المملكة العربية السعودية
Kingdom of Saudi Arabia

الهيئة السعودية للملكية الفكرية
Saudi Authority for Intellectual Property

براءة اختراع

إن الرئيس التنفيذي للهيئة السعودية للملكية الفكرية و بموجب أحكام نظام براءات الإختراع و التصميمات التخطيطية للدارات المتكاملة و الأصناف النباتية و النماذج الصناعية الصادر بالمرسوم الملكي الكريم رقم م/27 وتاريخ 1425/05/29هـ و المعدل بقرار مجلس الوزراء رقم 536 و تاريخ 1439/10/19هـ ، و لائحته التنفيذية.
يقرر منح :

نوفارتيس أيه جي
NOVARTIS AG

براءة اختراع رقم : SA 7628

بتاريخ : 1442/07/18 هـ
الموافق : 2021/03/02 م

عن الإختراع المسمى :

توليفة جديدة للاستخدام في علاج السرطان

Novel Combination for use in the Treatment of Cancer

وفق ما هو موضح في وصف الاختراع المرفق، ولمالك البراءة الحق في الانتفاع بكامل الحقوق النظامية في المملكة العربية السعودية خلال فترة سريان الحماية.

الرئيس التنفيذي

د. عبدالعزيز بن محمد السويلم

الهيئة السعودية للملكية الفكرية
Saudi Authority for Intellectual Property

[19] **الهيئة السعودية للملكية الفكرية**
[11] **رقم البراءة:** SA 7628 B1

[12] براءة اختراع

[45] **تاريخ المنح:** 1442/07/18 هـ
الموافق: 2021/03/02 م

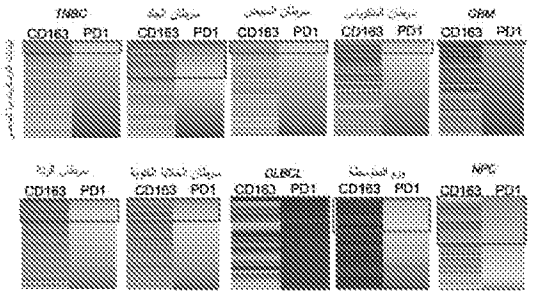
[21] رقم الطلب: 518390834
[22] تاريخ دخول المرحلة الوطنية: 1439/05/12 هـ
الموافق: 2018/01/29 م
[30] بيانات الأسبقية:
62/198.384 US 2015/07/29 م
62/352.637 US 2016/06/21 م
[72] اسم المخترع: فجايلسكوغ ماري لويز، كاميرون جون، تساو تشو، ماسيساك كنزي، سيبوليتا دانييلا
[73] مالك البراءة: نوفارتيس أيه جي
عنوانه: ليختشتراسه 35، بازل، سويسرا
جنسيته: سويسرية
[74] الوكيل: شركة سماس للملكية الفكرية
[86] رقم الطلب الدولي: PCT/IB2016/054487
تاريخ إيداع الطلب الدولي: 2016/07/27 م
[87] رقم النشر الدولي: WO 2017/017623 A1
تاريخ النشر الدولي: 2017/02/02 م
[51] التصنيف الدولي(IPC®):
C07K 016/024, A61K 039/359
[56] المراجع:
Y. ZHU ET AL, "CSF1/CSF1R Blockade Reprograms Tumor-Infiltrating Macrophages and Improves Response to T-cell Checkpoint Immunotherapy in Pancreatic Cancer Models", CANCER RESEARCH, US, (20140731)
الفاحص: معاذ بن محمد التركي

[54] اسم الاختراع: توليفة جديدة للاستخدام في علاج السرطان

Novel Combination for use in the Treatment of Cancer

[57] الملخص: يتعلق الاختراع الحالي بتركيب صيدلي يشتمل على مضاد لبروتين موت الخلية المبرمج-1 programmed cell death-1 (PD-1) ومضاد للعامل المنبه لمستعمرات البلاعم macrophage colony stimulating factor (M-CSF). ويمكن إعطاء التوليفة الحالية بشكل مستقل أو منفصل، بمقدار يكون فعال علاجياً لعلاج السرطان. ويزود الاختراع كذلك استخدام التوليفة المذكورة لتصنيع علاج؛ استخدام هذه التوليفة كدواء، طقم kit مكون من أجزاء يشتمل على هذه التوليفة؛ وطريقة للعلاج باستخدام هذه التوليفة. الشكل (1)

عدد عناصر الحماية (14)، عدد الأشكال (1)



توليفة جديدة للاستخدام في علاج السرطان

Novel Combination for use in the Treatment of Cancer

الوصف الكامل

خلفية الاختراع

يتعلق الاختراع الحالي، في جزء منه، بتركيب صيدلي يشتمل على مضاد لبروتين موت الخلية المبرمج-1 programmed cell death-1 (PD-1) ومضاد للعامل المنبه لمستعمرات البلاعم macrophage colony stimulating factor (M-CSF). ويمكن إعطاء التوليفة الحالية بشكل مستقل أو منفصل، بمقدار يكون فعال علاجياً لعلاج السرطان. ويزود الاختراع كذلك استخدام التوليفة المذكورة لتصنيع علاج؛ استخدام هذه التوليفة كدواء، طقم kit مكون من أجزاء يشتمل على هذه التوليفة؛ وطريقة للعلاج باستخدام هذه التوليفة.

وهناك حاجة لعلاجات أكثر فعالية للأورام الصلبة السرطانية cancer solid tumors. واثبتت العلاجات المناعية Immunotherapies التي تستهدف نقاط الفحص المناعية حالياً كعوامل رئيسية في علاج السرطان. وأثبتت الأجسام المضادة Antibodies التي تثبط بروتين 4 مقترن بلمفاويات تائية سامة للخلايا cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA-4) وبروتين موت الخلية المبرمج-1 (PD-1)، المعروفة أيضاً بمثبطات نقطة الفحص، فعاليتها لدى بعض مرضى السرطان. وكان لدى المرضى وأنواع الأورام استجابات متفاوتة جداً، مع معدلات أعلى لاستجابة الورم الميلانيني melanoma المتطور. وتم ملاحظة عدم وجود استجابة لتثبيط نقطة الفحص وكذلك استجابة أولية تلاها تقدم، والتي تشير إلى وجود مقاومة ذاتية ومقاومة مكتسبة مستحثة بالعلاج therapy-induced acquired resistance. ويحتاج مرضى الورم الميلانيني melanoma الذين تقدم عندهم المرض إلى مثبطات نقطة الفحص CTLA-4، PD-1 أو ربيطة موت الخلية المبرمج-1 Programmed death-ligand 1 (PD-L1) إلى خيارات أخرى للعلاج التي يمكنها تثبيت أو عكس تقدم المرض.

ويتمثل أحد السرطانات التي قد تستفيد من العلاج بالجسم المضاد المثبط لنقطة الفحص في سرطان الثدي breast cancer، الذي يمثل السرطان الاكثر شيوعاً بين النساء حول العالم، مع ما يقدر بـ 1.38 مليون حالة جديدة في حلول عام 2008، والذي يعد أيضاً السبب الأكثر شيوعاً

للموت بالسرطان بين النساء مع 458000 حالة وفاة. ويمثل سرطان الثدي ثلاثي السلبية Triple-negative breast cancer (TNBC) ما نسبته تقريباً 15٪ من سرطانات الثدي التي تم تشخيصها حديثاً، لكن نظراً لطبيعته العدوانية تم تسجيل عدد غير متكافئ (25٪) من TNBC في حالة العلاج النقيلي metastatic setting. ويتميز TNBC بافتقاره للتعبير عن مستقبلات الأستروجين estrogen (ER) والبروجستيرون progesterone (PR) وافتقاره للتعبير المفرط عن مستقبل عامل 2 نمو البشرة البشري human epidermal growth factor receptor 2 (HER2).

ويرتبط المسار السريري لـ TNBC بالاحتمالية المرتفعة للنقائل البعيدة distant metastases، على نحو خاص إلى الرئة lung والدماغ brain. وفي الوقت الحالي، لا يوجد أي علاجات موجهة نحو هذا النوع الفرعي من سرطان الثدي ويتمثل الخيار العلاجي فقط في العلاج الكيميائي. وعلى الرغم من أن العديد من الدراسات تقترح أن الـ TNBC عبارة عن مرض شديد الحساسية للكيماويات، لا يزال التشخيص ضعيفاً مع فترة حرة للمرض disease free interval أقصر بعد العلاج الأولي ومسار سريري أكثر عدوانية في حالة العلاج النقيلي. ويتم إعطاء معظم المرضى مركبات أنثراسيكلين anthracyclines ومركبات تاكسان taxanes في حالة العلاج المساعد ولا يوجد هناك معيار رعاية علاجية إضافي للمرضى المصابين بـ TNBC النقيلي. ومع ذلك، تقترح البيانات المستجدة بأنه تكون أملاح التيتانيوم platinum salts (أي، سيسبلاتين cisplatin وكربوبلاتين carboplatin) ذات فعالية مرتفعة في TNBC المبكر والمتقدم، وبالتالي تستخدم على نطاق واسع في الحالة السريرية. ويبلغ متوسط البقاء على قيد الحياة لمرضى TNBC النقيلي سنة واحدة، مما يجعل TNBC مرض ذو احتياجات طبية عالية غير ملبّاة. وتتضمن سرطانات إضافية ذات احتياجات طبية عالية غير ملبّاة أيضاً مرضى سرطان البنكرياس (خاصة مرضى مصابين بسرطانة غدية بنكرياسية pancreatic adenocarcinoma) أو سرطانة بطانة الرحم endometrial carcinoma. وهناك حاجة لتطوير علاجات متوالفة جديدة التي يمكن استخدامها لعلاج السرطان.

الوصف العام للاختراع

يوجه الاختراع الحالي، في جزء منه، نحو توليفة من مضاد للعامل المنبه لمستعمرات البلاعم macrophage colony stimulating factor (M-CSF) ومضاد لبروتين موت الخلية المبرمج-1 programmed cell death-1 (PD-1) التي قد تزود تأثير مفيد في علاج السرطان. وتستخدم التوليفة من مضاد M-CSF ومضاد PD-1 في علاج السرطان بما في ذلك سرطان الثدي

ثلاثي السلبية triple negative breast cancer (TNBC)، سرطانات الجلد skin، المبيض ovarian، سرطانات البنكرياس pancreatic cancers، الورم الأرومِيٌّ الدِبقي glioblastoma (GBM)، سرطان الرئة lung cancer، سرطانة الخلايا الكلوية kidney renal cell carcinoma، أورام الخلايا الليمفاوية بي الكبيرة المنتشرة diffuse large b cell lymphoma (DLBCL)، ورم المُتوسطة mesothelioma، سرطان بطانة الرحم endometrial cancer وسرطانة البلعوم الأنفي nasopharylngeal carcinoma (NPC)، أو سرطان الذي يصبح مقاوماً أو حروناً لمعالجة PD-1 أو PD-L1 مثلاً TNBC أو الورم الميلانيني melanoma.

وفي جانب آخر، يتضمن الاختراع التوليفة الصيدلية الموصوفة أعلاه للاستخدام في علاج السرطان بما في ذلك سرطان الثدي ثلاثي السلبية triple negative breast cancer (TNBC)، سرطانات الجلد skin، المبيض ovarian، سرطانات البنكرياس pancreatic cancers، الورم الأرومِيٌّ الدِبقي glioblastoma (GBM)، سرطان الرئة lung cancer، سرطانة الخلايا الكلوية kidney renal cell carcinoma، أورام الخلايا الليمفاوية بي الكبيرة المنتشرة diffuse large b cell lymphoma (DLBCL)، ورم المُتوسطة mesothelioma، وسرطانة البلعوم الأنفي nasopharylngeal carcinoma (NPC)، أو سرطان الذي يصبح مقاوم، ناكس أو حرون للمعالجات الأخرى، على نحو خاص معالجة PD-1 أو PD-L1 مثلاً TNBC أو الورم الميلانيني melanoma. ويمكن استخدام التوليفة وفقاً للاختراع لعلاج سرطان الرئة lung cancer بما في ذلك سرطان الرئة غير صغير الخلايا non-small lung cancer وسرطان الرئة حرشفية الخلايا squamous cell lung cancer. وتتضمن التوليفة الصيدلية الموصوفة هنا مقدار يكون فعال علاجياً. وتتضمن سرطانات الثدي مستقبل الغدد الصماء endocrine receptor (مستقبل الأستروجين estrogen أو البروجستيرون progesterone) إيجابي، إيجابي لـ HER2، ثلاثي السلبية (ليس إيجابي لمستقبلات الأستروجين estrogen، البروجستيرون progesterone، أو HER2) أو ثلاثي الإيجابية (إيجابي لمستقبلات الأستروجين estrogen، مستقبلات البروجستيرون progesterone و HER2) وتكون التوليفة وفقاً للاختراع مفيدة على نحو خاص ضد سرطان الثدي ثلاثي السلبية. وتكون سرطانات البنكرياس في الغالب من نوع ورم غدّي سرطاني adenocarcinoma أو ورم سرطاني، التي تمثل سرطانات خارجية الإفراز. وتتضمن سرطانات البنكرياس خارجية الإفراز Pancreatic exocrine cancers سرطانة غدية بنكرياسية، سرطانة خلية

عُنَيبيَّة acinar cell carcinoma للبنكرياس pancreas، سرطانات غُدِّية كيسيَّة cystadenocarcinomas، سرطانات غُدِّية حرشفيّة لورم أرومي بنكرياسي pancreatoblastoma adenosquamous carcinomas، سرطانات خَتميَّة الخلايا signet ring cell carcinomas، سرطانات شبيهة بالكبد hepatoid carcinomas، سرطانات غروانية colloid carcinomas، سرطانات لامتمايزة undifferentiated carcinomas، سرطانات لامتمايزة مع خلايا عملاقة شبيهة لناقضة العظم osteoclast-like giant cells، ورم حليمي كاذب صلب solid pseudopapillary tumor وأورام كيسية موسينِيَّة بنكرياسية pancreatic mucinous cystic neoplasms.

وفي أحد التجسيدات، تتضمن التوليفة الصيدلية الموصوفة هنا مقدار يكون فعال علاجياً لعلاج سرطان الثدي مثلاً مستقبل الغدد الصماء (مستقبل الأستروجين estrogen أو البروجستيرون progesterone) إيجابي، إيجابي لـ HER2، ثلاثي السلبية (ليس إيجابي لمستقبلات الأستروجين estrogen، البروجستيرون progesterone، أو HER2) أو ثلاثي الإيجابية (إيجابي لمستقبلات الأستروجين estrogen، مستقبلات البروجستيرون progesterone و HER2). وفي تجسيد آخر، تتضمن التوليفة الصيدلية الموصوفة هنا مقدار يكون فعال علاجياً لعلاج سرطان المبيض. وفي تجسيد آخر أيضاً، تتضمن التوليفة الصيدلية الموصوفة هنا مقدار يكون فعال علاجياً لعلاج الورم الميلانيني بما في ذلك الورم الميلانيني. وفي تجسيد آخر أيضاً، تتضمن التوليفة الصيدلية الموصوفة هنا مقدار يكون فعال علاجياً لعلاج سرطان البنكرياس. وفي تجسيد آخر أيضاً، تتضمن التوليفة الصيدلية الموصوفة هنا مقدار يكون فعال علاجياً لعلاج سرطان الرئة بما في ذلك سرطان الرئة غير صغير الخلايا non-small lung cancer وسرطان الرئة حرشفية الخلايا squamous cell lung cancer. وفي تجسيد آخر، تتضمن التوليفة الصيدلية الموصوفة هنا مقدار يكون فعال علاجياً لعلاج سرطان الذي يصبح مقاوم أو حرون لمعالجة PD-1 أو PD-L1 مثلاً TNBC أو الورم الميلانيني melanoma. وفي تجسيد آخر أيضاً، تتضمن التوليفة الصيدلية الموصوفة هنا مقدار يكون فعال علاجياً للعلاج

وفي وجه آخر، يتضمن الاختراع التوليفة الصيدلية الموصوفة هنا المستخدمة في معالجة السرطان مثل سرطان الثدي بما في ذلك سرطان الثدي الثلاثي السلبي (TNBC)، سرطان الجلد، سرطان المبيض، سرطان البنكرياس، الورم الأرومِيٌّ الدِبقِي (GBM)، سرطان الرئة، سرطان الخلايا الكلوية، أورام الخلايا الليمفاوية بي الكبيرة المنتشرة (DLBCL)، وَرم المُتَوسطة، وسرطان

البلعوم الأنفي (NPC)، أو سرطانٍ ما حيث يُعد مقاوماً أو ممانعاً لعلاج بروتين موت الخلية المبرمج-1 programmed cell death-1 (PD-1) أو لعلاج ربيطة بروتين موت الخلية المبرمج-1 programmed cell death-ligand 1 (PD-L1) مثل TNBC أو الورم الميلانيني.

وفي وجه آخر، يتضمن الاختراع استخدام التوليفة الصيدلية الموصوفة هنا في صنع دواء معد لمعالجة السرطان مثل سرطان الثدي بما في ذلك سرطان الثدي الثلاثي السلبي (TNBC)، سرطان الجلد، سرطان المبيض، سرطان البنكرياس، الورم الأرومِيُّ الدِبقِي (GBM)، سرطان الرئة، سرطان الخلايا الكلوية، أورام الخلايا الليمفاوية بي الكبيرة المنتشرة (DLBCL)، وَرم المُتَوسطة، وسرطان البلعوم الأنفي (NPC)، أو سرطانٍ ما حيث يُعد مقاوماً أو ممانعاً لعلاج بروتين موت الخلية المبرمج-1 (PD-1) أو لعلاج ربيطة بروتين موت الخلية المبرمج-1 (PD-L1) مثل TNBC أو الورم الميلانيني.

شرح مختصر للرسومات

الشكل 1: يمثل بيانات تتبع سياقات الحمض النووي الريبي RNA sequencing (RNA-Seq) التي يحصل عليها من قواعد البيانات الداخلية التي تظهر مستوى عالٍ من التعبير عن الواسمة البديلة surrogate marker للبلاعم M2 macrophages M2، CD163، ضمن مجموعات محددة من المرضى تم تحديدها وفقاً للمستوى الأعلى للتعبير عن PD1 (عليبة).

الوصف التفصيلي:

ثمة هناك حاجة لتوليفات جديدة حيث يمكن أن تستخدم لمعالجة السرطان, ويوجَه الاختراع الحالي إلى توليفة من مضاد M-CSF، مثل جزيء جسم مضاد لِـ M-CSF، ومضاد لِـ PD-1، مثل جزيء جسم مضاد لِـ PD-1، حيث يمكن استخدامها لمعالجة السرطان. وفي حين لا يكون من المرغوب التقيد بأية نظرية، يُعتقد بأن استخدام التوليفة الجديدة المكشوف عنها هنا لمعالجة سرطان معين يُعد أمراً مستحسناً حيث أنه يؤثر على الاستجابة المناعية immune response عن طريق الحفاظ على الاستجابة المضادة للورم للخلايا التائية T cell antitumor response وزيادة الاستجابة المضادة للورم داخلية المنشأ endogenous antitumor response للخلايا التائية. وكما هو مبين في الشكل 1، بعد التنشيط activation، تقوم الخلايا التائية بزيادة التعبير عن الـ PD-1

على سطحها، مما يسمح لها باستقبال اشارة سلبية negative signal مما يؤدي إلى تثبيط استجابة الخلايا التائية. وتستفيد خلايا الورم من هذه الآلية عن طريق التعبير عن ارتباط الأجزاء المشاركة بالـ PD-1، مثل الـ PD-L1، التي تعمل على تثبيط استجابة الخلايا التائية ضد الورم. في التوليفة الحالية، يُميز جزيء الجسم المضاد لِـ PD1 بروتين الـ PD-1 ويرتبط به على الخلايا التائية مما يؤدي إلى منع خلايا الورم من الارتباط بالـ PD-1 والتقليل من نشاط الخلايا التائية. ويرتبط جزيء الجسم المضاد لِـ PD-1 بالخلية التائية إنما لا يتداخل مع وظيفتها مما يضمن احتفاظ الخلايا التائية بتأثيرها القاتل للورم tumor killing affect. ويعمل الجسم المضاد لِـ M-CSF بدوره على زيادة فعالية الخلايا التائية عن طريق التأثير على محور خلوي مختلف different cellular axis. وفي موقع الورم، تعمل البلاعم المصاحبة للورم tumor associated macrophages (TAMS) على إفراز سيتوكينات cytokines لتثبيط انتاج انترلوكين 2 interleukin 2 (IL-2) وتكاثر الخلايا التائية بالكيفية التي يعمل بها نظيرُ الصَّماوِيّ paracrine. ويؤدي استخدام الجسم المضاد لِـ M-CSF إلى تلاشي المسافة الفاصلة عن حيز الخلايا التائية T cell compartment بفعل استنفاد بلاعم الـ M2 التي يمكنها كبح وظيفة الخلايا التائية وتكاثرها من خلال انتاج السيتوكينات المعدلّة للمناعة immunomodulatory cytokines. وعليه، يُعتقد بأنه تعمل التوليفة المكونة من جزيء الجسم المضاد لِـ MSCF وجزيء الجسم المضاد لِـ PD1 على حماية وظيفة الخلايا التائية المستنفدة التي ضَعفت بفعل خلايا الورم وبلاعم الـ M2 مما يؤدي إلى تحقيق تأثير معالجة مستحسن لدى المرضى المصابون بأورام. ويمكن أن تكون التوليفة الجديدة الحالية مفيدةً في استطبابات indications حيث يتم التعبير عن واسمة PD-1 و CD163 (واسمة بلعمية macrophage marker) أو يتم التعبير عنها بشكل مفرط. وتتضمن أمثلة أمراض السرطان حيث يكون للتوليفة تأثيراً مفيداً سرطان المبيض، سرطان الثدي، على سبيل المثال TNBC، سرطان البنكرياس، الورم الميلانيني، سرطان الرئة مثل وسرطان الرئة ذي الخلايا غير الصغيرة وسرطان الرئة الحَرشفي، سرطان البلعوم الأنفي (NPC)، أورام الخلايا الليمفاوية بي الكبيرة المنتشرة (DLBCL)، وَرم المُتَوسطة، سرطان الخلايا الكلوية، أو الورم الأرومِيُّ الدِبقِي. وفضلاً عن ذلك، تعتبر التوليفات الحالية مفيدةً لمعالجة أمراض السرطان التي تكون مقاومة أو ممانعة لمعالجة الـ PDL-1/PD1 بما في ذلك الورم الميلانيني وسرطان الثدي الثلاثي السلبي (TNBC).

وعليه، يزود الاختراع الحالي تراكيب، على سبيل المثال تراكيب صيدلية، حيث تتضمن

مادة حاملة مقبولة صيدلياً pharmaceutically acceptable carrier، سواغ excipient أو مادة مُثبتة stabilizer، وجزيء الجسم المضاد لِـ PD1 الموصوف هنا و الجسم المضاد لِـ M-CSF الموصوف هنا واستخدماتها لمعالجة السرطان. وفي أحد التجسيدات، يتضمن التركيب، على سبيل المثال التركيب الصيدلي توليفة من جزيئات الجسم المضاد لِـ PD-1 و الجسم المضاد لِـ M-CSF وعامل واحد أو أكثر، على سبيل المثال عامل علاجي therapeutic agent أو جزيء لجسم مضاد آخر، كما وصف هنا.

تعريفات

ويقصد بمصطلح بروتين "موت الخلية المبرمج 1" أو "PD-1" الأشكال الإسوية، PD-1 لدى الثدييات مثل البشر، الأنواع المماثلة لِـ PD-1 البشري، ونظائر تشتمل على حاتمة مشتركة واحدة على الأقل مع PD-1. ويُعرف سياق الأحماض الأمينية لِـ PD-1، مثل PD-1 البشري في التقنية، على سبيل المثال المرجع Shinohara T *et al.* (1994) *Genomics* 23(3):704-6; Finger LR, *et al. Gene* (1997) 197(1-2):177-87.

ويقصد بالمصطلح "فعال علاجيا بشكل مشترك" أنه يمكن إعطاء مضاد الـ PD-1، مثلاً جزيء الجسم المضاد لِـ PD-1 ومضاد الـ M-CSF، مثلاً جزيء الجسم المضاد لِـ M-CSF بشكل متزامن (في شكل جرعة واحدة أو أشكال جرعات متعددة) أو بشكل منفصل (بكيفية متعاقبة وفقاً لترتيب زمني، ولا سيما بطريقه محددة التسلسل) خلال الفترات الزمنية المفضلة، في الكائن الخاضع للمعالجة، وخاصةً البشر، المراد معالجته، وتظهر كذلك تفاعلاً تبادلياً (يفضل محسن أو تآزري). وفي أحد التجسيدات، تظهر التوليفة المعطاة استجابةً علاجيةً محسنة عند مقارنتها بالاستجابة العلاجية عند اعطاء علاج أحادي monotherapy لكائن خاضع للمعالجة من السرطان.

وكما استخدم هنا، تشير الصيغ المفردة النكرة لعنصر ما إلى وجود عنصر واحد أو أكثر (أي عنصر واحد على الأقل).

ويستخدم حرف العطف "أو" هنا بشكل تبادلي مع التعبير "و/أو" ما لم يشير السياق بوضوح إلى خلاف ذلك.

ويقصد بالمصطلح "حوالي" و "تقريباً" بوجه عام وجود درجة خطأ مقبولة للكمية المقاسة المحددة بالنظر إلى طبيعة أو دقة القياسات. وتكون درجات الخطأ النموذجية ضمن 20٪، وعادة ضمن 10٪، والأكثر اعتيادياً ضمن 5٪ لقيمة محددة أو مدى من القيم.

وتشتمل تراكيب وطرق الاختراع الراهن على متعددات ببتيد وأحماض نووية لها السياقات المحددة، أو السياقات المطابقة أو المماثلة جوهرياً لها مثل السياقات المتطابقة بنسبة لا تقل عن 85٪، 90٪، 95٪ أو أكثر للسياق المحدد. وفي حالة سياق الأحماض الأمينية، يستخدم المصطلح "مطابق جوهرياً" هنا للإشارة إلى سياق أحماض أمينية أول يحتوي على عدد كافٍ أو أدنى عدد من شقات الحمض الأميني التي تكون i) مطابقة لِـ، أو ii) الحاملة لبدائل مقاومة للتغير لشقات الحمض الأميني المتحاذية في سياق أحماض أمينية ثانٍ بحيث يمكن أن يكون لسياق الأحماض الأمينية الأول وسياق الأحماض الأمينية الثاني حقل بنيوي عام و/أو فعالية وظيفية عامة. وعلى سبيل المثال، يكون لسياقات الأحماض الأمينية التي تحتوي على حقل بنيوي عام نسبة تطابق تبلغ على الأقل 85٪، 90٪، 91٪، 92٪، 93٪، 94٪، 95٪، 96٪، 97، 98٪، أو 99٪ مع السياق المرجعي مثل السياق المزوّد هنا.

وفي حالة سياق النيوكليوتيدات، يستخدم المصطلح "مطابق جوهرياً" هنا للإشارة إلى سياق أحماض نووية أول يحتوي على عدد كافٍ أو أدنى عدد من النيوكليوتيدات المطابقة للنيوكليوتيدات المتحاذية في سياق الأحماض النووية الثاني بحيث يحمل سياق النيوكليوتيدات الأول وسياق النيوكليوتيدات الثاني شيفرة متعدد ببتيد له فعالية وظيفية عامة، أو يحمل شيفرة حقل متعدد ببتيد بنيوي عام أو فعالية متعدد ببتيد وظيفية عامة. وعلى سبيل المثال، يكون لسياقات النيوكليوتيدات نسبة تطابق تبلغ ما لا يقل عن حوالي 85٪، 90٪، 91٪، 92٪، 93٪، 94٪، 95٪، 96٪، 97، 98٪، أو 99٪ مع السياق المرجعي مثل السياق المزوّد هنا.

