(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119950704 A
(43)申请公布日 2025.05.09

(21)申请号 202510129731.4
(22)申请日 2016.11.01
(30)优先权数据
62/250016 2015.11.03 US
(62)分案原申请数据
201680077740.2 2016.11.01
(71)申请人 詹森生物科技公司
地址 美国宾夕法尼亚州
(72)发明人 R·詹森 V·库马
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 初明明 彭昶
(51)Int.Cl.
A61K 39/395(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)
A61K 38/47(2006.01)
A61K 45/06(2006.01)
A61K 47/20(2006.01)
A61K 47/22(2006.01)
A61K 47/26(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

权利要求书3页 说明书45页
序列表（电子公布）

(54)发明名称

抗CD38抗体的皮下制剂及其用途

(57)摘要

本发明涉及抗CD38抗体的皮下制剂及其用途。

CN 119950704 A

1.一种药物组合物,所述药物组合物包含约1800mg的抗CD38抗体和约30000U的透明质酸酶,其中所述抗CD38抗体具有IgG1同种型并且包含SEQ ID NO:4的重链可变区序列和SEQ ID NO:5的轻链可变区序列,并且其中所述透明质酸酶是rHuPH20重组透明质酸酶。

2.根据权利要求1所述的药物组合物,还包含药学上可接受的载体。

3.根据权利要求2所述的药物组合物,其中所述抗CD38抗体包含SEQ ID NO:12的重链序列和SEQ ID NO:13的轻链序列。

4.根据权利要求2所述的药物组合物,还包含

a)约5mM至约50mM的组氨酸;和

b)约50mM至约400mM的山梨糖醇。

5.根据权利要求4所述的药物组合物,还包含

a)约0.01%w/v至约0.1%w/v的聚山梨醇酯-20(PS-20);

b)约0.1mg/mL至约2.5mg/mL的甲硫氨酸;或

c)约0.01%w/v至约0.1%w/v的PS-20和约0.1mg/mL至约2.5mg/mL的甲硫氨酸。

6.根据权利要求4所述的药物组合物,包含

a)约10mM的组氨酸;和

b)约100mM至约300mM的山梨糖醇。

7.根据权利要求6所述的药物组合物,还包含

a)约0.01%w/v至约0.04%w/v的PS-20;和

b)约1mg/mL至约2mg/mL的甲硫氨酸。

8.根据权利要求5所述的药物组合物,包含

a)约10mM的组氨酸;

b)约300mM的山梨糖醇;

c)约0.04%w/v的PS-20;和

d)约1mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.6。

9.根据权利要求5所述的药物组合物,包含

a)约10mM的组氨酸;

b)约300mM的山梨糖醇;

c)约0.04%w/v的PS-20;和

d)约2mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

10.根据权利要求5所述的药物组合物,包含

a)约10mM的组氨酸;

b)约300mM的山梨糖醇;

c)约0.01%w/v的PS-20;和

d)约2mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

11.根据权利要求5所述的药物组合物,包含

a)约10mM的组氨酸;

b)约300mM的山梨糖醇;

c)约0.02%w/v的PS-20;和

d)约2mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

12.根据权利要求5所述的药物组合物,包含

a)约10mM的组氨酸;

b)约300mM的山梨糖醇;

c)约0.06%w/v的PS-20;和

d)约2mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

13.根据权利要求5所述的药物组合物,包含

a)约10mM的组氨酸;

b)约300mM的山梨糖醇;

c)约0.04%w/v的PS-20;和

d)约1mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

14.根据权利要求2所述的药物组合物,所述药物组合物为单位剂型。

15.一种治疗受试者的CD38阳性多发性骨髓瘤(MM)的方法,包括向有需要的受试者皮下施用包含约1800mg的抗CD38抗体和约30000U的透明质酸酶的药物组合物足以治疗CD38阳性MM的时间,其中所述抗CD38抗体具有IgG1同种型并且包含SEQ ID NO:4的重链可变区序列和SEQ ID NO:5的轻链可变区序列,并且其中所述透明质酸酶是rHuPH20重组透明质酸酶。

16.根据权利要求15所述的方法,其中所述抗CD38抗体包含SEQ ID NO:12的重链序列和SEQ ID NO:13的轻链序列。

17.根据权利要求15所述的方法,其中所述药物组合物还包含约5mM至约50mM的组氨酸和约50mM至约400mM的山梨糖醇,其任选地还包含约0.01%w/v至约0.1%w/v的聚山梨醇酯-20(PS-20)、约0.1mg/mL至约2.5mg/mL的甲硫氨酸、或约0.01%w/v至约0.1%w/v的PS-20和约0.1mg/mL至约2.5mg/mL的甲硫氨酸。

18.根据权利要求17所述的方法,其中所述药物组合物包含约10mM的组氨酸和约100mM至约300mM的山梨糖醇,其任选地还包含约0.01%w/v至约0.04%w/v的PS-20、约1mg/mL至约2mg/mL的甲硫氨酸、或约0.01%w/v至约0.04%w/v的PS-20和约1mg/mL至约2mg/mL的甲硫氨酸。

19.根据权利要求18所述的方法,其中所述药物组合物包含约10mM的组氨酸、约300mM的山梨糖醇、约0.04%w/v的PS-20和约1mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.6。

20.根据权利要求18所述的方法,其中所述药物组合物包含约10mM的组氨酸、约300mM的山梨糖醇、约0.04%w/v的PS-20和约2mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

21.根据权利要求15所述的方法,还包括施用第二治疗剂。

22.根据权利要求21所述的方法,其中所述第二治疗剂是蛋白酶体抑制剂、烷基化剂或谷氨酸衍生物、或它们的组合。

23.根据权利要求22所述的方法,其中

a)所述蛋白酶体抑制剂是硼替佐米、卡非佐米或伊沙佐米;

b)所述烷基化剂是白消安、环磷酰胺、苯达莫司汀、瘤可宁、卡铂、顺铂、替莫唑胺、美法仑、卡莫司汀、环己亚硝脲、达卡巴嗪、奥沙利铂、异环磷酰胺、双氯乙基甲胺、噻替哌、曲贝替定或链脲霉素;并且

c)所述谷氨酸衍生物是来那度胺、萨力多胺或泊马度胺。

24.根据权利要求23所述的方法,还包括施用皮质类固醇。

25.根据权利要求24所述的方法,其中所述皮质类固醇为地塞米松或泼尼松。

26.根据权利要求25所述的方法,其中所述皮质类固醇为地塞米松。

27.一种单位剂型,所述单位剂型包含

a)量为约1800mg的IgG1同种型的抗CD38抗体,所述抗CD38抗体包含SEQ ID NO:4的重链可变区序列和SEQ ID NO:5的轻链可变区序列;

b)量为约30000U的透明质酸酶,其中所述透明质酸酶是rHuPH20重组透明质酸酶;

c)浓度为约5mM至约15mM的组氨酸;

d)浓度为约100mM至约300mM的山梨糖醇;

e)浓度为约0.01%w/v至约0.04%w/v的聚山梨醇酯-20(PS-20);和

f)浓度为约1mg/mL至约2mg/mL的甲硫氨酸,pH为约5.5。

28.根据权利要求27所述的单位剂型,其中组氨酸以约10mM的浓度存在。

29.根据权利要求28所述的单位剂型,其中山梨糖醇以约300mM的浓度存在。

30.根据权利要求29所述的单位剂型,其中聚山梨醇酯以约0.04%w/v的浓度存在。

31.根据权利要求30所述的单位剂型,其中甲硫氨酸以约1mg/mL的浓度存在。

32.根据权利要求31所述的单位剂型,其包含浓度为约100mM至约200mM的蔗糖。

33.根据权利要求32所述的单位剂型,其中所述抗CD38抗体包含SEQ ID NO:12的重链序列和SEQ ID NO:13的轻链序列。

34.一种包含根据权利要求33所述的单位剂型的容器。

35.一种单位剂型,所述单位剂型包含

a)量为约1800mg的IgG1同种型的抗CD38抗体,所述抗CD38抗体包含SEQ ID NO:4的重链可变区序列和SEQ ID NO:5的轻链可变区序列;

b)量为约30000U的透明质酸酶,其中所述透明质酸酶是rHuPH20重组透明质酸酶;

c)浓度为约10mM的组氨酸;

d)浓度为约300mM的山梨糖醇;

e)浓度为约0.04%w/v的聚山梨醇酯-20(PS-20);和

f)浓度为约1mg/mL的甲硫氨酸,pH为约5.6。

36.一种包含根据权利要求35所述的单位剂型的容器。

37.根据权利要求35所述的单位剂型,其中所述抗CD38抗体包含SEQ ID NO:12的重链序列和SEQ ID NO:13的轻链序列。

抗CD38抗体的皮下制剂及其用途

[0001] 本申请是申请日为2016年11月1日,中国国家申请号为201680077740.2,发明名称为“抗CD38抗体的皮下制剂及其用途”的发明申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及抗CD38抗体的皮下制剂及其用途。

背景技术

[0003] CD38是多功能蛋白,其功能表现为受体介导的粘附和信号传导,以及经由其胞外酶活性介导钙动员,催化环状ADP核糖(cADPR)和ADPR的形成。CD38介导细胞因子的分泌以及淋巴细胞的活化和增殖(Funaro等人,J Immunol 145:2390-6,1990;Terhorst等人,Cell 771-80,1981;Guse等人,Nature 398:70-3,1999)。CD38还经由其NAD糖水解酶活性来调节细胞外NAD^+水平,这牵涉到调整调节性T细胞区室(Adriouch等人,14:1284-92,2012;Chiarugi等人,Nature Reviews 12:741-52,2012)。除了经由Ca^{2+}进行的信号传导之外,CD38信号传导还经由与T细胞和B细胞上的抗原-受体复合物或其它类型受体复合物(例如MHC分子)的交互应答而发生,从而CD38不仅参与若干细胞应答,而且参与IgG1的转换和分泌。CD38表达于各种恶性细胞上。

[0004] 用于治疗多发性骨髓瘤和其它血红素恶性肿瘤的抗CD38抗体正在开发当中。所述抗体可经由静脉内(IV)途径注射或输注。可经由静脉内途径施用的抗体的量受限于抗体的物理化学性质,尤其是其在合适液体制剂中的溶解度和稳定性以及输注流体体积。

[0005] 因此,需要附加的抗CD38抗体制剂和药物组合物。

发明内容

[0006] 本发明提供一种包含抗CD38抗体和透明质酸酶的药物组合物。

[0007] 本发明还提供一种包含抗CD38抗体和具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的透明质酸酶的药物组合物。

[0008] 本发明还提供治疗受试者的癌症的方法,包括向有需要的受试者皮下施用包含抗CD38抗体和透明质酸酶的药物组合物达足以治疗癌症的时间。

[0009] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者皮下施用本发明的药物组合物达足以治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的时间。

[0010] 本发明还提供了一种治疗多发性骨髓瘤的方法,包括向有需要的受试者皮下施用本发明的药物组合物达足以治疗多发性骨髓瘤的时间。

[0011] 本发明还提供一种单位剂型,其包含:

[0012] 量为约1200mg至约5000mg的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQID NO:5的VL的抗CD38抗体;

[0013] 量为约30000U至约45000U的透明质酸酶;

[0014] 浓度为约5mM至约15mM的组氨酸;

[0015] 浓度为约100mM至约300mM的山梨糖醇;

[0016] 浓度为约0.01%w/v至约0.04%w/v的PS-20;以及

[0017] 浓度为约1mg/mL至约2mg/mL的甲硫氨酸,pH为约5.5。

[0018] 本发明还提供一种根据权利要求74所述的单位剂型,其包含:

[0019] 量为约1800mg的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体;

[0020] 量为约30000U的透明质酸酶;

[0021] 浓度为约10mM的组氨酸;

[0022] 浓度为约300mM的山梨糖醇;

[0023] 浓度为约0.04%w/v的PS-20;以及

[0024] 浓度为约1mg/mL的甲硫氨酸,pH为约5.5。

[0025] 本发明还提供一种包含本发明的单位剂型的容器。

[0026] 本发明还提供一种包含本发明的药物组合物的容器。

具体实施方式

[0027] "CD38"是指人CD38蛋白(同义词:ADP-核糖基环化酶1、cADPr水解酶1、环状ADP-核糖水解酶1)。人CD38具有GenBank登录号NP_001766和SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列。众所周知,CD38是单通II型膜蛋白,其具有代表胞质结构域的第1-21位氨基酸残基、代表跨膜结构域的第22-42位氨基酸残基,以及代表CD38的胞外结构域的第43-300位残基。

[0028] SEQ ID NO:1

[0029] MANCEFSPVSGDKPCCRLSRRAQLCLGVSILVLILVVVLAVVVPRWRQQWSGPGTTKRFPETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQTVPCNKILLWSRIKDLAHQFTQVQRDMFTLEDTLLGYLADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDWRKDCSNNPVSVFWKTVSRRFAEAACDVVHVMLNGSRSKIFDKNSTFGSVEVHNLQPEKVQTLEAWVIHGGREDSRDLCQDPTIKELESIISKRNIQFSCKNIYRPDKFLQCVKNPEDSSCTSEI

[0030] "抗体"广义上是指并包括免疫球蛋白分子,具体包括单克隆抗体(包括鼠科动物单克隆抗体、人单克隆抗体、人源化单克隆抗体和嵌合单克隆抗体),抗原结合片段,双特异性或多特异性抗体,二聚、四聚或多聚抗体,单链抗体、结构域抗体,以及包含具有所需特异性的抗原结合位点的免疫球蛋白分子的任何其它经修饰构型。"全长抗体"由经二硫键互连的两条重(H)链和两条轻(L)链以及它们的多聚体(例如IgM)构成。每条重链均由重链可变区(VH)和重链恒定区(由结构域CH1、铰链、CH2和CH3构成)构成。每条轻链由轻链可变区(VL)和轻链恒定区(CL)构成。VH和VL区可进一步细分为超变区,称为互补决定区(CDR),间插有框架区(FR)。各个VH和VL由三个CDR和四个FR片段构成,其从氨基端到羧基端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。

[0031] "互补决定区(CDR)"为抗体中的"抗原结合位点"。使用不同术语来定义CDR:(i)三个在VH中(HCDR1、HCDR2、HCDR3)且三个在VL中(LCDR1、LCDR2、LCDR3)的互补决定区(CDR)是基于序列变异性(Wu和Kabat,J Exp Med 132:211-50,1970;Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md.,1991)。(ii)三个在VH中(H1、H2、H3)且三个在VL中(L1、L2、L3)的"高变区"、"HVR"或"HV"是指抗体可变结构域的在结构上高变的区域,如Chothia和Lesk所定义(Chothia和Lesk,Mol Biol 196:901-17,1987)。国际免疫遗传学

(IMGT)数据库(http://www_imgt_org)提供了抗原结合位点的标准化编号和定义。CDR、HV和IMGT描述之间的对应关系在Lefranc等人,Dev Comparat Immunol 27:55-77,2003中有所描述。除非另有明确地说明,本文所用的术语“CDR”、“HCDR1”、“HCDR2”、“HCDR3”、“LCDR1”、“LCDR2”和“LCDR3”包括由任何上述方法(Kabat、Chothia或IMGT)定义的CDR。

[0032] 免疫球蛋白可根据重链恒定结构域氨基酸序列被指定为五种主要种类,即IgA、IgD、IgE、IgG和IgM。IgA和IgG进一步亚分类为同种型IgA_1、IgA_2、IgG_1、IgG_2、IgG_3和IgG_4。基于其恒定结构域的氨基酸序列,可将任何脊椎物种的抗体轻链指定为两种完全不同的类型即κ和λ中的一种。

[0033] “抗原结合片段”是指免疫球蛋白分子的保留亲本全长抗体的抗原结合特性的部分。示例性的抗原结合片段为重链互补决定区(HCDR)1、2和/或3、轻链互补决定区(LCDR)1、2和/或3、重链可变区(VH)、或轻链可变区(VL)、Fab、F(ab')2、Fd和Fv片段以及由一个VH结构域或一个VL结构域组成的结构域抗体(dAb)。VH和VL域可经由合成接头连接在一起以形成各种类型的单链抗体设计,其中在VH结构域和VL结构域由单独链表达的情况下,VH/VL结构域在分子内或分子间配对,以形成单价抗原结合位点,诸如单链Fv(scFv)或双价抗体;例如在国际专利公布No.Wo1998/44001、国际专利公布No.WO1988/01649;国际专利公布No.WO1994/13804;国际专利公布No.WO1992/01047中所描述的。

[0034] “单克隆抗体”是指在每条重链和每条轻链中具有单一氨基酸组成的抗体群,除了可能的熟知改变,诸如从抗体重链中除去C末端赖氨酸之外。单克隆抗体通常结合一个抗原表位,但多特异性单克隆抗体结合两个或更多个不同的抗原或表位。双特异性单克隆抗体结合两个不同的抗原表位。单克隆抗体可在抗体群内具有异质糖基化。单克隆抗体可以是单特异性的或多特异性的,或者是单价的、二价的或多价的。多特异性抗体,例如双特异性抗体或三特异性抗体包括在术语单克隆抗体之中。

[0035] “分离抗体”是指基本上不含具有不同抗原特异性的其它抗体的抗体或其抗原结合片段(例如,特异性结合人CD38的分离抗体基本上不含特异性结合人CD38之外的抗原的抗体)。就双特异性抗体而言,双特异性抗体特异性结合两种感兴趣的抗原,并且基本上不含特异性结合除两种感兴趣抗原以外的抗原的抗体。“分离抗体”涵盖分离至更高纯度的抗体,诸如80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%纯度的抗体。

[0036] “人源化抗体”是指其中抗原结合位点来源于非人物种且可变区框架来源于人免疫球蛋白序列的抗体。人源化抗体可包含在框架区中特意引入的突变,使得该框架可能不是表达的人免疫球蛋白序列或种系基因序列的精确拷贝。

