



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113747944 A

(43) 申请公布日 2021.12.03

(21) 申请号 202080029844.2

(22) 申请日 2020.04.17

(30) 优先权数据

62/836270 2019.04.19 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.10.19

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2020/053683 2020.04.17

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/212947 EN 2020.10.22

(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 T·麦克德维特 S·谢蒂 H·谢

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 黄登高 彭昶

(51) Int.Cl.

A61P 13/08 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 16/30 (2006.01)

权利要求书1页 说明书89页

序列表20页 附图9页

(54) 发明名称

用抗PSMA/CD3抗体治疗前列腺癌的方法

(57) 摘要

本文示出了用于治疗癌症的双特异性单克隆抗体和方法。

1. 一种治疗患者的前列腺癌的方法,所述方法包括向所述患者施用安全量的抗PSMA_xCD3抗体片段,其中所述抗PSMA_xCD3抗体包含特异性结合PSMA的第一结合结构域和特异性结合CD3的第二结合结构域,其中所述第一结合结构域包含SEQ ID NO: 7的重链(HC)和SEQ ID NO: 8的轻链(LC),并且所述第二结合结构域包含SEQ ID NO: 17的重链(HC)和SEQ ID NO: 18的轻链(LC)。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述患者患有转移性去势抵抗性前列腺癌(mCRPC)。

3. 根据权利要求2所述的方法,其中所述抗PSMA_xCD3抗体以第1周约0.1μg/kg的剂量静脉内(IV)施用于所述患者。

4. 根据权利要求3所述的方法,其中所述抗PSMA_xCD3抗体以约0.1μg/kg的剂量开始每周一次静脉内(IV)施用于所述患者。

5. 根据权利要求4所述的方法,其中所述抗PSMA_xCD3抗体如下每周一次静脉内(IV)施用于所述患者:以约0.1μg/kg的剂量开始,随后是由第2周约0.3μg/kg、第3周约1μg/kg、第4周约3μg/kg、第5周约10μg/kg、第6周约20μg/kg、第7周约40μg/kg、第8周约80μg/kg和第9周约120μg/kg组成的剂量递增方案。

6. 根据权利要求3所述的方法,其中所述抗PSMA_xCD3抗体以约0.1μg/kg的剂量开始每周两次静脉内(IV)施用于所述患者。

7. 一种药物组合物,所述药物组合物用于在治疗患者的前列腺癌中使用,所述药物组合物包含SEQ ID NO: 7、8、17和18的抗原结合蛋白,其中所述组合物如下施用于所述患者:以第1周约0.1μg/kg的初始剂量,随后是由第2周0.3μg/kg、第3周1μg/kg、第4周3μg/kg、第5周10μg/kg、第6周20μg/kg、第7周40μg/kg、第8周80μg/kg和第9周120μg/kg组成的剂量递增方案。

8. 根据权利要求7所述的组合物,其中所述患者患有转移性去势抵抗性前列腺癌(mCRPC)。

用抗PSMA/CD3抗体治疗前列腺癌的方法

[0001] 序列表

[0002] 本申请包含已经以ASCII格式电子递交的序列表,并且据此全文以引用方式并入。所述ASCII副本创建于2020年2月26日,命名为JBI6080USPSP1_SL.txt,并且大小为47,009字节。

技术领域

[0003] 本发明涉及通过施用抗PSMA/CD3抗体来提供前列腺癌的治疗方法,该前列腺癌包括去势抵抗性前列腺癌、转移性去势抵抗性前列腺癌、去势敏感性前列腺癌和非转移性去势抵抗性前列腺癌。

背景技术

[0004] 对于男性而言,前列腺癌是第二常诊断出的癌症和第六大癌症致死原因,在全世界男性中占总新癌症病例的14% (903,500) 以及总癌症死亡的6% (258,400)。转移性前列腺癌是美国男性癌症死亡的第二大主要原因。基于疾病的程度、激素状态以及是否存在可检测到的转移,将前列腺癌从被诊断出到死亡的过程最恰当地分类为以下一系列临床分期:局部疾病、放射疗法或外科手术后前列腺特异性抗原(PSA)的水平升高但不存在可检测到的转移,以及在非去势或去势期的临床转移。虽然外科手术、放射或这两者的组合对于患有局部疾病的患者可能有效,但是这些患者中有相当比例会复发,如通过PSA的水平升高所证实,复发可导致转移进一步发展,特别是在高风险组中转变为该疾病的致死期。

[0005] 前列腺特异性膜抗原(PSMA)是一种II型膜蛋白,其在前列腺上皮内瘤(PIN)(前列腺上皮内瘤是其中一些前列腺细胞已开始外观和行为异常的病症)以及原发性和转移性前列腺癌中高度表达(Bostwick DG,Pacelli A,Blute M,Roche P,Murphy GP.Prostate specific membrane antigen expression in prostatic intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma:A study of184cases.Cancer 1998;82(11):2256-2261)。PSMA在癌症组织中的表达与疾病的阶段和Gleason评分相关(Kawakami M,Nakayama J.Enhanced expression of prostate-specific membrane antigen gene in prostate cancer as revealed by in situ hybridization.Cancer Res 1997;57(12):2321-2324)。PSMA在来自激素难治性患者的前列腺癌细胞中的表达也较高(Wright GL Jr,Grob BM,Haley C,Grossman K,Newhall K,Petrylak D,Troyer J,KonchubaA,Schellhammer PF,Moriarty R.Upregulation of prostate-specific membrane antigen after androgen-deprivation therapy.Urology 1996;48(2):326-334),并且PSMA表达的增加已显示是疾病复发的独立标记物(Mitsiades CS,Lembessis P,Sourla A,Milathianakis C,TsintavisA,Koutsilieris M.Molecular staging by RT-pCR analysis for PSA and PSMA in peripheral blood and bone marrow samples is an independent predictor of time to biochemical failure followingradical prostatectomy for clinically localized prostate cancer.Clin Exp Metastasis 2004;21(6):495-505)。在经手术治

疗的前列腺癌中,高水平的PSMA表达与早期前列腺特异性抗原(PSA)的复发相关。PSMA表达水平与疾病的侵袭性相关,并由此强烈支持PSMA作为前列腺癌表征和后续治疗的优异靶标。

[0006] 目前针对前列腺癌的治疗包括外科手术、放射疗法和激素疗法。尽管通过激素疗法降低睾酮水平,但前列腺癌也生长时,治疗选择是有限的。通常,将癌症疫苗sipuleucel-T、放射性药物剂(诸如,氯化镭223)、辅助激素疗法(诸如醋酸阿比特龙加泼尼松/泼尼松龙、恩扎鲁胺或阿帕鲁胺)和/或化学疗法(多西他赛和卡巴他赛)依次添加到激素疗法中。虽然这些治疗方法中的每一种都可以将癌症生长延缓数月并减轻这种疾病产生的症状,但是这种疾病最终会对这些治疗方法产生抗药性。这强调了对表达PSMA的晚期前列腺癌的更多改善的治疗和有效疗法的需要。

发明内容

[0007] 一般和优选的实施方案分别由本文所附的独立权利要求和从属权利要求限定,为了简洁起见,这些权利要求以引用方式并入本文。根据下面结合附图的详细描述,本发明的各个方面的其他优选的实施方案、特征和优点将变得显而易见。

[0008] 本发明涉及通过向患有前列腺癌的人类男性施用安全量的抗PSMAxCD3抗体来治疗包括转移性去势抵抗性前列腺癌(mCRPC)的前列腺癌的方法。

[0009] 在某些实施方案中,本发明提供了一种治疗患有前列腺癌的患者的前列腺癌的方法,该方法包括以下步骤、由以下步骤组成和/或基本上由以下步骤组成:以安全量向患者施用抗PSMAxCD3抗体片段,其中抗PSMA xCD3抗体包含以下物质、由以下物质组成和/或基本上由以下物质组成:特异性结合PSMA的第一结合结构域和特异性结合CD3的第二结合结构域,其中第一结合结构域包含SEQ ID NO:7的重链(HC)和SEQ ID NO:8的轻链(LC),并且第二结合结构域包含SEQ ID NO:17的重链(HC)和SEQ ID NO:18的轻链(LC)。

[0010] 在另一个实施方案中,本发明提供了一种治疗患有前列腺癌的患者的前列腺癌的方法,该方法包括以下步骤、由以下步骤组成和/或基本上由以下步骤组成:以安全量向患者施用抗PSMAxCD3抗体片段,其中抗PSMA x CD3抗体包含特异性结合PSMA的第一结合结构域和特异性结合CD3的第二结合结构域,其中第一结合结构域包含SEQ ID NO:7的重链(HC)和SEQ ID NO:8的轻链(LC),并且第二结合结构域包含SEQ ID NO:17的重链(HC)和SEQ ID NO:18的轻链(LC),其中患者患有转移性前列腺癌。

[0011] 在另一个实施方案中,本发明提供了一种治疗患有前列腺癌的患者的前列腺癌的方法,该方法包括以下步骤、由以下步骤组成和/或基本上由以下步骤组成:以安全量向患者施用抗PSMAxCD3抗体片段,其中抗PSMA x CD3抗体包含特异性结合PSMA的第一结合结构域和特异性结合CD3的第二结合结构域,其中第一结合结构域包含SEQ ID NO:7的重链(HC)和SEQ ID NO:8的轻链(LC),并且第二结合结构域包含SEQ ID NO:17的重链(HC)和SEQ ID NO:18的轻链(LC),其中前列腺癌是转移性去势抵抗性前列腺癌(mCRPC)。

[0012] 在另一个实施方案中,本发明提供了一种治疗患有前列腺癌的患者的前列腺癌的方法,该方法包括以下步骤、由以下步骤组成和/或基本上由以下步骤组成:以安全量向患者施用抗PSMAxCD3抗体片段,其中抗PSMA x CD3抗体包含特异性结合PSMA的第一结合结构域和特异性结合CD3的第二结合结构域,其中第一结合结构域包含SEQ ID NO:7的重链(HC)

和SEQ ID NO:8的轻链(LC),并且第二结合结构域包含SEQ ID NO:17的重链(HC)和SEQ ID NO:18的轻链(LC),其中所述患者尽管接受了雄激素受体(AR)靶向疗法仍患有复发性疾病。

[0013] 在另一个实施方案中,本发明提供了一种治疗患有前列腺癌的患者的前列腺癌的方法,该方法包括以下步骤、由以下步骤组成和/或基本上由以下步骤组成:向患者施用抗PSMAxCD3抗体片段,其中抗PSMA x CD3抗体包含特异性结合PSMA的第一结合结构域和特异性结合CD3的第二结合结构域,其中第一结合结构域包含SEQ ID NO:7的重链(HC)和SEQ ID NO:8的轻链(LC),并且第二结合结构域包含SEQ ID NO:17的重链(HC)和SEQ ID NO:18的轻链(LC),其中患者患有转移性去势抵抗性前列腺癌,并且患者尽管接受了雄激素受体(AR)靶向疗法仍患有复发性疾病,并且其中抗PSMAxCD3抗体以约0.1ug/kg的剂量静脉内(IV)施用于患者。

[0014] 在另一个实施方案中,本发明提供了一种治疗患有前列腺癌的患者的前列腺癌的方法,该方法包括以下步骤、由以下步骤组成和/或基本上由以下步骤组成:向患者施用抗PSMAxCD3抗体片段,其中抗PSMA x CD3抗体包含特异性结合PSMA的第一结合结构域和特异性结合CD3的第二结合结构域,其中第一结合结构域包含SEQ ID NO:7的重链(HC)和SEQ ID NO:8的轻链(LC),并且第二结合结构域包含SEQ ID NO:17的重链(HC)和SEQ ID NO:18的轻链(LC),其中前列腺癌是转移性去势抵抗性前列腺癌,患者尽管接受了雄激素受体(AR)靶向疗法仍患有复发性疾病,并且其中抗PSMAxCD3抗体如下静脉内(IV)施用于患者:以第1周约0.1μg/kg的初始剂量,随后是包括第2周约0.3μg/kg、第3周约1μg/kg、第4周约3μg/kg、第5周约10μg/kg、第6周约20μg/kg、第7周约40μg/kg、第8周80μg/kg和第9周约120μg/kg的剂量递增方案。

[0015] 在另一个实施方案中,本发明提供了一种治疗患者的前列腺癌的方法,该方法包括以下步骤、由以下步骤组成和/或基本上由以下步骤组成:向患者施用抗PSMAxCD3抗体片段,其中抗PSMA x CD3抗体包含特异性结合PSMA的第一结合结构域和特异性结合CD3的第二结合结构域,其中第一结合结构域包含SEQ ID NO:7的重链(HC)和SEQ ID NO:8的轻链(LC),并且第二结合结构域包含SEQ ID NO:17的重链(HC)和SEQ ID NO:18的轻链(LC),其中所述患者患有转移性去势抵抗性前列腺癌,并且所述患者尽管接受了雄激素受体(AR)靶向疗法仍患有复发性疾病,并且其中抗PSMAxCD3抗体以剂量递增静脉内(IV)施用于患者,该剂量递增包括第1周约0.1μg/kg的初始剂量,随后是由第2周约0.3μg/kg、第3周约1μg/kg、第4周约3μg/kg、第5周约10μg/kg、第6周约20μg/kg、第7周约40μg/kg、第8周约80μg/kg和第9周约120μg/kg组成的剂量递增方案。

[0016] 在另一个实施方案中,本发明提供了一种治疗患者的前列腺癌的方法,该方法包括以下步骤、由以下步骤组成和/或基本上由以下步骤组成:向患者施用抗PSMAxCD3抗体片段,其中抗PSMA x CD3抗体包含特异性结合PSMA的第一结合结构域和特异性结合CD3的第二结合结构域,其中第一结合结构域包含SEQ ID NO:7的重链(HC)和SEQ ID NO:8的轻链(LC),并且第二结合结构域包含SEQ ID NO:17的重链(HC)和SEQ ID NO:18的轻链(LC),其中患者患有转移性去势抵抗性前列腺癌,并且患者尽管接受了雄激素受体(AR)靶向疗法仍患有复发性疾病,并且其中抗PSMAxCD3抗体如下静脉内(IV)施用于患者:以第1周约0.1μg/kg的初始剂量,随后是由第2周约0.3μg/kg、第3周约1μg/kg、第4周约3μg/kg、第5周约10μg/kg、第6周约20μg/kg、第7周约40μg/kg、第8周约80μg/kg和第9周约120μg/kg组成的剂量递

增方案。

[0017] 在一些实施方案中,本发明提供了一种药物组合物,该药物组合物用于在治疗患者的前列腺癌中使用,该药物组合物包含以下物质、由以下物质组成和/或基本上由以下物质组成:SEQ ID NO:7、8、17和18的抗原结合蛋白,其中组合物如下施用于患者:以第1周约0.1 μ g/kg的初始剂量,随后是由第2周约0.3 μ g/kg、第3周约1 μ g/kg、第4周约3 μ g/kg、第5周约10 μ g/kg、第6周约20 μ g/kg、第7周约40 μ g/kg、第8周约80 μ g/kg和第9周约120 μ g/kg组成的剂量递增方案。

[0018] 在另一个实施方案中,本发明提供了一种药物组合物,该药物组合物用于在治疗患者的前列腺癌中使用,该药物组合物包含以下物质、由以下物质组成和/或基本上由以下物质组成:SEQ ID NO:7、8、17和18的抗原结合蛋白,其中组合物如下施用于患者:以第1周0.1 μ g/kg的初始剂量,随后是由第2周约0.3 μ g/kg、第3周约1 μ g/kg、第4周约3 μ g/kg、第5周约10 μ g/kg、第6周约20 μ g/kg、第7周约40 μ g/kg、第8周约80 μ g/kg和第9周约120 μ g/kg组成的剂量递增方案,并且其中前列腺癌是去势抵抗性前列腺癌。

[0019] 在另一个实施方案中,本发明提供了一种药物组合物,该药物组合物用于在治疗患者的前列腺癌中使用,该药物组合物包含以下物质、由以下物质组成和/或基本上由以下物质组成:SEQ ID NO:7、8、17和18的抗原结合蛋白,其中组合物如下施用于患者:以第1周约0.1 μ g/kg的初始剂量,随后是由第2周约0.3 μ g/kg、第3周约1 μ g/kg、第4周约3 μ g/kg、第5周约10 μ g/kg、第6周约20 μ g/kg、第7周约40 μ g/kg、第8周约80 μ g/kg和第9周约120 μ g/kg组成的剂量递增方案,并且其中前列腺癌是转移性去势抵抗性前列腺癌(mCRPC)。

附图说明

[0020] 图1示出了CD3B146与原代人T细胞的结合。

[0021] 图2示出了CD3B146与食蟹猴原代T细胞的结合。

[0022] 图3示出了CD3B146在体外活化原代人T细胞。阴性对照以白色示出,并且阳性对照以黑色示出。

[0023] 图4示出了CD3B146在体外活化原代食蟹猴T细胞。阴性对照以白色示出,并且阳性对照以黑色示出。非CD3e交叉反应性抗体G11用作附加的阴性对照。

[0024] 图5示出了PS3B27的T细胞活化。

[0025] 图6示出了在PBMC人源化NSG小鼠中用PS3B27或对照双特异性抗体处理的HEK293-PSMA异种移植物的肿瘤发生的预防。

[0026] 图7示出了用PS3B27和对照双特异性抗体处理的携带HEK293-PSMA异种移植物的PBMC人源化NSG小鼠的平均体重。

[0027] 图8示出了PS3B27和对照双特异性抗体在预防雄性CD1裸鼠中的混合HEK293-PSMA/T细胞异种移植物的肿瘤发生中的功效。

[0028] 图9示出了用PS3B27和对照双特异性抗体处理的携带混合HEK293-PSMA/T细胞异种移植物的CD1雄性裸鼠的体重。

[0029] 图10A示出了毒理学研究中使用的缓慢递增方案。

[0030] 图10B示出了毒理学研究中使用的快速递增方案。

[0031] 图11示出了剂量递增和剂量扩展计划以及初免剂量计划表的潜在探索的图-第1

部分剂量递增方案和第2部分剂量扩展队列。

[0032] 图12示出了研究设计-第1部分剂量递增阶段的示意性概述。(CRS=细胞因子释放综合征;PK/PD=药代动力学/药效学)

具体实施方式

[0033] 本说明书中所引用的所有出版物,包括专利和专利申请均以引用方式并入本文,如同在本文中完整给出。

[0034] 定义

[0035] 应当了解,本文所用的术语只是为了描述具体实施方案的目的,并非旨在进行限制。除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语的含义与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同。

[0036] 虽然与本文所述的那些方法和材料相似或等效的任意方法和材料都可以用于检验本发明的实践中,然而本文中描述示例性材料和方法。在描述和要求保护本发明时,将使用以下术语。

[0037] 如本说明书和所附权利要求中所用,除非内容另有明确说明,否则单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括复数指代。因此,例如,对“一个细胞”的提及包括两个或更多个细胞的组合等等。

[0038] 除非上下文另有明确要求,否则在整个说明书和权利要求书中,字词“包括”、“包含”等应被理解为包含性意义,而不是排他性或穷举性意义;也就是说,“包括但不限于”的意义。

[0039] “特异性结合”、“特异地结合”或“结合”是指抗体以比针对其他抗原更高的亲和力结合至抗原或抗原内的表位。通常,抗体以约 5×10^{-8} M或更小(例如约 1×10^{-9} M或更小、约 1×10^{-10} M或更小、约 1×10^{-11} M或更小或者约 1×10^{-12} M或更小)的平衡解离常数(K_D)结合至抗原或抗原内的表位,通常该 K_D 为该抗体结合至非特异性抗原(如BSA、酪蛋白)的 K_D 的至多百分之一。可使用本文所述的方案来测量解离常数。然而,结合至抗原或抗原内的表位的抗体可能对其他相关的抗原具有交叉反应性,例如,对来自其他物种(同源)(诸如人或猴,例如食蟹猴(*Macaca fascicularis*) (*cynomolgus*, *cyno*)或黑猩猩(*Pan troglodytes*) (*chimpanzee*, *chimp*)的相同抗原具有交叉反应性。单特异性抗体结合一个抗原或一个表位,而双特异性抗体结合两个不同的抗原或两个不同的表位。

[0040] “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,多特异性抗体(诸如双特异性抗体、三特异性抗体、四特异性抗体等),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他经修饰构型。“全长抗体”包含由二硫键互连的两条重链(HC)与两条轻链(LC)以及它们的多聚体(例如IgM)。每条重链由重链可变区(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区和VL区可进一步细分为超变区,该超变区称为互补决定区(CDR)并间插有框架区(FR)。各个VH和VL由三个CDR和四个FR片段构成,并按以下顺序从氨基端至羧基端排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。

[0041] “互补决定区(CDR)”是结合抗原的抗体区域。CDR可使用各种描绘来定义,诸如Kabat(Wu等人,(1970) J Exp Med 132:211-50)(Kabat等人,“Sequences of Proteins of Immunological Interest”,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md.,1991)、Chothia(Chothia等人,(1987) J Mol Biol 196:901-17)、IMGT(Lefranc等人,(2003) Dev Comp Immunol 27:55-77)和AbM(Martin和Thornton,(1996) J Biol Biol 263:800-15)。描述了各种描绘和可变区编号之间的对应关系(参见例如Lefranc等人,(2003) Dev Comp Immunol 27:55-77;Honegger和Pluckthun,(2001) J Mol Biol 309:657-70;国际免疫遗传学(IMGT)数据库;Web资源,http://www_imgt_org)。可用程序(诸如UCL Business PLC的abYsis)可用于描绘CDR。除非说明书中另有明确地说明,否则如本文所用,术语“CDR”、“HCDR1”、“HCDR2”、“HCDR3”、“LCDR1”、“LCDR2”和“LCDR3”包括由任何上述方法(Kabat、Chothia、IMGT或AbM)定义的CDR。

[0042] 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IgA1、IgA2、IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。基于其恒定域的氨基酸序列,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。

[0043] “抗原结合片段”是指免疫球蛋白分子的结合抗原的部分。抗原结合片段可以是合成的、可酶促获得的或经遗传工程改造的多肽,并且含有VH、VL、VH和VL、Fab、F(ab')₂、Fd和Fv片段、由一个VH结构域或一个VL结构域组成的结构域抗体(dAb)、鲨鱼可变IgNAR结构域、驼峰化VH结构域、由模拟抗体的CDR诸如FR3-CDR3-FR4部分、HCDR1、HCDR2和/或HCDR3以及LCDR1、LCDR2和/或LCDR3的氨基酸残基组成的最小识别单元。VH和VL结构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和VL结构域由单独的单链抗体构建体表达的情况下,VH/VL结构域可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W01998/44001、W01988/01649、W01994/13804和W01992/01047中所述。

[0044] “单克隆抗体”是指从抗体分子的基本上同质群体中获得的抗体,即,除了可能熟知的改变(诸如从抗体重链移除C末端赖氨酸)或翻译后修饰(诸如氨基酸异构化或脱酰胺、甲硫氨酸氧化或天冬酰胺或谷氨酰胺脱酰胺)之外,构成群体的各个抗体是相同的。单克隆抗体通常结合一个抗原表位。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,诸如双特异性的、单价的、二价的或多价的。

[0045] “分离的”是指已经与分子产生于其中的系统(例如重组细胞)中的其他组分基本上分离和/或从其中纯化出来的分子(诸如合成多核苷酸或蛋白质,如抗体)的同质群体,以及已经受至少一个纯化或分离步骤的蛋白质。“分离的抗体”是指基本上不含其他细胞材料和/或化学物质的抗体,并且涵盖分离至更高纯度,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。

[0046] “人源化抗体”是指其中至少一个CDR来源于非人物种并且至少一个框架来源于人免疫球蛋白序列的抗体。人源化抗体在框架中可包含置换,使得该框架可能不是表达的人免疫球蛋白或人免疫球蛋白种系基因序列的精确拷贝。

[0047] “人抗体”是指当施用于患者时被优化以具有最小程度的免疫应答的抗体。人抗体的可变区来源于人免疫球蛋白序列。如果人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免疫球蛋白序列。如果人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,则该人抗体包含“来源于”人起源序列的重链可变区和轻链可变区。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,诸如携带人免疫球蛋白基因座的小鼠或大鼠。由于用于获得人抗体和人免疫球蛋白基因座的系统之间的差异,体细胞突变的引入或有意将置换引入框架或CDR中或两者,因此“人抗体”与在人中表达的免疫球蛋白相比通常包含氨基酸差异。通常,“人抗体”的氨基酸序列与由人种系免疫球蛋白基因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%或99%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(Knappik等人,(2000) J Mol Biol 296:57-86);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(Shi等人,(2010) J Mol Biol 397:385-96;国际专利公布W02009/085462)。

[0048] “人抗体”的定义中不包括至少一个CDR来源于非人物种的抗体。

[0049] “重组体”是指当将来自不同来源的片段连接以产生重组DNA、抗体或蛋白质时,通过重组手段制备、表达、形成或分离的DNA、抗体和其他蛋白质。

[0050] “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。

[0051] “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。双特异性抗体可能对其他相关的抗原具有交叉反应性,例如,对来自其他物种(同源)(诸如人或猴,例如食蟹猴(*Macaca fascicularis*)(*cynomolgus*, *cyno*)或黑猩猩(*Pan troglodytes*))的相同抗原具有交叉反应性,或者可结合两个或更多个不同抗原之间所共享的表位。

[0052] “多特异性”是指特异性结合两个或更多个不同抗原或同一抗原内的两个或更多个不同表位的抗体。多特异性抗体可能对其他相关的抗原具有交叉反应性,例如,对来自其他物种(同源)(诸如人或猴,例如猕猴或黑猩猩)的相同抗原具有交叉反应性,或者可结合两个或更多个不同抗原之间所共享的表位。

[0053] “变体”是指因一处或多处修饰(例如,一个或多个置换、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。

