



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111565742 B

(45) 授权公告日 2024. 03. 01

(21) 申请号 201880084046.2

雷·塔比比亚扎

(22) 申请日 2018.11.05

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111565742 A

专利代理师 王玮玮 郑霞

(43) 申请公布日 2020.08.21

(51) Int.Cl.

(30) 优先权数据

A61K 38/45 (2006.01)

62/581,671 2017.11.04 US

62/618,916 2018.01.18 US

62/681,944 2018.06.07 US

(56) 对比文件

CN 103154020 A, 2013.06.12

US 2015315553 A1, 2015.11.05

WO 2016100738 A2, 2016.06.23

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2020.06.24

Mihalis S Kariolis et al..Inhibition of the GAS6/AXL pathway augments the efficacy of chemotherapies.J Clin Invest.2016,第127卷(第127期),183-192.

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2018/059218 2018.11.05

Mihalis S Kariolis et al..Inhibition of the GAS6/AXL pathway augments the efficacy of chemotherapies.J Clin Invest.2016,第127卷(第127期),183-192.

(87) PCT国际申请的公布数据
WO2019/090227 EN 2019.05.09

(73) 专利权人 艾拉维弗生物制品公司
地址 美国德克萨斯州

审查员 宋梦

(72) 发明人 盖尔·麦金太尔
大卫·普罗哈斯卡

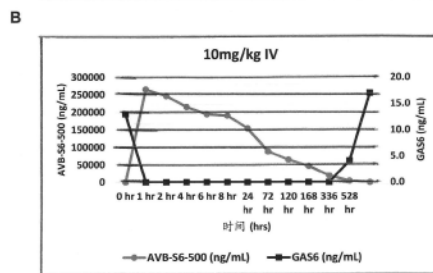
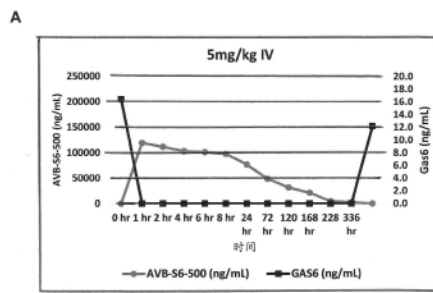
权利要求书1页 说明书26页
序列表4页 附图9页

(54) 发明名称

使用AXL诱骗受体治疗转移性癌症的方法

(57) 摘要

提供了用于治疗哺乳动物中的人类转移性癌症的组合物和方法,所述治疗通过施用治疗剂量的抑制AXL蛋白活性(例如通过抑制AXL与其配体GAS6之间的结合性相互作用)的药物组合物进行。



1. 以下的组合在制备用于治疗患者的铂耐受性卵巢转移性癌症的药物中的用途:a) 治疗有效量的分离的可溶性AXL变体多肽和b) 治疗有效量的紫杉醇,其中所述可溶性AXL变体多肽缺乏AXL跨膜结构域、缺乏功能性纤连蛋白(FN)结构域、具有一个Ig1结构域、具有一个Ig2结构域,并且具有由以下组成的组的对野生型AXL序列(SEQ ID NO: 1)的一组氨基酸修饰:Gly32Ser、Ala72Val、Asp87Gly、Val192Ala和Gly127Arg;其中所述修饰增加了所述AXL多肽结合生长停滞特异性蛋白6(GAS6)的亲合力,其中所述可溶性AXL变体多肽通过肽接头与Fc区融合。

使用AXL诱骗受体治疗转移性癌症的方法

[0001] 相关专利申请

[0002] 本申请要求于2017年11月4日提交的美国临时申请第62/581,671号;于2018年1月18日提交的美国临时申请第62/618,916号;和于2018年6月7日提交的美国临时申请第62/681,944号的权益,其每一个都通过引用以其整体并入本文。

[0003] 序列列表

[0004] 本申请包含呈“打印输出”形式的序列列表(PDF文件),以及呈计算机可读形式的包含本文中提交的参考序列(SEQ D NO:1)的文件。序列列表使用如37C.F.R.1.822规定的针对氨基酸的标准三字母代码来示出。

[0005] 关于联邦赞助研究或开发的声明

[0006] 本工作得到了德克萨斯州癌症预防和研究所(Cancer Prevention & Research Institute of Texas)新产品开发奖(New Company Product Development Award) DP150127的支持。美国德克萨斯州可能对本申请颁布的任何专利拥有权利。

技术领域

[0007] 癌症是一组涉及具有扩散或侵袭身体其他部分的潜能的异常细胞生长的疾病。形成离散肿瘤块(即不包含囊肿或液体区域)的异常生长被定义为实体肿瘤。实体肿瘤可以是良性的(非癌症)或恶性的(癌症)。不同类型的实体肿瘤以形成它们的细胞类型被命名。实体肿瘤的实例是肉瘤、上皮癌和淋巴瘤。衍生自两种血细胞系(骨髓和淋巴)中的任一种的癌症被定义为血液恶性肿瘤。这样的恶性肿瘤也被称为血癌或液体肿瘤。液体肿瘤的实例包括多发性骨髓瘤、急性白血病(例如,11q23阳性急性白血病、急性淋巴细胞白血病、急性髓细胞白血病(acute myelocytic leukemia)、急性骨髓性白血病(acute myelogenous leukemia)和成髓细胞性白血病、早幼粒细胞白血病、骨髓单核细胞白血病(myelomonocytic leukemia)、单核细胞白血病和红白血病)、慢性白血病(例如,慢性髓细胞(粒细胞)白血病(chronic myelocytic (granulocytic) leukemia)、慢性骨髓性白血病(chronic myelogenous leukemia)和慢性淋巴细胞白血病)、真性红细胞增多症、淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤(无痛性(indolent)和高级形式(high grade forms))、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、重链病、骨髓增生异常综合征、毛细胞白血病和骨髓发育不良。

[0008] 癌症患者可用的治疗严重依赖于包括外科手术、细胞减少性疗法(cytoreductive therapy)和细胞毒性化学疗法的组合疗法。不幸的是,虽然在一些情况下有效,但对正常组织的副作用通常表现为剂量限制性毒性并且妨碍肿瘤根除。而且即使当这些不同疗法的副作用可被管理时,长期持续的反应往往难以捉摸;特别是对于治疗上难治的转移性疾病,情况更是如此。

[0009] 靶向疗法的概念,即,靶向特定的分子或信号途径是为了解决这些问题并且减少对正常组织的副作用而开发的。然而,大多数患者未能表现出对这些靶向治疗的响应,或者作出响应然后很快复发。因此,对于可以与当前的护理标准组合使用以解决转移性并且治疗难治性疾病的更有效的靶向疗法存在需求。

[0010] 在癌症预防和治疗方面的治疗工作正集中在信号传导途径或选择性调节蛋白的水平上。蛋白激酶活性、钙稳态和癌蛋白活化是驱动信号,并且因此可能是治疗干预的关键调节位点。AXL受体及其活化配体,生长停滞特异性蛋白6 (GAS6) 是人类癌症的转移和治疗耐药性的重要驱动物。AXL属于受体酪氨酸激酶的TAM家族,包括Tyro3 (或SKY)、AXL和MER (O' Bryan, JR, Molecular and Cellular Biology, 5016-5031, 1991)。GAS6是所有三种受体的共同配体。与其他拥有用于信号传导的过剩 (redundant) 配体的TAM家族成员相比,AXL的唯一已知的配体是GAS6 (具有非常高的天然结合亲和力)。已经发现GAS6-AXL信号传导途径的过表达和活化在包括肾癌、胰腺癌、乳腺癌、肺癌、卵巢癌和前列腺癌在内的许多种人类肿瘤中是重要的 (Rankin, EK, PNAS, 13373-13378, 2014)。AXL在高转移性癌症中的过表达与预后不良、侵袭性肿瘤行为和对疗法的耐药性相关。研究显示,在实体肿瘤中,GAS6-AXL信号传导途径的活化促进了肿瘤侵袭和转移以及对常用化学治疗剂的耐药性的发展。鉴于GAS6和AXL在晚期和难治性癌症中发挥的关键作用,这个信号传导轴线代表了治疗干预的有吸引力的靶。不幸的是,GAS6和AXL之间的~30pM的异常强的结合亲和力使得竞争性拮抗剂的开发具有挑战性。

[0011] AXL受体包含两个不同的GAS6结合表位:在其N-末端免疫球蛋白样 (Ig) 结构域上的高亲和力位点和在第二个Ig结构域上的低亲和力位点。本发明人已经利用合理的和组合的蛋白工程化方法的组合对AXL Ig1上的主要位点进行了工程化,以提供半衰期长的AXL“诱骗受体 (decoy receptor)”,该AXL“诱骗受体”以高于内源性AXL的亲和力结合GAS6,有效地螯合GAS6并且消除AXL信号传导。这些诱骗受体在体外减少了高转移性细胞的侵袭/迁移,并且抑制了人类胰腺癌、肾癌、乳腺癌和卵巢癌的侵袭性临床前模型中的转移性疾病,并且表现出良性的安全性谱。当在非临床模型中与目前临床上开发的最先进的抗AXL小分子直接比较时,诱骗受体获得了优异的抗肿瘤功效,同时在药理学研究中未展示出毒性。而且更重要的是,尽管大多数肿瘤药物由于与中靶 (on-target) 和脱靶 (off-target) 效应两者引起的有效剂量相关的显著毒性而需要在癌症患者群体中启动临床研究,但本发明人工程化的诱骗受体不是细胞毒性药物。

[0012] 专利文件13/554,954;13/595,936;13/714,875;13/950,111;14/712,731;14/650,852;14/650,854;14/910,565;US2011/022125;US2013/056435;US2012/069841;US2013/074809;US2013/074786;US2013/074796;US2015/0315553的所有教导通过引用被明确并入本文。

[0013] 本发明的公开内容

[0014] 在一方面中,本发明提供了用于治疗增生性疾病例如人类转移性癌症的方法,所述方法包括根据与对照相比被确定为实现延长的总体存活期 (overall survival) 的方案施用可溶性AXL多肽。

[0015] 在一些实施方案中,增生性疾病是选自由以下组成的组的癌症: B细胞淋巴瘤、肺癌 (小细胞肺癌和非小细胞肺癌)、支气管癌、结肠直肠癌、前列腺癌、乳腺癌、胰腺癌、胃癌、卵巢癌、泌尿膀胱癌 (urinary bladder cancer)、脑癌或中枢神经系统癌、周围神经系统癌、食道癌、宫颈癌、黑色素瘤、子宫癌或子宫内膜癌、口腔或咽部的癌症、肝癌、肾癌、胆道癌、小肠癌或阑尾癌、唾液腺癌、甲状腺癌、肾上腺癌、骨肉瘤、软骨肉瘤、脂肪肉瘤、睾丸癌和恶性纤维组织细胞瘤、皮肤癌、头颈癌、淋巴瘤、肉瘤、多发性骨髓瘤和白血病。在一些实施方案

中,癌症是卵巢癌。在一些实施方案中,癌症是乳腺癌。

[0016] 在一些实施方案中,癌症是过表达生物标志物GAS6和/或AXL的癌症。在一些实施方案中,癌症是复发性癌症。在一些实施方案中,癌症是对标准疗法耐受的人类转移性癌症。在一些实施方案中,人类转移性癌症是化疗耐药性癌症。在一些实施方案中,人类转移性癌症是铂耐药性癌症。

[0017] 在另一方面中,本发明提供了用于治疗人类转移性癌症的方法,所述方法包括施用可溶性AXL多肽与第二疗法的组合,所述可溶性AXL多肽缺乏AXL跨膜结构域并且具有至少一个相对于野生型AXL的突变,与野生型AXL相比,该突变增加了AXL多肽结合GAS6的亲合力,所述第二疗法选自由以下组成的组:小分子激酶抑制剂靶向疗法、手术、细胞减少性疗法、细胞毒性化学疗法和免疫疗法。

[0018] 在一些实施方案中,第二疗法是细胞减少性疗法,并且所述组合可以增加细胞减少性疗法的治疗指数。在一些实施方案中,细胞减少性疗法可以在DNA修复途径中起作用。在一些实施方案中,细胞减少性疗法是放射疗法。在一些实施方案中,所述组合可以是协同性的。

[0019] 在一些实施方案中,第二疗法是选自由以下组成的组的化学治疗剂:柔红霉素、阿霉素(多柔比星)、表柔比星、伊达比星、安那霉素(annamycin)、MEN 10755、依托泊苷、替尼泊苷、长春花碱、长春新碱、长春瑞滨(NAVELBINE)、长春地辛,文多灵、长春胺、氮芥、环磷酰胺、美法仑(L-溶肉瘤素)、卡莫司汀(BCNU)、洛莫司汀(CCNU)、司莫司汀(甲基-CCNU)、链脲霉素、氯脲霉素、阿糖胞苷(CYTOSAR-U)、胞嘧啶阿拉伯糖苷、氟尿嘧啶(5-FU)、氟尿苷(FUdR)、硫代鸟嘌呤(6-硫代鸟嘌呤)、巯基嘌呤(6-MP)、喷司他丁、氟尿嘧啶(5-FU),氨甲蝶呤、10-炔丙基-5,8-二脱氮杂叶酸(PDDF,CB3717)、5,8-二脱氮四氢叶酸(DDATHF)、甲酰四氢叶酸、顺铂(顺-DDP)、卡铂、奥沙利铂、羟基脲、吉西他滨和N-甲基胍。在一些实施方案中,所述组合可以是协同性的。

[0020] 在一些实施方案中,第二疗法将包括选自但不限于以下的免疫疗法:使用针对特定肿瘤抗原的消耗性抗体的治疗;使用抗体-药物缀合物的治疗;使用针对共刺激性分子或共抑制性分子(免疫检查点)诸如CTLA-4、PD-1、OX-40、CD137、GITR、LAG3、TIM-3和VISTA的激动性抗体、拮抗性抗体或阻断性抗体的治疗;使用双特异性T细胞接合抗体(BiTE®)诸如博纳吐单抗(blinatumomab)的治疗;涉及施用生物应答调节剂诸如IL-2、IL-12、IL-15、IL-21、GM-CSF、IFN- α 、IFN- β 和IFN- γ 的治疗;使用治疗性疫苗诸如sipuleucel-T的治疗;使用树突状细胞疫苗或肿瘤抗原肽疫苗的治疗;使用嵌合抗原受体(CAR)-T细胞的治疗;使用CAR-NK细胞的治疗;使用肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)的治疗;使用过继转移的抗肿瘤T细胞(离体扩增的和/或TCR转基因的)的治疗;使用TALL-104细胞的治疗;和使用免疫刺激剂诸如Toll-样受体(TLR)激动剂CpG和咪喹莫特(imiquimod)的治疗;其中组合疗法提供了增加的对肿瘤细胞的效应细胞杀伤,即,当被共施用时,可溶性AXL多肽和免疫疗法之间存在协同作用。

[0021] 在一些实施方案中,第二疗法将包括施用聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)抑制剂。在一些实施方案中,PARP抑制剂选自由以下组成的组:ABT-767、AZD 2461、BGB-290、BGP 15、CEP 9722、E7016、E7449、氟唑帕利(fluzoparib)、IN01001、JPI 289、MP 124、尼拉帕利(niraparib)、奥拉帕利(olaparib)、ON02231、卢卡帕利(rucaparib)、SC 101914、他拉唑帕

利(talazoparib)、维利帕利(veliparib)、WW 46或其盐或衍生物。在一些实施方案中,所述组合可以是协同性的。

[0022] 在一些实施方案中,治疗方法将包括施用可溶性AXL变体多肽与聚乙二醇脂质体多柔比星(PLD)的组合。在一些实施方案中,治疗方法将包括施用可溶性AXL变体多肽与紫杉醇的组合。在一些实施方案中,所述组合可以是协同性的。

[0023] 在一些实施方案中,可溶性AXL多肽是可溶性AXL变体多肽,其中所述可溶性AXL变体多肽缺乏AXL跨膜结构域,缺乏功能性纤连蛋白(FN)结构域,具有一个或更多个Ig1结构域,具有一个或更多个Ig2结构域,并且其中与野生型AXL相比,所述AXL变体多肽表现出AXL变体多肽结合GAS6的增加的亲和力。

[0024] 在一些实施方案中,可溶性AXL多肽是可溶性AXL变体多肽,其中所述可溶性AXL变体多肽缺乏AXL跨膜结构域,缺乏功能性纤连蛋白(FN)结构域,具有一个Ig1结构域,缺乏功能性Ig2结构域,并且其中与野生型AXL相比,所述AXL变体多肽表现出AXL变体多肽结合GAS6的增加的亲和力。

[0025] 在一些实施方案中,AXL变体多肽是包含Fc结构域的融合蛋白。在一些实施方案中,变体多肽缺乏AXL细胞内结构域。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽还缺乏功能性纤连蛋白(FN)结构域,并且其中所述变体多肽表现出该多肽结合GAS6的增加的亲和力。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽包含至少一个相对于野生型AXL序列的氨基酸修饰。

[0026] 在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽包含至少一个氨基酸修饰,所述氨基酸修饰位于选自自由以下组成的组的区域中:1)在野生型AXL序列(SEQ ID NO:1)的15-50位之间,2)在野生型AXL序列(SEQ ID NO:1)的60-120位之间,和3)在野生型AXL序列(SEQ ID NO:1)的125-135位之间。

[0027] 在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽包含至少一个氨基酸修饰,所述氨基酸修饰位于野生型AXL序列(SEQ ID NO:1)的以下位置处:19、23、26、27、32、33、38、44、61、65、72、74、78、79、86、87、88、90、92、97、98、105、109、112、113、116、118或127或其组合。

[0028] 在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽包含至少一个选自自由以下组成的组的氨基酸修饰:1) A19T, 2) T23M, 3) E26G, 4) E27G或E27K, 5) G32S, 6) N33S, 7) T38I, 8) T44A, 9) H61Y, 10) D65N, 11) A72V, 12) S74N, 13) Q78E, 14) V79M, 15) Q86R, 16) D87G, 17) D88N, 18) I90M或I90V, 19) V92A、V92G或V92D, 20) I97R, 21) T98A或T98P, 22) T105M, 23) Q109R, 24) V112A, 25) F113L, 26) H116R, 27) T118A, 28) G127R或G127E和29) G129E及其组合。