[0037] “人抗体”是指具有重链可变区和轻链可变区的抗体,其中框架和抗原结合位点均来源于人起源的序列。如果抗体包含恒定区或恒定区的一部分,则该恒定区也来源于人起源的序列。

[0038] 如果抗体的可变区由使用人种系免疫球蛋白或重排免疫球蛋白基因的系统获得,则人抗体包含来源于人起源序列的重链可变区或轻链可变区。此类示例性系统为在噬菌体上展示的人免疫球蛋白基因文库,以及转基因非人动物,诸如携带如本文所述的人免疫球蛋白基因座的小鼠或大鼠。在与人种系免疫球蛋白序列或重排免疫球蛋白序列进行比较时,人抗体通常包含由于例如天然存在的体细胞突变、特意引入框架或抗原结合位点中的

置换以及非人动物中克隆和VDJ重组期间引入的氨基酸变化所引起的氨基酸差异。通常,人抗体的氨基酸序列与由人种系或重排免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性。在一些情况下,人抗体可包含由人框架序列分析得到的共有框架序列(例如Knappik等人,J Mol Biol 296:57-86,2000中所述);或结合到展示在噬菌体上的人免疫球蛋白基因文库中的合成HCDR3(例如Shi等人,J Mol Biol 397:385-96,2010和国际专利公布No.WO2009/085462中所述)。

[0039] “人抗体”的定义中不包括抗原结合位点来源于非人物种的抗体。

[0040] “重组体”包括以重组手段制备、表达、创建或分离的抗体及其它蛋白质。

[0041] “表位”是指抗原的与抗体特异性结合的部分。表位通常由部分诸如氨基酸或多糖侧链的化学活性(诸如,极性、非极性或疏水性)表面基团组成,并且可具有特定三维结构特征以及特定电荷特征。表位可由形成构象空间单元的连续和/或不连续氨基酸构成。对于不连续表位,来自抗原的线性序列的不同部分的氨基酸因蛋白质分子的折叠而在三维空间上靠近。

[0042] “多特异性”是指特异性结合至少两个不同抗原或抗原内的两个不同表位(例如三个、四个或五个不同的抗原或表位)的抗体。

[0043] “双特异性”是指特异性结合两个不同抗原或同一抗原内的两个不同表位的抗体。双特异性抗体可对其它相关抗原具有交叉反应性,或者可结合在两个或更多个不同抗原之间所共享的表位。

[0044] “变体”是指因一处或多处修饰(例如,置换、插入或缺失)而不同于参考多肽或参考多核苷酸的多肽或多核苷酸。

[0045] “与……组合”意指将两种或更多种治疗剂以混合物一起、作为单一药剂同时或作为单一药剂以任何顺序依次施用给受治疗者。

[0046] “药物组合物”是指抗CD38抗体与透明质酸酶混合所得的产物,并且包括固定的和非固定组合两者。药物组合物通常包含药学上可接受的载体。“固定组合”是指以单一实体或剂量形式同时施用的包含抗CD38抗体和透明质酸酶的单一药物组合物。“非固定组合”是指在非特定间隔时间限制下同时、并行或顺序地作为独立实体施用的抗CD38抗体和透明质酸酶的独立药物组合物或单位剂型,其中此类施用在受试者体内提供有效水平的两种化合物。

[0047] “药学上可接受的载体”是指药物组合物中除活性成分之外的成分,其对受试者无毒。药学上可接受的载体包括但不限于缓冲液、赋形剂、稳定剂、或防腐剂。

[0048] “治疗”或“诊疗”是指治疗剂治疗,其中治疗对象将减慢(减轻)非期望的生理改变或疾病诸如肿瘤或肿瘤细胞的发展或扩散,或者用于在治疗期间提供有益或期望的临床结果。有益或期望的临床结果包括症状减轻、疾病程度减弱、疾病状态稳定(即未恶化)、疾病进展延迟或减慢、未转移、疾病状态改善或缓和,以及缓解(不论是部分缓解还是完全缓解),不论是可检测的还是不可检测的。“治疗”也可意指与受试者未接受治疗时的预期生存期相比延长生存期。需要治疗的那些受试者包括已经患有非期望的生理改变或疾病的那些受试者、以及倾向于患有生理改变或疾病的那些受试者。

[0049] “治疗有效量”指在所需剂量和时间段有效实现所需治疗结果的量。治疗有效量可

根据以下因素变化:诸如个体的疾病状态、年龄、性别和重量,以及治疗剂或治疗剂组合在个体中引发期望的应答的能力。有效治疗剂或治疗剂组合的示例性指标包括,例如:患者健康状况的改善、肿瘤负荷的减少、肿瘤生长的遏止或减慢和/或癌细胞没有向身体其它部位转移的情况。

[0050] “抑制生长”(例如,涉及肿瘤细胞)是指与在不存在治疗药物或治疗药物的组合的情况下相同肿瘤细胞或肿瘤组织的生长相比,在与治疗药物或治疗药物的组合接触时体外或体内肿瘤细胞生长或肿瘤组织的可测量下降。体外或体内肿瘤细胞或肿瘤组织生长的抑制可为至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、99%或100%。

[0051] “CD38阳性恶性血液肿瘤”是指以存在表达CD38的肿瘤细胞为特征的恶性血液病,包括白血病、淋巴瘤和骨髓瘤。此类CD38阳性恶性血液肿瘤的示例包括前体B细胞淋巴母细胞白血病/淋巴瘤和B细胞非霍奇金淋巴瘤、急性早幼粒细胞白血病、急性淋巴母细胞白血病和成熟B细胞肿瘤,诸如B细胞慢性淋巴细胞白血病(CLL)/小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL)、B细胞急性淋巴细胞白血病、B细胞幼淋巴细胞白血病、淋巴浆细胞性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤(MCL)、滤泡性淋巴瘤(FL)(包括低度恶性、中度恶性和高度恶性FL)、皮肤滤泡中心淋巴瘤、边缘区B细胞淋巴瘤(MALT型、淋巴结型和脾型)、毛细胞白血病、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、伯基特淋巴瘤(BL)、浆细胞瘤、多发性骨髓瘤、浆细胞白血病、移植后淋巴增生性障碍、轻链淀粉样变性、华氏巨球蛋白血症、浆细胞白血病和间变性大细胞淋巴瘤(ALCL)。

[0052] “约”是指处于如本领域的普通技术人员所确定的特定值的可接受误差范围之内,其将部分取决于所述值是如何测量或测定的,即所述测量系统的限制。在特定测定、结果或实施方案的上下文中,除非实施例或说明书其它地方内另有明确说明,否则“约”意指在根据本领域惯例的一个标准偏差之内、或多至5%的范围(无论哪个更大)。

[0053] 药物组合物

[0054] 本发明提供一种包含抗CD38抗体和透明质酸酶的药物组合物。

[0055] 透明质酸酶是一种降解透明质酸(EC 3.2.1.35)并降低细胞外基质中透明质酸(hyaluronan)的粘度从而增加组织渗透性的酶。透明质酸酶(包括rHuPH20)的酶活性可由单位/mL(U/mL)或由特定制剂中的总酶活性(U)来定义,如下文进一步所解释。

[0056] rHuPH20是一种重组透明质酸酶(HYLENEX® 重组体),在国际专利公布No.WO2004/078140中有所描述。

[0057] 一个单位的酶活性(U)的标准定义是每单位时间催化限定量的底物反应的酶量,例如一摩尔或一纳摩尔底物/分钟。用于测定透明质酸酶制剂活性的技术在本领域中是已知的,并且透明质酸酶制剂的活性通常以USP单位或单位(下文为“单位”)表示。用于测定活性的示例性方法可见于美国专利7,767,429。

[0058] 透明质酸酶活性是指酶催化透明质酸裂解的能力。美国药典(USP)XXII提供透明质酸酶的测定法,其中透明质酸酶活性通过如下方式间接确定:在使得酶与HA在37℃下反应30分钟后,测量剩余的较高分子量透明质酸、或透明质素(HA)底物的量(USP XXII-NF XVII(1990)644-645United States Pharmacopeia Convention,Inc,Rockville,Md.)。可在测定中使用参考标准溶液以确定任何透明质酸酶的相对活性(以单位计)。用于测定透明质酸酶(诸如可溶性rHuPH20)的透明质酸酶活性的体外测定在本领域中是已知的,并且在本文有所描述。示例性测定法包括下文所述的微浊度测定法(参见例如实施例3),其通过检

测未裂解的透明质酸与血清白蛋白结合时所形成的不溶性沉淀来间接测量透明质酸酶对透明质酸的裂解。参考标准可用于例如生成标准曲线,从而确定以单位计的受测试透明质酸酶的活性。

[0059] 药物组合物可用于向有抗CD38抗体治疗需要的受试者如患有癌症(例如CD38阳性恶性血液肿瘤)的受试者皮下施用抗CD38抗体。不希望受任何特定理论的束缚,当相比于静脉内施用抗CD38抗体时,皮下施用抗CD38抗体可具有降低的输注相关反应并实现改善的响应率。

[0060] 在一些实施方案中,药物组合物为固定组合。

[0061] 在一些实施方案中,药物组合物为非固定组合。

[0062] 在一些实施方案中,药物组合物包含约1mg/mL至约180mg/mL的抗CD38抗体。

[0063] 在一些实施方案中,药物组合物包含约10mg/mL至约180mg/mL的抗CD38抗体。

[0064] 在一些实施方案中,药物组合物包含约20mg/mL至约160mg/mL的抗CD38抗体。

[0065] 在一些实施方案中,药物组合物包含约20mg/mL至约140mg/mL的抗CD38抗体。

[0066] 在一些实施方案中,药物组合物包含约20mg/mL至约120mg/mL的抗CD38抗体。

[0067] 在一些实施方案中,药物组合物包含约40mg/mL至约120mg/mL的抗CD38抗体。

[0068] 在一些实施方案中,药物组合物包含约60mg/mL至约120mg/mL的抗CD38抗体。

[0069] 在一些实施方案中,药物组合物包含约80mg/mL至约120mg/mL的抗CD38抗体。

[0070] 在一些实施方案中,药物组合物包含约100mg/mL至约120mg/mL的抗CD38抗体。

[0071] 在一些实施方案中,药物组合物包含约1mg/mL、约5mg/mL、约10mg/mL、约15mg/mL、约20mg/mL、约30mg/mL、约40mg/mL、约50mg/mL、约60mg/mL、约70mg/mL、约80mg/mL、约90mg/mL、约100mg/mL、约110mg/mL、约120mg/mL、约130mg/mL、约140mg/mL、约150mg/mL、约160mg/mL、约170mg/mL或约180mg/mL的抗CD38抗体。

[0072] 在一些实施方案中,药物组合物包含约20mg/mL的抗CD38抗体。

[0073] 在一些实施方案中,药物组合物包含约100mg/mL的抗CD38抗体。

[0074] 在一些实施方案中,药物组合物包含约120mg/mL的抗CD38抗体。

[0075] 在一些实施方案中,药物组合物包含约50U/mL至约5000U/mL的透明质酸酶。

[0076] 在一些实施方案中,药物组合物包含约500U/mL至约5000U/mL的透明质酸酶。

[0077] 在一些实施方案中,药物组合物包含约1000U/mL至约5000U/mL的透明质酸酶。

[0078] 在一些实施方案中,药物组合物包含约2000U/mL至约5000U/mL的透明质酸酶。

[0079] 在一些实施方案中,药物组合物包含约50U/mL至约2000U/mL的透明质酸酶。

[0080] 在一些实施方案中,药物组合物包含约500U/mL至约2000U/mL的透明质酸酶。

[0081] 在一些实施方案中,药物组合物包含约1000U/mL至约2000U/mL的透明质酸酶。

[0082] 在一些实施方案中,药物组合物包含约500U/mL、约600U/mL、约700U/mL、约800U/mL、约900U/mL、约1000U/mL、约1100U/mL、约1200U/mL、约1300U/mL、约1400U/mL、约1500U/mL、约1600U/mL、约1700U/mL、约1800U/mL、约1900U/mL、约2000U/mL、约2100U/mL、约2200U/mL、约2300U/mL、约2400U/mL、约2500U/mL、约2600U/mL、约2700U/mL、约2800U/mL、约2900U/mL、约3000U/mL、约3100U/mL、约3200U/mL、约3300U/mL、约3400U/mL、约3500U/mL、约3600U/mL、约3700U/mL、约3800U/mL、约3900U/mL、约4000U/mL、约4100U/mL、约4200U/mL、约4300U/mL、约4400U/mL、约4500U/mL、约4600U/mL、约4700U/mL、约4800U/mL、约4900U/mL或约

5000U/mL的透明质酸酶。

[0083] 在一些实施方案中,药物组合物包含约500U/mL的透明质酸酶。

[0084] 在一些实施方案中,药物组合物包含约2000U/mL的透明质酸酶。

[0085] 在一些实施方案中,药物组合物包含约5000U/mL的透明质酸酶。

[0086] 在一些实施方案中,药物组合物包含约1200mg至约5000mg的抗CD38抗体。

[0087] 在一些实施方案中,药物组合物包含约1200mg至约2400mg的抗CD38抗体。

[0088] 在一些实施方案中,药物组合物包含约1200mg至约1800mg的抗CD38抗体。

[0089] 在一些实施方案中,药物组合物包含约1200mg的抗CD38抗体。

[0090] 在一些实施方案中,药物组合物包含约1400mg的抗CD38抗体。

[0091] 在一些实施方案中,药物组合物包含约1600mg的抗CD38抗体。

[0092] 在一些实施方案中,药物组合物包含约1800mg的抗CD38抗体。

[0093] 在一些实施方案中,药物组合物包含约2000mg的抗CD38抗体。

[0094] 在一些实施方案中,药物组合物包含约2200mg的抗CD38抗体。

[0095] 在一些实施方案中,药物组合物包含约2400mg的抗CD38抗体。

[0096] 在一些实施方案中,药物组合物包含约2600mg的抗CD38抗体。

[0097] 在一些实施方案中,药物组合物包含约2800mg的抗CD38抗体。

[0098] 在一些实施方案中,药物组合物包含约3000mg的抗CD38抗体。

[0099] 在一些实施方案中,药物组合物包含约3500mg的抗CD38抗体。

[0100] 在一些实施方案中,药物组合物包含约4000mg的抗CD38抗体。

[0101] 在一些实施方案中,药物组合物包含约4500mg的抗CD38抗体。

[0102] 在一些实施方案中,药物组合物包含约5000mg的抗CD38抗体。

[0103] 在一些实施方案中,药物组合物包含约750U至约75000U的透明质酸酶。

[0104] 在一些实施方案中,药物组合物包含约7500U至约45000U的透明质酸酶。

[0105] 在一些实施方案中,药物组合物包含约30000U至约45000U的透明质酸酶。

[0106] 在一些实施方案中,药物组合物包含约7500U、约8000U、约8500U、约9000U、约10000U、约15000U、约20000U、约21000U、约22000U、约23000U、约24000U、约25000U、约26000U、约27000U、约28000U、约29000U、约30000U、约31000U、约32000U、约33000U、约34000U、约35000U、约36000U、约37000U、约38000U、约39000U、约40000U、约41000U、约42000U、约43000U、约44000U、约45000U、约46000U、约47000U、约48000U、约49000U、约50000U、约55000U、约60000U、约65000U、约70000U或约75000U的透明质酸酶。

[0107] 在一些实施方案中,药物组合物包含约5000mg的抗CD38抗体和约30000U的透明质酸酶。

[0108] 在一些实施方案中,药物组合物包含约5000mg的抗CD38抗体和约45000U的透明质酸酶。

[0109] 在一些实施方案中,药物组合物包含约3000mg的抗CD38抗体和约30000U的透明质酸酶。

[0110] 在一些实施方案中,药物组合物包含约3000mg的抗CD38抗体和约45000U的透明质酸酶。

[0111] 在一些实施方案中,药物组合物包含约2800mg的抗CD38抗体和约30000U的透明质

酸酶。

[0112] 在一些实施方案中,药物组合物包含约2800mg的抗CD38抗体和约45000U的透明质酸酶。

[0113] 在一些实施方案中,药物组合物包含约2600mg的抗CD38抗体和约30000U的透明质酸酶。

[0114] 在一些实施方案中,药物组合物包含约2600mg的抗CD38抗体和约45000U的透明质酸酶。

[0115] 在一些实施方案中,药物组合物包含约2400mg的抗CD38抗体和约30000U的透明质酸酶。

[0116] 在一些实施方案中,药物组合物包含约2400mg的抗CD38抗体和约45000U的透明质酸酶。

[0117] 在一些实施方案中,药物组合物包含约2200mg的抗CD38抗体和约30000U的透明质酸酶。

[0118] 在一些实施方案中,药物组合物包含约2200mg的抗CD38抗体和约45000U的透明质酸酶。

[0119] 在一些实施方案中,药物组合物包含约2000mg的抗CD38抗体和约30000U的透明质酸酶。

[0120] 在一些实施方案中,药物组合物包含约2000mg的抗CD38抗体和约45000U的透明质酸酶。

[0121] 在一些实施方案中,药物组合物包含约1800mg的抗CD38抗体和约30000U的透明质酸酶。

[0122] 在一些实施方案中,药物组合物包含约1800mg的抗CD38抗体和约45000U的透明质酸酶。

[0123] 在一些实施方案中,药物组合物包含约1600mg的抗CD38抗体和约30000U的透明质酸酶。

[0124] 在一些实施方案中,药物组合物包含约1600mg的抗CD38抗体和约45000U的透明质酸酶。

[0125] 在一些实施方案中,透明质酸酶为具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的rHuPH20。

