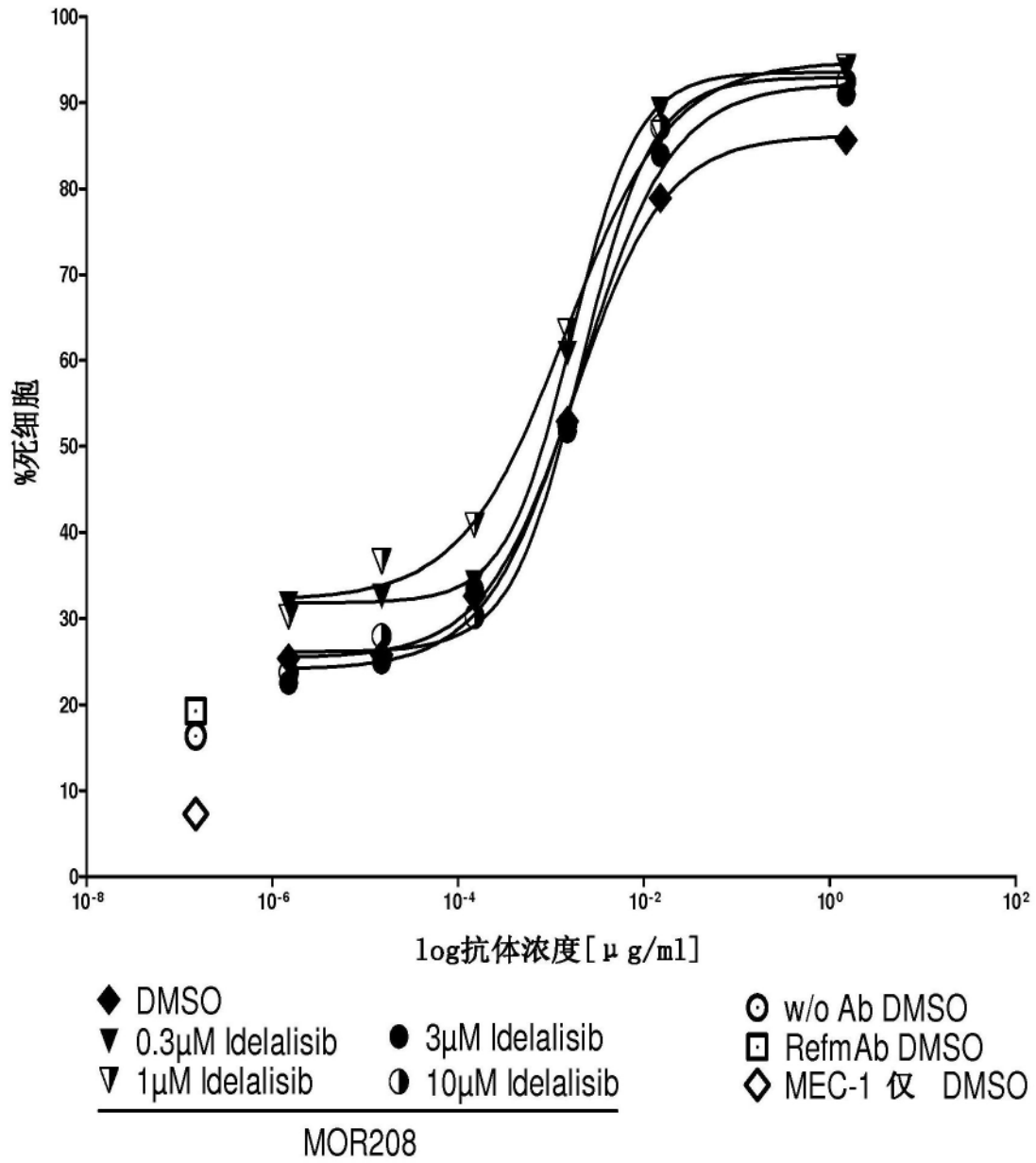


图4

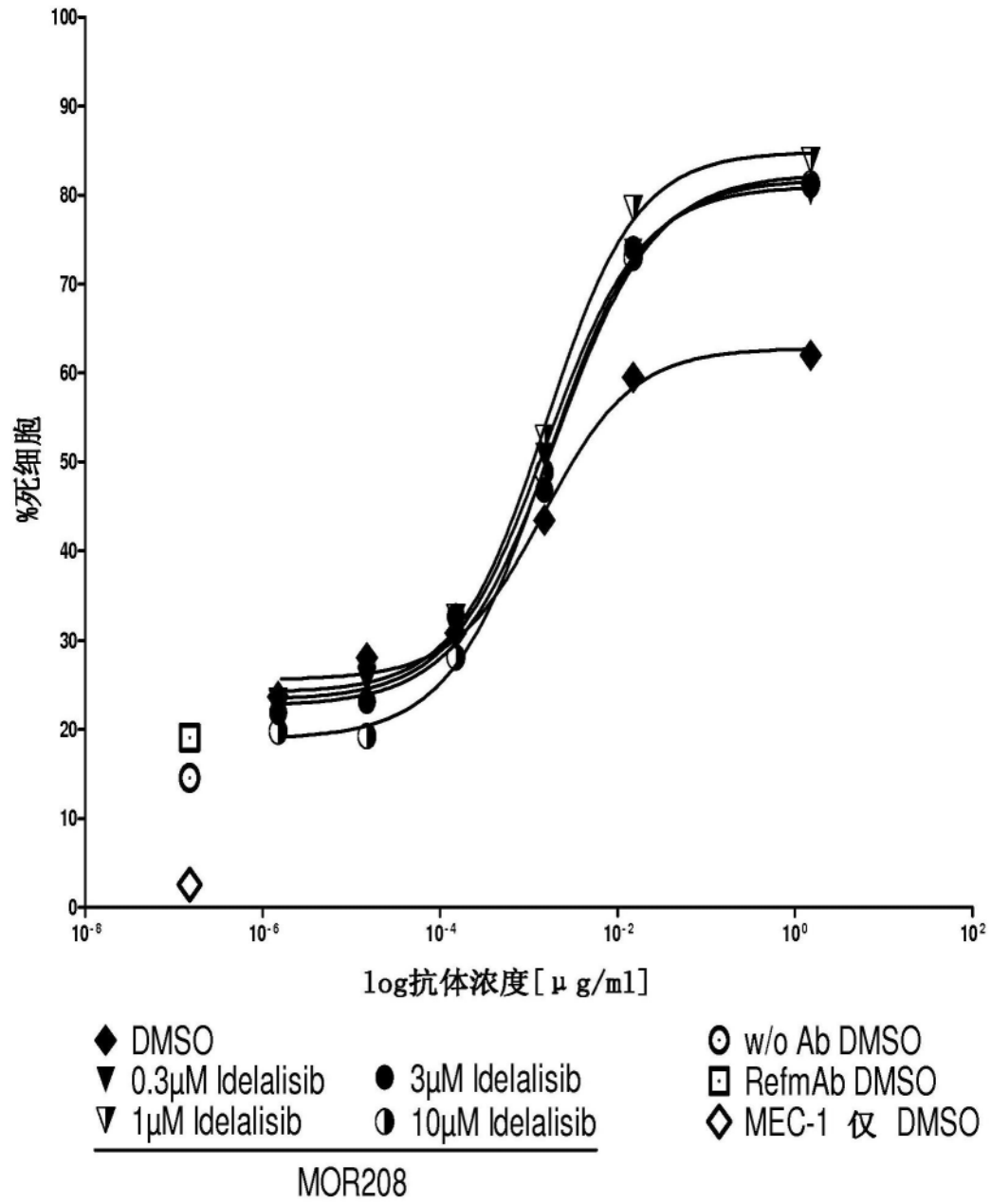