[0054] “载体”是指能够在生物系统内复制或可在这类系统之间移动的多核苷酸。载体多核苷酸通常含有元件诸如复制起点、聚腺苷酸化信号或选择标记物,其功能是促进这些多核苷酸在生物系统,例如细胞、病毒、动物、植物、以及利用能够复制载体的生物组分的重组生物系统中的复制或保持。载体多核苷酸可为单链或双链DNA或RNA分子或这些分子的杂合分子。

[0055] “表达载体”是指可用于在生物系统或再造生物系统中以指导由存在于表达载体

中的多核苷酸序列所编码的多肽进行翻译的载体。

[0056] “多核苷酸”是指包含磷酸糖类主链共价连接的核苷酸链或其他等同共价化学物的合成分子。cDNA是示例性合成多核苷酸。

[0057] “多肽”或“蛋白质”是指包含由肽键连接以形成多肽的至少两个氨基酸残基的分子。少于50个氨基酸的小多肽可以称作“肽”。

[0058] PSMA是指前列腺特异性膜抗原。全长人PSMA的氨基酸序列示出在SEQ ID NO:1中。胞外结构域跨越全长PSMA的残基44-750。除非明确指明来自非人物种,否则本文对蛋白质、多肽和蛋白质片段的所有提及均旨在指相应蛋白质、多肽或蛋白质片段的人型式。因此,除非指明来自非人物种,例如“小鼠PSMA”或“猴PSMA”等,否则“PSMA”意指人PSMA。

[0059] SEQ ID NO:1 (全长人PSMA)

[0060] MWNLLHETDSAVATARRPRWL CAGALVLAGGFFLLGFLFGWF IKSSNEATNITPKHNMKAFLDELKAEN IKKFLYNFTQIPHLAGTEQNFQLAKQIQSQWKEFGLDSVELAHYDVLLSYPNKTHPNYISIIINEDGNEIFNTSLFEP PPPGYENVSDIVPPFSAFSPQGMPEGDLVYVNYARTEDFFKLERDMKINCSGKIVIARYGKVFGRGNKVKNAQLAGAK GVILYSDPADYFAPGVKSYPDGWNLPGGGVQRGNILNLNGAGDPLTPGYPANEYAYRRGIAEAVGLPSIPVHPIGY DAQKLEKMGGSAPPDSSWRGSLKVPYNVGPFGFTGNFSTQKVKMHIHSTNEVTRIYNVIGTLRGAVEPDRYVILGGH RDSWVFGGIDPQSGAAVVHEIVRSFGTLKKEGWRPRRTILFASWDAEEFLLGSTEWAENSRLQERGVAYINADS SIEGNYTLRVDCTPLMYSLVHNLTKELKSPDEGFEGKSLYESWTKKSPSPEFSGMPRI SKLGSNDFEVFFQRLGIA SGRARYTKNWETNKFSGYPLYHSVYETYELVEKFYDPMFKYHLTVAQVRGGMVFE LANSIVLPFDCRDYAVVLRKYA DKIIYSISMKHPQEMKTYSVSFDLSFSAVKNFTEIASKFSERLQDFDKSNPIVLRMMNDQLMFLERAFIDPLGLPDRP FYRHVIYAPSSHNYAGESFPGIYDALFDIESKVDPSKAWGEVQRQIYVAAFTVQAAAETLSEVA

[0061] “CD3”是指作为多分子T细胞受体 (TCR) 复合物的一部分在T细胞上表达并且由同源二聚体或异源二聚体组成的抗原,该同源二聚体或异源二聚体由两条或四条受体链:CD3 ϵ 、CD3 δ 、CD3 ζ 和CD3 γ 的缔合形成。人CD3 ϵ 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。胞外域跨越全长CD3的残基23-126。除非明确指明来自非人物种,否则本文对蛋白质、多肽和蛋白质片段的所有提及均旨在指相应蛋白质、多肽或蛋白质片段的人型式。因此,除非指明来自非人物种,例如“小鼠CD3”或“猴CD3”等,否则“CD3”意指人CD3。

[0062] SEQ ID NO:4 (人CD3 ϵ)

[0063] MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWQDGNEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGD EDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGLLL LVYYWSKNRKAKAKPVTTRGAGAGGRQGRQNKERPPVPNPDYEP IRKGQRDLYSGLNQRR I

[0064] “双特异性抗PSMA/抗CD3抗体”、PSMA/CD3抗体、PSMA \times CD3抗体等是指结合PSMA和CD3的抗体。

[0065] “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于患者。

[0066] “PSMA阳性癌症”是指表现出可测量水平的PSMA蛋白质的癌症组织或癌症细胞。PSMA蛋白质的水平可使用熟知的测定法,使用例如ELISA、免疫荧光法、流式细胞术或放射性免疫测定法,在活细胞或裂解细胞上测量。

[0067] “样本”是指从受试者分离的类似流体、细胞、或组织的收集物,以及存在于受试者体内的流体、细胞或组织。示例性样本为生物流体,诸如血液,血清和浆膜液,血浆,淋巴液,

尿液,唾液,囊液,泪液,排泄物,痰,分泌组织和器官的粘膜分泌物,阴道分泌物,腹水诸如与非实体肿瘤相关联的那些,胸膜、心包、腹膜、腹腔和其他体腔的流体,由支气管灌洗液收集的流体,与受试者或生物来源接触的液体溶液例如细胞和器官培养基(包括细胞或器官条件培养基)、灌洗液等,组织活检样本,细针穿刺或手术切除的肿瘤组织。

[0068] “癌细胞”或“肿瘤细胞”是指在体内、离体或组织培养物中的癌性或转化的细胞,其具有自发或诱导的表型变化。这些变化未必涉及新遗传物质的摄取。虽然转化可由感染转化病毒以及结合新基因组核酸、或摄取外源核酸而发生,但是还可自发地发生或在暴露于致癌物之后发生,从而使内源基因突变。转化/癌症示例为合适的动物宿主(诸如裸小鼠等)中体外、体内和离体的形态变化、细胞永生、异常生长控制、病灶形成、增殖、恶性肿瘤、肿瘤特异性标记物水平调节、侵入、肿瘤生长(Freshney, Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique (第3版,1994))。

[0069] “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他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)。

[0070] “治疗”(treat或treatment)是指对患有病理性病症的患者的治疗,并且指通过杀死癌细胞缓解该病症的效果,并且还指导致病症进展被抑制的效果,并且包括进展速率的减缓、进展速率的终止、病症的改善和病症的治愈。作为预防性措施的治疗(即预防)也包括在内。

[0071] “治疗有效量”是指在所需剂量和时间段有效治疗癌症的量。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、性别和体重,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由于治疗而改善的患者健康状况。

[0072] 根据如本文所定义的本发明,术语“安全量”在其涉及用具有特异性结合PSMA的第一结合结构域和特异性结合CD3的第二结合结构域的抗PSMAxCD3抗原结合片段给药或治疗时,其中第一结合结构域包含SEQ ID NO:7的重链(HC)和SEQ ID NO:8的轻链(LC),并且第二结合结构域包含SEQ ID NO:17的重链(HC)和SEQ ID NO:18的轻链(LC),是指具有相对低或降低的频率和/或低或降低的严重程度的不良事件的有利风险:益处比,该不良事件包括不良生命体征(心率、收缩压和舒张压、体温)、不良标准临床实验室测试(血液学、临床化学、尿液分析、脂质、凝血)、过敏反应/超敏反应、不良局部注射部位反应、或不良EKG。

[0073] 如本文所用,除非另外指明,否则术语“临床证实”(单独使用或用于修饰术语“安全”和/或“有效”)意味着临床试验已经证实其有效,其中临床试验已经符合美国食品与药品监督管理局、EMA或相应国家监管机构的标准。例如,临床研究可能是一项样本量充分、随机化、双盲研究,用于临床证实药物的效果。在一些实施方案中,“临床证实”指示其已通过临床试验得到证实,所述临床试验已经符合美国食品与药品监督管理局、EMA或相应国家监管机构的针对I期临床试验的标准。

[0074] 抗PSMAxCD3抗体

[0075] 本发明提供了包含具有特异性结合PSMA的第一结合结构域和特异性结合CD3的第二结合结构域的PSMAxCD3抗原结合片段的组合物,其中第一结合结构域包含SEQ ID NO:7

的重链(HC)和SEQ ID NO:8的轻链(LC),并且第二结合结构域包含SEQ ID NO:17的重链(HC)和SEQ ID NO:18的轻链(LC)。本发明还涉及治疗转移性去势抵抗性前列腺癌的方法,该方法包括以下步骤、由以下步骤组成或基本上由以下步骤组成:向患有转移性去势抵抗性前列腺癌的人类男性施用安全量的上述抗PSMAxCD3抗体。

[0076] 除非另有明确说明,否则在整个说明书中,抗体恒定区中的氨基酸残基根据EU索引编号。

[0077] 本文使用如表1中所示的常规单字母和三字母氨基酸代码。

[0078] 表1.

[0079]

氨基酸	三字母代码	单字母代码
丙氨酸	Ala	A
精氨酸	Arg	R
天冬酰胺	Asn	N
天冬氨酸	Asp	D
半胱氨酸	Cys	C
谷氨酸	Glu	E
谷氨酰胺	Gln	Q
甘氨酸	Gly	G
组氨酸	His	H
异亮氨酸	Ile	I
亮氨酸	Leu	L
赖氨酸	Lys	K
甲硫氨酸	Met	M
苯丙氨酸	Phe	F
脯氨酸	Pro	P
丝氨酸	Ser	S
苏氨酸	Thr	T
色氨酸	Trp	W
酪氨酸	Tyr	Y
缬氨酸	Val	V

[0080] 治疗应用

[0081] 本发明还提供了使用至少一种本发明的双整联蛋白抗体调节或治疗如本领域已知或如本文所述的细胞、组织、器官、动物或患者中的至少一种PSMA相关疾病的方法。

[0082] 本发明还提供了用于调节或治疗细胞、组织、器官、动物或患者中的至少一种前列腺癌相关疾病的方法,该疾病包括但不限于晚期实体瘤、转移性去势抵抗性前列腺癌(mCRPC)、在雄激素受体(AR)靶向疗法后患有复发性疾病的前列腺癌患者中的至少一种。

[0083] 如本文所用,术语“癌症”是指倾向于以不受控制的方式增殖的细胞异常生长,并且在一些情况下是指转移(扩散)。

[0084] 如本文所用,术语“前列腺癌”是指经组织学或细胞学确认的前列腺腺癌。

[0085] 术语“雄激素剥夺疗法(ADT)”是指前列腺癌患者中雄激素水平降低至睾酮的去势

水平 (<50ng/dL)。这种治疗可包括睾丸切除术或使用促性腺激素释放激素激动剂或拮抗剂。ADT包括手术去势(睾丸切除术)和/或向人施用黄体化激素释放激素(“LHRH”)激动剂。LHRH激动剂的示例包括醋酸戈舍瑞林、醋酸组胺瑞林、醋酸亮丙瑞林和棕榈酸曲普瑞林。医师可根据说明、建议和实践来开具LHRH激动剂处方。这可包括:在约28天至约3个月的时间段内施用约0.01mg至约20mg戈舍瑞林,优选地在约28天至约3个月的时间段内施用约3.6mg至约10.8mg戈舍瑞林;在约3天至约12个月的时间段内施用约0.01mg至约200mg醋酸亮丙瑞林,优选地在约3天至约12个月的时间段内施用约3.6mg醋酸亮丙瑞林;或在约1个月的时间段内施用约0.01mg至约20mg曲普瑞林,优选地在1个月的时间段内施用约3.75mg曲普瑞林;在12个月的时间段内施用约50mg醋酸组胺瑞林或每天约50 μ g醋酸组胺瑞林。

[0086] 术语“局部晚期前列腺癌”是指所有活性癌细胞看起来仅限于前列腺和相关器官或相邻器官(例如精囊、膀胱颈和直肠壁)的前列腺癌。

[0087] 术语“高风险局部化前列腺癌”是指具有发展转移或在具有治疗企图的初始治疗后的复发疾病的可能性的局部晚期前列腺癌。在一些实施方案中,转移发展的高风险被定义为前列腺特异性抗原倍增时间(PSADT) <20个月、<19个月、<18个月、<17个月、<16个月、<15个月、<14个月、<13个月、<12个月、<11个月、<10个月、<9个月、<8个月、<7个月、<6个月、<5个月、<4个月、<3个月、<2个月或<1个月。在一些实施方案中,转移发展的高风险被定义为前列腺特异性抗原倍增时间(PSADT) <10个月。在一些实施方案中,转移发展的高风险被定义为具有高Gleason评分或大体积肿瘤。

[0088] 术语“去势敏感性前列腺癌”是作为局部化疾病、生物化学复发或在转移性情况中响应于雄激素剥夺疗法(ADT)的癌症。

[0089] 术语“转移性去势敏感性前列腺癌”是指已扩散(转移)到身体其他区域例如骨、淋巴结或男性身体中的其他部位并且响应于雄激素剥夺疗法(ADT)的癌症。

[0090] 术语“非转移性去势敏感性前列腺癌”是指未在男性中扩散(转移)并且响应于雄激素剥夺疗法(ADT)的癌症。在一些实施方案中,利用骨扫描和计算机断层扫描(CT)或磁共振成像(MRI)扫描对非转移性去势敏感性前列腺癌进行评估。

[0089] 如本文所用,术语“CRPC”是指去势抵抗性前列腺癌。CRPC是尽管为前列腺癌细胞的生长提供能量的雄激素受到抑制,然而仍继续生长的前列腺癌。

[0091] 术语“转移性去势抵抗性前列腺癌”是指已转移到人体的其他部位的去势抵抗性前列腺癌。

[0092] 如本文所用,术语“NM-CRPC”是指非转移性去势抵抗性前列腺癌。在一些实施方案中,使用骨扫描和计算机断层扫描(CT)或磁共振成像(MRI)扫描对NM-CRPC进行评估。

[0093] 术语“未经化学疗法的转移性去势抵抗性前列腺癌”是指先前未使用化疗药治疗的转移性去势抵抗性前列腺癌。

[0094] 在一些实施方案中,非转移性去势抵抗性前列腺癌是高风险非转移性去势抵抗性前列腺癌。术语“高风险NM-CRPC”是指患有NM-CRPC的男性发生转移的概率高。在一些实施方案中,转移发展的高风险被定义为前列腺特异性抗原倍增时间(PSADT) <20个月、<19个月、<18个月、<17个月、<16个月、<15个月、<14个月、<13个月、<12个月、<11个月、<10个月、<9个月、<8个月、<7个月、<6个月、<5个月、<4个月、<3个月、<2个月或<1个月。在一些实施方案中,转移发展的高风险被定义为前列腺特异性抗原倍增时间(PSADT) <10个月。在一些实施

方案中,转移发展的高风险被定义为具有局部区域复发(例如,原发性肿瘤床、膀胱颈、吻合区、盆腔淋巴结)。

[0095] 如本文所用,术语“共同施用”等涵盖向患者施用所选择的治疗剂,并且旨在包括将这些药剂通过相同或不同的施用途径或在相同或不同的时间施用的治疗方案。

[0096] 术语“无转移生存期”或“MFS”是指在研究中已在无癌症扩散的情况下生存规定的一段时间或未死亡的患者的百分比。MFS通常被报告为在研究中从开始招募、随机化或治疗起的时间。MFS是针对个体或研究群体报告。在用抗雄激素治疗CRPC的情形下,无转移生存期的延长是相比于用安慰剂治疗而言,在无癌症扩散或死亡(以先发生者为准)的情况下观测到的附加时间。在一些实施方案中,无转移生存期的延长为约1个月、约2个月、约3个月、约4个月、约5个月、约6个月、约7个月、约8个月、约10个月、约11个月、约12个月、约13个月、约14个月、约15个月、约16个月、约17个月、约18个月、约19个月、约20月、或大于20个月。在一些实施方案中,施用安全且有效量的抗雄激素提供男性人类的无转移生存期的延长,任选地其中无转移生存期的延长是相对于患有非转移性去势抵抗性前列腺癌的男性人类群体的平均生存率而言,所述群体用安慰剂进行治疗。在一些实施方案中,无转移生存期是指从随机化到BICR确认的骨或软组织远处转移或因任何原因导致的死亡(以先发生者为准)的首次证据的时间。

[0097] 术语“转移时间”是从随机化到示出BICR确认的放射摄影术可检测的骨或软组织远处转移的首次证据的扫描时间的的时间。在一些实施方案中,抗雄激素的施用为患者提供改善的抗肿瘤活性,如通过转移时间(TTM)所测量的。

[0098] 术语“症状进展时间”被定义为以下任一种情况从随机化到记录在CRF中的时间(以较早发生者为准):(1) 骨骼相关事件(SRE)的发展:病理骨折,脊髓压迫,或需要骨进行外科手术干预或放射治疗;(2) 需要启动新的全身性抗癌治疗的疾病相关症状的疼痛进展或恶化;或(3) 因需要外科手术干预或放射疗法的局部肿瘤进展导致的临床显著症状的发展。在一些实施方案中,向患者施用抗雄激素提供改善的抗肿瘤活性,如通过症状进展时间所测量的。

[0099] 术语“总体生存期”被定义为从随机化到因任何原因导致的死亡日期的时间。在分析时生存的患者生存数据在其生存的最后已知日期进行审查。此外,对于没有基线后信息生存的患者,在随机化日期对数据进行审查;对于失访或撤销同意的患者,在其生存的最后已知日期对数据进行审查。在一些实施方案中,向患者施用抗雄激素提供改善的抗肿瘤活性,如通过总体生存期所测量的。

[0100] 如本文所用,术语“与疾病进展相关症状的延迟”是指从施用药物试验的随机化时间开始,症状诸如疼痛、尿路梗阻和生活品质考虑因素的发展时间增加。

[0101] 术语“随机化”当涉及临床试验时是指当患者被确认适合进行临床试验并且被分配到治疗组的时间。

[0102] 术语“试剂盒”和“制造的制品”作为同义词使用。

[0103] 实施例

[0104] 实施例1.材料

[0105] PSMA细胞系的产生。产生呈现全长黑猩猩PSMA(SEQ ID NO:2)或全长食蟹猴PSMA(SEQ ID NO:3)的表达载体以用作评估抗PSMA先导物的筛选工具。将载体瞬时转染到

HEK293F细胞中。将转染的293F悬浮细胞接种在加血清的生长培养基中,使其变得贴壁并选择用于稳定的质粒整合。通过连续稀释选择单细胞群,并且使用(PSMAL抗体(Center)亲和纯化的兔多克隆抗体(目录号0AAB02483,Aviva Systems Biology)作为一抗,同时使用R-PE抗兔二抗(目录号111-116-144,Jackson ImmunoResearch Laboratories,Inc.)和兔多克隆IgG(目录号SC-532,Santa Cruz Biotechnology)作为同种型对照)通过FACS对PSMA表面受体表达进行定量。

[0106] SEQ ID NO:2(全长黑猩猩PSMA)

[0107] MWNLLHETDSAVATARRPRWLCAGALVLAGGFFLLGFLFGWF IKSSNEATNITPKHNMKAFLDELKAEN
IKKFLYNFTQIPHLAGTEQNFQLAKQIQSQWKEFGLDSVELAHYDVLLSYPNKTHPNYISIIINEDGNEIFNTSLFEP
PPPGYENVSDIVPPPSAFSPQGMPEGLVYVNYARTEDFFKLERDMKINCSGKIVIARYGKVFRGNKVNAQLAGAK
GVILYSDPADYFAPGVKSYPDGWNLPGGGVQRGNILNLGAGDPLTPGYPANEYAYRRGIAEAVGLPSIPVHPIGYY
DAQKLEKMGGSAPPDSSWRGSLKVPYVNGPGFTGNFSTQKVKMHIHSTNEVTRIYNVIGTLRGAVEPDRYVILGGH
RDSWVFGGIDPQSGAAVVHEIVRSFGTLKKEGWRPRRTILFASWDAEEFLLGSTEWAENSRLQERGVAYINADS
SIEGNYTLRVDCTPLMYSLVHNLTKELKSPDEGFEGKSLYESWTKKSPSPEFSGMPRI SKLGSNDFEVFFQRLGIA
SGRARYTKNWETNKFSGYPLYHSVYETYELVEKFYDPMFKYHLTVAQVRGGMVFELANSIVL PFD CRDYAVVLRKYA
DKIYSISMKHPQEMKTYSVSFDLSFAVKNFTEIASKFSERLQDFDKSNP I VLRMMNDQLMFLERAFIDPLGLPDRP
FYRHVIYAPSSHNYAGESFPGIYDALFDIESKVDPSKAWGEVKRQIYVAAFTVQAAAETLSEVA

[0108] SEQ ID NO:3(全长食蟹猴PSMA)

[0109] MWNLLHETDSAVATARRPRWLCAGALVLAGGFFLLGFLFGWF IKSSNEATNITPKHNMKAFLDELKAEN
IKKFLYNFTQIPHLAGTEQNFQLAKQIQSQWKEFGLDSVELAHYDVLLSYPNKTHPNYISIIINEDGNEIFNTSLFEP
PPPGYENVLDIVPPPSAFSPQGMPEGLVYVNYARTEDFFKLERDMKINCSGKIVIARYGKVFRGNKVNAQLAGAK
GVILYSDPADYFAPGVKSYPDGWNLPGGGVQRGNILNLGAGDPLTPGYPANEYAYRHGIAEAVGLPSIPVHPIGYY
DAQKLEKMGGSAPPDSSWRGSLKVPYVNGPGFTGNFSTQKVKMHIHSTNEVTRIYNVIGTLRGAVEPDRYVILGGH
RDSWVFGGIDPQSGAAVVHEIVRSFGTLKKEGWRPRRTILFASWDAEEFLLGSTEWAENSRLQERGVAYINADS
SIEGNYTLRVDCTPLMYSLVYNLTKELKSPDEGFEGKSLYESWTKKSPSPEFSGMPRI SKLGSNDFEVFFQRLGIA
SGRARYTKNWETNKFSGYPLYHSVYETYELVEKFYDPMFKYHLTVAQVRGGMVFELANSIVL PFD CRDYAVVLRKYA
DKIYNISMKHPQEMKTYSVSFDLSFAVKNFTEIASKFTERLQDFDKSNP ILLRMMNDQLMFLERAFIDPLGLPDRP
FYRHVIYAPSSHNYAGESFPGIYDALFDIESKVDPSKAWGDVVKRQISVAAFTVQAAAETLSEVA

[0110] 使用含有全长人PSMA (FOLH1_HUMAN, SEQ ID NO:1) 和嘌呤霉素的慢病毒(Genecopoeia, 目录号EX-G0050-Lv105-10) 产生表达人PSMA的细胞系,用于选择PSMA阳性细胞。用慢病毒颗粒转导对PSMA呈阴性的HEK293F细胞(ATCC)以过表达人PSMA。在转导后,通过处理合并的细胞选择阳性表达PSMA和抗性标记物的细胞,使其在DMEM+10%的HI FBS(Life Technologies)中生长并补充不同浓度的嘌呤霉素(Life Technologies)。

[0111] 除了HEK产生的细胞系之外,还使用了几个商业细胞系进行噬菌体淘选和结合以及细胞毒性测定。LNCaP克隆FGC细胞(ATCC, 目录号CRL-1740)是可商购获得的人前列腺癌细胞系。C4-2B细胞最初在MD Anderson处发育,并且来源于在体内生长并转移到骨髓的LNCaP FGC(Thalmann等人,1994,Cancer Research 54,2577-81)。

[0112] 可溶性PSMA ECD蛋白的产生。产生重组黑猩猩PSMA胞外结构域(ECD)蛋白(ECD的氨基酸44-750,SEQ ID NO:2)、重组食蟹猴PSMA胞外结构域(ECD)蛋白(SEQ ID NO:3的氨基

酸44-750)和重组人PSMA胞外结构域(ECD)蛋白(SEQ ID NO:1的氨基酸44-750)用于淘选和评估抗PSMA先导物

[0113] 实施例2.抗黑猩猩和抗人PSMA抗体的产生

[0114] 用重组蛋白淘选。由与四个人VL种系基因(A27、B3、L6、O12)文库配对的VH1-69、3-23和5-51重链文库组成的从头人Fab-pIX文库的首次溶液淘选(Shi,L.等人,J Mol Biol, 2010.397(2):第385-396页,W02009/085462)使用交替淘选方法进行,其中根据制造商方案在包被有生物素酰化的黑猩猩PSMA ECD的链霉抗生物素蛋白磁珠(Invitrogen,目录号112.05D,批号62992920)上进行一轮噬菌体捕获,然后根据制造商方案在包被有食蟹猴PSMA-Fc的ProtG珠(Invitrogen,目录号10003D)上进行噬菌体捕获,接着根据制造商方案在包被有生物素酰化的黑猩猩PSMA ECD的Sera-mag Double Speed中性抗生物素蛋白磁珠(Thermo,目录号7815-2104-011150)上进行噬菌体捕获。

[0115] 抗PSMA Fab的全细胞淘选。使用来自上述黑猩猩ECD淘选实验的第1轮输出或新鲜的从头噬菌体文库作为输入,对全细胞进行附加的淘选实验。简而言之,根据本领域已知的标准方案,噬菌体通过辅助噬菌体感染产生并通过PEG/NaCl沉淀进行浓缩。将噬菌体文库在未转染的亲本HEK293F细胞上于4℃下轻轻摇动过夜而被预先清除。在PEG/NaCl沉淀之后,将预先清除的文库与表达黑猩猩PSMA的HEK293细胞或LNCAP细胞一起温育,同时在4℃下轻轻摇动2小时。通过Ficoll梯度进行未结合的噬菌体的去除和噬菌体结合的细胞的回收,并且在几个洗涤步骤之后,将携带结合噬菌体的细胞与1mL的TG-1大肠杆菌(E.coli)培养物在37℃下温育30分钟而无需搅拌。将所得混合物接种在LB-羧苄青霉素-1%葡萄糖板上并在37℃下生长过夜。然后重复该过程以用于后续的淘选轮次。