[0126] 在一些实施方案中,药物组合物中的抗CD38抗体与包含SEQ ID NO:4的重链可变区(VH)和SEQ ID NO:5的轻链可变区(VL)的抗体竞争结合CD38。

[0127] 在一些实施方案中,药物组合物中的抗CD38抗体至少结合于人CD38(SEQ ID NO:1)的区域SKRNIQFSCKNIYR(SEQ ID NO:2)和区域EKVQTLEAWVIHGG(SEQ ID NO:3)。

[0128] 在一些实施方案中,药物组合物中的抗CD38抗体包含SEQ ID NO分别为6、7和8、9、10以及11的重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2、HCDR3、轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3。

[0129] 在一些实施方案中,药物组合物中的抗CD38抗体包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列有95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的重链可变区(VH),以及与SEQ ID NO:5的氨基酸序列有95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的轻链可变区(VL)。

[0130] 在一些实施方案中,药物组合物中的抗CD38抗体包含SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID

NO:5的VL。

[0131] 在一些实施方案中,药物组合物中的抗CD38抗体包含SEQ ID NO:12的重链和SEQ ID NO:13的轻链。

[0132] SEQ ID NO:2

[0133] SKRNIQFSCKNIYR

[0134] SEQ ID NO:3

[0135] EKVQTLEAWVIHGG

[0136] SEQ ID NO:4

[0137] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGGTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDKILWFGEPVFDYWGQGTLVTVSS

[0138] SEQ ID NO:5

[0139] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK

[0140] SEQ ID NO:6

[0141] SFAMS

[0142] SEQ ID NO:7

[0143] AISGSGGGTYYADSVKG

[0144] SEQ ID NO:8

[0145] DKILWFGEPVFDY

[0146] SEQ ID NO:9

[0147] RASQSVSSYLA

[0148] SEQ ID NO:10

[0149] DASNRAT

[0150] SEQ ID NO:11

[0151] QQRSNWPPTF

[0152] SEQ ID NO:12

[0153] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGGTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDKILWFGEPVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0154] SEQ ID NO:13

[0155] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0156] 可用于本发明的药物组合物和方法的其它示例性抗CD38抗体为:

[0157] 包含SEQ ID NO分别为14和15的VH和VL序列的mAb003,并且在美国专利7,829,693中有所描述。mAb003的VH和VL可以表达为IgG1/κ;

[0158] 包含SEQ ID NO分别为16和17的VH和VL序列的mAb024,并且在美国专利7,829,693中有所描述。mAb024的VH和VL可以表达为IgG1/κ;

[0159] 包含SEQ ID NO分别为18和19的VH和VL序列的MOR-202(MOR-03087),并且在美国专利No.8,088,896中有所描述。MOR-202的VH和VL可以表达为IgG1/κ;或者

[0160] Isatuximab;包含SEQ ID NO分别为20和21的VH和VL序列,在美国专利8,153,765中有所描述。Isatuximab的VH和VL可表达为IgG1/κ。

[0161] SEQ ID NO:14

[0162] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAFSWVRQAPGQGLEWMGRVIPFLGIANSAQKFQGRVTITADKSTSTAYMDLSSLRSEDTAVYYCARDDIAALGPFDYWGQGTLVTVSSAS

[0163] SEQ ID NO:15

[0164] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPRTFGQGTKVEIK

[0165] SEQ ID NO:16

[0166] EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPHDSDARYSPSFQGQVTFSADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHVGWGSRYWYFDLWGRGTLVTVSS

[0167] SEQ ID NO:17

[0168] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPGLLIYDASNRASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIK

[0169] SEQ ID NO:18

[0170] QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMNWVRQAPGKGLEWVSGISGDPSNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLPLVYTGFAYWGQGTLVTVSS

[0171] SEQ ID NO:19

[0172] DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRHYYVYWYQQKPGQAPVLVIYGDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQTYTGGASLVFGGGTKLTVLGQ

[0173] SEQ ID NO 20:

[0174] QVQLVQSGAEVAKPGTSVKLSCKASGYTFTDYWMQWVKQRPGQGLEWIGTIYPGDGDTGYAQKFQGKATLTADKSSKTVYMHLSSLASEDSAVYYCARGDYYGSNSLDYWGQGTSVTVSS

[0175] SEQ ID NO:21:

[0176] DIVMTQSHLSMSTSLGDPVSITCKASQDVSTVVAWYQQKPGQSPRRLIYSASYRYIGVPDRFTGSGAGTDFTFTISSVQAEDLAVYYCQQHYSPPYTFGGGTKLEIK

[0177] 可用于本发明的药物组合物的其它示例性抗CD38抗体是描述于国际专利公布No.WO05/103083、国际专利公布No.WO06/125640、国际专利公布No.WO07/042309、国际专利公布No.WO08/047242或国际专利公布No.WO14/178820中的那些。

[0178] 可用于本发明的药物组合物的示例性抗-CD38抗体为达雷木单抗(Daratumumab)。达雷木单抗包含分别以SEQ ID NO:4和5示出的重链可变区(VH)和轻链可变区(VL)氨基酸序列,SEQ ID NO分别为6、7和8的HCDR1、HCDR2和HCDR3,SEQ ID NO分别为9、10和11的LCDR1、LCDR2和LCDR3,并且是IgG1/κ亚型,在美国专利No.7,829,693中有所描述。达雷木单抗重链氨基酸序列以SEQ ID NO:12示出,并且轻链氨基酸序列以SEQ ID NO:13示出。

[0179] 本发明还提供了一种包含含有SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗

体以及SEQ ID NO:22的透明质酸酶rHuPH20的药物组合物,其中药物组合物中抗CD38抗体的浓度为约20mg/mL。

[0180] 本发明还提供了一种包含抗CD38抗体以及SEQ ID NO:22的透明质酸酶rHuPH20的药物组合物,所述抗CD38抗体包含SEQ ID NO分别为6、7和8的HCDR1、HCDR2和HCDR3以及SEQ ID NO分别为9、10和11的LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中药物组合物中抗CD38抗体的浓度为约20mg/mL。

[0181] 本发明还提供了一种包含介于约1200mg至1800mg之间的含有SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体,以及介于约30000U至45000U之间的SEQ ID NO:22的透明质酸酶rHuPH20的药物组合物,其中药物组合物中抗CD38抗体的浓度为约20mg/mL。

[0182] 本发明还提供了一种包含约1800mg的含有SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体,以及约30000U的SEQ ID NO:22的透明质酸酶rHuPH20的药物组合物,其中药物组合物中抗CD38抗体的浓度为约20mg/mL。

[0183] 本发明还提供了一种包含约1800mg的含有SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体,以及约45000U的SEQ ID NO:22的透明质酸酶rHuPH20的药物组合物,其中药物组合物中抗CD38抗体的浓度为约20mg/mL。

[0184] 本发明还提供了一种包含约1600mg的含有SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体,以及约30000U的SEQ ID NO:22的透明质酸酶rHuPH20的药物组合物,其中药物组合物中抗CD38抗体的浓度为约20mg/mL。

[0185] 本发明还提供了一种包含约1600mg的含有SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体,以及约45000U的SEQ ID NO:22的透明质酸酶rHuPH20的药物组合物,其中药物组合物中抗CD38抗体的浓度为约20mg/mL。

[0186] 本发明还提供了一种包含约1200mg的含有SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体,以及约30000U的SEQ ID NO:22的透明质酸酶rHuPH20的药物组合物,其中药物组合物中抗CD38抗体的浓度为约20mg/mL。

[0187] 本发明还提供了一种包含约1200mg的含有SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体,以及约45000U的SEQ ID NO:22的透明质酸酶rHuPH20的药物组合物,其中药物组合物中抗CD38抗体的浓度为约20mg/mL。

[0188] SEQ ID NO:22

[0189] MGVLKFKHIFFRSFVKSSGVSQIVFTFLLIPCCLTLNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTIFYVDRLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHLDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQLSLTEATEKAKQEFEKAGKDFLVETIKLGKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTLSIMRSMKSCLLLDNYMETILNPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKDTDAVDVCIADGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLSATMFIVSILFLIISSVASL

[0190] 可用于本发明的药物组合物中的抗CD38抗体也可从头选自例如噬菌体展示文库,其中噬菌体被工程化以表达人免疫球蛋白或其部分,诸如Fab、单链抗体(scFv)或者未配对或配对抗体可变区(Knappik等人,JMol Biol 296:57-86,2000;Krebs等人,J Immunol Meth 254:67-84,2001;Vaughan等人,Nature Biotechnology 14:309-314,1996;Sheets等

人,PITAS(USA)95:6157-6162,1998;Hoogenboom和Winter,J Mol Biol 227:381,1991;Marks等人,J Mol Biol 222:581,1991)。CD38结合可变结构域可分离自例如噬菌体展示文库,其将抗体重链可变区和轻链可变区表达为具有噬菌体pIX外壳蛋白的融合蛋白,如Shi等人,J.Mol.Biol.397:385-96,2010和国际专利公布WO09/085462中所述。可筛选抗体文库中结合至人CD38细胞外结构域的那些,进一步表征所得的阳性克隆,从克隆溶解物分离Fab,并且随后克隆为全长抗体。此类用于分离人抗体的噬菌体展示方法在本领域是已建立的。参见例如:美国专利5,223,409、美国专利5,403,484、美国专利5,571,698、美国专利5,427,908、美国专利5,580,717、美国专利5,969,108、美国专利6,172,197、美国专利5,885,793、美国专利6,521,404、美国专利6,544,731、美国专利6,555,313、美国专利6,582,915和美国专利6,593,081。

[0191] 可使用已知的体外方法来评估抗体与参考抗体(诸如,包含SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体)竞争结合至CD38的情况。在示例性方法中,可将重组表达CD38的CHO细胞与未标记的参考抗体一起在4℃下温育15分钟,然后与过量的荧光标记的测试抗体一起在4℃下温育45分钟。在PBS/BSA中洗涤后,可使用标准方法通过流式细胞术测量荧光。在另一示例性方法中,可将人CD38的胞外部分包被在ELISA板的表面上。可在约15分钟内加入过量的未标记的参考抗体,随后可加入生物素酰化测试抗体。在PBS/吐温中洗涤后,可使用辣根过氧化物酶(HRP)缀合的链霉亲和素检测生物素酰化测试抗体的结合,并使用标准方法检测信号。显而易见的是,在竞争测定法中,参考抗体可带有标记,而测试抗体不带标记。当参考抗体抑制测试抗体的结合时,测试抗体与参考抗体竞争,或测试抗体将参考抗体的结合抑制至少80%,例如81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%。可使用已知方法,通过例如肽作图或氢/氘保护测定法,或通过晶体结构测定,来进一步限定测试抗体的表位。

[0192] 结合到人CD38(SEQ ID NO:1)的区域SKRNIQFSCKNIYR(SEQ ID NO:2)和区域EKVQTLEAWVIHGG(SEQ ID NO:3)的抗体可例如通过如下过程产生:使用标准方法和本文所述的那些方法,用具有SEQ ID NO:2和3所示的氨基酸序列的肽来免疫小鼠,并且使用例如ELISA或诱变研究来表征所获得的抗体与肽的结合。

[0193] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:含有以下序列的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的抗CD38抗体:

[0194] a.为SEQ ID NO:14的VH和为SEQ ID NO:15的VL;

[0195] b.为SEQ ID NO:16的VH和为SEQ ID NO:17的VL;

[0196] c.为SEQ ID NO:18的VH和为SEQ ID NO:19的VL;或者

[0197] d.为SEQ ID NO:20的VH和为SEQ ID NO:21的VL;以及SEQ ID NO:22的透明质酸酶rHuPH20。

[0198] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:含有以下项的抗CD38抗体:

[0199] a.为SEQ ID NO:14的VH和为SEQ ID NO:15的VL;

[0200] b.为SEQ ID NO:16的VH和为SEQ ID NO:17的VL;

[0201] c.为SEQ ID NO:18的VH和为SEQ ID NO:19的VL;或者

[0202] d.为SEQ ID NO:20的VH和为SEQ ID NO:21的VL;以及SEQ ID NO:22的透明质酸酶rHuPH20。

[0203] 本发明的药物组合物还包含药学上可接受的载体。示例性药学上可接受的载体是生理上相容的溶剂、分散介质、包衣剂、抗细菌剂和抗真菌剂,等渗和吸收延迟剂等,例如盐、缓冲液、抗氧化剂、糖类、水性或非水性载体、防腐剂、润湿剂、表面活性剂或乳化剂、或它们的组合。

[0204] 可使用的示例性缓冲液为乙酸、柠檬酸、甲酸、琥珀酸、磷酸、碳酸、苹果酸、天冬氨酸、组氨酸、硼酸、Tris缓冲液、HEPPSO和HEPES。

[0205] 可使用的示例性抗氧化剂为抗坏血酸、甲硫氨酸、半胱氨酸盐酸盐、硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸钠、卵磷脂、柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨糖醇和酒石酸。

[0206] 可使用的示例性氨基酸为组氨酸、异亮氨酸、甲硫氨酸、甘氨酸、精氨酸、赖氨酸、L-亮氨酸、三亮氨酸、丙氨酸、谷氨酸、L-苏氨酸和2-苯丙氨酸。

[0207] 可使用的示例性表面活性剂为聚山梨酸酯(例如,聚山梨酸酯-20或聚山梨酸酯-80);泊洛沙姆(polyoxamers)(例如泊洛沙姆188);Triton;辛基糖苷钠;月桂基-、十四烷基-、亚油基-、或硬脂基-磺基甜菜碱;月桂基-、十四烷基-、亚油基-或硬脂基-肌氨酸;亚油基-、十四烷基-、或鲸蜡基-甜菜碱;月桂酰氨基丙基-、椰油酰氨基丙基-、亚油酰氨基丙基-、肉豆蔻酰氨基丙基-、棕榈酰氨基丙基(palmidopropyl)-、或异硬脂酰氨基丙基-甜菜碱(例如月桂酰氨基丙基);肉豆蔻酰氨基丙基-、棕榈酰氨基丙基-、或异硬脂酰氨基丙基-二甲胺;甲基椰油基牛磺酸钠、或甲基油烯基牛磺酸二钠;以及MONAQUA^{TM}系列(Mona Industries,Inc.,Paterson,N.J.)、聚乙二醇、聚丙二醇、以及乙二醇和丙二醇的共聚物(例如PLURONICS^{TM}、PF68等)。

[0208] 可使用的示例性防腐剂为苯酚、间甲酚、对甲酚、邻甲酚、氯甲酚、苄醇、硝酸苯基汞、苯氧基乙醇、甲醛、氯代丁醇、氯化镁、对羟基苯甲酸烷基酯(甲基酯、乙基酯、丙基酯、丁基酯等)、烷基苄基二甲基氯化铵、氯化苄乙氧铵、脱氢乙酸钠和硫柳汞或其混合物。

[0209] 可使用的示例性糖类为单糖、二糖、三糖、多糖、糖醇、还原糖、非还原糖如葡萄糖、蔗糖、海藻糖、乳糖、果糖、麦芽糖、葡聚糖、甘油、葡聚糖、赤藓糖醇、丙三醇、阿拉伯糖醇、sylitol、山梨糖醇、甘露醇、蜜二糖、松三糖、棉子糖、甘露三糖、水苏糖、麦芽糖、乳果糖、麦芽酮糖、葡萄糖醇、麦芽糖醇、乳糖醇异麦芽酮糖。

[0210] 可使用的示例性盐为酸加成盐和碱加成盐。酸加成盐包括衍生自无毒无机酸的那些,诸如盐酸、硝酸、磷酸、硫酸、氢溴酸、氢碘酸、亚磷酸等,以及衍生自无毒有机酸的那些,诸如脂族单羧酸和二羧酸、苯基取代的链烷酸、羟基链烷酸、芳香酸、脂族和芳族磺酸等。碱加成盐包括衍生自碱土金属的那些,诸如钠、钾、镁、钙等,以及衍生自无毒有机胺的那些,诸如N,N'-二苄基乙二胺、N-甲葡糖胺、氯普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、普鲁卡因等。示例性盐为氯化钠。

[0211] 药物组合物中的药学上可接受的载体的量可基于载体活性和所需制剂特征(例如稳定性和/或最低氧化)来通过实验确定。

[0212] 在一些实施方案中,药物组合物包含乙酸。

[0213] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约1mM至约50mM的乙酸。

[0214] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约10mM至约40mM的乙酸。

[0215] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约10mM、约15mM、约20mM、约25mM、约30mM、约35mM、约40mM、约45mM或约50mM的乙酸。

[0216] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约25mM的乙酸。

[0217] 在一些实施方案中,药物组合物包含氯化钠(NaCl)。

[0218] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约20mM至约100mM的NaCl。

[0219] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约40mM至约80mM的NaCl。

[0220] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约20mM、约25mM、约30mM、约35mM、约40mM、约45mM、约50mM、约55mM、约60mM、约65mM、约70mM、约75mM、约80mM、约85mM、约90mM、约95mM或约100mM的NaCl。

[0221] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约60mM的NaCl。

[0222] 在一些实施方案中,药物组合物包含糖类。

[0223] 在一些实施方案中,糖类为蔗糖。

[0224] 在一些实施方案中,糖类为山梨糖醇。

[0225] 在一些实施方案中,糖类为甘露糖醇。

[0226] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约50mM至约500mM的糖类。

[0227] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约50mM至约450mM的糖类。

[0228] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约50mM至约400mM的糖类。

[0229] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约50mM至约350mM的糖类。

[0230] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约100mM至约350mM的糖类。

[0231] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约100mM至约300mM的糖类。

[0232] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约100mM、约110mM、约120mM、约130mM、约140mM、约150mM、约160mM、约170mM、约180mM、约190mM、约200mM、约210mM、约220mM、约230mM、约240mM、约250mM、约260mM、约270mM、约280mM、约290mM、约300mM、约310mM、约320mM、约330mM、约340mM、约350mM、约360mM、约370mM、约380mM、约390mM、约400mM、约410mM、约420mM、约430mM、约440mM、约450mM、约460mM、约470mM、约480mM、约490mM或约500mM的糖类。