ويشير مصطلح "شكل مختلف وظيفي" إلى متعددات ببتيد لها سياق أحماض أمينية مطابقة جوهرياً للسياق الموجود طبيعياً، أو يحمل شيفرتها سياق النيوكليوتيدات المطابق جوهرياً، ولها فعالية واحدة أو أكثر من فعاليات السياق الموجود طبيعياً.

ويشير المصطلح "موقع الارتباط بمولد المضاد antigen-binding site " إلى جزء من جزيء الجسم المضاد المشتمل على محددات تشكل الواجهة البينية التي تربط متعدد الببتيد PD-1، أو حاتمة منه. وبالنسبة للبروتينات (أو المحاكيات البروتينية protein mimetics)، يشتمل موقع

الارتباط بمولد المضاد عادة على حلقة واحدة أو أكثر (لأربعة أحماض أمينية amino acids أو محاكيات أحماض أمينية amino acids على الأقل) تشكل الواجهة البينية التي ترتبط بمتعدد الببتيد PD-1 polypeptide أو M-CSF. وعادة ما يشتمل موقع الارتباط بمولد المضاد لجزيء الجسم المضاد على منطقة واحدة على الأقل أو منطقتين من مناطق CDR و/أو حلقات مفرطة التغير، أو بشكل أكثر نموذجي، ثلاثة مناطق، أربعة، خمسة أو ست مناطق CDR و/أو حلقات مفرطة التغير.

ويشير المصطلحان "جسم مضاد أحادي النسيلة" أو "تركيب جسم مضاد أحادي النسيلة" كما استخدما هنا إلى مستحضر من جزيئات جسم مضاد لتركيب جزيئي مفرد. ويظهر تركيب الجسم المضاد أحادي النسيلة ألفة affinity ونوعية ارتباط مفردة single binding specificity لحاتمة معينة. ويمكن تحضير الجسم المضاد أحادي النسيلة عن طريق تقنية الورم الهجين hybridoma technology أو بواسطة الطرق التي لا تستخدم تقنية الورم الهجين (مثل طرق التأشب recombinant methods).

ويُعتبر البروتين "البشري الفعال" بروتين لا يُحدث استجابة لجسم مضاد مستعدل، على سبيل المثال، استجابة جسم مضاد بشري لفأر human anti-murine antibody (HAMA).

ويشير المصطلح "توليفة" إلى تركيبات من الأجزاء المشاركة المستقلة بوجود أو بغياب تعليمات بخصوص الاستخدام المتآلف أو إلى منتجات التوليفة. وبالتالي قد تكون الأجزاء المشاركة في التوليفة عبارة عن أشكال جرعات صيدلية منفصلة بالكامل أو تراكيب صيدلية تباع أيضاً بشكل منفصل عن بعضها البعض ويتم تزويد تعليمات عن استخدامها المتآلف فقط في عُدة العبوة، مثلا في النشرة وما أشبه أو ضمن معلومات أخرى مثلاً تزود للأطباء والعاملين في المجال الطبي (مثلاً عن طريق الرسائل الشفوية أو الرسائل الخطية أو ما أشبه) من أجل الاستخدام المتزامن أو المتتالي بحيث تكون فعالة معاً كما هو محدد أدناه.

ويشتمل المصطلح "منتج التوليفة combination product" طقم من الأجزاء المخصصة للإعطاء المتآلف حيث يمكن إعطاء الجسم المضاد لـ PD-1 و الجسم المضاد لـ M-CSF كل على حده في نفس الوقت أو بشكل منفصل ضمن فترات زمنية محددة، وخاصة ضمن الفترات الزمنية التي تتيح أن تظهر الأجزاء المشاركة في التوليفة تأثيراً تعاونياً (مشتركاً)، مثلاً محسناً، معززاً أو تآزرياً. ويقصد بالمصطلحين "إعطاء إسهامي co-administration" أو "إعطاء متآلف combined

administration" أو ما شابه ذلك كما استخدم هنا أن يشمل إعطاء الجزء المشارك في التوليفة المختار إلى كائن واحد بحاجة له (مثلاً، مريض)، ويراد بهما أن يشملا أنظمة المعالجة التي لا تعطى العوامل فيها بالضرورة بنفس طريقة الإعطاء و/أو في نفس الوقت.

ويقصد بالمصطلح "توليفة غير ثابتة non-fixed combination" أن المقومات الفعالة تعطى للمريض على شكل وحدات منفصلة إما في نفس الوقت، أو بشكل متزامن أو متعاقب دون وضع حدود زمنية معينة، حيث يزوّد هذا الإعطاء مستويات فعالة علاجياً من الجسمين المضادين في جسم المريض. وينطبق المصطلح الأخير أيضاً على العلاج المختلط cocktail therapy، مثل العلاج الذي يتم فيه إعطاء ثلاثة مقومات فعالة أو أكثر. وبالتالي يعرف المصطلح " توليفة غير ثابتة non-fixed combination" هنا ليشير على نحو خاص إلى "طقم من أجزاء" بمعنى أنه يمكن اعطاء جرعة من الأجزاء المشاركة في التوليفة (i) الجسم المضاد لـ PD-1 و(ii) الجسم المضاد لـ M-CSF كما هو معرف هنا كل على حدة أو باستخدام توليفات ثابتة مختلفة بها مقادير محددة من الأجزاء المشاركة في التوليفة، أي في نفس الوقت أو عند مراحل زمنية مختلفة، حيث يمكن استخدام الأجزاء المشاركة في التوليفة في صورة أشكال جرعات صيدلية منفصلة بالكامل أو تركيبات صيدلية تباع أيضاً بشكل منفصل عن بعضها البعض ويتم تزويد تعليمات عن استخدامها المشترك فقط في عُدّة العبوة، مثلا في النشرة وما أشبه أو ضمن معلومات أخرى مثلاً تزود للأطباء والعاملين في المجال الطبي. ويمكن أن يتم مثلاً إعطاء التركيبات المنفصلة أو الأجزاء المكونة للطقم بعد ذلك معاً في نفس الوقت أو بشكل متعاقب زمنياً، أي عند مراحل زمنية مختلفة وفترات زمنية مختلفة متساوية أو مختلفة لأي جزء من الطقم المكون من الأجزاء. ومن المفضل جداً، أن تختار الفترات الزمنية بحيث يكون التأثير على المرض الذي تتم معالجته عند الاستخدام المشترك للأجزاء أكبر من التأثير الذي يمكن الحصول عليه باستخدام أي من الأجزاء المشاركة في التوليفة (i) و (ii)، وبالتالي يكونا فعالين معاً. ويمكن أن تتفاوت نسبة المقادير الكلية للجزء المشارك في التوليفة (i) إلى الجزء المشارك في التوليفة (ii) المراد إعطاؤهما في المستحضر الموالف، مثلاً من أجل التغلب على احتياجات المجموعة الفرعية للمرضى المراد معالجتهم أو احتياجات المريض المفرد حيث تختلف احتياجات المرضى بسبب اختلاف العمر، الجنس، وزن الجسم، إلخ للمرضى.

ويقصد بالتعابير "إعطاء عن طريق غير الجهاز الهضمي" و "يعطى عن طريق غير الجهاز الهضمي" كما تم استخدامها هنا أنماط الإعطاء بخلاف الإعطاء الموضعي والمعوي، وعادة ما يتم ذلك عن طريق الحقن، وتشمل بدون تحديد، الحقن والتسريب بالوريد intravenous، في العضل intramuscular، داخل الشريان، داخل القراب، داخل المحفظة، داخل الحجاج، داخل القلب، داخل الأدمة intraarterial، داخل القِراب intrathecal، عبر الرغامى transtracheal، تحت الجلد subcutaneous، تحت البشرة subcuticular، داخل المفصل intraarticular، تحت المحفظة subcapsular، تحت العنكبوتية subarachnoid، داخل النخاع intraspinal، فوق الجافية epidural وداخل القص intrasternal.

ويشير المصطلح "معزول" كما استخدم هنا، إلى مادة يتم إزالتها من وسطها الأصلي أو الطبيعي (مثل البيئة الطبيعية عند تواجدها بشكل طبيعي). وعلى سبيل المثال، لا يتم عزل متعدد نيوكليوتيد polynucleotide موجود طبيعياً أو متعدد ببتيد polypeptide موجود في حيوان حي، ولكن يتم عزل نفس متعدد النيوكليوتيد polynucleotide أو متعدد الببتيد polypeptide المفصول بواسطة التدخل البشري من بعض أو كافة المواد الموجودة بشكل مشترك في النظام الطبيعي. ويمكن أن تكون متعددات النيوكليوتيدات polynucleotides هذه جزءاً من الناقل و/أو يمكن أن تكون متعددات النيوكليوتيدات polynucleotides أو متعددات الببتيد polypeptides جزءاً من التركيب، ويمكن عزله في هذا الناقل أو التركيب الذي لا يعتبر جزءاً من الوسط الموجود فيه بشكل طبيعي.

وكما استخدم هنا، يشير المصطلح "جزيء الجسم المضاد" إلى بروتين مثل سلسلة غلوبولين مناعي immunoglobulin chain أو شدفة منه، تشتمل على سياق لحقل متغير للغلوبولين المناعي. ويتضمن المصطح "جزيء الجسم المضاد" مثلاً جسم مضاد أحادي النسيلة (بما في ذلك الجسم المضاد كامل الطول المشتمل على منطقة Fc للغلوبولين المناعي)، وفي أحد التجسيدات، يشتمل جزيء الجسم المضاد جسم مضاد كامل الطول، أو سلسلة غلوبولين مناعي كاملة الطول. وفي أحد التجسيدات، يشتمل جزيء الجسم المضاد مولد مضاد مرتبط أو شدفة وظيفية للجسم المضاد كامل الطول، أو سلسلة غلوبولين مناعي كاملة الطول. وفي مثال آخر، يشتمل جزيء الجسم المضاد على سياقين لحقل متغير في السلسلة الثقيلة (H) وسياقين لحقل متغير في السلسلة الخفيفة (L)، وبالتالي تشكيل موقعي ارتباط بمولد المضاد مثل Fab، Fab'، $F(ab')_2$، Fc، Fd، Fd'، Fv، أجسام مضادة مفردة السلسلة (scFv مثلاً)، أجسام مضادة ذات

حقل متغير مفرد، أجسام ثنائية (Dab) (ثنائية التكافؤ وثنائية النوعية)، وأجسام مضادة خيمرية (مثلاً مؤنسنة)، يمكن إنتاجها عن طريق تعديل كامل الأجسام المضادة أو تلك المصنعة من جديد باستخدام تقنيات تأشب DNA. وتحافظ شدفات الجسم المضاد الوظيفية هذه على قدرة الارتباط الانتقائي مع مولد المضاد أو المستقبل الخاص بها. ويمكن أن تكون الأجسام المضادة وشدفات الجسم المضاد من أي صنف من أصناف الأجسام المضادة بما في ذلك على سبيل المثال لا الحصر IgG، IgA، IgM، IgD، وIgE، ومن أي صنف فرعي للأجسام المضادة (مثل IgG1، IgG2، IgG3، وIgG4). ويمكن أن يكون مستحضر جزيئات الأجسام المضادة أحادي النسيلة أو متعدد النسيلة. ويمكن أن يكون جزيء الجسم المضاد أيضاً عبارة عن جسم مضاد بشري، مؤنسن، مطعم بـ CDR، أو متكون في أنبوب اختبار. ويمكن أن يشتمل الجسم المضاد على منطقة ثابتة في السلسلة الثقيلة مختارة مثلاً من IgG1، IgG2، IgG3، أو IgG4. ويمكن أن يشتمل الجسم المضاد أيضاً على سلسلة خفيفة مختارة مثلاً من kappa أو lambda. ويستخدم مصطلح "غلوبولين مناعي immunoglobulin (Ig)" بشكل تبادلي مع المصطلح "جسم مضاد".

وتتضمن أمثلة شدفات الارتباط بمولد المضاد لجزيء الجسم المضاد: (1) شدفة Fab، شدفة أحادية التكافؤ مكونة من الحقول VL، VH، CL وCH1؛ (2) الشدفة F(ab')2، وهي شدفة ثنائية التكافؤ مكونة من شدفتي Fab مرتبطتين بجسر من ثنائي كبريتيد disulfide عند المنطقة المفصلية؛ (3) شدفة Fd مكونة من الحقلين VH و CH1؛ (4) شدفة Fv مكونة من الحقلين VL و VH للذراع المفردة للجسم المضاد؛ (5) شدفة جسم ثنائي (dAb) مكونة من الحقل VH؛ (6) حقل متغير جَملي أو معدل جَملياً؛ (7) سلسلة مفردة Fv (scFv)؛ (8) جسم مضاد مفرد الحقل. ويتم الحصول على شدفات الأجسام المضادة هذه باستخدام التقنيات التقليدية المعروفة لأولئك المتمرسين في التقنية، ويتم غربلة الشدفات لاستخدامها بنفس الكيفية كما في حالة الأجسام المضادة السليمة. ويشتمل مصطلح "الجسم المضاد" الجزيئات السليمة بالإضافة إلى الشدفات الوظيفية منها. ويمكن تعديل المناطق الثابتة للأجسام المضادة، مثلاً المطفرة، لتعديل خواص الجسم المضاد (مثلاً لزيادة أو تقليل واحد أو أقل مما يلي: ارتباط المستقبل Fc، غليكوزلة الجسم المضاد antibody glycosylation، عدد شقات السيستئين cysteine، وظيفة الخلية المستفعلة effector cell، أو وظيفة التتمة).

ويمكن تجزئة المناطق VH و VL فرعياً إلى مناطق مفرطة التغير، مشار إليها "مناطق تحديد التتامية complementarity determining regions" (CDR)، منتشرة مع المناطق الأكثر محافظة، المشار إليها بـِ "المناطق الهيكلية framework regions" (FR أو FW).

وتم تحديد مدى المنطقة الهيكلية ومناطق CDR بدقة بواسطة عدد من الطرق (انظر المرجع Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Chothia, C. et al. (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901-917؛ وتعريف AbM المستخدم في برمجية النمذجة للجسم المضاد AbM Oxford Molecular's. وعموماً انظر مثلاً المرجع *Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains.* In: Antibody Engineering Lab Manual (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg).

ويشير المصطلح "منطقة تحديد التتامية" و "CDR" هنا إلى سياقات الأحماض الأمينية amino acids ضمن مناطق متغيرة للجسم المضاد وتتضمن نوعية مولد المضاد وألفة الارتباط. وبوجه عام، هنالك ثلاثة مناطق CDR في منطقة متغيرة ثقيلة السلسلة (HCDR1، HCDR2، HCDR3) وثلاثة مناطق CDR في كل منطقة متغيرة خفيفة السلسلة (LCDR1، LCDR2، LCDR3).

ويمكن تحديد حدود سياق الأحماض الأمينية amino acids الدقيقة لمنطقة CDR محددة باستخدام أي عدد من المخططات المعروفة جيداً، بما في ذلك تلك الموصوفة في المرجع Kabat *et al.* (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD ("Kabat" numbering scheme), Al-Lazikani *et al.*, (1997) *JMB* 273,927-948 ("Chothia" numbering scheme). وكما استخدم هنا، يشار أيضاً إلى مناطق CDR المحددة وفقاً للمخطط الرقمي "Chothia" في بعض الأحيان بـِ "حلقات مفرطة التغير hypervariable loops".

وعلى سبيل المثال، وفقاً لـِ Kabat، يتم ترقيم شقات الأحماض الأمينية CDR في الحقل المتغير ثقيل السلسلة (VH) على النحو التالي: (HCDR1) 31-35، (HCDR2) 50-65، و 95-102 (HCDR3)؛ ويتم ترقيم شقات الأحماض الأمينية CDR في الحقل المتغير خفيف السلسلة (VL) على النحو التالي (LCDR1) 24-34، (LCDR2) 50-56، و(LCDR3) 89-97. ووفقاً لـِ Chothia يتم ترقيم الأحماض الأمينية في المنطقة CDR في VH على النحو التالي 26-32

(HCDR1)، (HCDR2) 52-56، و (HCDR3) 95-102؛ ويتم ترقيم شقات الأحماض الأمينية في VL على النحو التالي (LCDR1) 26-32، (LCDR2) 50-52، و (LCDR3) 91-96. وعن طريق دمج تعريفات CDR وفقاً لكل من Kabat و Chothia، تتكون المناطق CDRs من شقات الأحماض الأمينية (HCDR1) 26-35، (HCDR2) 50-65، و (HCDR3) 95-102 في VH بشري وشقات الأحماض الأمينية (LCDR1) 24-34، (LCDR2) 50-56، و (LCDR3) 89-97 في VL بشري.

وبوجه عام، وما لم يشار إلى خلاف ذلك، فإنه يمكن أن تتضمن جزيئات الجسم المضاد لِـ PD-1 أية توليفة من واحد أو أكثر من مناطق CDR وفقاً لِـ Kabat و/أو حلقات مفرطة التغير وفقاً لِـ Chothia، مثل تلك الموصوفة في الجدول 2. وفي أحد التجسيدات، تستخدم التعريفات التالية لجزيئات الجسم المضاد لِـ PD-1 الموصوفة في الجدول 2: HCDR1 وفقاً لتعريفات CDR المدمجة وفقاً لِـ Kabat و Chothia، و HCCDRs 2-3 و LCCDRs 1-3 وفقاً لتعريف CDR وفق Kabat. وبموجب هذه التعريفات، تشتمل كل VH و VL عادة ثلاث مناطق CDR وأربع مناطق FR، مرتبة من الشق الطرفي-أمينو amino إلى الشق الطرفي كربوكسي carboxy بالترتيب التالي: FR1، CDR1، FR2، CDR2، FR3، CDR3، FR4.

وفي أحد التجسيدات، يكون جزيء الجسم المضاد عبارة عن جزيء جسم مضاد أحادي النوعية monospecific antibody molecule ويرتبط بحاتمة مفردة مثل جزيء الجسم المضاد أحادي النوعية المشتمل على مجموعة من سياقات الحقل المتغير للغلوبولين المناعي، إذ يكون كل سياق منها مرتبط بنفس الحاتمة.

وفي أحد التجسيدات، يكون جزيء الجسم المضاد عبارة عن جزيء جسم مضاد متعدد النوعية multispecific antibody molecule يشتمل مثلاً على مجموعة من سياقات الحقول المتغيرة للغلوبولين المناعي، حيث يكون لسياق الحقل المتغير للغلوبولين المناعي الأول في المجموعة نوعية ارتباط بالنسبة للحاتمة الأولى ويكون لسياق الحقل المتغير للغلوبولين المناعي الثاني في المجموعة نوعية ارتباط بالنسبة للحاتمة الثانية. وفي أحد التجسيدات، تكون الحاتمة الأولى والحاتمة الثانية على نفس مولد المضاد مثلاً نفس البروتين (أو وحدة فرعية للبروتين المتراكب). وفي أحد التجسيدات، تتراكب الحاتمة الأولى والحاتمة الثانية. وفي تجسيدات لا تتراكب الحاتمة الأولى والحاتمة الثانية. وفي تجسيد تكون الحاتمة الأولى والحاتمة الثانية على مولدات

مضاد مختلفة مثل البروتينات المختلفة (أو الوحدات الفرعية المختلفة للبروتين المتراكب). وفي أحد التجسيدات، يشتمل جزيء الجسم المضاد متعدد النوعية على حقل متغير للغلوبولين المناعي ثالث، رابع أو خامس. وفي أحد التجسيدات، يكون جزيء الجسم المضاد ثنائي النوعية عبارة عن جزيء جسم مضاد ثنائي النوعية، جزيء جسم مضاد ثلاثي النوعية، أو جزيء جسم مضاد رباعي النوعية.

وفي أحد التجسيدات يكون جزيء الجسم المضاد متعدد النوعية عبارة عن جزيء جسم مضاد ثنائي النوعية. ويكون للجسم المضاد ثنائي النوعية نوعية بالنسبة لمولدين اثنين على الأكثر من مولدات المضادات. ويتم تمييز جزيء الجسم ثنائي النوعية بواسطة سياق حقل متغير للغلوبولين المناعي أول له نوعية ارتباط بالنسبة للحاتمة الأولى وسياق حقل متغير للغلوبولين المناعي ثاني له نوعية ارتباط بالنسبة للحاتمة الثانية. وفي أحد التجسيدات، تكون الحاتمة الأولى والحاتمة الثانية على نفس مولد المضاد مثلاً نفس البروتين (أو وحدة فرعية للبروتين المتراكب). وفي أحد التجسيدات، تتراكب الحاتمة الأولى والحاتمة الثانية. وفي تجسيدات لا تتراكب الحاتمة الأولى والحاتمة الثانية. وفي تجسيد تكون الحاتمة الأولى والحاتمة الثانية على مولدات مضاد مختلفة مثل البروتينات المختلفة (أو الوحدات الفرعية المختلفة للبروتين المتراكب). وفي أحد التجسيدات، يشتمل جزيء الجسم المضاد ثنائي النوعية على سياق حقل متغير ثقيل السلسلة وسياق حقل متغير خفيف السلسلة لهما نوعية ارتباط بالنسبة للحاتمة الأولى وسياق حقل متغير ثقيل السلسلة وسياق حقل متغير خفيف السلسلة لهما نوعية ارتباط بالنسبة للحاتمة الثانية. وفي أحد التجسيدات، يشتمل جزيء الجسم المضاد ثنائي النوعية على جسم مضاد نصفي له نوعية ارتباط بالنسبة للحاتمة الأولى وجسم مضاد نصفي له نوعية ارتباط بالنسبة للحاتمة الثانية. وفي أحد التجسيدات، يشتمل جزيء الجسم المضاد ثنائي النوعية على جسم مضاد على جسم مضاد نصفي، أو شدفة منه، لهما نوعية ارتباط بالنسبة للحاتمة الأولى وجسم مضاد نصفي، أو شدفة منه، لهما نوعية ارتباط بالنسبة للحاتمة الثانية. وفي أحد التجسيدات، يشتمل جزيء الجسم المضاد ثنائي النوعية على scFv، أو شدفة منه لهما نوعية ارتباط بالنسبة للحاتمة الأولى وscFv، أو شدفة منه لهما نوعية ارتباط بالنسبة للحاتمة الثانية. وفي أحد التجسيدات، تقع الحاتمة الأولى على PD-1 وتقع الحاتمة الثانية على TIM-3، LAG-3، CEACAM (مثل CEACAM-1 و/أو CEACAM-5)، PD-L1، أو PD-L2.

ويمكن أن يكون قد استعيض في الجسم المضاد المؤنسن أو المطعم بـ CDR عن منطقة واحدة على الأقل أو اثنتين أو بشكل عام كل مناطق CDR الثلاث لمتلقي (ذات سلاسل غلوبولين مناعي ثقيلة و/أو خفيفة) بـ CDR من مانح. ويمكن أن يستعاض عن الجسم المضاد بجزء على الأقل من CDR غير بشري أو قد يُستعاض بجزء فقط من CDRs بـ CDRs غير بشرية. ومن الضروري فقط استبدال عدد من CDRs المطلوبة لربط الجسم المضاد المؤنسن بـ PD-1. ويفضل أن يكون المانح جسم مضاد من حيوان قارض، على سبيل المثال، جسم مضاد من جرذ أو فأر، ويكون المتلقي هيكل بشري أو هيكل توافقي بشري. وعادة ما يسمى الغلوبلين المناعي الذي يزود CDRs بِـ "المانح" ويسمى الغلوبلين المناعي الذي يزود الهيكل بِـ "المتقبل". ووفقاً لأحد التجسيدات، يكون الغلوبلين المناعي المانح غير بشري (على سبيل المثال، حيوان قارض). ويكون الهيكل المتقبل هيكل متواجد بشكل طبيعي (على سبيل المثال، بشري) أو هيكل توافقي أو سياق مطابق له بنسبة لا تقل عن 85٪ ويفضل بنسبة لا تقل عن 90٪، 95٪، 99٪.

وكما استُخدم هنا، يشير المصطلح "سياق توافقي consensus sequence" إلى السياق المشكّل من الأحماض الأمينية amino acids المتواجدة غالباً (أو نيوكليوتيدات nucleotides) في عائلة من سياقات ذات صلة. وفي عائلة البروتينات، يُشغل كل موقع في السياق التوافقي بالحمض الأميني amino acid المتواجد غالباً عند ذلك الموقع في العائلة. وإذا تواجد حمضان أمينيان بشكل شائع بنفس الدرجة، فيمكن أن يكون أي منهما مشمولاً في السياق التوافقي. ويشير مصطلح "هيكل توافقي" إلى المنطقة الهيكلية في سياق الغلوبلين المناعي التوافقي.

ويمكن أن تشتمل التراكيب الصيدلية وفقاً للاختراع على "مقدار فعال علاجياً" أو "مقدار فعال وقائياً" من جسم مضاد أو جزء من جسم مضاد وفقاً للاختراع. ويشير مصطلح "مقدار فعال علاجياً" أو "مقدار فعال علاجياً بشكل مشترك" إلى مقدار فعال بجرعات ولفترات زمنية ضرورية للحصول على النتيجة العلاجية المرغوبة. ويمكن أن يتفاوت المقدار الفعال علاجياً من الجسم المضاد المعدل أو جزء منه وفقاً لعوامل مثل الحالة المرضية، العمر، الجنس، ووزن الفرد وقدرة الجسم المضاد أو جزء منه على احداث استجابة مرغوبة في الفرد. والمقدار الفعال علاجياً هو أيضاً أحد العوامل حيث ترجح التأثيرات السامة أو المضرة للجسم المضاد المعدل أو شدفة الجسم المضاد بواسطة التأثيرات المفيدة علاجياً. وتعمل جرعة فعالة علاجياً من التوليفة التي تم الكشف عنها بشكل مفضل على تثبيط متغير يمكن قياسه مثل معدل نمو الورم بنسبة لا تقل عن حوالي

20٪، والأفضل بنسبة لا تقل عن حوالي 40٪، والأفضل بنسبة لا تقل عن حوالي 60٪، والأفضل أيضاً بنسبة لا تقل عن حوالي 80٪ بالنسبة للكائنات غير المعالجين. ويمكن تقييم قدرة التوليفة التي تم الكشف عنها هنا على تثبيط متغير يمكن قياسه، مثل السرطان في تجربة سريرية ومن قبل الطبيب المتمرس.

ويشير "مقدار فعال وقائياً" إلى مقدار فعال بجرعات ولفترات زمنية ضرورية للحصول على النتيجة الوقائية المرغوبة. وعادةً ما تستخدم جرعة وقائية لأشخاص قبل أو عند مرحلة مبكرة من المرض، وسيقل المقدار الفعال بشكل وقائي عن المقدار الفعال علاجياً.

ويتضمن مجال الاختراع أيضاً طقم يشتمل على جزيء الجسم المضاد لِـ PD-1، وجزيء الجسم المضاد لِـ M-CSF الموصوف هنا، ويمكن أن يتضمن الطقم عنصر آخر واحد أو أكثر يتضمن تعليمات الاستخدام، مواد كاشفة أخرى، مثل واسم، عامل علاجي أو عامل مفيد للاستخلاب أو للاقتران، جسم مضاد لواسم أو عامل علاجي أو تركيب واقي من الأشعة، أجهزة ومواد أخرى لتحضير الجسم المضاد المناسب للإعطاء، مواد حاملة مقبولة صيدلياً وأجهزة أو مواد أخرى للإعطاء إلى كائن خاضع للمعالجة.