[0116] 将噬菌体Fab-pIX转化成Fab-His以产生大肠杆菌上清液。使用标准程序将所得噬菌体Fab-pIX命中转化为Fab-His。从噬菌体淘选的大肠杆菌(Plasmid Plus Maxi试剂盒,Qiagen目录号12963)中分离质粒DNA,并进行NheI/SpeI限制性消化。将所得的5400bp和100bp片段在0.8%琼脂糖凝胶上分离,并对5400bp片段进行凝胶纯化(MinElute PCR纯化试剂盒,Qiagen目录号28006)。使用T4连接酶将纯化的5400bp条带自连接,并且将所得产物(编码Fab-his融合体)转化回TG-1大肠杆菌菌株并克隆分离。通过用1mM IPTG过夜诱导培养物,从克隆中产生Fab-His上清液。在将过夜培养物离心后,准备好澄清的上清液用于在下游测定中使用。为了测定不同Fab-his上清液的相对表达水平,对连续稀释的上清液进行了抗k(Southern Biotech,目录号2061-05)ELISA。所有测试的克隆均表现出相似的Fab-his表达(数据未示出)。

[0117] 来自大肠杆菌的Fab-His融合体的细胞结合。基于细胞的结合测定被设计成评估来自大肠杆菌上清液各个Fab-his融合体与表达PSMA的细胞的结合能力。在pIX切除后,从所有淘选实验的第3轮输出中分离出各个Fab克隆。测试Fab克隆与表达黑猩猩和食蟹猴PSMA的HEK细胞的结合,以及与LNCaP细胞上的人PSMA的结合。简而言之,将表达PSMA的细胞以200,000/孔的密度等分到V形底板(CoStar 3357)中,并与表达Fab片段的(100μl)上清液在冰上温育1小时。将细胞用含有2%FBS的PBS洗涤两次,并且用小鼠抗人κ-RPE抗体(Life Technologies,目录号MH10514)在冰上染色1小时。将细胞用含有2%FBS的PBS洗涤两次并重悬于100μL的相同洗涤缓冲液中。在BD FACS Array流式细胞仪上读取板。通过使用前向散射和侧向散射对健康细胞群进行实时门控,然后分析该门内的细胞的PE染色,在FlowJo

软件中分析FACS数据。计算平均荧光强度(MFI)并导出到Microsoft Excel中。对于所有三个PSMA物种(食蟹猴、黑猩猩和人)表现出结合 ≥ 3 倍背景并且不表现出与HEK293细胞系结合的Fab克隆被标记为“初步阳性”。Fab被测序并向前移动以克隆到哺乳动物表达载体中用于重新筛选。从哺乳动物细胞表达的Fab上清液与表达PSMA的细胞系的结合中选择真阳性。

[0118] 制备哺乳动物Fab。为了将大肠杆菌Fab转化为哺乳动物表达的Fab,根据制造商方案利用In-Fusion HD克隆(Clontech目录号638918)。简而言之,将已通过初步筛选并被移入哺乳动物Fab形式的克隆的核苷酸序列加载到“InFu Primer Finder v1.2.3”程序(内部开发的软件)中,该程序产生用于产生向huKappa_muIgGSP和huG1 Fab表达载体中进行无缝克隆的PCR片段的同种型特异性PCR引物的列表。这些载体是具有基于pcDNA3.1的CMV启动子的内部载体。在无缝克隆过程之后,使用标准方案分离大肠杆菌克隆体,对其进行序列验证并转染到HEK293细胞中。通过在5天后从转染中收获20ml上清液来制备用于确认与表达PSMA的细胞系的结合的哺乳动物PSMA Fab。

[0119] 以哺乳动物上清液形式重新筛选来自全细胞淘选的命中。使用全细胞结合测定进行哺乳动物表达的Fab上清液的确认。对Fab与黑猩猩、食蟹猴和人PSMA(LNCaP细胞)的结合进行测试,以及对未结合到亲本HEK细胞系的情况进行反向筛选。

[0120] 哺乳动物表达的Fab的剂量响应曲线。一旦确认哺乳动物表达的Fab克隆作为纯Fab上清液与表达PSMA的细胞系阳性结合后,就通过Octet或蛋白质凝胶将上清液针对蛋白质浓度进行归一化,并且使用先前所述的方案完成剂量响应曲线以确认PSMA结合。

[0121] 抗PSMA mAb的制备。通过限制性克隆将展示出与所有三种表达PSMA的细胞结合的克隆最终转化为具有Fc置换S228P、F234A和L235A(PAA)同种型的mAb IgG4。简而言之,用HindIII和ApaI消化对应于已通过初始筛选的Fab克隆的构建体。将凝胶纯化的片段连接到具有CMV启动子的内部表达载体中,以用于产生人IgG4-PAA表达。使用先前描述的内部表达载体来表达每个PSMA mab的重链和轻链,其中两个载体瞬时共转染到293Expi或CHO细胞系中以用于mAb的表达。

[0122] 产生了单特异性抗PSMA抗体PSMB127,其包含具有SEQ ID NO:5的VH和SEQ ID NO:6的VL的VH区和VL区,以及具有S228P、F234A和L235A置换的IgG4恒定区,如下表2和表3中所述。

[0123] 表2.PSMB127的VH和VL

FAB ID	VH 氨基酸序列	SEQ ID NO	VL 氨基酸序列	SEQ ID NO
[0124] PSMB127	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFKSDAMHWVRQAPGK GLEWVSEISGSGGYTNYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDSDSYDSSLVVG DYFDYWGQGT LVTVSS	5	EIVLTQSPATLSLSP GERATLSCRASQSV SSYLAWYQQKPGQ APRLLIYDASNRAT GIPARFSGSGSGTDF TLTISSLEPEDFAVY	6
[0125]			YCQQRSNWPLTFGQ GTKVEIK	

[0126] 表3.PSMB127的HC和LC

[0127]

mAb ID	重链氨基酸序列	SEQ ID NO	轻链氨基酸序列	SEQ ID NO
PSMB127 蛋白	EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFKSDAMHW VRQAPGKGLEWVSEISGS GGYTNYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARDSDYDSSLYVG DYFDYWGQGLVTVSSAS TKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLG TKTYTCNVDPKPSNTKVD KRVESKYGPPCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVVS NKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVL DSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGK	7	EIVLTQSPATLSLSPGER ATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYD ASNRAITGIPARFSGSGS GTDFTLTISSELPEDFAV YYCQQRSNWPLTFGQG TKVEIKRTVAAPSVEFIFP PSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC	8
	重链 DNA 序列	SEQ ID NO	轻链 DNA 序列	SEQ ID NO
PSMB127 DNA	ATGGCTTGGGTGTGGACC TTGCTATTCTGATGGCA GCTGCCCAAAGTATACA GGCCGAGGTTACAGTGCT GGAATCTGGCGGAGGAT TGGTTCAGCCTGGCGGCT CTCTGAGACTGTCTTGTG CCGCTTCTGGCTTACCT TCAAGTCCGACGCTATGC ACTGGGTCCGACAGGCC CCTGGAAAAGGACTGGA ATGGGTGTCCGAGATCTC TGGCTCTGGCGGCTACAC	25	ATGGCCTGGGTGTGGA CCCTGCTGTTCTGAT GGCCGCCGCCAGAG CATCCAGGCCGAGATC GTGCTGACCCAGAGCC CCGCCACCCTGAGCCT GAGCCCCGGCGAGCG GGCCACCCTGAGCTGC CGGGCCAGCCAGAGC GTGAGCAGCTACCTGG CCTGGTACCAGCAGAA GCCCGGCCAGGCCCCC CGGCTGCTGATCTACG	26

[0128]

	CAACTACGCCGACTCCAT GAAGTCCCGGTTACCAT CTCTCGGGACAAC TCAA GAACACCCTGTACCTGCA GATGAACTCCCTGAGAG CCGAGGACACCGCCGTG TACTACTGCGCCAGAGA CTCCTACGACTCCAGCCT GTACGTGGGCGACTACTT CGATTATTGGGGCCAGG GCACCCTGGTCACCGTTT CTTCTGCTTCCACCAAGG GCCCATCCGTCTTCCCC TGGCGCCCTGCTCCAGGA GCACCTCCGAGAGCACA GCCGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCC GAACCGGTGACGGTGTC GTGGAAC T CAGGCGCCC TGACCAGCGGCGTGAC ACCTTCCCGGCTGTCCTA CAGTCCTCAGGACTCTAC TCCCTCAGCAGCGTGGTG ACCGTGCCCTCCAGCAGC TTGGGCACGAAAACCTA CACCTGCAACGTAGATC ACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGT TGAGTCCAAATATGGTCC CCCATGCCACCATGCC AGCACCTGAGGCCGCCG GGGGACCATCAGTCTTCC TGTTCCCCCAAACCCA AGGACACTCTCATGATCT CCCGGACCCCTGAGGTC ACGTGCGTGGTGGTGGA CGTGAGCCAGGAAGACC CCGAGGTCCAGTTCAACT GGTACGTGGATGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAA GACAAAGCCGCGGGAGG AGCAGTTCAACAGCACG TACCGTGTGGTCAGCGTC CTCACCGTCCTGCACCAG GACTGGCTGAACGGCAA GGAGTACAAGTGCAAGG TCTCCAACAAAGGCCTCC CGTCCTCCATCGAGAAA ACCATCTCAAAGCCAA		ACGCCAGCAACCGGG CCACCGGCATCCCCGC CCGGTTCAGCGGCAGC GGCAGCGGCACCGAC TTCACCCTGACCATCA GCAGCCTGGAGCCCC AGGACTTCGCCGTGTA CTACTGCCAGCAGCGG AGCAACTGGCCCCTGA CCTTCGGCCAGGGCAC CAAGGTGGAGATCAA GCGTACGGTGGCTGCA CCATCTGTCTTCATCTT CCCGCCATCTGATGAG CAGTTGAAATCTGGAA CTGCCTCTGTTGTGTG CCTGCTGAATAACTTC TATCCCAGAGAGGCCA AAGTACAGTGGAAGG TGGATAACGCCCTCCA ATCGGGTAACTCCCAG GAGAGTGTACAGAG CAGGACAGCAAGGAC AGCACCTACAGCCTCA GCAGCACCCCTGACGCT GAGCAAAGCAGACTA CGAGAAACACAAAGT CTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGA GCTCGCCCCTCACAAA GAGCTTCAACAGGGG AGAGTGT	
--	--	--	--	--

[0129]	AGGGCAGCCCCGAGAGC CACAGGTGTACACCCTGC CCCCATCCCAGGAGGAG ATGACCAAGAACCAGGT CAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTACCCAG CGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACACTAA GACCACGCCTCCCGTGCT GGACTCCGACGGCTCCTT CTTCTCTACAGCAGGCT AACCGTGGACAAGAGCA GGTGGCAGGAGGGGAAT GTCTTCTCATGCTCCGTG ATGCATGAGGCTCTGCAC AACCACTACACACAGAA GAGCCTCTCCCTGTCTCT GGGTAAA		
--------	--	--	--

[0130] 使用ProteOn XPR36系统 (BioRad), 通过表面等离子共振 (SPR) 测量亲本PSMA mAb PSMB127与人、黑猩猩和食蟹猴PSMA ECD的相互作用。对人、黑猩猩和食蟹猴PSMA ECD的结合亲和力的汇总示于下文中。

[0131] 表4. PSMB127抗人、黑猩猩和食蟹猴PSMA的Kd数据

	人 KD (nM)	黑猩猩 KD (nM)	食蟹猴 KD (nM)
[0132] PSMB127	12.0±2.05	12.8±1.83	6.68±0.45

[0133] 实施例3. 抗CD3抗体的产生和表征

[0134] 抗-CD3抗体的产生。商业抗CD3抗体SP34 (小鼠IgG1同种型抗人CD3 IgG1抗体) 通过人框架适应方法 (Fransson等人, JMB, 2010398 (2) :214-31) 进行人源化。为了保持CDR-H3的构象, 保留了VL的Val38、Gly48、Gly51和V59位以及VH中的48位的Ala的小鼠残基。将这些“回复突变”添加到人源化计划中。所得的抗CD3变体称为CD3B146。

[0135] 人源化抗CD3抗体与原代T细胞的内源性细胞结合。测试CD3B146与原代人T细胞和原代食蟹猴CD4+ T细胞上的细胞表面CD3ε的结合以评估交叉反应性的保留。使用从食蟹猴的外周血中纯化的CD4+ T细胞 (Zen Bio, Triangle Research Park, USA)。简言之, 使用通过阴性选择 (Biological Specialty, Colmar, USA) 纯化的原代人T淋巴细胞, 通过流式细胞术评估抗CD3抗体与细胞表面CD3ε的结合。将培养基或FACS缓冲液 (BD BioSciences) 中的表达上清液或纯化的抗体分别归一化为10µg/ml。将2×10⁵个细胞等分到96孔圆底板 (CoStar) 的各孔中进行标记。将表达上清液中的抗体加入细胞中, 并在4℃下温育45min。在1300rpm下离心3min并去除上清液后, 将50µL抗人IgG (H+L) Alexa Fluor647二抗 (Life technologies Inc.) 以10µg/mL的最终浓度与细胞在4℃下远离直射光下温育30min, 然后洗涤并重悬于30µL FAC缓冲液 (BD BioSciences) 中。使用ForeCyt软件在Intellicyt HTFC系统上进行样本收集。

[0136] 使用与治疗性抗体具有相同的Fc区的两种内部噬菌体衍生抗体作为对照:非食蟹猴交叉反应性激动性抗体G11用作阳性对照,非结合/非激动性抗体CD3B124用于评估非特异性结合。在该测定中不使用市售SP34抗体作为比较样,因为它是小鼠抗体,并且使用不同的二级检测试剂会阻止与所测试的变体直接比较。虽然运行了滴定系列,但为清楚起见,使用平均荧光强度值(FIM)在图1中示出了中间浓度。CD3B146示出对人和食蟹猴T细胞两者的强结合,表明CD3B146保留了人和食蟹猴CD3 ϵ 之间的物种交叉反应性(图1和图2)。

[0137] 原代T细胞中人源化抗CD3命中的功能分析。为了研究CD3B146变体通过CD3 ϵ 交联诱导人T细胞活化的能力,将原代人T细胞在珠缀合抗体的存在下培养过夜。第二天,收获细胞并用抗CD69抗体标记以测量活化。将人源化抗CD3抗体与蛋白A包被的磁珠(SpheroTech, Lake forest, USA)结合。次日,将 2×10^5 个原代人T细胞一式三份接种在圆底细胞培养板中并添加 2×10^5 个包被的珠。在37°C下过夜培养后,收获细胞并用抗CD69 Alexa Fluor[®] 488抗体(克隆FN50;Biolegend)标记以评估该活化标记物的上调。如上文针对结合所述那样进行样本收集和分析。运行若干个阴性对照样,包括单独T细胞、含未包被的珠的T细胞以及含同种型对照(CD3B94)包被的珠的T细胞。运行阳性对用于比较,包括可商购获得的SP34-2抗体(图3)。

[0138] 然后测试同一测定中人源化抗CD3抗体活化原代食蟹猴CD4⁺ T细胞的能力(Zen Bio, Triangle Research Park, USA)(图4)。FN50抗CD69抗体已被描述为与非人蛋白交叉反应,并且因此被用于测试食蟹猴CD4⁺ T细胞的活化。CD3B146显示出活化人和食蟹猴两者的能力(图3和图4)。

[0139] 抗CD3 mAb的制备。将CD3B146 IgG1转化为mAb IgG4 PAA GenMab形式(Labrijn等人, 2013),其具有Fc置换S228P、F234A和L235A(PAA)以及F405L和R409K置换(根据EU索引编号)。S233P、F234A和L235A是Fc沉默突变,而F405L和R409K突变将允许与包含天然IgG4 F405和R409残基的PSMA抗体的异源二聚化。简而言之,使用标准分子生物学技术,使用具有CMV启动子的内部表达载体将重链(HC)可变区亚克隆到包含S228P、F234A、L235A、F405L和R409K突变的人IgG4-PAA Fc上。使用标准分子生物学技术,使用具有CMV启动子的内部表达载体将轻链(LC)可变区亚克隆到人 λ 恒定区上。将所得质粒转染到Expi293F细胞(Invitrogen)中,并表达mAb。使用标准纯化方法纯化抗CD3抗体:蛋白A柱,其具有100mM NaAc pH3.5的洗脱缓冲液和2M Tris pH 7.5和150mM NaCl的中和缓冲液。使用PD10(Sephadex G25M)柱和合并液将mab脱盐

[0140] 产生的单特异性抗CD3抗体被重新命名为CD3B219,并且包含具有SEQ ID NO:15的VH和SEQ ID NO:16的VL的VH和VL区,以及具有S228P、F234A、L235A、F405L和R409K置换的IgG4恒定区。CD3B219包含SEQ ID NO:17的重链和SEQ ID NO:18的轻链。作为对照,来源于B21M的单特异性抗RSV抗体作为空白臂与双特异性抗体的CD3或PSMA臂配对。CD3B219的VH和VL序列在表5中示出。

[0141] 表5. CD3B219的VH、VL、HC和LC

[0142]

mAb	VH 氨基酸序列	SEQ ID NO:	VL 氨基酸序列	SEQ ID NO:
CD3B219	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFNTYA MNWVRQAPGKGLEWV	15	QTVVTQEPSLTVSPGGT VLTCSRSTGAVTTSNY ANWVQKPGQAPRGLI	16

[0143]

	ARIRSKYNNYATYYAA SVKGRFTISRDDSKNSL YLQMNSLKTEDTAVYY CARHGNFGNSYVSWFA YWGQGLVTVSS		GGTNKRAPGTPARFSGS LLGGKAALTLGSGVPED EAEYYCALWYNLWVF GGGTKLTVL	
	HC 氨基酸序列	SEQ ID NO:	LC 氨基酸序列	SEQ ID NO:
CD3B219	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFTYA MNWVRQAPGKGLEWV ARIRSKYNNYATYYAA SVKGRFTISRDDSKNSL YLQMNSLKTEDTAVYY CARHGNFGNSYVSWFA YWGQGLVTVSSASTK GPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTKTYTCNVDH KPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVDSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKC KVSNGKLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDFL LYSKLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLGK	17	QTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCRSSTGAVTTSNY ANWVQKPGQAPRGLI GGTNKRAPGTPARFSGS LLGGKAALTLGSGVPED EAEYYCALWYNLWVF GGGTKLTVLGQPKAAPS VTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWK ADSSPVKAGVETTPSK QSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEG STVEKTVAPTECS	18
	重链 DNA 序列	SEQ ID NO	轻链 DNA 序列	SEQ ID NO
	GAAGTGCAGCTGGTG GAATCTGGCGGCGGA CTGGTGCAGCCTGGCG GATCTCTGAGACTGAG CTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTCAACACCT ACGCCATGAACTGGGT GCGCCAGGCCCTGGC AAAGGCCTGGAATGG GTGGCCCGGATCAGA AGCAAGTACAACAATT	27	CAGACCGTCGTGACCC AGGAACCTAGCCTGAC CGTGTCTCCTGGCGGC ACCGTGACCCTGACCT GCAGATCTTCTACAGG CGCCGTGACCACCAGC AACTACGCCAACTGGG TGCAGCAGAAGCCAGG CCAGGCTCCCAGAGGA CTGATCGGCGGCACCA ACAAGAGAGCCCCTGG	28

[0144]

	<p>ACGCCACCTACTACGC CGCCTCCGTGAAGGGC AGATTCACCATCAGCC GGGACGACAGCAAGA ACAGCCTGTACCTGCA GATGAACTCCCTGAAA ACCGAGGACACCGCC GTGTACTACTGCGCCA GACACGGCAACTTCGG CAACAGCTATGTGTCT TGGTTTGCCTACTGGG GCCAGGGCACCCCTCGT GACCGTGTCACTGTCT TCCACCAAGGGCCCAT CCGTCTTCCCCCTGGC GCCCTGCTCCAGGAGC ACCTCCGAGAGCACA GCCGCCCTGGGCTGCC TGGTCAAGGACTACTT CCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACCTCAG GCGCCCTGACCAGCGG CGTGACACCTTCCCG GCTGTCTACAGTCCT CAGGACTCTACTCCCT CAGCAGCGTGGTGACC GTGCCCTCCAGCAGCT TGGGCACGAAAACCT ACACCTGCAACGTAGA TCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAG AGAGTTGAGTCCAAAT ATGGTCCCCCATGCC ACCATGCCAGCACCT GAGGCCGCCGGGGGA CCATCAGTCTTCCTGT TCCCCCAAACCCAA GGACACTTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGG TCACGTGCGTGGTGGT GGACGTGAGCCAGGA AGACCCCGAGGTCCA GTTCAACTGGTACGTG GATGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACA AAGCCGCGGGAGGAG CAGTTCAACAGCACGT ACCGTGTGGTCAGCGT CCTCACCGTCCTGCAC</p>		<p>CACCCCTGCCAGATTC AGCGGATCTCTGCTGG GAGGAAAGGCCGCCCT GACACTGTCTGGCGTG CAGCCTGAAGATGAGG CCGAGTACTACTGCGC CCTGTGGTACAGCAAC CTGTGGGTGTTTCGGCG GAGGCACCAAGCTGAC AGTGCTGGGTCAGCCC AAGGCTGCACCCAGTG TCACTCTGTTCCCGCCC TCCTCTGAGGAGCTTCA AGCCAACAAGGCCACA CTGGTGTGTCTCATAAG TGACTTCTACCCGGGA GCCGTGACAGTGGCCT GGAAGGCCGATAGCAG CCCCGTCAAGGCGGGA GTGGAGACCACCACAC CCTCCAAACAAGCAA CAACAAGTACGCGGCC AGCAGCTATCTGAGCC TGACGCCTGAGCAGTG GAAGTCCCACAGAAGC TACAGCTGCCAGGTCA CGCATGAAGGGAGCAC CGTGGAGAAGACAGTG GCCCCTACAGAATGTT CA</p>	
--	---	--	--	--

[0145]	CAGGACTGGCTGAAC GGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACA AAGGCCTCCCGTCCTC CATCGAGAAAACCATC TCCAAAGCCAAAGGG CAGCCCCGAGAGCCA CAGGTGTACACCCTGC CCCCATCCCAGGAGGA GATGACCAAGAACCA GGTCAGCCTGACCTGC CTGGTCAAAGGCTTCT ACCCCAGCGACATCGC CGTGGAGTGGGAGAG CAATGGGCAGCCGGA GAACA ACTACAAGAC CACGCCTCCCGTGCTG GACTCCGACGGCTCCT TCTCCTCTACAGCAA GCTAACCGTGGACAA GAGCAGGTGGCAGGA GGGGAATGTCTTCTCA TGCTCCGTGATGCATG AGGCTCTGCACAACCA CTACACACAGAAGAG CCTCTCCCTGTCTCTG GGTA AA			
--------	--	--	--	--

[0146] 实施例4.PSMA_xCD3双特异性抗体的制备

[0147] PSMA_xCD3双特异性抗体的形成通过将PSMA mAb PSMB127 (VH SEQ ID NO:5, VL SEQ ID NO:6) 与高亲和力CD3B219 (VH SEQ ID NO:15, VL SEQ ID NO:16) CD3臂组合来进行。靶向亲本 (PSMA) 包含天然IgG4氨基酸F405和R409, 而杀伤亲本 (CD3) 包含F405L GenMab突变和R409K突变。

[0148] 使用具有100mM NaAc pH3.5的洗脱缓冲液和2M Tris pH 7.5和150mM NaCl的中和缓冲液的蛋白A柱纯化亲本PSMA和CD3抗体。使用PD10 (Sephadex G25M) 柱将mAb脱盐, 并透析至pH 7.2的D-PBS缓冲液中。

[0149] 在纯化后, 将亲本PSMA抗体与期望的亲本CD3抗体在75mM的半胱胺-HCl中在还原条件下混合, 并在31°C下温育4h。重组反应基于摩尔比, 其中将设定量的PSMA (例如, 10mg或约67.8纳摩尔) 与CD3抗体 (例如, 约71.8纳摩尔) 组合, 其中CD3抗体的添加量比PSMA抗体高6%。PSMA抗体原液的浓度在0.8mg/mL至6mg/mL之间变化, 并且重组反应的体积在每个配对中都不同。重组体随后用PBS透析以去除还原剂。用过量的CD3抗体 (比率) 进行双特异性抗体反应, 以使重组后剩余的未反应PSMA亲本抗体的量最小化。在亲本mAb部分还原后, 通过过夜透析到PBS中去除还原剂。最终的PSMA_xCD3抗体命名为PS3B27。

[0150] 选择的PSMA命中也与非杀伤臂 (空白) 配对以产生用于测试目的阴性对照。对于对照双特异性抗体B2M1, 产生、纯化IgG4 PAA形式的RSV抗体, 并且与CD3臂CD3B219-F405L、R409K组合以产生CD3B288 (CD3 X空白), 或与PSMA臂PSMB162、PSMB126、PSMB130组合以分别产生PS3B37、PS3B39和PS3B40 (PSMA X空白)。

[0151] 表6.HC和LC cDNA SEQ ID NO.

抗体	HC cDNA SEQ ID NO:	LC cDNA SEQ ID NO:
PSMB127	25	26
CD3B219	27	28

[0153] 表7.VH、VL、HC和LC蛋白SEQ ID NO.