[0233] 在一些实施方案中,药物组合物包含甘露糖醇。

[0234] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约100mM至约180mM的甘露糖醇。

[0235] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约120mM至约160mM的甘露糖醇。

[0236] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约100mM、约105mM、约110mM、约115mM、约120mM、约125mM、约130mM、约135mM、约140mM、约145mM、约150mM、约155mM、约160mM、约165mM、约170mM、约175mM或约180mM的甘露糖醇。

[0237] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约140mM的甘露糖醇。

[0238] 在一些实施方案中,药物组合物包含聚山梨醇酯。

[0239] 在一些实施方案中,药物组合物包含聚山梨醇酯-20(PS-20)。

[0240] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约0.01%w/v至约0.1%w/v的聚山梨醇酯-20(PS-20)。

[0241] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约0.01%w/v至约0.08%w/v的聚山梨醇酯-20(PS-20)。

[0242] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约0.01%w/v至约0.04%w/v的聚山梨醇酯-20(PS-20)。

[0243] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约0.01%w/v、0.02%w/v、0.03%w/v、0.04%w/v、0.05%w/v、0.06%w/v、0.07%w/v、0.08%w/v、0.09%w/v或0.1%w/v的聚山梨醇酯-20(PS-20)。

[0244] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0245] 约20mg/mL至约120mg/mL的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQID NO:5的VL的抗CD38抗体,其溶于约25mM乙酸、约60mM氯化钠、约140mM甘露糖醇和约0.04%w/v聚山梨醇酯-20(PS-20)

[0246] 中;pH为约5.5;以及

[0247] 约30000U至约45000U的透明质酸酶,其溶于10mM L-组氨酸、130mM NaCl、10mM L-甲硫氨酸、0.02%聚山梨醇酯80中,pH为6.5。

[0249] 在一些实施方案中,透明质酸酶为rHuPH20(SEQ ID NO:22)。

[0250] 在一些实施方案中,药物组合物为非固定组合。

[0251] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0252] 约20mg/mL的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体,其溶于约25mM乙酸、约60mM氯化钠、约140mM甘露糖醇和约0.04%w/v聚山梨醇酯-20(PS-20)中;pH为约5.5;以及

[0253] 约30000U的透明质酸酶,其溶于10mM L-组氨酸、130mMNaCl、10mM L-甲硫氨酸、0.02%聚山梨醇酯80中,pH为6.5。

[0254] 在一些实施方案中,透明质酸酶为rHuPH20(SEQ ID NO:22)。

[0255] 在一些实施方案中,药物组合物为非固定组合。

[0256] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0257] 约20mg/mL的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体,其溶于约25mM乙酸、约60mM氯化钠、约140mM甘露糖醇和约0.04%w/v聚山梨醇酯-20(PS-20)中;pH为约5.5;以及

[0258] 约45000U的透明质酸酶,其溶于10mM L-组氨酸、130mMNaCl、10mM L-甲硫氨酸、0.02%聚山梨醇酯80中,pH为6.5。

[0259] 在一些实施方案中,透明质酸酶为rHuPH20(SEQ ID NO:22)。

[0260] 在一些实施方案中,药物组合物为非固定组合。

[0261] 在一些实施方案中,药物组合物包含组氨酸。

[0262] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约1mM至约50mM的组氨酸。

[0263] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约5mM至约50mM的组氨酸。

[0264] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约5mM至约30mM的组氨酸。

[0265] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约5mM至约20mM的组氨酸。

[0266] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约5mM至约15mM的组氨酸。

[0267] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约5mM至约10mM的组氨酸。

[0268] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约1mM、约2mM、约3mM、约4mM、约5mM、约6mM、约7mM、约8mM、约9mM、约10mM、约11mM、约12mM、约13mM、约14mM、约15mM、约16mM、约17mM、约18mM、约19mM、约20mM、约21mM、约22mM、约23mM、约24mM、约25mM、约26mM、约27mM、约28mM、约29mM、约30mM、约31mM、约32mM、约33mM、约34mM、约35mM、约36mM、约37mM、约38mM、约

39mM、约40mM、约41mM、约42mM、约43mM、约44mM、约45mM、约46mM、约47mM、约48mM、约49mM或约50mM的组氨酸。

[0269] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约5mM的组氨酸。

[0270] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约10mM的组氨酸。

[0271] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约15mM的组氨酸。

[0272] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约20mM的组氨酸。

[0273] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约50mM至约500mM的山梨糖醇。

[0274] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约50mM至约450mM的山梨糖醇。

[0275] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约50mM至约400mM的山梨糖醇。

[0276] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约50mM至约350mM的山梨糖醇。

[0277] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约100mM至约350mM的山梨糖醇。

[0278] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约100mM至约300mM的山梨糖醇。

[0279] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约100mM、约110mM、约120mM、约130mM、约140mM、约150mM、约160mM、约170mM、约180mM、约190mM、约200mM、约210mM、约220mM、约230mM、约240mM、约250mM、约260mM、约270mM、约280mM、约290mM、约300mM、约310mM、约320mM、约330mM、约340mM、约350mM、约360mM、约370mM、约380mM、约390mM、约400mM、约410mM、约420mM、约430mM、约440mM、约450mM、约460mM、约470mM、约480mM、约490mM或约500mM的山梨糖醇。

[0280] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约50mM的山梨糖醇。

[0281] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约100mM的山梨糖醇。

[0282] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约150mM的山梨糖醇。

[0283] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约200mM的山梨糖醇。

[0284] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约250mM的山梨糖醇。

[0285] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约300mM的山梨糖醇。

[0286] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约350mM的山梨糖醇。

[0287] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约400mM的山梨糖醇。

[0288] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约50mM至约500mM的蔗糖。

[0289] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约50mM至约450mM的蔗糖。

[0290] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约50mM至约400mM的蔗糖。

[0291] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约50mM至约350mM的蔗糖。

[0292] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约100mM至约350mM的蔗糖。

[0293] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约100mM至约200mM的蔗糖。

[0294] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约100mM、约110mM、约120mM、约130mM、约140mM、约150mM、约160mM、约170mM、约180mM、约190mM、约200mM、约210mM、约220mM、约230mM、约240mM、约250mM、约260mM、约270mM、约280mM、约290mM、约300mM、约310mM、约320mM、约330mM、约340mM、约350mM、约360mM、约370mM、约380mM、约390mM、约400mM、约410mM、约420mM、约430mM、约440mM、约450mM、约460mM、约470mM、约480mM、约490mM或约500mM的蔗糖。

[0295] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约50mM的蔗糖。

[0296] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约100mM的蔗糖。

[0297] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约150mM的蔗糖。

[0298] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约200mM的蔗糖。

[0299] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约250mM的蔗糖。

[0300] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约300mM的蔗糖。

[0301] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约350mM的蔗糖。

[0302] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约400mM的蔗糖。

[0303] 在一些实施方案中,药物组合物包含甲硫氨酸。

[0304] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约0.1mg/mL至约5mg/mL的甲硫氨酸。

[0305] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约0.1mg/mL至约2.5mg/mL的甲硫氨酸。

[0306] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约1mg/mL至约2mg/mL的甲硫氨酸。

[0307] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为约0.5mg/mL、约1mg/mL、约1.1mg/mL、约1.2mg/mL、约1.3mg/mL、约1.4mg/mL、约1.5mg/mL、约1.6mg/mL、约1/7mg/mL、约1.8mg/mL、约1.9mg/mL、约2.0mg/mL、约2.1mg/mL、约2.2mg/mL、约2/3mg/mL、约2.4mg/mL、约2.5mg/mL、约2.6mg/mL、约2.7mg/mL、约2.8mg/mL、约2.9mg/mL、约3mg/mL、约3.5mg/mL、约4mg/mL、约4.5mg/mL或约5mg/mL的甲硫氨酸。

[0308] 在一些实施方案中,药物组合物处于pH 5.0至6.0。

[0309] 在一些实施方案中,药物组合物处于pH 5.3至5.8。

[0310] 在一些实施方案中,药物组合物处于pH 5.5。

[0311] 在一些实施方案中,药物组合物处于pH 5.6。

[0312] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0313] 约1mg/mL至约180mg/mL的抗CD38抗体;

[0314] 约50U/mL至约5000U/mL的透明质酸酶

[0315] 约5mM至约50mM的组氨酸;以及

[0316] 约50mM至约400mM的山梨糖醇。

[0317] 在一些实施方案中,透明质酸酶为rHuPH20。

[0318] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0319] 约1mg/mL至约180mg/mL的抗CD38抗体;

[0320] 约50U/mL至约5000U/mL的透明质酸酶

[0321] 约5mM至约50mM的组氨酸;

[0322] 约50mM至约400mM的山梨糖醇;

[0323] 约0.01%w/v至约0.1%的PS-20;以及

[0324] 约0.1mg/mL至约2.5mg/mL的甲硫氨酸。

[0325] 在一些实施方案中,透明质酸酶为rHuPH20。

[0326] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0327] 约100mg/mL至约120mg/mL的抗CD38抗体;

[0328] 约50U/mL至约5000U/mL的透明质酸酶;

[0329] 约10mM的组氨酸;以及

[0330] 约100mM至约300mM的山梨糖醇。

[0331] 在一些实施方案中,透明质酸酶为rHuPH20。

[0332] 在一些实施方案中,所述药物组合物还包含:

[0333] 约0.01%w/v至约0.04%w/v的PS-20。

[0334] 在一些实施方案中,药物组合物还包含约1mg/mL至约2mg/mL甲硫氨酸。

[0335] 在一些实施方案中,药物组合物还包含约100mM至约200mM蔗糖。

[0336] 在一些实施方案中,抗CD38抗体包含:

[0337] SEQ ID NO分别为6、7、8、9、10和11的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3;

[0338] SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL;和/或

[0339] SEQ ID NO分别为12和13的重链和轻链。

[0340] 在一些实施方案中,抗CD38抗体包含:

[0341] SEQ ID NO分别为14和15的VH和VL;

[0342] SEQ ID NO分别为16和17的VH和VL;

[0343] SEQ ID NO分别为18和19的VH和VL;或者

[0344] SEQ ID NO分别为20和21的VH和VL;

[0345] 在一些实施方案中,透明质酸酶包括rHuPH20(SEQ ID NO:22)。本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0346] 约1mg/mL至约180mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0347] 约50U/mL至约5000U/mL的透明质酸酶

[0348] 约5mM至约50mM的组氨酸;以及

[0349] 约50mM至约400mM的山梨糖醇。

[0350] 在一些实施方案中,透明质酸酶为rHuPH20。

[0351] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0352] 约1mg/mL至约180mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0353] 约50U/mL至约5000U/mL的透明质酸酶;

[0354] 约5mM至约50mM的组氨酸;

[0355] 约50mM至约400mM的山梨糖醇;

[0356] 约0.01%w/v至约0.1%的PS-20;以及

[0357] 约0.1mg/mL至约2.5mg/mL的甲硫氨酸。

[0358] 在一些实施方案中,透明质酸酶为rHuPH20。

[0359] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0360] 约100mg/mL至约120mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0361] 约50U/mL至约5000U/mL的rHuPH20;

[0362] 约10mM的组氨酸;

[0363] 约100mM至约300mM的山梨糖醇;

[0364] 约0.01%w/v至约0.04%w/v的PS-20;以及

[0365] 约1mg/mL至约2mg/mL甲硫氨酸。

[0366] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0367] 约100mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0368] 约500U/mL的rHuPH20;

[0369] 约10mM的组氨酸;

[0370] 约300mM的山梨糖醇;

[0371] 约0.04%w/v的PS-20;以及

[0372] 约2mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

[0373] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0374] 约120mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0375] 约2000U/mL的rHuPH20;

[0376] 约10mM的组氨酸;

[0377] 约300mM的山梨糖醇;

[0378] 约0.04%w/v的PS-20;以及

[0379] 约1mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.6。

[0380] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0381] 约100mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0382] 约500U/mL的rHuPH20;

[0383] 约10mM的组氨酸;

[0384] 约300mM的山梨糖醇;以及

[0385] 约2mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

[0386] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0387] 约100mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0388] 约500U/mL的rHuPH20;

[0389] 约10mM的组氨酸;

[0390] 约300mM的山梨糖醇;

[0391] 约0.01%w/v的PS-20;以及

[0392] 约2mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

[0393] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0394] 约100mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0395] 约500U/mL的rHuPH20;

[0396] 约10mM的组氨酸;

[0397] 约300mM的山梨糖醇;

[0398] 约0.02%w/v的PS-20;以及

[0399] 约2mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

[0400] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0401] 约100mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0402] 约500U/mL的rHuPH20;

[0403] 约10mM的组氨酸;

[0404] 约300mM的山梨糖醇;

[0405] 约0.06%w/v的PS-20;以及

[0406] 约2mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

[0407] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0408] 约100mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0409] 约50U/mL的rHuPH20;

[0410] 约10mM的组氨酸;

[0411] 约300mM的山梨糖醇;

[0412] 约0.04%w/v的PS-20;以及

[0413] 约1mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

[0414] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0415] 约100mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0416] 约500U/mL的rHuPH20;

[0417] 约10mM的组氨酸;

[0418] 约300mM的山梨糖醇;

[0419] 约0.04%w/v的PS-20;以及

[0420] 约1mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

[0421] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0422] 约100mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0423] 约2000U/mL的rHuPH20;

[0424] 约10mM的组氨酸;

[0425] 约300mM的山梨糖醇;

[0426] 约0.04%w/v的PS-20;以及

[0427] 约1mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

[0428] 本发明还提供一种药物组合物,其包含:

[0429] 约100mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0430] 约5000U/mL的rHuPH20;

[0431] 约10mM的组氨酸;

[0432] 约300mM的山梨糖醇;

[0433] 约0.04%w/v的PS-20;以及

[0434] 约1mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

[0435] 在一些实施方案中,药物组合物为固定组合。

[0436] 待用于体内施用的制剂通常为无菌的。无菌性可容易地例如通过无菌滤膜过滤实现。

[0437] 本发明的药物组合物可通过已知的方法制备。例如,药物组合物可例如通过使抗CD38抗体在常规用于注射的无菌水性介质或油性介质中溶解、悬浮或乳化来制备。

[0438] 给药

[0439] 本发明的药物组合物可作为非固定组合施用。

[0440] 本发明的药物组合物也可作为固定组合施用,例如作为单位剂型(或剂量单位形式)施用。固定组合可有利地便于施用且剂量均匀。

[0441] 本发明还提供单位剂型,其包含:量为约1200mg至约5000mg的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体;以及量为约30000U至约75000U的rHuPH20。

[0442] 本发明还提供单位剂型,其包含:量为约1200mg至约4000mg的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体;以及量为约30000U至约75000U的rHuPH20。

[0443] 本发明还提供单位剂型,其包含:量为约1200mg至约2400mg的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体;以及量为约30000U至约45000U的rHuPH20。

[0444] 本发明还提供单位剂型,其包含:量为约1200mg至约1800mg的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体;以及量为约30000U至约45000U的rHuPH20。

[0445] 本发明还提供一种单位剂型,其包含:

[0446] 量为约1200mg至约5000mg的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQID NO:5的VL的抗CD38抗体;

[0447] 量为约30000U至约75000U的rHuPH20;

[0448] 浓度为约5mM至约15mM的组氨酸;

[0449] 浓度为约100mM至约300mM的山梨糖醇;

[0450] 浓度为约0.01%w/v至约0.04%w/v的PS-20;以及

[0451] 浓度为约1mg/mL至约2mg/mL的甲硫氨酸,pH为约5.5。

[0452] 本发明还提供一种单位剂型,其包含:

[0453] 量为约1200mg至约2400mg的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQID NO:5的VL的抗CD38抗体;

[0454] 量为约30000U至约45000U的rHuPH20;

[0455] 浓度为约10mM的组氨酸;

[0456] 浓度为约300mM的山梨糖醇;

[0457] 浓度为约0.04%w/v的PS-20;以及

[0458] 浓度为约1mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

[0459] 本发明还提供一种单位剂型,其包含:

[0460] 量为约1200mg至约1800mg的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQID NO:5的VL的抗CD38抗体;

[0461] 量为约30000U至约45000U的rHuPH20;

[0462] 浓度为约10mM的组氨酸;

[0463] 浓度为约300mM的山梨糖醇;

[0464] 浓度为约0.04%w/v的PS-20;以及

[0465] 浓度为约1mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

[0466] 本发明还提供一种单位剂型,其包含:

[0467] 量为约1200mg至约1800mg的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQID NO:5的VL的抗CD38抗体;

[0468] 量为约30000U至约45000U的rHuPH20;

[0469] 浓度为约5mM至约15mM的组氨酸;

[0470] 浓度为约100mM至约300mM的山梨糖醇;

[0471] 浓度为约0.01%w/v至约0.04%w/v的PS-20;以及

[0472] 浓度为约1mg/mL至约2mg/mL的甲硫氨酸,pH为约5.5。

[0473] 本发明还提供一种单位剂型,其包含:

[0474] 量为约1800mg的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体;

[0475] 量为约30000U的rHuPH20;

[0476] 浓度为约10mM的组氨酸;

[0477] 浓度为约300mM的山梨糖醇;

[0478] 浓度为约0.04%w/v的PS-20;以及

[0479] 浓度为约1mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

[0480] 本发明还提供一种单位剂型,其包含:

[0481] 量为约1800mg的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体;

[0482] 量为约45000U的rHuPH20;

[0483] 浓度为约10mM的组氨酸;

[0484] 浓度为约300mM的山梨糖醇;