图5

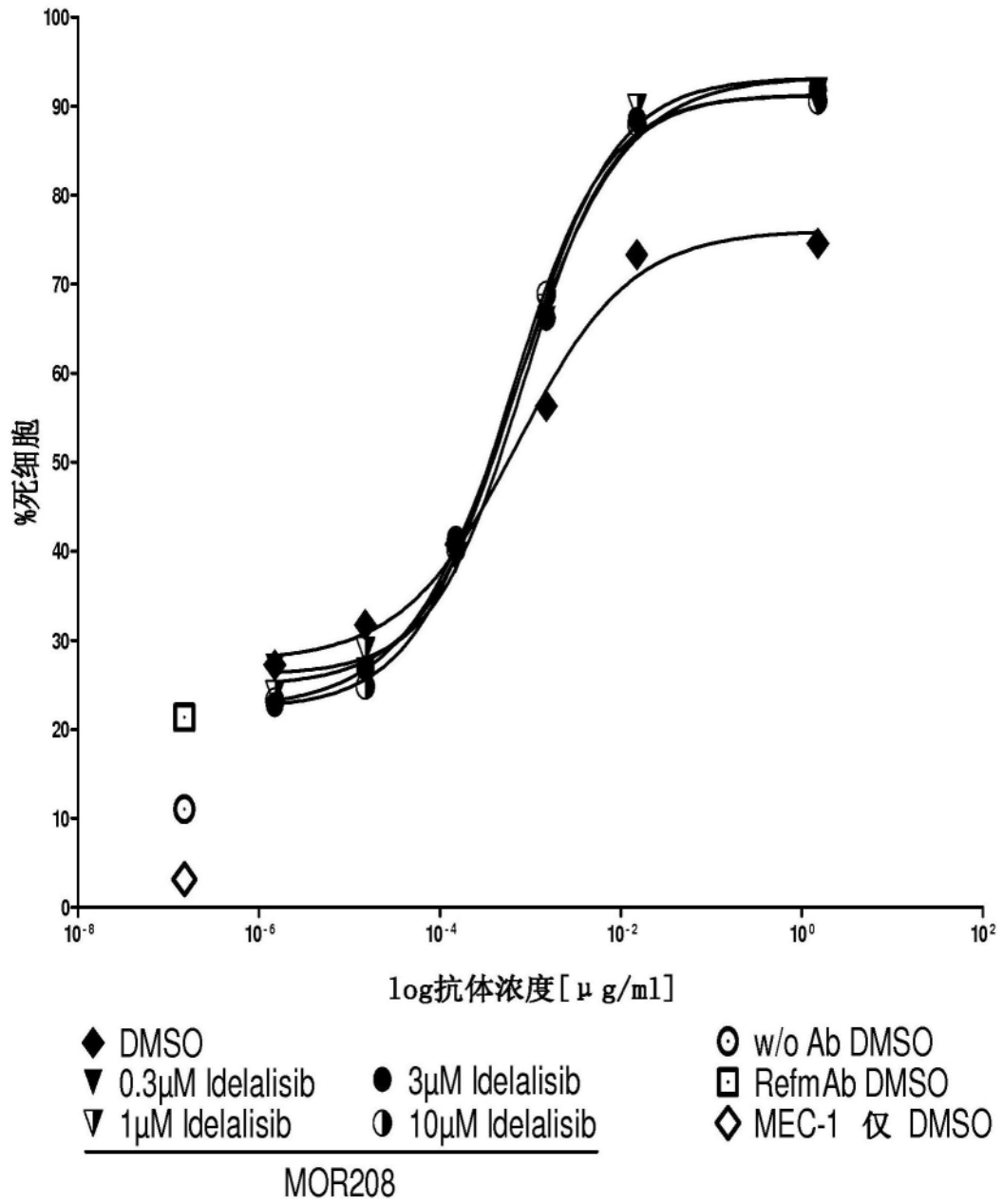


图6

CI MOR208 + 0.3 μ M Idelalisib