抗体	VH SEQ ID NO:	VL SEQ ID NO:	HC SEQ ID NO:	LC SEQ ID NO:
PSMB127	5	6	7	8
CD3B219	15	16	17	18

[0155] 表8.PSMA X CD3双特异性抗体 (PS3B27) 的HC/LC序列与对应的SEQ ID NO

PS3B27	重链	SEQ ID NO	轻链	SEQ ID NO
PSMA 臂 (PSMB 127)	EVQLLESGGGLVQPGGSLR LSCAASGFTFKSDAMHWV RQAPGKGLEWVSEISGSGG YTNYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAV	7	EIVLTQSPATLSLSPGE RATLSCRASQSVSSYL AWYQQKPGQAPRLLIY DASNRATGIPARFSGSG SGTDFTLTISSLEPEDFA	8

	YYCARDSYDSSLYVGDYF DYWGQGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPCSRSTSESTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGKTYTC NVDHKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPAPEAAGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGDSFLLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLGLGK		VYYCQQRSNWPLTFG QGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNR GEC		
[0157]	CD3 臂 (CD3B 219)	EVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASGFTFNTYAMNWV RQAPGKGLEWVARIRSKY NNYATYYAASVKGRFTISR DDSKNSLYLQMNSLKTEDT AVYYCARHGNFGNSYVSW FAYWGQGLTVTVSSASTK GPSVFPLAPCSRSTSESTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGKTYT CNVDHKPSNTKVDKRVES KYGPPCPPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVVSQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQ FNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTL PSQEEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFLLYS KLTVDKSRWQEGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSL GLGK	17	QTVVVTQEPSLTVSPGG TVTLTCRSSTGAVTTSN YANWVQKPGQAPRG LIGGTNKRAPGTPARFS GSLLGGKAALTLGVSQ PEDEAEYYCALWYSNL WVFGGGKLTVLGQP KAAPSVTLFPPSSEELQ ANKATLVCLISDFYPG AVTVAWKADSSPVKA GVETTTPSKQSNKYA ASSYLSLTPEQWKS HRYSYSCQVTHEGSTVEK TAPTECS	18

[0158] 表9.PSMA x CD3双特异性抗体 (PS3B27) 的VH和VL链序列与对应的SEQ ID NO.

mAb ID	重链氨基酸序列	SEQ ID NO	轻链氨基酸序列	SEQ ID NO
[0159] PSMA 臂 (PSMB1 27)	EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFKSDAMHW VRQAPGKGLEWVSEISGS GGYTNYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARDSDYSSLYVVG DYFDYWGQGTLVTVSS	5	EIVLTQSPATLSLSPGER ATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFAV YYCQQRSNWPLTFGQG TKVEIK	6
CD3 臂 (CD3B2 19)	EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFNTYAMNW VRQAPGKGLEWVARIRSK YNNYATYYAASVKGRFTI SRDDSKNSLYLQMNSLKT EDTAVYYCARHGNFGNS YVSWFAYWGQTLVTVS S	15	QTVVTQEPSLTVSPGGT VTLTCRSSTGAVTTSNY ANWVQQKPGQAPRGLI GGTNKRAPGTPARFSG SLLGGKAALTLGTVQP EDEAEYYCALWYSNL WVFGGGTKLTVL	16

[0160] 表10.PSMA x CD3双特异性抗体 (PS3B27) 的CDR序列与对应的SEQ ID NO.

CDR	PSMA 臂 (PSMB127)	SEQ ID NO:	CD3 臂 (CD3B219)	SEQ ID NO:
[0161] HCDR1	SDAMH	9	TYAMN	19
HCDR2	EISGSGGYTNYADSVKG	10	RIRSKYNNYATYYAASV	20
HCDR3	DSYDSSLYVGDYFDY	11	HGNFGNSYVSWFAY	21
LCDR1	RASQSVSSYLA	12	RSSTGAVTTSNYAN	22
LCDR2	DASNRAT	13	GTNKRAP	23
LCDR3	QQRSNWPLT	14	ALWYSNLWV	24

[0162] 实施例5.PSMAxCD3双特异性结合PSMA阳性细胞系

[0163] 测试PSMAxCD3双特异性抗体与PSMA阳性细胞系LNCaP、人PSMA-HEK、黑猩猩-PSMA-HEK和食蟹猴PSMA-HEK的结合。通过抗人κ轻链PE缀合的检测试剂 (Invitrogen) 检测结合抗体。平均荧光强度 (MFI) 是结合双特异性抗体的量度。将MFI转换为相对EC₅₀。EC₅₀是常用的剂量响应曲线,其中半最大有效浓度或EC₅₀点被定义为曲线的拐点。EC₅₀值通过测量细胞结合的双特异性和已知浓度来确定。高浓度导致最大靶抗原结合,即完全结合饱和。然后将剂量响应曲线稀释至背景或无双特异性结合的剂量响应曲线。该曲线的拐点反映了EC₅₀点。通过在EC₅₀点处获取ug/ml量的双特异性抗体并将其转换为基于双特异性抗体的MW的摩尔浓度值来确定计算EC₅₀。针对蛋白质浓度对双特异性抗体进行归一化,然后与相同数量的表达人或食蟹猴PSMA的细胞一起温育。通过流式细胞术收集每个浓度下的MFI,并将其作为浓度的函数作图。通过log10转换数据,然后作图。进行结合曲线的非线性回归以确定EC₅₀值。对于使用LNCaP、食蟹猴和黑猩猩PSMA表达细胞系的全细胞PS3B127的基于细胞的结合EC₅₀值和计算的EC₅₀值示于表11中。

[0164] 表11:基于细胞的结合EC₅₀值。

[0165]	Ab	LNCaP		食蟹猴-PSMA-HEK		黑猩猩-PSMA-HEK	
		EC ₅₀ (ug/mL)	计算 EC ₅₀ (nM)	EC ₅₀ (ug/mL)	计算 EC ₅₀ (nM)	EC ₅₀ (ug/mL)	计算 EC ₅₀ (nM)
	PS3B27	2.07	14.6	1.403	9.9	3.24	22.83

[0166] 实施例6.PSMA x CD3双特异性抗体对重组PSMA蛋白的亲合力

[0167] 为了进一步评估抗体,对黑猩猩PSMA ECD缔合和解离的速率进行了测量,这些命中是从细胞结合测试中继承下来的。使用ProteOn XPR36系统 (BioRad),通过表面等离子共振 (SPR) 研究PSMAxCD3双特异性mAb与靶标 (重组黑猩猩,PSMA) 的相互作用。按照用于胺基偶联化学的制造商说明书,通过将抗人IgG Fc (Jackson ImmunoResearch Laboratory, 目录号109-005-098) 偶联到GLC芯片 (BioRad, 目录号176-5011) 的改性藻酸盐聚合物层表面,来制备生物传感器表面。将大约4400RU (应答单位) 抗人IgG Fc抗体固定。在25°C下在运行缓冲液 (DPBS+0.03%P20+100μg/ml BSA) 中进行动力学实验。为了进行动力学实验,捕获100RU的双特异性抗体,然后以3.7nM至300nM的浓度 (以3倍连续稀释) 注射分析物 (重组黑猩猩PSMA ECD)。将结合相在50μL/min下监测3分钟,然后进行15分钟的缓冲液流动 (解离相)。在100μL/min下,用100mM的磷酸 (H₃PO₄,Sigma, 目录号7961) 的两个18秒的脉冲,使芯片表面再生。

[0168] 每个双特异性抗体的结果以k_a (缔合率)、k_d (解离率) 和K_D (平衡解离常数) 的形式记录。结果示于表14中。

[0169] 表12:PS3B27 (PSMB127 x CD3B219) 对重组人PSMA、重组黑猩猩PSMA和重组食蟹猴PSMA (3.7-300nM) 的动力学和亲和力的汇总。该表中记录的参数得自1:1朗缪尔结合模型。亲合力,K_D=k_d/k_a。

[0170]	重组 PSMA	双特异性 Ab 蛋白质 ID	k _a (1/Ms) 10 ⁵	k _d (1/s) 10 ⁻⁰³	K _D (nM)
		人 PSMA	PS3B27	2.87±0.36	2.89±0.70
	黑猩猩 PSMA	PS3B27	2.08±0.38	1.56±0.37	7.48±0.97
	食蟹猴 PSMA	PS3B27	1.59±0.12	1.10±0.04	7.00±0.68

[0171] n=3次独立实验,并且重复2次。结果以平均值±标准偏差列出。

[0172] 实施例7.PS3B27在PSMA阳性细胞系中的T细胞活化

[0173] 纯化的Pan3+ T细胞是Biological SpecialtyCorporation通过负选择去白细胞化白细胞从正常健康供体获得的,并冷冻保存于-80°C或液氮中直至准备使用。将原始态未活化的T细胞与靶细胞和CD3xPSMA双特异性抗体或空白对照 (CD3x空白或PSMAx空白) 以3:1的效应细胞:靶细胞比率组合。温育48小时后,通过夹心酶联免疫吸附测定 (ELISA) (Meso Scale Discovery) 分析上清液的细胞因子分泌。T细胞活化标记物CD25的表达通过流式细胞术通过对CD45、CD8、CD25和活/死近红外染色的T细胞进行染色来测量。通过首先在总细胞群 (FSC-A与SSC-A) 上进行门控以排除碎片和细胞聚集体来确定CD8+/CD25+的群。通过排除活/死细胞染色,对于确定为活的细胞,细胞门子集进一步变窄。然后对活细胞的CD45+/CD8+细胞进行门控。最后,鉴定出CD8+/CD25+阳性子集。通过将CD8+/CD25+的百分比与Log10 nM双特异性抗体或对照作图,然后进行非线性回归 (4参数拟合,最小二乘方方法) 来导出PS3B27或对照的EC50 (图5)。所有数据分析均在GraphPad Prism中进行。

[0174] 实施例8.PBMC人源化NSG小鼠中HEK293-PSMA异种移植物在肿瘤发生预防中的抗

肿瘤功效

[0175] 在雄性NSG小鼠(NOD.Cg-Prkdc^{scid} IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ or NOD SCID Gamma, Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME)中使用接种的人供体外周血单核细胞(PBMC)来预防HEK293-PSMA人异种移植物的肿瘤发生(预防模型)来评估PS3B27(PSMA x CD3双特异性抗体)的功效。在肿瘤细胞植入前7天,向小鼠的侧尾静脉中静脉内(iv)注射 1×10^7 个人PBMC。随后在小鼠右后侧腹皮下(sc)植入 1×10^7 个HEK293-PSMA细胞。在肿瘤植入当天开始,在第0天、第3天、第5天、第7天和第10天以0.4mg/kg q2d-q3d iv内施用PBS(磷酸盐缓冲盐水)对照、PS3B27、CD3B288(CD3x空白)或PS3B46(PSMA x空白),总共施用5个剂量。

[0176] 使用下式计算肿瘤体积:肿瘤体积(mm^3) = $(a \times b^2/2)$;其中“a”表示长度,并且“b”是通过卡尺测量确定的肿瘤宽度,并且在整个研究过程中每周监测两次肿瘤体积。肿瘤生长抑制(TGI)百分比被定义为治疗组的平均肿瘤体积和对照(PBS)组的平均肿瘤体积之间的差异,以 $TGI = [(TV_c - TV_t) / TV_c] * 100$ 来计算,其中 TV_c 为给定对照组的平均肿瘤体积, TV_t 是治疗组的平均肿瘤体积。如NCI标准所定义, $\geq 60\%$ TGI被认为是生物学上显著的(Johnson等人(2001) Br J Cancer 84(10) 1424-31)。当达到 1500mm^3 的最大肿瘤体积时,将动物从研究中去除。

[0177] 人PBMC的移植最终导致小鼠患有移植物抗宿主病(GvHD),在这种疾病中移植的供体T细胞被活化并渗透宿主组织,导致体重减轻、器官衰竭和不可避免地死亡。为了监测GvHD的发病和严重程度,每周记录体重两次,并以克(g)表示。使用下式计算体重变化百分比:体重变化 = $[(B_t - B_0) / B_0] * 100$,其中 B_t 是研究的给定天的体重,并且 B_0 是治疗开始时的体重。具有大于初始体重的20%的持续体重减轻的动物被认为是濒死的并且将其从研究中去除。

[0178] 利用Graph Pad Prism软件,使用Dunnett的多重比较测试进行多重比较,用单因素方差分析对统计显著性进行评估。PS3B27治疗有效延迟了HEK293-PSMA肿瘤发生和肿瘤生长(图6)。在研究第16天(最后一次治疗后6天),在PBS治疗组的八只小鼠中的七只中可检测到小但可察觉的HEK293-PSMA肿瘤,而在PS3B27治疗组的八只小鼠中仅有一只具有肿瘤。在CD3B288治疗组中八只小鼠中的五只具有可察觉的肿瘤,并且在PS3B46组中八只小鼠中的两只具有小肿瘤。当每组具有最少7只动物时,在停止治疗后第27天(肿瘤植入后第37天)评估肿瘤生长抑制。与PBS治疗的对照相比,PSMA x CD3双特异性抗体(PS3B27)治疗组中的肿瘤生长被抑制了90% ($n=8$ 只/组, $P<0.001$)。相对于PBS对照,PSMA x空白双特异性抗体(PS3B46)还以统计学上显著的方式($TGI=42\%$, $n=7$)抑制肿瘤发生和生长($P<0.05$),但基于NCI标准不认为它是生物学上显著的效应。

[0179] 接受PBMC的动物组最终死于进行性GvHD,然而在当前研究中体重减轻很小。直至肿瘤植入后第37天为止,在用0.4mg/kg PS3B27与PBS治疗的动物的平均体重之间未观察到显著差异($p>0.05$),如图7所示。因此,PS3B27介导的T细胞重定向不会进一步促进GvHD-相关的体重减轻。

[0180] 尽管在当前研究中体重减轻较小,但注意到零星的GvHD-相关死亡。由于肿瘤植入后30天GVHD相关的过度($>20\%$)体重减轻,因此对PSMA x空白双特异性抗体PS3B46组中的一只小鼠实施了安乐死。到肿瘤植入后42天,在PBS($n=1$)和PSMA x空白双特异性抗体PS3B46组($n=2$)中注意到附加的GvHD相关死亡,并且由于达到 1500mm^3 肿瘤体积终点,从本

研究中去除了若干附加的小鼠,此时整个研究终止。

[0181] 实施例9.PS3B27在防止雄性CD1裸鼠中的混合HEK293-PSMA/T细胞异种移植物的肿瘤发生中的功效

[0182] 在混合物异种移植模型中评估PS3B27的功效,其中将人CD3+pan T细胞和肿瘤细胞共注射到雄性CD1裸鼠 (NU-Foxn1nu, Charles River Laboratories, Wilmington, MA) 中。

[0183] 每2天至3天 (q2d或q3d) 在iv施用人PSMA x人CD3双特异性抗体PS3B27或对照双特异性抗体,总共5个剂量,如所指出的那样。在整个研究中每周监测两次小鼠 (体重和肿瘤卡尺测量)。基于25g体重将表示为 μg /动物的药物剂量转换为 mg/kg (示例: $10\mu\text{g}/\text{动物} = 0.4\text{mg}/\text{kg}$)。以 mg/kg 施用的药物剂量基于体重给药 $10\text{mL}/\text{kg}$ (示例: 25g 小鼠 = 0.25mL)。

[0184] 使用下式计算肿瘤体积: 肿瘤体积 (mm^3) = $(a \times b^2/2)$; 其中“a”表示长度,并且“b”是通过卡尺测量确定的肿瘤宽度,并且在整个研究过程中每周监测两次肿瘤体积。肿瘤生长抑制 (TGI) 百分比被定义为治疗组的平均肿瘤体积和对照 (PBS) 组的平均肿瘤体积之间的差异,以 $\text{TGI} = [((\text{TVc} - \text{TVt}) / \text{TVc}) * 100]$ 来计算,其中 TVc 为给定对照组的平均肿瘤体积, TVt 是治疗组的平均肿瘤体积。根据NCI标准的定义, $\text{TGI} \geq 60\%$ 被认为具有生物学意义 [1]。当达到 1500mm^3 的最大肿瘤体积时,将动物从研究中去除。

[0185] 由于CD3臂对相应小鼠抗原缺乏交叉反应性,因此PS3B27的耐受性不能相对于CD3在宿主组织中的结合进行评估。然而,注射有肿瘤细胞的T细胞确实表达人CD3,并且可结合PS3B27和CD3X空白对照。使用下式计算体重变化百分比: 体重变化 = $[((\text{Bt} - \text{B0}) / \text{B0}) * 100]$, 其中 Bt 是研究的给定天的体重,并且 B0 是治疗开始时的体重。

[0186] 利用Graph Pad Prism软件,使用Dunnett的多重比较测试进行多重比较,用单因素方差分析对统计显著性进行评估。

[0187] 通过在雄性CD1裸鼠 (ELN参考:CD3-PSMA-2013-00003) 中防止含有HEK293-PSMA细胞以及活化并扩增的CD3阳性pan T细胞 (效应细胞与靶细胞比率1:5) 的混合异种移植物的肿瘤发生来评估PS3B27的功效。使用含IL-2的培养基 (Miltenyi Biotech, Auburn, CA, 目录号130-091-441、130-097-743) 中的T细胞活化/扩增试剂盒,将T细胞活化并体外扩增12天。在小鼠右后侧腹向每只小鼠sc植入50%的Cultrex (Trevigen, Gaithersburg, MD, 目录号3433-005-01) 和50%的无血清RPMI 1640培养基中的 5×10^6 个HEK293-PSMA细胞和 1×10^6 个活化和扩增的T细胞的混合物。在与肿瘤植入同一天开始,在第0天、第2天、第4天、第7天和第9天以 $0.005\text{mg}/\text{kg}$ 至 $0.5\text{mg}/\text{kg}$ 的PBS、PS3B27, $0.5\text{mg}/\text{kg}$ 的CD3B288 (CD3 x空白双特异性抗体) 或 $0.5\text{mg}/\text{kg}$ 的PS3B46 (PSMA x空白双特异性抗体) 按体重iv施用q2d-q3d, 总共施用5个剂量。 ($n=10$ 只/组)。还通过ip施用评估了用PS3B27治疗 (数据未示出)。在PBS对照组中,在第46天和第49天各去除一只动物,以产生过度的肿瘤负荷。直至第64天为止,将肿瘤体积数据绘图,之后由于肿瘤体积过大从研究中去除一半对照动物。

[0188] 如图8中所示,在停止治疗后 (直至第64天为止) 评估肿瘤发生和生长55天。在所有剂量 ($0.005\text{mg}/\text{kg}$ 、 $0.05\text{mg}/\text{kg}$ 或 $0.5\text{mg}/\text{kg}$) 下,与PBS对照相比,用PS3B27治疗显著抑制肿瘤发生和延迟生长,导致在第64天TGI分别为73%、81%和82% (分别为 $P < 0.001$ 、 $P < 0.0001$ 、 $P < 0.001$)。通过ip施用PS3B27治疗显示出与iv施用类似的功效 (数据未示出)。用CD3B288 (CD3 x空白双特异性抗体) 或PS3B46 (PSMA x空白双特异性抗体) 治疗的动物在第64天分别显示出51%和38% TGI的一些抗肿瘤活性 (分别为 $P < 0.05$, $P = \text{ns}$) ,然而,基于60% TGI的NCI标

准,这不被认为是生物学上显著的,从而表明需要双特异性抗体的CD3和PSMA两者结合才能达到功效。

[0189] 在研究过程中不存在体重减轻,然而,与PBS相比,用0.5mg/kg和0.005mg/kg的PS3B27治疗的动物的体重增加显著更少(分别为 $p < 0.001$, $p < 0.0001$,图9),然而,这可能是由于这些动物的肿瘤负荷更低。

[0190] 实施例10:毒理学研究

[0191] 研究药物在通过IV施用进行的研究中的毒理学评估。

[0192] 在单剂量/重复剂量的非GLP探索性毒理学研究中评估研究药物的IV施用耐受性。剂量范围为0.03mg/kg至3mg/kg。对SA雄性和SM雄性以及雌性使用不同的剂量方案。最显著和剂量限制性毒性是细胞因子释放,这主要是第一剂量效应。血浆细胞因子似乎与死亡率直接相关。主要在 ≥ 0.06 mg/kg (Q3D或Q1W)下观察到干扰素(IFN) - γ 、白介素(IL) - 2、IL-6、IL-10和肿瘤坏死因子(TNF) - α 的升高。在非耐受剂量(≥ 0.1 mg/kg)下,发现动物由于副作用而死亡或安乐死,主要在第一剂量的第1天和第2天之间。在所有早期死者中不能从组织学上确定死亡原因,并且推测是由于严重细胞因子释放。0.06mg/kg (Q3D和Q1W)和0.3mg/kg (Q1W)组的猴在尸检的计划日(第30天)的微观发现包括肝、肾和胆囊中的单核浸润;最小程度至轻度肾小管变性/再生;最小程度的多灶性肾小管矿化;管状发现或大血管周围的单核间质浸润;和轻度骨髓细胞过多。SM男性的最大耐受剂量(对研究药物诱导的细胞因子释放最敏感)为0.06mg/kg (Q3D或Q1W)。在超过2周给药的大多数动物中存在暴露的损失(显然是由于ADA),因此后续研究的持续时间限于2周。

[0193] 在SM食蟹猴中的关键GLP研究中,研究药物通过IV缓慢弹丸式注射Q1W(3个总剂量)或Q3D(6个总剂量)预期施用2周。施用于雄性的Q3D剂量为0mg/kg、0.03mg/kg或0.06mg/kg。雌性接受0mg/kg、0.06mg/kg或0.2mg/kg。对于雄性的Q1W剂量为0.06mg/kg,并且对于雌性为0.2mg/kg。一般来讲,在 ≥ 0.03 mg/kg的剂量水平下,在雄性猴和雌性猴中均观察到细胞因子血浆浓度的剂量相关增加。呕吐(0.06mg/kg Q3D和0.2mg/kg Q3D/Q1W)和驼背姿势(0.03mg/kg和0.06mg/kg Q3D)主要与施用第一剂量相关。临床体征被认为与细胞因子释放有关。5只雌性中的一只(0.2mg/kg Q1W)在第3天由于临床状况下降而被安乐死,并且原因可能是由于严重细胞因子释放。在成功完成给药的动物中,没有研究药物相关的宏观变化,但在 ≥ 0.03 mg/kg下观察到微观发现(来自第16/17天的计划尸检)。这些发现限于肾(最小程度至轻度)、肝(最小程度至中度)和胆囊(轻度)的血管周围区域中注意到的淋巴细胞浸润,其在57天的恢复期结束时逆转,除了1只雌性(0.2mg/kg;Q3D)的肾中的轻度血管周围浸润。在关键研究中的最高非严重毒性剂量(HNSTD)为0.06mg/kg/剂量。在第1天给药后,施用Q3D(雄性和雌性)或Q1W(雄性)的猴的对应平均 C_{max} 为1.85 μ g/mL或1.99 μ g/mL,并且AUC_{Day1-4}或AUC_{Day1-8}分别为1.72 μ g天/mL或2.37 μ g天/mL。

[0194] 进行非GLP研究性毒理学研究,以确定是否可减轻先前研究中观察到的剂量限制性细胞因子释放。测试了两种方法,其包括在用低剂量(0.01mg/kg)初免或用托珠单抗(tocilizumab)(IL-6受体拮抗剂)预防性治疗后的动物内剂量递增。在低剂量初免研究阶段,以缓慢的动物内剂量递增方案(0.01 \rightarrow 0.02 \rightarrow 0.04 \rightarrow 0.12 \rightarrow 0.6mg/kg)(图10A)或快速的动物内递增方案(0.01 \rightarrow 0.03 \rightarrow 0.1 \rightarrow 0.4 \rightarrow 1.5mg/kg)(图10B),通过IV缓慢弹丸式注射Q3D施用研究药物。

[0195] 通过IV施用进行的跨研究的临床病理变化

[0196] 在雄性和雌性食蟹猴中进行交叉研究分析,比较在单剂量/重复剂量非GLP探索性研究、关键GLP毒理学研究(T-2015-072)和非GLP研究性研究与研究药物的IV施用相关的临床病理变化。

[0197] 临床病理参数的变化在所有3项研究中通常是类似的并且与个体动物包括由于衰退状况而早期被安乐死的动物的临床体征的存在或严重程度无关。这些发现表明,临床病理变化本身对于在这些研究条件下的研究药物相关的临床体征或总体耐受性来说通常不是敏感的或不是特异性生物标记物。

[0198] 许多临床病理变化在第一剂量后最为显著,在后续剂量后观察到较小幅度的变化或不存在一致的变化。这些变化包括减少的血小板、红细胞团、网织红细胞、淋巴细胞和单核细胞(除了在如下讨论的递增剂量后)、嗜酸性粒细胞、凝血时间(除了在递增剂量后)、尿素氮(BUN)、肌酸酐、大多数肝酶和胆红素,以及磷和电解质的变化。若干临床病理变化被认为可能与研究药物相关的细胞因子释放和促炎状态包括急性期反应(与降低的白蛋白和胆固醇以及增加的C反应蛋白、甘油三酯和球蛋白相关的促炎状态)以及可能的嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞的变化、延长的凝血时间、增加的胆红素以及增加的BUN和肌酸酐相关。在所有研究中淋巴细胞的减少被认为可能是与CD3参与相关的预期药理学活性的结果。其他临床病理变化,包括肝酶增加以及矿物质和电解质减少。

[0199] 在这些变化中,淋巴细胞和单核细胞减少以及活化部分凝血活酶时间(APTT)轻度延长通常在经历剂量递增的动物中比在以相同剂量水平重复给药的动物中持续更长时间;这些变化的较长持续时间与动物内剂量递增有关,并且不一定与低初免剂量的施用有关。在大多数研究中,其他变化通常在整个给药阶段持续(或在给药阶段稍后开始),包括急性期响应、碱性磷酸酶增加、一些白细胞参数(嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和大的未染色细胞)增加以及钙减少。

[0200] 尽管在低剂量初免时注意到改善的剂量水平耐受性,但效果受限于所选的临床病理参数。在经历低剂量初免的动物中最显著的差异是肾参数没有变化(BUN、肌酸酐和磷增加)以及持续存在淋巴细胞和单核细胞减少和轻度延长的APTT。这些差异表明初免相关的作用,但缺乏肾参数变化对改善耐受性的贡献不确定。另外,在所有剂量(通过0.6mg/kg或1.5mg/kg)下经历低剂量初免的动物中延长的凝血时间(最值得注意的是APTT)通常比在不存在初免的情况下在类似剂量下动物中的凝血时间更小。