قائمة السياقات

يشتمل الطلب الحالي على قائمة سياقات تم تقديمها بشكل إلكتروني بنسق وفقاً للنظام الأمريكي الموحد لتبادل المعلومات American Standard Code for Information Interchange (ASCII) وأدمجت بالكامل في هذه المواصفة للإحالة إليها كمرجع. ويطلق على نسخة ASCII المذكورة، التي تم إنشاؤها بتاريخ 11 يوليو، 2016م، PAT057000_SL.txt ويبلغ حجمها 55243 بايت byte.

أمثلة على مضادات الجسم المضاد للعامل المنبه لمستعمرات البراعم (M-CSF)

تؤدي أشكال عديدة لِـ M-CSF الموصوفة أدناه وظيفتها من خلال ارتباطها بمستقبلها (M-CSFR) على الخلايا المستهدفة. ويمثل M-CSFR جزيء ممتد عبر الغشاء به خمس حقول خارج خلوية شبيهة بغلوبيولين مناعي immunoglobulin، حقل عبر الغشاء وحقل كيناز kinase لتيروسين tyrosine مرتبط بِـ Src منقطع داخل الخلية. ويحمل M-CSFR شيفرة c-fms proto-oncogene. ويؤدي ارتباط M-CSF بالحقل خارج الخلوي لِـ M-CSFR إلى ديمرة المستقبل، مما يعمل على تنشيط حقل الكيناز السيتوبلازمي cytoplasmic kinase، ويؤدي ذلك إلى فسفرة تلقائية

وفسفرة لبقية البروتينات الخلوية (انظر المرجع Hamilton J. A., J Leukoc Biol.,62(2):145-55 (1997); Hamilton J, A., Immuno Today., 18(7): 313-7(1997)).

ويحمل mRNA لِـ M-CSF البشري كامل الطول (ويعرف كذلك بالعامل المنبه للمستعمرة (CSF-1)) بروتين نذير لأحماض أمينية يبلغ عددها 554. وأثناء تشكيل جدائل تناوبية من mRNA والمعالجة بالتحلل البروتيني التفاضلي بعد الانتقالي، يتم إما إفراز M-CSF في الدورة على شكل غليكوبروتين glycoprotein أو كبريتات كوندرويتين chondroitin sulfate تحتوي على بروتيوغليكان proteoglycan، أو التعبير عنه بصفته غيلكوبروتين glycoprotein ممتد عبر الغشاء على سطح الخلايا المنتجة لِـ M-CSF. وتشير البنية ثلاثية الأبعاد للأحماض الأمينية للمطراف الأميني amino terminal المعبر عنها بكتيرياً والبالغ عددها 150 في M-CSF بشري، الحد الأدنى للسياق المطلوب لفعالية حيوية كاملة في المختبر، إلى أن هذا البروتين عبارة عن دايمر dimer مرتبط بثنائي كبريتيد disulfide فيه كل مونمر monomer يتكون من أربعة حزم ألفا حلزونية وصفيحة بيتا beta sheet موازية معاكسة (انظر المرجع Pandit et al., Science 258: 1358-62 (1992)). ويتم إنتاج ثلاث أصناف مختلفة من M-CSF من خلال تشكيل جدائل تناوبية من mRNA. وتتمثل أسلاف متعدد ببتيد polypeptide الثلاثة في M-CFSα به 256 حمض أميني، M-CSFβ بيتا به 554 حمض أميني، و M-CSFγ به 438 حمض أميني. ويمثل M-CSFβ بروتين مفرَز لا يوجد في صورة مرتبطة بالغشاء. ويتم التعبير عن M-CSFα كبروتين متكامل الغشاء والذي يتم إطلاقه ببطء عن طريق الانقسام التحللي البروتيني. ويتم انقسام M-CSFα عند أحماض أمينية 191–197. ويمكن أن يتفاعل الشكل المرتبط بالغشاء لِـ M-CSF مع المستقبلات على خلايا مجاورة، وبالتالي يتوسط التلامس الخلوي النوعي. ويمكن أن يشمل مصطلح "M-CSF" أحماض أمينية 36–438.

ويتم وصف مضادات M-CSF. وقد يكون مضاد M-CSF من التوليفة عبارة عن جزيء صغير، جسم مضاد أو بروتين آخر مرتبط بمولد الضد، جزيء صغير، حمض نووي (مثل siRNA)، أو أي جزيء آخر لا يتعارض مع تنشيط أو وظيفة M-CSF.

وفي أحد الأمثلة، يكون مضاد M-CSF عبارة عن جزيء جسم مضاد لِـ M-CSF. وتتضمن الأجسام المضادة لِـ M-CSF. المفيدة في الاختراع الحالي الأجسام المضادة لِـ M-CSF المكشوف عنها في نشرة براءة الاختراع الدولية رقم 2005/068503، والتي أدمجت هنا بالكامل

لكون تعاليمها متعلقة بالأجسام المضادة لِـ M-CSF. وتكشف براءة الاختراع الدولية رقم 2005/068503، مثلاً، عن أجسام مضادة ترتبط بنفس حاتمات الأجسام المضادة RX1، 5H4، MC1، و/أو MC3، تركيبات صيدلية تتضمن نسخ لجسم مضاد محدد M-CSF بالاسم التجاري Human Engineered™ للأجسام المضادة المذكورة أعلاه، وطرق لتحضير التركيبات الصيدلية. ويستخدم مصطلح "جسم مضاد" بمعناه الواسع ويتضمن أجسام مضادة مركبة بالكامل، أجسام مضادة أحادية النسيلة، أجسما مضادة متعددة النسيلة، أجسام مضادة متعددة الخصوصية (مثلاً، أجسام مضادة ثنائية الخصوصية)، شدفات أجسام مضادة ترتبط بمولد الضد (مثل Fab'، F'(ab)2، Fv، أجسام مضادة أحادية السلسلة، أجسام ثنائية)، ومتعددات ببتيد متوالفة recombinant peptides تتضمن تلك المذكورة سابقاً ما دامت تظهر الفعالية الحيوية المرغوبة.

وتتضمن أجسام مضادة لِـ M-CSF أخرى والتي يمكن استخدامها في الاختراع الحالي الأجسام المضادة لِـ M-CSF المكشوف عنها في نشرة براءة الاختراع الدولية رقم 2003/028752، براءة الاختراع الأمريكية رقم 2009117103 وبراءة الاختراع الأمريكية رقم 2005059113، والتي أدمجت كل منها بالكامل لكون تعاليمها متعلقة بجزيئات الجسم المضاد لِـ M-CSF.

وفي أحد التجسيدات، يتضمن جزيء الجسم المضاد المفيد في طرق الاختراع جزيء جسم مضاد يرتبط بحاتمة خطية ممثلة بِـ RFRDNTPN (سياق برقم تعريف: 42) أو RFRDNTAN (سياق برقم تعريف: 43). ويمثل الجسم المضاد هذا الجسم المضاد RX1 (H-RX1) الهندسي البشري المكشوف عنه في براءة الاختراع الدولية رقم 2005/068503. وفي تجسيد آخر، قد يكون الجسم المضاد عبارة عن جزيء جسم مضاد يرتبط بحاتمة خطية ممثلة بِـ ITFEFVDQE (سياق برقم تعريف: 44). ويمثل الجسم المضاد هذا 5H4 المكشوف عنه في براءة الاختراع الدولية رقم 2005/068503.

وفي أحد التجسيدات، يستخدم H-RX1 في توليفة الاختراع. ويتم توضيح المناطق الثابتة والمتغيرة لسلسلة ثقيلة وخفيفة، ومناطق تحديد التتام complimentary determining regions (CDRs) للجسم المضاد RX1 (H-RX1) أو شدفة منه مرتبطة بمولد الضد، في الجدول 1.

الجدول 1 H-RX1، الجسم المضاد لِـ M-CSF

بروتين مشتق من RX1 (H-RX1)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSDYSITSDYAWNWIRQF PGKGLEWMGYISYSGSTSYNPSLKSRITISRDTSKNQFSLQL NSVTAADTAVYYCASFDYAHAMDYWGQGTTVTVSSASTK

	GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (سياق برقم تعريف: 1)
بروتين مشتق من (H-RX1) LC	DIVLTQSPAFLSVTPGEKVTFTCQASQSIGTSIHWYQQKTDQ APKLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSVEAEDAADY YCQQINSWPTTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC (سياق برقم تعريف: 2)
CDR1 للسلسلة الثقيلة (كابات)	SDYAWN (سياق برقم تعريف: 3)
CDR2 للسلسلة الثقيلة (كابات)	YISYSGSTSYNPSLKS (سياق برقم تعريف: 4)
CDR3 للسلسلة الثقيلة (كابات)	FDYAHAMDY (سياق برقم تعريف: 5)
CDR1 للسلسلة الخفيفة (كابات)	QASQSIGTSIH (سياق برقم تعريف: 6)
CDR2 للسلسلة الخفيفة (كابات)	YASESIS (سياق برقم تعريف: 7)

CDR3 للسلسلة الخفيفة (كابات)	QQINSWPTT (سياق برقم تعريف: 8)
بروتين مشتق من HC (H-RX1) (بما في ذلك الببتيد القيادي)	MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLQESGPGLVKPSQTLSLTC TVSDYSITSDYAWNWIRQFPGKGLEWMGYISYSGSTSYNPS LKSRITISRDTSKNQFSLQLNSVTAADTAVYYCASFDYAHA MDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (سياق برقم تعريف: 9)
بروتين مشتق من LC (H-RX1) (بما في ذلك الببتيد القيادي)	MVSTPQFLVFLLFWIPASRGDIVLTQSPAFLSVTPGEKVTFT CQASQSIGTSIHWYQQKTDQAPKLLIKYASESISGIPSRFSGS GSGTDFTLTISSVEAEDAADYYCQQINSWPTTFGGGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (سياق برقم تعريف: 10)

وفي أحد التجسيدات، يكون الجسم المضاد لمضاد M-CSF عبارة عن جزيء جسم مضاد مؤنسن يتضمن سياق المنطقة المتغيرة للسلسلة الثقيلة المذكور أعلاه، سياق برقم تعريف: 1 وسياق المنطقة المتغيرة للسلسلة الخفيفة المذكور أعلاه، سياق برقم تعريف: 2. وفي تجسيد آخر، يشتمل جزيء الجسم المضاد على منطقة متغيرة لسلسلة ثقيلة تتضمن حقول CDR1، CDR2، و CDR3، ومنطقة متغيرة لسلسلة خفيفة تتضمن حقول CDR1، CDR2، وCDR3، حيث يتضمن CDR3 للمنطقة المتغيرة للسلسلة الثقيلة أحماض أمينية لها السياق المذكور أعلاه، سياق برقم تعريف: 5، ويتضمن CDR3 للمنطقة المتغيرة للسلسلة الخفيفة أحماض أمينية لها السياق المذكور أعلاه، سياق برقم تعريف: 8، حيث يرتبط الجسم المضاد أو البروتين المرتبط بمولد الضد منه بـ M-CSF بشري بمقدار ألفة ارتباط تبلغ حوالي 10^{-7} مولار. وقد يتضمن الجسم المضاد أو شدفة منه أيضاً CDR2 لمنطقة متغيرة لسلسلة ثقيلة تتضمن أحماض أمينية لها السياق المذكور أعلاه،

سياق برقم تعريف: 4، وCDR2 لمنطقة متغيرة لسلسلة خفيفة تتضمن أحماض أمينية لها السياق المذكور أعلاه، سياق برقم تعريف: 7. وقد يتضمن الجسم المضاد أو شدفة منه أيضاً CDR1 لمنطقة متغيرة لسلسلة ثقيلة تتضمن أحماض أمينية لها السياق المذكور أعلاه، سياق برقم تعريف: 3، وCDR1 لمنطقة متغيرة لسلسلة خفيفة تتضمن أحماض أمينية لها السياق المذكور أعلاه، سياق برقم تعريف: 6.

وفي تجسيد آخر أيضاً، يرتبط الجسم المضاد المؤنسن أو الجسم المضاد الهندسي المؤنسن أو شدفة منه المفيد في طرق الاختراع بـِ M-CSF بشري، حيث يرتبط الجسم المضاد المذكور بحاتمة M-CSF التي تشتمل على الأقل على 4 شقات متلامسة من RFRDNTPN (سياق برقم تعريف: 42) أو RFRDNTAN (سياق برقم تعريف: 43)، حيث يكون للجسم المضاد المذكور ثابت اتزان تفكك dissociation equilibrium constant (Kd) للألفة بالنسبة لـِ M-CSF بشري يبلغ 10^{-7} مولار على الأقل، حيث يتضمن الجسم المضاد المذكور جميع CDRs الثلاث للمنطقة المتغيرة للسلسة الثقيلة المحددة أعلاه.

وقد تكون الأجسام المضادة المكشوف عنها هنا عبارة عن مشتقات لأجسام مضادة أحادية السلسلة، أجسام ثنائية، أجسام مضادة في الحقل، أجسام نانوية، وأجسام متحدة. فمثلاً، يزود الاختراع جسم مضاد أحادي النسيلة معزول (أو شدفة وظيفية منه) يشتمل على منطقة متغيرة لسلسلة ثقيلة ومنطقة متغيرة لسلسلة خفيفة، حيث تتضمن المنطقة المتغيرة للسلسلة الثقيلة سياق حمض أميني مطابق بنسبة 80٪ على الأقل، 90٪ على الأقل، أو 95٪ على الأقل لسياق الحمض الأميني الذي يتضمن سياق برقم تعريف: 1، وتتضمن المنطقة المتغيرة للسلسلة الخفيفة سياق حمض أميني مطابق بنسبة 80٪ على الأقل، 90٪ على الأقل، أو 95٪ على الأقل لسياق الحمض الأميني الذي يتضمن سياق برقم تعريف: 2، ويرتبط الجسم المضاد بـِ M-CSF (مثلاً M-CSF بشري و/أو مأخوذ من قرد السينومولجس cynomologus) ويعمل على معادلة إشارات تنشيط M-CSF، بالمقارنة مع المناطق المتغيرة الممثلة في السياق الموصوف أعلاه.

وفي تجسيدات أخرى، قد تكون سياقات الحمض الأميني للسلسلة الثقيلة المتغيرة variable heavy chain (VH) و/أو السلسلة الخفيفة المتغيرة variable light chain (VL) مطابقة بنسبة 50٪، 60٪، 70٪، 80٪، 90٪، 95٪، 96٪، 97٪، 98٪، أو 99٪ للسياقات المذكورة في الجدول 1 أعلاه.

وفي تجسيدات معينة، يتضمن الجسم المضاد وفقاً للاختراع منطقة متغيرة للسلسلة الثقيلة تتضمن سياقات CDR1، CDR2، وCDR3، ومنطقة متغيرة للسلسلة الخفيفة تتضمن سياقات CDR1، CDR2، وCDR3، حيث يتضمن واحد أو أكثر من سياقات CDR هذه سياقات حمض أميني محدد بناءً على الأجسام المضاد الموصوفة هنا أو أشكال معدلة محافظة منها، حيث تحتفظ الأجسام المضادة بالخصائص الوظيفية المرغوبة للأجسام المضادة المرتبطة بِـ M-CSF الموصوفة في الجدول 1.

وبناءً على ذلك، يزود الاختراع جسم مضاد لِـ M-CSF أحادي النسيلة معزول، أو شدفة منه، يتضمن منطقة متغيرة للسلسلة الثقيلة تتضمن سياقات CDR1، CDR2، وCDR3، ومنطقة متغيرة للسلسلة الخفيفة تتضمن سياقات CDR1، CDR2، وCDR3، حيث: يتضمن سياق الحمض الأميني CDR1 للمنطقة المتغيرة للسلسلة الثقيلة سياق برقم تعريف: 3، وأشكال معدلة محافظة منه، يتضمن سياق الحمض الأميني CDR2 للمنطقة المتغيرة للسلسلة الثقيلة سياق برقم تعريف: 4، وأشكال معدلة محافظة منه، يتضمن سياق الحمض الأميني CDR3 للمنطقة المتغيرة للسلسلة الثقيلة سياق برقم تعريف: 5، وأشكال معدلة محافظة منه، يتضمن سياق الحمض الأميني CDR1 للمنطقة المتغيرة للسلسلة الخفيفة سياق برقم تعريف: 6، وأشكال معدلة محافظة منه، يتضمن سياق الحمض الأميني CDR2 للمنطقة المتغيرة للسلسلة الخفيفة سياق برقم تعريف: 7، وأشكال معدلة محافظة منه، يتضمن سياق الحمض الأميني CDR3 للمنطقة المتغيرة للسلسلة الخفيفة سياق برقم تعريف: 8، وأشكال معدلة محافظة منه، ويرتبط جزيء الجسم المضاد بصفة خاصة بِـ M-CSF، ويعمل على معادلة فعالية M-CSF.

وقد تكون الأجسام المضادة المستخدمة في الاختراع عبارة عن شدفة جسم مضاد ترتبط بِـ M-CSF يختار من المجموعة المكونة من Fab، $F(ab_2)'$، $F(ab)_2'$، scFv، VHH، VH، VL، dAbs. ويتم وصف طرق إنتاج الأجسام المضادة لِـ M-CSF في براءة الاختراع الدولية رقم 2005/068503.

أمثلة على مناهضات الجسم المضاد لـ PD-1

يمكن أن تكون جزيئات PD-1 المفيدة في الاختراع الحالي أي مناهضات PD-1. وفي أحد الأمثلة، يمكن لجزيء مناهض PD-1 مثل جزيء مضاد جزيء الجسم المضاد لِـ PD-1، أن يثبط أو يخفض أو يعادل نشاطاً واحداً أو أكثر لِـ PD-1، مما يؤدي إلى حصار أو تخفيض نقطة فحص

مناعية. وفي أحد التجسيدات، يؤدي جزيء المضاد لـ PD-1 مثل الأجسام المضادة لِـ PD-1، في واحد أو أكثر من: زيادة في الخلايا الليمفاوية المتسللة lymphocytes للأورام، وزيادة في انتشار الخلايا التائية لمستقبلات الخلايا التائية، وانخفاض في التهرب المناعي بواسطة الخلايا السرطانية، استعادة وظيفة الخلايا المستفعلة (على سبيل المثال، واحد أو أكثر من تكاثر الخلايا التائية، إفراز IFN–ألفا أو وظيفة حال للخلية)، تثبيط وظيفة الخلايا التائية التنظيمية، أو التأثير على نشاط أنواع الخلايا المتعددة، مثل الخلايا التائية التنظيمية، والخلايا T المستفعلة والخلايا القاتلة الطبيعية).

يتم توضيح جزيئات PD-1 المفيدة في الاختراع الحالي في الجدول 1 ويتم وصفها في نشرة PCT لبراءة الاختراع الأمريكية رقم 2015/012754، والتي أدمجت هنا بالكامل للإحالة إليها كمرجع.

وفي أحد التجسيدات، يكون جزيء الجسم المضاد لـ PD-1 عبارة عن جزيء جسم مضاد لـ PD-1 مؤنسن يشتمل على حقل متغير لسلسلة ثقيلة ومنطقة ثابتة، حقل متغير لسلسلة خفيفة ومنطقة ثابتة، أو كلاهما، يشتمل على سياق من الحمض الأميني النسيلة BAP049-B, أو النسيلة BAP049-E؛ كما وصف في الجدول 2، أو مشفر بواسطة سياق النيوكليوتيدات في الجدول 2. ويشتمل جزيء الجسم المضاد لـ PD-1، اختيارياً، على سياق قيادي من سلسلة ثقيلة، سلسلة خفيفة، أو كلاهما، كما هو مبيَّن في الجدول 3، أو سياق مماثل بصفة جوهرية له.

وفي تجسيد آخر أيضاً، يشتمل جزيء الجسم المضاد لـ PD-1 على منطقة واحدة، اثنتين، أو ثلاثة من مناطق تحديد التتام (CDRs) من منطقة متغيرة لسلسلة ثقيلة في الجسم المضاد الموصوف هنا، مثلاً، جسم مضاد يُختار من أي من النسيلة BAP049-B أو النسيلة BAP049-E كما وصف في الجدول 2، أو مشفر بواسطة سياق النيوكليوتيدات في الجدول 2.

وفي أحد التجسيدات، مثلاً، تجسيد يشتمل على منطقة متغيرة، CDR (مثلاً، Chothia CDR أو Kabat CDR)، أو سياق آخر يشار إليه هنا، مثلاً، في الجدول 2، وجزيء الجسم المضاد هو عبارة عن جزيء جسم مضاد نوعي أحادي، جزيء جسم مضاد نوعي ثنائي، أو جزيء جسم مضاد يشتمل على شدفة ارتباط بمولد المضاد للجسم المضاد، مثلاً، جسم مضاد نصفي أو شدفة ارتباط بمولد المضاد للجسم المضاد النصفي.

الجدول 2 السلاسل الثقيلة والخفيفة للجسم المضاد لِـ PD-1 حقول متغيرة لسلسلة ثقيلة وخفيفة وCDRs

		النسيلة BAP049-B
EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSG YTFTTYWMHWVRQATGQGLEWMG NIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTTG TGAYWGQGTTVTVSS	VH	سياق برقم تعريف :11
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQS LLDSGNQKNFLTWYQQKPGKAPKLLI YWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTFTI SSLQPEDIATYYCQNDYSYPYTFGQG TKVEIK	VL	سياق برقم تعريف :12
TYWMH	HCDR1	سياق برقم تعريف :13 (كابات)
NIYPGTGGSNFDEKFKN	HCDR2	سياق برقم تعريف :14 (كابات)
WTTGTGAY	HCDR3	سياق برقم تعريف :15 (كابات)
KSSQSLLDSGNQKNFLT	LCDR1	سياق برقم تعريف :16 (كابات)
WASTRES	LCDR2	سياق برقم تعريف :17 (كابات)
QNDYSYPYT	LCDR3	سياق برقم تعريف :18 (كابات)
EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSG YTFTTYWMHWVRQATGQGLEWMG NIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTTG TGAYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPL APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR	HC	سياق برقم تعريف :19

WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLG		
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQS LLDSGNQKNFLTWYQQKPGKAPKLLI YWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTFTI SSLQPEDIATYYCQNDYSYPYTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC	LC	سياق برقم تعريف :20
		النسيلة BAP049-E HC
TYWMH	HCDR1	سياق برقم تعريف :21 (كابات)
NIYPGTGGSNFDEKFKN	HCDR2	سياق برقم تعريف :22 (كابات)
WTTGTGAY	HCDR3	سياق برقم تعريف :23 (كابات)
EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSG YTFTTYWMHWVRQATGQGLEWMG NIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTTG TGAYWGQGTTVTVSS	VH	سياق برقم تعريف :24
EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSG YTFTTYWMHWVRQATGQGLEWMG NIYPGTGGSNFDEKFKNRVTITADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTTG TGAYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPL APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR	HC	سياق برقم تعريف :25

WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLG		
		النسيلة BAP049-E LC
KSSQSLLDSGNQKNFLT	LCDR1	سياق برقم تعريف :26 (كابات)
WASTRES	LCDR2	سياق برقم تعريف :27 (كابات)
QNDYSYPYT	LCDR3	سياق برقم تعريف :28 (كابات)
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQS LLDSGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLI YWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTFTI SSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQG TKVEIK	VL	سياق برقم تعريف :29
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQS LLDSGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLI YWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTFTI SSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC	LC	سياق برقم تعريف :30

الجدول 3 سياقات الحمض الأميني للسياقات القيادية للسلسلة الثقيلة والخفيفة لِـ mAbs للنسيلة BAP049-B والنسيلة BAP049-E مؤنسن

MAWVWTLPFLMAAAQSVQA	HC	النسيلة BAP049-B سياق برقم تعريف:31
MSVLTQVLALLLLWLTGTRC	LC	سياق برقم تعريف: 32
MAWVWTLPFLMAAAQSVQA	HC	النسيلة BAP049-E

سياق برقم تعريف : 33		
سياق برقم تعريف : 34	LC	MSVLTQVLALLLLWLTGTRC

الجدول 4: سياقات الحمض الأميني للمنطقة الثابتة لسلاسل IgG البشرية الثقيلة وسلسلة خفيفة كابا kappa بشرية

HC سياق برقم تعريف :35	سياق الحمض الأميني لمنطقة ثابتة طافرة في IgG4 (S228P) (الترقيم الأوروبي) ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK
LC سياق برقم تعريف :36	سياق الحمض الأميني لمنطقة ثابتة كابا kappa بشرية RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC
HC سياق برقم تعريف :37	سياق الحمض الأميني لمنطقة ثابتة طافرة في IgG4 (S228P) الذي يربط ليسين عند الطرف الكربوكسيلي (K) (الترقيم الأوروبي) ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLG

HC سياق برقم تعريف :38	النمط الشائع من IgG1 ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
HC سياق برقم تعريف :39	سياق الحمض الأميني لمنطقة ثابتة طافرة في IgG1 (N297A) (الترقيم الأوروبي) ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYA STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
HC سياق برقم تعريف :40	سياق الحمض الأميني لمنطقة ثابتة طافرة في IgG1 (D265A، P329A) (الترقيم الأوروبي) ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVAVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LAAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
HC سياق برقم تعريف :41	سياق الحمض الأميني لمنطقة ثابتة طافرة في IgG1 (L235A، L234A) (الترقيم الأوروبي) ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRVEP KSCDKTHTCP PCPAPEAAGG

PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK	

يتم وصف الجيل النسيلة BAP049-B والنسيلة BAP049-E وتمييزها

تمت أنسنة الجسم المضاد أحادي النسيلة لـ PD-1 فأري BAP049. وتم الحصول على السياقات وعينات الاختبار لست عشرة نسيلة BAP049 مؤنسنة مع سياقات منطقة متغيرة فريدة. وتم إجراء تحليل لهذه النسائل بشكل إضافي لوظائفها البيولوجية (على سبيل المثال, ارتباط مولد الضدّ وإعاقة الربيطة), السمات البنيوية, والتعبير العابر في خلايا CHO.

ألفة ونوعية الارتباط

تم قياس ارتباط جسم المضاد لـ PD-1 مؤنسن تمثيلي على بروتين PD-1 بشري باستخدام طريقة بياكور. وكانت النتائج: $Ka = 2.78 \times 10^{5}$ مولار$^{-1}$ثانية$^{-1}$؛ $Kd = 2.13 \times 10^{-4}$ ثانية$^{-1}$؛ $K_D = 0.0827 \pm 0.005505$ نانومولار.

تقنية وعملية أنسنة

تمت تأدية أنسنة لـ BAP049 باستخدام مكتبة توافقية لهياكل منطقة متغيرة لخط جرثومي بشري (FWs). وتنطوي التكنولوجيا على نقل CDRs الفأري في إطار إلى مكتبة للمناطق المتغيرة البشرية (VRs)التي تم إنشاؤها عن طريق دمج عشوائياً خط جرثومي بشري FW1, FW2 وسياقات FW3. واستخدم سياق FW4 واحد فقط, حيث يكون WGQGTTVTVSS (سياق برقم ترميز: 45) للسلسة الثقيلة (HC) (مجموعة فرعية HC I بشري Kabat) وFGQGTKVEIK (سياق برقم ترميز: 46) للسلسلة الخفيفة (LC) (مجموعة فرعية κ I بشري Kabat). وتم التحام مكتبة سياقات الـ VR بسياقات منطقة ثابتة (CR) بشرية, IgG4 بشري (S228P) لـ HC وCR κ بشري لـ LC, وتم التعبير عن المكتبة الناتجة لكامل IgG في خلايا CHO لتصفيتها. وتم تأدية عملية التصفية مع سوائل طافية من استبات النسيج لقياس شدة رغبة الارتباط على خلايا التعبير عن مولد الضِّد في صيغة ELISA لكامل الخلية أو FACS.