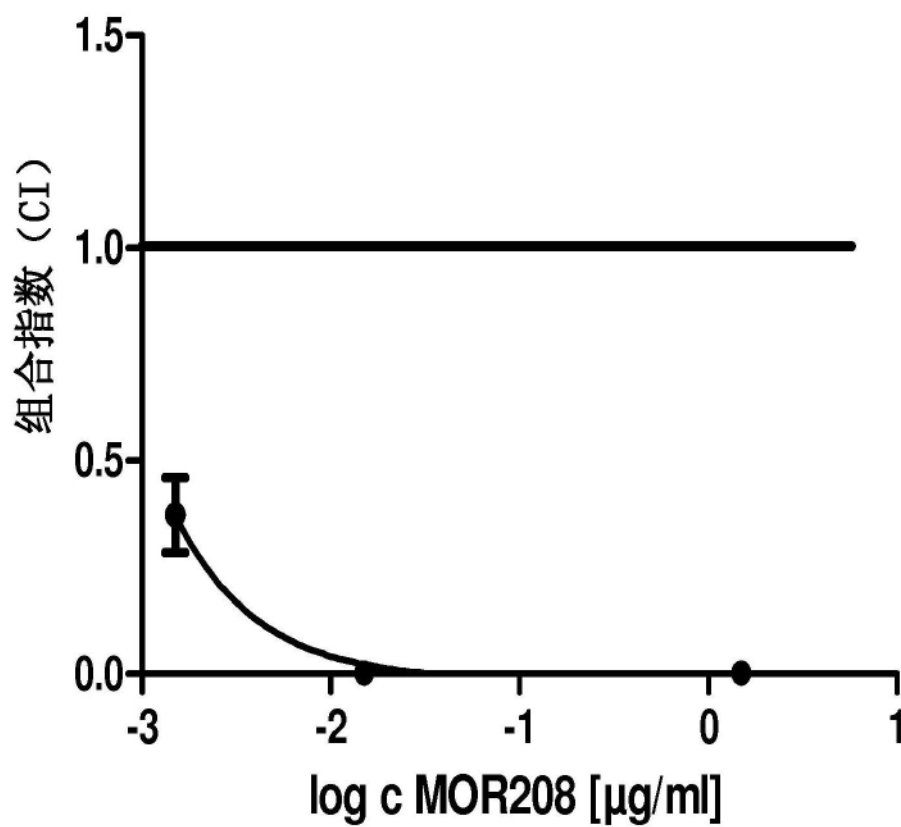


图7

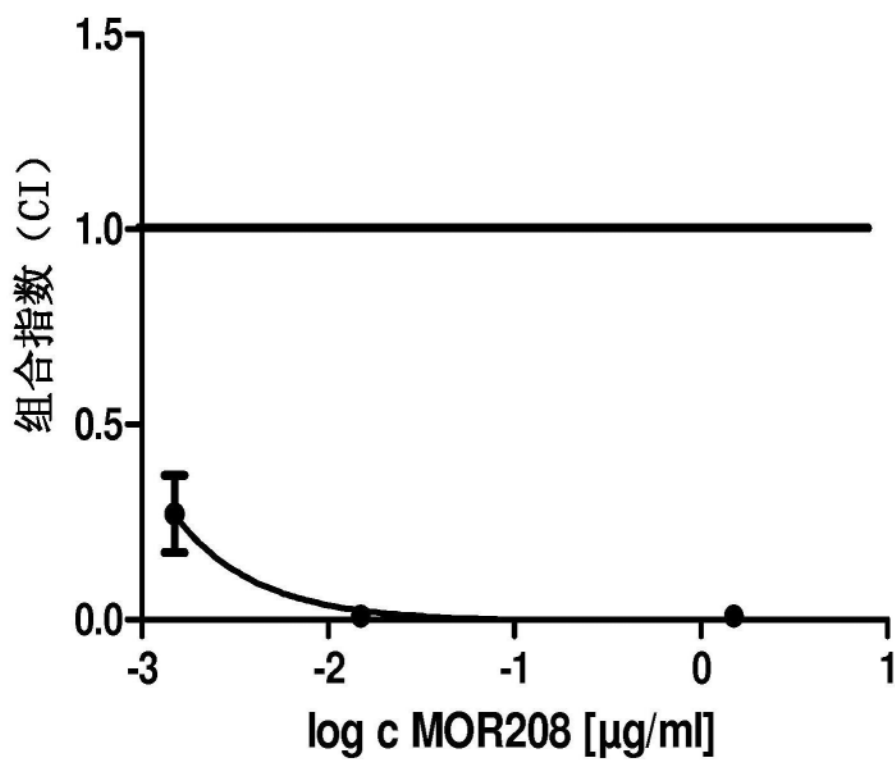