[0485] 浓度为约0.04%w/v的PS-20;以及

[0486] 浓度为约1mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.5。

[0487] 本发明的药物组合物可以约80mL、90mL、100mL、110mL或120mL的总体积施用。

[0488] 本发明的药物组合物可以约10mL、11mL、12mL、13mL、14mL、15mL、16mL、17mL、18mL、19mL、20mL、25mL、30mL、35mL、40mL、45mL、50mL、55mL、60mL、65mL、70mL、75mL、80mL、85mL、90mL、95mL、100mL、105mL、110mL、115mL或120mL的总体积施用。

[0489] 本发明的药物组合物可以约10mL的总体积施用。

[0490] 本发明的药物组合物可以约15mL的总体积施用。

[0491] 本发明的药物组合物可以约20mL的总体积施用。

[0492] 当相比于非固定组合时,对固定组合而言施用的总体积通常可能较小。

[0493] 本发明还提供一种包含本发明的药物组合物的容器。

[0494] 本发明还提供一种包含本发明的单位剂型的容器。

[0495] 容器可为小瓶、灌流器、注射器、载药注射器或一次性笔。

[0496] 可在一天、两天、三天、四天、五天、六天、一周、两周、三周、四周、五周、六周、七周、两个月、三个月、四个月、五个月、六个月或更长时间之后重复施用本发明的药物组合物。也可以重复治疗过程,按照慢性施用一样。重复施用可为相同剂量或不同剂量。例如,本发明的药物组合物可一周一次施用八周,然后两周一次施用16周,之后四周一次。

[0497] 可皮下施用本发明的药物组合物。

[0498] 本发明的药物组合物可皮下施用至腹部区域。

[0499] 皮下施用可利用装置来实现。该装置可为注射器、载药注射器、自动注射器(一次性或可重复使用)、笔式注射器、贴剂注射器(patch injector)、可穿戴注射器或具有皮下输液器的步行型注射器输注泵。

[0500] 对于非固定组合,可将25mM乙酸钠、60mM氯化钠、140mM D-甘露糖醇、0.04%聚山梨酸酯20(pH 5.5)中的20mg/mL抗CD38抗体与10mM L-组氨酸、130mM NaCl、10mM L-甲硫氨酸、0.02%聚山梨酸酯-80(pH6.5)中的1mg/mL(75-150kU/mL)rHuPH20混合,然后将混合物施用给受试者。

[0501] 还可以预防性地施用本发明的药物组合物,以便降低罹患癌症的风险、延迟癌症进展中事件的发作和/或在癌症缓解后降低复发的风险。这对于肿瘤难以定位而由于其它

生物因素已知患有肿瘤的患者可能尤其有用。

[0502] 治疗方法

[0503] 本发明还提供了一种治疗癌症的方法,包括向有需要的受试者施用本发明的药物组合物足以治疗癌症的时间。

[0504] 在一些实施方案中,癌症是CD38阳性恶性血液肿瘤。

[0505] 在一些实施方案中,CD38阳性血液恶性肿瘤是多发性骨髓瘤。

[0506] 在一些实施方案中,CD38阳性血液恶性肿瘤是弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)。

[0507] 在一些实施方案中,CD38阳性血液恶性肿瘤是非霍奇金淋巴瘤。

[0508] 在一些实施方案中,CD38阳性血液恶性肿瘤是急性淋巴母细胞白血病(ALL)。

[0509] 在一些实施方案中,CD38阳性血液恶性肿瘤是滤泡性淋巴瘤(FL)。

[0510] 在一些实施方案中,CD38阳性血液恶性肿瘤是伯基特淋巴瘤(BL)。

[0511] 在一些实施方案中,CD38阳性血液恶性肿瘤是套细胞淋巴瘤(MCL)。

[0512] 在一些实施方案中,CD38阳性血液恶性肿瘤是轻链淀粉样变性(AL)。

[0513] 在一些实施方案中,CD38阳性血液恶性肿瘤是多发性骨髓瘤、急性淋巴母细胞白血病(ALL)、非霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、伯基特淋巴瘤(BL)、滤泡性淋巴瘤(FL)或套细胞淋巴瘤(MCL)。

[0514] B细胞非霍奇金淋巴瘤的示例是淋巴瘤样肉芽肿病、原发性渗出性淋巴瘤、血管内大B细胞淋巴瘤、纵隔大B细胞淋巴瘤、重链病(包括γ重链病、μ重链病和α重链病)、用免疫抑制剂治疗所诱导的淋巴瘤(诸如环孢菌素诱导的淋巴瘤和氨甲蝶呤诱导的淋巴瘤)。

[0515] 在一些实施方案中,癌症是实体瘤。

[0516] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者皮下施用包含抗CD38抗体和透明质酸酶的药物组合物足以治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的时间,其中药物组合物中的抗CD38抗体浓度为约20mg/mL。

[0517] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者皮下施用包含含有SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体和SEQ ID NO:22的透明质酸酶rHuPH20的药物组合物足以治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的时间,其中药物组合物中的抗CD38抗体浓度为约20mg/mL。

[0518] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者施用包含介于约1200mg-1800mg之间的含有SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体和介于约30000U-45000U之间的SEQ ID NO:22的透明质酸酶rHuPH20的药物组合物足以治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的时间,其中药物组合物中的抗CD38抗体浓度为约20mg/mL。

[0519] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者施用包含介于约1200mg和约1800mg之间的含有SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体以及约30000U的SEQ ID NO:22的透明质酸酶rHuPH20的药物组合物足以治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的时间,其中药物组合物中的抗CD38抗体浓度为约20mg/mL。

[0520] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者施用包含介于约1200mg和约1800mg之间的含有SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体以及约45000U的SEQ ID NO:22的透明质酸酶rHuPH20的药物组合物足以治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的时间,其中药物组合物中的抗CD38抗体浓度为约20mg/mL。

[0521] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者施用约1600mg的含有SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体以及约30000U的SEQ ID NO:22的透明质酸酶rHuPH20足以治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的时间,其中药物组合物中的抗CD38抗体浓度为约20mg/mL。

[0522] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者施用约1600mg之间的含有SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体以及约45000U的SEQ ID NO:22的透明质酸酶rHuPH20足以治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的时间,其中药物组合物中的抗CD38抗体浓度为约20mg/mL。

[0523] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者施用包含含有SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体和透明质酸酶的药物组合物,其中药物组合物为非固定组合。

[0524] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者施用包含以下的药物组合物:

[0525] 约20mg/mL至约120mg/mL的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQID NO:5的VL的抗CD38抗体,其溶于约25mM乙酸、约60mM氯化钠、约140甘露糖醇和约0.04%w/v聚山梨醇酯-20(PS-20)中;

[0526] pH为约5.5;以及

[0527] 约30000U至约45000U的透明质酸酶,其溶于10mM L-组氨酸、130mM NaCl、10mM L-甲硫氨酸、0.02%聚山梨醇酯-80中,pH为6.5。

[0529] 在一些实施方案中,透明质酸酶为rHuPH20。

[0530] 在一些实施方案中,药物组合物为非固定组合。

[0531] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者施用包含以下的药物组合物:

[0532] 约20mg/mL的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体,其溶于约25mM乙酸、约60mM氯化钠、约140甘露糖醇和约0.04%w/v聚山梨醇酯-20(PS-20)中;pH为约5.5;以及

[0533] 约30000U的透明质酸酶,其溶于10mM L-组氨酸、130mMNaCl、10mM L-甲硫氨酸、0.02%聚山梨醇酯-80中,pH为6.5。

[0534] 在一些实施方案中,透明质酸酶为rHuPH20。

[0535] 在一些实施方案中,药物组合物为非固定组合。

[0536] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者施用包含以下的药物组合物:

[0537] 约20mg/mL的包含SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体,其溶于约25mM乙酸、约60mM氯化钠、约140甘露糖醇和约0.04%w/v聚山梨醇酯-20(PS-20)中;pH为约5.5;以及

[0538] 约45000U的透明质酸酶,其溶于10mM L-组氨酸、130mMNaCl、10mM L-甲硫氨酸、0.02%聚山梨醇酯-80中,pH为6.5。

[0539] 在一些实施方案中,透明质酸酶为rHuPH20。

[0540] 在一些实施方案中,药物组合物为非固定组合。

[0541] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者施用包含含有SEQ ID NO:4的VH和SEQ ID NO:5的VL的抗CD38抗体和透明质酸酶的药物组合物,其中药物组合物为固定组合。

[0542] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者施用包含以下的药物组合物:

[0543] 约1mg/mL至约180mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0544] 约50U/mL至约5000U/mL的透明质酸酶

[0545] 约5mM至约50mM的组氨酸;以及

[0546] 约50mM至约400mM的山梨糖醇。

[0547] 在一些实施方案中,透明质酸酶为rHuPH20。

[0548] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者施用包含以下的药物组合物:

[0549] 约1mg/mL至约180mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0550] 约50U/mL至约5000U/mL的透明质酸酶

[0551] 约5mM至约50mM的组氨酸;

[0552] 约50mM至约400mM的山梨糖醇;

[0553] 约0.01%w/v至约0.1%的PS-20;以及

[0554] 约0.1mg/mL至约2.5mg/mL的甲硫氨酸。

[0555] 在一些实施方案中,透明质酸酶为rHuPH20。

[0556] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者施用包含以下的药物组合物:

[0557] 约100mg/mL至约120mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0558] 约50U/mL至约5000U/mL的透明质酸酶;

[0559] 约10mM的组氨酸;

[0560] 约100mM至约300mM的山梨糖醇;

[0561] 约0.01%w/v至约0.04%w/v的PS-20;以及

[0562] 约1mg/mL至约2mg/mL甲硫氨酸。

[0563] 在一些实施方案中,透明质酸酶为rHuPH20。

[0564] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者施用包含以下的药物组合物:

[0565] 约100mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0566] 约500U/mL的透明质酸酶;

[0567] 约10mM的组氨酸;

[0568] 约300mM的山梨糖醇;

[0569] 约0.04%w/v的PS-20;以及

[0570] 约2mg/mL的甲硫氨酸,pH为约5.5。

[0571] 在一些实施方案中,透明质酸酶为rHuPH20。

[0572] 本发明还提供了一种治疗CD38阳性恶性血液肿瘤的方法,包括向有需要的受试者施用包含以下的药物组合物:

[0573] 约120mg/mL的含有SEQ ID NO分别为4和5的VH和VL的CD38抗体;

[0574] 约2000U/mL的rHuPH20;

[0575] 约10mM的组氨酸;

[0576] 约300mM的山梨糖醇;

[0577] 约0.04%w/v的PS-20;以及

[0578] 约1mg/mL的甲硫氨酸;pH为约5.6。

[0579] 在一些实施方案中,透明质酸酶为rHuPH20。

[0580] 本发明的药物组合物中的抗CD38抗体可通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)、补体依赖性细胞毒性(CDC)、细胞凋亡或CD38酶活性体外调节来诱导杀伤表达CD38的肿瘤细胞。本发明的药物组合物中的抗CD38抗体还可经由其免疫调节效应介导抗肿瘤功效,所述免疫调节效应通过诱导$CD4^+$和$CD8^+$细胞增殖,并且/或者缓解髓源性抑制细胞(MDSC)和调节性T细胞(Treg)介导的炎症应答的抑制产生。

[0581] “抗体依赖性细胞的细胞毒性”、“抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是诱导细胞死亡的机制,该机制依赖于抗体包被靶细胞与具有裂解活性的效应细胞(诸如自然杀伤细胞、单核细胞、巨噬细胞和中性粒细胞)经由效应细胞上表达的Fcγ受体(FcγR)发生的相互作用。例如,NK细胞表达FcγRIIIa,而单核细胞表达FcγRI、FcγRII和FcvRIIIa。效应细胞通过分泌膜孔形成蛋白和蛋白酶而具有的活性会导致抗体包被靶细胞诸如表达CD38的细胞发生死亡。为评估特异性结合CD38的抗体的ADCC活性,可将抗体与免疫效应细胞联合加入到表达CD38的细胞中,所述免疫效应细胞可被抗原抗体复合物激活,从而使靶细胞发生细胞溶解。通常根据从裂解细胞中释放的标记(例如放射性底物、荧光染料或天然胞内蛋白)来检测细胞溶解。用于此类测定法的示例性效应细胞包括外周血单核细胞(PBMC)和NK细胞。示例性靶细胞包括表达CD38的Treg或MDSC。在示例性测定法中,用20μCi的^{51}Cr标记靶细胞2小时,然后充分冲洗。可将靶细胞的细胞浓度调节到1×10^6个细胞/ml,并添加各种浓度的抗-CD38抗体。以40:1的效应细胞:靶细胞比率添加靶细胞,由此开始测定。在37℃下温育3小时后,通过离心终止测定,然后在闪烁计数器中测量从裂解细胞中释放的^{51}Cr。可按通过将3%高氯酸加入靶细胞中诱导的最大裂解%来计算细胞的细胞毒性的百分比。

[0582] “抗体依赖性细胞吞噬作用”(“ADCP”)是指通过吞噬细胞(诸如巨噬细胞或树突状细胞)的内化作用消除抗体包被的靶细胞的机制。可通过使用表达CD38的Treg或MDSC作为工程化为表达GFP或其它标记分子的靶细胞来评估ADCP。效应细胞:靶细胞比率可为例如4:1。可在含或不含抗-CD38抗体的情况下,将效应细胞与靶细胞一起温育4小时。在温育后,可使用细胞消化液(accutase)分离细胞。可使用偶联至荧光标记的抗-CD11b抗体和抗-CD14抗体鉴定巨噬细胞,并且可使用标准方法基于$CD11^+CD14^+$巨噬细胞中的GFP荧光%确定吞噬百分比。

[0583] “补体依赖性细胞毒性”或“CDC”是指诱导细胞死亡的机制,其中靶结合抗体的Fc效应结构域结合并激活补体成分C1q,C1q继而激活补体级联,从而导致靶细胞死亡。补体的激活也可导致补体成分沉积在靶细胞表面上,这些补体成分通过结合白细胞上的补体受体(例如,CR3)来促进ADCC。

[0584] 单克隆抗体诱导ADCC的能力可通过工程化其低聚糖组分来增强。人IgG1或IgG3在

Asn297处被熟知的双分枝G0、G0F、G1、G1F、G2或G2F形式的大多数聚糖N-糖基化。未工程化的CHO细胞所产生的抗体通常具有约至少85％的聚糖岩藻糖含量。从连接到Fc区的双分枝复合物型低聚糖去除核心岩藻糖,可经由改善的Fcγ RIIIa结合来增强抗体的ADCC,而不会改变抗原结合或CDC活性。此类mAb可使用据报道能引起具有双分枝复合物型Fc低聚糖的相对较高去岩藻糖基化抗体的成功表达的不同方法实现,诸如控制培养物渗透压(Konno等人,Cytotechnology 64:249-65,2012),应用变体CHO细胞系Lec13作为宿主细胞系(Shields等人,JBiol Chem 277:26733-26740,2002),应用变体CHO细胞系EB66作为宿主细胞系(Olivier等人,MAbs;2(4),2010;Epub ahead of print;PMID:20562582)、应用大鼠杂交瘤细胞系YB2/0作为宿主细胞系(Shinkawa等人,J Biol Chem 278:3466-3473,2003)、引入特异性针对α1,6-岩藻糖基转移酶(FUT8)基因的小干扰RNA(Mori等人,Biotechnol Bioeng88:901-908,2004)、或共表达β-1,4-N-乙酰葡糖胺基转移酶III和高尔基体α-甘露糖苷酶II或有效的α-糖苷酶I抑制剂、几夫碱(Ferrara等人,J Biol Chem281:5032-5036,2006,Ferrara等人,Biotechnol Bioeng93:851-861,2006;Xhou等人,Biotechnol Bioeng 99:652-65,2008)。由用于本发明的方法中以及下文所列所有带编号的实施方案中的每一者中的一些实施方案中的抗-CD38抗体所引发的ADCC,也可通过抗体Fc中的某些置换来增强。示例性置换为例如在氨基酸位置256、290、298、312、356、330、333、334、360、378或430(根据EU索引对残基进行编号)处的置换,如美国专利No.6,737,056中有所描述。

[0585] 在一些实施方案中,抗CD38抗体在抗体Fc中包含置换。

[0586] 在一些实施方案中,抗CD38抗体包含在抗体Fc中的氨基酸位置256、290、298、312、356、330、333、334、360、378或430(根据EU索引对残基进行编号)处的置换。

[0587] 在一些实施方案中,抗CD38抗体具有岩藻糖含量为约0％至约15％,例如15％、14％、13％、12％、11％、10％、9％、8％、7％、6％、5％、4％、3％、2％、1％或0％的双分枝聚糖结构。

[0588] 在一些实施方案中,抗CD38抗体具有岩藻糖含量为约50％、40％、45％、40％、35％、30％、25％、20％、15％、14％、13％、12％、11％、10％、9％、8％、7％、6％、5％、4％、3％、2％、1％或0％的双分枝聚糖结构。

[0589] Fc中的置换和减少的岩藻糖含量可增强特异性结合CD38的抗体的ADCC活性。

[0590] “岩藻糖含量”意指Asn297处糖链内的岩藻糖单糖的量。岩藻糖的相对量为含岩藻糖的结构相对于所有糖结构的百分比。这些可通过多种方法进行表征和定量,例如:1)使用经N-糖苷酶F处理的样本(例如,复合结构、混合结构及低聚甘露糖结构和高甘露糖结构)的MALDI-TOF,如国际专利公布No.WO2008/077546中有所描述;2)通过酶促释放Asn297聚糖,随后衍生化并通过具有荧光检测的HPLC(UPLC)和/或HPLC-MS(UPLC-MS)进行检测/定量;3)在用或不用Endo S或其它酶处理Asn297聚糖的情况下,对天然或还原后的mAb进行完整蛋白分析,所述其它酶在第一GlcNAc单糖和第二GlcNAc单糖之间进行裂解,留下连接至第一GlcNAc的岩藻糖;4)通过酶消化(例如,胰蛋白酶或肽链内切酶Lys-C)将mAb消化为成分肽,随后通过HPLC-MS(UPLC-MS)进行分离、检测和定量;或5)用PNGase F在Asn 297处进行特异性酶促去糖基化,从而将mAb低聚糖与mAb蛋白分离。可通过各种互补技术对释放的低聚糖进行荧光团标记、分离并鉴定,这些技术允许:采用基质辅助激光解吸电离(MALDI)质谱法,通过比较实验质量与理论质量来对聚糖结构进行精细表征;通过离子交换HPLC(GlycoSep