وتم تأدية عملية الأنسنة بطريقة تدريجية بدأً من الإنشاء والتعبير عن mAb خيمري ملائم (VR فأري, IgG4(S228P), κ بشري), الذي يمكن أن يخدم كمقارن لتصفية النسائل المؤنسنة.

وتم تأدية أنسنة VR لـ LC وHC في خطوتين منفصلتين. واقترنت مكتبة LC البشري (huLC) مع الـ HC الخيمري (VR فأري, IgG4(S228P)) وتم mAbs JWTDM "نصف مؤنسنة" الناتجة لفعالية ارتباط بواسطة ELISA. وتم انتقاء huLC للنسائل التي لها فعالية ارتباط كافية (≤ ارتباط mAb الخيمري). وبالمثل, تم اقتران مكتبة الـ HC البشري (huHC) مع LC الخيمري (VR فأري, κ بشري) وتم تصفيتها حسب فعالية ارتباط بواسطة ELISA. وتم اختيار huHC للنسائل التي لها فعالية ارتباط كافية (≤ ارتباط mAb الخيمري).

ومن ثم تم ترتيب بشكل متسلسل المواقع المتغيرة لـ huLC وhuHC المنتقاه لتعريف الـ huLC وhuHC مع سياقات فريدة (قد تتشارك بعض النسائل من عملية الاختيار الاولية نفس الـ LC أو الـ HC). ومن ثم تم دمج الـ huLC وhuHC الفريدة بشكل عشوائي لتشكيل مكتبة صغيرة من الـ mAbs المؤنسنة (humAbs), التي تم التعبير عنا في خلايا CHO وتصفيتها على خلايا التعبير عن مولد الضّد في الصيغة ELISA وFACS. وتمثل النسائل ذات فعاليات ارتباط المساوية لـ أو الأفضل من ارتباط المقارن الخيمري mAb المنتج النهائي لعملية الأنسنة.

انشاء جسم مضاد خيمري

تم تحضير ثلاثة أنواع مختلفة من الجسم المضاد الخيمري الذي احتوى إما على شق Cys, Tyr أو Ser عند الموقع 102 من سياق الـ LC. وتم التعبير عن الأجسام المضادة الخيمرية الثلاثة, أي, BAP049-chi (Cys), BAP049-chi (Tyr), وBAP049-chi (Ser) (المعروفة أيضاً بـ BAP049-chi, BAP049-chi-Y, وBAP049-chi-S, على الترتيب), في خلايا CHO وتم اختبار قدرتها على التنافس مع الجسم المضاد الفأري الموسوم للارتباط بخلايا جوركات للتعبير عن PD-1. وكانت الأنواع الثلاثة غير متمايزة في تجربة المنافسة. وتبين النتائج أن الـ mAbs الخيمرية الثلاثة (Cys, Tyr, Ser) تتنافس بشكل متساوٍ في ارتباط الـ mAb BAP049 الفأري الموسوم. ومن المحتمل أن يُعزى سبب الاختلاف الطفيف بين منحنيات mAb الخيمري ومنحنى mAb الفأري إلى الطرق المختلفة المستخدمة لتحديد تراكيز mAb. وتم تحديد تركيز الـ mAb الفأري باستخدام قياس OD280, في حين تم تحديد تراكيز الـ mAb الخيمري في السوائل الطافية مع ELISA باستخدام مقياس IgG4. وتم انتقاء شق الخط الجرثومي Tyr للأجسام المضادة المؤنسنة.

نسائل الجسم المضاد المؤنسن.

تنتج عملية الأنسنة ست عشرة نسيلة مع ألفات للارتباط مماثلة لتلك الخاصة بالجسم المضاد الخيمري. وبالإضافة إلى بيانات الارتباط, لكل نسيلة, زودت سياقات الـ VR مع عينة من الـ mAb. وحُضِّرت العينات بواسطة التخميج التحويلي العابر لخلايا CHO وحيث تم تركيز السوائل الطافية في مستنبت النسيج. وتم تحديد تراكيز الجسم المضاد في المحاليل بواسطة ELISA نوعي لـ IgG4.

وتمثل النسائل الفريدة الست عشرة توليفات من أربعة سياقات HC فريدة وتسعة سياقات LC فريدة. ولمناطق الـ HC FW, تمثل سياقات الـ HC توليفات من واحد من السياقين المختلفين VHFW1, واحد من سياقات VHFW2 الثلاثة المختلفة, وواحد من السياقين المختلفين VHFW3. ولمناطق الـ LC FW, تمثل سياقات الـ LC توليفات من واحد من سياقات VLFW1 الخمسة المختلفة, واحد من سياقات VLFW2 الثلاثة المختلفة, وواحد من سياقات VLFW3 الأربعة المختلفة. ويتم توضيح سياقات الحمض الأميني amino acid والنوكليوتيد لنطاقات متغيرة للسلسة الثقيلة والخفيفة لنسائل BAP049 مؤنسنة B وE في الجدول 2. وأيضاً يتم توضيح سياقات الحمض الأميني amino acid والنوكليوتيد لـ CDRs خفيفة وثقيلة السلسلة لـ BAP049 المؤنسن في الجدول 2.

اختيار نسائل مؤنسنة

تم أيضاً اختبار قدرة النسائل المختارة بما فيها النسائل B وE على إعاقة ارتباط PD-L1 وPD-L2 بـ PD-1 ولتحسين نشاط خلايا T في المعايرات التي تجري في المختبر باستخدام PBMC بشري.

التعبير عن الجسم المضاد لـ PD-1 المؤنسن، BAP049

تم انتقاء خمس نسائل مؤنسنة لتقييم التعبير عنها في خلايا مبيض الهامستر الصيني Chinese Hamster Ovary (CHO).

وتم إنشاء نواقل جينية مفردة Single gene vectors (SGVs) باستخدام نواقل GS Xceed من شركة لونزا Lonza (IgG4proΔk لسلسلة ثقيلة وكابا (Kappa) للسلسة الخفيفة). وكانت الـ SGVs مضخمة وبشكل اسهامي مخمجة خمجاً تحويلياً بشكل عابر في خلايا CHOK1SV GS-KO للتعبير عنها عند حجم مقداره 2.8 ليتر.

وتم حصاد المستنبتات التعبيرية في اليوم السادس بعد التخميج التحويلي وتم تطهيرها عن طريق الطرد المركزي والترشيح المعقم. وتمت تنقية السائل الطافي من المستنبت الخلوي المطهر

باستخدام تقنية استشراب البروتين A بخطوة واحدة. وتم إجراء تحليل جودة المنتج في صورة استشراب سائل عالي الأداء باستبعاد الحجم Size Exclusion High performance liquid chromatography (SE-HPLC)، الفصل الكهربائي لهلام كبريتات دوديكل الصوديوم متعدد الأكريلامايد SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis)، بأر متساوي التكهرب Isoelectric focusing (IEF)، واختبار الليمول للحلالة الخلية الأميبية الشكل Limulus amebocyte lysate (LAL) باستخدام مادة منقاه عند تركيز مقداره 1 ملغم/مل يتضمن جسم مضاد كعينة ضابطة.

إنشاء الناقل

تم تصنيع سياقات مناطق ترميز حقل متغير لسلسلة خفيفة وثقيلة من قبل شركة جيني آرت ايه جي GeneArt AG. ونُسلت ثانوياً مناطق تشفير حقل متغير لسلسة خفيفة في pXC-Kappa ومناطق تشفير مجال متغير لسلسلة ثقيلة في نواقل pXC-IgG4pro ΔK على الترتيب باستخدام موقع حصري عند الطرف النتروجيني Hind III ومواقع حصريّة عند الطرف الكربوكسيلي BsiWI (سلسلة خفيفة) وApaI (سلسلة ثقيلة). وتم تصفية النسائل الإيجابية عن طريق تضخيم PCR (بادئات 1053: GCTGACAGACTAACAGACTGTTCC (سياق برقم تعريف: 226) و1072: CAAATGTGGTATGGCTGA (سياق برقم تعريف: 227)) والتحقق منها عن طريق الهضم الحصري (باستخدام هضم مزدوج لـ EcoRI-HF وHindIII-HF) وتتبع السياق النوكليوتيدي للجين موضوع الدراسة.

تضخيم الـ DNA

تم وضع نسيلة بكتيرية مفردة في 15 مل من وسط لوريا بيرتاني Luria Bertani (LB) (مرق LB, من شركة سيجما-ألدريتش Sigma-Aldrich, رقم L7275) محتوي على 50 ميكروغرام/مل من الامبيسيلين وحُضن عند 37°م طوال الليل مع الرجّ عند 220 دورة في الدقيقة. واستخدم المستنبت البادئ الناتج لتلقيح 1 لتر من وسط لوريا بيرتاني (LB) المحتوي على 50 ميكروغرام/مل من الامبيسيلين وحُضن عند 37°م طوال الليل مع الرجّ عند 220 دورة في الدقيقة. وعُزل DNA الناقل باستخدام نظام QIAGEN Plasmid Plus Gigaprep (من شركة كياجن QIAGEN، رقم 12991). وفي كل الأمثلة, قيس تركيز الـ DNA باستخدام مقياس الطيف الضوئي من نوع Nanodrop 1000 (من شركة ثيرمو-سيانتيفيك Thermo-Scientific) وضُبط إلى 1

ملغم/مل باستخدام محلول منظم لدرجة الحموضة Elution buffer (EB) (10 ملي مولار من 2-أمينو-2-هيدروكسي مثيل-بروبان-1، 3-ديول 2-Amino-2-hydroxymethyl-propane-1,3-diol (Tris-Cl), درجة حموضة 8.5). ويمكن تقييم جودة الـ DNA للنواقل الجينية المفردة عن طريق قياس نسبة الامتصاصية A280/A260. ووجد أنها تتراوح بين 1.88 و1.90.

مستنبت لخلايا CHOK1SV GS-KO

أستنبتت خلايا CHOK1SV GS-KO في وسط CD-CHO (من شركة انفيرتوجين Invitrogen، رقم 10743-029) واستكملت بـ 6 ملي مولار من الغلوتامين (من شركة انفيرتوجين Invitrogen، رقم 10743-029). وحضنت الخلايا في حاضنة رجّاجة عند 36.5°م, 5٪ من CO_2, رطوبة 85٪, 140 دورة في الدقيقة. واستبتت ثانوياً الخلايا بشكل دوري كل 3-4 ايام, وبذر عند 2×10^5 خلية/مل ونشرها لتحتوي على خلايا متغيرة كافية للتخميج التحويلي. وتم تصريف الخلايا عن طريق الممر 20.

تحويلات عابرة لخلايا CHOK1SV GS-KO

أديت عمليات التخميج التحويلي العابرة باستخدام خلايا CHOK1SV GS-KO التي كانت موجودة في المستنبت لمدة أسبوعين بأدنى حدّ. وتم حضن ثانوياً الخلايا لمدة 24 ساعة قبل التخميج التحويلي وبلغت عيوشة الخلايا > 99٪ في وقت التخميج التحويلي.

وأجريت كل عمليات التخميج التحويلي عبر تثقيب كهربائي باستخدام خلية من نوع MXCell نبضية جينية (من شركة بيو-راد Bio-Rad), نظام أساسه لوحي لعملية التثقيب الكهربائي. ولكل تحويل, تم إعادة تعليق الخلاية العيوشة في وسط مدفأ مسبقاً إلى 2.86×10^7 خلية/مل. وتم تزويد 80 ميكروغرام من DNA (بنسبة 1: 1 SGVs لسلسلة ثقيلة وخفيفة) ومعلق خلوي حجمه 700 ميكرولتر على شكل جرعات في كل كويب مختبري/عين. وكانت الخلايا مثقبة كهربائياً عند 300 فولت, 1300 ميكروفاراد. وتم نقل الخلايا المخمجة خمجاً تحويلياً إلى وسط مدفأ مسبقاً في قوارير من نوع إيرلنمير Erlenmeyer وتم شطف الكويب المخبري/العيون مرتين بالوسط المدفأ مسبقاً الذي تم نقله أيضاً إلى القوارير. وحضنت مستنبتات الخلايا المخمجة خمجاً تحويلياً في حاضنة رجّاجة عند 36.5°م, 5٪ من CO_2, رطوبة 85٪, 140 دورة في الدقيقة لمدة 6 أيام. وقيست عيوشية الخلية وتراكيز الخلية العيوشة في وقت الحصاد باستخدام عدّاد خلية مؤتمت من نوع Cedex HiRes (من شركة روش Roche).

تمييز الجسم المضاد لـ PD-1 المؤنسن

ألفة ونوعية الارتباط

تم قياس ارتباط الجسم المضاد لـ PD-1 المؤنسن النموذجي الذي يتضمن النسيلة B والنسيلة E كما هو موضح في الجدول 1 على بروتين PD-1 بشري باستخدام طريقة Biacore. وكانت النتائج: Ka = 2.78×10^5 مولار$^{-1}$ثانية$^{-1}$؛ Kd = 2.13×10^{-4} ثانية$^{-1}$؛ K_D = 0.0827±0.005505 نانومولار.

وقيس ارتباط نفس الجسم المضاد لـ PD-1 المؤنسن على خلايا 300.19 تعبر عن PD-1 بشرية باستخدام تحليل FACS. وتبين النتائج أن الجسم المضاد لـ PD-1 (IgG4 بشرية) ترتبط مع ألفة مرتفعة بـ PD-1 بشرية مقارنة بضابطة نمط إسوي IgG4 بشرية.

ووجد أن الجسم المضاد لـ PD-1 المؤنسن النموذجي يُظهر ألفة مرتفعة نحو بروتين PD-1 لسينومولجس وخلايا 300.19 تعبر عن PD-1 لسينومولجس. وكما هو مقاس بواسطة طريقة Biacore, يرتبط الجسم المضاد لـ PD-1 بـ K_D مقدارها 0.093± 0.01 نانومولار. وكانت الفة الارتباط لـ PD-1 لسينومولجس مماثلة لألفة ارتباطه بـ PD-1 بشرية.

وتظهر تحاليل ارتباط إضافية بأن الجسم المضاد لـ PD-1 المؤنسن النموذجي يكون غير متصالب التفاعل مع PD-1 فأري أو متصالب التفاعل مع خط خلوي أصلي.

إعاقة التفاعلات بين PD-1 وربيطاته

فُحصت قدرة الجسم المضاد لـ PD-1 المؤنسن النموذجي على إعاقة التفاعلات بين PD-1 وكل من ربيطاته المعروفة, PD-L1 وPD-L2. وتبين النتائج بأن الجسم المضاد لـ PD-1 يعمل على إعاقة ارتباط PD-L1 وPD-L2 على خلايا 300.19 تعبر عن PD-1 بشرية مقارنة بضابط إسوي النمط لـ IgG4 بشري وبدون ضابط للجسم المضاد. ويرتبط PD-L1 الذي يعمل على إعاقة ارتباط الجسم المضاد لـ PD-1 على الخلايا 300.19 بـ IC50 مقدارها 0.94±0.15 نانومولار. ويرتبط PD-L2 الذي يعمل على إعاقة ارتباط نفس الجسم المضاد على الخلايا 300.19 بـ IC50 مقدارها 1.3±0.25 نانومولار.

الفعالية البيولوجية ووظيفة الجسم المضاد لـ PD-1

في تجسيدات أخرى، تكون جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً قادرة على الارتباط مع PD-1 بشري له ثابت تفكك dissociation constant (K_D) أقل من حوالي 0.2 نانوجزيئي.

وفي بعض التجسيدات، ترتبط جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً مع PD-1 بشري بثابت تفكك K_D أقل من حوالي 0.2 نانوجزيئي، 0.15 نانوجزيئي، 0.1 نانوجزيئي، 0.05 نانوجزيئي أو 0.02 نانوجزيئي، مثلاً، من حوالي 0.13 نانوجزيئي إلى 0.03 نانوجزيئي، على سبيل المثال، من حوالي 0.077 نانوجزيئي إلى 0.088 نانوجزيئي، على سبيل المثال، حوالي 0.083 نانوجزيئي، مثلاً كما تم قياسه بواسطة طريقة بياكور Biacore method.

وفي تجسيدات أخرى، ترتبط جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً مع PD-1 مأخوذ من قرد السينومولجس cynomolgus بثابت تفكك K_D أقل من حوالي 0.2 نانوجزيئي، 0.15 نانوجزيئي، 0.1 نانوجزيئي، 0.05 نانوجزيئي، أو 0.02 نانوجزيئي، على سبيل المثال، من حوالي 0.11 نانوجزيئي إلى 0.08 نانوجزيئي، على سبيل المثال، حوالي 0.093 نانوجزيئي، مثلاً كما تم قياسه بواسطة طريقة بياكور.

وفي تجسيدات محددة، ترتبط جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً مع كل من PD-1 البشري و PD-1 المأخوذ من قرد السينومولجس cynomolgus بثابت تفكك K_D مماثل، على سبيل المثال، في مدى معبر عنه بالنانوجزيئي، كما قيس على سبيل المثال بواسطة طريقة بياكور. وفي بعض التجسيدات، ترتبط جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً مع بروتين اندماجي من PD-1-Ig بشري بثابت تفكك K_D أقل من حوالي 0.1 نانوجزيئي، 0.075 نانوجزيئي، 0.05 نانوجزيئي، 0.025 نانوجزيئي، أو 0.01 نانوجزيئي، على سبيل المثال، حوالي 0.04 نانوجزيئي، مثلاً، كما تم قياسه بواسطة معايرات الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم enzyme-linked immunosorbent assays-(ELISA).

وفي بعض التجسيدات، ترتبط جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً مع خلايا جوركات Jurkat cells التي تعبر عن PD-1 بشري (مثلاً، خلايا جوركات مخمجة تحويلياً transfected Jurkat cells بـ PD-1 بشري) بثابت تفكك K_D أقل من حوالي 0.1 نانوجزيئي، 0.075 نانوجزيئي، 0.05 نانوجزيئي، 0.025 نانوجزيئي، أو 0.01 نانوجزيئي، على سبيل المثال، حوالي 0.06 نانوجزيئي، مثلاً، كما تم قياسه بواسطة تحليل فرز الخلايا المنشطة الفلورية Fluorescence Activated Cell Sorting (FACS).

وفي بعض التجسيدات، ترتبط جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً مع خلايا تائية T cells من قرد السينومولجس cynomolgus بثابت تفكك K_D أقل من حوالي 1 نانوجزيئي، 0.75

نانوجزيئي، 0.5 نانوجزيئي، 0.25 نانوجزيئي، أو 0.1 نانوجزيئي، على سبيل المثال، حوالي 0.4 نانوجزيئي، مثلاً كما تم قياسه بواسطة تحليل FACS.

وفي بعض التجسيدات، ترتبط جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً مع خلايا تعبر عن PD-1 مأخوذ من قرد السينومولجس cynomolgus (مثلاً، خلايا مخمجة تحويلياً بـ PD-1 مأخوذ من قرد السينومولجس) بثابت تفكك K_D أقل من حوالي 1 نانوجزيئي، 0.75 نانوجزيئي، 0.5 نانوجزيئي، 0.25 نانوجزيئي، أو 0.01 نانوجزيئي، على سبيل المثال، حوالي 0.6 نانوجزيئي، مثلاً، كما تم قياسه بواسطة تحليل FACS.

وفي تجسيدات أخرى، تكون جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً قادرة على تقليل ارتباط PD-1 مع PD-L1، PD-L2، أو كلاهما، أو خلية تعبر عن PD-L1، PD-L2، أو كلاهما. وفي بعض التجسيدات، تقلل جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً (على سبيل المثال، تقيد) ارتباط PD-L1 بخلية تعبِّر عن PD-1 (مثلاً، خلايا 300.19 تعبر عن PD-1 بشري) لها IC50 (تركيز مثبط للنصف) أقل من حوالي 1.5 نانوجزيئي، 1 نانوجزيئي، 0.8 نانوجزيئي، 0.6 نانوجزيئي، 0.4 نانوجزيئي، 0.2 نانوجزيئي، أو 0.1 نانوجزيئي، مثلاً، بين حوالي 0.79 نانوجزيئي وحوالي 1.09 نانوجزيئي، على سبيل المثال، حوالي 0.94 نانوجزيئي، أو حوالي 0.78 نانوجزيئي أو أقل، مثلاً حوالي 0.3 نانوجزيئي. وفي بعض التجسيدات، تقلل الأجسام المضادة المذكورة سابقاً (على سبيل المثال، تقيد) ارتباط PD-L2 بخلية تعبِّر عن PD-1 (مثلاً، خلايا 300.19 تعبر عن PD-1 بشري) لها IC50 أقل من حوالي 2 نانوجزيئي، 1.5 نانوجزيئي، 1 نانوجزيئي، 0.5 نانوجزيئي، أو 0.2 نانوجزيئي، مثلاً بين حوالي 1.05 نانوجزيئي وحوالي 1.55 نانوجزيئي، أو حوالي 1.3 نانوجزيئي أو أقل، مثلاً حوالي 0.9 نانوجزيئي.

وفي تجسيدات أخرى، تكون جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً قادرة على تعزيز استجابة الخلايا التائية النوعية لمولد المضاد.

وفي بعض التجسيدات، تعمل جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً على زيادة التعبير عن IL-2 من خلايا تم تنشيطها بواسطة ذيفان معوي enterotoxin من نوع ب من Staphylococcal (SEB) (مثلاً، عند تركيز يبلغ 25 ميكروغرام/مل) بما لا يقل عن حوالي 2، 3، 4 أو 5 أضعاف، مثلاً من حوالي 2 إلى 3 أضعاف، على سبيل المثال، من حوالي 2 إلى 2.6 ضعف، مثلاً حوالي 2.3 ضعف، بالمقارنة مع التعبير عن IL-2 عندما يتم استخدام مادة ضابطة

من النمط الإسوي isotype control (مثلاً، IgG4)، مثلاً كما تم قياسه في معايرة تنشيط الخلايا التائية بواسطة SEB أو معايرة خارج الجسم لدم بشري كامل.

وفي بعض التجسيدات، تعمل جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً على زيادة التعبير عن IFN-γ من خلايا تائية تم تحفيزها بواسطة مضاد CD3 (مثلاً، عند تركيز يبلغ 0.1 ميكروغرام/مل) بما لا يقل عن حوالي 2، 3، 4 أو 5 أضعاف، مثلاً من حوالي 1.2 إلى 3.4 أضعاف، على سبيل المثال، حوالي 2.3 ضعف، بالمقارنة مع التعبير عن IFN-γ عندما يتم استخدام مادة ضابطة من النمط الإسوي (مثلاً، IgG4)، مثلاً كما تم قياسها في معايرة فعالية IFN-γ.

وفي بعض التجسيدات، تعمل جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً على زيادة التعبير عن IFN-γ من خلايا تائية تم تنشيطها بواسطة ببتيد الفيروس المُضَخم للخلايا cytomegalovirus peptide (CMV) بما لا يقل عن حوالي 2، 3، 4 أو 5 أضعاف، مثلاً من حوالي 2 إلى 3.6 أضعاف، على سبيل المثال، حوالي 2.8 ضعف، بالمقارنة مع التعبير عن IFN-γ عندما يتم استخدام مادة ضابطة من النمط الإسوي (مثلاً، IgG4)، مثلاً، كما تم قياسها في معايرة فعالية IFN-γ.

وفي بعض التجسيدات، تعمل جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً على زيادة تكاثر الخلايا التائية $CD8^+$ المنشطة بواسطة ببتيد CMV بما لا يقل عن حوالي 1، 2، 3، 4 أو 5 أضعاف، مثلاً حوالي 1.5 ضعف، بالمقارنة مع تكاثر الخلايا التائية $CD8^+$ عندما يتم استخدام مادة ضابطة من النمط الإسوي (مثلاً، IgG4)، مثلاً، كما تم قياسها بواسطة نسبة الخلايا التائية $CD8^+$ التي تمر خلال عدد n على الأقل (مثلاً، n= 2 أو 4) من الانقسامات الخلوية.

وفي تجسيدات محددة، تمتلك جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً قيمة Cmax تتراوح بين حوالي 100 ميكروغرام/مل وحوالي 500 ميكروغرام/مل، بين حوالي 150 ميكروغرام/مل وحوالي 450 ميكروغرام/مل، بين حوالي 250 ميكروغرام/مل وحوالي 350 ميكروغرام/مل، أو بين حوالي 200 ميكروغرام/مل وحوالي 400 ميكروغرام/مل، مثلاً، حوالي 292.5 ميكروغرام/مل، على سبيل المثال، كما تم قياسها في القرد.

وفي تجسيدات محددة، تمتلك جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً قيمة $T_{1/2}$ بين حوالي 250 ساعة وحوالي 650 ساعة، بين حوالي 300 ساعة وحوالي 600 ساعة، بين حوالي 350

ساعة وحوالي 550 ساعة، أو بين حوالي 400 ساعة وحوالي 500 ساعة، على سبيل المثال، حوالي 465.5 ساعة، على سبيل المثال، كما تم قياسها في القرد.

وفي بعض التجسيدات، ترتبط جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً بـ PD-1 بحيث يكون Kd أبطء من 5×10^{-4}، 1×10^{-4}، 5×10^{-5}، أو 1×10^{-5} ثانية$^{-1}$، على سبيل المثال، حوالي 2.13×10^{-4} ثانية$^{-1}$، مثلاً، كما تم قياسه باستخدام طريقة بياكور. وفي تجسيدات معينة، ترتبط جزيئات الجسم المضاد المذكورة سابقاً بـ PD-1 بحيث يكون Ka أسرع من 1×10^{4}، 5×10^{4}، 1×10^{5}، أو 5×10^{5} جزيئي$^{-1}$ ثانية$^{-1}$، مثلاً، حوالي 2.78×10^{5} جزيئي$^{-1}$ ثانية$^{-1}$، مثلاً، كما تم قياسه باستخدام طريقة بياكور.

شركاء توليفة إضافية

يتم تشكيل أو استخدام شركاء التوليفة من الجسم المضاد لـ PD-1 والجسم المضاد لـ M-CSF في أي تجسيد بشكل مفضل لتكون فعالة علاجياً بشكل مشترك. ويعني هذا بالتحديد أن هنالك تأثيراً مفيداً واحد على الأقل، مثلاً تحسين فعلي لتأثير شركاء التوليفة، بالتحديد، مثلاً التآزر، أكثر من كونه تأثير إضافة، تأثيرات مفيدة إضافية (مثلاً، يكون تأثير علاجي إضافي غير موجود لأي من الأجسام المضادة المفردة)، تأثيرات جانبية أقل، و/أو تأثير علاجي متوالف في جرعة غير فعالة لواحد أو أكثر من شركاء التوليفة. وعلى سبيل المثال، قد يشير المصطلح "فعال (علاجياً) بشكل مشترك" إلى أن المركبات قد تعطى بشكل منفصل أو متسلسل (بكيفية متعاقبة متزامنة، خاصة بكيفية تسلسل محدد) في مثل هذه الفترات الزمنية حيث تكون بشكل مفضل، في الحيوان ذي الدم الحار، وبالأخص الإنسان، المراد علاجه، ولا تزال تظهر تفاعل (محسن بشكل مفضل، أكثر من مادة مضافة واحدة، أو تآزري) (التأثر العلاجي المشترك). ويمكن تحديد التأثير العلاجي المشترك، ضمن أمور أخرى، عن طريق التقليل من حجم الورم أو التقليل من الأعراض وكما هو موصوف أدناه.