[0029] 在一些实施方案中,AXL变体多肽包含相对于野生型AXL序列(SEQ ID NO:1)在以下位置处的氨基酸变化:(a)甘氨酸32;(b)天冬氨酸87;(c)缬氨酸92;和(d)甘氨酸127。

[0030] 在一些实施方案中,AXL变体多肽包含相对于野生型AXL序列(SEQ ID NO:1)在以下位置处的氨基酸变化:(a)天冬氨酸87和(b)缬氨酸92。

[0031] 在一些实施方案中,AXL变体多肽包含相对于野生型AXL序列(SEQ ID NO:1)在以下位置处的氨基酸变化:(a)甘氨酸32;(b)天冬氨酸87;(c)缬氨酸92;(d)甘氨酸72;和(e)丙氨酸72。

[0032] 在一些实施方案中,AXL变体多肽包含相对于野生型AXL序列(SEQ ID NO:1)在以下位置处的氨基酸变化:丙氨酸72。

[0033] 在一些实施方案中,AXL变体多肽的甘氨酸32残基被丝氨酸残基取代,天冬氨酸87

残基被甘氨酸残基取代,缬氨酸92残基被丙氨酸残基取代,或甘氨酸127残基被精氨酸残基取代,或其组合。

[0034] 在一些实施方案中,AXL变体多肽残基的天冬氨酸87残基被甘氨酸残基取代,或缬氨酸92残基被丙氨酸残基取代,或其组合。

[0035] 在一些实施方案中,AXL变体多肽的丙氨酸72残基被缬氨酸残基取代。

[0036] 在一些实施方案中,AXL变体多肽的甘氨酸32残基被丝氨酸残基取代,天冬氨酸87残基被甘氨酸残基取代,缬氨酸92残基被丙氨酸残基取代,甘氨酸127残基被精氨酸残基取代,或丙氨酸72残基被缬氨酸残基取代,或其组合。

[0037] 在一些实施方案中,AXL变体包含相对于野生型AXL序列(SEQ ID NO:1)在以下位置处的氨基酸变化:(a) 谷氨酸26;(b) 缬氨酸79;(c) 缬氨酸92;和(d) 甘氨酸127。

[0038] 在一些实施方案中,AXL变体多肽的谷氨酸26残基被甘氨酸残基取代,缬氨酸79残基被甲硫氨酸残基取代,缬氨酸92残基被丙氨酸残基取代,或甘氨酸127残基被精氨酸残基取代,或其组合。

[0039] 在一些实施方案中,AXL变体多肽包含至少一个选自由以下组成的组的氨基酸区域:野生型AXL多肽(SEQ ID NO:1)的氨基酸区域19-437、130-437、19-132、21-121、26-132、26-121和1-437,并且其中一个或多个氨基酸修饰发生在所述氨基酸区域中。

[0040] 在一些实施方案中,AXL变体多肽包含相对于野生型AXL序列(SEQ ID NO:1)在以下位置处的氨基酸变化:(a) 甘氨酸32;(b) 天冬氨酸87;(c) 丙氨酸72;和缬氨酸92。

[0041] 在一些实施方案中,AXL变体多肽甘氨酸32被丝氨酸残基取代,天冬氨酸87被甘氨酸残基取代,丙氨酸72被缬氨酸残基取代,并且缬氨酸92被丙氨酸残基取代,或其组合。

[0042] 在一些实施方案中,可溶性AXL多肽是包含Fc结构域的融合蛋白,并且其中所述AXL变体包含相对于野生型AXL序列(SEQ ID NO:1)在以下位置处的氨基酸变化:(a) 甘氨酸32;(b) 天冬氨酸87;(c) 丙氨酸72;和(d) 缬氨酸92。

[0043] 在一些实施方案中,可溶性AXL多肽是包含Fc结构域的融合蛋白,并且其中甘氨酸32被丝氨酸残基取代,天冬氨酸87被甘氨酸残基取代,丙氨酸72被缬氨酸残基取代,并且缬氨酸92被丙氨酸残基取代,或其组合。

[0044] 在一些实施方案中,可溶性AXL多肽是包含Fc结构域的融合蛋白,并且其中所述AXL变体包含相对于野生型AXL序列(SEQ ID NO:1)在以下位置处的氨基酸变化:(a) 甘氨酸32;(b) 天冬氨酸87;(c) 丙氨酸72;(d) 缬氨酸92;和(e) 甘氨酸127。

[0045] 在一些实施方案中,可溶性AXL多肽是包含Fc结构域的融合蛋白,并且其中甘氨酸32被丝氨酸残基取代,天冬氨酸87被甘氨酸残基取代,丙氨酸72被缬氨酸残基取代,缬氨酸92被丙氨酸残基取代,并且甘氨酸127被精氨酸残基取代,或其组合。

[0046] 在一些实施方案中,可溶性AXL多肽是包含Fc结构域、缺乏功能性FN结构域的融合蛋白,并且其中所述AXL变体包含相对于野生型AXL序列(SEQ ID NO:1)在以下位置处氨基酸变化:(a) 甘氨酸32;(b) 天冬氨酸87;(c) 丙氨酸72;和(d) 缬氨酸92。

[0047] 在一些实施方案中,可溶性AXL变体是包含Fc结构域、缺乏功能性FN结构域的融合蛋白,并且其中甘氨酸32被丝氨酸残基取代,天冬氨酸87被甘氨酸残基取代,丙氨酸72被缬氨酸残基取代,并且缬氨酸92被丙氨酸残基取代,或其组合。

[0048] 在一些实施方案中,可溶性AXL多肽是包含Fc结构域、缺乏功能性FN结构域的融合

蛋白,并且其中所述AXL变体包含相对于野生型AXL序列(SEQ ID NO:1)在以下位置处的氨基酸变化:(a)甘氨酸32;(b)天冬氨酸87;(c)丙氨酸72;(d)缬氨酸92;和(e)甘氨酸127。

[0049] 在一些实施方案中,可溶性AXL变体是包含Fc结构域、缺乏功能性FN结构域的融合蛋白,并且其中甘氨酸32被丝氨酸残基取代,天冬氨酸87被甘氨酸残基取代,丙氨酸72被缬氨酸残基取代,缬氨酸92被丙氨酸残基取代,并且甘氨酸127被精氨酸残基取代,或其组合。

[0050] 在一些实施方案中,可溶性AXL多肽是包含Fc结构域、缺乏功能性FN结构域、缺乏Ig2结构域的融合蛋白,并且其中所述AXL变体包含相对于野生型AXL序列(SEQ ID NO:1)在以下位置处的氨基酸变化:(a)甘氨酸32;(b)天冬氨酸87;(c)丙氨酸72和(d)缬氨酸92。

[0051] 在一些实施方案中,可溶性AXL变体是包含Fc结构域、缺乏功能性FN结构域、缺乏Ig2结构域的融合蛋白,并且其中甘氨酸32被丝氨酸残基取代,天冬氨酸87被甘氨酸残基取代,丙氨酸72被缬氨酸残基取代,并且缬氨酸92被丙氨酸残基取代,或其组合。

[0052] 在一些实施方案中,可溶性AXL多肽是包含Fc结构域、缺乏功能性FN结构域、缺乏Ig2结构域的融合蛋白,并且其中所述AXL变体包含相对于野生型AXL序列(SEQ ID NO:1)在以下位置处的氨基酸变化:(a)甘氨酸32;(b)天冬氨酸87;(c)丙氨酸72;(d)缬氨酸92;和(e)甘氨酸127。

[0053] 在一些实施方案中,可溶性AXL变体是包含Fc结构域、缺乏功能性FN结构域、缺乏Ig2结构域的融合蛋白,并且其中甘氨酸32被丝氨酸残基取代,天冬氨酸87被甘氨酸残基取代,丙氨酸72被缬氨酸残基取代,缬氨酸92被丙氨酸残基取代,并且甘氨酸127被精氨酸残基取代,或其组合。

[0054] 在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽对GAS6具有至少约 1×10^{-8} M、 1×10^{-9} M、 1×10^{-10} M、 1×10^{-11} M或 1×10^{-12} M的亲合力。

[0055] 在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽对GAS6表现出的亲合力是野生型AXL多肽的亲合力的至少约5倍强、至少约10倍强或至少约20倍强。

[0056] 在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽还包含接头。在一些实施方案中,接头包含一个或更多个(GLY)₄SER单元。在一些实施方案中,接头包含1个、2个、3个或5个(GLY)₄SER单元。

[0057] 在一些实施方案中,被施用至患者的可溶性AXL变体多肽的剂量选自由以下组成的组:约0.5mg/kg、约1.0mg/kg、约1.5mg/kg、约2.0mg/kg、约2.5mg/kg、约3.0mg/kg、约3.5mg/kg、约4.0mg/kg、约4.5mg/kg、约5.0mg/kg、约5.5mg/kg、约6.0mg/kg、约6.5mg/kg、约7.0mg/kg、约7.5mg/kg、约8.0mg/kg、约8.5mg/kg、约9.0mg/kg、约9.5mg/kg、约10.0mg/kg、约10.5mg/kg、约11.0mg/kg、约11.5mg/kg、约12.0mg/kg、约12.5mg/kg、约13.0mg/kg、约13.5mg/kg、约14.0mg/kg、约14.5mg/kg、约15.0mg/kg、约15.5mg/kg、约16.0mg/kg、约16.5mg/kg、约17.0mg/kg、约17.5mg/kg、约18.0mg/kg、约18.5mg/kg、约19.0mg/kg、约19.5mg/kg和约20.0mg/kg。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为IV输注剂以每周10mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为IV输注剂以每周5mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为IV输注剂以每周2.5mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为IV输注剂以每周1mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为IV输注剂以每14天20mg/kg的剂量在30分钟或

60分钟内被给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为IV输注剂以每14天10mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为IV输注剂以每14天5mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为IV输注剂以每14天2.5mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为IV输注剂以每14天1mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内给予。

[0058] 附图简述

[0059] 图1.使用AXL诱骗受体抑制GAS6诱发的侵袭/迁移。(A)将无血清培养基中的可溶性AXL诱骗受体(AVB-S6-500)和MDA-MB-231Ax1⁺TNBC细胞接种在涂有基质胶(Matrigel)的博伊登室(Boyden Chamber)的上部。将作为化学引诱剂的含血清的培养基添加至室底部。孵育24小时后,对迁移穿过基质胶的细胞数目计数,并表示为侵袭细胞相对于PBS对照的分数。(B)将AVB-S6-500、OVCAR8 Ax1⁺卵巢癌细胞、1型胶原、50ng/mL GAS6和生长培养基接种到微孔中并且孵育。在第6天,对显示出侵袭性表型的细胞数目计数并且表示为侵袭细胞相对于PBS对照的分数。1μg/mL至100μg/mL的范围内的AVB-S6-500显著抑制了GAS6诱发的细胞侵袭/迁移。

[0060] 图2.来自AVB-S6-500 MDA-MB-231细胞侵袭测定的代表性图像。

[0061] 图3.使用AXL诱骗受体减少转移性肿瘤负荷。对小鼠腹膜内(IP)接种SKOV3.ip卵巢癌肿瘤细胞(1×10^6 个),并且随机分组,并且每隔一天(Q2D)施用5mg/kg、10mg/kg或20mg/kg的AVB-S6-500。给药24天后,通过对腹膜腔中所有可见的转移性病灶计数,并且切下所有病变组织并对其称重以确定转移灶的总重量(A)和数目(B),来评估转移性肿瘤负荷。AVB-S6-500在以10mg/kg和20mg/kg被施用显著减少了转移性肿瘤负荷。

[0062] 图4.使用AXL诱骗受体和多柔比星的组合的更佳功效。对小鼠腹膜内(IP)接种SKOV3.ip卵巢癌肿瘤细胞(1×10^6 个),并且随机分组,并且单独施用20mg/kg Q2D的AVB-S6-500,或者施用20mg/kg Q2D的AVB-S6-500与每周两次2mg/kg多柔比星(DOX)的组合。给药24天后,评估转移性肿瘤负荷。对转移灶的总重量(A)和数目(B)的比较显示出组合疗法的显著益处。AVB-S6-500和多柔比星的组合显著降低了病变组织的平均重量并且治愈了2只动物。

[0063] 图5.在5mg/kg(1.7mg/kg人类当量剂量)的AXL诱骗受体的单次给药后,食蟹猴的血清GAS6被消除~1周。在食蟹猴中,5mg/kg AVB-S6-500导致血清GAS6被消除至少168小时,并且在每周重复给药研究中确定了NOAEL \geq 150mg/kg/天。

[0064] 图6.在1mg/kg(A)和2.5mg/kg(B)的AXL诱骗受体的单次给药后,人类受试者的血清GAS6被消除~1周。

[0065] 图7.在5mg/kg(A)和10mg/kg(B)的AXL诱骗受体的单次给药后,人类受试者的血清GAS6被消除~1周。

[0066] 图8.描绘健康受试者在单次IV输注AVB-S6-500后AVB-S6-500的平均(+/-)浓度的线形图(N=6/剂量)。

[0067] 图9.描绘健康受试者单次IV输注AVB-S6-500后血清GAS6的平均(+/-)浓度的线形图(n=6/剂量)。

[0068] 用于实施本发明的方式

[0069] 定义

[0070] 除非另外定义,否则关于本发明所使用的科学和技术术语应当具有本领域普通技术人员通常理解的含义。此外,除非上下文另外要求,否则单数术语应当包括复数,并且复数术语应当包括单数。通常,本文描述的关于细胞和组织培养、分子生物学、免疫学、微生物学、遗传学和蛋白及核酸化学以及杂交所使用的命名和技术是本领域常用且熟知的那些。除非另外指示,否则本发明的方法和技术通常根据本领域熟知的常规方法以及如在贯穿本说明书中引用和讨论的多个综合的和更具体的参考文献中描述地进行。参见,例如,Green和Sambrook,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第四版.,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y. (2012),其被通过引用并入本文。酶促反应和纯化技术根据生产商的说明书来进行,如本领域通常实现的或如本文描述的。本文描述的关于分析化学、合成有机化学和医疗化学及药物化学使用的命名以及实验程序和技术是本领域通常使用且熟知的那些。对于化学合成、化学分析、药物制备、制剂和递送以及受试者的治疗使用标准技术。

[0071] 如本文使用的术语“肿瘤”是指所有的赘生性细胞生长和增殖(不论恶性或良性),以及所有的癌前和癌性细胞和组织。

[0072] 术语“癌症”、“赘生物”和“肿瘤”在本文中可互换使用,以指表现出自主的、不受调控的生长的细胞,使得它们表现出异常的生长表型,其特征在于极大地损失对细胞增殖的控制。通常,本申请中待检测、分析、分类或治疗的感兴趣的细胞包括癌前(例如,良性)细胞、恶性细胞、转移前细胞和非转移性细胞。

[0073] 术语“原发性肿瘤”是指所有赘生性细胞的生长和增殖(不论恶性或良性)以及所有癌前和癌性细胞及组织,其位于细胞自主的、不受调控的生长始发的解剖学部位,例如原始癌性肿瘤的器官。原发性肿瘤不包括转移。

[0074] 癌症的“病理学”包括所有损害患者健康的现象。这包括但不限于异常或不可控的细胞生长、原发性肿瘤生长和形成、转移、干扰邻近细胞的正常功能、以异常水平释放细胞因子或其他分泌产物、阻抑或加重炎症应答或免疫应答、赘生物形成、癌前病变、恶性肿瘤、侵袭周围或远处的组织或器官诸如淋巴结等。

[0075] 如本文使用的,术语“癌症复发”和“肿瘤复发”及其语法变体是指在癌症诊断后赘生性或癌性细胞的进一步生长。特别地,当进一步的癌性细胞生长发生于癌性组织中时,复发可能发生。类似地,“肿瘤扩散”发生在肿瘤细胞扩散到局部或远端组织和器官中时;因此,肿瘤扩散包括肿瘤转移。“肿瘤侵袭”发生在肿瘤生长局部扩散而通过压迫、破坏或阻止正常器官功能而损害所涉及的组织的功能时。

[0076] 如本文使用的,术语“转移”是指癌性肿瘤在不直接与原始癌性肿瘤的器官相连的器官或身体部位中的生长。转移将被理解为包括微转移,微转移是在与原始癌性肿瘤的器官(例如,包含原发性肿瘤的器官)不直接相连的器官或身体部位中存在无法检测的量的癌性细胞。转移也可以被定义为一个过程的若干步骤,诸如癌细胞从原始肿瘤部位(例如,原发性肿瘤部位)离开以及癌细胞迁移和/或侵袭至身体的其他部位。

[0077] 取决于癌症的性质,获得适当的患者样品。如本文使用的,措辞“癌性组织样品”是指从癌性肿瘤获得的任何细胞。在尚未转移的实体肿瘤(例如原发性肿瘤)的情况下,通常从手术取出的肿瘤获得组织样品,并且准备通过常规技术以便于测试。

[0078] 适当的患者样品的定义包括血液和其他生物来源的液体样品、固体组织样品诸如

活组织检查样本或组织培养物或从其获得的细胞及其后代。该定义包括血液和其他生物来源的液体样品、固体组织样品诸如活组织检查样本或组织培养物或从其获得的细胞及其后代。该定义还包括在其获得后以任何方式被操作,诸如通过用试剂处理、洗涤或富集某些细胞群体诸如癌细胞的样品。该定义还包括已经针对特定类型的分子(例如核酸、多肽等)被富集的样品。术语“生物样品”包括临床样品,并且还包括通过外科手术切除获得的组织、通过活组织检查获得的组织、正在培养的细胞、细胞上清液、细胞裂解物、组织样品、器官、骨髓、血液、血浆、血清等。“生物样品”包括从患者的癌细胞获得的样品,例如,从患者的癌细胞获得的包括多核苷酸和/或多肽的样品(例如,包括多核苷酸和/或多肽的细胞裂解物或其他细胞提取物);和包括来自患者的癌细胞的样品。包括来自患者的癌细胞的生物样品也可以包括非癌性细胞。