C)确定唾液酸化程度;通过正相HPLC(GlycoSep N),根据亲水性标准分离和定量低聚糖形式;以及通过高效毛细管电泳激光诱导荧光(HPCE-LIF)分离和定量低聚糖。

[0591] 如本文所用,“低岩藻糖”或“低岩藻糖含量”是指抗体的岩藻糖含量为约0％至15％。

[0592] 如本文所用,“正常岩藻糖”或“正常岩藻糖含量”是指抗体的岩藻糖含量大约高于50％,通常大约高于60％、70％、80％或高于85％。

[0593] 在本文所述的方法中以及在下文所列所有带编号的实施方案的一些实施方案中,抗CD38抗体具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。

[0594] 与包含为SEQ ID NO:4的VH和为SEQ ID NO:5的VL的抗体基本上相同的抗体可用于本发明的方法中。如本文所用,术语“基本上相同”意指被比较的两个抗体VH或VL氨基酸序列是相同的或具有“非显著性差异”。非显著性差异是指抗体重链或轻链中有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个氨基酸被置换,这些置换不会对抗体的特性造成不利影响。百分比同一性可例如通过使用Vector NTI v.9.0.0(Invitrogen,Carlsbad,CA)的AlignX模块的默认设置的配对比对而确定。本发明的蛋白质序列可以用作查询序列以针对公共或专利数据库进行检索,以例如鉴定相关序列。用来进行此类检索的示例性程序是使用默认设置的XBLAST或BLASTP程序(http_//www_ncbi_nlm/nih_gov)或GenomeQuest™(GenomeQuest,Westborough,MA)软件包。可对用于本发明方法中的抗CD38抗体进行的示例性置换为例如用具有相似电荷、疏水性或立体化学特性的氨基酸进行的保守置换。还可作出保守置换以改善抗体特性,例如稳定性或亲和力,或改善抗体效应子功能。可例如对抗-CD38抗体的重链或轻链进行1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个氨基酸置换。此外,重链或轻链中的任何天然残基还可用丙氨酸来置换,如先前对于丙氨酸扫描诱变所述(MacLennan等人,Acta Physiol Scand Suppl 643:55-67,1998;Sasaki等人,Adv Biophys 35:1-24,1998)。所需的氨基酸置换可以由本领域技术人员在需要此类置换时确定。氨基酸置换可以例如通过PCR诱变来进行(美国专利No.4,683,195)。可使用熟知方法生成变体文库,例如使用随机(NNK)或非随机密码子(例如DVK密码子,其编码11个氨基酸(Ala、Cys、Asp、Glu、Gly、Lys、Asn、Arg、Ser、Tyr、Trp)),并在文库中筛选具有所需特性的变体。可使用本文所述的方法检测所生成的变体对CD38的结合,及其体外诱导ADCC、ADCP或细胞凋亡的能力,或调节CD38酶活性的能力。

[0595] 在一些实施方案中,抗CD38抗体可以一系列亲和力(K_D)结合人CD38。在根据本发明的一个实施方案中,并且在下列带有编号的实施方案的每一者中的一些实施方案中,抗CD38抗体以高亲和力结合CD38,例如,由表面等离子体共振或Kinexa方法确定,K_D等于或小于约10^{-7}M,诸如但不限于1-9.9(或其中的任何范围或值,诸如1、2、3、4、5、6、7、8或9)$\times 10^{-8}$M、10^{-9}M、10^{-10}M、10^{-11}M、10^{-12}M、10^{-13}M、10^{-14}M、10^{-15}M或其中的任何范围或值,如本领域技术人员所实践。一种示例性亲和力等于或小于1×10^{-8}M。另一种示例性亲和力等于或小于1×10^{-9}M。

[0596] 在一些实施方案中,抗CD38抗体是双特异性抗体。可将现有抗-CD38抗体的VL区和/或VH区或者如本文所述从头鉴定的VL区和VH区工程化为双特异性全长抗体。可使用诸如以下专利中所述的那些技术,通过调节单特异性抗体重链之间的CH3相互作用以形成双特异性抗体,从而制备此类双特异性抗体:美国专利No.7,695,936;国际专利公布No.WO04/

111233;美国专利公开US2010/0015133、美国专利公开No.US2007/0287170;国际专利公布No.WO2008/119353;美国专利公开No.US2009/0182127;美国专利公开No.US2010/0286374;美国专利公开No.US2011/0123532;国际专利公布No.WO2011/131746;国际专利公布No.WO2011/143545;或美国专利公布US2012/0149876。可在其中结合本发明的抗体的VL区和/或VH区的另外双特异性结构,是例如双可变结构域免疫球蛋白(国际专利公布WO2009/134776),或包括多种二聚化结构域以连接具有不同特异性的两条抗体臂的结构,诸如亮氨酸拉链或胶原二聚化结构域(国际专利公布No.WO2012/022811、美国专利No.5,932,448;美国专利6,833,441)。

[0597] 例如,双特异性抗体可通过如下过程在无细胞环境中体外产生:根据国际专利公布No.WO2011/131746所述的方法,在两个单特异性同源二聚抗体的CH3区域中引入非对称突变,并在允许二硫键异构化的还原条件下由两个亲本单特异性同源二聚抗体形成双特异性异源二聚抗体。在所述方法中,将第一单特异性二价抗体(例如,抗-CD38抗体)和第二单特异性二价抗体工程化为在CH3结构域处具有促进异源二聚体稳定性的某些置换;将这些抗体在足以使铰链区中的半胱氨酸发生二硫键异构化的还原条件下一起温育;从而通过Fab臂交换产生双特异性抗体。温育条件最理想地可恢复到非还原条件。可使用的示例性还原剂为2-巯基乙胺(2-MEA)、二硫苏糖醇(DTT)、二硫赤藓糖醇(DTE)、谷胱甘肽、三(2-羧乙基)膦(TCEP)、L-半胱氨酸和β-巯基乙醇,优选地为选自2-巯基乙胺、二硫苏糖醇和三(2-羧乙基)膦的还原剂。例如,可使用如下条件:在至少25mM 2-MEA的存在下或至少0.5mM二硫苏糖醇的存在下,在5-8的pH例如pH7.0或pH7.4,至少20℃的温度下,温育至少90分钟。

[0598] 可用于双特异性抗体的第一重链和第二重链的示例性CH3突变是K409R和/或F405L。

[0599] 本发明的方法可用于治疗属于任何分类的动物患者。此类动物的示例包括哺乳动物,诸如人、啮齿动物、犬类、猫类和农畜。

[0600] 联合治疗

[0601] 本发明的药物组合物可与第二治疗剂或其组合联合施用。

[0602] 第二治疗剂可以是美法仑、双氯乙基甲胺、噻替哌(thioepa)、苯丁酸氮芥、卡莫司汀(BSNU)、洛莫司汀(lomustine)(CCNU)、环磷酰胺、白消安、二溴甘露醇、链脲佐菌素、达卡巴嗪(DTIC)、丙卡巴肼、丝裂霉素C、顺铂和其它铂衍生物,诸如卡铂、沙利度胺或沙利度胺类似物、来那度胺或CC4047、蛋白酶体抑制剂(诸如硼替佐米)、或长春花生物碱(诸如长春新碱)或蒽环霉素(诸如多柔比星)。

[0603] 在一些实施方案中,第二治疗剂为蛋白酶体抑制剂。

[0604] 在一些实施方案中,蛋白酶体抑制剂是硼替佐米、卡非佐米或伊沙佐米。

[0605] 在一些实施方案中,第二治疗剂是烷基化剂。

[0606] 在一些实施方案中,烷基化剂是白消安、环磷酰胺、苯达莫司汀、瘤可宁、卡铂、顺铂、替莫唑胺、美法仑、白消安、苯达莫司汀、卡莫司汀、环己亚硝脲、达卡巴嗪、奥沙利铂、异环磷酰胺、双氯乙基甲胺、噻替哌、曲贝替定或链脲霉素。

[0607] 在一些实施方案中,第二治疗剂为谷氨酸衍生物。

[0608] 在一些实施方案中,谷氨酸衍生物是Revlimid®(来那度胺)、萨力多胺或Pomalyst®(泊马度胺)。

[0609] 在一些实施方案中,向受试者进一步施用皮质类固醇。

[0610] 在一些实施方案中,皮质类固醇为地塞米松或强的松。

[0611] 第二治疗剂或其组合通常以试剂的推荐剂量施用。

[0612] 本发明的药物组合物可同时或顺序地与第二治疗剂或其组合施用。

[0613] 虽然已经概括地描述了本发明,但是本发明的实施方案还将在以下实施例中进一步公开,以下实施例不应理解为限制权利要求的范围。

[0614] 实施例1:在小型猪模型中皮下递送2%人免疫球蛋白G(IgG)与重组人透明质酸酶PH20(rHuPH20)

[0616] 小型猪是由于其与人皮肤的解剖学相似性和临床可译性而适于评价生物治疗药物的皮下(SC)施用条件的临床模型(Mahj等人,Exp Toxicol Path 57:341-5,2006)。该研究的目的是评估和评价以两种不同的流量(2mL/min和4mL/min)施用100mL的包含200U/mL、500U/mL或800U/mL的rHuPH20的20mg/mL人IgG溶液的条件。终点包括定量输注压力测量以及局部输注部位的定性评估,例如肿胀尺寸和硬度。

[0617] 使尤卡坦小型猪以2mL/min或4mL/min的流量皮下输注包含20mg/mL免疫球蛋白G(IgG)与200U/mL、500U/mL或800U/mL rHuPH20的100mL溶液。在输注期间测量实时在线压力。在输注完成后,测量局部输注部位的可见肿胀体积和面积(如果存在),并对输注部位的红斑的存在和严重程度、肿胀/疱的尺寸和硬度以及宏观观察进行定性评分。输注压力总体较低并且对两种流量而言在约40mmHg至60mmHg(约1PSI)的范围内。

[0618] 在不同浓度的rHuPH20和两种不同流量之间不存在压力的统计学差异,并且可以预知总压力在2mL/min流量下略微较低。

[0619] 意料不到地发现了2mL/min较低流量下输注部位处具有可见和可测量肿胀的输注数(12次中有10次)。在所有三种rHuPH20浓度下均观察到该观察。相比之下,在4mL/min的较高流量下,12次输注中仅有3次导致可见和可测量的局部肿胀。同样,这在各个rHuPH20浓度下均被观察到。

[0620] 在局部肿胀可见的所有情况下,肿胀在一小时内减退。另外,输注位点处的局部肿胀通常触感柔软且未变硬,如肿胀/硬化指数(平均得分<2)所指示。在以2mL/min流量输注的情况下,红斑的发病率更频繁;然而,红斑的严重程度总体上较轻微,并在次日完全减退。研究中并未指出输注部位的其它宏观观察。

[0621] 在该研究中评价三种不同浓度的rHuPH20(200U/mL、500U/mL或800U/mL),并且基于研究终点在浓度之间并无统计学差异。总体而言,相比于2mL/min流量,4mL/min的较高流量导致较低的红斑频率、可见肿胀和局部输注部位硬度。

[0622] 测试制品和方法

[0623] 测试制品

[0624] 制剂缓冲液中的材料:

[0625] • 25mM醋酸钠(Spectrum;PN#S0104;Lot#1DI0271)

[0626] • 60mM氯化钠(Spectrum;PN#S0155;Lot#1CE0421)

[0627] • 140mM D-甘露糖醇(Spectrum;PN#MA165;Lot#1EB0316)

[0628] • 0.04%聚山梨醇酯20(JT Baker;PN#4116-04;Lot#0000017659)

[0629] • pH 5.5(冰醋酸调至pH;Fisher Scientific;PN#A491-212;

[0630] Lot#080972)

[0631] 药物物质中的材料:

[0632] • 人γ球蛋白(BioMed Supply;PN#HGG-1005;

[0633] Lot#BMS31309013)

[0634] • rHuPH20[(由Cook Pharmica for Halozyme制造;HalozymeLot#462-

[0635] • 021B(revialed,Cook Lot#104-001-HSTFIL-9054)]

[0636] 制剂

[0637] 在开始研究开始之前,将20mg/mL IgG与200U/mL、500U/mL或800U/mL的rHuPH20混合4天。将溶液等分到单独的玻璃瓶中,用塞子密封,并用卷边顶盖(crimp)加盖。所有溶液在2-8℃下储存直至开始研究,但在输注之前使其适应室温。另外,从各个制剂中取得样品以进行rHuPH20酶活性测试。酶活性测定的结果证实,所有给药溶液均在目标浓度的10%之内(未示出数据)。

[0638] 动物说明

[0639] • 物种:猪(家猪(Susscrofa domestica))

[0640] • 品种:尤卡坦小型猪

[0641] • 性别:雌性

[0642] • 年龄:>3个月

[0643] • 重量:约12kg

[0644] • 量:12只

[0645] • 来源:S&S Farms(Ramona,CA)

[0646] 饲养

[0647] 将动物圈养在钢制畜栏中,提供自来水任期取用。除研究日(仅PM)之外,每日喂养动物两次(AM和PM)。从递送当天到完成研究后的一天,称量动物体重并进行记录以评估动物健康状态。所有动物在此期间保持体重(未示出数据)。设定室环境以维持约17-27℃的温度和40-70%的相对湿度,并具有12小时照明/12小时黑暗时间周期。在开始研究开始之前,使动物适应该设施7天。

[0648] 测试材料

[0649] • 高压注射器泵(KD Scientific;Holliston,MA)

[0650] • 23ga×3/4英寸翼形输液针装置,具有12英寸管(Terumo MedicalCorporation;Somerset,NJ)

[0651] • 140-cc鲁尔锁注射器(Covidien;Mansfield,MA)

[0652] • 增设装置7英寸(B/Braun;Bethlehem,PA)

[0653] • PowerLab 4/30(AD Instruments;Colorado Springs,CO)

[0654] • Deltran-1一次性压力传感器(Utah Medical Products;Midvale,UT)

[0655] • 数字式卡尺(PreisserMesstechnik;Gammertingen,Germany)

[0656] • 异氟烷(Minrad International Company,OrchardPark,NY)

[0657] • 异氟烷气化器(VetEquip;Pleasanton,CA)

[0658] 实验设计

[0659] 实验设计汇总于组(表1)描述和每种动物的输注描述(表2)中。简而言之,将100mL

的包含与200U/mL、500U/mL或800U/mL rHuPH20共混的20mg/mL IgG的溶液以2mL/min或4mL/min的流量施用到麻醉的尤卡坦小型猪的腹部区域中。该研究的终点包括使用在线压力传感器进行的输液压力测量、输注后局部肿胀(疱)体积和面积(如果可能),以及输注部位(包括照片)的定性评估。

[0660] 表1:

[0661]

组群	测试制品	流速(mL/min)
1	IgG + 200U/mL rHuPH20	2mL/min
2	IgG + 500U/mL rHuPH20	
3	IgG + 800U/mL rHuPH20	
4	IgG + 200U/mL rHuPH20	4mL/min
5	IgG + 500U/mL rHuPH20	
6	IgG + 800U/mL rHuPH20	

[0662] 表2:

[0663]

动物 ID	流率 (mL/min)	左侧输注	右侧输注
1	2	IgG + 200U/mL rHuPH20	IgG + 500U/mL rHuPH20
2		IgG + 200U/mL rHuPH20	IgG + 800U/mL rHuPH20
3		IgG + 500U/mL rHuPH20	IgG + 200U/mL rHuPH20
4		IgG + 500U/mL rHuPH20	IgG + 800U/mL rHuPH20
5		IgG + 800U/mL rHuPH20	IgG + 200U/mL rHuPH20
6		IgG + 800U/mL rHuPH20	IgG + 500U/mL rHuPH20
7	4	IgG + 200U/mL rHuPH20	IgG + 500U/mL rHuPH20
8		IgG + 200U/mL rHuPH20	IgG + 800U/mL rHuPH20
9		IgG + 500U/mL rHuPH20	IgG + 200U/mL rHuPH20
10		IgG + 500U/mL rHuPH20	IgG + 800U/mL rHuPH20
11		IgG + 800U/mL rHuPH20	IgG + 200U/mL rHuPH20
12		IgG + 800U/mL rHuPH20	IgG + 500U/mL rHuPH20

[0664]

n =每种流量每组输注 4 次
每只动物接受 2 种不同的同时输注（每种在每个对侧部位处）
rHuPH20 浓度: 200U/mL = 20000 总 U; 500U/mL = 50000 总 U;
800U/mL = 80000 总 U
输注体积 100mL
终点:
- 在线（输注）压力
- 肿胀/疱体积和面积测量
- 红斑和硬结（包括照片）的定性评估

[0665] 研究过程

[0666] 在开始研究之前,评估动物的总体健康状况并记录体重。在研究当天,将动物用异氟烷气体麻醉并以仰卧(dorsal recumbence)置于受热的手术台上,并在该过程的整个持续时间内维持在异氟烷基气体下。用异丙醇清洁腹部区域,用干净的纱布擦干。输注部位位于左和右腹部区域,始自腹股沟褶的颅端而且距颅约6cm的朝向中线约3-4cm处。将输注部位用永久性标记物标记,然后拍照。在输注之前,使测试制品适应室温。将测试制品吸入