وفي أحد الجوانب، يتعلق الاختراع بمعالجة الكائن الخاضع للمعالجة خارج جسمه باستخدام توليفة من جزيء الجسم المضاد لـ PD-1 وجزيء الجسم المضاد لـ M-CSF بحيث يتم تثبيط أو تقليل نمو الورم السرطاني كما هو موصوف هنا. ويمكن استخدام توليفة الجسم المضاد لـ PD-1 وجزيء الجسم المضاد لـ M-CSF لوحدها لتثبيط نمو الأورام السرطانية أو يمكن استخدامها في توليفة مع واحد أو أكثر من: معالجة وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية (مثلاً، للسرطان)، جسم مضاد

أو شدفة ارتباط بمولد ضد آخر، معدل المناعي immunomodulator (مثلاً، منشط للجزيء المنبه أو مثبط للجزيء المثبط)؛ أو لقاح، مثلاً، لقاح السرطان العلاجي وأشكال أخرى للعلاج المناعي الخلوي immunotherapy.

وفي أحد التجسيدات، يمكن استخدام التوليفة الموصوفة هنا لمعالجة سرطان الثدي مثلاً مستقبلة الغدة الصماء endocrine receptor الإيجابية (مستقبلة الإستروجين estrogen أو البروجيستيرون progesterone)، الإيجابية لـ HER2، ثلاثي السلبية (غير إيجابية لمستقبلات الإستروجين، البروجيستيرون، أو HER2) أو ثلاثي الإيجابية (إيجابية لمستقبلات الإستروجين، البروجيستيرون، و HER2). وقد يكون الخاضعين للسرطان الذين يتلقون التوليفة مرضى تم معالجتهم سابقاً وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية (سوف تعتمد على مرحلة سرطان الثدي) أو المرضى الذين خضعوا لمعيار الرعاية العلاجية أو الذين لم يتلقوا أي علاج بعد. وفي أحد الأمثلة، يتم استخدام التوليفة الموصوفة هنا لمعالجة المرضى الذي يعانون من سرطان الثدي السلبي الثلاثي المتقدم أو الذي عولجوا أو الخاضعين لمعيار الرعاية العلاجية ولكن يظهرون تقدم في المرض.

وفي مثال آخر، يمكن استخدام التوليفة الموصوفة هنا في معالجة الورم الميلانيني melanoma. وقد يكون الخاضعين للسرطان الذين تلقوا العلاج عبارة عن مرضى تمت معالجتهم سابقاً أو الذين تمت معالجتهم وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية (مثلاً، كاربوبلاتين carboplatin مع باكليتاكسيل paclitaxel أو كاربوبلاتين/ جيمسيتيبين Gemcitibine) أو يكون مقاوم أو حرون لمثبطات نقطة فحص للمعالجة المناعية (مثلاً، PD-1 أو PD-L1) أو المرضى الذين لم يتلقوا أي علاج بعد. وفي أحد الأمثلة، تستخدم التوليفة الموصوفة هنا في معالجة المرضى المصابين بالورم الميلانيني الذين تمت معالجتهم باستخدام PD-1 أو PD-L1 المصابين بسرطان مقاوم أو حرون لمثل هذا العلاج أو الخاضعين لمعيار الرعاية العلاجية ولكن يظهرون تقدماً في المرض.

وفي مثال آخر، يمكن استخدام التوليفة الموصوفة هنا لعلاج سرطان المبيض. وقد يكون الخاضعين للسرطان الذين تلقوا التوليفة عبارة عن مرضى تمت معالجتهم سابقاً أو تمت معالجتهم وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية (مثلاً، كاربوبلاتين carboplatin مع باكليتاكسيل paclitaxel أو كاربوبلاتين/ جيمسيتيبين Gemcitibine، أو باكليتاكسيل paclitaxel) أو المرضى الذين لم يتلقوا أي علاج بعد. وفي أحد الأمثلة، تستخدم التوليفة الموصوفة هنا في معالجة المرضى المصابين بسرطان المبيض المتقدم الذين تمت معالجتهم وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية أو الخاضعين لمعيار

الرعاية العلاجية ولكن يظهرون تقدماً في المرض.

وفي أحد الأمثلة، يمكن استخدام التوليفة الموصوفة هنا في معالجة سرطان البنكرياس pancreatic cancer. وقد يكون الخاضعين للسرطان الذين تلقوا التوليفة عبارة عن مرضى تمت معالجتهم سابقاً أو تمت معالجتهم وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية (مثلاً، جيمسيتيبين) أو المرضى الذين تمت معالجتهم وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية أو المرضى الذين لم يتلقوا أي علاج بعد. وفي أحد الأمثلة، تستخدم التوليفة الموصوفة هنا في معالجة المرضى المصابين بسرطان البنكرياس المتقدم الذين تمت معالجتهم وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية أو الخاضعين لمعيار الرعاية العلاجية ولكن يظهرون تقدماً في المرض. ويمكن إعطاء التوليفة الموصوفة هنا لأولئك الخاضعين لمعيار الرعاية العلاجية أو الذين خضعوا لمعيار الرعاية العلاجية.

وفي مثال آخر، يمكن استخدام التوليفة الموصوفة هنا في معالجة الورم الأرومِيٌّ الدِبِقِي. وقد يكون الخاضعين للسرطان الذين تلقوا التوليفة عبارة عن مرضى تمت معالجتهم سابقاً أو تمت معالجتهم وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية أو مرضى لم يتلقوا أي علاج بعد. وفي أحد الأمثلة، تستخدم التوليفة الموصوفة هنا في معالجة المرضى المصابين بالورم الأرومِيٌّ الدِبِقِي المتقدم الذين تمت معالجتهم وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية ولكن يظهرون تقدماً في المرض.

وفي مثال آخر، يمكن استخدام التوليفة الموصوفة هنا في معالجة سرطان الرئة مثل سرطان الرئة ذو الخلايا غير الصغيرة non-small cell lung cancer (NSCLC)، سرطان الرئة الغدي lung adenocarcinoma أو سرطان الرئة حرشفي الخلايا squamous cell lung cancer. وقد يكون الخاضعين للسرطان الذين تلقوا التوليفة عبارة عن مرضى بسرطان الرئة تمت معالجتهم سابقاً وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية (مثلاً، كاربوبلاتين/ جيمسيتيبين، أو باكليتاكسيل) أو مرضى تلقوا العلاج وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية مرضى لم يتلقوا أي علاج بعد. وفي أحد الأمثلة، تستخدم التوليفة الموصوفة هنا في معالجة المرضى المصابين بسرطان الرئة الذين تمت معالجتهم وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية ولكن يظهرون تقدماً في المرض.

وفي مثال آخر، يمكن استخدام التوليفة الموصوفة هنا في معالجة سرطانة الخلايا الكلوية. وقد يكون الخاضعين للسرطان الذين تلقوا التوليفة عبارة عن مرضى بسرطانة الخلايا الكلوية تمت معالجتهم سابقاً وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية، أو مرضى تلقوا العلاج وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية مرضى لم يتلقوا أي علاج بعد. وفي مثال آخر، تستخدم التوليفة الموصوفة هنا في معالجة

المرضى المصابين بسرطانة الخلايا الكلوية الذين تمت معالجتهم وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية ولكن يظهرون تقدماً في المرض.

وفي مثال آخر، يمكن استخدام التوليفة الموصوفة هنا في معالجة أورام الخلايا الليمفاوية بي الكبيرة المنتشرة. وقد يكون الخاضعين للسرطان الذين تلقوا التوليفة عبارة عن مرضى بأورام الخلايا الليمفاوية بي الكبيرة المنتشرة تمت معالجتهم سابقاً وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية، أو مرضى تلقوا العلاج وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية مرضى لم يتلقوا أي علاج بعد. وفي مثال آخر، تستخدم التوليفة الموصوفة هنا في معالجة المرضى المصابين بأورام الخلايا الليمفاوية بي الكبيرة المنتشرة الذين تمت معالجتهم وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية ولكن يظهرون تقدماً في المرض.

وفي مثال آخر، يمكن استخدام التوليفة الموصوفة هنا في معالجة وَرم المُتَوسطة. وقد يكون الخاضعين للسرطان الذين تلقوا التوليفة عبارة عن مرضى بوَرم المُتَوسطة تمت معالجتهم سابقاً وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية، أو مرضى تلقوا العلاج وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية مرضى لم يتلقوا أي علاج بعد. وفي مثال آخر، تستخدم التوليفة الموصوفة هنا في معالجة المرضى المصابين بوَرم المُتَوسطة الذين تمت معالجتهم وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية ولكن يظهرون تقدماً في المرض.

وفي مثال آخر، يمكن استخدام التوليفة الموصوفة هنا في معالجة سرطانة البلعوم الأنفي. وقد يكون الخاضعين للسرطان الذين تلقوا التوليفة عبارة عن مرضى بسرطانة البلعوم الأنفي تمت معالجتهم سابقاً وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية، أو مرضى تلقوا العلاج وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية مرضى لم يتلقوا أي علاج بعد. وفي مثال آخر، تستخدم التوليفة الموصوفة هنا في معالجة المرضى المصابين بسرطانة البلعوم الأنفي الذين تمت معالجتهم وفقاً لمعيار الرعاية العلاجية ولكن يظهرون تقدماً في المرض.

وفي مثال آخر، يمكن استخدام التوليفة الموصوفة هنا في معالجة السرطان المقاوم أو الحرون للمعدل المناعي مثل مثبط جزيء نقطة الفحص المناعية. وفي أحد التجسيدات، مثبط لـ PD-1، PD-L1، PD-L2، CTLA4، TIM3، LAG3، VISTA، BTLA، TIGIT، LAIR1، CD160، 2B4 و/أو TGFR بيتا. أو في تجسيد آخر يكون المعدل المناعي مضاد لـ PD-1 أو PD-L1. وفي هذا المثال، تستخدم التوليفة الموصوفة هنا في معالجة المرضى المصابين بسرطان الثدي ثلاثي السلبية والذين خضعوا سابقاً للمعالجة باستخدام مضاد PD-1 أو مضاد PD-L1 ولكن

يظهرون تقدماً في المرض. وفي مثال آخر، تستخدم التوليفة الموصوفة هنا في معالجة المرضى المصابين بالورم الميلانيني والذين خضعوا مسبقاً للعلاج باستخدام مضاد PD-1 أو مضاد PD-L1 ولكن يظهرون تقدماً في المرض.

وبالتالي، تزود توليفة الاختراع طريقة لتثبيط نمو خلايا الورم في الكائن الخاضع للمعالجة، وتشتمل إعطاء مقدار فعال علاجياً من التوليفة الموصوفة هنا إلى الكائن الذي يحتاجها. وفي تجسيد آخر، يمكن إعطاء توليفة الاختراع بمفردها أو في توليفة مع عامل علاجي إضافي واحد أو أكثر، ويمكن إعطاء التوليفة بأي ترتيب أو بنفس الوقت. وفي أحد الأمثلة، يمكن أن يتضمن العلاج المؤتلف الذي تم الكشف عنه هنا تركيب وفقاً للاختراع الحالي يتم إعداده بشكل إسهامي و/أو إعطاؤه بشكل إسهامي مع عامل علاجي إضافي واحد أو أكثر مثلاً واحداً أو أكثر من العوامل المضادة للسرطان، العوامل السامة للخلايا أو مبطئات نمو الخلايا، المعالجة الهرمونية، اللقاحات و/أو العلاجات المناعية الأخرى. وفي تجسيدات أخرى، يتم إعطاء التوليفة الموصوفة هنا بشكل مؤتلف مع وسائل المعالجة الأخرى، بما في ذلك الجراحة، العلاج بالأشعة، الجراحة البردية، و/أو العلاج الحراري. ويمكن بشكل مفيد أن تستخدم هذه العلاجات المؤتلفة جرعات منخفضة من العوامل العلاجية المعطاة، مما يؤدي إلى تجنب السمية أو المضاعفات المحتملة المقترنة مع العلاجات الأحادية المختلفة.

ويقصد بالمصطلح "في توليفة مع" أن العلاج أو العوامل العلاجية يجب أن تعطى في نفس الوقت و/أو أن يتم إعدادها للإعطاء معاً، بالرغم من أن طرق الإعطاء هذه تقع ضمن النطاق الموصوف هنا. ويمكن إعطاء جزئيات الجسم المضاد لـ PD-1 والجسم المضاد لـ M-CSF، بشكل متزامن مع أو قبل أو بعد علاج أو عامل علاجي إضافي آخر واحد أو أكثر. ويمكن إعطاء جزيء الجسم المضاد لـ PD-1 والجسم المضاد لـ M-CSF، والعامل الآخر أو البروتوكول العلاجي الآخر بأي ترتيب. وعموماً سوف يتم إعطاء كل عامل بجرعة و/أو حسب جدول زمني محدد لذلك العامل. ومن المدرك أيضاً أن العامل العلاجي الإضافي المستخدم يمكن أن يعطى في تركيب مفرد أو يعطى بشكل منفصل في تراكيب مختلفة. وعموماً من المتوقع أن العوامل العلاجية الإضافية المستخدمة معاً بمستويات لا تتجاوز المستويات التي تستخدم عندها بشكل منفصل. وفي بعض التجسيدات، ستكون المستويات المستخدمة بشكل مؤتلف أقل من المستويات المستخدمة بشكل منفصل.

وفي تجسيدات معينة، يتم إعطاء توليفة الاختراع بشكل مؤتلف مع واحد أو أكثر من المثبطات الأخرى من PD-1، PD-L1 و/أو PD-L2 المعروفة في التقنية. ويمكن أن تكون الضادة عبارة عن جسم مضاد، شدفة منه مرتبطة مع مولد المضاد، جزيء التصاق مناعي immunoadhesin، بروتين التحام fusion protein، أو أوليغوببتيد oligopeptide. وفي بعض التجسيدات، يختار الجسم المضاد لـ PD-1 الآخر من MDX-1106، Merck 3475 أو CT-011. وفي بعض التجسيدات، يكون المثبط PD-1 عبارة عن جزيء التصاق مناعي (مثل جزيء التصاق مناعي يشتمل على جزء مرتبط بـ PD-1 أو جزء خلوي خارجي من PD-L1 أو PD-L2 مدمج مع منطقة ثابتة (مثل منطقة Fc في سياق الغلوبيولين المناعي immunoglobulin sequence). وفي بعض التجسيدات، يكون مثبط PD-1 عبارة عن AMP-224. وفي بعض التجسيدات، يكون مثبط PD-L1 عبارة عن جسم مضاد لـ PD-L1. وفي بعض التجسيدات، تختار ضادة الارتباط ضد PD-L1 من YW243.55.S70، MPDL3280A، MEDI-4736، MSB-0010718C أو MDX-1105. ويكون MDX-1105 المعروف باسم BMS-936559 عبارة عن جسم مضاد لـ PD-L1 موصوف في طلب براءة الاختراع الدولية رقم 2007/005874. ويكون الجسم المضاد YW243.55.S70 (سياقات المنطقة المتغيرة من السلسلة الثقيلة والخفيفة المبينة بسياقات بأرقام التعريف 20 و21 بالترتيب) عبارة عن الجسم المضاد PD-L1 الموصوف في طلب براءة الاختراع الدولية رقم 2010/077634.

ويكون MDX-1106 المعروف أيضاً باسم MDX-1106-04، ONO-4538 أو BMS-936558، عبارة عن جسم مضاد لـ PD-1 موصوف في طلب براءة الاختراع الدولية رقم 2006/121168. ويكون Merck 3745 المعروف أيضاً باسم MK-3475 أو SCH-900475 عبارة عن جسم مضاد لـ PD-1 موصوف في طلب براءة الاختراع الدولية رقم 2009/114335. ويكون بيديليزوماب Pidilizumab (CT-011، من شركة كيور تك Cure Tech) عبارة عن جسم مضاد أحادي النسيلة IgG1k مؤنسن يرتبط مع PD-1. ويكشف عن بيديليزوماب Pidilizumab والأجسام المضادة المؤنسنة الأخرى أحادية النسيلة ضد PD-1 في طلب براءة الاختراع الدولية رقم 2009/101611. وفي تجسيدات أخرى، يكون الجسم المضاد لـ PD-1 عبارة عن بيمبروليزوماب pembrolizumab. ويكشف عن بيمبروليزوماب pembrolizumab (بالاسم التجاري كيترودا Keytruda المعروف سابقاً باسم لامبروليزوماب lambrolizumab المعروف أيضاً باسم MK-

3475) في مثلاً المرجع Hamid, O. et al. (2013) New England Journal of Medicine 369 (2): 134–44. ويكون AMP-224 (B7-DCIg)، أمبلميون Amplimmune، مثلاً الذي تم الكشف عنه في طلب براءة الاختراع الدولية رقم 2010/027827 وطلب براءة الاختراع الدولية رقم 2011/066342) عبارة عن مستقبلة Fc قابلة للذوبان التحامية PD-L2 تعيق التفاعل بين PD-1 و B7-H1. وتتضمن الأجسام المضادة الأخرى لـ PD-1 AMP 514 (أمبلميون Amplimmune) من بين أجسام أخرى أجسام مضادة لـ PD-1 تم الكشف عنها في براءات الاختراع الأمريكية أرقام 8609089، 2010028330 و/أو 20120114649.

ويمكن أن تتضمن العوامل الأخرى التمثيلية التي يمكن دمجها مع توليفة الاختراع معيار عامل العلاج الكيميائي للعناية بما في ذلك على سبيل المثال لا الحصر، أناسترozول anastrozole (بالاسم التجاري Arimidex®)، بيكالوتاميد bicalutamide (بالاسم التجاري Casodex®)، كبريتات بليوميسين bleomycin sulfate (بالاسم التجاري Blenoxane®)، بوسولفان busulfan (بالاسم التجاري Myleran®)، حقنة بوسولفان busulfan injection (بالاسم التجاري Busulfex®)، كابيسيتابين capecitabine (بالاسم التجاري Xeloda®)، N4–بنتيلوكسي كربونيل–5–ديوكسي–5–فلوروسيتيدين N4-pentoxycarbonyl-5-deoxy-5-fluorocytidine، كربوبلاتين carboplatin (بالاسم التجاري Paraplatin®)، كارموستين carmustine (بالاسم التجاري BiCNU®)، كلورامبوسيل chlorambucil (بالاسم التجاري Leukeran®)، سيسبلاتين cisplatin (بالاسم التجاري Platinol®)، كلادريبين cladribine (بالاسم التجاري Leustatin®)، فوسفاميد حلقي cyclophosphamide (بالاسم التجاري Cytoxan® أو Neosar®)، سيتارابين cytarabine، سيتوسين أرابينوزيد cytosine arabinoside (بالاسم التجاري Cytosar-U®)، حقنة جسيم شحمي من سيتارابين cytarabine liposome injection (بالاسم التجاري DepoCyt®)، ديكاربازين dacarbazine (بالاسم التجاري DTIC-Dome®)، داكتينوميسين dactinomycin (بالاسم التجاري اكيتنوميسين دي Actinomycin D، كوسميجان Cosmegan)، هيدروكلوريد دونوروبيسين daunorubicin hydrochloride (بالاسم التجاري Cerubidine®)، حقنة جسيم شحمي من سترات داونوروبيسين daunorubicin citrate liposome injection (بالاسم التجاري DaunoXome®)، دكساميثازون dexamethasone ، دوسيتاكسيل docetaxel (بالاسم التجاري Taxotere®)، هيدروكلوريد دوكسوروبيسين doxorubicin hydrochloride (بالاسم التجاري Adriamycin®،

Rubex®)، اتوبوسيد etoposide (بالاسم التجاري Vepesid®)، فوسفات فلودارابين fludarabine phosphate (بالاسم التجاري Fludara®)، 5- فلوروياوراسيل 5-fluorouracil (بالاسم التجاري Adrucil®، Efudex®)، فلوتاميد flutamide (بالاسم التجاري Eulexin®)، تيزاسيتيبين tezacitibine، جيمسيتابين Gemcitabine (ثنائي فلورودیوکسي سيتيدين difluorodeoxycitidine)، هيدروكسي يوريا hydroxyurea (بالاسم التجاري Hydrea®)، إيداروبيسين Idarubicin (بالاسم التجاري Idamycin®)، أيفوسفاميد ifosfamide (بالاسم التجاري IFEX®)، إيرينوتيكان irinotecan (بالاسم التجاري Camptosar®)، L-أسباراجيناز L-asparaginase (بالاسم التجاري ELSPAR®)، كالسيوم ليكوفورين leucovorin calcium، ميلفالان melphalan (بالاسم التجاري Alkeran®)، 6-مركبتوبيورين 6-mercaptopurine (بالاسم التجاري Purinethol®)، مثوتركسات methotrexate (بالاسم التجاري Folex®)، ميتوكسانترون mitoxantrone (بالاسم التجاري Novantrone®)، ميلوتراج mylotarg، باكليتاكسيل paclitaxel (بالاسم التجاري Taxol®)، فونيكس phoenix (بالاسم التجاري Yttrium90/MX-DTPA)، بنتوستاتين pentostatin، بوليفيبروسان 20 20 polifeprosan مع غرسة من كارموستين carmustine implant (بالاسم التجاري Gliadel®)، سترات تاموكسيفين tamoxifen citrate (بالاسم التجاري Nolvadex®)، تينيبوسيد teniposide (بالاسم التجاري Vumon®)، 6-ثيوجوانين 6-thioguanine، ثيوتيبا thiotepa، ترايبازامين tirapazamine (بالاسم التجاري Tirazone®)، هيدروكلوريد توبوتيكان topotecan hydrochloride للحقن (بالاسم التجاري Hycamptin®)، فينبلاستين vinblastine (بالاسم التجاري Velban®)، فنكرستين vincristine (بالاسم التجاري Oncovin®)، فينورلبين vinorelbine (بالاسم التجاري Navelbine®)، إبروتينيب Ibrutinib، إيديلاليسيب idelalisib وبريتوكسيماب فيدوتين brentuximab vedotin.

وتتضمن عوامل الألكلة النموذجية على سبيل المثال لا الحصر الخردل النتروجيني nitrogen mustards، مشتقات إثيلينيمين ethylenimine، مركبات كبريتونات ألكيل alkyl sulfonates، مركبات نتروزويوريا nitrosoureas وتريازين triazenes): خردل اليوراسيل uracil mustard (بالاسم التجاري Aminouracil Mustard®، Chlorethaminacil®، Demethyldopan®، Desmethyldopan®، Haemanthamine®، Nordopan®، Uracil Uracillost®، Uracilmostaza®، Uramustin®، Uramustine®)،

كلورميثين chlormethine (بالاسم التجاري ®Mustargen)، فوسفاميد حلقي cyclophosphamide (بالاسم التجاري ®Cytoxan، ®Neosar، ®Clafen، ®Endoxan، ®Procytox، ™Revimmune)، إفوسفاميد ifosfamide (بالاسم التجاري ®Mitoxana)، ميلفالان melphalan (بالاسم التجاري ®Alkeran)، كلورامبوسيل Chlorambucil (بالاسم التجاري ®Leukeran)، بيبوبرومان pipobroman (بالاسم التجاري ®Amedel، ®Vercyte)، ثلاثي إثيلين ميلامين triethylenemelamine (بالاسم التجاري ®Hemel، ®Hexalen، ®Hexastat)، ثلاثي إثيلين ثيوفوسفورامين triethylenethiophosphoramine، تيموزولوميد Temozolomide (بالاسم التجاري ®Temodar)، ثيوتيبا thiotepa (بالاسم التجاري ®Thioplex)، بوسولفان busulfan (بالاسم التجاري ®Busilvex، ®Myleran)، كارموستين carmustine (بالاسم التجاري ®BiCNU)، لوموستين lomustine (بالاسم التجاري ®CeeNU)، ستربتوزوسين streptozocin (بالاسم التجاري ®Zanosar)، وداكاربازين Dacarbazine (بالاسم التجاري ®DTIC-Dome). وتتضمن عوامل الألكلة alkylating agents النموذجية الاضافية على سبيل المثال لا الحصر أوكساليبلاتين Oxaliplatin (بالاسم التجاري ®Eloxatin)، تيموزولوميد Temozolomide (بالاسم التجاري ®Temodar و ®Temodal)، داكتينوميسين Dactinomycin (المعروف أيضاً باسم أكيتنوميسين-دي actinomycin-D، ®Cosmegen)، ميلفالان Melphalan (المعروف أيضاً باسم L-PAM، L-ساركوليسين L-sarcolysin وخردل من فنيل ألانين phenylalanine mustard، ®Alkeran)، ألتريتامين Altretamine (المعروف أيضاً باسم سداسي مثيل ميلامين hexamethylmelamine (HMM)، ®Hexalen)؛ كارموستين Carmustine (بالاسم التجاري ®BiCNU)، بيندامستين Bendamustine (بالاسم التجاري ®Treanda)؛ بوسولفان Busulfan (بالاسم التجاري ®Busulfex و ®Myleran)، كربوبلاتين Carboplatin (بالاسم التجاري ®Paraplatin)، لوموستين Lomustine (المعروف أيضاً باسم CCNU، ®CeeNU)، سيسبلاتين Cisplatin (المعروف أيضاً باسم CDDP، Platinol® و Platinol®-AQ)؛ كلورامبوسيل Chlorambucil (بالاسم التجاري ®Leukeran)، فوسفاميد حلقي Cyclophosphamide (بالاسم التجاري ®Cytoxan و ®Neosar)؛ داكاربازين Dacarbazine (المعروف أيضاً باسم DTIC، DIC وكربوكساميد إيميدازول imidazole carboxamide، ®DTIC-Dome)؛ ألتريتامين Altretamine (المعروف أيضاً بـ سداسي مثيل ميلامين hexamethylmelamine (HMM)، ®Hexalen)؛ إفوسفاميد Ifosfamide (بالاسم التجاري

(Ifex®)، بريدنوموستين Prednumustine؛ بروكاربازين Procarbazine (بالاسم التجاري Matulane®)؛ مكلوريثامين Mechlorethamine (المعروف أيضاً بـ الخردل النتروجيني nitrogen mustard، ميوستين mustine وهيدروكلوريد مكلورواثامين mechloroethamine hydrochloride، (Mustargen®)، ستربتوزوسين Streptozocin (بالاسم التجاري Zanosar®)، ثوتيبا Thiotepa (المعروف أيضاً بـ ثيوفوسفاميد thiophosphoamide، TESPA و TSPA، Thioplex®)، فوسفاميد حلقي Cyclophosphamide (بالاسم التجاري Endoxan®، Cytoxan®، Neosar®، Procytox®، Revimmune®) وهيدروكلوريد بنداموستين Bendamustine HCl (بالاسم التجاري Treanda®).