[0079] 用本发明的方法治疗的感兴趣的肿瘤包括实体肿瘤,例如癌、神经胶质瘤、黑色素瘤、肉瘤等。特别感兴趣的是卵巢癌和乳腺癌。癌包括多种腺癌,例如前列腺癌、肺癌等;肾上腺皮质癌;肝细胞癌;肾细胞癌、卵巢癌、原位癌、导管癌、乳腺癌、基底细胞癌;鳞状细胞癌;移行细胞癌;结肠癌;鼻咽癌;多房囊性肾细胞癌;燕麦细胞癌、大细胞肺癌;小细胞肺癌等。癌可见于前列腺、胰腺、结肠、脑(例如,胶质母细胞瘤)、肺、乳房、皮肤等。指定为软组织肿瘤的包括源自成纤维细胞、肌成纤维细胞、组织细胞、血管细胞/内皮细胞和神经鞘细胞的赘生物。结缔组织的肿瘤包括肉瘤;组织细胞瘤;纤维瘤;骨骼软骨肉瘤;骨外黏液样软骨肉瘤;透明细胞肉瘤;纤维肉瘤等。血液学癌症包括白血病和淋巴瘤,例如皮肤T细胞淋巴瘤、急性骨髓性白血病(AML)、慢性骨髓性白血病(CML)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)等。在一些实施方案中,癌症是卵巢癌。在一些实施方案中,癌症是过表达生物标志物GAS6和/或AXL的癌症。在一些实施方案中,患者先前对用抗癌疗法的治疗有响应,但是在疗法停止后,遭受复发(下文中的“复发性癌症”)。在一些实施方案中,癌症对标准疗法耐受。在一些实施方案中,癌症是化疗耐药性癌症。在一些实施方案中,癌症是铂耐药性癌症。

[0080] 在某些实施方案中,“与……组合”、“组合治疗”和“组合产品”是指第一治疗剂和本文所用的化合物向患者的同时施用。在一些实施方案中,组合产品不同时施用。当组合施用时,每种组分可以被同时施用或在不同的时间点以任何顺序依次施用。因此,每种组分可以被单独施用,但时间上足够接近以便提供期望的治疗效果。

[0081] 如本文使用的,措辞“无疾病存活”是指没有这种肿瘤复发和/或侵袭以及针对癌症对患者寿命的影响,患者在诊断后的命运。措辞“总体存活”是指诊断后患者的命运,尽管可能患者的死亡原因不是直接由于癌症的影响。措辞“无疾病存活的可能性”、“复发的风险”及其变化形式是指在癌症诊断后肿瘤在患者中复发或扩散的概率,其中该概率根据本发明的方法来确定。

[0082] 具有期望的药理学活性的化合物可以在生理上可接受的载体中被施用至宿主,以调节AXL/GAS6功能。治疗剂可以:以口服、局部、肠胃外例如静脉内、皮下、腹膜内、通过病毒感染、血管内等的多种方式施用。静脉内递送是特别感兴趣的。取决于引入的方式,化合物可以以多种方式来配制。制剂中治疗活性化合物的浓度可从约0.1-100wt.%变化。

[0083] 药物组合物可以以多种方式来制备,诸如颗粒、片剂、丸剂、栓剂、胶囊、悬浮液、药膏、洗剂等。适于口服和局部使用的药用级有机或无机载体和/或稀释剂可以用于形成含有

治疗活性化合物的组合物。本领域已知的稀释剂包括水性介质、植物油和动物油以及脂肪。稳定剂、润湿剂和乳化剂、用于改变渗透压的盐或用于确保足够的pH值的缓冲剂以及皮肤渗透增强剂可以被用作辅助剂。

[0084] AXL或其配体GAS6的“抑制剂”、“活化剂”和“调节剂”分别用于指使用对受体或配体结合或信号传导(例如,配体、受体、激动剂、拮抗剂及其同源物和模拟物)的体外和体内测定鉴定的抑制性分子、活化性分子或调节性分子。

[0085] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白”在本文中可互换使用,来指两个或更多个氨基酸残基的聚合物。这些术语适用于其中一个或更多个氨基酸残基是天然存在的氨基酸的对应的人工化学模拟物的氨基酸聚合物,以及天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物。术语“抗体(antibody)”和“抗体(antibodies)”在本文中可互换使用,并且是指能够与通常被称为抗原的另一种分子相互作用和/或结合的多肽。抗体可以包括例如“抗原结合多肽”或“靶分子结合多肽”。本发明的抗原可以包括例如本发明中描述的任何多肽。

[0086] 术语“氨基酸”是指天然存在的氨基酸和合成氨基酸,以及以类似于天然存在的氨基酸的方式发挥功能的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然存在的氨基酸是由遗传密码编码的那些氨基酸,以及后来被修饰的那些氨基酸,例如,羟脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸和O-磷酸丝氨酸。氨基酸类似物是指具有与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构(即, α 碳与氢、羧基基团、氨基基团和R基团连接)的化合物,例如,高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砷、甲硫氨酸甲基磺(methionine methyl sulfonium)。这样的类似物具有修饰的R基团(例如,正亮氨酸)或修饰的肽骨架,但保留与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构。氨基酸模拟物是指具有与氨基酸的一般化学结构不同的结构、但以类似于天然存在的氨基酸的方式发挥功能的化合物。本发明中用于表示氨基酸的所有单字母都是根据本领域常用的公认氨基酸符号使用的,例如,A意指丙氨酸,C意指半胱氨酸,等等。氨基酸由相关位置前后的单字母表示,以反映从原始氨基酸(位置之前)向改变后的氨基酸(位置之后)的变化。例如,A19T意指在位置19处的氨基酸丙氨酸被变为苏氨酸。

[0087] 术语“受试者”、“个体”和“患者”在本文中可互换使用,来指被评估治疗和/或被治疗的哺乳动物。在实施方案中,哺乳动物是人类。术语“受试者”、“个体”和“患者”因此包括患有癌症的个体,包括那些已经接受切除术(外科手术)以去除癌性组织的患者或待接受切除术(外科手术)以去除癌性组织的候选个体,所述癌症包括但不限于卵巢或前列腺的腺癌、乳腺癌、胶质母细胞瘤等。受试者可以是人类,但也包括其他哺乳动物,特别是可用作人类疾病实验室模型的那些哺乳动物,例如小鼠、大鼠等。

[0088] 适当的患者样品的定义包括血液和其他生物来源的液体样品、固体组织样品诸如活组织检查样本或组织培养物或从其获得的细胞及其后代。该定义还包括在其获得后以任何方式被操作,诸如通过用试剂处理、洗涤或富集某些细胞群体(诸如子宫内膜细胞、肾病细胞、炎症性疾病细胞和/或移植排斥(GVHD)细胞)的样品。该定义还包括已经针对特定类型的分子(例如核酸、多肽等)被富集的样品。术语“生物样品”包括临床样品,并且还包括通过手术切除获得的组织、通过活组织检查获得的组织、正在培养的细胞、细胞上清液、细胞裂解物、组织样品、器官、骨髓、血液、血浆、血清等。“生物样品”包括从患者的样品细胞获得的样品,例如,从患者的样品细胞获得的包含多核苷酸和/或多肽的样品(例如,包含多核苷酸和/或多肽的细胞裂解物或其他细胞提取物);和包含来自患者的样品细胞的样品。包含来

自患者的样品细胞的生物样品也可以包括正常的非病变的细胞。

[0089] 术语“诊断”在本文中用于指鉴定分子或病理状态、疾病或状况，例如鉴定癌症。

[0090] 如本文使用的，术语“治疗(treatment)”、“治疗(treating)”等是指为了获得某种作用的目的而施用某种剂或执行某种程序。所述作用在完全或部分预防疾病或其症状方面可以是预防性的，和/或在实现部分或完全治愈疾病和/或疾病的症状方面可以是治疗性的。如本文使用的，“治疗”涵盖对哺乳动物特别是人类的任何癌症或暴露的任何治疗，并且包括：(a) 预防癌症；(b) 抑制癌症，即，阻止其发展；和(c) 缓解疾病，即，引起癌症消退。

[0091] 治疗可以指在治疗或改善或预防癌症方面任何成功征象，包括任何客观或主观的参数，诸如症状的减少、缓解、减弱或者使疾病状况对受试者更耐受；减慢退化或衰退的速率；或者使退化的终点不那么虚弱。症状的治疗或改善可以基于客观或主观的参数；包括医师检查的结果。相应地，术语“治疗”包括施用本发明的化合物或剂，以预防或延迟、缓解或阻滞或抑制症状或状况的发展。术语“治疗作用”是指减少、消除或预防受试者的疾病、疾病的症状或疾病的副作用。

[0092] 如本文使用的，术语“相关”或“与……相关”等术语是指两个事件的实例之间的统计关联，其中事件包括数字、数据集等。例如，当事件涉及数字时，正相关(本文中也被称为“直接相关”)意指随着一个数字增加，另一个数字也增加。负相关(本文中也被称为“逆相关”)意指随着一个数字增加，另一个数字减少。

[0093] “剂量单位”是指物理上离散的单位，适合作为用于待治疗的特定个体的单位剂量。每个单位可以含有与必需的药物载体结合的、被计算为产生期望的治疗作用的预定的量的活性化合物。剂量单位形式的规格可以由以下决定：(a) 活性化合物的独特特征和要达到的特定治疗作用，以及(b) 合成这样的活性化合物的技术中的固有限制。

[0094] “药学上可接受的赋形剂”意指可用于制备药物组合物的通常为安全的、无毒的且期望的赋形剂，并且包括对于兽医使用以及人类药物使用是可接受的赋形剂。这样的赋形剂可以是固体、液体、半固体，或者在气雾剂组合物的情况下是气体。

[0095] 术语“药学上可接受的”、“生理上可耐受的”及其语法变体在其述及组合物、载体、稀释剂和试剂时可互换地使用，并且表示这些物质能够向人类施用或对人类施用，而不会产生将妨碍组合物施用的程度的不期望的生理作用。

[0096] “治疗有效量”是指当被施用至受试者以治疗乳腺癌或卵巢癌时，足以影响这样的癌症治疗的化合物的量。“治疗有效量”可以根据例如所选的可溶性AXL变体多肽、癌症的阶段、患者的年龄、体重和/或健康状况以及开处方的医师的判断而不同。在任何特定情况下的合适的量可以容易地由本领域技术人员确定，或者能够通过常规实验来确定。

[0097] 措辞“确定治疗功效”及其变化形式可以包括用于确定治疗为受试者提供益处的任何方法。术语“治疗功效”及其变化形式通常通过与疾病相关的一种或更多种体征或症状的缓解来表示，并且可以由本领域技术人员容易地确定。“治疗功效”也可以指预防或改善通常与疾病的标准或非标准治疗相关的毒性的体征和症状。治疗功效的确定通常是适应症和疾病特异性的，并且可以包括本领域已知或可获得的用于确定治疗为患者提供有益作用的任何方法。例如，治疗功效的迹象可以包括但不限于疾病或适应症的缓解。此外，治疗功效还可包括受试者的整体健康的总体改善，诸如但不限于患者生活质量的提高、预测的受试者存活率的增加、抑郁的降低或适应症复发率的降低(缓解时间的增加)。(参见，例如，

Physicians' Desk Reference (2010))。

[0098] 如本文使用的,术语“无进展存活期”是指患有疾病(例如癌症)的受试者存活而疾病状态无显著恶化的时间段。无进展存活期可以被评估为肿瘤生长没有进展和/或其中患者的疾病状态未被确定为进行性疾病的时间段。在一些实施方案中,患有癌症的受试者的无进展存活期通过评估肿瘤(病灶)尺寸、肿瘤(病灶)数目和/或转移来评估。

[0099] 如本文使用的,“客观响应率(ORR)”被定义为在最小时间段内肿瘤尺寸减小预定量的患者的比例。响应持续时间通常从最初响应直至记录的肿瘤进展的时间来测量。通常,ORR可以被定义为部分响应加完全响应的总和。

[0100] 将已知的癌症治疗药物与本发明的药物组合物“同时施用”意指,在已知药物和本发明的组合物都具有治疗作用的时间施用该药物和AXL变体。这样的同时施用可以包括相对于本发明的化合物的施用,同时(即在相同的时间)、在前或随后施用该药物。本领域普通技术人员将不难确定特定药物和本发明的组合物的适当施用时间、顺序和剂量。

[0101] 在W02011/091305以及美国申请序列号13/554,954和13/595,936中描述了AXL、MER、Tyro3和GAS6以及相关的途径;为了所有目的,将所有这些专利通过引用以其整体并入本文。

[0102] 示例性实施方案

[0103] 本发明的方法包括通过施用本文描述的可溶性AXL变体多肽来治疗、减少或预防癌症转移。在一方面中,本发明提供了用于治疗人类转移性癌症的方法,所述方法包括施用可溶性AXL多肽,所述可溶性AXL多肽缺乏AXL跨膜结构域,并且具有至少一个相对于野生型AXL的突变,与野生型AXL相比,该突变增加了AXL多肽结合GAS6的亲合力。

[0104] 在一些实施方案中,该方法与对照相比延长了无进展存活期。在一些实施方案中,该方法与对照相比延长了总体存活期。在一些实施方案中,该方法与对照相比实现了提高的无进展存活期。在一些实施方案中,该方法与对照相比实现了提高的无化学疗法间隔期。在一些实施方案中,该方法与对照相比实现了提高的距首次后续治疗的时间。在一些实施方案中,与对照相比,该方法实现了提高的距第二次后续治疗的时间。在一些实施方案中,已经确定该方法对通过FOSI和/或EQ-5D-5L确定的生活质量没有损害作用。

[0105] 感兴趣的癌症包括实体肿瘤和血液学恶性肿瘤。在多种实施方案中,癌症选自以下组成的组: B细胞淋巴瘤、肺癌(小细胞肺癌和非小细胞肺癌)、支气管癌、结肠直肠癌、前列腺癌、乳腺癌、胰腺癌、胃癌、卵巢癌、膀胱癌、脑癌或中枢神经系统癌、周围神经系统癌、食道癌、宫颈癌、黑素瘤、子宫癌或子宫内膜癌、口腔或咽部的癌症、肝癌、肾癌、胆道癌、小肠癌或阑尾癌、唾液腺癌、甲状腺癌、肾上腺癌、骨肉瘤、软骨肉瘤、脂肪肉瘤、睾丸癌和恶性纤维组织细胞瘤、皮肤癌、头颈癌、淋巴瘤、肉瘤、多发性骨髓瘤和白血病。

[0106] 卵巢癌是女性癌症死亡的第五大原因,并且占有所有女性癌症死亡的5%。据估计,在2014年将会有21,980例新的卵巢癌病例,并且估计将有14,270名女性死于该疾病。在2012年美国女性上皮性卵巢癌的预期发病率为约22,280例(15,500例死亡),而在2012年在欧洲估计有65,538例患者(42,704例死亡)。高级浆液性卵巢癌是最常见的亚型,并且表现出广泛的基因组不稳定性,表明可能是同源重组方面的缺陷(Bowtell D D, Nat Rev Cancer 2010; 10: 803-8)。在诊断时,大多数女性表现为疾病晚期,这是死亡率高的原因。初始化学疗法由紫杉烷或铂化学疗法或两者的组合组成。虽然约75%的患者对一线治疗有响应,但

其中70%的患者最终在1至3年内复发。尽管最初的响应率高,但由于复发率高,仍有大量需求未得到满足。通过添加第三细胞毒性药物(拓扑替康、吉西他滨或doxil)来改善标准双药物化学疗法(卡铂和紫杉醇)的尝试已经失败(du Bois等人,2006和Pfisterer等人,2006)。在初次化学疗法获得响应后的维持疗法可能代表了一种通过延迟疾病进展副作用、延迟对毒性化学疗法的需要和延长总体存活来提供临床益处的途径。然而,当前在卵巢癌维持背景方面没有被广泛接受的护理标准。

[0107] 在一些实施方案中,癌症是卵巢癌。在一些实施方案中,卵巢癌对标准疗法耐受。在一些实施方案中,复发性或铂耐药性癌症是卵巢癌。在一些实施方案中,在可溶性AXL变体多肽疗法开始时,卵巢癌是铂耐药性卵巢癌。在一些实施方案中,在可溶性AXL变体多肽疗法开始时,卵巢癌是复发性、铂耐药性卵巢癌。在一些实施方案中,在可溶性AXL变体多肽疗法开始之前,卵巢癌对最近的基于铂的化学疗法方案有响应。在一些实施方案中,对最近的基于铂的化学疗法方案的响应是完全响应。在一些实施方案中,对最近的基于铂的化学疗法方案的响应是部分响应。在一些实施方案中,在可溶性AXL变体多肽疗法开始之前,卵巢癌对倒数第二个基于铂的化学疗法方案有响应。

[0108] 在另一方面中,本发明提供了用于治疗癌症的方法,所述方法包括施用可溶性AXL多肽与第二疗法的组合,所述可溶性AXL多肽缺乏AXL跨膜结构域并且具有至少一个相对于野生型AXL的突变,与野生型AXL相比,该突变增加了AXL多肽结合GAS6的亲合力,所述第二疗法选自以下组成的组:手术、细胞减少性疗法、细胞毒性化学疗法和免疫疗法。在一些实施方案中,所述组合可以是协同性的。