CI MOR208 + 1 μ M Idelalisib

图8

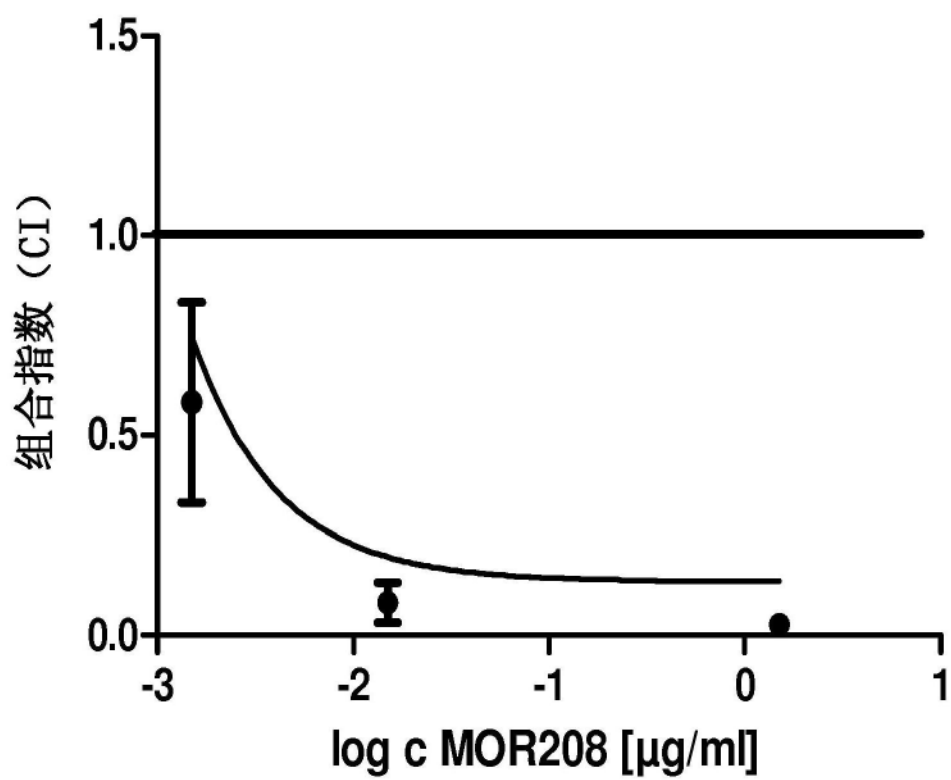
CI MOR208 + 3 μ M Idelalisib