وتتضمن أمثلة مركبات الأنثراسيكلين anthracyclines مثلاً دوكسوروبيسين doxorubicin (بالاسم التجاري Adriamycin® و Rubex®)، بليوميسين bleomycin (بالاسم التجاري lenoxane®)، دونوروبيسين daunorubicin (هيدروكلوريد دوروبيسين dauorubicin hydrochloride، دونوميسين daunomycin، وهيدروكلوريد روبيدوميسين rubidomycin hydrochloride، Cerubidine®)، دونوروبيسين ليبوسومال daunorubicin liposomal (جسيم شحمي من سترات دونوروبيسين daunorubicin citrate، DaunoXome®)، ميتوكسانترون mitoxantrone (DHAD، Novantrone®)، إبيروبيسين epirubicin (بالاسم التجاري Ellence™)، إيداروبيسين idarubicin (بالاسم التجاري Idamycin®، Idamycin PFS®)، ميتوميسين سي mitomycin C (بالاسم التجاري Mutamycin®)، جيلدانااميسين geldanamycin، هيربيميسين herbimycin؛ رافيدوميسين ravidomycin؛ وديساسيتيلرافيدوميسين desacetylravidomycin.

وتتضمن أمثلة أشباه القلويات فينكا vinca alkaloids التي يمكن أن تستخدم في توليفة مع جزئيات الأجسام المضادة لـ PD-1 لوحدها أو مؤتلفة مع معدل مناعي آخر (مثل جزيء الجسم المضاد لـ LAG-3، أو لـ PD-L1 أو لـ TIM-3)، على سبيل المثال لا الحصر، طرطرات فينوريلبين vinorelbine tartrate (بالاسم التجاري Navelbine®)، فنكرستين Vincristine (بالاسم التجاري Oncovin®) وفيندیسين Vindesine (بالاسم التجاري Eldisine®)، فينبلاستين vinblastine (المعروف أيضاً باسم كبريتات فينبلاستين vinblastine sulfate، فينكاليوكوبلاستين vincaleukoblastine و VLB، Alkaban-AQ® و Velban®) وفينوريلبين vinorelbine (بالاسم التجاري Navelbine®).

التراكيب الصيدلية واستخداماتها

يتعلق الاختراع الحالي بمنتج صيدلي أو عبوة تجارية تشتمل على منتج مؤتلف وفقاً للاختراع الموصوف هنا، بالإضافة إلى تعليمات للإعطاء المتزامن، أو المنفصل، أو المتتالي (بحيث تكون فعالة معاً) من أجل الاستخدام في معالجة السرطان. وفي أحد الجوانب، فان الاختراع الحالي يوفر تراكيب، على سبيل المثال ، تراكيب صيدلية مقبولة، والتي تشمل جزيء الجسم المضاد لِـ PD-1 كما هو موصوف هنا وجزيء الجسم المضاد لِـ M-CSF كما هو موصوف هنا، اللذان يتم تشكيلهما مع المادة الحاملة المقبولة صيدلياً. وكما هو مستخدم هنا، يشتمل المصطلح "المادة الحاملة المقبولة صيدلياً pharmaceutically acceptable carrier " أي من وجميع المذيبات، أوساط التشتيت، عوامل تأخير الامتصاص، وما شابه ذلك والتي تكون متوافقة فسيولوجيا. ويمكن أن تكون المادة الحاملة مناسبة للاعطاء في الوريد، في العضل، تحت الجلد، عن طريق غير معوي، في المستقيم، في الحبل الشوكي أو عبر الأدمة (عن طريق الحقن أو التسريب).

وقد تكون تراكيب هذا الاختراع بعدة أشكال. وتشمل هذه الأشكال، على سبيل المثال، أشكال جرعات سائلة، شبه صلبة أو صلبة، مثلاً محاليل سائلة (على سبيل المثال، محاليل قابلة للحقن والتسريب)، مشتتات أو معلقات، جسيمات شحمية وتحاميل. ويعتمد الشكل المفضل على أسلوب الإعطاء والاستخدام العلاجي المطلوب. وتكون التراكيب النموذجية المفضلة على شكل محاليل قابلة للحقن أو التسريب. ويكون أسلوب الإعطاء المفضل عن طريق غير الجهاز الهضمي parenteral (على سبيل المثال، عبر الوريد intravenous، تحت الجلد subcutaneous، داخل الصفاق intraperitoneal، في العضل intramuscular). وفي تجسيد مفضل، يتم إعطاء التوليفة التي تم الكشف عنها عن طريق التسريب أو الحقن بالوريد. وفي تجسيد آخر مفضل، يتم إعطاء التوليفة التي تم الكشف عنها بالحقن في العضل أو تحت الجلد.

وينبغي أن تكون التراكيب العلاجية عادة معقمة وثابتة تحت ظروف التصنيع والتخزين. ويمكن إعداد التركيب في صورة محلول، مستحلب دقيق، مشتت، جسيم شحمي، أو بنية منظمة أخرى ملائمة للتركيز المرتفع من الجسم المضاد. ويمكن تحضير المحاليل المعقمة القابلة للحقن عن طريق دمج المركب الفعال (أي، الجسم المضاد أو جزء الجسم المضاد) بالمقدار المطلوب في مذيب ملائم مع مقوم واحد أو توليفة مقومات من تلك المذكورة أعلاه، حسب المطلوب، يليه تعقيم بالترشيح. وعادة، يتم تحضير مشتتات عن طريق دمج المركب الفعال في مادة ناقلة معقمة تحتوي

على وسط تشتيت قاعدي وعلى المقومات الأخرى المطلوبة المختارة من تلك المذكورة أعلاه. وفي حالة المساحيق المعقمة المستخدمة لتحضير المحاليل المعقمة القابلة للحقن، تكون طرق التحضير المفضلة هي التجفيف الخوائي vacuum drying والتجفيف بالتجميد freeze-drying التي تنتج مسحوق من المقوم الفعال بالإضافة إلى أي مقوم إضافي مرغوب من محلول منه يتم ترشيحه بشكل معقم مسبقاً. ويمكن الحفاظ على ميوعة مناسبة للمحلول، مثلاً، عن طريق استخدام طلاء مثل ليسيتين lecithin، بالحفاظ على الحجم الجسيمي المطلوب في حالة المشتت وعن طريق استخدام مواد خافضة للتوتر السطحي surfactants. ويمكن تحقيق امتصاص طويل الأمد للتراكيب القابلة للحقن عن طريق إضافة عامل مؤخر للامتصاص في التركيب، مثل أملاح أحادي ستيارات monostearate salts وجيلاتين gelatin.

ويمكن أن تصنّع التراكيب الصيدلية لاستخدامها في الطرق الموصوفة بطريقة تقليدية. ويكون استخدام الأجسام المضادة على صورة مقوم فعّال للمستحضرات الصيدلية واسع الانتشار، بما في ذلك المنتجات بالاسم التجاري Herceptin® (ترازتوزوماب trastuzumab)، Rituxan® (ريتوكسيماب rituximab)، Synagis® (باليفيزوماب palivizumab)، إلخ. وتكون التقنيات لتجفيد lyophilisation، تحضير التركيبات المائية، وتنقية الأجسام المضادة إلى صنف صيدلي معروف جيداً في التقنية.

وتكون الأجسام المضادة بالعادة مركبة إما على شكل مائي جاهزة للإعطاء عن طريق الحقن أو كمواد مجفدة لإعادة تشكيلها مع مادة مخففة قبل الإعطاء. وفي بعض تجسيدات الطرق والاستخدامات التي تم الكشف عنها، تكون الأجسام المضادة وفقاً للاختراع الحالي مركبة على صورة مادة مجفدة. ويمكن إعادة تشكيل تركيبات المادة المجفدة المناسبة بحجم صغير سائلي (على سبيل المثال، 2 مل أو أقل) للسماح بالإعطاء تحت الجلد ويمكن توفير محاليل بمستويات منخفضة لتكدّس الأجسام المضادة. وبالنسبة للإعطاء المباشر يتم إذابتها في مادة حاملة مائية مناسبة، على سبيل المثال ماء معقم للحقن أو محلول ملحي معقم فسيولوجي منظم درجة الحموضة sterile buffered physiological saline. وإذا كان من المستحسن تشكيل محلول بحجم أكبر للإعطاء عن طريق التسريب بدلاً من حقنة بلعية bolus injection، يمكن أن يكون من المفيد لدمج ألبومين المصل البشري human serum albumin أو دم معالج بالهيبارين heparinized blood للمريض نفسه إلى المحلول الملحي في وقت التركيبة. ويمنع وجود فائض من هذا البروتين

الخامل فيزيائياً فقدان الجسم المضاد عن طريق الامتزاز على جدران الوعاء والأنابيب المستخدمة مع محلول التسريب. وإذا تم استخدام الألبومين، يتراوح التركيز المناسب من 0.5 إلى 4.5٪ وزناً من المحلول الملحي.

طرق ومعدلات الإعطاء

يمكن إعطاء جزيئات الجسم المضاد للتوليفة التي تم الكشف عنها هنا بعدة طرق معروفة في التقنية، ومع ذلك تكون طريقة/أسلوب الإعطاء المفضل في العديد من الاستخدامات العلاجية هو الحقن أو التسريب بالوريد. فعلى سبيل المثال، انظر المراجع Sachs et al., Optimal Dosing for Targeted Therapies in Oncology: Drug Development Cases Leading by Example, Clin. Cancer Res; 22(6) 2016؛ Bai et al, A Guide to Rational Dosing of Monoclonal Antibodies, Clin. Pharmacokinet. 2012: 51 (2) 119-135؛ Le Tourneau, J., Dose Escalation Methods in Phase I Cancer Clinical Trials, J Natl Cancer Inst 2009; 101:708-720؛ Wang, D. et al., Fixed Dosing Versus Body Size-Based Dosing of Monoclonal Antibodies in Adult Clinical Trials, J Clin Pharmacol 2009;29:1012-1024؛ Hempel, G. et ano, Flat-Fixed Dosing Versus Body Surface Aread-Based Dosing of Anticancer Drugs: There Is a Difference, The Oncologist 2007: 12:924-926, Mathijssen, R., Flat-Fixed Dosing Versus Body Surface Area-Based Dosing of Anticancer Drugs in Adults: Does It Make a Difference?, The Oncologist, 2007;12:913-923؛ Leveque, Evaluation of Fixed Dosing of New Anticancer Agents in Phase I Studies, Anticancer Research 28:300275-2078 (2008), Gurney, How to calculate the dose of chemotherapy, British Journal of Cancer (2002) 86, 1297-1302؛ فعلى سبيل المثال، يمكن إعطاء جزيئات الجسم المضاد عن طريق التسريب عبر الوريد بمعدل أكبر من 20 ملغم/دقيقة، مثلاً، من 20–40 ملغم/دقيقة، وعادة بمعدل أكبر من أو يساوي 40 ملغم/دقيقة للوصول إلى جرعة تتراوح من حوالي 35 إلى 440 ملغم/م^2، وعادة من حوالي 70 إلى 310 ملغم/م^2، وغالباً من حوالي 110 إلى 130 ملغم/م^2. وفي تجسيدات، يمكن إعطاء جزيئات الجسم المضاد بالتسريب عبر الوريد بمعدل يقل عن 10 ملغم/دقيقة؛ ويفضل بمعدل يقل عن أو يساوي 5 ملغم/دقيقة للوصول إلى جرعة تتراوح من حوالي 1 إلى 100 ملغم/م^2، ويفضل من حوالي 5 إلى 50 ملغم/م^2، حوالي 7 إلى 25 ملغم/م^2 والأفضل حوالي 10 ملغم/م^2. وستختلف طريقة و/أو أسلوب الإعطاء اعتماداً على النتائج المرغوبة.

أنظمة الجرعات

ويتم تعديل أنظمة الجرعات لتزويد الجرعة المثلى المرغوبة (مثلاً جرعة علاجية). فعلى سبيل المثال يمكن اعطاء بلعة واحدة، أو يمكن اعطاء عدة جرعات مقسمة خلال فترة زمنية أو يمكن زيادة الجرعة أو انقاصها بشكل تناسبي حسب مقتضيات الحالة العلاجية. ومن المفيد بشكل خاص اعداد التراكيب التي تعطى عن طريق غير الجهاز الهضمي على شكل وحدة جرعة لسهولة الاعطاء وتجانس الجرعة. ويشير شكل وحدة الجرعة كما استخدم هنا إلى وحدات منفصلة فيزيائياً مناسبة كجرعة وحدية للكائنات الخاضعة للمعالجة، حيث تحتوي كل وحدة على كمية محددة مسبقاً من المركب الفعال محسوبة بحيث يتم الحصول على التأثير العلاجي المرغوب بالاقتران مع المادة الحاملة الصيدلية المطلوبة. ويتم تحديد مواصفات أشكال وحدات الجرعة وفقاً للاختراع بواسطة وبالاعتماد المباشر على (أ) الخصائص الفريدة للمركب الفعال والتأثير العلاجي المحدد المراد تحقيقه، و(ب) التحديدات المتأصلة في تقنية اعداد تركيب من المركب الفعال في معالجة الحساسية عند الأفراد.

الجرعة حسب الوزن

يمكن أن تكون جرعة الجسم المضاد وفقاً لوزن المريض. وكمثال على المدى غير المحدد لمقدار فعال من الناحية العلاجية أو الوقائية من جزيء جسم مضاد المدى من 0.1 إلى 30 ملغم/كغم، والأفضل من 1 إلى 25 ملغم/كغم. ويمكن تحديد الجرعات والأنظمة العلاجية من التوليفة التي تم الكشف عنها قبل الخبير الملم في التقنية. ويمكن نقلها بشكل منفصل أو متزامن. وفي تجسيدات معينة، يعطى جزيء الجسم المضاد لـ PD-1 عن طريق الحقن (مثلاً تحت الجلد أو في الوريد) بجرعة تتراوح من حوالي 1 إلى 40 ملغم/كغم، مثلاً من حوالي 1 إلى 30 ملغم/كغم، من حوالي 3 إلى 25 ملغم/كغم، من حوالي 3 إلى 20 ملغم/كغم، من حوالي 1 إلى 5 ملغم/كغم، من 1 إلى 10 ملغم/كغم، من 3 إلى 10 ملغم/كغم، من 5 إلى 15 ملغم/كغم، من 10 إلى 20 ملغم/كغم، حوالي 15 إلى 25 ملغم/كغم، أو من حوالي 3 ملغم/كغم ويعطى الجسم المضاد لِـ M-CSF عن طريق الحقن (مثلاً تحت الجلد أو في الوريد) بجرعة تتراوح من حوالي 1 إلى 40 ملغم/كغم، مثلاً من حوالي 1 إلى 30 ملغم/كغم، من حوالي 3 إلى 25 ملغم/كغم، من حوالي 10 إلى 20 ملغم/كغم، من حوالي 1 إلى 5 ملغم/كغم، من 3 إلى 10 ملغم/كغم، من 1 إلى 10 ملغم/كغم، من 5 إلى 15 ملغم/كغم، من 10 إلى 20 ملغم/كغم، حوالي 15 إلى 25 ملغم/كغم، أو من حوالي 3 ملغم/كغم.

الجرعة المنتظمة

يمكن أيضاً أن يتم إعطاء الأجسام المضادة للمرضى كجرعة منتظمة، وتُعطى بكمية جرعة ثابتة أو محددة مسبقاً لكل مريض. ويستخدم المصطلحين الجرعة المنتظمة والجرعة الثابتة بالتبادل. ويمكن أن تكون الجرعة المنتظمة والجرعة الثابتة مفيدة للمرضى، على سبيل المثال، للحفاظ على احتياطي العقار ولتقليل الأخطاء الصيدلية.

وفي بعض التجسيدات، يتم اعطاء جزيء الجسم المضاد لـ PD-1، عن طريق الحقن (مثلاً تحت الجلد أو في الوريد) بجرعة (مثلاً جرعة منتظمة) تتراوح من حوالي 200 ملغم إلى 500 ملغم، مثلا من حوالي 250 ملغم إلى 450 ملغم، من حوالي 300 ملغم إلى 400 ملغم، من حوالي 250 ملغم إلى 350 ملغم، من حوالي 350 ملغم إلى 450 ملغم، أو من حوالي 300 ملغم أو من حوالي 400 ملغم. ويمكن ان يختلف جدول الجرعات (على سبيل المثال ، جدول الجرعات المنتظمة) من مثلاً، مرة في الأسبوع إلى مرة واحده كل أسبوعين أو كل 3 ، 4، 5 أو 6 أسابيع. وفي أحد التجسيدات، يتم اعطاء جزيء الجسم المضاد لـ PD-1 بجرعة من حوالي 300 ملغم إلى 400 ملغم مرة واحدة كل ثلاثة أسابيع أو مرة واحدة كل أربعة أسابيع. وفي أحد التجسيدات، يتم اعطاء جزيء الجسم المضاد لـ PD-1 بجرعة تبلغ حوالي 300 ملغم مرة كل ثلاثة أسابيع. وفي أحد التجسيدات، يتم اعطاء جزيء الجسم المضاد لـ PD-1 بجرعة تبلغ حوالي 400 ملغم مرة كل أربعة أسابيع. وفي أحد التجسيدات، يتم اعطاء جزيء الجسم المضاد لـ PD-1 بجرعة تبلغ حوالي 300 ملغم مرة كل أربعة أسابيع. وفي أحد التجسيدات، يتم اعطاء جزيء الجسم المضاد لـ PD-1 بجرعة تبلغ حوالي 400 ملغم مرة كل ثلاثة أسابيع.

وبالمثل، يمكن اعطاء الجسم المضاد لـ M-CSF على صورة جرعة منتظمة. وفي بعض التجسيدات، يتم اعطاء جزيء الجسم المضاد لـ M-CSF عن طريق الحقن (مثلاً، تحت الجلد أو في الوريد) بجرعة (مثلاً جرعة منتظمة) تتراوح من حوالي 200 ملغم إلى 500 ملغم، مثلا من حوالي 250 ملغم إلى 450 ملغم، من حوالي 300 ملغم إلى 400 ملغم، من حوالي 250 ملغم إلى 350 ملغم، من حوالي 350 ملغم إلى 450 ملغم، أو من حوالي 300 ملغم أو من حوالي 400 ملغم. وبالإضافة إلى ذلك، يمكن أيضاً أن يتم اعطاء جزيء الجسم المضاد لـ M-CSF عن طريق الحقن بجرعة من حوالي 300 ملغم إلى 800 ملغم، بما في ذلك حوالي 800 ملغم. ويمكن أن يختلف جدول الجرعات (على سبيل المثال ، جدول الجرعات المنتظمة) من مثلاً، مرة في

الأسبوع إلى مرة واحده كل أسبوعين أو كل 3 ، 4، 5 أو 6 أسابيع. وفي أحد التجسيدات، يتم اعطاء جزيء الجسم المضاد لـ M-CSF بجرعة من حوالي 300 ملغم إلى 400 ملغم مرة واحدة كل ثلاثة أسابيع أو مرة واحدة كل أربعة أسابيع. وفي أحد التجسيدات، يتم اعطاء جزيء الجسم المضاد لـ M-CSF بجرعة تبلغ حوالي 300 ملغم مرة كل ثلاثة أسابيع. وفي أحد التجسيدات، يتم اعطاء جزيء الجسم المضاد لـ M-CSF بجرعة تبلغ حوالي 400 ملغم مرة كل أربعة أسابيع. وفي أحد التجسيدات، يتم اعطاء جزيء الجسم المضاد لـ M-CSF بجرعة تبلغ حوالي 300 ملغم مرة كل أربعة أسابيع. وفي أحد التجسيدات، يتم اعطاء جزيء الجسم المضاد لـ M-CSF بجرعة تبلغ حوالي 400 ملغم مرة كل ثلاثة أسابيع.

جدول الجرعات

يمكن أن يختلف جدول الجرعات من مثلاً، مرة في الأسبوع إلى مرة واحدة كل أسبوعين، أو كل 3، أو أربعة أسابيع. وفي أحد التجسيدات، يمكن اعطاء جزيء الجسم المضاد لـ PD-1 وجزيء الجسم المضاد لـ M-CSF أو كلاهما بجرعة يتراوح مقدارها من حوالي 3 إلى 10 ملغم/كغم مرة كل أسبوعين. ومن الجدير بالملاحظة أن قيم الجرعات يمكن أن تختلف حسب نوع وشدة الحالة المرضية المراد تخفيفها. ومن المفهوم أيضاً أنه بالنسبة لكائن معين، ينبغي تعديل أنظمة الجرعات المحددة مع مرور الزمن حسب حاجة المريض والحكم المهني للشخص الذي يعطي أو يشرف على اعطاء التراكيب، وأن أمداء الجرعات المبينة هنا هي أمثلة فقط ولا يقصد منها تحديد نطاق واستخدام التركيب المطالب بحمايته.

وتكون الجرعات النموذجية الخاصة بالأنظمة ثلاثية العوامل (أو أكثر من ذلك) كما يلي: يمكن إعطاء جزيء الجسم المضاد لـ PD-1 وجزيء الجسم المضاد لـ M-CSF أو كلاهما، مثلاً، بجرعة يتراوح مقدارها من حوالي 1 إلى 40 ملغم/كغم، مثلاً، من 1 إلى 30 ملغم/كغم، مثلاً، من حوالي 5 إلى 25 ملغم/كغم، من حوالي 10 إلى 20 ملغم/كغم، من حوالي 1 إلى 5 ملغم/كغم، أو حوالي 3 ملغم/كغم. ويمكن إعطاء جزيء الجسم المضاد لـ M-CSF مثلاً، بجرعة يتراوح مقدارها من 1 إلى 40 ملغم/كغم، مثلاً، من 1 إلى 30 ملغم/كغم، من حوالي 5 إلى 25 ملغم/كغم، حوالي 10 إلى 20 ملغم/كغم، حوالي 1 إلى 5 ملغم/كغم، أو حوالي 3 ملغم/كغم.

الواسمات الحيوية

يتضمن الاختراع أيضاً اختيار المرضى المستفيدين بشكل أكبر من المعالجة بالتركيبة على جزيء جسم مضاد لـ PD-1 وجزيء جسم مضاد لـ M-CSF. وقد يتم تحقيق اختيار المرضى من خلال التحديد لوجود PD-1 أو وجود بلاعم مرتبطة بالورم (TAMS). وبينما لا يفضل أن تكون مرتبطة بالنظرية، في بعض التجسيدات، يكون المريض أكثر عرضة للاستجابة للعلاج بتوليفة الاختراع إذا كان المريض مصاباً بالسرطان الذي يعبر بشكل كبير عن PD-L1، و/أو يتم تسلل السرطان عن طريق الخلايا المناعية المضادة للورم، مثلاً، TILs و/أو يكون لها مستوى TAMS عالٍ، مثلاً، يتم تحديده عن طريق البحث عن CD163 أو CD163/ CD8 أو كما وصف أدناه.

وبالإضافة إلى ذلك، فإن التنبؤات المحتملة الأخرى للفعالية المحتملة للتوليفة تتضمن مستويات التعبير عن FoxP3، و PD-L1، وCD68 عند خط الأساس (تشكيل النمط الظاهري TAM وTIL) ونقاط انتهاء نشاط مكافحة الورم (على سبيل المثال، على جميع معدلات الاستجابة). في أحد تجسيدات الاختراع الحالي يمكن قياس دم المريض إما لـ CD163 أو CD163/ CD8 كمؤشر واحد لفعالية التوليفة.

ويمكن تقييم تأثير الدَّينامِيكا الدَّوائِيَّة pharmacodynamics من التوليفة من مستويات تعبير CD8، CD163، FoxP3، PD-L1، وCD68 في خط الأساس وبعد مرحلة الأساس (تعديل TAM والنمط الظاهري TIL)، CD4، LAG3، أو TIM3، (وكذلك CD80، LKB2، CCL2 إن وجدت). وبالإضافة إلى ذلك، يمكن قياس مستويات السيتوكينات النظامية في خط الأساس وبعد خط الأساس لتقييم الديناميكا الدوائية (مثلاً، GM-CSF، IFN-γ، IL-10، IL-18، IL-2، IL-3، IL-4، IL-5، IL-6، IL-7، IL-8، MCP-1، MIP-1 α، MIP-1 β، TNF-α، أو TNF-β).

وقد يتم استخدام ORR وفقاً لـ RECIST القسم 1.1 في المريض TNBC مع BRCA1/ BRCA2 مطفر أو غير مطفر على التوالي، لتقييم ما إذا كانت حالة BRCA1 و BRCA2 تؤثر على الاستجابة للعلاج في المرضى TNBC. ويقيم ORR وفقاً لـ RECIST القسم 1.1 وفقا لحالة MSI وحمل طفري ما إذا كان في حالة عدم الاستقرار السواتل الصغرى وحمل طفري يؤثر على معدل الاستجابة الكلي. ويمكن تقييم النشاط المضاد للورم من توليفة من MCS110 مع PDR001 في مرضى سرطان الجلد مع المقاومة الجوهرية أو المكتسبة للعلاجات PD-1/ PDL-1 المستهدفة، ORR وفقاً لـ RECIST القسم 1.1 في مرضى سرطان الجلد مع مقاومة جوهرية أو مكتسبة لـ PD-1 (وفقاً للتاريخ السريري)، على التوالي.

اختيار المرضى المصابين بـ PD-1

وفي مثال واحد، يمكن أن يكون تحديد وجود PD-1 لتحديد الخلايا المناعية المضادة للورم عن طريق فحص إيجابية الخلايا لـ CD8، PD-L1، و/أو IFN-γ. وبالتالي يمكن أن تكون مستويات CD8، PD-L1، و/أو IFN-γ بمثابة قراءات لمستويات TILs في البيئة المكروية. وفي تجسيدات معينة، يشار إلى البيئة المكروية السرطانية بأنها ثلاثية الإيجابية لـ PD-L1/CD8/IFN-γ.

ووفقا لذلك، في بعض الجوانب، ويوفر هذا التطبيق أساليب لتحديد ما إذا كانت عينة الورم إيجابية لواحد أو أكثر من PD-L1، CD8، و IFN-γ، وإذا كانت عينة الورم إيجابية لواحد أو أكثر، على سبيل المثال، أو كل ثلاثة، من الواسمات، ثم إعطاء للمريض كمية فعالة علاجياً من جزيء مضاد للجسم المضاد لـ PD-1، اختيارياً في توليفة مع واحد أو أكثر من مُعَدِّلات مَناعِيّة اخرى أو عوامل مضادة للسرطان.

وفي المؤشرات التالية، يكون جزء كبير من المرضى ثلاثي الإيجابية لـ PD-L1/CD8/IFN-γ: سرطان الثدي TN. بغض النظر عما إذا كان جزء كبير أو صغير من المرضى ثلاثي الإيجابية لهذه الواسمات، ويسمح فحص واحد للمرضى لهذه الواسمات تحديد جزء من المرضى الذين لديهم احتمال كبير بشكل خاص للاستجابة بشكل إيجابي للعلاج مع الجسم المضاد PD-1 (على سبيل المثال، منع الجسم المضاد PD-1) في توليفة مع M-CSF-1 واختياريا واحد أو أكثر من مُعَدِّلات مَناعِيّة أخرى (على سبيل المثال، جزيء مضاد للجسم المضاد LAG-3، جزيء مضاد للجسم المضاد LAG-3، أو جزيء الجسم المضاد لمضاد PD-L1) و/أو عوامل مضادة للسرطان.