[0109] 在一些实施方案中,组合疗法包括抗增殖或细胞减少性疗法。抗增殖或细胞减少性疗法在治疗上用于消除宿主的肿瘤细胞和其他不期望的细胞,并且包括使用诸如递送电离辐射和施用化学治疗剂的疗法。例如,电离辐射(IR)通过在被治疗区域中沉积能量来损伤或破坏细胞用于治疗约60%的癌症患者,并且为了本发明的目的,可以以常规剂量和方案或以减少的剂量来递送。辐射对细胞的损伤是非特异性的,对DNA有复杂的作用。治疗的功效取决于对癌细胞的细胞损伤大于对正常细胞的损伤。放射疗法可以用来治疗各种癌症。一些类型的放射疗法包括光子,诸如X射线或 γ 射线。另一种用于向癌细胞递送辐射的技术是内部放射疗法,它将放射性植入物直接放置在肿瘤或体腔中,使得辐射剂量集中在小区域中。电离辐射的合适剂量的范围可以从至少约2Gy至不多于约10Gy,通常为约5Gy。紫外线辐射的合适剂量的范围可以从至少约5J/m²至不多于约50J/m²,通常为约10J/m²。样品可以在紫外线辐射后从至少约4小时且不多于约72小时,通常为约4小时左右,被收集。

[0110] 化学治疗剂是本领域熟知的,并且以常规剂量和方案使用,或者以减少的剂量或方案使用,包括例如,拓扑异构酶抑制剂诸如蒽环类,包括化合物柔红霉素、阿霉素(多柔比星)、表柔比星、伊达比星、安那霉素、MEN10755等。其他拓扑异构酶抑制剂包括鬼臼毒素类似物依托泊苷和替尼泊苷,以及蒽二酮类米托蒽醌和安吡啶。其他抗增殖剂干扰微管组装,例如长春花生物碱家族。长春花生物碱的实例包括长春花碱、长春新碱、长春瑞滨(NAVELBINE)、长春地辛、文多灵、长春胺等。DNA损伤剂包括核苷酸类似物、烷化剂等。烷化剂包括氮芥类(nitrogen mustards),例如氮芥(mechlorethamine)、环磷酰胺、美法仑(L-溶肉瘤素)等;和亚硝基脲类,例如卡莫司汀(BCNU)、洛莫司汀(CCNU)、色莫司汀(甲基-CCNU)、链脲菌素、氯脲菌素等。核苷酸类似物包括嘧啶类,例如阿糖胞苷(CYTOSAR-U)、胞嘧

啉阿拉伯糖苷、氟尿嘧啶(5-FU)、氟尿苷(FuDR)等;嘌呤类,例如硫代鸟嘌呤(6-硫代鸟嘌呤)、巯基嘌呤(6-MP)、喷司他丁,氟尿嘧啶(5-FU)等;和叶酸类似物,例如氨甲蝶呤、10-炔丙基-5,8-二脱氮杂叶酸(PDDF,CB3717)、5,8-二脱氮四氢叶酸(DDATHF)、甲酰四氢叶酸等。其他感兴趣的化学治疗剂包括金属络合物,例如顺铂(顺-DDP)、卡铂、奥沙利铂等;脲类,例如羟基脲;吉西他滨和胍类,例如N-甲基胍。在多种实施方案中,这样的化学治疗剂的剂量包括但不限于约10mg/m²、20mg/m²、30mg/m²、40mg/m²、50mg/m²、60mg/m²、75mg/m²、80mg/m²、90mg/m²、100mg/m²、120mg/m²、150mg/m²、175mg/m²、200mg/m²、210mg/m²、220mg/m²、230mg/m²、240mg/m²、250mg/m²、260mg/m²和300mg/m²中的任一种。

[0111] 在一些实施方案中,组合疗法将包括免疫疗法。如本文使用的,术语“免疫疗法”是指包括但不限于以下的癌症治疗:使用针对特定肿瘤抗原的消耗性抗体的治疗(参见,例如,Blattman和Greenberg的综述,Science,305:200,2004;Adams和Weiner,Nat Biotech,23:1147,2005;Vogal等人J Clin Oncology,20:719,2002;Colombat等人,Blood,97:101,2001);使用抗体-药物缀合物的治疗(参见,例如,Ducry,Laurent(编著)Antibody Drug Conjugates.In:Methods in Molecular Biology.Book 1045.New York(NY),Humana Press,2013;Nature Reviews Drug Discovery 12,259-260,2013年4月);使用针对诸如以下的共刺激性或共抑制性分子(免疫检查点)的激动性、拮抗性或阻断性抗体的治疗:CTLA-4(伊匹单抗(ipilimumab))、PD-1(纳武单抗,pembrolizumab,pidilizumab)和PD-L1(BMS-936559、MPLD3280A、MEDI4736、MSB0010718C)(参见,例如,Philips和Atkins,International Immunology,27(1):39-46,2014年10月)、OX-40、CD137、GITR、LAG3、TIM-3和VISTA(参见,例如,Sharon等人,Chin J Cancer.,33(9):434-444,2014年9月;Hodi等人,N Engl J Med,2010;Topalian等人,N Engl J Med,366:2443-54,2012);使用双特异性T细胞结合抗体(BiTE®)如博纳吐单抗的治疗(参见,例如,美国专利第9,260,522号;美国专利申请第20140302037号);涉及施用生物应答调节剂诸如IL-2、IL-12、IL-15、IL-21、GM-CSF、IFN- α 、IFN- β 和IFN- γ 的的治疗(参见,例如,Sutlu T等人,Journ of Internal Medicine,266(2):154-181,2009;Joshi S PNAS USA,106(29):12097-12102,2009;Li Y等人,Journal of Translational Medicine,7:11,2009);使用治疗性疫苗诸如sipuleucel-T的治疗(参见,例如,Kantoff PW New England Journal of Medicine,363(5):411-422,2010;Schlom J.,Journal of the National Cancer Institutes,104(8):599-613,2012);使用树突状细胞疫苗或肿瘤抗原肽疫苗的治疗;使用嵌合抗原受体(CAR)-T细胞的治疗(参见,例如,Rosenberg SA Nature Reviews Cancer,8(4):299-308,2008;Porter DL等人,New England Journal of Medicine,365(8):725-733,2011;Grupp SA等人,New England Journal of Medicine,368(16):1509-151,2013;美国专利第9,102,761号;美国专利第9,101,584号);使用CAR-NK细胞的治疗(参见,例如,Glienke等人,Front Pharmacol,6(21):1-7,2015年2月);使用肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)的治疗(参见例如,Wu等人,Cancer J.,18(2):160-175,2012);使用过继转移的抗肿瘤T细胞(离体扩增的和/或TCR转基因的)的治疗(参见例如,Wrzesinski等人,J Immunother,33(1):1-7,2010);使用TALL-104细胞的治疗;和使用免疫刺激剂诸如Toll-样受体(TLR)激动剂CpG和咪喹莫特的治疗(参见,例如,Krieg,Oncogene,27:161-167,2008;Lu,Front Immunol,5(83):1-4,2014年3月)。

[0112] 集中于利用针对特定肿瘤抗原的消耗性抗体的免疫疗法已经被探索得非常成功(参见,例如,Blattman和Greenberg的综述, *Science*, 305:200, 2004; Adams和Weiner, *Nat Biotech*, 23:1147, 2005)。这样的肿瘤抗原特异性的消耗性抗体的几个实例是HERCEPTIN(抗Her2/neu mAb)(Baselga等人, *J Clin Oncology*, Vol 14:737, 1996; Baselga等人, *Cancer Research*, 58:2825, 1998; Shak, *Semin. Oncology*, 26 (Suppl12):71, 1999; Vogel等人, *J Clin Oncology*, 20:719, 2002); 和RITUXAN(抗-CD20 mAb)(Colombat等人, *Blood*, 97:101, 2001)。不幸的是,虽然明显地它们已在肿瘤治疗方面取得了显著的成绩,但作为单一疗法,它们通常仅在约30%的个体中有效,并且仅有部分响应。此外,许多个体在用这些包含抗体的方案治疗后最终变为难治性或复发性的。

[0113] 使用针对共刺激性或共抑制性分子(免疫检查点)的激动性、拮抗性或阻断性抗体的治疗已经是被广泛研究和临床评估的领域。在正常生理条件下,当免疫系统对病原感染应答时,免疫检查点对于维持自身耐受性(即,预防自身免疫)至关重要并且保护组织免受损伤。现在也很清楚的是,肿瘤选取某些免疫检查点途径作为免疫耐受(特别是针对肿瘤抗原特异性的T细胞)的主要机制(Pardoll DM., *Nat Rev Cancer*, 12:252-64, 2012)。相应地,利用针对例如以下的免疫检查点分子的抗体的治疗包括CTLA-4(伊匹单抗)、PD-1(纳武单抗、pembrolizumab、pidilizumab)和PD-L1(BMS-936559、MPLD3280A、MEDI4736、MSB0010718C)(参见,例如,Philips和Atkins, *International Immunology*, 27(1):39-46, 2014年10月)以及OX-40、CD137、GITR、LAG3、TIM-3和VISTA(参见,例如,Sharon等人, *Chin J Cancer.*, 33(9):434-444, 2014年9月; Hodi等人, *N Engl J Med*, 2010; Topalian等人, *N Engl J Med*, 366:2443-54) 被评估为治疗患有增生性疾病诸如癌症的患者并且尤其是患有难治性和/或复发性癌症的患者的新的替代性免疫疗法。

[0114] 使用嵌合抗原受体(CAR)T细胞疗法的治疗是一种免疫疗法,其中在实验室中分离患者自身的T细胞,用识别特定抗原或蛋白的合成受体重定向并且重输注到患者体内。CAR是合成分子,最少包含:(1)抗原结合区,通常源自抗体,(2)将CAR锚定到T细胞中的跨膜结构域,和(3)1个或更多个细胞内T细胞信号传导结构域。CAR以不依赖于人类白细胞抗原(HLA)的方式将T细胞特异性重定向至抗原,并且克服了与T细胞耐受相关的问题(Kalos M和June CH, *Immunity*, 39(1):49-60, 2013)。在过去的5年里,已经公布了至少15项CAR-T细胞疗法的临床试验。围绕CAR-T细胞疗法的新一波令人兴奋的事件始于2011年8月,当时宾夕法尼亚(Penn)大学的研究人员公布了一份报告,报告针对3名患有难治性慢性淋巴细胞白血病(CLL)的患者,他们在接受了单次剂量的针对CD 19的CAR-T细胞后得到了长期缓解(Porter DL等人, *N Engl J Med.*, 365(8):725-733, 2011)。

[0115] 与供体T细胞相比,已知自然杀伤(NK)细胞介导抗癌作用,而没有诱发移植物抗宿主病(GvHD)的风险。相应地,同种异体反应性NK细胞现在也是作为癌症细胞疗法的合适且强有力的效应细胞的相当感兴趣的焦点。已经建立了若干个人类NK细胞系,例如,NK-92、HANK-1、KHYG-1、NK-YS、NKG、YT、YTS、NKL和NK3.3(Kornbluth, J.等人, *J. Immunol.* 134, 728-735, 1985; Cheng, M.等人, *Front. Med.* 6:56, 2012),并且已经产生了多种表达CAR的NK细胞(CAR-NK)。使用表达CAR的NK细胞(CAR-NK)的免疫疗法是研究和临床评估的活跃领域(参见,例如,Glennie等人, *Front Pharmacol*, 6(21):1-7, 2015年2月)。

[0116] 双特异性T细胞接合分子(BiTE®)构成一类双特异性单链抗体,用于针对病原性

靶细胞的细胞毒性T细胞的多克隆活化和重定向。**BiTE®**对于癌细胞的表面靶抗原和T细胞上的CD3是双特异性的。**BiTE®**能够将任何种类的细胞毒性T细胞与癌细胞连接,而不依赖于T细胞受体特异性、共刺激或肽抗原呈递。一组独特的特性对于任何其他种类的双特异性抗体构建体中尚未被报道,即,在不需要T细胞共刺激的情况下,在低T细胞数目下针对靶细胞具有优异的潜能和功效(Baeuerle等人,Cancer Res,69(12):4941-4,2009)。到目前为止,已经构建了针对多于10种不同的靶抗原(包括CD19、EpCAM、Her2/neu、EGFR、CD66e(或CEA,CEACAM5)、CD33、EphA2和MCSP(或HMW-MAA))的BiTE抗体(同上)。使用**BiTE®**抗体诸如博纳吐单抗(Nagorsen,D.等人,Leukemia&Lymphoma 50(6):886-891,2009)和solitomab(Amann等人,Journal of Immunotherapy 32(5):452-464,2009)的治疗正在被临床评估。

[0117] 在一些实施方案中,第二疗法将包括施用PARP抑制剂。聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)是参与响应于DNA损伤的多种活性的酶家族。PARP-1是一种关键的DNA修复酶,通过碱基切除修复(BER)途径介导单链断裂(SSB)修复。已经证明PARP抑制剂选择性地杀伤携带BRCA1和BRCA2突变的肿瘤细胞。另外,临床前数据和初步临床数据表明,PARP抑制剂对具有由BRCA1或BRCA2之外的基因功能障碍引起的同源重组修复缺陷的肿瘤具有选择性细胞毒性。在一些实施方案中,PARP抑制剂选自自由以下组成的组:ABT-767、AZD 2461、BGB-290、BGP 15、CEP 9722、E7016、E7449、氟唑帕利、IN01001、JPI 289、MP 124、尼拉帕利、奥拉帕利、ON02231、卢卡帕利、SC 101914、他拉唑帕利、维利帕利、WW 46或其盐或衍生物。在一些实施方案中,抗PARP疗法以相当于约100mg、约200mg或约300mg的尼拉帕利或其盐或衍生物的剂量被施用。在一些实施方案中,抗PARP疗法以相当于约100mg的尼拉帕利或其盐或衍生物的剂量被施用。在一些实施方案中,抗PARP疗法以相当于约200mg的尼拉帕利或其盐或衍生物的剂量被施用。在某些实施方案中,抗PARP疗法以相当于约300mg的尼拉帕利或其盐或衍生物的剂量被施用。

[0118] AXL变体可以在第二疗法之前、同时或之后被施用,通常在至少约1周、至少约5天、至少约3天、至少约1天内被施用。AXL变体可以以单次剂量被递送,或者可以分成多次剂量被递送,例如在一定时间段内(包括每天、每两天、每半周、每周等)被递送。有效剂量将随着施用途径、特定的剂、细胞减少性剂的剂量等而变化,并且可以由本领域技术人员凭经验确定。用于i.v.施用的多肽的可用范围可以凭经验确定,例如至少约0.1mg/kg体重;至少约0.5mg/kg体重;至少约1mg/kg体重;至少约2.5mg/kg体重;至少约5mg/kg体重;至少约10mg/kg体重;至少约20mg/kg体重;或更多。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每周10mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内被给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每周5mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内被给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每周2.5mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内被给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每周1mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内被给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每14天20mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内被给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每14天10mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内被给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每14天5mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内被给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每14天2.5mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内被给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每14天1mg/kg的剂量在30分钟或60

分钟内被给予。

[0119] 仍在一些实施方案中,本发明的治疗性实体通常作为药物组合物被施用,所述药物组合物包括活性治疗剂以及多种其他药学上可接受的组分。(参见Remington's Pharmaceutical Sciences,第15增刊版,Mack Publishing Company,Easton,Pa.,1980)。优选的形式取决于意图的施用模式和治疗应用。取决于所期望的制剂,组合物还可以包括药学上可接受的无毒载体或稀释剂(它们被定义为通常用于配制用于动物或人类施用的药物组合物的媒介物)。选择稀释剂以便不影响组合物的生物活性。这样的稀释剂的实例是蒸馏水、生理磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液、右旋糖溶液和汉克氏溶液。另外,药物组合物或制剂还可以包括其他载体,佐剂,或无毒的、非治疗性的、非免疫原性的稳定剂等。

[0120] 仍在一些其他的实施方案中,本发明的药物组合物还可以包括大的、缓慢代谢的大分子,诸如蛋白、多糖诸如壳聚糖、聚乳酸、聚乙醇酸和共聚物(诸如胶乳功能化的Sephacrose™、琼脂糖、纤维素等)、聚氨基酸(polymeric amino acids)、氨基酸共聚物和脂质聚集体(诸如油滴或脂质体)。另外,这些载体可以作为免疫刺激剂(即,佐剂)起作用。

[0121] 又在其他实施方案中,本发明的方法包括向需要治疗的受试者施用治疗有效量或有效剂量的本发明的治疗性实体(例如,抑制剂)。在一些实施方案中,本发明的治疗性实体的有效剂量,例如对于治疗本文描述的原发性或转移性癌症的有效剂量,根据许多不同因素而变化,所述因素包括施用手段、靶部位、患者的生理状态、患者是人类还是动物、施用的其他药物以及治疗是预防性还是治疗性的。通常,患者是人类,但也可以治疗非人类哺乳动物包括转基因哺乳动物。治疗剂量需要被滴定以优化安全性和有效性。

[0122] 在一些实施方案中,剂量的范围可以从约0.0001mg/kg宿主体重至100mg/kg宿主体重,且更通常是0.01mg/kg宿主体重至5mg/kg宿主体重。例如,剂量可以是1mg/kg体重或10mg/kg体重,或者在1-10mg/kg的范围内。在一些实施方案中,被施用至患者的可溶性AXL变体多肽的剂量选自由以下组成的组:约0.5mg/kg、约1.0mg/kg、约1.5mg/kg、约2.0mg/kg、约2.5mg/kg、约3.0mg/kg、约3.5mg/kg、约4.0mg/kg、约4.5mg/kg、约5.0mg/kg、约5.5mg/kg、约6.0mg/kg、约6.5mg/kg、约7.0mg/kg、约7.5mg/kg、约8.0mg/kg、约8.5mg/kg、约9.0mg/kg、约9.5mg/kg、约10.0mg/kg、约10.5mg/kg、约11.0mg/kg、约11.5mg/kg、约12.0mg/kg、约12.5mg/kg、约13.0mg/kg、约13.5mg/kg、约14.0mg/kg、约14.5mg/kg、约15.0mg/kg、约15.5mg/kg、约16.0mg/kg、约16.5mg/kg、约17.0mg/kg、约17.5mg/kg、约18.0mg/kg、约18.5mg/kg、约19.0mg/kg、约19.5mg/kg和约20.0mg/kg。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每周10mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内被给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每周5mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内被给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每周2.5mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内被给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每周1mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内被给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每14天20mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内被给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每14天10mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内被给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每14天5mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内被给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每14天2.5mg/kg的剂量在30分钟或60分钟内被给予。在一些实施方案中,可溶性AXL变体多肽将作为输注剂以每14天1mg/kg的剂量在