[0201] 皮下施用研究药物时的局部耐受性研究

[0202] 在性成熟雄性食蟹猴中评估SC(皮下)施用研究药物的局部耐受性。动物接受每周2次剂量的研究药物、0.9%盐水或配制缓冲液(包含10mM乙酸钠、8%蔗糖、0.04%聚山梨酸酯20和0.02mg/mL EDTA二钠的水溶液,pH5.2)。在两次给药之后,在给药后至多96小时评估注射部位,并且在第15天对动物进行尸检。在临床观察、体重、定性食物评估、注射部位或引流淋巴结中的总体或微观发现方面没有研究药物相关的变化。观察到研究药物相关的血浆细胞因子(MCP-1、IL-10、IL-6、TNF- α 、IFN-)浓度增加,尽管显著低于在IV施用相同剂量时观察到的浓度。临床病理参数的研究药物相关变化包括淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、大的未染色细胞、网织红细胞和血小板减少,以及急性期反应(C反应蛋白增加和白蛋白减少)。这些变化在第一剂量后是瞬时的。在第二剂量后,临床病理变化限于淋巴细胞轻度

减少。第1天和第8天的平均Cmax分别为0.28ug/ml和0.33ug/ml,并且AUCDay0-7或AUCDay7-14分别为1.35μg/天/mL和1.58μg/天/mL

[0203] 实施例11:研究药物在患有晚期实体瘤的患者中的1期、首次人体剂量递增研究

[0204] 缩写

[0205] 表13. 贯穿本实施例使用的缩写如下

[0206]

β-hCG	β人绒毛膜促性腺激素
¹⁸ F-FDG	¹⁸ F-氟脱氧葡萄糖
^{99m} Tc	锝-99m
ADA	抗药物抗体
ALT	丙氨酸转氨酶
AR	雄激素受体
AST	天冬氨酸转氨酶
BiTE	双特异性 T 细胞衔接子
BLRM	贝叶斯逻辑回归模型
CR	完全响应
CRS	细胞因子释放综合征
CSR	临床研究报告
CT	计算机断层扫描
CTC	循环肿瘤细胞
CyTOF	飞行时间细胞术
DLT	剂量限制性毒性
DNA	脱氧核糖核酸
E:T	效应子与靶标 (细胞比率)
eCFR	电子病例报告表
ECG	心电图
ECHO	超声心动图
ECOG	美国东部肿瘤协作组
EO IV	静脉内冲洗结束
EOT	治疗结束
EWOC	控制过量用药的剂量递增 (原则)
FIH	首次人体
GCP	良好的临床实践
GGT	γ-谷氨酰基转移酶

[0207]

GLP	良好的实验室实践
GnRH	促性腺激素释放激素
HBcAg	乙型肝炎核心抗原
HBsAg	乙型肝炎表面抗原
HCV	丙型肝炎病毒
HIV	人免疫缺陷病毒
HNSTD	最高非严重毒性剂量
ICF	知情同意书
IEC	独立伦理委员会
IFN	干扰素
Ig	免疫球蛋白
IL	白介素
IPPI	研究者产品制备说明
irAE	免疫相关不良事件
IRB	机构审查委员会
IRR	输注相关反应
IV	静脉内
Kd	亲和力
MABEL	最小预期生物效应水平
mCRM	改进的连续重新评估方法
mCRPC	转移性去势抵抗性前列腺癌
mTOR	哺乳动物雷帕霉素靶蛋白[抑制剂]
MRI	磁共振成像
MTD	最大耐受剂量
MUGA	多门控采集扫描
NCI CTCAE	美国国家癌症研究所不良事件通用术语标准
OS	总体生存期
PBMC	外周血单核细胞
PCWG3	前列腺癌工作组 3
PFS	无进展生存期
PK/PD	药代动力学/药效学
PK/TK	药代动力学/毒代动力学
PQC	投诉产品质量
PR	部分响应
PSA	前列腺特异性抗原
PSMA	前列腺特异性膜抗原
Q1W	每周一次
Q3D	每 3 天一次
QD	每天
RCC	肾细胞癌
RECIST	实体瘤的响应评估标准
RP2D	2 期推荐剂量

[0208]	SET	研究评估小组
	SIPPM	研究中心试验用药品和程序手册
	SM	性成熟
	SUSAR	疑似出乎意料严重的不良反应
	T 细胞	T 淋巴细胞
	TCR	T 细胞受体
	TNF	肿瘤坏死因子
	TTR	响应时间
	ULN	正常上限

[0209] 术语的定义

[0210] 表14. 贯穿本实施例使用的术语。

[0211]	AUC	血清浓度对时间曲线下面积
	$AUC_{(t_1-t_2)}$	从时间t1至时间t2的浓度-时间曲线下面积
	CL	
	C_{max}	观察到的最大血清浓度
	C_{min}	观察到的最小血清浓度
	$EC_{20,50,90}$	产生最大效果的20%、50%或90%所需的药物浓度
	RA	累积比
	$t_{1/2}$	与半对数药物浓度-时间曲线的末端斜率(λ_z)相关的表观消除半衰期
	T_{max}	对应于最后可量化血清浓度的时间
	VSS	分布体积

[0212] 1. 方案概述

[0213] 1.1. 概要

[0214] 研究药物是开发用于评估靶向前列腺特异性膜抗原 (PSMA) 对CD3介导的T细胞重定向的治疗潜力的双特异性抗体。研究药物是人IgG4抗体。通过来自2种抗体:PSMB127和CD3B219的受控片段抗原结合臂交换来产生双特异性抗体。PSMB127是源自PSMA过表达细胞系上噬菌体文库的全细胞淘选抗PSMA抗体。CD3B219是源自公共结构域抗体SP34的抗CD3 ϵ 抗体,其被进一步人源化并且亲和力成熟。

[0215] PSMA是在正常前列腺中表达的跨膜蛋白,并且其表达在恶性转化(包括在骨转移上的表达)期间增加。此外,PSMA在其他恶性肿瘤的新血管系统中过表达。假设研究药物,一种同时靶向PSMA和CD3的双特异性抗体,将指导身体的免疫细胞杀伤这些过表达PSMA的恶性细胞。研究药物的作用机制通过将表达CD3的T细胞募集到表达PSMA的靶细胞来实现T细胞介导的细胞毒性。这种用于细胞杀伤的机制是独特的,这为治疗其疾病已被证明对当前疗法具有抗性的患者提供了机会。

[0216] 目标、终点和假设

[0217] 表15. 目标、终点和假设

	目标	终点
	初级	
	第1部分(剂量递增) 确定2期推荐剂量(RP2D)方案和最大耐受剂量	不良事件的发生率和严重程度,包括剂量限制性毒性
	第2部分(扩展) 确定在RP2D方案中研究药物的安全性	• 所有不良事件的发生率和严重程度
[0218]	二级	
	评估研究药物在多次IV给药后的药代动力学。	研究药物的血清浓度-时间曲线和药代动力学参数,包括但不限于 C_{max} 、 T_{max} 、 $AUC_{(t1-t2)}$ 、 AUC_{tau} 、 C_{min} 和累积比(RA)
	评估研究药物在多次IV给药后的药效学。	药效学标记物,包括但不限于全身性细胞因子浓度、T细胞活化标记物、RO和血清前列腺特异性抗原(PSA)
	评估研究药物的免疫原性。	抗研究药物抗体的存在。

[0219] 假设

[0220] 在本研究中将不进行正式的统计假设检验。研究将评估如下:

[0221] 剂量递增(第1部分):可鉴定研究药物的RP2D,使得<33%的参与者经历剂量限制性毒性(DLT)。

[0222] 剂量扩展(第2部分):研究药物是安全的,并且在RP2D处显示出初步临床活性。

[0223] 图11和图12提供了剂量递增和剂量扩展计划以及初免剂量计划表的潜在探索的图。

[0224] 总体设计

[0225] 这是一项FIH、开放标签、多中心、1期研究,用于评估研究药物单一疗法在晚期癌症参与者中的安全性、药代动力学、药效学和初步临床活性。该研究将以2个部分进行:剂量递增(第1部分)和剂量扩展(第2部分)。在第1部分中,将招募在雄激素受体(AR)靶向疗法后患有复发性疾病的转移性去势抵抗性前列腺癌(mCRPC)成年男性。剂量递增将由基于统计模型贝叶斯逻辑回归模型(BLRM)使用控制过量用药的剂量递增(EWOC)原则的改进的连续重新评估方法(mCRM)支持。研究将从加速滴定开始,然后是标准滴定阶段。第1部分的目标是确定研究药物的MTD并选择将在第2部分剂量扩展(即,RP2D)中使用的剂量和方案。第2部分的目的是进一步评估安全性、药代动力学、药效学和生物标记物(血液和组织),以及评估研究药物在mCRPC中的初步临床活性。

[0226] 在前2次研究药物施用(以及任何初免剂量,如果施用的话)后,参与者将住院48小时,以有利于安全性监测和药代动力学评估。针对研究药物施用的后续住院对于满足某些安全性标准的参与者将是必需的(先前 ≥ 2 级神经系统毒性、针对初免计划表的患者内剂量递增、或在72小时内未消退至 ≤ 1 级的先前 ≥ 2 级CRS)。为了使与预期的输注相关反应(IRR)相关联的风险最小化,皮质类固醇前药在研究药物首次给药之前是需要的,并且对于在第一剂量之后既不经历 ≤ 1 级IRR也不经历CRS的参与者的后续剂量将减少或消除。

[0227] 在研究期间,研究评估小组(SET)将监测安全性,尤其是在第1部分的每个剂量递增步骤时。该研究将以每周给药计划表开始。可根据由SET确定的新出现的数据来探索替代计划表(例如每周两次或初免计划表)。

[0228] 参与者将继续接受研究药物,直至放射摄影疾病进展、明确的临床进展、不可接受的毒性、撤销同意、研究者或申办方决策、或研究结束。研究结束(研究完成)被定义为对研究中最后一名参与者的最后安全性评估。

[0229] 参与者数量

[0230] 大约70名参与者将在本研究中接受治疗。然而,样本量将取决于所探索的队列的数量。

[0231] 研究药物和持续时间

[0232] 表16. 研究药物持续时间

剂量	剂量递增将以 0.1µg/kg 的研究药物起始剂量开始。后续剂量水平将以申办方使用由基于统计模型贝叶斯逻辑回归模型 (BLRM) 利用控制过量用药的剂量递增原则的改进的连续重新评估方法 (mCRM) 指导的适应性剂量递增策略指定的剂量来施用。
施用途径	静脉内 (IV) 输注。
输注持续时间	大约 2 小时 (±30 分钟)。
给药计划表	<p>该研究将以每周一次的研究药物输注计划表 (无初免) 开始。可改变研究药物施用计划表 (即, 每周或每周两次), 并且可探索初免剂量计划表。</p> <p>治疗剂量计划表:</p> <p>每周: 每周一次施用研究药物治疗剂量。每次研究药物施用之间必须存在至少 5 天。</p> <p>每周两次 (如果探索的话); 每周两次 (即, 每隔 3 至 4 天一次) 施用研究药物治疗剂量。每次研究药物施用之间必须存在至少 72 小时。</p> <p>注意: 研究访视可发生在计划日期的±2 天。</p>

[0233] 功效评估

[0234] 临床活性将使用以下评估来评估: 具有颈部、胸部、腹部和骨盆对比的计算机断层 (CT) 扫描; 磁共振成像 (MRI) (即, 对于使用 CT 未充分成像的部位)。对具有 mCRPC 的参与者的附加评估包括血清前列腺特异性抗原 (PSA) 和全身骨扫描 (^{99m}Tc)。前列腺治疗响应的评估将根据前列腺癌工作组 3 (PCWG3) 标准和实体瘤的响应评估标准 (RECIST) 1.1 版进行, 以评估软组织病变的进展 (CT 或 MRI)。

[0235] 药代动力学、生物标记物和免疫原性评估

[0236] 收集血液样本以表征研究药物的血清药代动力学和抗药物抗体。还将收集血液样本以评估药效学、安全性和预测对研究药物治疗的响应或抗性的生物标记物。将在研究之前和研究期间从第 1 部分和第 2 部分中所选择的 PK/PD 队列的参与者收集来自转移性疾病的可触及部位的强制新鲜肿瘤活检, 以评估肿瘤组织中的 PSMA 表达和药效学标记物。

[0237] 安全性评估

[0238] 研究药物的安全性将通过体检 (包括基础神经系统评估)、ECOG 体能状态、临床实验室测试、生命体征、心电图、不良事件监测来评估。将记录伴随的药物使用。不良事件的严重程度将使用“美国国家癌症研究所不良事件通用术语标准” (5.0 版) 来评估。细胞因子释放综合征已被鉴定为特别关注的不良事件, 并且将需要增强的报告和收集。

[0239] 统计方法

[0240] 在本研究中将不进行正式的统计假设检验。剂量增加将由基于统计模型 BLRM 利用

EWOC原则的mCRM支持。

[0242] 1.2. 方案

[0243] 图11和图12提供了剂量递增和剂量扩展计划以及初免剂量计划表的潜在探索的图。

[0244] 1.3. 活动计划表

[0245] 表17. 活动计划表—每周给药计划表第1部分和第2部分

[0246]

评估/程序 ^a	筛选 ≤30 天	每周计划表-治疗阶段 第1部分和第2部分							EOT 访视 ^m	治疗 后 随访
		第1周			第2周			所有 其他 周		
一周中的日期		第1 天	第2 天	第3 天	第1 天	第2 天	第3 天	第1 天		
知情同意 ^b	X									
资格标准 (纳 入/排除)	X	X								
人口统计学	X									
病史	X									
疾病特征 ^c	X									
ECOG ^d	X	X			X			X		
ECHO 或 MUGA ^d	X	如临床指示								
体检 ^e	X	X			X			X		
基础神经系统 检查 ^e	X	X			X			如 发 生 神 经 系 统 毒 性, 则 进 行 接		

[0247]

评估/程序 ^a	筛选 ≤30 天	每周计划表-治疗阶段 第1部分和第2部分							EOT 访视 ^m	治疗 后 随访
		第1周			第2周			所有 其他 周		
一周中的日期		第1 天	第2 天	第3 天	第1 天	第2 天	第3 天	第1 天		
								下来 2个 剂量		
高度	X									
12导联 ECG ^d	X									
给药前		X						仅剂 量5		
IV 冲洗结束		X						仅剂 量5		
血清学 ^f	X									
血液学 ^g	X	X	X		X	X		X	X	
化学 ^g	X	X	X		X	X		X	X	
凝血 ^g	X	X	X		X	X		X		
妊娠测试 ^g	X	X	每4周进行尿液妊娠测试，并且如临床 指示						X	
尿液分析 ^g	X	如临床指示								
生命体征，包 括体温和 O ₂ 饱 和度 ^h	X	X	X	X	X	X	X	X		
住院 参见第 4.1 节 和表 24		输注结束后至少 48h (IV 冲洗)			输注结束后至少 48h (IV 冲洗)			观察 期要 求参 见表 24		
输注前药物 ⁱ		X			X			X		
研究药物施用 ^j		X			X			X		
重量 ^j	X	X			X			X		
新鲜肿瘤活检		参见表 19								
PSA (仅 mCRPC) ^k	X	第一剂量后每 4 (+1) 周一次							X	
CT/MRI 扫描 ^k	X	前 24 周每 8 周一次，然后每 12 周一次								
骨扫描- ^{99m} Tc(mCRPC) ^k	X	前 24 周每 8 周一次，然后每 12 周一次								

评估/程序 ^a	筛选 ≤30 天	每周计划表-治疗阶段 第1部分和第2部分							EOT 访视 ^m	治疗 后 随访
		第1周			第2周			所有 其他 周		
一周中的日期		第1 天	第2 天	第3 天	第1 天	第2 天	第3 天	第1 天		
[0248] PK/免疫原性 /PD		参见表 18 (第 1 部分) 和表 19 (第 2 部分)								
不良事件		从 ICF 的签署持续到研究药物最后一次给药后至多 30 天, 或者如果更早的话直至后续抗癌疗法开始 (第 8.3 节)。								
伴随药物		从 ICF 的签署持续到研究药物最后一次给药后至多 30 天, 或者如果更早的话直至后续抗癌疗法开始 (第 6.5 节)。								
后续抗癌疗法 ^l										X
生存期 ^l										X
缩写: ^{99m} Tc=锝-99; CT=计算机断层扫描; D=天; ECG=心电图; ECHO=超声心动图; ECOG=美国东部肿瘤协作组; Ga=镓; ICF=知情同意书; MUGA=多门控采集扫描; O ₂ =氧; PD=药效学; PK=药代动力学; PSA=前列腺特异性抗原; SET=研究评估小组。										

[0249] a. 每次计划的研究中心访视可以是距计划日期±2天。评估和程序(包括实验室测试)可在计划的研究药物施用前至多48小时进行。基于新出现的数据,可由申办方对所计划的评估计划表进行调整,以保护患者安全或完全表征研究药物的PK或PK/PD特征。在用研究药物治疗的前4个周期期间,可收集用于细胞因子谱、PK或PD评估的附加(即,非计划)血液样本至多8次。

[0250] b. 必须在首次与研究相关的活动之前签署。

[0251] c. 疾病特征包括肿瘤类型和组织学、诊断时间、诊断时和筛选时的肿瘤阶段、可用的病理和分子数据、先前的抗癌疗法、以及最新疾病进展的日期。

[0252] d. 参见第8.2节。

[0253] e. 在筛选时完成身体检查。针对症状和疾病的检查将在所有研究药物施用之前进行。在筛选时的体检期间,在第一治疗剂量和任何初免剂量之前以及在住院期间至少每12小时进行一次基础神经系统检查。对于作为门诊患者的药物施用,可如临床指示的进行神经系统检查。

[0254] g. 实验室评估说明:

[0255] -在研究药物首次给药之前,必须满足分别在第5.1节和第5.2节中呈现的纳入和无排除标准。

[0256] -在研究药物施用日,不需要重复在输注前48小时内进行的实验室评估。

[0257] -如临床指示,可收集和分析附加的样本。

[0258] -实验室评估将在当地实验室进行。

[0259] -在筛选时和在研究药物首次给药之前进行的妊娠测试必须是高灵敏血清(β人绒毛膜促性腺激素[βhCG])。

[0260] h. 在开始输注前即刻、输注期间每30分钟、IV冲洗结束和IV冲洗结束后1、2和3小时针对研究药物首次给药评估生命体征。所有其他输注：在输注开始前即刻、在输注期间每30分钟、IV冲洗结束以及如临床指示。以与生命体征相同的计划表来监测氧饱和度和体温。监测生命体征和O₂饱和度，直至CRS事件后正常化。

[0261] i. 关于在研究药物施用之前待施用药物的说明参见第6.5.3节。

[0262] j. 对于每周给药计划表，每次研究药物施用必须相隔至少5天。施用的实际剂量 (μ g) 将基于研究第1天基线处参与者的体重 (kg) 来计算 (参见表24)

[0263] k. 功效评估参见第8.1节。如果在研究药物首次给药前6周 (42天) 内进行，基线评估是可接受的。

[0264] -按照RECIST v1.1的客观响应必须在4周后进行确认性扫描。

[0265] -如果研究药物在疾病进开始之前中止，则应当按照当地护理标准继续进行疾病评估 (参见第8节)。

[0266] -应在整个研究中使用在基线处用于评估疾病状态的相同方法。

[0267] -如果研究治疗计划表中存在延迟，不应延迟疾病评估。

[0268] l. 可在研究药物中止之后每12周通过电话联系来获取信息，直至满足第7.2节中的中止标准之一。

[0269] m. 治疗结束访视在研究药物最后一次给药之后 $\leq 30 (+7)$ 天以及在新抗癌疗法开始之前 (以先发生者为准) 完成 (参见第8节治疗结束访视说明)。

[0270] 表18. 生物标记物、药代动力学和免疫原性样本的活动计划表—每周给药计划表第1部分

每周给药 第 1 部分			肿瘤 活检 ^c	T 细胞 活化/ 耗竭; TBNK ^d	细胞 因子 谱 ^e	TCR 测 序	PK ^e	免疫 原性 ^e	RO ^f
样本 ^{a,b}			新鲜 肿瘤	全血	血清	全血	血清	血清	全血
剂量	时间	窗口							
筛选			X						
剂量 1	给药前	-4 小时		X	X	X	X	X	X
	EOF	±15min			X		X		
	2h	±15min			X		X		X
	6h	±30min			X		X		
	24h	±2 小 时		X	X		X		X
	72h ^g	±2 小 时		X			X		X
剂量 2	给药前	-4 小时		X	X	X	X		X
	EOF	±15min			X		X		
	2h	±15min			X		X		
	24h	±2 小 时			X		X		
剂量 3	给药前	-4 小时		X	X		X	X	X
	EOF	±15min			X		X		X
剂量 4	给药前	-4 小时	X ^c	X	X	X	X		
	EOF	±15min			X		X		
剂量 5	给药前	-4 小时			X		X	X	
	EOF	±15min			X		X		
	2h	±15min					X		
	6h	±30min					X		
	24h	±2 小 时					X		
	72h ^g	±2 小 时					X		
剂量 6	给药前	-4 小时		X		X	X		X
	EOF	±15min					X		X
剂量 7	给药前	-4 小时					X		
	EOF	±15min					X		

[0271]

每周给药第1部分			肿瘤活检 ^c	T细胞活化/耗竭; TBNK ^d	细胞因子谱 ^e	TCR 测序	PK ^e	免疫原性 ^e	RO ^f
样本 ^{a,b}			新鲜肿瘤	全血	血清	全血	血清	血清	全血
剂量 8	给药前	-4 小时		X		X	X		
	EOF	±15min					X		
剂量 9、13、17 ^h	给药前	-4 小时					X	X	
	EOF	±15min					X		
EOT				X	X	X	X	X	X
在研究药物最后一次给药后 4 周和 8 周时后治疗。							X	X	
缩写: CRS=细胞因子释放综合征; DLT=剂量限制性毒性; EOF=静脉内冲洗结束; EOT=治疗结束; h=小时; IRR=输注相关反应; seq=测序; PBMC=外周血单核细胞; PK=药代动力学; RO=受体占用率; SET=研究评估小组; TCR=T 细胞受体; TBNK=T 细胞、B 细胞、自然杀伤细胞。									

[0272] a. 所有合理的尝试应当在计划取样时间(即,从IV冲洗结束计算)的±10%内进行以收集样本,并且必须记录收集时间。

[0274] b. 样本将被运送至由申办方指定的实验室;分析将由申办方进行。出于安全原因或样本的技术问题,可能会采取重复或非计划的样本(即药代动力学、药效学、生物标记物)。

[0275] c. 除非活检的收集呈现安全风险,否则在第1部分和第2部分中在所选择的PK/PD队列中招募的具有可触及病变的参与者必须同意进行强制新鲜肿瘤活检。

[0276] -筛选时新鲜活检可在研究药物首次给药之前6周(42天)内收集,前提条件是在此期间未开始主动抗癌治疗。

[0277] -治疗后肿瘤活检样本收集时间(即,DLT评估期完成后和治疗开始后4至8周之间)可由SET基于新出现的数据进行改变。

[0278] -样本将被送至由申办方指定的中心实验室(详情参见“实验室手册”)。

[0279] d. 将在两个不同的管中收集样本(详情参见“实验室手册”)。

[0280] e. 如果观察或报告疑似≥2级IRR或≥2级CRS事件,则应收集以下非计划样本:

[0281] -药代动力学/免疫原性样本:尽可能接近事件发生的时间,在事件开始后24小时和72小时。

[0282] -细胞因子样本:在事件开始后4小时内。

[0283] f. 对于以1μg/kg或更高的剂量治疗的剂量递增队列将收集受体占用率样本。

[0284] g. 如果72小时取样时间点发生在周末,则可在96小时处收集样本。

[0285] h. 对于所有后续剂量,应收集给药前和紧接着EOT(±15分钟)之后的血液样本用于PK。

[0286] 表19. 生物标记物、药代动力学和免疫原性样本的活动计划表—每周给药计划表
第2部分

[0287]

每周给药 第2部分			肿瘤 活检 ^c	T细胞 活化/ 耗竭 TBNK ^f	细胞 因子 谱 ^d	TCR 测序	CyT OF/ T细胞 活化	ctDN A	CTC	PK ^d	免疫 原性 ^d	RO
样本 ^{a, b}			新鲜 肿瘤	全血	血清	全血	全血	血浆	全血	血清	血清	全血
剂 量	时 间	窗 口										
筛选			X									
剂 量 1	给 药 前	-4 小 时		X	X	X	X	X	X	X	X	X
	EO F	±15 min			X					X		
	2h	±15 min			X					X		X
	6h	±30 min			X					X		
	24h	±2 小 时		X	X		X			X		
	72h ^g	±2 小 时		X			X			X		X
剂 给		-4		X	X	X	X			X		X

每周给药 第2部分			肿瘤 活检 ^c	T细胞 活化/ 耗竭 TBNK ^f	细胞 因子 谱 ^d	TCR 测序	CyT OF/ T细 胞活 化	ctDN A	CTC	PK ^d	免疫 原性 ^d	RO
样本 ^{a, b}			新鲜 肿瘤	全血	血清	全血	全血	血浆	全血	血清	血清	全血
量 2	药 前	小 时										
	EO F	±15 min			X					X		
	2h	±15 min			X					X		
	24h	±2 小时			X					X		
剂 量 3	给 药 前	-4 小 时		X	X					X	X	
	EO F	±15 min			X					X		
剂 量 4	给 药 前	-4 小 时	X ^c	X		X	X			X		
	EO F	±15 min								X		
剂 量 5、 6、 7	给 药 前	-4 小 时		仅剂量 6		仅剂 量6	仅剂 量6			X	仅剂 量5	
	EO F	±15 min								X		
剂 量 8	给 药 前	-4 小 时		X		X	X		X	X		
	EO F	±15 min								X		
剂 量	给 药	-4 小								X	X	

[0288]