وفي بعض التجسيدات، تصنف عينة السرطان على أنها ثلاثية الإيجابية لـ PD-L1/ CD8/ IFN-γ. ويمكن تقسيم هذا القياس تقريبا إلى عتبتين: ما إذا كانت الخلية الفردية تصنف على أنها إيجابية، وما إذا كانت العينة ككل تصنف على أنها إيجابية. أولاً، يمكن للمرء أن يقيس، داخل خلية فردية، مستوى PD-L1، CD8، و/أو IFN-γ. وفي بعض التجسيدات، تكون الخلية الإيجابية لواحدة أو أكثر من هذه الواسمات عبارة خلية تحتوي على مستوى أعلى من الواسم مقارنة بخلية ضابطة أو قيمة مرجعية. فعلى سبيل المثال، في بعض التجسيدات، يكون مستوى عالٍ من PD-L1 في خلية معينة عبارة عن مستوى أعلى من مستوى PD-L1 في الأنسجة غير السرطانية

المقابلة في المريض. وكمثال آخر، في بعض التجسيدات، مستوى عال من CD8 أو IFN-γ في خلية معينة هو مستوى البروتين الذي ينظر إليه عادة في TIL. ثانياً، يمكن للمرء أيضاً قياس نسبة الخلايا في العينة التي تكون إيجابية لـ PD-L1، CD8، و/أو IFN-γ. (ليس من الضروري لخلية واحدة التعبير عن جميع الواسمات الثلاثة.) وفي بعض التجسيدات، تكون عينة إيجابية ثلاثية عبارة عن واحدة لديها نسبة عالية من الخلايا، على سبيل المثال، أعلى من قيمة مرجعية أو أعلى من عينة ضابطة، والتي تكون إيجابية لهذه الواسمات.

وفي تجسيدات أخرى، يمكن للمرء أن يقيس مستويات PD-L1، CD8 و/أو IFN-γ بشكل عام في العينة. وفي هذه الحالة، يمكن أن يكون مستوى عال من CD8 أو IFN-γ في العينة عبارة عن مستوى هذا البروتين الذي يمكن ملاحظته في ورم المتسلل مع TIL. وبالمثل، فإن مستوى عالٍ من PD-L1 يمكن أن يكون مستوى هذا البروتين الذي يمكن ملاحظته عادةً في عينة الورم، على سبيل المثال، البيئة المكروية للورم.

ويظهر تمييز المجموعات الفرعية من المرضى الذين يظهرون استجابة ايجابية ثلاثية لـ PD-L1، CD8، و/أو IFN-γ هنا تجمعات فرعية معينة للمرضى الذين لديهم احتمالية للاستجابة للعلاج بالجسم المضاد PD-1. فعلى سبيل المثال يظهر العديد من مرضى سرطان الثدي IM-TN (ذوي السلبية الثلاثية والمعدل المناعي) استجابة ايجابية ثلاثية لـ PD-L1، CD8، و/أو IFN-γ. ويوصف سرطان الثدي IM-TN في مثلاً المرجع Brian D. Lehmann *et al.*, "Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies", *J Clin Invest.* Jul 1, 2011; 121(7): 2750–2767. وتكون سرطانات الثدي ثلاثية السلبية تلك التي لا تعبر عن مستقبلة الاستروجين (ER)، مستقبلة البروجيسترون (PR) وHer2/نيو. ومن الصعب معالجة هذه السرطانات لأنها لا تستجيب عادة للعوامل التي تستهدف ER، PR و وHer2/نيو. ويمكن بشكل إضافي تقسيم سرطانات الثدي ثلاثية السلبية إلى فئات مختلفة، حيث تكون إحدى هذه الفئات معدلة مناعية. وكما هو موصوف في مرجع Lehmann *et al.*، يكون سرطان الثدي IM-TN غنياً بالعوامل المشتركة في عمليات الخلايا المناعية، على سبيل المثال واحدة أو أكثر من عمليات تأشير الخلايا المناعية (مثلاً المسار TH1/ TH2، مسار الخلايا القاتلة الطبيعية، مسار تأشير مستقبلة الخلايا البائية، مسار DC ومسار تأشير مستقبلة الخلايا التائية)، تأشير السيتوكين (مثل مسار السيتوكين، مسار IL-12 ومسار IL-

7)، معالجة وتقديم مولد المضاد، التأشير خلال مسارات تنبيغ اشارات المناعة اللبية (مثل NFKB، TNF وتأشير STAT/JAK)، جينات مشتركة في وظيفة الخلايا التائية، النسخ المناعي، معالجة الاستجابة للانترفيرون (IFN) ومولد المضاد. وعليه في بعض التجسيدات يكون السرطان المعالج عبارة عن سرطان يتم تحديده بأنه ايجابي لواسم واحد أو أكثر من واسمات سرطان الثدي IM-TN، مثلاً عامل تعزيز واحد أو اكثر من عمليات تأشير الخلايا المناعية (مثلاً المسار TH2/TH1 ، مسار الخلايا القاتلة الطبيعية، مسار تأشير مستقبلة الخلايا البائية، مسار DC ومسار تأشير مستقبلة الخلايا التائية)، تأشير السيتوكين (مثل مسار السيتوكين، مسار IL-12 ومسار IL-7)، معالجة وتقديم مولد المضاد، التأشير خلال مسارات تنبيغ اشارات المناعة اللبية (مثل NFKB، TNF وتأشير STAT/JAK)، جينات مشتركة في وظيفة الخلايا التائية، النسخ المناعي، معالجة الاستجابة للانترفيرون (IFN) ومولد المضاد.

اختيار المرضى باستخدام TAMs

ويتم توجيه الاختراع إلى استخدام توليفة من الجسم المضاد لـ M-CSF الموصوف في الجدول 1 والجسم المضاد لـ PD-1 الموصوف في الجدول 2، لمعالجة السرطان مثل سرطان الثدي الثلاثي السلبي. وفي الوقت الحالي، لا يوجد أي علاجات مستهدفة لهذا النوع الفرعي من سرطان الثدي ووخيار العلاج الوحيد هو المعالجة الكيميائية. ويزود الاختراع الحالي للعلاج الشخصي الذي يعطي الحد الأقصى للاستفادة والحد الأدنى من الخطر لاستخدام جزيء الجسم المضاد لـ M-CSF لمجموعات السرطان عن طريق تعريف هؤلاء المرضى المحتمل استجابتهم بشكل مفضل قبل المعالجة باستخدام معالجة M-CSF. وفي تجسيد واحد، يتضمن الاختراع الحالي تعريف المرضى المصابين بالسرطان، مثل مرضى سرطان الثدي الثلاثي السلبي، الذي بع مستوى بلاعم مرتبطة بالورم (TAMS) تشير إلى أنه من المحتمل أن يستجيب المريض للمعالجة باستخدام ناهضة M-CSF. وبشكل خاص، يتم قياس مستوى TAMs في المريض عن طريق تحديد مستوى CD163 (مثلاً، mRNA، أو بروتين) في عينة من المريض ومستوى CD163 في المريض الذي بدوره يتم استخدامه للإشارة إلى احتمال استجابة المريض بشكل مفضل إلى معالجة M-CSF. وفي مثال واحد، إذا زاد المريض من مستوى CD163 بالمقارنة مع عينة ضابطة عن مريض معرف على أنه أكثر احتمال للاستجابة إلى ناهضة M-CSF. وفي مثال آخر، يكون للمريض مستوى CD163 مساوٍ أو أعلى من مستوى CD163 المحدد مسبقاً ("قطع") ثم يتم تحديد المريض على أنه

أكثر احتمال للاستجابة إلى ناهضة M-CSF. وقد يكون مستوى التعبير CD163 الذي فحص في عينة تم الحصول عليها من مريض السرطان، على سبيل المثال، التعبير mRNA و/أو البروتين.

تحضير العينات

يمكن استخدام أي عينة مناسبة أو عينة اختبار من الخلايا المأخوذة من فرد مصاب بالسرطان. بشكل عام، يمكن أن تكون عينة الورم الصلب عينة الاختبار للخلايا أو الأنسجة التي تم الحصول عليها من المادة المصابة بالسرطان عن طريق خزعة أو استئصال جراحي. يمكن إزالة عينة من الخلايا أو الأنسجةعن طريق خزعة الشفط بالإبرة. لهذه الطريقة، يتم إدخال إبرة رفيعة موصولة بممحقنة من خلال الجلد إلى داخل النسيج المستهدف. وبشكل نموذجي يتم توجيه الإبرة إلى المنطقة ذات الإهتمام باستخدام الموجات الفوق صوتية أو التصوير المقطعي المحوسب (CT). وبمجرد إدخال الإبرة في داخل النسيج، يتم إنشاء فراغ مع المحقنة بحيث يمكن شفط الخلايا أو السائل من خلال الإبرة وتجميعه في المحقنة. يمكن أيضاً إزالة عينة من الخلايا أو الأنسجة عن طريق الخزعة الإقتطاعية أو الخزعة المخروطية. لهذه الطريقة، يتم إزالة جزء مخروط أو أسطواني أو جزء ضئيل من النسيج من المنطقة المستهدفة. يستخدم عادة التصوير المقطعي المحوسب، الموجات فوق الصوتية أو المنظار لإرشاد هذا النوع من الخزعة. على وجه الخصوص، قد يتم إزالة الجزء المصاب بالسرطان كله عن طريق الخزعة الإستئصالية أو الإستئصال الجراحي. في الاختراع الحالي، تكون عينة الاختبار بشكل نموذجي عينة من الخلايا تم إزالتها كجزء من الإستئصال الجراحي.

وقد يتم تخزين عينة الاختبار، على سبيل المثال الخاصة بالأنسجة، في مثلاً RNAlater (أمبيون؛ أوستن تكساس) أو يتم تجميدها بالتجميد فائق السرعة وتخزينها في درجة حرارة -80°م لاستخدامها لاحقاً. يمكن أيضاً تثبيت عينة نسيج الخزعة باستخدام مادة مثبتة مثل الفورمالدهيد formaldehyde، البارافورمالدهيد paraformaldehyde أو حمض الأسيتيك acetic acid /الإيثانول ethanol. يمكن دمج عينة النسيج المثبت في شمع (البارافين) أو راتنج البلاستيك. يمكن تقطيع عينة النسيج المدمجة (أو عينة النسيج المجمد) إلى مقاطع رقيقة. يمكن أيضاً أن يتم استخلاص RNA أو البروتين من عينة النسيج المثبت أو المدمج في الشمع أو عينة النسيج المجمد. وعندما يتم إزالة عينة الخلايا أو عينة النسيج من الكائن المصاب بالسرطان، قد يتم معالجتها لعزل RNA أو البروتين باستخدام تقنيات معروفة جيداً في المجال وكما وصف أعلاه.

وقد يتضمن مثال على استخلاص RNA من خزعة مأخوذة من مريض مصاب بالسرطانات، على سبيل المثال، تحلل ثيوسيانات غوانيديوم guanidium thiocyanate يليه الطرد المركزي CsCl. ويمكن الحصول على RNA من خلايا واحدة كما هو موضح في أساليب لإعداد مكتبات cDNA من خلايا واحدة. وفي أحد التجسيدات، يمكن إثراء مجموعة RNA لـ CD163. ويمكن أن يتم إثراء، على سبيل المثال، من قبل وحدات سداسية عشوائية وتصنيع cDNA ابتدائي محدد، أو جولات متعددة من التضخيم الخطي على أساس تصنيع cDNA والقالب الموجه للنسخ داخل أنبوب الاختبار.

وسيكون الكائن الخاضع للعلاج الخاص المصاب بالورم أو السرطان عموماً كائن الثدييات مثل الرئيسيات. وفي تجسيد مثالي، يكون الكائن عبارة عن إنسان.

قد يتم تقييم وجود TAMs عن طريق الكشف عن وجود CD163+

توظف الطرق التي تم الكشف عنها هنا، في جملة أمور، تحديد مستوى CD163. ويكون مستوى CD163 تنبئي لما إذا كان هذا الفرد أكثر عرضة للاستجابة لناهضة M-CSF. وفي مثال واحد يشير مستوى CD163 تنبئي إلى مستوى التعبير الأعلى من المستوى المتوسط (العينة الضابطة) للتعبير CD163 في السرطان أو أكبر من قيمة قطع محددة سلفاً.

وفي أحد التجسيدات، تتم مقارنة مستوى تعبير البروتين CD163 مقابل العينة الضابطة، أو قطع، لاختيار المرضى للعلاج باستخدام الناهضة M-CSF، على سبيل المثال، قد يتنبأ مستوى التعبير CD163 بالمقارنة مع العينة الضابطة باحتمالية أن يستجيب المريض لمضاد M-CSF مثل H-RX1. وفي أحد التجسيدات، يتم اختيار المرضى الذين لديهم مستوى تعبير لتعبير البروتين CD163 (يشار إليه أيضاً باسم "كثافة TAMs") فوق مستوى عتبة 10٪، 15٪، 20٪، 30٪، 40٪ أو أعلى للعلاج باستخدام ناهضة M-CSF. ويمكن تحديد مستوى التحكم من CD163 أساساً بالتزامن مع قياس التعبير CD163 أو قد يتم تحديدها سابقاً.

الكشف عن تعبير الحمض النووي CD163

قد يتم فحص العينة الحيوية من المريض لوجود تعبير CD163 مثل mRNA عن طريق أي وسيلة قابلة للتطبيق. وقد تكون المستويات المرتفعة من تعبير CD163 مفيدة للتنبؤ بالاستجابة المحسنة للناهضة M-CSF للمرضى المصابين بالسرطان مثل TBNC.

الكشف عن بروتين CD163

في بعض الحالات، قد يتم تحديد وجود CD163 عن طريق تحليل منتجات متعدد البيبتيد CD163. وقد يتم تنفيذ الكشف عن منتجات متعدد البيبتيد باستخدام طرق معروفة في التقنية، تتضمن على سبيل المثال لا الحصر، تصبغ كيميائي حيوي مناعي، ELISA، تعداد الخلايا بالجريان، لطخة ويسترن، قِياسُ الطَّيْفِ الضَوئِي، HPLC، ومطياف الكتلة.

العينة الضابطة

كما استخدم هنا، قد يتم تحديد العينات الضابطة للمقارنة من قبل أي شخص متمرس بالتقنية. وفي مثال واحد، يتم تحديد العينات الضابطة عن طريق اختيار عينات الضبط باستخدام قيم كثافة TAM التي تحدد قيمة القطع. على سبيل المثال، قد تكون القيمة عبارة عن قيمة تفرّق بين، على سبيل المثال، عينات الاختبار حيث يكون للفرد CD163 (أو كثافة TAM) بما يقل عن 15٪، أو عينات الاختبار حيث يكون للفرد CD163 (أو كثافة TAM) بما يساوي أو يزيد عن 15٪ CD163 (أو كثافة TAM)، أو ما بين عينات الاختبار هذه حيث من المرجح أن يستفيد الفرد من علاج الناهضة M-CSF والفرد الذي من المحتمل أن لا يستفيد.

وفي مثال آخر، قد تكون العينة الضابطة عبارة عن عينة من متطوع سليم أو عينة من مريض سرطان معروف أن به تعبير CD163 منخفض (mRNA أو بروتين)، ومريض يتم اختياره من المعالجة عندما يتم تحديد قيمة CD163 بأعلى من عينات الضبط هذه.

وفي مثال آخر أيضاً، قد تكون قيمة العينة الضابطة عبارة عن قيمة محددة مسبقاً وفقاً لعينات ضبط تاريخية كأساس من نموذج رياضي. وقد يتم بناء النموذج، وقد يسمى أيضاً مصنف، باستخدام مستويات تعبير (مثلاً، mRNA أو بروتين) من مجموعة مرضى مصابين بالسرطان (مثلاً، TBNCs). وقد يكون النموذج الرياضي، على سبيل المثال، طريقة تنبؤ صنفية أو مشتقاتها وقد يتم استخدام قيمة العينة الضابطة المشتقة بمثابة العتبة. وعندما يكون مستوى التعبير عند أو أعلى من العتبة، يكون المريض أكثر عرضة للاستجابة لناهضة M-CSF. وفي تجسيد واحد، يكون الفرد الذي تم اختياره هو الفرد الذي يحمل مستوى تعبير CD163 يساوي أو أكبر من العتبة، وقد يكون مثلاً، 15٪، 20٪، 30٪، 40٪ أو أعلى.

اختيار وعلاج المرضى بالسرطان

يسمح مستوى تعبير الحمض النووي CD163 أو البروتين CD163 للأطباء بتوفير العلاج الشخصي لمرضى السرطان مثل TBNCs، سرطان البنكرياس، سرطان المبيض، الورم الميلانيني،

سرطان البلعوم، أورام الخلايا الليمفاوية بي الكبيرة المنتشرة، ورم المتوسطة، الكلى سرطان الخلايا الكلوية، أو الورم الأرومي الدبقي، أي أنه يسمح بتحديد ما إذا كان يجب علاج المريض بشكل انتقائي بمضاد M-CSF. وبهذه الطريقة، يمكن للطبيب تعظيم الفائدة وتقليل خطر مضاد M-CSF في كامل المجموعة من المرضى المصابين بالسرطان. ويرد وصف مختلف جوانب الاختراع بمزيد من التفصيل أدناه. وترد تعاريف إضافية خلال المواصفة.

المثال 1

ويتم إجراء طور Ib من التجربة السريرية مع MCS110 و PDR001 تقدم مرة واحدة كل 3 أسابيع عبر الحقن في الوريد خلال أكثر من 30 دقيقة وساعة واحدة، بالترتيب. وسيتم تقديم العقاقير بشكل منفصل مع ما لا يقل عن 30 دقيقة استراحة بين الجسمين المضادين. ويمكن تمديد حقن كل جسم مضاد لمدة تصل إلى ساعتين في حال تم وصفه سريرياً. ويتم استخدام نظام الجرعات أدناه في الجدول 10 أدناه.

الجدول 5 نظام جرعات المثال

علاج الدراسة	الشكل الصيدلي وطريقة الإعطاء	الجرعة	التكرار و/أو النظام
MCS110	مركز سائل في قارورة حقن في الوريد	3 ملغم/كيلوغرام (جرعة البداية)	كل 3 أسابيع
PDR001	مجفد في قارورة حقن في الوريد	100 ملغم (جرعة بادئة)	كل 3 أسابيع

وقد يتم حقن كلا عقاري الدراسة باستخدام نفس موقع الوصول للوريد. ويتم اتباع نفس تسلسل الإعطاء لجميع المرضى، أي يجب حقن PDR001 أولاً. في حالة حدوث رد فعل حقن بعد إعطاء PDR001، يتم تأخير حقن MCS110 اللاحق حتى يصبح آمناً للمريض استقبال MCS110 على أساس تقدير سريري للباحث. وقد يصل التأخير بين حقن PDR001 و MCS110 إلى 4 ساعات في حال تم وصفه سريرياً.

وقد يتم تأخير الجرعة المجدولة من عقاقير الدراسة الجارية لمدة تصل إلى 7 أيام للتعافي من أثر عكسي adverse event (AE) سابق أو زيارة فائتة. وإذا تأخرت جرعة مجدولة من عقاقير الدراسة الجارية لفترة أطول من 7 أيام بسبب AE لم يتم حله، يجب تخطي الإعطاء واستئناف

العلاج عند مستوى جرعة أقل (في حالة استيفاء معايير السمية المحددة للجرعة Dose limiting toxicity (DLT)) في الجرعة المجدولة التالية. وسيتم تغيير الجدول الزمني للتقييم وفقاً لذلك. ويرجع تأخير الجرعة إلى جميع أدوية الدراسة الجارية: لعلاج مشترك بين كل من MCS110 وPDR001 ولعلاج عامل منفرد من MCS110 أو PDR001. ويتم حساب جرعة عقار الدراسة MCS110 من وزن جسم الكائن كما يقاس في زيارة الفحص والزيارات اللاحقة قبل الإعطاء.

جرعة البداية

سيكون نظام جرعة البداية منCS110 3 ملغم/كغم عبر الوريد كل 3 أسابيع، أي ما يعادل حوالي 40٪ من جرعة العامل المنفرد تعطى لمرضى PVNS (10 ملغم/كغم كل 4 أسابيع في الدراسة NCT01643850، CMCS110X2201) و30٪ من الجرعة التي يتم إعطاؤها في توليفة مع كربوبلاتين carboplatin/جيمسيتابين gemcitabine في TNBC (10 ملغم/كغم كل 3 أسابيع في الدراسة NCT02435680، CMCSZ2201).

وتم تحمل جرعة MCS110 من 10 ملغم/كغم بشكل جيد في مرضى PVNS وأظهرت انخفاض كبير في الورم في مرضى PVNS. وبعد جرعة واحدة من 3 ملغم/كغم من MCS110 في متطوعين أصحاء، لوحظ أنه CSF-1 تشبعت بواسطة MCS110 لمدة 21 يوماً تقريباً CMCSX2101. ويشير تحليل الحرائكية الدوائية الذي تم إجراؤه في دراسات HV إلى أن استجابة الواسمات الحيوية الجائلة يجب أن تكون قريبة من أقصى قدر بجرعة 5 ملغم/كغم أو أكثر وأدنى حد بجرعات أقل من 3 ملغم/كغم. وبالنظر إلى خطر السمية المتداخلة المحتملة، يتم اختيار جرعة 3 ملغم/كلغم من MCS110 كجرعة البداية لجزء تصعيد الجرعة من الدراسة.

وتكون جرعة البداية ونظام PDR001 100 ملغم عبر الوريد كل 3 أسابيع. وقد تم اختبار PDR001 بجرعات تصل إلى 10 ملغم/كغم كل أسبوعين في دراسة NCT02404441، CPRD001X2101 الجارية. ولم يتم تحديد الجرعة القصوى المحتملة Maximum tolerated dose (MTD) وتكون جرعة الطور الثاني الموصى بها recommend phase two dose (RP2D) المخطط لها 300 ملغم (3.75 ملغم/كلغم) يتم إعطاؤها كل 3 أسابيع أو 400 ملغم (5 ملغم/كلغم) يتم إعطاؤها كل 4 أسابيع. وقد تحقق كل RP2Ds المقترحة متوسط تركيز حالة الثبات القاعية trough concentration (C_{trough}) حوالي 77 ضعف أعلى قدرة EC50 لـ PDR001 في أنبوب الاختبار/خارج الجسم الحي يتم تقييمها بـ 0.42 ميكروغرام/مل. ويكون تعرض PDR001

في جرعة البداية من 100 ملغم Q3W ضمن مدى من تلك التي لوحظت في دراسة CPDR001X2101 مع عدم وجود DLTs.. ومن المتوقع من PDR001 إظهار نشاط مضاد للورم بجرعة من 100 ملغم أو أعلى كل 3 أسابيع.

الجدول 6

مستوى الجرعة*	جرعة MCS110 المقترحة	جرعة PDR001 المقترحة
-2**	0.3 ملغم/كلغم Q3W	100 ملغم/كلغم Q3W
-1**	1 ملغم/كلغم Q3W	100 ملغم/كلغم Q3W
1 (جرعة البداية)	3 ملغم/كلغم Q3W	100 ملغم/كلغم Q3W
2	3 ملغم/كلغم Q3W	300 ملغم/كلغم Q3W
3	5 ملغم/كلغم Q3W	300 ملغم/كلغم Q3W
4	10 ملغم/كلغم Q3W	300 ملغم/كلغم Q3W

* من الممكن إضافة مستويات جرعة إضافية و/أو متوسطة خلال فترة الدراسة. ويمكن إضافة مجموعات عند أي مستوى جرعة أقل من MTD من أجل فهم أفضل للسلامة، الحرائكية الدوائية pharmacokinetic (PK) أو الديناميكا الدوائية pharmacodynamics (PD).

** يمثل مستوى الجرعة -1 أو -2 مستويات الجرعات المؤقتة و/أو جرعات العلاج للمرضى الذين يتطلبون خفض الجرعة من مستوى جرعة البداية. لا يسمح بتخفيض الجرعة دون مستوى الجرعة -2 لهذه الدراسة

5 السمية المحتملة

هذه هي الدراسة الأولى التي تقيم توليفة من MCS110 وPDR001. وتشمل السمية المتداخلة المحتملة ارتفاعات انزيم الكبد الناجم عن تحريض المناعة (PDR001) أو انخفاض التخلص من إنزيمات الكبد (MCS110)، وارتفاع وتيرة أو تفاقم الآثار العكسية المتواسطة بالمناعة وسمية الجلد.

10 وتعرف السمية المحددة للجرعة (DLT) على أنها أثر عكسي أو قيمة مختبرية غير طبيعية برتبة معايير المصطلحات الشائعة للأحداث الضائرة Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) ≤ 3 يتم تقييمها على أنها لا علاقة لها المرض، تطور المرض،

مرض داغل، أو ما يصاحب ذلك من الأدوية التي تحدث داخل أول دورتين من العلاج مع توليفة العلاج وتستوفي أي من المعايير المدرجة في الجدول XX.

وتشير البيانات الناشئة من المجال الجديد في دراسات التوليفة المناعية-المناعية إلى أن بعض الآثار العكسية ذات الصلة المناعية لديها كمون لفترات طويلة. وعلى هذا النحو، يتم تمديد نافذة DLT لمجموعة توليفة في هذه التجربة إلى طول دورتين أو 42 يوما.

وسيتم استخدام معايير المصطلحات المشتركة للآثار العكسية للمعهد الوطني للسرطان NCI) National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse events CTCAE) الإصدار 4.03 لجميع الرتب. وبهدف اتخاذ قرارات تصعيد الجرعة، سيتم النظر في DLTs وإدراجها في نموذج الانحدار اللوجستي بايزي Bayesian logistic regression model (BLRM).

وللمرضى الذين لا يتحملون الجدول الزمني للجرعات المحدد في البروتوكول، يسمح بتعديلات على جرعة من أجل السماح للمريض بمواصلة علاج الدراسة، إلا خلال أول دورتين عندما يسمح بتعديلات على الجرعة فقط إذا تعرض المريض لـ DLT. ويجب تطبيق الإرشادات التالية:

إذا تعرض المريض لأثر عكسي يستوفي معايير DLT كما هو مبين في القسم 6. 2. 4، يجب حجب العلاج. ويتم تلخيص التعديلات على الجرعة للسميات المتعلقة بدواء الدراسة في الجدول 6-44. وبعد تسوية السمية للرتبة 1 أو قيمة خط البداية للمريض، يمكن للمريض أن يستأنف علاج الدراسة على مستوى جرعة أقل مما يجري اختباره في ذلك الوقت (على نفس جدول الجرعات)، إذا لم يكن هناك دليل على تطور المرض بناءً على معايير الاستجابة المتعلقة بالمناعة Immune-related Response Criteria (irRC). ويكون قرار استئناف العلاج بعد وقوع DLT وفقاً لتقدير الباحث. وبعد أثر عكسي يستوفي معايير DLT، إذا استأنف المريض علاج الدراسة، ينبغي أن يكون في مستوى الجرعة الأقل التالي. ولا يسمح بتخفيض الجرعة لجرعات أقل من MCS110 0.3 ملغم/كغم/DR001 100ملغم Q3W. وإذا كان يجب تخطي أكثر من جرعتين متتاليتين لدراسة السميات المرتبطة بالعلاج، يجب أن يتوقف المريض عن الدراسة ما لم يكن المريض يتمتع بمزايا سريرية في رأي الباحث. وفي هذه الحالة، يمكن أن يستمر العلاج بجرعة موافق عليها من قبل نوفارتيس Novartis والباحث.

إذا تم إيقاف أحد عقاقير الدراسة يمكن للمريض أن يستمر بعقار الدراسة المتبقي، إذا اعتبر الباحث أنها في مصلحة المريض. ويجب أن تتفق جرعة العقار المتبقي من قبل نوفارتيس Novartis والباحث.

وللإسهال/التهاب القولون، الآثار العكسية الكلوية، الرئوية، الغدد الصماء، الكبدية والجلدية، القاعدة الأولى من أسباب غير التهابية. إذا تبين أنه سبب التهابي، يتم العلاج وفقاً للمرفق 14.3: خوارزميات إدارة موصى بها للسميات المشتبه بها، والذي يتضمن العلاج بالكورتيكوستيرويد corticosteroid.