30分钟或60分钟内被给予。

[0123] 在一些实施方案中,治疗方案需要每两周施用一次、或每月施用一次、或每3个至6个月施用一次。本发明的治疗性实体通常在多于一个时机(on multiple occasions)被施用。单次剂量之间的间隔可以是每周、每月或每年。如通过测量患者体内治疗性实体的血液水平所指示的,间隔也可以是不规律的。可选地,本发明的治疗性实体可以作为持续释放制剂被施用,在这种情况下需要的施用不太频繁。剂量和频率根据多肽在患者体内的半衰期而不同。

[0124] 在预防性应用中,在长时段内以相对不频繁的间隔施用相对低的剂量。一些患者在他们的余生继续接受治疗。在治疗应用中,有时在相对短的间隔需要相对高的剂量,直到疾病的进展减少或终止,并且优选地直到患者显示出疾病症状的部分或完全改善。此后,可以以预防性方案施用本专利。

[0125] 仍在其他的实施方案中,本发明的方法包括治疗、减少或预防以下的原发性肿瘤形成或肿瘤转移或肿瘤侵袭: AML、卵巢癌、乳腺癌、肺癌、肝癌、结肠癌、胆囊癌、胰腺癌、前列腺癌和/或胶质母细胞瘤。

[0126] 又仍在一些其他的实施方案中,对于预防性应用,将药物组合物或药物以足以消除或减少疾病风险、减轻疾病严重性或延迟疾病开始的量施用至对疾病或状况易感或在其他方面处于疾病或状况风险的患者,所述疾病包括疾病的生化、组织学和/或行为学症状、疾病的并发症和在疾病发展期间出现的中间病理表型。

[0127] 又仍在一些其他的实施方案中,对于治疗应用,将本发明的治疗性实体以足以使疾病(包括其并发症和疾病发展中的中间病理表型)症状(生化、组织学和/或行为学的),治愈或至少部分中止的量施用至怀疑罹患这种疾病或已经罹患这种疾病的患者。足以达到治疗性治疗或预防性治疗的量被定义为治疗性有效剂量或预防性有效剂量。在预防性方案和治疗性方案两者中,剂通常以若干剂量被施用,直到获得足够的响应。通常,监测响应,并且如果存在癌症复发,则给予重复的剂量。

[0128] 根据本发明,用于治疗原发性或转移性癌症的组合物可以通过以下手段被施用: 肠胃外、局部、静脉内、肿瘤内、口服、皮下、动脉内、颅内、腹膜内、鼻内或肌内。最典型的施用途径是静脉注射或肿瘤内,但是其他途径可能同样有效。

[0129] 对于肠胃外施用,本发明的组合物可以以物质在生理上可接受的稀释剂和药物载体中的溶液或悬浮液的可注射剂量被施用,所述稀释剂和药物载体可以是无菌液体诸如水、油、盐水、甘油或乙醇。另外,组合物中可以存在辅助物质,诸如润湿剂或乳化剂、表面活性剂、pH缓冲物质等。药物组合物的其它组分是石油、动物、植物或合成来源的那些,例如,花生油、大豆油和矿物油。通常,二醇类诸如丙二醇或聚乙二醇是优选的液体载体,特别是对于可注射溶液。抗体和/或多肽可以以贮库注射剂或植入制剂的形式被施用,所述形式可以以允许活性成分持续释放的方式被配制。在一些实施方案中,组合物包含1mg/mL的多肽,配制在由10mM Tris、210mM蔗糖、51mM L-精氨酸、0.01%聚山梨醇酯20组成的水性缓冲液(用HCl或NaOH调整至pH 7.4)中。

[0130] 通常,组合物被制备为作为液体溶液或悬浮液的可注射剂(injectable);还可以被制备为固体形式,该固体形式适于在注射之前溶解或悬浮在液体媒介物中。制剂也可以被乳化或包封在脂质体或微粒诸如聚丙烯交酯、聚乙交酯或共聚物中,以获得增强如上文讨

论的佐剂作用。Langer, *Science* 249:1527, 1990; 和 Hanes, *Advanced Drug Delivery Reviews* 28:97-119, 1997。本发明的剂可以以贮库注射剂或植入制剂的形式被施用, 所述形式可以以允许活性成分持续释放或脉冲释放的方式被配制。

[0131] 适于其他施用模式的另外的制剂包括口服、鼻内和肺部制剂、栓剂和透皮应用剂。

[0132] 对于栓剂, 粘合剂和载体包括, 例如, 聚亚烷基二醇或甘油三酯; 这样的栓剂可以由含有0.5%至10%, 优选1%-2%的范围的活性成分的混合物形成。口服制剂包括赋形剂, 诸如药用级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素和碳酸镁。这些组合物采取溶液、悬浮液、片剂、丸剂、胶囊、持续释放制剂或粉末的形式, 并且含有10%-95%优选地为25%-70%的活性成分。

[0133] 局部应用可以导致透皮或皮内递送。局部施用可以通过将该剂与霍乱毒素或其脱毒衍生物或亚基或其他类似的细菌毒素共施用来促进。Glenn等人, *Nature* 391:851, 1998。共施用可以通过使用作为混合物或通过化学交联获得的连接的分子或表达为融合蛋白的组分来实现。可选地, 透皮递送可以使用皮肤贴剂或施用转移体 (transferosome) 来实现。Paul等人, *Eur. J. Immunol.* 25:3521-24, 1995; Cevc等人, *Biochem. Biophys. Acta* 1368:201-15, 1998。

[0134] 药物组合物通常被配制成无菌的、基本上等渗的, 并且完全符合美国食品和药物管理局 (Food and Drug Administration) 的所有良好生产规范 (Good Manufacturing Practice, GMP) 规定。优选地, 本文描述的多肽组合物的治疗有效剂量将提供治疗益处, 而不会引起实质毒性。

[0135] 本文描述的蛋白的毒性可以在细胞培养物或实验动物中通过标准药理学程序确定, 例如, 通过确定LD₅₀ (对群体的50%致死的剂量) 或LD₁₀₀ (对群体的100%致死的剂量)。毒性作用和治疗作用之间的剂量比率为治疗指数。从这些细胞培养测定和动物研究获得的数据可以用于规划对人类使用无毒的剂量范围。本文描述的蛋白的剂量优选地落在包括有效剂量而几乎无毒性或无毒性的循环浓度的范围内。剂量可以取决于所采用的剂型和所利用的施用途径而在该范围内变化。确切的制剂、施用途径和剂量可以由医师个人鉴于患者状况来选择。(参见, 例如, Fingl等人, 1975, 在: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 第一章中)。

[0136] 包括本发明的组合物和使用说明书的试剂盒也在本发明的范围内。试剂盒还可以包括至少一种另外的试剂, 例如细胞减少性药物。组合物可以以单位剂量制剂的形式来提供。试剂盒通常包括指示试剂盒的内容物的意图的用途的标签。术语标签包括试剂盒上或随试剂盒提供的任何文字或记录材料, 或者试剂盒以其他方式附带的任何文字或记录材料。

[0137] 在本说明书中引用的所有出版物及专利均通过引用并入本文, 如同每一单独出版物或专利被具体地和单独地指明通过引用并入本文, 并且在本说明书中引用的所有出版物及专利均通过引用并入本文以公开和描述与被引用的出版物相关的方法和/或材料。对任何出版物的引用是为了获取其在本提交日之前的公开内容, 并且不应被解释为承认本发明由于在前发明而无权先于此类出版物。此外, 所提供的出版物的日期可能不同于实际出版日期, 实际出版日期可能需要独立地确认。

[0138] 如本领域技术人员阅读本公开内容后将明显的, 本文描述并说明的每一个单独的

实施方案中具有离散的组成部分和特征,其可以容易地与其他若干实施方案中的任一个的特征分开或组合而不偏离本发明的范围或精神。任何述及的方法可以以事件被述及的顺序或以逻辑上可能的任何其他顺序来进行。还应理解,本文使用的术语是为了描述特定实施方案的目的。

[0139] 虽然为了清楚理解的目的通过图示和实施例描述了前述发明的一些细节,但是对本领域普通技术人员将容易明显的是,根据本发明的教导,可以对其进行某些改变和修改,而不偏离所附权利要求书的精神或范围并且不意图限制本发明的范围,本发明的范围仅由所附权利要求书限制。

[0140] 本领域技术人员将认识到或能够使用不超过常规的实验确定本文描述的本发明的具体实施方案的许多等同方案。意图此类等同方案被所附权利要求书涵盖。

[0141] 实验

[0142] 实施例1

[0143] 使用AXL诱骗受体抑制GAS6诱发的侵袭/迁移

[0144] 在三阴性乳腺癌(MDA-MB-231)和卵巢癌(OVCAR8)的模型中,分别使用

Corning® Matrigel®或胶原侵袭测定,并且使用AXL诱骗受体来评估对GAS6诱发的侵袭/迁移的抑制,所述AXL诱骗受体包含可溶性AXL变体多肽,所述可溶性AXL变体多肽包含相对于野生型AXL序列(SEQ ID NO:1)在以下位置处的氨基酸变化:(a)甘氨酸32;(b)天冬氨酸87;(c)丙氨酸72;(d)缬氨酸92;和(e)甘氨酸127,缺乏AXL跨膜结构域,缺乏功能性FN结构域,并且包含通过肽接头与可溶性AXL变体多肽连接的Fc结构域(该AXL诱骗受体在下文中称为AVB-S6-500)。

[0145] 将无血清培养基中的AVB-S6-500和MDA-MB-231Ax1⁺TNBC细胞接种在涂有基质胶的博伊登室的上部。将作为化学引诱剂的含血清的培养基添加至室底部。孵育24小时后,对迁移穿过基质胶的细胞数目计数,并表示为侵袭细胞相对于PBS对照的分数(图1A)。将AVB-S6-500、OVCAR8Ax1⁺卵巢癌细胞、1型胶原、50ng/mL GAS6和生长培养基接种到微孔中并孵育。在第6天,对显示出侵袭性表型的细胞数目计数并且表示为侵袭细胞相对于PBS对照的分数(图1B)。1μg/mL至100μg/mL的范围内的AVB-S6-500显著抑制了GAS6诱发的细胞侵袭/迁移。

[0146] 实施例2

[0147] 在MDA-MB-231细胞侵袭测定中确定AXL诱骗受体与酪氨酸激酶抑制剂的IC₅₀值并将AXL诱骗受体与酪氨酸激酶抑制剂进行比较

[0148] 在±50nM GAS6的MDA-MB-231细胞侵袭测定和在细胞存活力测定中确定AVB-S6-500 IC₅₀值,并且与已批准的酪氨酸激酶抑制剂,博舒替尼的IC₅₀进行比较。在图2中描绘了来自AVB-S6-500处理的MDA-MB-231细胞的代表性图像。如表1中示出的,AVB-S6-500在抑制细胞侵袭方面是博舒替尼的~100倍强,并且与七种细胞毒性/化学疗法标准护理(SOC)药物相比,不影响8种不同的癌细胞系(结肠癌、乳腺癌、AML、卵巢癌、胰腺癌和NSCLC)的组的细胞存活力。

[0149] 表1

[0150] IC₅₀ [μM]

[0151]

测定	AVB-S6-500	AVB-S6-500+GAS6	博舒替尼	SOC(n=7)
----	------------	-----------------	------	----------

MDA-MB-231细胞侵袭	6.5×10^{-4}	3.9×10^{-4}	2.4×10^{-2}	—
癌细胞存活力(n=8)	>100	—	—	0.8 ± 0.2 (n=56)

[0152] 实施例3

[0153] 使用AXL诱骗受体减少转移性肿瘤负荷

[0154] 对小鼠腹膜内(IP)接种SKOV3.ip卵巢癌肿瘤细胞(1×10^6 个)并随机分组,并且每隔一天(Q2D)施用5mg/kg、10mg/kg或20mg/kg的AVB-S6-500。给药24天后,通过对腹腔中所有可见的转移性病灶计数,并且切下所有病变组织并对其称重以确定转移灶的总重量(图3A)和数目(图3B),来评估转移性肿瘤负荷。AVB-S6-500在以10mg/kg和20mg/kg被施用时显著减少了转移性肿瘤负荷。10mg/kg和20mg/kg Q2D(相当于人类的2.5-5mg/kg/周)的AVB-S6-500单一疗法在SKOV3.ip小鼠异种移植物模型中显著降低了肉眼可见的转移病灶的平均数目和重量,并且消除了血清游离GAS6水平。

[0155] 实施例4

[0156] 使用AXL诱骗受体和多柔比星的组合的更佳功效

[0157] 对小鼠腹膜内(IP)接种SKOV3.ip卵巢癌肿瘤细胞(1×10^6 个)并随机分组,并且单独施用20mg/kg Q2D的AVB-S6-500,或者施用20mg/kg Q2D的AVB-S6-500与每周两次2mg/kg多柔比星(DOX)的组合。给药24天后,评估转移性肿瘤负荷。转移灶的总重量(图4A)和数目(图4B)的比较显示出组合疗法的显著益处。AVB-S6-500和多柔比星的组合显著降低了病变组织的平均重量并且治愈了2只动物。

[0158] 实施例5

[0159] PK研究

[0160] 小鼠研究建立了sGAS6(药物靶)的消耗与抗转移作用之间的关系。在小鼠研究中有效的剂量与小鼠的血清GAS6水平的消除相关,并且相当于人类的0.5-1.7mg/kg。在食蟹猴的PK研究中,显示出AVB-S6-500在5mg/kg(1.7mg/kg人类当量剂量)的单次给药后,食蟹猴的血清GAS6被消除~1周(图5),这对于人类每周IV输注是期望的谱。

[0161] 由于所观察到的血清GAS6(sGAS6)消耗与抗转移活性之间的临床前关系,sGAS6被鉴定为在所有非临床研究中评估sGAS6水平包括GLP毒理学的药效学[PD]测定中有用的生物标志物。在研究中观察到非常一致的PK/PD。

[0162] 实施例6

[0163] 安全性研究

[0164] 以比期望的生物效应所需的剂量高得多的剂量施用至小鼠和猴的AVB-S6-500在单次和重复给药后被良好地耐受。对雄性和雌性CD-1小鼠每周单次或两次缓慢静脉内(IV)弹丸式注射25mg/kg、50mg/kg和100mg/kg(50mg/kg/周、100mg/kg/周和200mg/kg/周)的剂量,或对猴每周四次30分钟IV输注30mg/kg、100mg/kg和150mg/kg的剂量,没有与治疗相关的死亡或不良作用。对于整个研究阶段,所提供的所有剂量均完全消除了血清GAS6水平。无可见不良作用水平(no-observed-adverse-effect-level;NOAEL)分别是,在小鼠中为200mg/kg/周(最高剂量),而在猴中为150mg/kg/周。对小鼠有效剂量的药物代谢动力学/药效学建模以及外推预测1.5-5mg/kg AVB-S6-500可能对人类有效。在使用sGAS6作为生物标志物的非临床研究中,观察到非常一致的PK/PD。

[0165] 证明了AVB-S6-500在减少人类乳腺癌和卵巢癌异种移植物模型的转移性癌症负

荷方面有效,并且在食蟹猴和小鼠中,在高得多的剂量下是安全的。这些结果与先前的诱骗受体的结果相似,遍及许多肿瘤模型均显示出有效性和安全性,并支持AVB-S6-500在健康志愿者中的安全使用。

[0166] 考虑到在癌症患者中可见的sGAS6升高,使用动物PK/PD建模来指导在人类研究中的给药。具体地,毒理学谱允许在健康志愿者中给药,并且GLP毒理学研究与PD的结合指导人类研究中的首次剂量选择。将GAS6对AVB-S6-500清除的影响整合到靶介导的药物处置(TMDD)模型中,提供了AVB-S6的平行线性和非线性清除率。使用猴数据针对1mg/kg、2.5mg/kg、5mg/kg和10mg/kg的剂量水平进行人类GAS6阻抑的模拟。考虑到癌症患者中潜在较高的sGAS6水平和组合化学疗法的给药方案,对不同的AVB-S6给药方案建模以预测待在肿瘤学研究中使用的剂量的靶覆盖率。使用靶介导的药物处置(TMDD)模型,估计有效的人类剂量的范围为从1.5mg/kg(以确保GAS6水平保持低于基线至少50%)至5mg/kg(以确保97%的游离GAS6被消除,并且允许GAS6水平相对于正常水平减少3倍)。

[0167] 实施例7

[0168] 在健康受试者中静脉内施用AVB-S6-500的单盲、随机、安慰剂对照、阶段1、单次递增剂量和重复剂量、安全性和耐受性研究

[0169] 在健康受试者中评价了静脉内施用AVB-S6-500的单次递增剂量(SAD)和以单剂量水平(5mg/kg)每周一次施用总计四个剂量的静脉内给予的AVB-S6-500的重复剂量(RD)的安全性和耐受性。对SAD和RD的药物代谢动力学(PK)和药效学(PD)进行了表征。

[0170] 符合条件的受试者以3:1的比被随机分配,以表2和表3中指示的剂量水平接受AVB-S6-500或安慰剂,并且对治疗不知情。

[0171] 表2

[0172] 单次递增剂量群组的剂量水平

	AVB-S6-500 剂量水平	AVB-S6-500/安慰剂 (n/n)
[0173]	1 mg/kg	6 / 2
	2.5 mg/kg	6 / 2
[0174]	5 mg/kg	6 / 2
	10 mg/kg	6 / 2