140cc注射器(>100mL以考虑启动输液线所需的体积)。将压力传感器附接到注射器上。然后将具有连接的23ga×3/4英寸翼形输液针的线增设装置附接到传感器上。然后输注硬件被准备用于针尖。将注射器装载到注射器泵中。重复进行该过程,各个注射器包含不同的测试制品。将针皮下置入经标记的动物左和右腹部输注部位中。使在线

[0667] 压力传感器归零。开始在线压力记录,然后使两个注射器泵同时开始以2mL/min或4mL/min的流量输注100mL的测试制品。在输注完成后,停止在线压力数据采集,移除针,并且用VetBond液体粘合剂密封插入针孔以防止任何渗漏。使用数字式卡尺测量局部输注部位肿胀/疱面积和体积。另外用5点评分系统(分别为表3、表4和表5)定性地评估局部输注部位的外观(红斑)、肿胀/疱尺寸、和硬度(硬结)。最终,给输注部位拍照。

[0668] 表3:

[0669]

比例	说明
0	无红斑
1	非常轻微的红斑(几乎不可察觉)
2	界限分明的红斑
3	中度至严重的红斑
4	严重红斑(甜菜红(beetredness))到轻微焦痂形成

[0670] 表4:

[0671]

比例	说明
0	无肿胀
1	非常轻微的肿胀
2	轻微肿胀
3	中度肿胀
4	严重肿胀

[0672] 表5:

[0673]

比例	说明
0	注射后硬度无可察觉区别
1	非常轻微的变硬(几乎不可察觉)
2	轻度变硬
3	中度变硬
4	非常硬

[0674] 计算和统计方法

[0675] 输注压力的评估:

[0676] 使用LabChart 7记录输注压力(如由在线传感器所测),并计算整个输液期内的平均压力。

[0677] 局部肿胀体积和面积的评估:

[0678] 使用数字式卡尺测量输注后肿胀的体积和面积,并以手动方式记录。测量结果记录为长度、宽度和高度。使用椭圆体公式计算体积。体积=4/3πABC,其中A=长度的半径,B=宽度的半径,C=高度的半径。使用简单的长度×宽度公式来计算面积。

[0679] 局部输注部位的评估：

[0680] 在输注完成后，由三位独立的评估者独立地评估局部输注部位。每位评估者评估各个输注部位处皮肤中红斑的存在、局部肿胀尺寸和硬度。按0至4评级标准的得分用于评价三个评估区，得分为0表示无影响，4为严重。另外，使用红斑和肿胀得分来计算初始刺激指数(PII)，其采用式PII＝平均值[(Σ红斑等级+Σ肿胀等级)÷2]。此外，使用肿胀和硬度得分来计算肿胀/硬化指数(SII)，其采用式SII＝平均值[(Σ肿胀等级+Σ硬度等级)÷2]。SII评分≤2不视为硬化。

[0681] 统计分析：

[0682] 使用单因素方差分析(ANOVA)，采用对连续变量的Tukey多重比较测试以及非参数Krusal-Wallis测试和对分类变量的Dunn多重比较测试，在组之间进行统计比较。统计学显著性被确定为$p<0.05$。

[0683] 结果

[0684] 输注压力的评估：

[0685] 将与200U/mL、500U/mL或800U/mL rHuPH20共混的100mL的20mg/mL IgG以2mL/min或4mL/min的流量施用到尤卡坦小型猪的腹部区域中。与200U/mL、500U/mL或800U/mL rHuPH20共混的IgG以2mL/min的流量输注分别导致40.5±0.1、40.0±0.1和37.1±0.1mmHg±SEM的平均输注压力。与200U/mL、500U/mL或800U/mL rHuPH20共混的IgG以4mL/min的流量输注分别导致49.9±0.1、55.5±0.1和61.9±0.2mmHg±SEM的平均压力。每种流量的输注压力在各种浓度的rHuPH20之间无统计学差异，并且输注压力在两种流量之间无统计学差异。

[0686] 局部肿胀体积和面积的评估：

[0687] 在每次输注完成之后，标记局部输注部位的肿胀(如果可见)并用数字式卡尺进行测量。对于与200U/mL、500U/mL或800U/mL rHuPH20共混的IgG以2mL/min的流量输注分别导致36.6±14.4、19.5±6.5和31.4±6.0cm3±SEM的平均肿胀体积，其中12次输注中有10次是可见且可测量的。与之相反，在各个rHuPH20浓度下，在4mL/min的流量下在12次输注中仅有3次检测到肿胀体积。每种流量的局部肿胀体积在各种浓度的rHuPH20之间无统计学差异，并且局部肿胀体积在两种流量之间无统计学差异。

[0688] 除体积计算之外，还测量了输注后可见肿胀的局部面积。对于与200U/mL、500U/mL或800U/mL rHuPH20共混的IgG以2mL/min的流量输注分别导致78.2±26.4、59.7±20.0和94.9±9.7cm2±SEM的平均肿胀面积。在各个rHuPH20浓度下，对于以4mL/min的流量输注导致在12次输注中仅3次有可测量的肿胀面积。每种流量的局部肿胀面积在各种浓度的rHuPH20之间无统计学差异，并且局部肿胀面积在两种流量之间无统计学差异。

[0689] 局部输注部位的评估：

[0690] 在输注完成后，三位独立的评估者针对红斑的存在和严重程度、肿胀的可见尺寸、皮肤的物理硬度、并入红斑和肿胀得分的初始刺激指数(PII)、以及用于确定是否存在硬化的并入肿胀和硬度得分的肿胀/硬化指数(SII)对局部输注部位进行定性评分。

[0691] 评估红斑的存在和严重程度。对于与200U/mL、500U/mL或800U/mL rHuPH20共混的IgG以2mL/min的流量输注分别导致0.8±0.2、0.4±0.1和1.0±0.3的平均红斑得分(±SEM)。与200U/mL、500U/mL或800U/mL rHuPH20共混的IgG以4mL/min的流量输注分别导致

0.3±0.1、0.3±0.1.和0.2±0.1的平均红斑得分(±SEM)。每种流量的局部肿红斑得分在各种浓度的rHuPH20之间无统计学差异,并且局部肿红斑得分在两种流量之间无统计学差异。评价可见局部肿胀的尺寸,并且对于与200U/mL、500U/mL或800U/mL rHuPH20共混的IgG以2mL/min的流量输注分别导致1.9±0.4、1.4±0.3和2.0±0.2的平均肿胀得分(±SEM)。与200U/mL、500U/mL或800U/mL rHuPH20共混的IgG以4mL/min的流量输注分别具有平均红斑得分(±SEM)为0.6±0.3、0.9±0.4和0.9±0.4的较少可见肿胀。除了2mL/min流量下IgG+800U/mL的rHuPH20与4mL/min流量下IgG+200U/mL的rHuPH20($p<0.05$)之外,每种流量的局部肿胀得分在各种浓度的rHuPH20之间无统计学差异,并且局部肿胀得分在两种流量之间无统计学差异。评价局部输注部位处皮肤的物理硬度,并且对于与200U/mL、500U/mL或800U/mL rHuPH20共混的IgG以2mL/min的流量输注分别导致1.5±0.3、1.0±0.2和1.4±0.2的平均硬度得分(±SEM)。与200U/mL、500U/mL或800U/mL rHuPH20共混的IgG以4mL/min的流量输注分别具有平均硬度得分(±SEM)为0.5±0.3、0.7±0.2和0.7±0.3的较小局部输注部位硬度。每种流量的局部输注部位硬度得分在各种浓度的rHuPH20之间无统计学差异,并且局部输注部位硬度得分在两种流量之间无统计学差异。基于红斑和肿胀得分来计算初始刺激指数。与200U/mL、500U/mL或800U/mL rHuPH20共混的IgG以2mL/min的流量输注分别具有1.4±0.3、0.9±0.2和1.5±0.2的PII得分(±SEM)。与200U/mL、500U/mL或800U/mL rHuPH20共混的IgG以4mL/min的流量输注分别具有平均得分(±SEM)为0.4±0.2、0.6±0.3和0.5±0.3的较低PII得分。除了2mL/min流量下IgG+800U/mL的rHuPH20与4mL/min流量下IgG200U/mL的rHuPH20($p<0.05$)之外,每种流量的PII得分在各种浓度的rHuPH20之间无统计学差异,并且PII得分在两种流量之间无统计学差异。基于肿胀和硬度得分来计算肿胀/硬化指数。与200U/mL、500U/mL或800U/mL rHuPH20共混的IgG以2mL/min的流量输注分别具有1.7±0.3、1.2±0.2和1.7±0.2的SII得分(±SEM)。与200U/mL、500U/mL或800U/mL rHuPH20共混的IgG以4mL/min的流量输注分别具有平均得分为0.6±0.3、0.8±0.3和0.8±0.3(±SEM)的较低SII得分。每种流量的SII得分在各种浓度的rHuPH20之间无统计学差异,并且SII得分在两种流量之间无统计学差异。基于平均SII值(得分≤2),局部输注部位不视为硬化。最后,在每次输注完成之前和之后拍摄照片。

[0692] 实施例2.用于评估皮下递送加入重组人透明质酸酶(rHuPH20)的达雷木单抗来治疗患有复发性或顽固性多发性骨髓瘤的受试者的安全性和药代动力学的开放标记的多中心1b期剂量递增研究

[0693] 该研究的目的是评价向患有复发性或顽固性多发性骨髓瘤的参与者皮下(SC)或静脉内(IV)递送达雷木单抗的安全性、药代动力学和抗肿瘤活性。这是开放标记的多中心2部分1b期剂量递增/扩展研究,以评价经向患有复发性或顽固性多发性骨髓瘤的参与者SC或IV递送达雷木单抗的安全性、药代动力学和抗肿瘤活性。第1部分中多至约48名参与者和第2部分中80名参与者将参加。第1部分剂量递增阶段被设计成基于达雷木单抗的安全性和药代动力学(PK)数据来确定推荐的2期剂量(RP2D)。研究的每一部分将具有3个阶段:筛选阶段,开放标记治疗阶段和后治疗阶段(从研究药物的最终剂量至治疗后8周)。在第1部分中,参与者将被分配至每个组约8位参与者的连续组。参与者将经由SC输注给予DARA PH20(加入重组人透明质酸酶[rHuPH20]的达雷木单抗),周期1(每周期28天)和2中每周一次,周期3-6中每2周一次,并在各组的后续周期中每4周一次。在每组中最后一位参与者完成周期

3第1天之后,安全评价小组(SET)将根据方案规定的标准来评估安全性和药代动力学数据,并作出是否在新组中逐步增加剂量的决定。SET将评论得自第1部分的所有安全性和PK数据,以在开始第2部分之前确定RP2D。在第2部分中,参与者将随机化为1:1,以接受所推荐的2期剂量的DARA PH20或IV递送1200mg DARA。将对SC和IV递送达雷木单抗的安全性、药代动力学和抗肿瘤活性进行评价。参与者的安全将在整个研究中受到监控。

[0694] 初次结果指标:

[0695] 达雷木单抗(时间范围:多至第2部分周期3(每个周期28天)第1天)的血清谷浓度(Ctrough)。Ctrough:研究药物施用前的浓度。

[0696] 第1部分和第2部分:具有不良事件(AE)和严重AE的参与者数目(时间范围:筛选至后续(最后剂量施用后30天))。

[0697] 不良事件(AE)是在接受研究药物的参与者中发生的任何不适当的医疗事件而无需考虑因果关系可能性。严重不良事件(SAE)是导致任何下列结果的AE或认为对任何其它原因是显著的:死亡;初始或延长病人住院治疗时间;危及生命的经历(死亡的即时危险);持久性或显著能力丧失/无力;先天性异常。

[0698] 二次结果指标:

[0699] • 第1部分和第2部分:达雷木单抗和重组人透明质酸酶(rHuPH20)(血浆)抗体的血清浓度(时间范围:约2年)。用于评估潜在免疫原性的达雷木单抗和rHuPH20的抗体的血清水平。

[0700] • 第1部分和第2部分:具有完全响应(CR)的参与者百分比(时间范围:约2年)。CR被定义为根据国际髓瘤工作组(IMWG)标准实现CR(包括sCR)的参与者比例。

[0701] • 第1部分和第2部分:具有总响应率(ORR)的参与者百分比(时间范围:约2年)。总响应率被定义为在研究治疗期间或之后,根据国际髓瘤工作组标准实现完全响应或部分响应的参与者百分比。

[0702] • 第1部分和第2部分:响应持续时间(DR)(时间范围:约2年)。DR是如由IMWG标准所定义的从初始记录响应(CR或PR)的日期到首次记录PD的日期的时间。

[0703] • 第1部分和第2部分:响应时间(时间范围:约2年)。响应时间被定义为从研究治疗的第一剂量的日期到首次记录所观察响应(CR或PR)的日期的时间。

[0704] 表6示出了研究设计。表7示出了干预措施。

[0705] 表6:

[0706]

部门编号或名称	类型	说明
第 1 部分：组 1	实验数值	参与者将经由皮下（SC）输注接受 DARAPH20，1200mg（达雷木单抗 1200 毫克（mg），含有重组人透明质酸酶[rHuPH20]30000U），周期 1（每周期为 28 天）和 2 中每周一次，周期 3-6 中每 2 周一次，接着后续周期中每 4 周一次直至疾病有进展。
第 1 部分：组 2	实验数值	参与者将经由 SC 输注接受 DARAPH20，1800mg（达雷木单抗 180 毫克（mg），含有重组人透明质酸酶[rHuPH20]45000U），周期 1 和 2 中每周一次，周期 3-6 中每 2 周一次，然后在后续周期中每 4 周一次直至疾病有进展。
第 1 部分：组 3	实验数值	参与者将以研究评价小组（SET）决定的剂量经由 SC 输注接受 DARAPH20，周期 1 和 2 中每周一次，周期 3-6 中每 2 周一次，然后在后续周期中每 4 周一次直至疾病有进展。另外可加入三个附加任选的组（组 3b、3c 和 3d）以重复达雷木单抗的剂量水平
第 2 部分：组 4	实验数值	将 DARA-PH2 以在第 1 部分中确定的 RP2D（所推荐的 2 期剂量）经由 SC 输注施用给参与者，周期 1 和 2 中每周一次，周期 3-6 中每 2 周一次，接着后续周期中每 4 周一次直至疾病有进展。
第 2 部分：组 5	实验数值	将 1200mg 达雷木单抗静脉内（IV）施用给参与者，周期 1 和 2 中每周一次，周期 3-6 中每 2 周一次，接着后续周期中每 4 周一次直至疾病有进展。

[0707] 表7：

[0708]

干预措施名称	类型	相关部门	说明
达雷木单抗皮下（SC）输注	药物	第 1 部分：组 1 第 1 部分：组 2 第 1 部分：组 3 第 2 部分：组 4	参与者将接受达雷木单抗 sc 输注，周期 1（每周期为 28 天）和 2 中每周一次，周期 3-6 中每 2 周一次，并在后续周期中每 4 周一次
重组人透明质酸酶[rHuPH20]) SC 输注		第 1 部分：组 1 第 1 部分：组 2 第 1 部分：组 3 第 2 部分：组 4	参与者将经由 SC 输注接受重组人透明质酸酶[rHuPH20])连同达雷木单抗，周期 1（每周期为 28 天）和 2 中每周一次，周期 3-6 中每 2 周一次，并在后续周期中每 4 周一次
达雷木单抗静脉内（IV）输注		第 2 部分：组 5	参与者将接受达雷木单抗 1200mg IV 输注，周期 1（每周期为 28 天）和 2 中每周一次，周期 3-6 中每 2 周一次，并在后续周期中每 4 周一次。

[0709] 适任:

[0710] 参与者根据国际骨髓瘤工作组(IMWG)诊断被证明具有症状性(具有症状)多发性骨髓瘤(MM)

[0711] 标准:

[0712] -可度量疾病,如由以下项中任一者定义:(a)免疫球蛋白(Ig)G骨髓瘤(血清单克隆副蛋白[M-蛋白质]水平>=1.0克/分升[g/dL]或尿液M-蛋白质水平大于或等于(>=)200毫克[mg]/24小时[h];或者(b)

[0713] IgA、IgD、或IgE多发性骨髓瘤(血清M-蛋白质水平>=0.5g/dL或尿液蛋白质水平>=200mg/24小时);或(c)轻链型多发性骨髓瘤(血清免疫球蛋白游离轻链>=10mg/dL以及异常血清免疫球蛋白kλ游离轻链比率)

[0714] -参与者必须具有0、1或2的东部肿瘤协作组(ECOG)体能状态得分

[0715] -预治疗临床实验室值必须在筛选阶段满足方案规定的参数

[0716] -与有生育可能的女性性行为活跃且未结扎输精管的男性必须同意使用如研究人员认为合适的适当避孕方法,而且还必须同意在研究期间和最后给予达雷木单抗后4月不献精

[0717] 排除标准:

[0718] -参与者先前已接受达雷木单抗或其它抗分化簇38(抗CD38)疗法

[0719] -参加者已在周期1第1天前2周之内接受抗髓瘤治疗

[0720] -参与者先前已接受异源干细胞移植;或参与者已在周期1第1天前12周之内接受自体干细胞移植(ASCT)

[0721] -参与者在周期1第1天前5年之内具有恶性肿瘤的历史(例外是皮肤的鳞状和基底细胞癌以及子宫颈原位癌、或研究人员联合赞助商的医疗监测器所主张的恶性肿瘤被视为在最低复发风险下可治愈)

[0722] -参与者表现出多发性骨髓瘤侵犯脑膜的临床征象

[0723] 性别:两种

[0724] 年龄限制:18岁

[0725] 接受健康志愿者:否

[0726] 第1部分的临时读出(对于安全性/人口统计/疾病历史,数据截止2016年7月21日;对于功效数据,数据截止2016年7月28日)