معايير السميات المحددة للجرعة

الجدول 7

ولغرض تصعيد الجرعة والتوسع في المجموعة، سيتم تعريف DLT كما يلي: وسيتم اعتبار أي آثار عكسية من الرتبة 4 DLTs باستثناء ما يلي:
قلة العدلات تدوم ≤ 5 أيام التي لا ترتبط بالحمى أو أعراض سريرية أخرى.
قلة اللمفاويات أو نقص الكريات البيضاء من أي رتبة
سيتم اعتبار أي آثار عكسية من الرتبة 3 DLTs باستثناء ما يلي:
شذوذ انحل بالكهرباء الذي لا يرتبط بالعقابيل السريرية ومصحح لـ ≥ Gr1 مع الإدارة المناسبة أو المكملات في غضون 72 ساعة من بداية.
رد فعل الحقن الذي يبرأ لـ≥ رتبة 1 خلال 6 ساعات
الغثيان والقيء المستمر لمدة <يومين مع العلاج المضاد للقيء الأمثل.
قلة الصفائح من دون نزيف كبير
الإسهال المستمر لمدة < 2 مع العلاج المضاد للإسهال الأمثل
اتفاع ضغط الدم المستمر < 7أيام مع العلاج الأمثل
العدوى أو الحمى مع عدم وجود قلة العدلات تستمر < 7 أيام
حكة أو حساسية الضوء المستمرة < أيام بعد العلاج
صيام مستمر < 7 أيام
آثار عكسية متعلقة بالمناعة تستمر برتبة 3 < 7 أيام بعد العلاج بالكورتيكوستيرويد corticosteroid

* ارتفاع CK بدون تلف عضلات مرتبط نسبةً لاجتهاد الباحث
* ارتفاع أسبارتات ترانز أميناز aspartate transaminase (AST) المعزول (بدون ارتفاع بيليروبين bilirubin أو ألانين ترانز أميناز alanine transaminase (ALT) ≤ الرتبة 1
سيتم اعتبار أي آثار عكسية من الرتبة 2 DLTs باستثناء ما يلي:
بيليروبين كلي Total bilirubin ≤ AST/ALT وفقاً لـ CTCAE رتبة 2
التهاب رئوي مستمر > 7 أيام بغض النظر عن العلاج بالكورتيكوستيرويد corticosteroid
ألم في العين أو الحد من حدة البصر التي لا تستجيب للعلاج الموضعي ولا تتحسن إلى شدة الرتبة 1 خلال أسبوعين من بدء العلاج الموضعي أو يتطلب العلاج الشامل.
ويمكن اعتبار سميات هامة سريرياً أخرى، بما في ذلك حدث واحد أو مرات متعددة من نفس الحدث كـ DLT's.
* ينتج عن علاج MCS110 ارتفاع في CK وAST دون أي ارتباط بتلف العضلات Radi, 2011 Am J Pathol. 2011 Jul;179(1):240-7. وترجع الارتفاعات في AST/CK إلى انخفاض معدل التخلص من الدورة الدموية بسبب تقلص أعداد البلاعم (خلايا كوبفر Kupffer cells) في الكبد (القسم 1.2.2.1).

الجدول 8 تعديلات الجرعة للسمية المتعلقة بالعقار

السميّة	قواعد تعديل الجرعة *
أمراض الدم	
قلة العدلات الحموية الرتبة 3 أو قلة العدلات الرتبة 4 > 5 أيام	تأخير العلاج حتى يصبح تعداد العدلة المطلق absolute neutrophil count (ANC) ≧ 1000/مليمتر ^{3} ودون حمى.
قلة الصفائح الدموية (TCP) الرتبة 3 الذي يرافقه نزيف سريري كبير أو G4 TCP	تأخير علاج TCP الذي يرافقه نزيف سريري كبير حتى يكون عدد الصفائح الدموية ≤ 75 $\times 10^9$/لتر وتمت معالجة النزيف.
قلة العدلات الحموية الرتبة 4 أو TCP الرتبة 4 > 5 أيام	التوقف عن العلاج.

السميّة	قواعد تعديل الجرعة *
(التهاب القولون) المعدي المعوي	
الرتبة 2	تأخير العلاج حتى تصبح الرتبة ≥ 1 أو لخط البداية.
الرتبة 3 أو 4	التوقف عن العلاج.
التهاب رئوي	
الرتبة 1	قد يستمر العلاج مع متابعة سريرية شديدة
الرتبة 2	تأخير العلاج حتى تتم المعالجة لتصبح الرتبة ≥ 1. وإذا لم تتم معالجته خلال أسبوعين يتوقف العلاج.
الرتبة 3 أو 4	التوقف عن العلاج.
(بيليروبين أو ALT/AST) كبدي	
بيليروبين أو ALT الرتبة 2	تأخير العلاج حتى تتم المعالجة لتصبح الرتبة ≥ 1.
بيليروبين أو ALT الرتبة 3	إذا كانت ALT ≥ 8 ×ULN أو البيليروبين ≥ 5× ULN: تأخير العلاج. إعادة البدء عندما تتم المعالجة لتصبح الرتبة ≥ 1. وتقليل مستوى جرعة MCS110 1. إذا كانت ALT < 8 ×ULN أو البيليروبين < 5× ULN: يتوقف العلاج.
بيليروبين أو ALT الرتبة 4 أو بيليروبين الرتبة 2 مع ALT أو AST الرتبة 2	التوقف عن العلاج.
ارتفاع CK	
الرتبة 3-4	مراقبة النظير الإنزيمي CK-MB، تروبونين (I أو T)، والكرياتينين • إذا كان CK-MB والتروبونين (I أو T) طبيعي، تكون الكرياتينين ≥ 1.5 × خط البداية ولا يكون للمريض أعراض، ويستمر العلاج. • إذا كان CK-MB والتروبونين (I أو T) طبيعي، أو (الكرياتينين > 1.5 × خط البداية و> ULN) أو لا يكون للمريض أعراض، تأخير العلاج والبحث عن الأسباب البديلة لارتفاع CK (على سبيل المثال التهاب العضلات وانحلال الربيدات) وفقاً للتعليمات المحلية. وبعد التعافي من CK-MB، تروبونين (I أو T)، والكرياتينين الرتبة 1، أو خط البداية، يعاد بدء العلاج. وتقليل مستوى جرعة MCS110 1.
(كرياتينين) الكلوي	
الرتبة 2 أو 3	تأخير العلاج حتى تتم معالجته لتصبح الرتبة ≥ 1 أو لخط البداية.
الرتبة 4	التوقف عن العلاج.
الغدد الصماء	
الرتبة 2 أو 3	تأخير العلاج حتى تصبح ≥ الرتبة 1
الرتبة 4	التوقف عن العلاج أو مناقشة إعادة البدء مع نوفارتيس بعد المعالجة الكافية بالإعاضة.
(التهاب العنبية) العيني	
الرتبة 2	تأخير العلاج حتى تتم معالجته لتصبح ≥ الرتبة 1

السميّة	قواعد تعديل الجرعة *
الرتبة 3 أو 4	التوقف عن العلاج.
وذمة محيطة بالحجاج	
الرتبة 2	تأخير العلاج حتى تتم معالجته لتصبح≥ الرتبة 1. تقليل مستوى جرعة 1 MCS110.
الرتبة 3	التوقف عن العلاج.
(طفح) جلدي	
الرتبة 2	تأخير العلاج إذا استمر > 7أيام. إعادة البدء عند المعالجة لتصبح ≥ الرتبة 1.
الرتبة 3	تأخير العلاج حتى تتم معالجته لتصبح ≥ الرتبة 1. تقليل مستوى جرعة .1 MCS110. وإذا تكرر (AE)، يتوقف العلاج.
الرتبة 4	التوقف عن العلاج.
(التهاب التأمور/ العضلي) القلبي	
الرتبة 2	تأخير العلاج حتى تصبح ≥ الرتبة 1 وإذا تجدد يتوقف العلاج.
الرتبة 3 التي تدوم > 6 أيام أو الرتبة 4	التوقف عن العلاج.

المثال 2

وبعد جزء Ib الطوري، إذا أشارت PK، PD، الصادرة وبيانات السلامة إلى أن استراتيجية الجرعات المنتظمة من MCS110 هي المناسبة، فإنه يتم تنفيذ استراتيجية الجرعات المنتظمة في الجزء الطوري 2 من الدراسة. ويتم دمج بيانات PK التي تم الحصول عليها أثناء جزء Ib الطوري وفقاً لهذه الدراسة مع بيانات PK للدراسات السريرية MCS110 الأخرى لتقييم الجرعات المنتظمة مقابل الجرعات التي أساسها وزن الجسم، ويمكن تحديد الجرعة المنتظمة للجزء الطوري 2 وفقاً لهذه الدراسة.

المثال 3

وتظهر بيانات Rnaseq من قاعدة بيانات TCGA مستوى عال من التعبير عن واسمة بديلة للبلاعم M2، CD163، ضمن مجموعة المرضى التي يحددها أعلى مستوى من التعبير عن PD1. وتم تحليل أنواع مختلفة للأورام لتحديد التعبير عن CD163 و PD1 في أنواع ورمية مختلفة. وباستخدام RNAseq من قاعدة بيانات TCGA وقاعدة البيانات الداخلية في مختلف أنواع السرطان بما في ذلك سرطان الثدي ثلاثي السلبية (TNBC)، الجلد، المبيض، سرطان البنكرياس، ورم أرومي دبقي (GBM)، سرطان الرئة، السرطان الخلايا الكلوية، أورام الخلايا الليمفاوية بي الكبيرة المنتشرة (DLBCL)، ورم المتوسطة، وسرطان البلعوم الأنفي (NPC)، تمت مراقبة مستويات

التعبير عن PD-1 بالنسبة لـ CD163. ويبين الشكل علاقة مستويات التعبير PD-1 بالنسبة لـ CD163 عن طريق فرز التعبير عن PD-1 من الأعلى إلى الأقل. وأظهرت النتائج أن لارتفاع تعبير PD-1 بشكل عام ارتباط جيد مع المستويات العالية لـ CD163.

المثال 4

تم إعطاء H-RX1 الجسم المضاد لـ M-CSF (جسم مضاد يحتوي على منطقة متغيرة ثقيلة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:1 ومنطقة متغيرة خفيفة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:2) مع جزيء جسم مضاد لـ PD-1 BAP049-Clone-E (جزيء جسم مضاد يحتوي على منطقة متغيرة ثقيلة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق: 11 ومنطقة متغيرة خفيفة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:12) للمرضى الذين يعانون من سرطان الثدي ثلاثي السلبية (TNBC) المتقدم الذين خضعوا لمعيار الرعاية العلاجية. وتم تحديد استجابة الورم موضعياً وفقاً لمعايير تقييم الاستجابة في الأورام الصلبة v1.1 (RECIST) (Therasse et al., (2000) New Guidelines to Evaluate the Response to Treatment in Solid Tumors, Journal of National Cancer Institute, Vol. 92; 205-16)؛ New Guidelines to Evaluate the Response in Solid Tumors, Journal of National Cancer Institute, Vol. 92; 205-16 and revised RECIST guidelines (version 1.1) (Eisenhauer et al 2009) European Journal of Cancer; 45:228-247).

المثال 5

تم إعطاء H-RX1 الجسم المضاد لـ M-CSF (جسم مضاد يحتوي على منطقة متغيرة ثقيلة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:1 ومنطقة متغيرة خفيفة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:2) مع جزيء جسم مضاد لـ PD-1 BAP049-Clone-E (جزيء جسم مضاد يحتوي على منطقة متغيرة ثقيلة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق: 11 ومنطقة متغيرة خفيفة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:12) للمرضى الذين يعانون من سرطان البنكرياس. وتم تحديد استجابة الورم موضعياً وفقاً لمعايير تقييم الاستجابة في الأورام الصلبة v1.1 (RECIST) (Therasse et al., (2000) New Guidelines to Evaluate the Response to Treatment in Solid Tumors, Journal of National Cancer Institute, Vol. 92;

New Guidelines to Evaluate the Response in Solid Tumors, Journal of ؛(205-16 National Cancer Institute, Vol. 92; 205-16 and revised RECIST guidelines (version 1.1) .(Eisenhauer et al 2009) European Journal of Cancer; 45:228-247

المثال 6

تم إعطاء H-RX1 الجسم المضاد لـ M-CSF (جسم مضاد يحتوي على منطقة متغيرة ثقيلة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:1 ومنطقة متغيرة خفيفة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:2) مع جزيء جسم مضاد PD-1 BAP049-Clone-E (جزيء جسم مضاد يحتوي على منطقة متغيرة ثقيلة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق: 11 ومنطقة متغيرة خفيفة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:12) للمرضى الذين يعانون من سرطان بطانة الرحم. وتم تحديد استجابة الورم موضعياً وفقاً لمعايير تقييم الاستجابة في الأورام الصلبة (RECIST) v1.1 (Therasse et al., (2000) New Guidelines to Evaluate the Response to Treatment in Solid Tumors, Journal of National Cancer Institute, Vol. 92; New Guidelines to Evaluate the Response in Solid Tumors, Journal of ؛(205-16 National Cancer Institute, Vol. 92; 205-16 and revised RECIST guidelines (version 1.1) .(Eisenhauer et al 2009) European Journal of Cancer; 45:228-247

المثال 7

تم إعطاء H-RX1 الجسم المضاد لـ M-CSF (جسم مضاد يحتوي على منطقة متغيرة ثقيلة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:1 ومنطقة متغيرة خفيفة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:2) مع جزيء جسم مضاد PD-1 BAP049-Clone-E (جزيء جسم مضاد يحتوي على منطقة متغيرة ثقيلة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق: 11 ومنطقة متغيرة خفيفة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:12) للمرضى الذين يعانون من الورم الميلانيني الذين خضعوا لمعيار الرعاية العلاجية ومقاومين للعلاج بـ PD-1 أو PD-L1. وتم تحديد استجابة الورم موضعياً وفقاً لمعايير تقييم الاستجابة في الأورام الصلبة (RECIST) v1.1 (Therasse et al., (2000) New Guidelines to Evaluate the Response to Treatment in Solid Tumors, Journal of National Cancer Institute, Vol. 92; 205-16 ؛New Guidelines to

Evaluate the Response in Solid Tumors, Journal of National Cancer Institute, Vol. 92; 205-16 and revised RECIST guidelines (version 1.1) (Eisenhauer et al 2009) European Journal of Cancer; 45:228-247.

المثال 8

تم إعطاء H-RX1 الجسم المضاد لـ M-CSF (جسم مضاد يحتوي على منطقة متغيرة ثقيلة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:1 ومنطقة متغيرة خفيفة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:2) مع جزيء جسم مضاد PD-1 BAP049-Clone-E (جزيء جسم مضاد يحتوي على منطقة متغيرة ثقيلة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق: 11 ومنطقة متغيرة خفيفة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:12) للمرضى الذين يعانون من سرطان الثدي ثلاثي السلبية (TNBC) المتقدم الذين خضعوا لمعيار الرعاية العلاجية والمصابين بسرطان حرون أو المقاومين للعلاج بـ PD-1 أو PD-L1. وتم تحديد استجابة الورم موضعياً وفقاً لمعايير تقييم الاستجابة في الأورام الصلبة v1.1 (RECIST) (Therasse et al., (2000) New Guidelines to Evaluate the Response to Treatment in Solid Tumors, Journal of National Cancer Institute, Vol. 92; 205-16)؛ New Guidelines to Evaluate the Response in Solid Tumors, Journal of National Cancer Institute, Vol. 92; 205-16 and revised RECIST guidelines (version 1.1) (Eisenhauer et al 2009) European Journal of Cancer; 45:228-247.

المثال 9

تم إعطاء H-RX1 الجسم المضاد لـ M-CSF (جسم مضاد يحتوي على منطقة متغيرة ثقيلة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:2 ومنطقة متغيرة خفيفة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:4) مع جزيء جسم مضاد PD-1 BAP049-Clone-E (جزيء جسم مضاد يحتوي على منطقة متغيرة ثقيلة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق: 37 ومنطقة متغيرة خفيفة السلسة بما في ذلك الأحماض الأمينية المذكورة مسبقاً برقم تعريف سياق:47) للمرضى الذين يعانون من سرطان الخلايا الرئوية غير الصغيرة وسرطان الخلايا الرئوية الحرشفية أو أي منهما. وتم تحديد استجابة الورم موضعياً وفقاً لمعايير تقييم الاستجابة في الأورام الصلبة v1.1 (RECIST) (Therasse et al., (2000) New Guidelines to Evaluate the Response to Treatment in Solid

New Guidelines to ؛(Tumors, Journal of National Cancer Institute, Vol. 92; 205-16 Evaluate the Response in Solid Tumors, Journal of National Cancer Institute, Vol. 92; 205-16 and revised RECIST guidelines (version 1.1) (Eisenhauer et al 2009) European .Journal of Cancer; 45:228-247

5 وتم دمج جميع النشرات، طلبات براءات الاختراع، براءات الاختراع، وغيرها من المراجع المذكورة هنا للرجوع إليها بالكامل. وسوف تكون السمات الأخرى، الأهداف، ومزايا الاختراع واضحة من الوصف والرسومات، ومن عناصر الحماية.

عناصر الحماية

1- توليفة صيدلية pharmaceutical combination تشتمل على:

أ) جزيء لجسم مضاد معزول isolated antibody molecule قادر على الارتباط مع بروتين موت الخلية المبرمج-1 PD-1 programmed cell death-1 البشري يشتمل على منطقة متغيرة لسلسلة ثقيلة heavy chain variable region VH تشتمل على سياق حمض أميني amino acid sequence لمنطقة تحديد تتامية متغيرة ثقيلة السلسلة رقم 1 VHCDR1 variable heavy chain complementarity-determining region برقم التعريف: 21؛ سياق حمض أميني لمنطقة تحديد تتامية متغيرة ثقيلة السلسلة رقم 2 VHCDR2 برقم التعريف: 22؛ وسياق حمض أميني لمنطقة تحديد تتامية متغيرة ثقيلة السلسلة رقم 3 VHCDR3 برقم التعريف: 23؛ ومنطقة متغيرة لسلسلة خفيفة light chain variable region VL تشتمل على سياق حمض أميني لمنطقة تحديد تتامية متغيرة خفيفة السلسلة رقم 1 VLCDR1 variable light chain complementarity-determining region برقم التعريف: 26، سياق حمض أميني لمنطقة تحديد تتامية متغيرة خفيفة السلسلة رقم 2 VLCDR2 برقم التعريف: 27، وسياق حمض أميني لمنطقة تحديد تتامية متغيرة خفيفة السلسلة رقم 3 VLCDR3 برقم التعريف: 28؛

و

ب) جزيء لجسم مضاد معزول قادر على الارتباط مع العامل 1 المنبه لمستعمرات البلاعم M-macrophage colony stimulating factor CSF يشتمل على (أ) منطقة متغيرة لسلسلة ثقيلة heavy chain variable region VH تشتمل على سياق حمض أميني VHCDR1 برقم التعريف: 3، سياق حمض أميني VHCDR2 برقم التعريف: 4، وسياق حمض أميني VHCDR3 برقم التعريف: 5؛ ومنطقة متغيرة لسلسلة خفيفة light chain variable region VL تشتمل على سياق حمض أميني VLCDR1 برقم التعريف: 6، سياق حمض أميني VLCDR2 برقم التعريف: 7، وسياق حمض أميني VLCDR3 برقم التعريف: 8.

2- التوليفة الصيدلية pharmaceutical combination وفقاً لعنصر الحماية 1، حيث

أ) يكون لجزيء الجسم المضاد المعزول isolated antibody molecule القادر على الارتباط مع بروتين موت الخلية المبرمج-1 PD-1 programmed cell death-1 البشري سياق لسلسلة ثقيلة heavy chain HC برقم التعريف: 25 وسياق لسلسلة خفيفة light chain LC برقم التعريف:

30 و

ب) يكون لجزيء الجسم المضاد المعزول القادر على الارتباط مع العامل 1 المنبه لمستعمرات البلاعم M-CSF macrophage colony stimulating factor سياق HC برقم التعريف: 1 وسياق LC برقم التعريف: 2.

3- التوليفة الصيدلية pharmaceutical combination وفقاً لعنصر الحماية 1 أو 2، حيث تشتمل على جزيء لجسم مضاد antibody molecule قادر على الارتباط مع بروتين موت الخلية المبرمج-1 PD-1 programmed cell death-1 أو جزيء لجسم مضاد قادر على الارتباط مع العامل 1 المنبه لمستعمرات البلاعم M-CSF macrophage colony stimulating factor بشكل منفصل أو معاً.

4- التوليفة الصيدلية pharmaceutical combination وفقاً لعنصر الحماية 1 أو 2 للاستخدام كدواء، حيث يعطى جزيء الجسم المضاد antibody molecule القادر على الارتباط مع بروتين موت الخلية المبرمج-1 PD-1 programmed cell death-1 وجزيء الجسم المضاد القادر على الارتباط مع العامل 1 المنبه لمستعمرات البلاعم M-CSF macrophage colony stimulating factor كل على حده في نفس الوقت أو بشكل منفصل ضمن فترات زمنية محددة.

5- التوليفة الصيدلية pharmaceutical combination للاستخدام وفقاً لعنصر الحماية 4، حيث تسمح الفترات الزمينة لشركاء التوليفة بأن تكون فعّالة.

6- التوليفة الصيدلية pharmaceutical combination وفقاً لعنصر الحماية 1 أو 2 للاستخدام في علاج السرطان cancer، حيث يتم اختيار السرطان من المجموعة المكونة من سرطان الثدي ثلاثي السلبية TNBC triple negative breast cancer، سرطان الجلد skin cancer، سرطان المبيض ovarian cancer، سرطان البنكرياس pancreatic cancer، الورم الأروميُّ الدِبقي glioblastoma GBM، سرطان الرئة lung cancer، سرطانة الخلايا الكلوية kidney renal cell carcinoma، أورام الخلايا الليمفاوية بي الكبيرة المنتشرة DLBCL diffuse large b cell lymphoma، ورم المُتوسطة mesothelioma، سرطان بطانة الرحم endometrial cancer وسرطانة البلعوم الأنفي NPC nasopharylngeal carcinoma، أو سرطان الذي يصبح مقاوماً أو ممانعاً لمعالجة PD-1 أو PD-L1، حيث يكون السرطان المذكور عبارة عن سرطان الثدي

ثلاثي السلبية triple negative breast cancer TNBC أو الورم الميلانيني melanoma.

7- التوليفة الصيدلية pharmaceutical combination للاستخدام وفقاً لعنصر الحماية 6، حيث يكون السرطان cancer عبارة عن سرطان الثدي ثلاثي السلبية triple negative breast cancer.

8- التوليفة الصيدلية pharmaceutical combination للاستخدام وفقاً لعنصر الحماية 6، حيث يكون السرطان cancer عبارة عن سرطان المبيض ovarian cancer.

9- التوليفة الصيدلية pharmaceutical combination للاستخدام وفقاً لعنصر الحماية 6، حيث يكون السرطان cancer عبارة عن الورم الميلانيني melanoma.

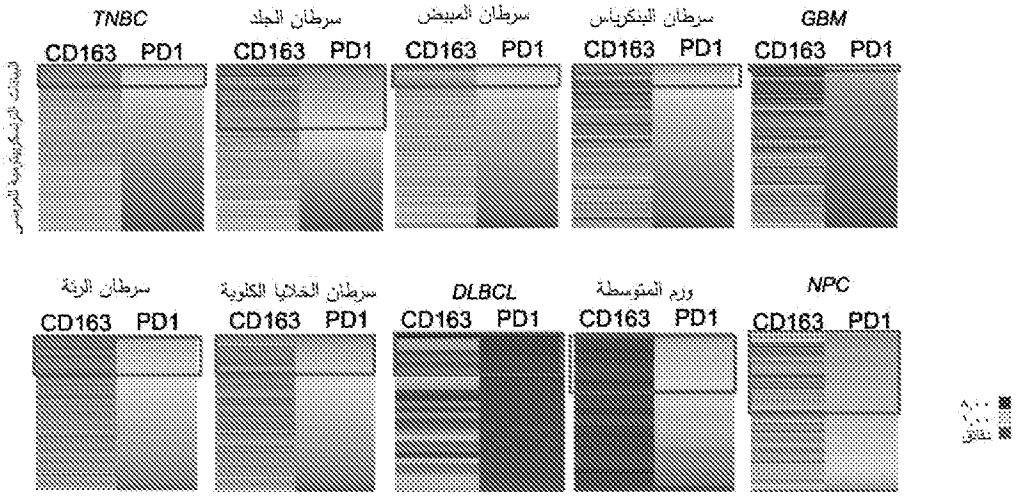
10- التوليفة الصيدلية pharmaceutical combination للاستخدام وفقاً لعنصر الحماية 6، حيث يكون السرطان cancer عبارة عن سرطان البنكرياس pancreatic cancer.

11- التوليفة الصيدلية pharmaceutical combination للاستخدام وفقاً لعنصر الحماية 6، حيث يصبح السرطان cancer مقاوماً أو ممانعاً للعلاج ببروتين موت الخلية المبرمج-1 PD-1 programmed cell death-1 أو برِبيطة بروتين موت الخلية المبرمج-1 PD-L1 Programmed death-ligand 1، حيث يكون السرطان المذكور عبارة عن سرطان الثدي ثلاثي السلبية triple negative breast cancer TNBC أو الورم الميلانيني melanoma.

12- التوليفة الصيدلية pharmaceutical combination للاستخدام وفقاً لعنصر الحماية 11، حيث يعطى جزيء الجسم المضاد القادر على الارتباط مع بروتين موت الخلية المبرمج-1 PD-1 programmed cell death-1 وجزيء الجسم المضاد القادر على الارتباط مع العامل 1 المنبه لمستعمرات البلاعم macrophage colony stimulating factor M-CSF في نفس الوقت أو بشكل متتالي.

13- التوليفة الصيدلية pharmaceutical combination للاستخدام وفقاً لعنصر الحماية 11، حيث تتضمن التوليفة أيضاً اعطاء عامل علاجي كيميائي chemotherapy agent.

14- تركيبة صيدلية pharmaceutical composition تشتمل على التوليفة الصيدلية pharmaceutical combination وفقاً لعنصر الحماية 1 أو 2 ومادة حاملة مقبولة صيدلياً pharmaceutically acceptable carrier، سواغ excipient أو مادة مُثبتة stabilizer.


TNBC
CD163 PD1
سرطان الجلد
CD163 PD1
سرطان المبيض
CD163 PD1
سرطان البنكرياس
CD163 PD1
GBM
CD163 PD1
سرطان الرئة
CD163 PD1
سرطان الخلايا الكلوية
CD163 PD1
DLBCL
CD163 PD1
ورم المتوسطة
CD163 PD1
NPC
CD163 PD1

الشكل ١

مدة سريان هذه البراءة عشرون سنة من تاريخ إيداع الطلب

وذلك بشـرط تسـديد المقابل المالي السـنوي للبراءة وعدم بطلانها أو سـقوطها لمخالفتها لأي من أحكام نظام براءات الاختراع والتصميمات التخطيطية للدارات المتكاملة والأصناف النباتية والنماذج الصناعية أو لائحته التنفيذية.

صادرة عن

الهيئة السعودية للملكية الفكرية

ص ب ٦٥٣١ ، الرياض ١٣٣٢١ ، المملكة العربية السعودية

SAIP@SAIP.GOV.SA