[0175] 表3

[0176] 重复剂量群组的剂量水平

	AVB-S6-500 剂量水平	AVB-S6-500/安慰剂 (n/n)
[0177]	5 mg/kg	6 / 2

[0178] 对于每个受试者,本研究由3个阶段组成:治疗前阶段(包括在第1天前多达28天进行的筛查访问)、治疗阶段和随访阶段(研究终点/提早退出访问)。在完成每个群组的研究终点(EOS)/提早退出(EW)访问后,主办方、医学监测人员(MM)和研究人员核查所有剂量水平的可用安全性数据,以确定是否继续对AVB-S6-500的下一最高剂量的招募。

[0179] 根据随机化计划表,被招募到单次递增剂量群组中的受试者被分配接受单次剂量

的AVB-S6-500或安慰剂;根据随机化计划表,重复给药群组中的受试者被分配接受四次剂量的AVB-S6-500或安慰剂(在4周内每周施用)。RD受试者将在第2周和第3周的第1天返回诊所接受每一次剂量的研究药物的施用,并且在每一次每周剂量施用后继续进行门诊访问。受试者在第4周的第1天进入CRU,并且在施用其第4周剂量后在CRU中停留24小时,以便于采集血液进行PK/PD评估。在第4周的第2天,受试者在完成当天的所有计划评估后离开CRU,并且继续基于门诊的访问直到EOS/EW访问。

[0180] 所有剂量的研究药物均被制备成150mL稀释剂(在250mL袋中)中的输注溶液,以通过1小时以内的静脉内输注来施用。所有治疗均由诊所的工作人员在诊所中施用。研究药物被提供在含有10mL AVB-S6-500(浓度20mg/mL;AVB-S6-500的总含量为每小瓶200mg)的小瓶中。AVB-S6-500的包装未针对受试者个人编号。基于随机化代码,药剂师或经适当培训的指定人员准备待静脉施用的研究药物。AVB-S6-500输注溶液根据当前良好生产规范来包装和标记,并且在20mL小瓶(每个小瓶中含有10mL)中被提供至临床场所。

[0181] 在相对于给药的以下时间点:给药之前45分钟内(0小时)以及给药之后约1小时、2小时、4小时、6小时、8小时、24小时、72小时、120小时、168小时和336小时,从被招募在单次递增群组中的受试者采集用于分析AVB-S6-500浓度和GAS6(构成药效学标志物)水平的血液样品(血清)。对于被招募在重复剂量群组中的受试者,在以下时间点采集用于AVB-S6-500和GAS6分析的血清样品:研究第1周-给药之前(给药前)45分钟内,以及给药之后约1小时、2小时、4小时、6小时、8小时、24小时、72小时和120小时;研究第2周-给药之前(给药前45分钟内;也用作针对第1周的168h时间点);研究第3周-给药之前(给药的45分钟内);研究第4周-给药之前(给药前(pre-dose))45分钟内,以及给药之后约1小时、2小时、4小时、6小时、8小时、24小时、72小时、120小时、168小时、504小时、528小时和696小时。

[0182] 对于药物代谢动力学和药效学分析,将血液样品(4mL)采集到血清分离管中,并且按照PK/PD/ADA实验室手册中描述的进行处理。将用于AVB-S6-500的药物代谢动力学评估和GAS6水平的药效学评估的血清样品运送至SNBL。在实时基础上(on an ongoing basis)运送来自每个受试者的一组血清样品,每个群组具有多次运送(运送时间表在PK/PD研究手册中规定)。将剩余的一式两份或一式三份的样品作为备份保存在CRU。分析血液样品(4mL)的抗药物抗体(ADA)的存在,所述血液样品是为了PK和PD分析而在一个亚组的时间点采集的。在升至10mg/kg剂量水平的点的药物代谢动力学数据将被考虑。具体地,采集伴随早期剂量群组的PK数据并且与使用非临床物种的缩放比例估算的人类PK的当前估计值进行比较。然后,根据需要,使用这些数据重新评估对后续剂量水平估算的安全界限。

[0183] AVB-S6-500的所有剂量都被良好耐受。没有严重的不良事件。在体检或生命体征中未注意到治疗相关的变化。认为基于实验值的AE无一具有临床意义,均不需要治疗,并且全都没有症状。根据方案,被给予活性药物的受试者的所有符合CTCAE v 4.03标准的实验值均被认为可能相关。无一被认为很可能/可能或必然相关。

[0184] 在单次IV输注后,AVB-S6-500的PK表现出类似于其他蛋白治疗剂诸如单克隆抗体的特征,通常表现出小体积的分布和二相消除。最大血清AVB-S6-500浓度(C_{max})和浓度与时间曲线下面积(AUC)随剂量增加而增加。遍及该剂量范围 C_{max} 的增加大致是成比例的,而AUC的增加略大于与剂量的比例,表明了与TMDD一致的非线性消除动力学。在重复每周给药的情况下,最后测量的浓度(然后立即进行随后的输注)的增加($C_{谷}$ (C_{trough}))在剂量1和剂

量4之间为约2倍,表明与59小时的单次剂量平均半衰期一致的适度累积。在所有单次剂量和重复剂量群组中,受试者均未被测试为抗AVB-S6抗体阳性。此外,在重复施用AVB-S6期间血清GAS6被长期阻抑反映了没有任何受试者测试为抗AVB-S6抗体阳性。

[0185] 如图6和图7中描绘的,血清GAS6水平在以1mg/kg给药后一周(在4/6名受试者中观察到)(图6A)、以2.5mg/kg给药后一周(在6/6名受试者中观察到)(图6B)、以5mg/kg给药后两周(在6/6名受试者中观察到)(图7A)和以10mg/kg给药后两周(在6/6名受试者中观察到)以及以10mg/kg给药后三周(在3/6名受试者中观察到)被阻抑。

[0186] 如图8和图9中描绘的,AVB-S6-500药物水平证明了剂量响应,而且AVB-S6-500的最低剂量(1mg/kg)是药理学上有活性的。遍及受试者的平均血清GAS6水平为 15.7 ± 3.9 ng/mL。在健康受试者中单次输注1mg/kg、2.5mg/kg、5mg/kg或10mg/kg AVB-S6导致循环血清GAS6浓度立即最大程度减少至BLQ水平(2ng/mL)。在输注1mg/kg和2.5mg/kg AVB-S6-500后,GAS6阻抑保持了7天。在输注5mg/kg和10mg/kg剂量后,血清GAS6被保持阻抑为低于可检测水平,分别持续22天和29天。在健康受试者中每周输注5mg/kg AVB-S6-500导致循环血清GAS6浓度立即最大程度减少至BLQ水平并且保持该最大程度减少。在所有受试者中GAS6阻抑保持在BLQ水平,直至最终输注后504小时,此时,能够在6名受试者中的2名受试者中测量到高于LLOQ的GAS6,但仍未恢复至基线水平。在所有其他受试者(4/6)中,GAS6的浓度保持在BLQ。因此,PK/PD建模确认了癌症研究的给药方案选择,所述给药方案将阻抑sGAS6(>90%减少),并且与化学疗法给药方案相容。

[0187] 在人类中建立的PK/PD谱与临床前数据和建模一致。

[0188] 实施例8

[0189] 在具有铂耐药性复发性卵巢癌的患者中对AVB-S6-500与聚乙二醇脂质体多柔比星(PLD)或紫杉醇的组分的阶段1b/2研究

[0190] 对来自48名患有卵巢癌的患者sGAS6水平的分析表明,水平是来自正常健康志愿者研究的水平的2倍高。利用猴PK/PD建模和阶段1的健康志愿者数据并模拟sGAS6增加,表明每周5mg/kg或每隔一周10mg/kg的给药方案将消除癌症患者的sGAS6水平。PK/PD建模确认了卵巢研究的剂量选择,该剂量选择将阻抑>90%的患者(pt)中的靶,并且确定了与化学治疗给药方案和有限的患者访问次数兼容的多次给药方案。在健康志愿者中使用专有PD测定联合建立人类安全性和PK/PD谱简化了临床程序,指导肿瘤学研究的剂量选择。

[0191] 阶段1b

[0192] 在阶段1b部分,将以开放标签方式在铂耐药性复发性卵巢癌患者中评估AVB-S6-500与聚乙二醇脂质体多柔比星(PLD)或紫杉醇的组分的安全性和耐受性。

[0193] 在AVB-S6-500+PLD患者中,在第1治疗周期的第一天,将在30分钟或60分钟内以10mg/kg的剂量给予作为IV输注剂的AVB-S6-500,联合在60分钟内以 $40\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量给予作为IV输注剂的PLD。从第1周期的第15天开始,每14天将给予10mg/kg AVB-S6-500的后续剂量。如果每2周(q2w)10mg/kg AVB-S6-500与PLD的组合不被良好耐受,则将AVB-S6-500剂量降低至每周5mg/kg。六名新患者将招募到该群组中。

[0194] 在AVB-S6-500+紫杉醇患者中,在每个28天治疗周期的D1天、D8天、D15天和D22天,将以10mg/kg在30分钟或60分钟内每周给予作为IV输注剂的AVB-S6-500,联合以 $80\text{mg}/\text{m}^2$ 在60分钟内每周给予作为IV输注剂的紫杉醇。在每个群组中,最初以每种组合化学疗法方案

对6名患者给药,以评估该组合的安全性。如果10mg/kg AVB-S6-500与紫杉醇的组合不被良好耐受,则将AVB-S6-500剂量降低至每周5mg/kg。六名新患者将被招募到该群组中。如果5mg/kg剂量与紫杉醇的组合被良好耐受,则另外的6名患者将被招募到该给药方案中。

[0195] RP2D是AVB-S6-500被认为与相应的化学疗法主干方案组合安全/可耐受的剂量/给药方案并且该剂量/给药方案基于来自P1b研究的1个月PK/PD评价,在整个给药间隔内,实现AVB-S6-500血清水平 $>3720\text{ng/mL}$,并且将所有患者的血清GAS6阻抑至BLQ。使用研究药物的治疗将持续到直到没有残留肿瘤(伴有化疗剂,AVB-S6-500应持续完全响应至少一年),或者直到疾病进展、死亡、知情同意退出或毒性不可接受。

[0196] 阶段2

[0197] 在建立了具有期望的消除血清GAS6的作用的AVB-S6-500和耐受的组合剂量的RP2D之后,阶段2部分将以随机、双盲的方式比较用AVB-S6-500+PLD与安慰剂+PLD,或AVB-S6-500+紫杉醇与安慰剂+紫杉醇治疗的铂耐药性复发性卵巢癌患者的无进展存活期(PFS)。也可以评估客观响应率(ORR),作为第2终点。在RP2D方案中,对于28天的治疗周期,从第1天开始,AVB-S6-500作为IV输注剂在60分钟内给予。医师对化学疗法的选择包括以下选项:1)对于28天的治疗周期,以 80mg/m^2 的剂量在60分钟内每周给予作为IV输注剂的紫杉醇,或2)在28天的治疗周期的第1天,以 40mg/m^2 的剂量在60分钟内给予作为IV输注剂的PLD。使用研究药物的治疗将持续到直到没有残留肿瘤(伴有化学治疗剂,AVB-S6-500应持续完全响应后至少一年),或者直到疾病进展、死亡、知情同意退出或毒性不可接受。

[0198] 患者将被招募并且2:1随机分到两个治疗组之一中:组A(AVB-S6-500+医师选择的化学疗法)和组B(安慰剂+医师选择的化学疗法)。每个组具有两个群组,一个群组针对PLD组合方案,而一个群组针对Pac组合方案。

[0199] 本文公开的和要求保护的所有物品和方法均可根据本公开内容被制备和执行而无需过度实验。尽管已经根据优选的实施方案描述了本发明的物品和方法,但对本领域技术人员而言将是明显的是,可以对所述物品和方法应用变化而不偏离本发明的精神和范围。对于本领域技术人员明显的所有此类变化和等同方案,无论是现有的还是以后开发的,都被认为是在由所附权利要求书限定的本发明的精神和范围内。在本说明书中提及的所有专利、专利申请和出版物指示本发明所属领域的普通技术人员的水平。为了所有目的,将所有专利、专利申请和出版物通过引用以其整体并入本文,并且其程度如同每一个单独的出版物被具体地且单独地指示为了任何目的和所有目的通过引用以其整体并入本文一样。在合适的情况下,本文示例性地描述的发明可以在本文未具体地公开的任何一个或更多个要素不存在的情况下被实践。因此,应当理解,尽管本发明已经通过优选的实施方案和任选的特征被具体地公开,但是本领域技术人员可以寻求本文所公开的概念的修改和变化,并且认为此类修改和变化是在由所附权利要求书限定的本发明的范围内。

[0200] 序列表

[0201] 使用核苷酸碱基的标准字母缩写和如37C.F.R.1.822中规定的对于氨基酸的三字母代码示出了随附的序列表中列出的核酸和氨基酸序列。

[0202] SEQ ID NO:1是人类AXL多肽的氨基酸序列。

[0203] SEQ ID NO:1-人类AXL多肽氨基酸序列

[0204]

MGRVPLAWCLALCGWACMAPRGTQAEESPFVGNPGNITGARGLTGTLRCQLQVQGEPEVH
WLRDGGQILELADSTQTQVPLGEDEQDDWIVVSQLRITSLQLSDTGQYQCLVFLGHQTFVSQPG
YVGLEGLPYFLEEPEDRTVAANTPFNLSCQAQGPPEPVDLLWLQDAVPLATAPGHGPQRS
LHVPGLNKTSSFSCEAHNAKGVTTSRATITVLPQQPRNLHLVSRQPTELEVAWTPGLSGIYPLTH
CTLQAVLSNDGMGIQAGEPDPPEEPLTSQASVPPHQLRLGSLHPHTPYHIRVACTSSQGPSSW
THWLPVETPEGVPLGPPENISATRNGSQAFVHWQEPRAPLQGTLLGYRLAYQGQDTPEVLM
D IGLRQEVTLLELQGDGVSNTVCVAAAYTAAGDGPWSPVPLEAWRPGQAQPVHQLVKEPSTP
AFSWPWWYVLLGAVVAAACVLILALFLVHRRKKE TRYGEVF EPTVERGELVVRYRVRKSYSRR

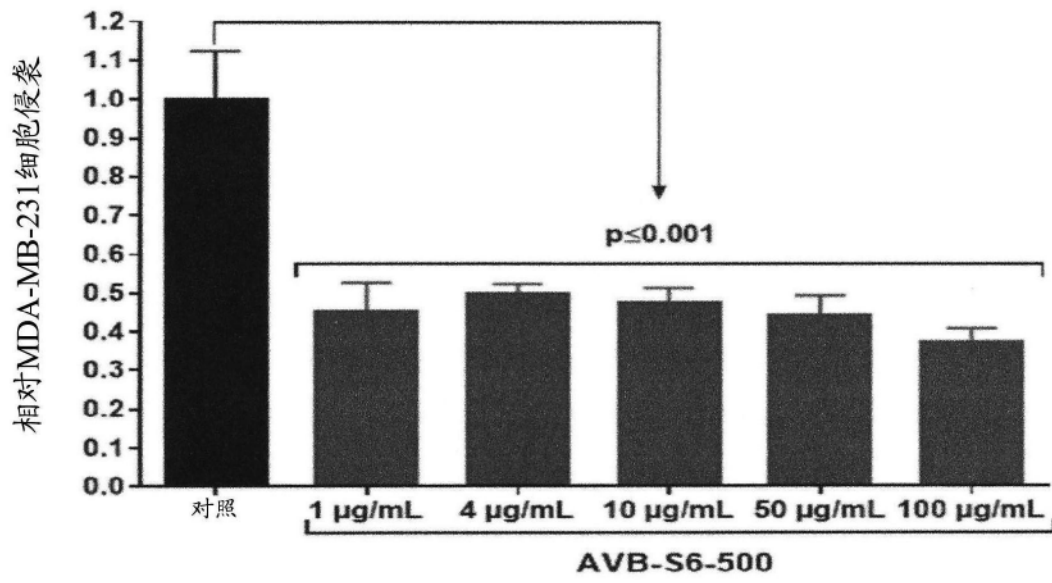
TTEATLNSLGISEELKEKLRDVMVDRHKVALGKTLGEGEFGAVMEGQLNQDDSIKVAVKTMK
IAICTRSELEDFLSEAVCMKEFDHPNVMRLIGVCFQGSERESFPAPVVILPFMKHGDLSFLLYS
RLGDQPVYLPTQMLVKFMADIASGMEYLSTKRFIHRDLAARNCMLNENMSVCVADFLSKKIY
NGDYRQGRIAKMPVKWIAIESLADRVTYTSKSDVWSFGVTMWEIATRGQTPYPGVENSEIYDY
LRQGNRLKQPADCLDGLYALMSRCWELNPQDRPSFTELREDLENTLKALPPAQEPDEILYVNM
DEGGGYPEPPGAAGGADPPTQDPKDSCSCLTAAEVHPAGRYVLC PSTT PSPAQPADRGSP
AAPGQEDGA