每周给药第2部分			肿瘤活检 ^c	T细胞活化/耗竭TBNK ^f	细胞因子谱 ^d	TCR测序	CyT OF/T细胞活化	ctDNA	CTC	PK ^d	免疫原性 ^d	RO
样本 ^{a, b}			新鲜肿瘤	全血	血清	全血	全血	血浆	全血	血清	血清	全血
9	前	时										
	EO F	±15 min								X		
[0289]	剂量13	-4小时						X		X	X	
	EO F	±15 min								X		
	剂量17 ^e	-4小时								X	X	
	EO F	±15 min								X		
	EOT			X	X	X	X	X		X	X	
在研究药物最后一次给药后4周和8周时后治疗。										X	X	

[0290] 缩写: CRS = 细胞因子释放综合征; CTC = 循环肿瘤细胞; ctDNA = 循环肿瘤DNA; CyTOF = 飞行时间细胞术; EOF = IV冲洗结束; EOT = 治疗结束; IRR = 输注相关反应; IV = 静脉内; seq = 测序; PK = 药代动力学; SET = 研究评估小组; TCR = T细胞受体; TBNK = T细胞、B细胞、自然杀伤细胞。

[0291] a. 所有合理的尝试应当在计划取样时间(即,从IV冲洗结束计算)的±10%内进行以收集样本,并且必须记录收集时间。

[0292] b. 样本将被运送至由申办方指定的实验室;分析将由申办方进行。出于安全原因或样本的技术问题,可能会采取重复或非计划的样本(即药代动力学、药效学、生物标记物)。

[0293] c. 除非活检的收集呈现安全风险,否则在第1部分和第2部分中在所选择的PK/PD队列中招募的具有可触及病变的参与者必须同意进行强制新鲜肿瘤活检。

[0294] -筛选时新鲜活检可在研究药物首次给药之前6周(42天)内收集,前提条件是在此期间未开始主动抗癌治疗。

[0295] -治疗后肿瘤活检样本收集时间(即,DLT评估期完成后和治疗开始后4至8周之间)可由SET基于新出现的数据进行改变。

[0296] -样本将被送至由申办方指定的中心实验室(详情参见“实验室手册”)。

[0297] d. 如果观察或报告疑似≥2级IRR或≥2级CRS事件,则应收集以下非计划样本:

[0298] -药代动力学/免疫原性样本:尽可能接近事件发生的时间,在事件开始后24小时

和72小时。

[0299] -细胞因子样本:在事件开始后4小时内。

[0300] e. 对于所有后续剂量,应收集给药前和紧接着EOI (± 15 分钟)之后的血液样本用于PK。

[0301] f. 将在两个不同的管中收集样本(详情参见“实验室手册”)

[0302] g. 如果72小时取样时间点发生在周末,则可在96小时处收集样本。

[0303] 2. 引言

[0304] 研究药物是人源化免疫球蛋白G4脯氨酸、丙氨酸、丙氨酸(IgG4PAA)双特异性抗体,其靶向T淋巴细胞(T细胞)上的CD3受体复合物和在肿瘤细胞和肿瘤相关新血管系统上表达的前列腺特异性膜抗原(PSMA)。该研究药物被设计成促进紧邻表达PSMA的靶细胞的T细胞活化,随后通过细胞毒性T细胞裂解肿瘤细胞(Buhler P、Wolf P、Gierschner D等人; Cancer Immunol Immunother.2008;57(1):43-52)。

[0305] 在本章节内呈现了体外和体内药理学、安全性药理学和毒理学的汇总。贯穿本文档的术语“研究药物”是指研究药物,并且术语“申办方”是指在将作为单独文档提供的联系信息页中列出的实体。

[0306] 2.1. 研究基本原理

[0307] 2.1.1. 前列腺特异性膜抗原

[0308] PSMA是由750个氨基酸和3个蛋白结构域即小的胞内结构域、单程跨膜结构域和大的胞外结构域构成的跨膜糖蛋白。在前列腺癌中,PSMA在早期和晚期疾病环境中表达,并且其表达响应于抗雄激素疗法而上调。由于PSMA在前列腺癌中的独特表达谱,正在探索靶向PSMA的若干治疗平台用于前列腺癌的治疗,包括CD3重定向方法。

[0309] 2.1.2. CD3重定向方法

[0310] 最近,开发了若干方法来将T细胞重定向至肿瘤表面抗原。这些包括通过T细胞检查点阻断来破坏肿瘤耐受性的药物(McDermott DF, Atkins MB. Cancer Med. 2013;2(5):662-673)和靶向CD19的双特异性T细胞衔接子(BiTE) (CD3xCD19)、**Blincyto**[®] (兰妥莫单抗(blinatumomab)) (**Blincyto**[®] [US FDA产品标签]。Thousand Oaks, USA: Amgen Inc.; 2018年12月)。

[0311] PSMA阳性肿瘤诸如mCRPC中的肿瘤微环境可能缺乏足够的免疫存在,这可能解释了检查点抑制剂单一疗法在前列腺癌中缺乏功效。T细胞重定向是增强此类肿瘤的免疫原性的重要方法。

[0312] 目前在用于治疗前列腺癌的临床研究中正在评估靶向PSMA的机制预期与研究药物类似的两种其他CD3重定向方法。第一种, Fc-感受态二价双特异性CD3-PSMA分子(Hernandez-Hoyos G、Sewell T、Bader R等人, Mol Cancer Ther. 2016;15(9):2155-2165)。第二种,不携带Fc的CD3-PSMA双特异性T细胞衔接子(BiTE)分子(Klinger M, Benjamin J, Kischel R, Stienen S, Zugmaier G. Harnessing Immunol Rev. 2016;270(1):193-208)。来自该1期研究的初步临床数据表明,至多80 μ g/天的剂量是耐受的,并且在CRPC患者中诱导了放射摄影响应。还在mCRPC中评估了三特异性T细胞活化构建体(TriTAC)化合物的另一项研究(Lemon B、Aaron W、Austin R等人, Cancer Research. 2018. 摘要1773)。

[0313] 该研究药物含有突变的IgG4 Fc,其与Fc γ R的结合显著降低,但与FcRn的结合不中断以确保延长的半衰期($t_{1/2}$)。与Fc-感受态二价双特异性CD3-PSMA分子和TriTAC化合物相比,研究药物更类似于内源性人IgG抗体,这可导致抗药物抗体(ADA)的产生减少,并最终导致药代动力学暴露和功效特征改善。

[0314] 进行体外细胞毒性测定以表征研究药物诱导的T细胞活化、PSMA+肿瘤细胞杀伤和细胞因子的释放。这些测定使用来自6名健康人供体的纯化人T细胞和C4-2B进行,后者是表达PSMA并展示出对T细胞介导的杀伤的敏感性的人前列腺癌细胞系。使用来自健康供体而不是癌症患者的纯化T细胞来获得对MABEL起始剂量的更保守估计。在所评估的读数(T细胞活化、细胞毒性和细胞因子释放)中,显示T细胞活化是最灵敏的读数(20)。由来自6个正常供体的T细胞活化的中值有效浓度(EC)EC₂₀值确定了0.023nM(3.45ng/mL)的MABEL浓度。

[0315] 使用异速生长律从食蟹猴药代动力学数据中预测研究药物的人药代动力学。预测在第一剂量后0.1 μ g/kg的临床起始剂量产生约0.020nM的C_{max},其略低于如上所确定的0.023nM的MABEL浓度。

[0316] 以下考虑因素在确定起始剂量中也是关键的:

[0317] • 选择纯化的T细胞系统(而非全血)作为效应细胞群,因为据报道表达PSMA的靶细胞不以任何显著量存在于外周循环中。

[0318] • C4-2B细胞系与PSMA靶表达生理上相关,与在前列腺癌中观察到的类似。在评估的几种前列腺癌细胞系(22-RV、C4-2/C4-2B和LNCAP/LNCAP-AR)中,C4-2B是对T细胞介导的靶细胞杀伤最敏感的一种。

[0319] • 在体外细胞毒性测定中评估了3:1、5:1、10:1和20:1的效应子与靶标(E:T)比率,并且选择3:1的E:T比率以提供起始剂量的保守估计。

[0320] • 基于来自关键的GLP毒理学研究的0.06mg/kg的最高非严重毒性剂量(HNSTD),使用体表面积转化方法,人HNSTD的等效剂量为20 μ g/kg,并且基于HNSTD的最大推荐起始剂量为3.3 μ g/kg,其比所提出的基于MABEL的起始剂量高33倍。

[0321] • 在食蟹猴中测试的研究药物的最低剂量为0.01mg/kg。在该剂量水平下,观察到最小程度水平的细胞因子释放以及最小程度的临床体征和症状。

[0322] 表20. 使用C4-2B细胞用研究药物进行T细胞介导的细胞毒性、细胞因子释放和T细胞活化测定的暴露-响应分析的总结

T 细胞活化			
	N (供体数量)	中值	范围
EC ₂₀ (nM)	6	0.023	(0.011-0.027)
细胞毒性			
	N (供体数量)	中值	范围
EC ₂₀ (nM)	6	0.039	(0.011-0.074)
细胞因子释放 (基于最敏感的细胞因子—IFN- γ)			
	N (供体数量)	中值	范围
EC ₂₀ (nM)	6	0.032	(0.018-0.065)

[0325] 缩写:EC₂₀=产生20%最大效果所需的药物浓度。

[0326] 基于对体外和体内数据的总体评估,以及基于MABEL的FIH起始剂量选择,0.1 μ g/kg每周剂量的研究药物应导致在本研究中治疗的参与者中具有最小程度生物活性的药物

暴露。

[0327] 据预测,研究药物的 $t_{1/2}$ 在人中为约4.9天(在非线性清除率饱和的剂量下),这支持以每周给药计划表开始研究的决策。可探索每周两次治疗的替代给药计划表。由于靶标介导的药物处置,单克隆抗体在较低剂量下可表现出更快的清除。根据新出现的药代动力学、药效学 and 安全性数据,将由研究评估小组(SET)确定从每周一次转变为每周两次计划表的决策。

[0328] 2.2. 背景

[0329] 2.2.1. 非临床研究总结

[0330] PSMA肿瘤和正常组织表达谱

[0331] 在患者前列腺腺癌肿瘤样本中,在30个患者样本中的26个中检测到PSMA蛋白,其中大多数样本显示PSMA的异质染色模式。为了评估PSMA在人正常组织上的表达,通过免疫组织化学对人组织-微阵列进行PSMA蛋白染色。在所测试的所有不同组织中,仅前列腺、脑、肾、肝脏、乳腺、小肠和唾液腺体对PSMA呈阳性。总体而言,PSMA在前列腺外正常组织中的表达似乎是高度受限的,主要在细胞质中,并且以比在前列腺肿瘤组织中低得多的水平表达。这些结果通常与文献中报道的一致(Kinoshita Y,Kurastukuri K,Landas S等人,World J Surg.2006;30:628-636;Spatz S,Tolkach Y,Jung K等人,J Urol.2018;199(2):370-377)

[0332] 研究药物与前列腺肿瘤细胞系的结合

[0333] 研究药物以浓度依赖性方式特异性结合内源性表达PSMA的前列腺肿瘤细胞系,如通过流式细胞术对所有测试的表达PSMA的肿瘤细胞系(C4-2B、LNCaP、22RV1)所测量的。相比之下,研究药物不与PSMA阴性细胞系PC-3细胞结合。

[0334] 研究药物介导的T细胞活化

[0335] 为了测量研究药物介导的T细胞活化,将PSMA阳性肿瘤细胞系与来自6个正常供体的供体T细胞在研究药物存在下共培养48小时。研究药物引起CD25表达的剂量依赖性增加,这是PSMA阳性细胞系(C4-2B)中T细胞活化的标记物,但在PSMA阴性细胞(PC-3)中没有。对于PSMA阳性细胞系C4-2B,确定来自3个单独实验的所有供体的EC中值($EC_{20/50/90}$)并报告(EC_{20} :0.02nM, EC_{50} :0.06nM, EC_{90} :0.40nM)。2个空白对照抗体在C4-2B或PC-3细胞系中不产生T细胞活化。

[0336] 研究药物介导的前列腺肿瘤细胞系体外T细胞依赖性细胞毒性

[0337] 为了测量研究药物诱导表达PSMA的肿瘤细胞的细胞毒性的能力,将供体T细胞与肿瘤靶细胞以3:1的比率共培养72小时,并与增加量的研究药物或缺乏CD3或PSMA片段抗原结合臂的空白抗体一起温育。研究药物仅在PSMA阳性C4-2B细胞系中而不在PSMA阴性PC-3细胞系中引起剂量依赖性细胞毒性。对于C4-2B细胞系,计算来自3个单独实验的所有6个供体的EC中值并报告(EC_{20} :0.04nM, EC_{50} :0.08nM, EC_{90} :0.31nM)。2个空白对照抗体在C4-2B或PC-3细胞系中不产生T细胞依赖性细胞毒性。

[0338] 研究药物在体内前列腺肿瘤异种移植物模型中的作用

[0339] 在人PSMA阳性前列腺肿瘤异种移植物模型LNCaP雄激素受体(AR)肿瘤中评估研究药物的功效。将已建立的肿瘤植入移植有人T细胞的非肥胖糖尿病(NOD)重症联合免疫缺陷(SCID) γ (NSG)小鼠中。在2.5、5.0和10mg/kg剂量水平的研究药物下观察到统计学上显著的抗肿瘤功效,与媒介物处理的对照小鼠相比,分别实现了51%、72%和74%的肿瘤生长抑

制(TGI) ($p < 0.0001$)。

[0340] 研究药物对CD8+ T细胞肿瘤浸润的体内药效学作用

[0341] 为了确定研究药物的抗肿瘤活性是否与免疫细胞浸润到肿瘤中相关联,用人T细胞注射携带LNCaP AR肿瘤的小鼠,并且从磷酸盐缓冲盐水对照处理的小鼠或从用2.5mg/kg、5.0mg/kg和10mg/kg研究药物处理的小鼠收集血清和肿瘤。在研究药物的所有剂量水平下,通过免疫组织化学染色观察到肿瘤CD8+ T细胞浸润的时间依赖性增加。

[0342] 结论

[0343] 体外和体内结果指示,研究药物特异性结合表达PSMA的肿瘤细胞,诱导T细胞活化,并且有效地重定向T细胞以诱导表达PSMA的肿瘤细胞的细胞毒性。

[0344] 2.2.2. 非临床毒理学、药代动力学和安全性药理学的总结

[0345] 2.2.2.1. 毒理学

[0346] 选择食蟹猴作为药理学相关的毒理学物种,因为该研究药物对食蟹猴PSMA和CD3 (与人相比) 具有类似的结合亲和力,并且对表达食蟹猴和人PSMA的细胞具有类似的功能活性(细胞毒性)。啮齿类动物在药理学上不相关。

[0347] 如本文所概述,在食蟹猴中的3个研究中表征研究药物的潜在毒性。

[0348] 非GLP探索性毒理学研究

[0349] 在非GLP探索性研究 ($n = 1$ 至6) 中,在标准、性成熟 (SM) 雄性和SM雌性中利用若干剂量方案评估食蟹猴中静脉内 (IV) 研究药物的耐受性 (0.03mg/kg至3mg/kg)。最显著的剂量限制性毒性 (DLT) 是细胞因子释放,这主要是第一剂量效应。血浆细胞因子似乎与死亡率直接相关。观察到IFN- γ 、IL-2、IL-6、IL-10和TNF- α 的升高。注意到性成熟雄性食蟹猴对研究药物的作用最敏感,并且比标准雄性和性成熟雌性具有更高的细胞因子释放。在第10至15天后,在大多数猴中观察到暴露的显著损失 (由于抗药物抗体 [ADA]), 并且因此后续研究的持续时间限于2周。在0.06mg/kg的最大耐受剂量 (MTD) 下,每3天一次 (Q3D; 总共8次剂量) 和每周一次 (Q1W; 总共4次剂量) 的剂量频率均耐受良好,并且在第一剂量时观察到大部分 (且最高) 的细胞因子释放。

[0350] 在非耐受剂量下,除了在第8天 (第一剂量后) 被安乐死的一只雌性 (0.6mg/kg) 外,在第一剂量的第1天 (≥ 6 小时) 和第2天之间,使猴垂死或安乐死。本研究中的死亡率通常与血浆细胞因子水平相关。在所有早期死者中不能从组织学上确定死亡原因,并且推测是由于严重细胞因子释放。在尸检的计划日期 (第30天) 的微观发现包括肝、肾、胆囊中的单核浸润、最小程度至轻度管状变性/再生、矿化 (0.06mg/kg, Q3D; 8剂量)、管状发现或大血管周围的单核间质浸润和轻度骨髓细胞过多。另外,在接受0.3mg/kg剂量的单一雌性的肾中注意到最小程度的多灶性管状矿化。在早期死者中未鉴定出与死亡率相关的组织学相关性。SM雄性 (最敏感) 的MTD为0.06mg/kg (Q3D或Q1W)。

[0351] GLP毒理学研究

[0352] 在SM食蟹猴中的关键GLP研究中,研究药物通过IV弹丸式注射Q1W (3个总剂量) 或Q3D (6个总剂量) 施用2周,随后是6周恢复期。施用于雄性的Q3D剂量为0mg/kg、0.03mg/kg或0.06mg/kg; 雌性接受0mg/kg、0.06mg/kg或0.2mg/kg。对于雄性的Q1W剂量为0.06mg/kg,并且对于雌性为0.2mg/kg。临床体征 (呕吐、驼背姿势) 主要与第一剂量的施用相关,并且通常在后一给药阶段期间未观察到 (与细胞因子释放相一致)。一般来讲,在 ≥ 0.03 mg/kg的剂量

水平下,在雄性猴和雌性猴中均观察到细胞因子血浆浓度的剂量相关增加。

[0353] 5只雌性中的一者(0.2mg/kg Q1W)在第3天由于临床病症下降而被安乐死。不能确定该猴的死亡原因,并且可能是由于严重细胞因子释放。在成功完成给药的猴中,没有研究药物相关的体重、食物消耗、体检测量和眼部效应的变化,并且没有心电图(ECG)异常或血压、心率、呼吸率、体温、尿液分析、肉眼尸检发现或绝对或相对器官重量的变化。 $\geq 0.03\text{mg/kg}$ 的研究药物相关微观发现(来自第16/17天的计划尸检)限于肾(最小程度至轻度)、肝(最小程度至中度)和胆囊(轻度)的血管周围区域中注意到的淋巴细胞浸润。所有微观发现在57天的六周恢复期后消退,除了在6次接受0.2mg/kg的雌性的肾中保留的轻度血管周围浸润。在关键研究中的HNSTD为0.06mg/kg/剂量。

[0354] 非GLP研究性研究(使用低剂量初免或预防性托珠单抗管理细胞因子释放的作用)

[0355] 进行非GLP研究,以确定是否可减轻先前研究中观察到的剂量限制性细胞因子释放。测试了两种方法,其包括在初免剂量或用托珠单抗预防性治疗后的动物内剂量递增。

[0356] 在研究阶段的低剂量初免部分,在第1天、第4天、第7天、第10天和第13天通过IV缓慢弹丸式注射,以缓慢剂量递增(0.01→0.02→0.04→0.12→0.6mg/kg)和快速动物内递增(0.01→0.03→0.1→0.4→1.5mg/kg)施用研究药物。两种递增队列成功地完成了给药,没有死亡且临床体征显著改善,并且对于表观食物消耗或体检测量的变化没有研究药物相关的作用。临床体征的改善(在第1天零星的轻度至中度呕吐、液体粪便、体温的瞬时和最小程度变化)可能与在0.01mg/kg初免剂量下低水平的细胞因子释放和在后续递增剂量下显著减少的细胞因子释放有关。在第19天的计划尸检时,在两个剂量递增队列中分别观察到混合细胞浸润到多个器官中以及在肾和前列腺中的小管(最小程度)和腺泡细胞(最小程度至轻度)的变性/再生。被认为与全身性炎症反应一致的附加变化包括心脏中的造血聚集(快速递增队列中)和两个剂量递增剂量队列中的单核细胞浸润以及股胫滑膜关节内的纤维蛋白积聚。没有发现被认为是不利的。

[0357] 在托珠单抗预防性治疗研究阶段,在前一天给予单剂量的托珠单抗(施用研究药物前约8至24小时)后第1天和第8天,以0、0.1、0.3或0.9mg/kg通过IV缓慢弹丸式注射施用研究药物。当与先前未进行托珠单抗预治疗的研究中的观察结果相比,托珠单抗似乎具有一些保护作用(0.1mg/kg)或延迟的死亡率(0.3mg/kg)。在接受0.9mg/kg的猴中,托珠单抗未改善耐受性,并且在第1天给药后约7小时对猴实施安乐死。预防性托珠单抗似乎对研究药物介导的细胞因子释放(或相关临床体征)没有可辨别的作用,并且微观和临床病理发现与未进行托珠单抗预治疗的研究中注意到的结果类似。

[0358] 交叉研究中注意到的临床病理变化的总结

[0359] 进行雄性SM猴的交叉研究分析,以比较在非GLP探索性研究、2周关键GLP毒性研究和非GLP低剂量初免研究与施用研究药物相关联的临床病理变化。临床病理参数的变化在所有3项研究中通常是类似的,并且代表全身性炎症反应。这些发现与个体猴包括由于衰退状况而早期被安乐死的猴的临床体征的存在或严重程度不相关。临床病理变化本身对于研究药物相关的临床体征或总体耐受性来说通常不是敏感的或不是特异性生物标记物。观察到的变化包括白细胞计数(嗜中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞和嗜酸性粒细胞计数)的减少,在一些研究中嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞计数的增加,红细胞团的减少,血小板计数的减少,急性期反应物的增加,碱性磷酸酶的增加,肾参数诸如尿素氮和

肌酸酐的增加,血清钙的减少,凝血时间的增加,酶活性的增加和胆红素的增加。上述发现未指出可辨别的剂量依赖性关系。

[0360] 2.2.2.1.1.组织交叉反应

[0361] 在正常人组织的冷冻切片中用研究药物和其抗PSMA亲本(二价)抗体(阳性对照)进行GLP交叉反应性研究。没有观察到研究药物的意料不到的组织交叉反应性。由于PSMA在这些组织中的表达,预期使用研究药物和抗PSMA亲本抗体对前列腺中的上皮细胞的膜染色和胞外物质的染色。基于T细胞上CD3 ϵ 的表达,预期仅用研究药物对单核细胞染色。

[0362] 2.2.2.1.2.人血清或全血中的测定

[0363] 研究药物在人全血中不引起溶血,并且在0.010mg/mL和10mg/mL的体外浓度下与人血清相容

[0364] 2.2.2.1.3.细胞因子释放

[0365] 在体外测定中,研究药物在来自健康供体的全血中所测量的10个细胞因子中的6个(IL-1 β 、IL-2、IL-8、IL-10、IFN- γ 和TNF- α)中诱导统计学显著且浓度依赖性的细胞因子释放。

[0366] 2.2.2.2.安全性药理学

[0367] 在体温、血压、心率、呼吸率或神经行为临床观察中没有研究药物相关的变化。基于给药前和给药后ECG的比较,在任何剂量水平下都没有发现与研究药物相关的心律或ECG波形形态异常。在用其他CD3转向抗体治疗后的猴中观察到低血压和心动过速,可能与细胞因子释放有关。

[0368] 2.2.2.3.非临床药代动力学和免疫原性

[0369] 在食蟹猴中以0.3mg/kg、0.6mg/kg和3mg/kg的预期剂量单次IV施用作为标准年龄(青少年-2.5至4岁)或SM雄性猴中的非GLP探索性毒理学研究的一部分之后,表征研究药物的药代动力学/毒代动力学(PK/TK)。基于来自存活猴的有限数据,研究药物暴露在测试剂量范围内以近似与剂量成比例的方式随剂量增加。估计各剂量组的类似清除率(CL)、分布体积(V_{ss})和t_{1/2}。与典型的基于IgG的治疗性单克隆抗体相比,研究药物表现出相对高的CL(18.69mL/天/kg至26.17mL/天/kg)和更短的t_{1/2}(2.48天至3.12天)。

[0370] 在SM食蟹猴的GLP毒理学研究中表征了多次IV施用后研究药物的PK/TK。猴接受IV弹丸式注射的研究药物Q3D(6个剂量)或Q1W(3个剂量)持续2周,随后是6周恢复期。由于预期的耐受性与性别相关的差异,雄性猴分别接受0.03mg/kg和0.06mg/kg的Q3D剂量,以及0.06mg/kg的Q1W剂量;雌性猴分别接受0.06mg/kg和0.2mg/kg的Q3D剂量,以及0.2mg/kg的Q1W剂量。平均C_{max}和AUC在测试剂量范围内以近似与剂量成比例的方式增加。Q3D给药后,平均药物累积比在0.03mg/kg和0.06mg/kg剂量组中在1.30至1.57的范围内,对于0.2mg/kg剂量组为0.95。Q1W给药后,研究药物没有全身性累积。与第1天第一剂量后的PK/TK相比,在多只猴中观察到第五Q3D剂量或第二Q1W剂量后药物暴露的减少,这可与ADA的发展有关。在雄性猴和雌性猴之间不存在明显的PK/TK差异。

[0371] 作为食蟹猴中的非GLP探索性毒理学研究和非GLP探索性毒性研究的一部分,还检查了多次(即,Q3D或Q1W)IV施用后研究药物的PK/TK,并且结果是类似的。在SM食蟹猴的非GLP研究性毒性研究中,分别在第1天、第4天、第7天、第10天和第13天通过IV注射以缓慢剂量递增(0.01→0.02→0.04→0.12→0.6mg/kg)和快速递增(0.01→0.03→0.1→0.4→

1.5mg/kg) 施用研究药物, 研究药物暴露以近似与剂量成比例的方式随剂量增加。在GLP毒理学研究中, 1.5mg/kg的最高剂量后的平均 C_{max} 和AUC比0.06mg/kg Q3D IV剂量后的高>10倍。