图9

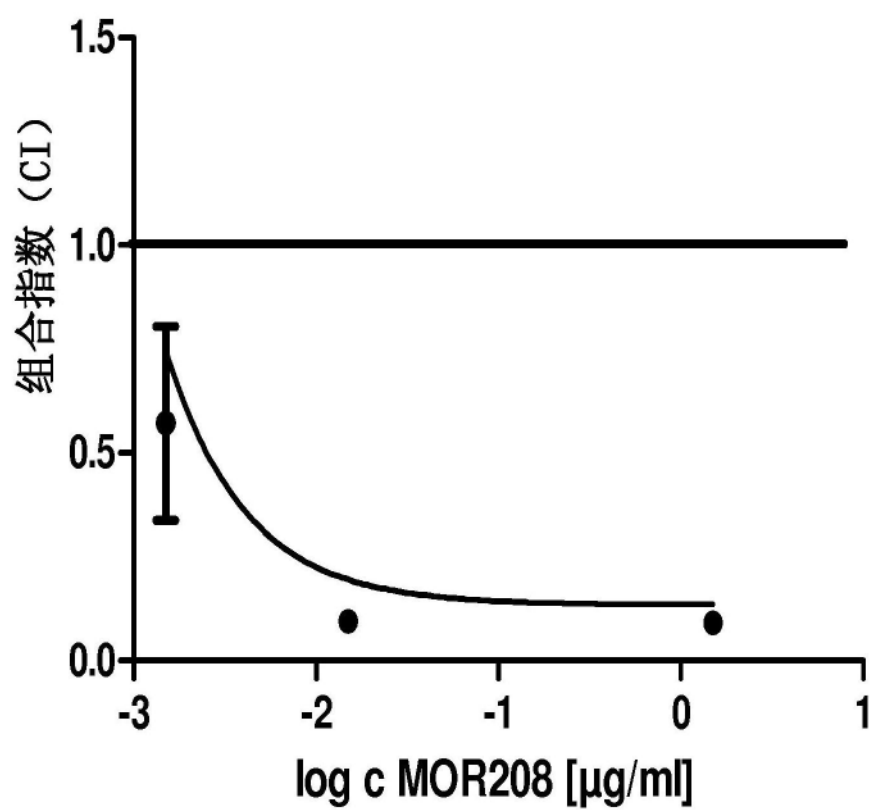
CI MOR208 + 10 μ M Idelalisib

图10