[0001] 序列表
 [0002] <110> 艾拉维弗生物制品公司
 [0003] <120> 使用AXL诱骗受体治疗转移性癌症的方法
 [0004] <130> CACAB1.0009W0
 [0005] <160> 1
 [0006] <170> PatentIn version 3.5
 [0007] <210> 1
 [0008] <211> 887
 [0009] <212> PRT
 [0010] <213> 智人(Homo sapiens)
 [0011] <400> 1
 [0012] Met Gly Arg Val Pro Leu Ala Trp Cys Leu Ala Leu Cys Gly Trp Ala
 [0013] 1 5 10 15
 [0014] Cys Met Ala Pro Arg Gly Thr Gln Ala Glu Glu Ser Pro Phe Val Gly
 [0015] 20 25 30
 [0016] Asn Pro Gly Asn Ile Thr Gly Ala Arg Gly Leu Thr Gly Thr Leu Arg
 [0017] 35 40 45
 [0018] Cys Gln Leu Gln Val Gln Gly Glu Pro Pro Glu Val His Trp Leu Arg
 [0019] 50 55 60
 [0020] Asp Gly Gln Ile Leu Glu Leu Ala Asp Ser Thr Gln Thr Gln Val Pro
 [0021] 65 70 75 80
 [0022] Leu Gly Glu Asp Glu Gln Asp Asp Trp Ile Val Val Ser Gln Leu Arg
 [0023] 85 90 95
 [0024] Ile Thr Ser Leu Gln Leu Ser Asp Thr Gly Gln Tyr Gln Cys Leu Val
 [0025] 100 105 110
 [0026] Phe Leu Gly His Gln Thr Phe Val Ser Gln Pro Gly Tyr Val Gly Leu
 [0027] 115 120 125
 [0028] Glu Gly Leu Pro Tyr Phe Leu Glu Glu Pro Glu Asp Arg Thr Val Ala
 [0029] 130 135 140
 [0030] Ala Asn Thr Pro Phe Asn Leu Ser Cys Gln Ala Gln Gly Pro Pro Glu
 [0031] 145 150 155 160
 [0032] Pro Val Asp Leu Leu Trp Leu Gln Asp Ala Val Pro Leu Ala Thr Ala
 [0033] 165 170 175
 [0034] Pro Gly His Gly Pro Gln Arg Ser Leu His Val Pro Gly Leu Asn Lys
 [0035] 180 185 190
 [0036] Thr Ser Ser Phe Ser Cys Glu Ala His Asn Ala Lys Gly Val Thr Thr
 [0037] 195 200 205
 [0038] Ser Arg Thr Ala Thr Ile Thr Val Leu Pro Gln Gln Pro Arg Asn Leu

[0039]	210	215	220
[0040]	His Leu Val Ser Arg Gln Pro Thr Glu Leu Glu Val Ala Trp Thr Pro		
[0041]	225	230	235 240
[0042]	Gly Leu Ser Gly Ile Tyr Pro Leu Thr His Cys Thr Leu Gln Ala Val		
[0043]	245	250	255
[0044]	Leu Ser Asn Asp Gly Met Gly Ile Gln Ala Gly Glu Pro Asp Pro Pro		
[0045]	260	265	270
[0046]	Glu Glu Pro Leu Thr Ser Gln Ala Ser Val Pro Pro His Gln Leu Arg		
[0047]	275	280	285
[0048]	Leu Gly Ser Leu His Pro His Thr Pro Tyr His Ile Arg Val Ala Cys		
[0049]	290	295	300
[0050]	Thr Ser Ser Gln Gly Pro Ser Ser Trp Thr His Trp Leu Pro Val Glu		
[0051]	305	310	315 320
[0052]	Thr Pro Glu Gly Val Pro Leu Gly Pro Pro Glu Asn Ile Ser Ala Thr		
[0053]	325	330	335
[0054]	Arg Asn Gly Ser Gln Ala Phe Val His Trp Gln Glu Pro Arg Ala Pro		
[0055]	340	345	350
[0056]	Leu Gln Gly Thr Leu Leu Gly Tyr Arg Leu Ala Tyr Gln Gly Gln Asp		
[0057]	355	360	365
[0058]	Thr Pro Glu Val Leu Met Asp Ile Gly Leu Arg Gln Glu Val Thr Leu		
[0059]	370	375	380
[0060]	Glu Leu Gln Gly Asp Gly Ser Val Ser Asn Leu Thr Val Cys Val Ala		
[0061]	385	390	395 400
[0062]	Ala Tyr Thr Ala Ala Gly Asp Gly Pro Trp Ser Leu Pro Val Pro Leu		
[0063]	405	410	415
[0064]	Glu Ala Trp Arg Pro Gly Gln Ala Gln Pro Val His Gln Leu Val Lys		
[0065]	420	425	430
[0066]	Glu Pro Ser Thr Pro Ala Phe Ser Trp Pro Trp Trp Tyr Val Leu Leu		
[0067]	435	440	445
[0068]	Gly Ala Val Val Ala Ala Ala Cys Val Leu Ile Leu Ala Leu Phe Leu		
[0069]	450	455	460
[0070]	Val His Arg Arg Lys Lys Glu Thr Arg Tyr Gly Glu Val Phe Glu Pro		
[0071]	465	470	475 480
[0072]	Thr Val Glu Arg Gly Glu Leu Val Val Arg Tyr Arg Val Arg Lys Ser		
[0073]	485	490	495
[0074]	Tyr Ser Arg Arg Thr Thr Glu Ala Thr Leu Asn Ser Leu Gly Ile Ser		
[0075]	500	505	510
[0076]	Glu Glu Leu Lys Glu Lys Leu Arg Asp Val Met Val Asp Arg His Lys		
[0077]	515	520	525

[0078]	Val Ala Leu Gly Lys Thr Leu Gly Glu Gly Glu Phe Gly Ala Val Met
[0079]	530 535 540
[0080]	Glu Gly Gln Leu Asn Gln Asp Asp Ser Ile Leu Lys Val Ala Val Lys
[0081]	545 550 555 560
[0082]	Thr Met Lys Ile Ala Ile Cys Thr Arg Ser Glu Leu Glu Asp Phe Leu
[0083]	565 570 575
[0084]	Ser Glu Ala Val Cys Met Lys Glu Phe Asp His Pro Asn Val Met Arg
[0085]	580 585 590
[0086]	Leu Ile Gly Val Cys Phe Gln Gly Ser Glu Arg Glu Ser Phe Pro Ala
[0087]	595 600 605
[0088]	Pro Val Val Ile Leu Pro Phe Met Lys His Gly Asp Leu His Ser Phe
[0089]	610 615 620
[0090]	Leu Leu Tyr Ser Arg Leu Gly Asp Gln Pro Val Tyr Leu Pro Thr Gln
[0091]	625 630 635 640
[0092]	Met Leu Val Lys Phe Met Ala Asp Ile Ala Ser Gly Met Glu Tyr Leu
[0093]	645 650 655
[0094]	Ser Thr Lys Arg Phe Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Met
[0095]	660 665 670
[0096]	Leu Asn Glu Asn Met Ser Val Cys Val Ala Asp Phe Gly Leu Ser Lys
[0097]	675 680 685
[0098]	Lys Ile Tyr Asn Gly Asp Tyr Tyr Arg Gln Gly Arg Ile Ala Lys Met
[0099]	690 695 700
[0100]	Pro Val Lys Trp Ile Ala Ile Glu Ser Leu Ala Asp Arg Val Tyr Thr
[0101]	705 710 715 720
[0102]	Ser Lys Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Thr Met Trp Glu Ile Ala
[0103]	725 730 735
[0104]	Thr Arg Gly Gln Thr Pro Tyr Pro Gly Val Glu Asn Ser Glu Ile Tyr
[0105]	740 745 750
[0106]	Asp Tyr Leu Arg Gln Gly Asn Arg Leu Lys Gln Pro Ala Asp Cys Leu
[0107]	755 760 765
[0108]	Asp Gly Leu Tyr Ala Leu Met Ser Arg Cys Trp Glu Leu Asn Pro Gln
[0109]	770 775 780
[0110]	Asp Arg Pro Ser Phe Thr Glu Leu Arg Glu Asp Leu Glu Asn Thr Leu
[0111]	785 790 795 800
[0112]	Lys Ala Leu Pro Pro Ala Gln Glu Pro Asp Glu Ile Leu Tyr Val Asn
[0113]	805 810 815
[0114]	Met Asp Glu Gly Gly Gly Tyr Pro Glu Pro Pro Gly Ala Ala Gly Gly
[0115]	820 825 830
[0116]	Ala Asp Pro Pro Thr Gln Pro Asp Pro Lys Asp Ser Cys Ser Cys Leu

A



B

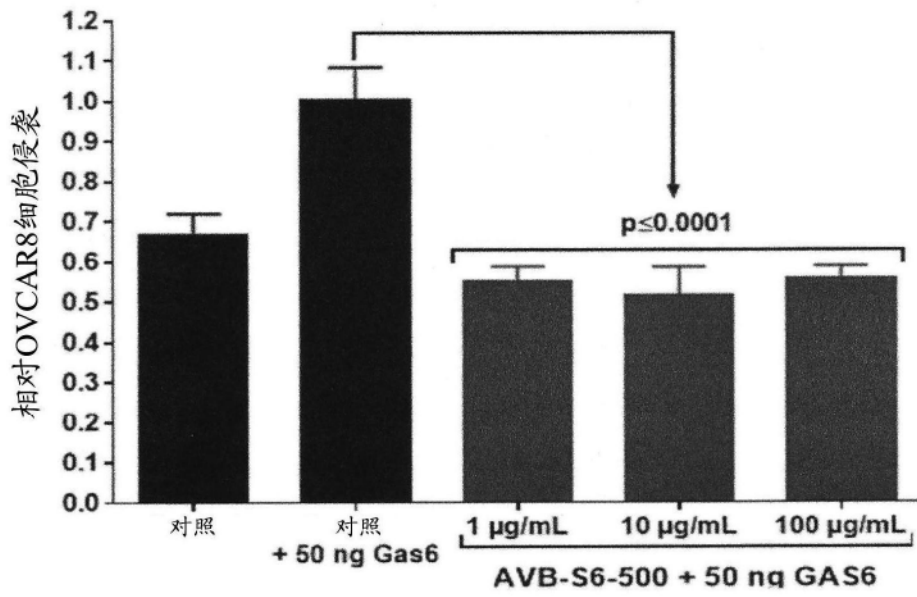
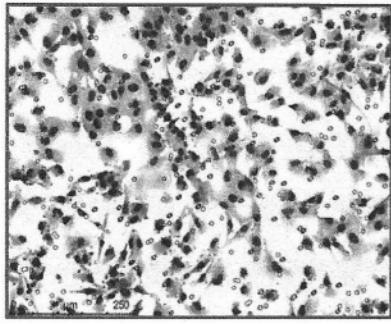
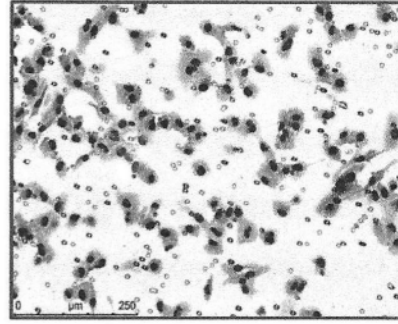


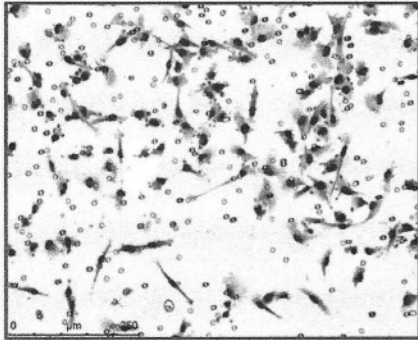
图1



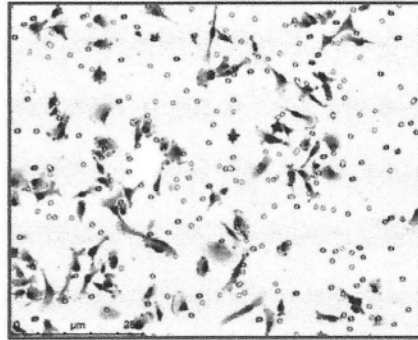
对照



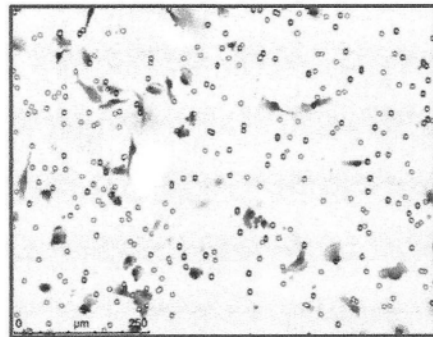
0.1 μg/mL



0.4 μg/mL



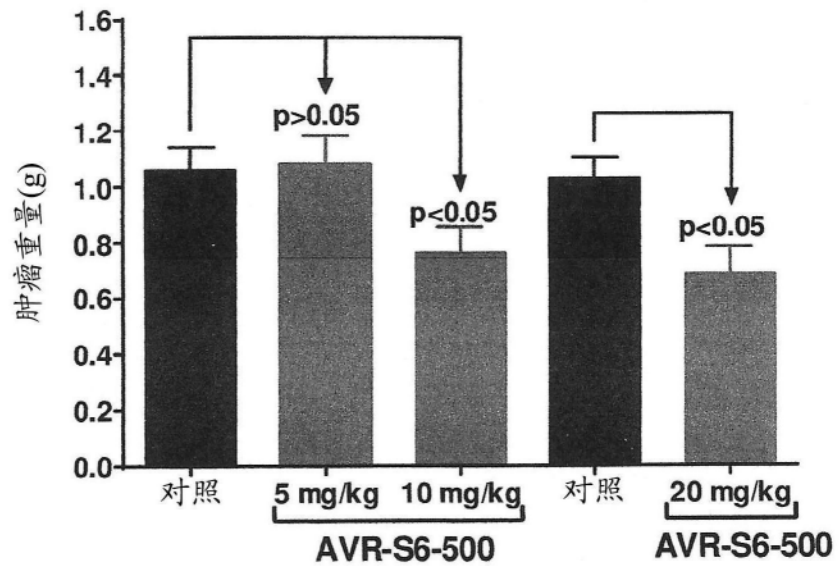
1.0 μg/mL



4.0 μg/mL

图2

A



B

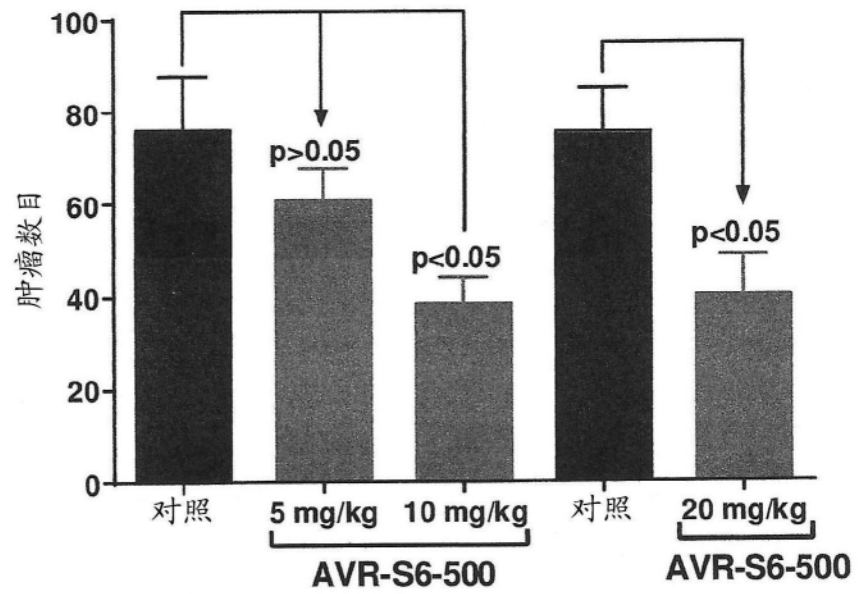
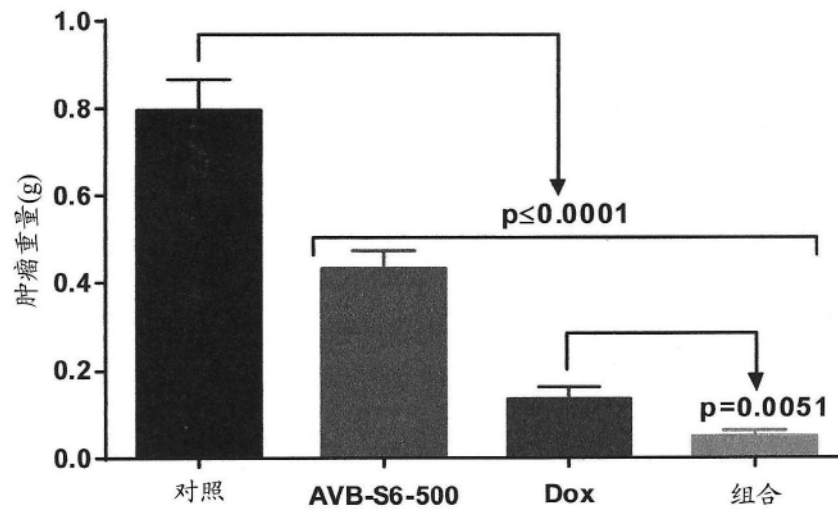