[0727] 方法

[0728] 患者患有RRMM,具有≥2种前期治疗,包括蛋白酶体抑制剂(PI)和免疫调节药物(IMiD)。第2部分研究中的第1部分加入了1200mg和1800mg DARA剂量水平的连续组,以确定第2部分的推荐SC剂量。DARA-PH20以4周治疗周期施用:QW为8周,Q2W为16周,随后为Q4W。DARA-PH20经由注射器泵在腹腔上轮流部位处在20min内以60mL中1200mg的剂量或在30min内90mL中1800mg的剂量输注。先输注和/或后输注药物包括扑热息痛、苯海拉明、孟鲁斯特和甲泼尼龙。在第2部分中,将参与者随机化为1:1,以接受SC DARA-PH20的所推荐2期剂量(RP2D)或IV DARA(16mg/kg)。DARA-PH20的RP2D将基于获自第1部分的药代动力学和安全数据的累计评论进行选择,并应当在每周给药期间实现最大血清Ctrough,其类似或高于对批准的16mg/kg IV剂量所观察的。主要终点是DARA的Ctrough(多至周期3第1天)和安全性。次

要终点包括总响应率(ORR)。

[0729] 结果

[0730] 迄今为止,41位参与者在第1部分中用SC DARA-PH20以1200mg(n＝8)和1800mg(n＝33)剂量水平治疗。输注相关反应(IRR)报告为9/41位参与者(22%),并且大部分严重程度等级为1/2,包括发冷、发热、寒颤、呕吐、瘙痒、舌水肿、非心性胸痛和哮喘。在第一次输注后,一位参与者发展为3级呼吸困难,并且1位参与者因发热和发冷(均为2级)而需要住院治疗。所有IRR在第一次SC输注后6小时期间或之内发展,并且用抗组胺剂、皮质类固醇、止吐药或支气管扩张剂治疗进行控制。后续输注报告没有IRR。总体而言,DARA-PH20的不良事件特征与IV DARA一致。在5/41(12%)位参与者中报告了3级或更高级药物相关不良事件,包括疲乏(2位参与者)、流行性感冒、高血压、呼吸困难和肿瘤溶解综合征。SC施用DARA-PH20在腹壁注射部位耐受性良好,有3/41(7%)位参与者报告为1级红斑、硬结或灼热感。相比于IV DARA(16mg/kg)后实现的最大Ctrough,分析显示出1800mg组中的最大Ctrough较高。

[0731] 在1200mg组的8位参与者中(5次早期治疗的中值[范围2-10];先前ASCT,63%;仅顽固性PI,0%;仅顽固性IMiD,13%;对PI和IMiD双重难以治愈,63%),观察到25%的ORR,包括2次部分响应(PR)。中值响应时间为14(范围8-20)周。在周期3第1天评估情况下,1800mg组的17位响应可评估参与者中(4次前期治疗的中值[范围2-7];先前ASCT,76%;仅顽固性PI,6%;仅顽固性IMiD,12%;对PI和IMiD双重难以治愈,65%),观察到41%的ORR,包括3次极好的部分响应和4次PR。中值响应时间为4(范围4-8)周。

[0732] 结论:

[0733] SC DARA-PH20耐受性良好并且实现类似于或高于IV DARA的血清谷浓度,并且IRR率在显著较短的输注时间内相比于IV DARA而言较低。初步数据表明,在该参与者群体中,SC DARA-PH20可允许与IV DARA单一疗法相似的响应率。将1800mg剂量水平的DARA-PH20选择为研究第2部分的RP2D。这些早期数据支持了临床试验中SC DARA的进一步研究。

[0734] 实施例3:达雷木单抗与透明质酸酶的共制剂的开发

[0735] 对各种共制剂进行评价,从而确立共配制产物中达雷木单抗和rHuPH20的总体物理化学稳定性和递送。在一些稳定性和/或动物研究(架藏稳定性、摇动稳定性和猪输注研究中)中评价制剂中活性组分和/或赋形剂浓度的影响。表8提供了被用于各种研究的制剂的汇总。

[0736] 表8:

[0737]

制剂	达雷木单抗 (mg/mL)	rHuPH20 (U/mL)	His (mM)	山梨糖醇/蔗糖(mM)	PS20 (%w/v)	Met (mg/mL)	pH
1	100	500	10	300	0.04	2	5.5
2	120	2000	10	300	0.04	1	5.6
3	100	500	10	300	0.0	2	5.5
4	100	500	10	300	0.01	2	5.5
5	100	500	10	300	0.02	2	5.5
6	100	500	10	300	0.06	2	5.5
7	100	0	10	200/ 100	0.04	0	5.5
8	100	0	10	100/ 200	0.04	0	5.5
9	100	50	10	300	0.04	1	5.5
10	100	500	10	300	0.04	1	5.5
11	100	2000	10	300	0.04	1	5.5
12	100	5000	10	300	0.04	1	5.5
His: 组氨酸 Met: 甲硫氨酸							

[0738] 测试制剂中赋形剂和活性组分的范围示于表9中。

[0739] 表9:

[0740]

制剂组分	范围
rHuPH20	0-2000U/mL
达雷木单抗	100-120mg/mL
组氨酸	10mM
山梨糖醇	100-300mM
蔗糖	0-200mM
聚山梨醇酯-20(PS20)	0.0-0.04%(w/v)
甲硫氨酸	0-2mg/mL

[0741] 在各种测定中测试所产生制剂的特征,包括评价显微可见微粒、微血管造影成像(MFI)、尺寸排阻色谱法(SEC)、毛细管等电聚焦(cIEF)、SDS-PAGE(非还原和还原)、肽作图、可提取体积、浊度、渗透度和pH。

[0742] 显微可见微粒(Sub-vis):≥10μm或≥25μm的显微可见颗粒尺寸数通常为蛋白质分子的聚集体,并且可通过光阻HIAC法测定,由此使溶液通过小孔,并且光阻挡提供了通过的颗粒尺寸的信息。

[0743] MFI:与光阻法正交,微血管造影成像(MFI)拍摄流动通过的颗粒的快照图像并再转换回特定体积液体中存在的颗粒数。该方法提供溶液中存在的较大蛋白质聚集体的信息。

[0744] SEC:尺寸排阻色谱分离法,由此柱用于分布根据其较宽尺寸范围而流动通过的溶液内分子。单体、聚集体和片段在不同的时间从柱洗脱出,并因此它们在样品中的相对比例可使用标准UV检测器进行量化。

[0745] cIEF:毛细管等电聚焦根据分子上的电荷来分布分子,并为总体化学稳定性的良好指标。例如,脱酰胺作用可导致分子电荷变化并因此将经由该方法获得。该方法提供了溶液中存在的分子的总酸性、碱性和完整%的观点。

[0746] SDS(还原和非还原条件):SDS方法提供分子的物理稳定性的信息。SDS提供了溶液

中存在的完整、聚集和片段化物类的测量。非还原SDS提供了抗体相应的完整、聚集和片段化组分的信息,而还原SDS(二硫化物破坏后)则提供抗体重链和轻链的相同信息。

[0747] 肽作图:肽作图是研究蛋白质的主要结构的重要技术。对于重组蛋白质药物,肽作图用于结构表征的初步验证。肽作图还提供了翻译后修饰(例如脱酰胺化、氧化等)的信息。

[0748] 可提取体积:该方法提供在相应时间点后可从小瓶中抽出的液体的量/体积的信息。

[0749] 浊度:评估溶液的物理稳定性的基于光散射的方法。颗粒或聚集体的尺寸增大导致光散射信号增大,因此获得为溶液的浊度(乳白光)。浊度以比浊法浊度单位(NTU)测量。

[0750] 渗透度:提供总渗透活性的测量,其取决于分子的总真实活性(活度系数乘以浓度)。溶液必须接近待注射血清的渗透度。

[0751] pH:提供总体稳定性的观点,并且重要的是pH在整个储存寿命期间保持恒定。

[0752] rHuPH20酶活性:透明质酸酶活性的测定基于透明质酸(HA)与酸化血清结合时形成的沉淀。该活性通过将透明质酸酶与HA在96孔板形式中于37℃温育30分钟,然后加入酸化血清使未消化的HA沉淀来测量。在640nm处测量所得浊度,并且由HA底物的酶裂解引起的浊度下降是透明质酸酶活性的量度。

[0753] 使用所述测定法评价制剂1的架藏稳定性(100mg/mL达雷木单抗、10mM组氨酸、300mM山梨糖醇、0.04%PS20、2mg/mL甲硫氨酸、500U/mL PrHuh20,pH 5.5)。在不同温度(5℃、25℃和40℃)下,使样品在25R小瓶(填充于16mL体积)中保持稳定性,并在不同时间点(0、1、2、3、4、5和/或6个月)使用各种测定取出小瓶进行分析。数据指示对于达雷木单抗以及rHuPH20两者,共配制产物在储存条件下是稳定的,如由各种测定法所指示。如对颗粒、颜色、浊度、sec等所观察的特征与良好表现的稳定抗体极为相似,并且所述数据相当于某些商业mAb制剂的稳定性数据。

[0754] 表10示出了如用HIAC所评估的随时间推移制剂1中的颗粒数。

[0755] 表11示出了如用MFI所评估的随时间推移制剂1中的颗粒数。

[0756] 表12示出了随时间推移制剂1的pH。

[0757] 表13示出了随时间推移制剂1的浊度。

[0758] 表14示出了随时间推移制剂1中高分子量聚集体和低分子量片段的比例。

[0759] 表15示出了如用cIEF所评估的随时间推移制剂1中的酸性和碱性物类。

[0760] 表16示出了如用还原SDS-PAGE所评估的随时间推移制剂1的纯度百分比(%)。

[0761] 表17示出了如用非还原SDS-PAGE所评估的随时间推移制剂1的纯度百分比(%)。

[0762] 表18示出了随时间推移制剂1中的达雷木单抗的生物活性百分比(%)和rhPH20的酶活性。

[0763] 表10:

[0764]

储存温度（℃）	颗粒尺寸≥10μM 或≥25μM 的平均累积计数/mL					
	0 个月		3 个月		6 个月	
	≥10μm	≥25μm	≥10μm	≥25μm	≥10μm	≥25μm
5	7.17	6.33	6.5	4.8	42.50	30.83
25	7.17	6.33	5.5	1.8	110.50	81.83
40	7.17	6.33	64.5	44.8		

[0765] 表11：

[0766]

	0 个月	3 个月			6 个月	
Temperature (℃)=温度(℃)	5	5	25	40	5	25
颗粒/mL ≥2 - <10μm ECD	539	1155	3668	3371	686	3581
颗粒/mL ≥10 - <25μm ECD	9.3	39	93	80	36	105
颗粒/mL ≥25 - <70μm ECD	1.4	2.6	13	9.3	7.4	7.2
颗粒/mL ≥70μm ECD	0.5	0.2	0.2	0.2	0.0	0.5

[0767] 表12：

[0768]

储存温度（℃）	随储存时间（月）推移的 pH				
	0m	1m	2m	3m	6m
5	5.7	NA	5.7	5.7	5.6
25	5.7	5.7	5.7	5.7	5.6
40	5.7	5.7	5.6	5.7	NA
m: 月					
NA: 未分析					

[0769] 表13：

[0770]

储存温度（℃）	随储存时间（月）推移的平均 NTU				
	0m	1m	2m	3m	6m
5	3.5		3.5	3.5	3.4
25	3.5	3.5	3.6	3.7	4.6
40	3.5	4	5.5	8.2	NA
m: 月					

[0771]

NTU: 比浊法浊度单位
NA: 未分析

[0772] 表14：

[0773]

		物类百分比（%）		
储存时间（月）	储存温度（℃）	HMW	单体	LMW
0	5	0.74	99.25	0.01
	25	0.74	99.25	0.01
	40	0.74	99.25	0.01
3	5	0.84	99.16	0.02
	25	1.11	98.75	0.14
	40	1.87	94.50	3.64
6	5	0.89	99.10	NA
	25	1.30	98.38	NA
	40	NA	NA	NA
HMW：高分子量物类				
LMW：低分子量物类				
NA：未分析				

[0774] 表15：

[0775]

储存时间（月）	储存温度（℃）	主峰%	酸性峰%	碱性峰%
0	5	69.2	27.8	3
	25	69.2	27.8	3
	40	69.2	27.8	3
3	5	68.2	28.9	2.9
	25	63	32.8	4.2
	40	31.3	60.2	8.5
6	5	68.1	28.7	3.2
	25	55.4	38	6.6
	40	NA	NA	NA
NA：未分析				

[0776] 表16

[0777]

储存温度（℃）	随储存时间（以月计）推移的纯度%

[0778]

	0m	1m	2m	3m	6m
5	98.16	NA	97.96	98	98.02
25	98.16	97.87	97.66	97.57	96.75
40	98.16	96.4	95	92.88	NA
m：月					
NA：未分析					

[0779] 表17：

[0780]

储存温度（℃）	随储存时间（以月计）推移的纯度%				
	0	1	2	3	6
5	97.56		97.64	97.64	97.5
25	97.56	97.27	96.97	96.62	95.63
40	97.56	94.84	92.61	89.37	NA
m: 月					
NA: 未分析					

[0781] 表18：

[0782]

分子	测定	存储时间和温度		
		0个月	6个月	6个月
			5℃	25℃
达雷木单抗	ADCC*	102	103	83
	CDC*	95	101	93
PH20	酶活性**	574	600或584?	609
*对照百分比 **U/mL				

[0783] 还使用以上测定法评估制剂1的搅拌(摇动)稳定性,以表征制剂并通过仅改变该制剂中PS20的浓度(表8中的制剂1、3、4、5和6,其中PS20变化为0％、0.01％、0.02％、0.04％、0.06％)来研究PS浓度的影响。数据指示对于达雷木单抗以及酶两者,共制剂在摇动条件下是稳定的,如由各种测定法所指示。对于除0％(0％PS20制剂具有颗粒并且不稳定)之外的所有浓度的PS,如对颗粒、颜色、浊度、sec等所观察的特征与良好表现的稳定抗体极为相似,并且所述数据相当于某些商业mAb制剂的稳定性数据(数据未示出)。

[0784] 使用所述测定法评价制剂2的架藏稳定性(120mg/mL达雷木单抗、10mM组氨酸、300mM山梨糖醇、0.04％PS20、1mg/mL甲硫氨酸、2000U/mL rhuPH20,pH 5.5)。在不同温度下,使样品在充满(1500mg剂量)的填充于13.27mL体积的25R小瓶中保持稳定性,并使用如下各种测定取出小瓶进行分析。采集的数据指示,对于达雷木单抗以及rHuPH20两者,共配制产物在储存条件下是稳定的。如对颗粒、颜色、浊度、sec等所观察的特征与良好表现的稳定抗体极为相似,并且所述数据相当于某些商业mAb制剂的稳定性数据。rhuPH20在较高温度下极为敏感并在40℃储存时极快地丧失所有活性。表19示出制剂的特征。

[0785] 表19：

[0786]

	储存时间、温度和相对湿度（RH）		
特征和/或测定	0个月	1个月	1个月
	5℃	40℃/75%RH	25℃/60%RH
颗粒尺寸2-10μm的平均累积计数/mL	58.89	375.68	4285.81
颗粒尺寸10-25μm的平均累积计数/mL	3.34	12.96	1.98
颗粒尺寸≥25μm的平均累积计数/mL	1.23	.49	.12
PS20（% w/v）	0.038	0.02	0.03
pH	5.6	5.6	5.6
浊度(NTU)	5	11	6
纯度%（cSDS，还原）	98.4	98.6	98.1
AGHC%，非糖基化重链（cSDS，还原）	0.4	0.5	0.4
纯度%（cSDS，非还原）	97.7	95.2	97.7
%单体，SE-HPLC	99.1	98.0	98.8
%聚集体，SE-HPLC	0.9	1.6	1.1
%片段SE-HPLC	<0.10	0.4	<0.10
达雷木单抗生物活性，CDC（对照%）	105	88	99
达雷木单抗生物活性，ADCC（对照%）	99	73	103
rhuPH20活性（U/mL）	2205	0	2258

[0787] 使用所述的某些或所有测定来测试制剂3-8的架藏稳定性或摇动稳定性。数据表明对于达雷木单抗以及HuPH20两者,制剂3-8在所评估的条件下是稳定的(制剂7和8不具有rHuPH20)。甲硫氨酸包含于制剂1-6和9-12中,以提供额外的氧化稳定性。如对颗粒、颜色、浊度、sec等所观察的特征与良好表现的稳定抗体极为相似,并且所述数据相当于某些商业mAb制剂的稳定性数据(数据未示出)。

[0788] 还使用以上测定法评估制剂1的搅拌(摇动)稳定性,以表征制剂并通过仅改变该制剂中PS20的浓度(表8中的制剂1、3、4、5和6,其中PS20变化为0％、0.01％、0.02％、0.04％、0.06％)来研究PS20浓度的影响。数据指示对于达雷木单抗以及rHuPH20两者,共制剂在摇动条件下是稳定的,如由各种测定法所指示。对于除0％之外的所有浓度PS,如对颗粒、颜色、浊度、sec等所观察的特征与良好表现的稳定抗体极为相似,并且所述数据相当于某些商业mAb制剂的稳定性数据(数据未示出)。

[0789] 对于猪模型中皮下施用达雷木单抗与不同浓度的酶的评估(如实施例2中所述),还对制剂9-12进行了评价。进行这些研究以确定递送16mL达拉单抗的rhPH20适宜浓度。如果可测量和定性评估部位,终点为输注压力、肿胀或疱面积。观察到输注压力剂量依赖性增大。所测试的所有rhPH20浓度(50U/mL、500U/mL、2000U/mL、5000U/mL)足以递送16mL的达雷木单抗。