[0372] 在非GLP探索性毒性研究和GLP毒性研究中评估研究药物在食蟹猴中的免疫原性。在用IV剂量的研究药物治疗的56只猴中有四十只测试为ADA阳性。在其他16只猴中, 13只没有合适的样本进行免疫原性测定(即, 在第13天或之后没有样本), 因此, 它们的ADA状态是不可评估的; 其余3只猴测试为ADA阴性。总体而言, 研究药物的ADA发生率高。动物的免疫原性预期不能预测人免疫原性应答。

[0373] 2.3. 益处/风险评估

[0374] 这是研究药物的第一项临床研究。潜在风险和缓解策略基于从非临床研究获得的安全性数据、已知的作用机制(即, T细胞活化和肿瘤细胞裂解) 和施用途径。虽然PSMA在正常组织中的表达在前列腺组织中最高, 但在脑、肾、肝脏、乳腺、小肠和唾液腺中也检测到相对低水平的膜表达(参见第2.2.1节)。因此, 在这些器官中存在研究药物诱导的毒性的潜力。安全性监测将包括频繁的实验室评估(血液化学和血液学) 和体检包括神经系统评估, 以监测这些器官中的潜在毒性。

[0375] 潜在的风险在下文中指出。第6.1.2节中讨论了有关免疫效应和PSMA表达模式的预防。第6.6节中提供了剂量修改指南。

[0376] • 免疫效应: 第6.1.2节中提供了管理这些潜在安全风险的治疗药物的指南。

[0377] -输注相关反应(IRR)(第6.1.2.1节)

[0378] -免疫相关不良事件(第6.1.2.2节)

[0379] -细胞因子释放综合征(CRS)(第6.1.2.3节)

[0380] • 由PSMA表达模式引起的潜在毒性:

[0381] -肿瘤溶解综合征-在首次研究药物施用后监测不良事件和化学参数

[0382] -肾毒性-监测不良事件和化学参数

[0383] -肝脏毒性-监测不良事件和化学参数

[0384] -神经系统毒性(第6.1.2.4节)

[0385] -腮腺/唾液腺毒性-监测不良事件

[0386] -胃肠毒性-监测不良事件

[0387] • 临床实验室异常: 与CD3参与的预期药理学功能一致, 在食蟹猴毒理学研究中观察到的实验室参数的最值得注意的变化包括白细胞的变化(主要是淋巴细胞、单核细胞和嗜酸性粒细胞减少, 有时随后是这些和其他白细胞增加)、嗜中性粒细胞增加或减少、血小板减少、红细胞团减少、急性期反应、肾参数增加、凝血时间延长、以及肝酶活性和胆红素增加。

[0388] 是否存在与研究药物治疗相关联的临床益处是未知的。研究药物具有导致有效杀伤表达PSMA的靶细胞诸如肿瘤或肿瘤相关的新血管系统细胞的潜力, 并且可能导致患有晚期疾病和有限治疗选择的患者的总体生存期增加。

[0389] 3. 目标和终点

[0390] 表21. 目标和终点。

目标	终点
初级	
[0391] 第1部分(剂量递增) 确定2期推荐剂量(RP2D)方案和最大耐受剂量	不良事件的发生率和严重程度,包括剂量限制性毒性
第2部分(扩展) 确定在RP2D方案中研究药物的安全性	<ul style="list-style-type: none"> 所有不良事件的发生率和严重程度
二级	
评估研究药物在多次IV给药后的药代动力	研究药物的血清浓度-时间曲线和药代动

目标	终点
[0392] 学。	力学参数,包括但不限于C _{max} 、T _{max} 、AUC _(t1-t2) 、AUC _{tau} 、C _{min} 和累积比(RA)
评估研究药物在多次IV给药后的药效学。	药效学标记物,包括但不限于全身性细胞因子浓度、T细胞活化标记物、RO和血清前列腺特异性抗原(PSA)
评估研究药物的免疫原性。	研究药物抗体的存在。
探索性	
<ul style="list-style-type: none"> 评估研究药物在患有晚期实体瘤的参与者中的初步临床活动:客观响应率和响应持续时间。 <ul style="list-style-type: none"> 将根据前列腺癌工作组3(PCWG3)针对前列腺癌的响应标准或实体瘤的响应评估标准(RECIST)v1.1评估实体瘤的响应 探索研究药物的药代动力学、药效学、不良事件特征和临床活性之间的关系。 研究预测对研究药物的临床响应或抗性的生物标记物。 	

[0393] 假设

[0394] 在本研究中将不进行正式的统计假设检验。研究将评估如下:

[0395] 剂量递增(第1部分):可鉴定研究药物的RP2D,使得<33%的参与者经历DLT。

[0396] 剂量扩展(第2部分):研究药物是安全的,并且在RP2D处显示出初步临床活性。

[0397] 3.1.1. 研究药物

[0398] 研究药物是开发用于评估靶向PSMA对CD3介导的T细胞重定向的治疗潜力的双特异性抗体。研究药物是工程化的人IgG4抗体。通过来自2种亲本抗体:PSMB127和CD3B219的受控片段抗原结合臂交换来产生双特异性抗体。PSMB127是源自PSMA过表达细胞系上噬菌体文库的全细胞淘选的抗PSMA抗体。CD3B219是源自公共结构域抗体SP34的抗CD3ε抗体,其被进一步人源化并且亲和力成熟。假设研究药物将通过将表达CD3的T细胞募集到表达PSMA的细胞来诱导增强的T细胞介导的细胞毒性。这将导致T细胞的活化并诱导后续由细胞毒性T细胞介导的PSMA阳性细胞裂解。

[0399] 4. 研究设计

[0400] 4.1. 总体设计

[0401] 这是一项FIH、开放标签、多中心、1期研究,用于评估研究药物单一疗法在晚期癌症参与者中的安全性、药代动力学、药效学和初步临床活性。大约70名参与者将在该2部分研究中接受治疗。如果探索初免剂量计划表,则可招募附加的参与者。一旦确定参与者有资格(即,纳入/排除标准)进行研究并且已经为研究参与提供知情同意,则研究药物将作为IV

输注施用。在整个研究中,由SET连续评估研究治疗的总体安全性(参见第4.1.4节)。初步临床活性将根据第8.1节中概述的评估进行评估。研究药物的药效学将通过如由申办方确定的所选择的队列中的预处理和治疗中活检来表征。

[0402] 第1部分(剂量递增)

[0403] 研究的第1部分被设计成确定患有转移性去势抵抗性前列腺癌(mCRPC)的参与者中研究药物的MTD,并选择RP2D和方案。剂量递增将以基于MABEL的起始剂量开始,并如表18所示继续进行。剂量递增将使用由基于统计模型贝叶斯逻辑回归模型(BLRM)利用控制过量用药的剂量递增(EWOC)原则的改进的连续重新评估方法(mCRM)指导的自适应设计剂量递增策略来支持。剂量递增将分2个阶段进行:加速滴定阶段和标准滴定阶段。

[0404] 研究评估小组的决策将基于对所有可用数据的审查,包括但不限于药代动力学、药效学、安全性和功效。剂量递增将根据第4.1.1节中概述的剂量递增策略进行。

[0405] 在第1a部分中,在加速剂量递增期间以SET指定的剂量招募单个参与者队列。在药代动力学/药效学(PK/PD)队列中,可以由SET确定为安全的剂量治疗至多12名附加的参与者,以更好地理解安全性、药代动力学、药效学和初步临床活性。一旦发生贫血、中性粒细胞减少症或血小板减少症的 ≥ 2 级非血液毒性或 ≥ 3 级血液毒性,研究将从加速滴定阶段过渡到标准滴定阶段,并开始招募每个队列3至6名参与者。标准滴定可在无初免的情况下发生(第1b部分),或者如果毒性 ≥ 2 级CRS,则标准滴定可在初免剂量下发生(第1c部分)。在标准剂量递增期间,在PK/PD队列中可招募附加的参与者以获得附加的数据。

[0406] 第2部分(剂量扩展)

[0407] 一旦确定了RP2D,就将治疗具有mCRPC($n=20$)的参与者,以确认研究药物在RP2D下的安全性、药代动力学、药效学和初步临床活性。

[0408] 总体治疗计划

[0409] 治疗和初免剂量计划表描述于下表中。启动初免剂量可被认为是减轻毒性。

[0410] 治疗剂量计划表:基于从食蟹猴模型缩放的饱和剂量下4.9天的预计 $t_{1/2}$,将以每周一次的治疗剂量开始研究。起始剂量将为每周一次通过IV输注施用 $0.1\mu\text{g}/\text{kg}$ 。可探索每周两次治疗剂量的替代计划表。从每周一次切换到每周两次治疗的决策将基于新出现的数据并且在SET批准之后进行。将基于统计模型,使用所有可用的安全性、药代动力学、药效学和临床活性数据,确定剂量递增决策以及后续剂量水平,以鉴定安全且可耐受的RP2D。在第1部分中已确定研究药物的RP2D之后,将开始第2部分的招募。

[0411] 在研究药物首次给药之前,将施用皮质类固醇前药以使与IRR相关的风险最小化(参见表)。对于后续剂量,皮质类固醇前药可减少或省略。对于经历2级或更高级IRR的参与者,对于施用于该参与者的至少1个后续剂量,将需要输注前皮质类固醇。

[0412] 初免剂量计划表:由于双特异性T细胞衔接子抗体诸如博纳吐单抗(blinatumomab)可能引起与第一剂量施用相关联的急性细胞因子介导的毒性,所以已将初免剂量策略有效地用于这些抗体。在本研究中,在首次发生 ≥ 2 级CRS后,将启动初免剂量计划表。可在后续较高治疗剂量之前施用一个或多个初始较低剂量以减轻可能与T细胞活化和细胞因子释放相关联的急性毒性。初免剂量的选择参见第4.1.1节。

[0413] 所需住院和出院标准

[0414] 第1部分:在IV冲洗后,参与者将住院至少48小时,以进行前2个治疗剂量和研究药

物的任何相关的初免剂量。住院对于后续剂量将是任选的,除非满足某些安全标准:先前 \geq 2级神经系统毒性、针对初免计划表的患者内剂量递增、或在72小时内未消退至 \leq 1级的先前 \geq 2级CRS。如果在研究药物施用期间发生这些毒性中的任何一种,则参与者将在下一次研究药物施用后(IV冲洗后)住院至少48小时以监测与CRS或神经系统毒性相关的体征和症状。

[0415] 第2部分:基于来自第1部分的经验,可能不需要住院。然而,如果参与者具有先前 \geq 2级神经系统毒性或在72小时内不消退至 \leq 1级的先前 \geq 2级CRS,则在下一次研究药物施用后将需要住院至少48小时。

[0416] 出院标准

[0417] 在参与者从医院出院之前必须满足以下标准:正常范围内的生命体征和氧饱和度,包括不存在发烧(定义为体温 \leq 100.4°F (38°C)持续至少24小时),以及不存在不归于基础疾病的任何显著的 \geq 2级不良事件。

[0418] 治疗中止/随访

[0419] 参与者将接受研究药物,直至满足放射摄影疾病进展、明确的临床进展、不可接受的毒性或任何其他治疗中止标准(参见第7节)。然而,可考虑疾病进展之外的治疗(参见第8.1.2节)。对于出于除疾病进展之外的原因(例如,不良事件)而中止研究治疗的参与者,疾病评估将根据当地护理标准继续进行,直至疾病进展或开始新的抗癌疗法(或满足另一研究退出标准)。在治疗中止后,参与者将在研究药物最后一次给药后30(+7)天内进行治疗结束(EOT)访视,并在研究中继续进行如第8节中所概述的随访。

[0420] 数据截止和研究结束

[0421] 申办方将为临床研究报告(CSR)分析报告建立临床数据截止日期,其可在研究结束之前发生。数据截止将被传达至研究中心。继续接受研究药物或在数据截止之后处于随访状态的参与者将根据表7继续监测,直至研究结束。这些数据将在最终CSR中报告给适当的卫生管理局。在临床试验协议中规定的时间范围内,来自研究中心的最终数据将在该研究中心的最终参与者访视完成后被发送给申办方(或被指定者)。研究结束(研究完成)在第4.4节中定义。

[0422] 4.1.1. 剂量递增规则

[0423] 第1部分:剂量递增决策将由SET基于mCRM利用所有DLT数据以及所有先前剂量水平的安全性、药效学、药代动力学和其他生物标记物数据来作出。初步临床活性(如果可用的话)也将在每个剂量递增步骤由SET进行审查。

[0424] 在第1部分中,mCRM将以2个阶段进行:(1)加速滴定阶段和(2)标准滴定阶段(具有初免和无初免)。剂量递增将以每周施用的治疗剂量开始;基于新出现的数据,可开始每周两次给药。如本章节稍后所述,可探索初免计划表。mCRM将如下进行:

[0425] 第1a部分-加速滴定

[0426] 以下规则适用于使用mCRM的加速滴定期间。

[0427] • 剂量递增将从单个(至少1个)参与者队列开始。

[0428] • 如果以一定剂量水平治疗超过1名参与者,则在治疗后续参与者之前,必须观察以该给定剂量水平治疗的第一名参与者48小时。

[0429] • 在SET确定剂量是安全的之前以及在下一个队列招募之前,需要评估已完成DLT

评估期的至少1名参与者(参见第4.1.3节)。

[0430] • 剂量递增将如由BLRM利用EWOC原则指导(即,提供最高推荐剂量)进行,不同的是下一个剂量水平不可超过先前剂量的3.5倍增量。

[0431] • 如果在DLT评估期期间发生下列情况之一,则研究可从加速滴定切换到标准滴定:

[0432] -贫血、中性粒细胞减少症或血小板减少症的 ≥ 2 级非血液毒性或 ≥ 3 级血液毒性:第1b部分-无初免的标准滴定。

[0433] o对于临床实验室异常,表中的时间范围将用于评估DLT,并且这些事件还将触发切换到第1b部分。

[0434] -一个或多个 ≥ 2 级CRS事件:第1c部分-具有初免的标准滴定。

[0435] 至多12名附加的参与者可招募到由SET确定为安全的剂量下的PK/PD队列中,以获得附加的药代动力学、药效学或生物标记物数据。一旦已满足用于停止加速剂量滴定的标准,就将剂量递增转变为如下所述的标准滴定。

[0436] 第1b部分-标准滴定(无初免)

[0437] 以下规则适用于使用mCRM的标准滴定期间。

[0438] • 在确定下一个队列的剂量之前,需要评估至少3名参与者完成DLT评估期的剂量水平(第4.1.1节)。

[0439] • 在治疗后续参与者之前,必须观察以给定剂量水平治疗的第一名参与者48小时。

[0440] • 通过DLT确定的初级模型(参见第9.1.1节)

[0441] • 如果队列中没有参与者经历DLT,则治疗剂量的剂量递增可如由BLRM利用EWOC原则指导(即,提供最高推荐剂量)进行,不同的是下一个剂量水平可能不超过先前剂量的3.5倍增量。

[0442] • 如果队列中的一名参与者在DLT期期间经历DLT,则SET(如由BLRM利用EWOC原则指导)可进行以下任一者:

[0443] -同意在确定下一个剂量水平之前招募附加的参与者或者

[0444] -基于所有可用数据和更新的DLT概率重新评估队列,并确定由BLRM利用EWOC原则指导(即,提供最高推荐剂量)的下一个剂量队列

[0445] • 如果特定剂量队列中的2名参与者经历DLT,则将停止对该剂量队列的进一步招募,并且SET将基于所有可用的数据和更新的DLT概率重新评估该队列。基于剂量队列的重新评估,只有当该剂量水平仍然符合EWOC原则并得到SET的同意时,才可将附加的参与者招募到当前或较低剂量队列中。

[0446] • 至多12名附加的参与者可招募到由SET确定为安全的剂量下的PK/PD队列中,以获得附加的药代动力学、药效学或生物标记物数据。

[0447] • 如果观察到 ≥ 2 级CRS事件,则研究可启动初免(第1c部分)。

[0448] 第1c部分-标准滴定(具有初免)

[0449] 在第1天施用初免剂量,接着在第8天施用治疗剂量。然而,基于可用数据的审查以及在由SET审查之后,可施用多于一个的初免剂量。

[0450] 初免剂量将如下确定:

- [0451] • 如果第一CRS事件为2级或3级,则第一事件发生的剂量水平将扩展到至少6名参与者。
- [0452] -如果未观察到附加的 ≥ 2 级CRS,则该剂量水平将被视为初免剂量。
- [0453] -如果附加的参与者具有 ≥ 2 级CRS,则未观察到CRS的先前剂量水平将扩展到至少6名参与者。
- [0454] • 如果6名参与者中不超过1名经历2级或3级CRS,则该剂量水平将被视为第1天初免剂量。
- [0455] • 如果第一CRS事件为 ≥ 4 级CRS,则未观察到CRS的先前剂量水平将扩展到至少6名参与者。
- [0456] -如果6名参与者中不超过1名在该较低剂量水平下经历2级或3级CRS,则该剂量水平将被视为第1天初免剂量。
- [0457] 初始初免队列
- [0458] • 在第一初免队列中,治疗剂量将如下确定:
- [0459] • 第一治疗剂量将由mCRM确定。
- [0460] -如果第一CRS事件 > 2 级,则可将治疗剂量降低至低于观察到 > 2 级CRS的剂量。
- [0461] -在确定下一个队列的剂量之前,需要评估至少3个参与者完成DLT评估期的初免计划表(第4.1.3节)。
- [0462] -在治疗后续参与者之前,必须观察以给定剂量水平治疗的第一名参与者48小时。
- [0463] • 通过DLT确定的初级模型
- [0464] • 如果队列中没有参与者经历DLT,则剂量递增可如由BLRM利用EWOC原则指导(即,提供最高推荐剂量)进行,不同的是下一个剂量水平可能不超过先前剂量的100%增量。
- [0465] • 如果队列中的一名参与者在DLT期期间经历DLT,则SET(如由BLRM利用EWOC原则指导)可进行以下任一者:
- [0466] -同意在确定下一个剂量水平之前招募附加的参与者或者
- [0467] -基于所有可用数据和更新的DLT概率重新评估队列,并确定由BLRM利用EWOC原则指导(即,提供最高推荐剂量)的下一个剂量队列
- [0468] • 如果特定剂量队列中的2名参与者经历DLT,则将停止对该剂量队列的进一步招募,并且SET将基于所有可用的数据和更新的DLT概率重新评估该队列。基于剂量队列的重新评估,只有当该剂量水平仍然符合EWOC原则(参见第9.1.1节)并得到SET的同意时,才可将附加的参与者招募到当前或较低剂量队列中。
- [0469] • 至多12名附加的参与者可招募到由SET确定为安全的剂量下的PK/PD队列中,以获得附加的药代动力学、药效学或生物标记物数据。
- [0470] • 可并行招募多个剂量水平和剂量计划表队列,前提条件是满足上文所有标准,并且新剂量队列/计划表中的每一者由SET推荐并得到利用EWOC原则的统计模型的支持。
- [0471] 临时给药表
- [0472] 在22中提供了样本临时给药表。剂量水平将在SET会议(参见第4.1.4节)中讨论,并且基于新出现的数据进行改变。中间剂量水平增量可确保研究参与者的安全性。实际上升剂量水平将由mCRM基于BLRM指导。尚未鉴定本研究的最大剂量水平。

[0473] 表22.临时给药表

剂量水平	剂量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	增量
剂量水平 1	0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	起始剂量 (MABEL)
剂量水平 2	0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$	300%
剂量水平 3	1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	300%
剂量水平 4	3 $\mu\text{g}/\text{kg}$	300%
剂量水平 5	10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	300%
剂量水平 6	20 $\mu\text{g}/\text{kg}$	100%
剂量水平 7	40 $\mu\text{g}/\text{kg}$	100%
剂量水平 8	80 $\mu\text{g}/\text{kg}$	100%
剂量水平 9	120 $\mu\text{g}/\text{kg}$	50%

注：该表示出了治疗剂量水平（非初免剂量）。

[0475] 4.1.2.RP2D的确定

[0476] RP2D将在审查所有可用的来自以RP2D治疗的至少6名参与者和在所有队列中具有药代动力学数据的至少12名参与者的药代动力学、药效学、安全性和功效数据后确定，并且将考虑BLRM的推荐剂量。可选择一个或多个RP2D。

[0477] 4.1.3.剂量限制性毒性的定义

[0478] DLT评估期被定义为治疗的前21天。如果探索一个或多个初免剂量，则初免期将包括在DLT评估期中。可替换出于DLT之外的原因而未完成DLT期的参与者。如果参与者在该时间段期间出于毒性之外的原因（例如，疾病进展、错过预约、不遵从、参与者退出）接受小于75%的每种指定剂量，则可根据SET的判断用新参与者替换该参与者。SET将考虑来自不可评估参与者的所有可用安全性数据。DLT的标准概述于下表中。导致治疗中止的剂量限制性毒性在第7节中有所描述。根据“美国国家癌症研究所不良事件通用术语标准”（NCI CTCAE 5.0版）评估这些事件。

[0479] 表23.剂量限制性毒性标准^a

非血液学毒性	
除了下文列出的化学异常以外的非血液学毒性	3 级
	4 级
	5 级
除 AST、ALT、GGT、总胆红素、脂肪酶或淀粉酶之外的化学异常 ^d	3 级持续>7 天无临床后遗症、或持续>3 天与临床后遗症相关，尽管有最佳支持性护理 ^b
	4 级
特定化学异常	AST、ALT 或总胆红素：在 5 天内尚未返回至≤1 级或基线的 3 级，或符合海氏定律标准 ^c
	脂肪酶或淀粉酶：与胰腺炎的临床或放射学证据相关联的≥3 级
特例	
<ul style="list-style-type: none"> • 肿瘤溶解综合征和相关化学异常（钾、尿酸、钙、磷酸盐）：在 72 小时内恢复至<2 级的≤4 级 • 3 级虚弱、发烧或便秘持续<7 天 • 在最佳支持性护理下 3 级恶心、呕吐或腹泻<7 天 • 与肝转移相关联的分离的 3 级或 4 级 GGT 升高（不同时存在满足 3 级的 AST 或 ALT 或满足 2 级的总胆红素） • 在 72 小时内返回至≤1 级的 3 级 IRR 或 3 级 CRS 	
血液学毒性	
嗜中性粒细胞计数减少	发热性中性粒细胞减少症：≥3 级
	中性粒细胞减少症：4 级≥7 天
血小板计数减少	3 级血小板减少症伴出血或任何 4 级
任何血液学毒性	5 级

[0480]

[0481]

[0482] 缩写：ALP=碱性磷酸酶；ALT=丙氨酸转氨酶；AST=天冬氨酸转氨酶；CRS=细胞因子释放综合征；DLT=剂量限制性毒性；GGT=γ-谷氨酰基转移酶；IRR=输注相关反应；ULN=正常上限。

[0483] • 除非毒性明确归因于潜在的恶性肿瘤或外来原因。

[0484] • 根据机构标准的最佳支持性护理(包括电解质和激素补充，在临床上适用的情况下)。

[0485] • 海氏定律标准被定义为ALT或AST值≥3×ULN，总胆红素≥2×ULN，并且ALP≤2×ULN；没有另选病因。

[0486] • 在DLT期期间发生的≥3级化学异常需要在72小时内重复以确认等级或消退。

[0487] 4.1.4. 研究评估小组

[0488] 参与者安全性和研究进行将在整个研究期间由申办方建立的SET监测。该委员会将在整个研究中持续监测所有治疗突发性数据(例如，药代动力学、药效学、安全性)，以确保本研究中招募的参与者的持续安全性。将监测迟发毒性的累积数据。

[0489] SET将由申办方的研究责任医师主持。成员将包括主要研究者、申办方临床科学家、安全医师(申办方安全管理团队主席)、统计员、临床药理学家以及附加的申办方工作人员(视情况而定)。小组将在整个研究进行中定期开会，并可应申办方或研究者的要求在研

究期间随时进行以评估新出现的安全性信号。会议结果的文档将由申办方维护。将决策传达给研究者,并且可能影响参与者安全性的决策(例如,风险/益处评估的不利变化)也将根据需要进行及时传达给监管机构。

[0490] 剂量递增决策以及对治疗和程序计划表的变更将由SET作出。剂量递增会议的计划表将取决于DLT的频率以及是否/何时确定MTD或最大施用剂量(MAD)或何时确定RP2D。

[0491] 如果确定治疗突发性毒性导致参与者风险/益处的不利变化,则SET也可决定研究进行中的修改或停止进一步招募进一个或多个队列中。如果需要,招募可被暂时搁置,以便SET评估新出现的数据。SET章程将概述有关SET作出的决策或建议的沟通计划。

[0492] 4.2. 研究设计的科学基本原理

[0493] 最近引入的T细胞重定向双特异性剂代表了特别有前景的免疫疗法形式。双特异性剂通过2个单独的抗原识别结构域使用异二价结合;一种识别肿瘤抗原,另一种靶向T细胞上的CD3以实现肿瘤清除并规避许多抗性机制(Ramadoss NS、Schulman AD、Choi SH等人, J Am Chem Soc. 2015; 137 (16) : 5288-5291)。

[0494] PSMA是在正常前列腺中表达的跨膜蛋白,并且其表达在恶性转化(包括在骨转移上的表达)期间增加(Chang SS等人, Urology. 2001; 57 (4) : 801-805)。此外,PSMA在其他恶性肿瘤的新血管系统中过表达(Baccala A等人, Urology. 2007; 70 (2) : 385-390; Chang SS. Rev Urol. 2004; 6 (附刊10) : S13-S18; Chang SS等人,《临床癌症研究》1999; 59 (13) : 3192-3198。假设研究药物将指导身体的免疫细胞杀伤这些过表达PSMA的恶性细胞。研究药物的作用机制通过将表达CD3的T细胞募集到表达PSMA的靶细胞来实现T细胞介导的细胞毒性。这种用于细胞杀伤的机制是独特的,这为治疗其疾病已被证明对当前疗法具有抗性的患者提供了机会。