图3

A



B

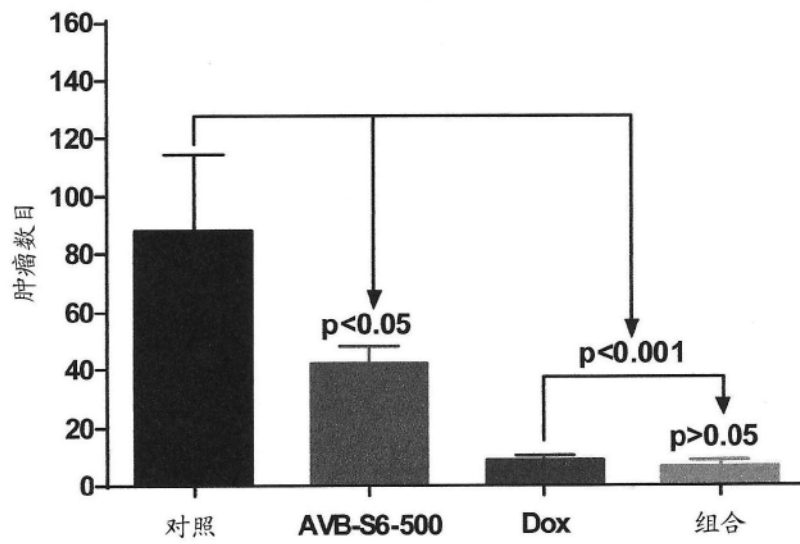


图4

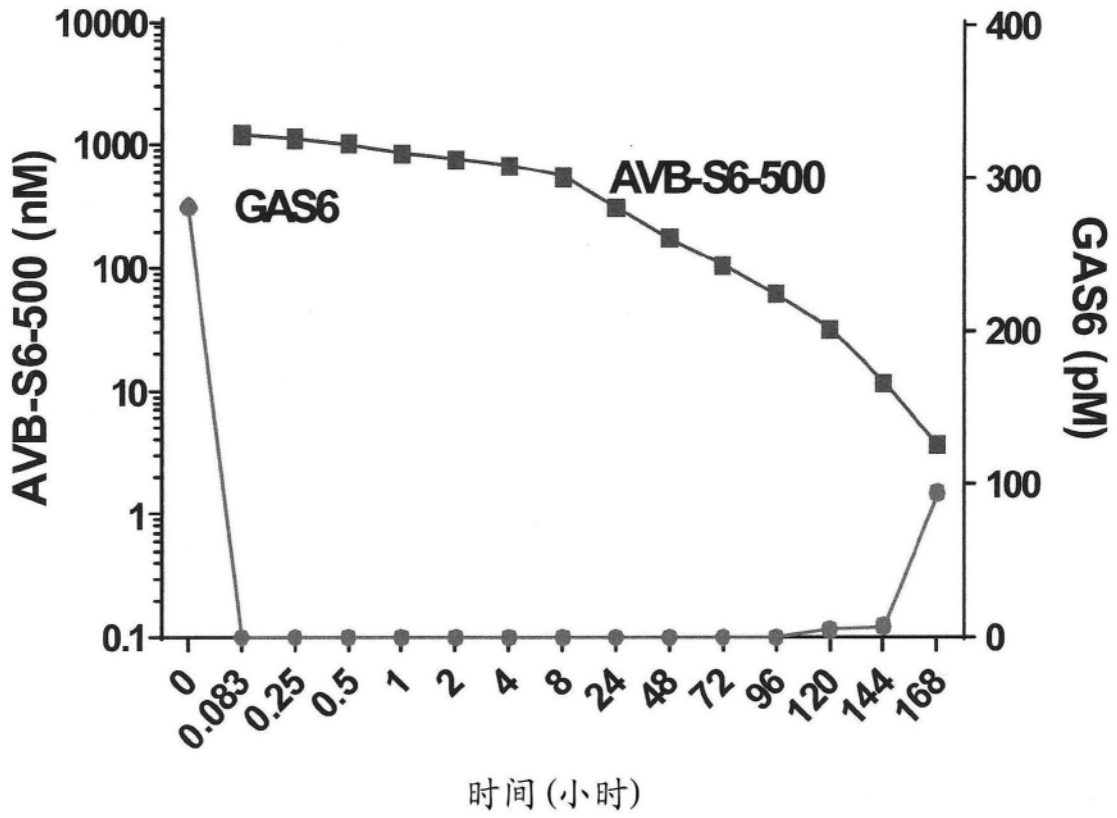
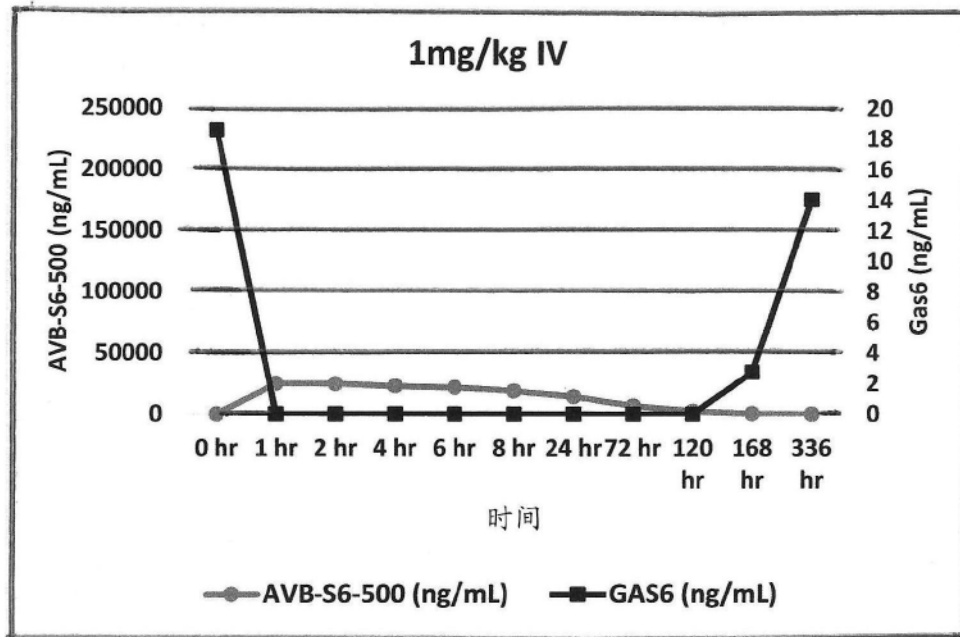


图5

A



B

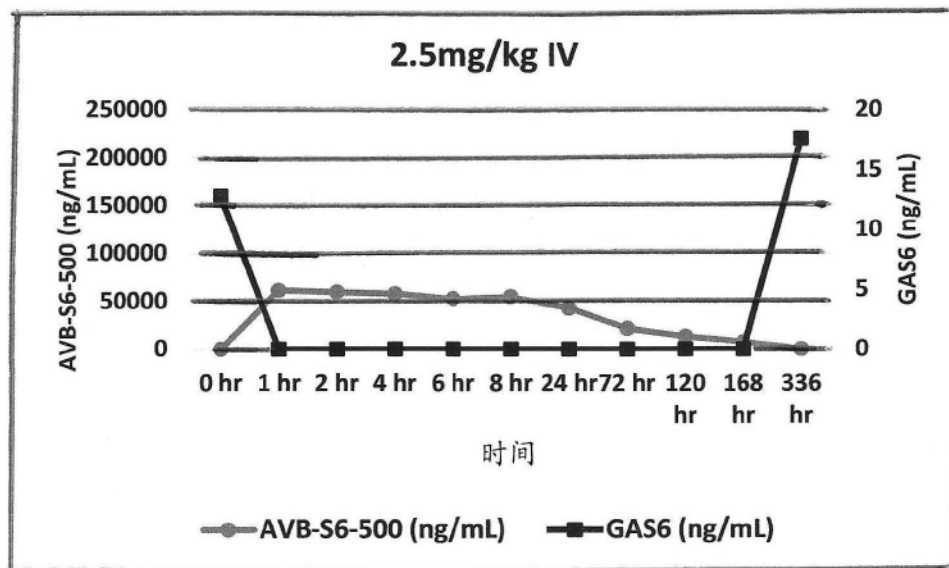
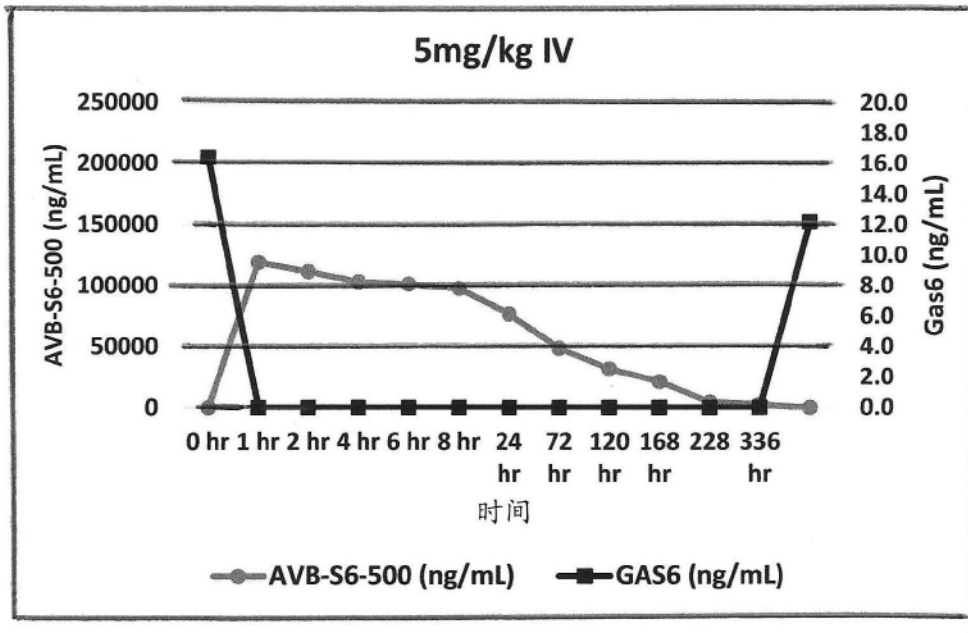


图6

A



B

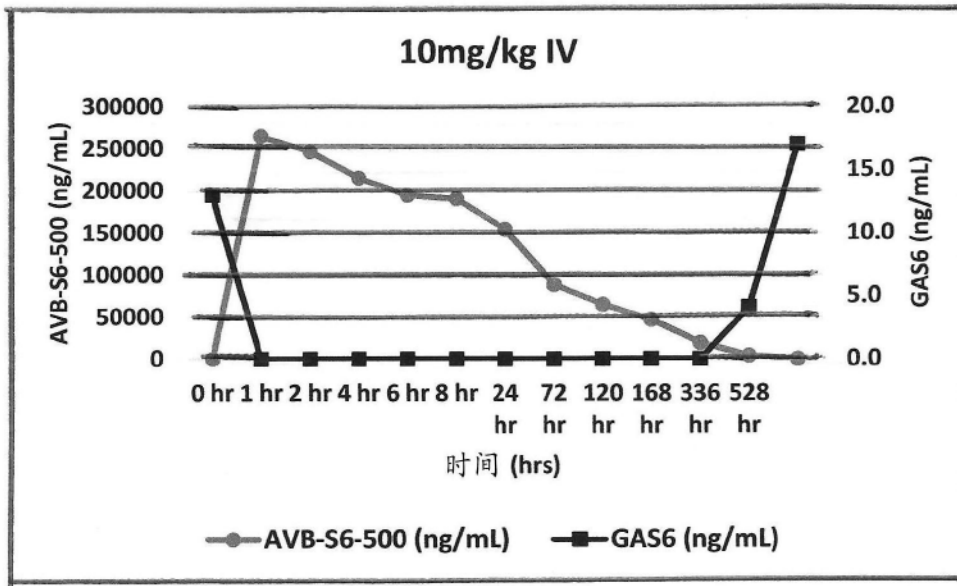


图7

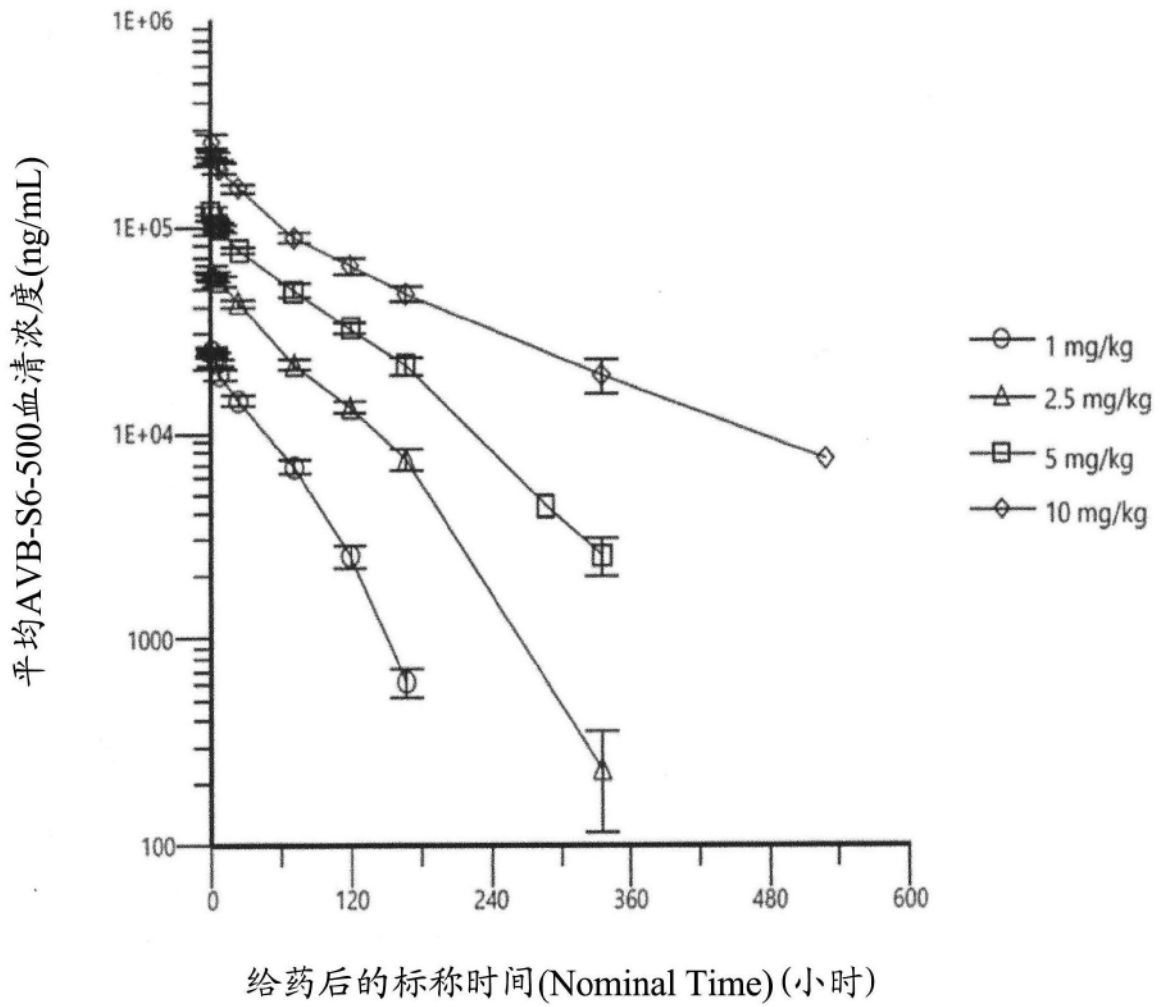


图8

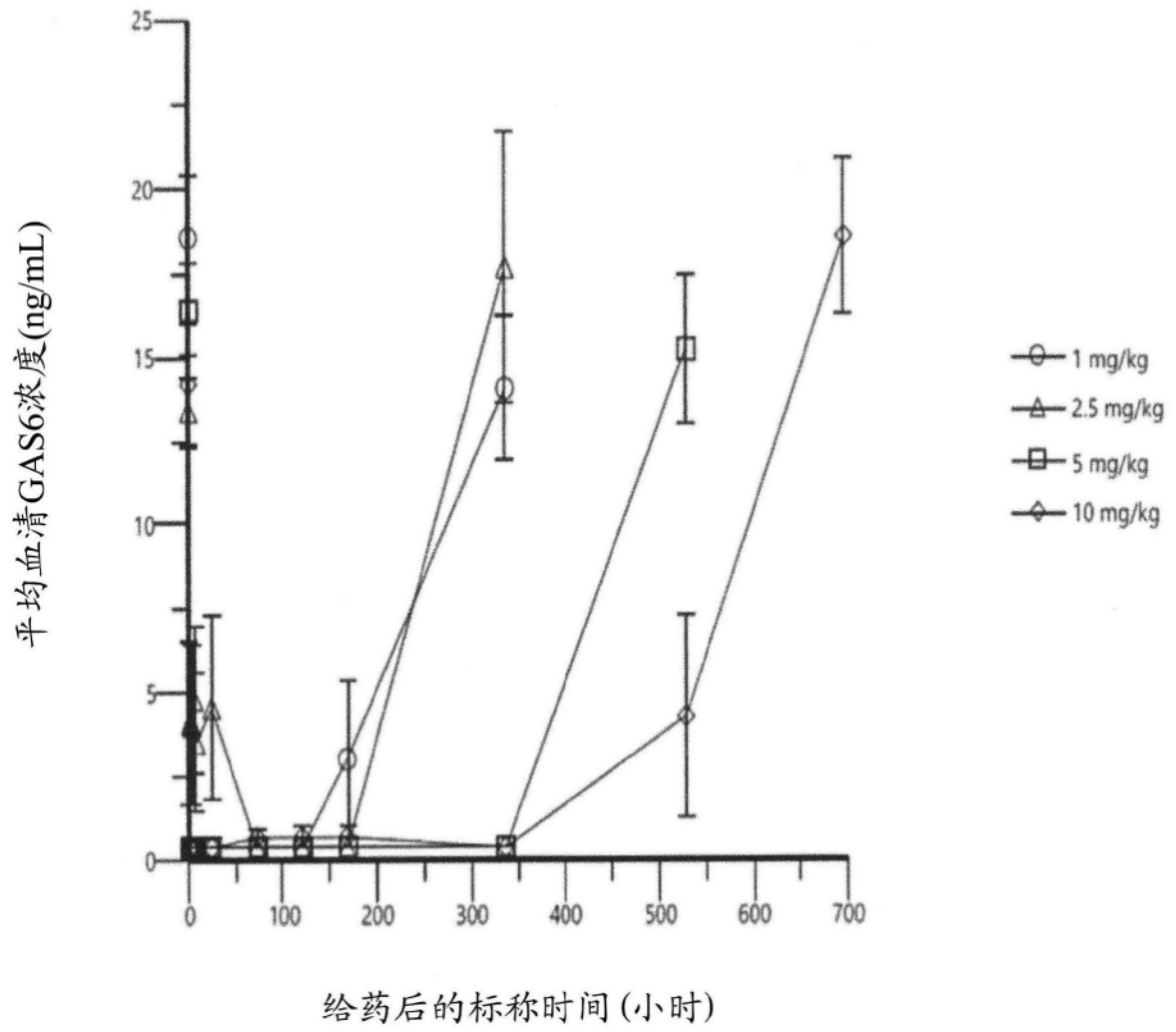


图9