[0495] 4.2.1. 研究特定的伦理设计考虑

[0496] 正在进行本研究以评估在研究药物向具有mCRPC的参与者重复给药后的安全性、药代动力学、药效学和潜在临床益处。本研究的结果将为该化合物的进一步开发提供有用的信息。主要的伦理关注是在该FIH研究中与施用研究药物相关联的风险和益处是未知的。为了评估研究中人体内药物相关的风险,使用肿瘤细胞系进行体外和体内评估。在食蟹猴中进行临床前毒理学和PK/PD研究,因为这是唯一展示研究药物的PSMA和CD3臂两者的结合的相关物种。

[0497] 虽然非临床研究表明在本研究中提出用于评估的剂量范围内具有抗肿瘤活性的潜力,但尚未确定该研究药物在人体中的治疗益处。在食蟹猴中进行的研究中鉴定出的研究药物的主要发现与细胞因子释放(剂量限制)和普遍的全身性炎症反应有关。

[0498] 参与者的疾病可能对研究药物无反应,或者参与者可能接受亚治疗剂量,尤其是在较低剂量队列中。此外,可能发生在临床前研究中未观察到的毒性。基于临床前评估,有理由相信基于临床前数据的积极风险-益处特征。为了确保本研究中治疗的参与者的健康状况,将密切监测安全性和临床益处,如贯穿本方案所讨论的。

[0499] 与所有FIH剂量-发现PK/PD研究一样,存在与静脉穿刺和多次血液样本收集相关的风险。为了避免引起附加不适和其他潜在毒性作用的多次静脉穿刺,在本研究中允许使用IV留置式导管(进一步详情参见研究者产品制备说明[IPPI])。血液样本收集方案被设计成收集准确且完整地描述研究药物的PK/PD特征的最小数量的血液样本。这使得在研究期

间静脉穿刺的次数和从每个参与者收集的血液的总体积最小化。大多数血液样本将在治疗的前8周期间收集。基于美国红十字会的标准,待收集的总血液体积被认为是在该时间段内从本研究中的群体收集的血液的可接受量。

[0500] 成像的定时被设计成采集进展事件,并且允许临床研究者及时作出治疗决策,同时将与防止参与者过度暴露于辐射进行平衡。功效评估将按照国际公认的实体瘤响应评估标准 (RECIST) v1.1或PCWG3标准所推荐的进行。

[0501] 具有肿瘤活检的参与者可能处于与活检程序相关联的毒性的风险中,该毒性包括疼痛、出血和感染以及根据当地护理标准提供的任何局部或全身麻醉的风险。

[0502] 潜在参与者将被充分告知研究的风险和要求,并且在研究期间,将向参与者提供可能影响其继续参与的决策的任何新信息。他们将告知,他们同意参与研究是自愿的,并且可在任何时候退出,而无需给予任何理由,也不损害或损失他们原本有权享有的益处。只有完全能够理解研究的风险、益处和潜在不良事件并自愿提供其同意的参与者才会被招募。

[0503] 4.3. 剂量的合理性

[0504] 起始剂量基本原理参见第2.1.3.节。

[0505] 4.4. 研究结束的定义

[0506] 如果参与者已死亡或未满足退出研究标准(参见第7节),则他或她将被视为已完成研究。研究结束(研究完成)被认为是对研究中最后一名参与者的最后安全性评估。

[0507] 5. 研究群体

[0508] 有资格的参与者的筛查将在施用研究药物之前的30天内执行。允许重复任何筛选程序的条件下的“筛选失败”参考第5.4节。

[0509] 本研究中招募参与者的纳入和排除标准在下文中描述。如果关于这些标准存在疑问,研究者必须与适当的申办方代表协商并在研究招募参与者之前解决任何问题。不允许弃权。

[0510] 5.1. 纳入标准

[0511] 每个潜在参与者必须满足以下研究招募的所有标准:

[0512] 1. ≥ 18 岁。

[0513] 2. 根据修正1修订的标准。

[0514] 2.1组织学:

[0515] 第1部分:具有腺癌组织学确认的转移性CRPC (mCRPC)。允许具有小细胞或神经内分泌特征的腺癌。

[0516] mCRPC被定义为:总血清睾酮 $\leq 50\text{ng/dL}$ 或 1.7nmol/L 且有进行性疾病的证据,定义为在间隔至少1周的至少2个连续的场所增加的1个或更多个PCWG3标准PSA水平 $\geq 1\text{ng/mL}$,如由具有PCWG3修改的RECIST 1.1定义的淋巴结或内脏进展,和/或在骨扫描中出现2个或更多新病变。

[0517] 第2部分:如上定义的mCRPC。

[0518] 3. 根据修正1修改的标准。

[0519] 3.1先前治疗如下:

[0520] 第1部分和第2部分:mCRPC-用于mCRPC的至少1个先前系列的新型AR靶向疗法(即,醋酸阿比特龙、阿帕鲁胺、恩杂鲁胺)。如果接受过先前化学疗法的患者接受过至少1个先前

系列的新型雄激素受体 (AR) 靶向疗法, 则他们也具有资格。

[0521] 4. 可测量的或可评估的疾病:

[0522] 第1部分: 前列腺癌的可测量的或可评估的疾病。

[0523] 第2部分: 可通过CT (或在禁用CT的情况下MRI) 在基线处准确评估并且适用于根据RECIST v1.1重复评估的至少一种可测量病变。如果可测量疾病的唯一部位先前已被照射, 则需要记录疾病进展和自放射疗法完成后的4周间隔。另外, 在基线处或治疗时选择的用于活检的病变不能被选择作为用于疾病评估的目标病变。

[0524] 5. 需要新治疗线的先前疗法的疾病进展证据。

[0525] 6. mCRPC: 如果参与者正在接受利用促性腺激素释放激素激动剂类似物 (GnRH) 的治疗 (即, 尚未经过双侧睾丸切除术的参与者), 则该治疗必须在研究药物首次给药之前开始, 并且必须在整个研究期间继续。

[0526] 7. 除非活检的收集呈现安全风险, 否则在所选择的PK/PD队列和第2部分中招募的具有可触及病变的参与者必须同意进行强制新鲜肿瘤活检。

[0527] 8. 东部肿瘤协作组 (ECOG) 体能状态等级为0或1。

[0528] 9. 在研究药物首次给药前3周内, 不依赖于输血或生长因子, 血液学实验室参数在以下范围内。参与者不得依赖于输血:

[0529] a. 血红蛋白 $\geq 9\text{g/dL}$

[0530] b. 绝对中性粒细胞计数 $\geq 1.5 \times 10^9/\text{L}$

[0531] c. 血小板计数 $\geq 100 \times 10^9/\text{L}$

[0532] 10. 化学实验室参数在以下范围内:

[0533] a. 血清白蛋白 $\geq 3.0\text{g/dL}$

[0534] b. 计算的或测量的肌酐清除率 $> 50\text{mL/min}/1.73\text{m}^2$

[0535] c. 清总胆红素 $\leq 1.5 \times$ 正常上限 (ULN); 在具有吉尔伯特综合征的参与者中, 如果总胆红素 $\geq 1.5 \times$ ULN, 则测量直接和间接胆红素, 并且如果直接胆红素在正常限度内, 则参与者可能具有资格

[0536] d. 天冬氨酸转氨酶 (AST) 和丙氨酸转氨酶 (ALT) $\leq 2.5 \times$ ULN

[0537] 11. 心脏参数在以下范围内:

[0538] a. 在组织正常限度内的左心室射血分数

[0539] b. 基于间隔5分钟 (± 3 分钟) 进行的三次重复评估的平均值, 校正的QT间期 (QTcF或QTcB) ≤ 480 毫秒。该标准不适用于具有起搏器的参与者。

[0540] 12. 有生育潜力的女性在筛选时和研究药物首次给药之前必须具有阴性的高灵敏血清 (β -人绒毛膜促性腺激素 [β -hCG])。在治疗期间每4周需要进行尿液妊娠测试。

[0541] 女性必须:

[0542] 不具有生育潜力

[0543] 具有生育潜力并且

[0544] - 实施高度有效的、优选地不依赖于使用者的避孕方法 (当一致且正确地使用时, 失败率 $< 1\%$ /年), 并且同意在接受研究药物时保持高度有效的方法, 并且直至最后一次给药后30天。

[0545] - 在最后一次研究药物施用后30天内的妊娠测试 (血清或尿液)。

[0546] 13.除了不依赖于使用者的高效避孕方法之外,还需要含有或不含杀精剂的男性或女性避孕套,例如含有杀精泡沫/凝胶/薄膜/霜膏/栓剂的避孕套。男性避孕套和女性避孕套不应一起使用(由于摩擦失效的风险)。

[0547] 14.男性参与者在从事任何允许射精穿行到另一个人的任何活动时必须佩戴避孕套。还应向男性参与者建议女性伴侣使用高效避孕方法的益处,因为避孕套可能破裂或渗漏。

[0548] 15.男性或女性采用如上所述的避孕(节育)措施应符合当地有关参与临床研究的那些人的可接受避孕方法的规定。典型的使用失败率可不同于当一致且正确地使用时的那些。使用应符合当地有关参与临床研究的参与者使用避孕方法的规定。

[0549] 16.女性必须同意在研究期间以及在最后一次研究药物施用后至少30天内不捐献卵(卵子、卵母细胞)用于辅助生殖。

[0550] 17.男性参与者必须同意在研究期间以及在接受研究药物最后一次给药后的最少90天内不捐献精子用于繁殖目的。

[0551] 18.愿意并且能够遵守该方案中规定的禁止事项和限制条款。

[0552] 19.必须签署知情同意书(ICF),表明他或她了解研究的目的和所需的程序并且愿意参与该研究。

[0553] 5.2.排除标准

[0554] 任何满足以下标准中的任一者的潜在参与者将被排除在参与研究之外:

[0555] 1.脑转移史或已知的脑转移。

[0556] 2.腺瘤、嗜酸细胞瘤和间充质肾细胞瘤。

[0557] 3.根据修正1修改的标准

[0558] 3.1-mCRPC,具有前列腺神经内分泌或小细胞癌肿瘤的原发性组织学。

[0559] -非转移性CRPC。

[0560] 4.在先前抗癌治疗(包括放射疗法)中止与研究药物首次给药之间至少2周,并且毒性已返回至 ≤ 1 级或基线。

[0561] 5.先前用PSMA靶向疗法进行治疗,包括但不限于嵌合抗原T细胞受体、PSMA T细胞重定向疗法、PSMA靶向单克隆抗体,包括抗体药物缀合物。允许先前用PSMA靶向疫苗进行治疗。

[0562] 6.实体器官或骨髓移植。

[0563] 7.癫痫发作或可能易于癫痫发作的已知病症或引起水肿或肿块效应的颅内肿块,诸如神经鞘瘤和脑膜瘤。

[0564] 8.在招募前 ≤ 12 个月需要全身性治疗的其他活动性恶性肿瘤。

[0565] 9.筛选前6个月内有以下任何一项:

[0566] a.心肌梗塞

[0567] b.严重或不稳定的心绞痛

[0568] c.临床上显著的室性心律失常

[0569] d.充血性心力衰竭(纽约心脏协会II类至IV类)

[0570] e.脑血管意外或短暂性脑缺血发作

[0571] f.任何等级的动脉事件

[0572] 10. 在研究药物首次给药前1个月内的静脉血栓栓塞事件(即,肺栓塞);无并发症(≤ 2 级)深静脉血栓形成不被视为排除性的。

[0573] 11. 不受控制的高血压(≥ 2 级);允许接受抗高血压治疗的参与者。

[0574] 12. 已知的变态反应、超敏反应或对研究药物或其赋形剂的耐受不良(参考“研究者手册”)。

[0575] 13. 同时使用用于治疗晚期疾病的任何其他抗癌治疗或研究剂。

[0576] 14. 需要在研究药物首次给药前7天内用全身性抗生素治疗的活动性感染或病症。

[0577] 15. 在研究药物首次给药前2周内接受免疫抑制剂量的全身性药物,诸如皮质类固醇(剂量 $>10\text{mg}/\text{天}$ 泼尼松或等同物)。允许皮质类固醇的单一疗程作为用于成像造影的预防(即,用于对造影过敏的参与者)。

[0578] 16. 过去2年内需要全身性免疫抑制药物(即,慢性皮质类固醇、甲氨蝶呤或他克莫司)的活动性自身免疫疾病。

[0579] 17. 大手术(例如,需要全身麻醉)。参与者必须在开始研究药物之前至少3周充分恢复而没有后遗症。允许在开始研究药物前1周内在全麻下插入中心静脉导管。注意:计划在局部麻醉下进行外科手术的参与者可参与。

[0580] 18. 活动性或慢性乙型肝炎或丙型肝炎感染。乙型肝炎感染被定义为乙型肝炎表面抗原(HBsAg)和针对乙型肝炎表面抗原或核心抗原的一种抗体(分别为抗HBs和抗HBc)两者的阳性检测。丙型肝炎感染被定义为丙型肝炎抗体阳性。

[0581] 测试为抗HBs或抗HBc阳性的参与者必须通过进行的聚合酶链式反应具有乙型肝炎DNA,并在研究药物施用之前确认为阴性。测试为丙型肝炎抗体阳性的参与者如果先前治疗过并实现持续的病毒响应是有资格的,该病毒响应被定义为完成肝炎治疗后丙型肝炎的阴性病毒载量。

[0582] 19. 人免疫缺陷病毒(HIV)抗体阳性的病史,或在筛查时测试HIV呈阳性。

[0583] 20. 在研究药物首次给药前28天内接种活疫苗;允许接种灭活疫苗诸如年度流感疫苗。

[0584] 21. 怀孕、哺乳或计划在本研究招募时或在研究药物最后一次给药后30天内怀孕。

[0585] 22. 计划在本研究招募时或在研究药物最后一次给药后90天内成为孩子父亲。

[0586] 23. 研究者认为参与本研究不符合参与者的最佳利益(例如,损害健康)或者可能阻止、限制或混淆方案指定的评估的任何病症。

[0587] 注意:研究者应确保在筛选时和在研究药物首次给药之前,所有研究招募(纳入/排除)标准均已得到满足。如果参与者的临床状态在筛选之后但在给予研究药物首次给药之前发生变化(包括任何可用的实验室结果或接收到附加的医疗记录),使得他或她不再满足所有资格标准,则该参与者应被排除在参与本研究之外。第5.4节“筛选失败”描述了用于重新测试的选项。

[0588] 5.3. 生活方式考虑

[0589] 潜在参与者必须愿意并且能够在研究过程期间遵守以下生活方式限制才有资格参与:

[0590] 1. 在研究药物首次给药前至少4周必须中止或替换的疗法包括已知降低癫痫发作阈值的药物和可降低PSA水平的产品。研究期间禁止和限制的疗法的详情参考第6.5.2节。

[0591] 2. 同意遵循在研究期间必须满足的资格(纳入和排除)标准中所指出的所有要求(例如, 避孕要求)。

[0592] 3. 剂量递增的参与者必须愿意在第一治疗剂量和第二治疗剂量以及任何初免剂量(如果施用的话)后从研究药物输注(IV冲洗)结束起并且如第4.1节中所述住院至少48小时。

[0593] 4. 参与者必须同意在第6.1.2.4节所述的时间段内避免驾驶和从事危险职业或活动。

[0594] 5.4. 筛选失败

[0595] 参与者识别、招募和筛选日志

[0596] 可重新筛选满足筛选失败标准的参与者。在筛选阶段期间, 仅允许对导致排除的异常筛选值进行一次重新测试(以重新评估资格)。在研究药物首次给药前获得的最后结果将用于确定资格。在最接近研究药物施用开始但在开始之前的时间收集的测量值将被定义为用于安全性评估和治疗决策的基线值。

[0597] 如果参与者的临床状态在筛选之后但在给予研究药物首次给药之前发生变化(包括任何可用的实验室结果或接收到附加的医疗记录), 使得他或她不再满足所有资格标准, 该参与者应被排除在参与本研究之外。

[0598] 研究者同意完成参与者识别和招募日志以允许在研究期间和之后容易地识别每个参与者。本文档将由申办方研究中心联系人审查以确保其完整性。参与者识别和招募日志将被视为机密的, 并且将由研究者在研究文件中提交。为了确保参与者的机密性, 不得进行复制。与研究相关的所有报告和通信将在最初知情同意(如当地法规所允许)时通过参与者识别和年龄来识别参与者。在参与者未招募进研究的情况下, 将使用最初知情同意(如当地法规所允许)时的所见日期和年龄。

[0599] 6. 研究药物

[0600] 6.1. 研究药物施用

[0601] 研究药物和稀释剂的描述

[0602] 研究药物是针对CD3和PSMA受体的基于完全人源化IgG4的双特异性抗体, 其通过培养重组中国仓鼠卵巢细胞, 之后进行分离、色谱纯化和配制而产生。

[0603] 研究药物和稀释剂的制造和提供将由申办方负责。研究药物施用将被采集在源文档和电子病例报告表(eCRF)中。关于急救药物的详情, 参考第6.5.4节。对于研究药物过量的定义, 参考第8.4节。

[0604] 出于本研究的目的, “研究药物”是指研究药物及其稀释剂。所有的给药信息必须记录在eCRF中。剂量递增中参与者的招募交错间隔在第4.1.1节中提供。输注时间和建议可由申办方基于新出现的安全性信息与研究者协商来进行调整。此类更改将记录在研究文件、SET会议记录或IPPI修订版中。由于IV袋过度填充、次要设备校准因素或不受施用人员控制的参与者因素而超过计划时间长度的输注持续时间将不被认为是方案偏差。应准确记录实际输注时间。表提供了药物施用的详情。

[0605] 表24. 研究药物施用

起始剂量/剂量水平	剂量递增将以 0.1µg/kg 的起始剂量开始。后续剂量水平将根据第 4.1.1 节进行评估。尚未鉴定本研究的最大剂量水平。
施用途径/ 输注持续时间	静脉内 (IV) 输注最初将在约 2 小时 (±30 分钟) 内施用。推荐的输注持续时间可如由 SET 基于新出现的数据所确定的进行改变, 并且将在 IPPI 中进行描述。如果发生 IRR 或以其他方式进行临床指示, 则可能需要更长的输注时间。有关研究药物施用的完整详情参考 IPPI。
[0606] 给药计划表/方案	<p>该研究将以每周一次的研究药物输注计划表 (无初免) 开始。可改变研究药物施用计划表 (即, 每周或每周两次), 并且可如由 SET 基于新出现的数据所确定的来探索初免剂量计划表。(参见第 4.1.1 节)。</p> <p>治疗剂量计划表:</p> <p>每周: 每周一次施用研究药物治疗剂量。每次研究药物施用之间必须存在至少 5 天。</p> <p>每周两次 (如果探索的话): 每周两次 (即, 每隔 3 至 4 天一次) 施用研究药物治疗剂量。每次研究药物施用之间必须存在至少 72 小时。</p> <p>在治疗 6 个月后, 申办方将在逐病例的基础上与研究者协商来评估是否将给药频率降低至每 2 周。</p> <p>初免剂量计划表: 初免剂量 (第 1 天) 可在第一治疗剂量 (第 8 天) 之前施用; 剂量和频率将由 SET 确定。</p> <p>注意: 研究访视可发生在计划日期的±2 天。</p>
给药说明	<p>研究药物输注物将如 IPPI 中所述进行制备和施用。施用的实际剂量 (µg) 基于研究第 1 天参与者的体重 (kg) 来计算。如果参与者在给药日的体重相对于研究第 1 天的值变化 >10%, 则应重新计算剂量。如第 6.5.3 节中所述施用输注前药物。</p> <p>在 IRR 或 CRS 的情况下, 关于给药说明 (例如, 输注速率改变、中断和中止) 分别参见表 26 和表 27。关于在研究药物施用之前可用的所需设备/药物参见第 6.1.2 节。</p>
住院	强制住院参见第 4.1 节。
研究药物说明	研究药物制备、储存和施用参考 IPPI。
观察期	<p>观察期在 IV 冲洗结束后开始。</p> <p>从第三治疗剂量开始, 在前 56 天期间研究药物施用后, 应观察参与者至少 2 小时。后续剂量: 参与者可在由研究中心工作人员评估至少 1 小时之后, 以及在完成所有所需评估之后从该中心释放。</p>

[0607] 6.1.1. 再治疗标准

[0608] 在每次给药前, 将评估参与者可能已发生的可能毒性。必须审查实验室结果和一般身体状况。毒性和并发症必须返回至 1 级或基线 (脱发除外)。参与者必须不发烧持续至少 72 小时。只要参与者的临床状态满足 25 中概述的所有再治疗标准并且不满足第 7.1 节中呈现的所有治疗中止标准, 则可恢复用研究药物进行治疗。

[0609] 表 25. 每次给药前的再治疗标准

血液学 ^{a,b}		
血红蛋白	≥8g/dL	
血小板	≥75×10 ⁹ /L	
嗜中性粒细胞	绝对计数≥1.0×10 ⁹ /L	
非血液毒性		
IRR	再治疗标准参见第 6.1.2.1 节。	
CRS	再治疗标准参见第 6.1.2.3 节。	
[0610] 神经系统毒性	再治疗标准参见第 6.1.2.4 节。	
其他非血液毒性	2 级 (脱发除外) 或者 3 级	应延迟治疗, 直至毒性返回至≤1 级或基线, 然后可以相同的剂量和计划表重新开始治疗。 如果 3 级毒性 (可通过支持性护理校正的血液化学除外) 复发, 则应延迟治疗直至毒性返回至≤1 级或基线, 并且应根据第 6.6.2 节降低剂量。
	4 级	应延迟治疗, 直至毒性返回至≤1 级或基线, 并且应根据第 6.6.2 节降低剂量。

[0611] a. 输血和生长因子可用于管理血液学毒性。

[0612] b. 必须已从毒性中充分恢复, 并且在下一次研究药物施用前至少 5 天停止输血或生长因子。

[0613] 在临床上显著受损的伤口愈合或即将发生的手术或潜在的出血并发症的所有情况下, 推荐中断剂量施用, 小心监测适当的临床实验室数据 (例如, 凝血), 并且在适用的情况下施用支持性疗法。当根据研究者的评估认为安全时, 可以与申办方协商确定的适当剂量重新开始剂量施用。

[0614] 6.1.2. 潜在毒性的管理指南

[0615] 在适用的情况下, 应施用最佳支持性护理。第 2.3 节中指出的特定潜在毒性的管理在本章节中概述。在输注室中或附近应随时有适当的人员和适当的复苏设备, 并且在研究药物的输注期间应随时有受过训练的医师。复苏所需的资源包括药剂, 诸如肾上腺素和雾化支气管扩张剂; 医疗设备, 诸如氧气、气管造口术设备和除颤器。必须定期监测生命体征和实验室参数, 直至毒性正常化。在 IRR 或 CRS 事件的情况下, 应收集非计划的药代动力学、免疫原性、细胞因子和药效学样本 (参见第 1.3 节)。

[0616] 6.1.2.1. 输注相关反应的管理

[0617] 经历表现为气喘、潮红、低氧血症、发烧、发冷、寒颤、支气管痉挛、头痛、皮疹、瘙痒、关节痛、低血压或高血压或其他症状的 IRR 的参与者应具有根据 26 中提供的建议管理的症状。

[0618] 所有 3 级或 4 级 IRR 应在 24 小时内报告给申办方医疗监查者。如果事件满足严重不良事件的标准, 则遵循第 8.3 节中的严重不良事件报告标准。在初始 IRR 事件之后, 必须在下一次研究药物输注之前如第 6.5.3 节所述施用预防性药物。

[0619] 表 26. 输注相关反应管理的剂量修改和指南

根据 NCI CTCAE 5.0 分级	治疗/药物
1 级或 2 级 轻度或中度反应： 需要治疗或输注中断，但迅速响应症状治疗	中断输注：开始 IV 流体；给予苯海拉明 50mg IV（或等同物）或扑热息痛 650mg 至 1,000mg（对乙酰氨基酚）或两者；考虑皮质类固醇和支气管扩张剂疗法；密切监测参与者，直至从症状中恢复。 以初始速率的 50%重新开始输注：如果 30 分钟后不再发生并发症，则速率可增加至初始输注速率的 100%。 密切监测参与者。 症状复发：停止研究药物输注；施用 50mg IV 苯海拉明并监测参与者，直至症状消退。所输注的研究药物的量必须记录在 eCRF 上。如果参与者在间隔中没有进一步的症状，则在研究者的判断下与申办方协商以下一个计划剂量进行治疗再挑战。
3 级或 4 级 3 级：延长（例如，对有症状的药物治疗不快速响应或输注短暂中断）；症状在最初改善后复发； 因临床后遗症（例如，肾损伤、肺浸润）而住院的指征 4 级：危及生命；指示紧急干预（例如，指示加压或呼	停止输注：开始 IV 盐水输注。推荐以下治疗和被认为有必要管理事件的任何其他疗法：支气管扩张剂肾上腺素，用于皮下施用的 0.2mg 至 1mg 的 1:1000 溶液或用于 IV 施用缓慢注射的 0.1mg 至 0.25mg 的 1:10000 溶液，以及苯海拉明 50mg IV 与甲泼尼龙 100mg IV（或等同物）。 研究者应遵循用于治疗过敏反应的机构指南。 根据研究者的医学判断，监测直至医学稳定。 中止治疗：详情参见第 7 节。
[0621]	呼吸机支持)

[0622] 6.1.2.2. 免疫相关不良事件的管理和预防

[0623] 研究药物可能导致特定免疫相关不良事件 (irAE)。对 irAE 的连续、仔细监测和及时管理可有助于减轻更严重的毒性。针对特定潜在 irAE 的症状性和最佳支持性护理措施应当在临床指示时立即进行，并且应当遵循机构标准。这些治疗可包括皮质类固醇和特定 irAE 所需的其他免疫抑制剂。

[0624] 6.1.2.3. 细胞因子释放综合症的预防和管理

[0625] 由于研究药物的特定作用模式是基于 T 细胞的结合和活化以及肿瘤环境中细胞因子的释放，因此应预期 CRS 的不良事件。T 细胞活化双特异性抗体的有限临床经验似乎表明 CRS 在输注开始后数分钟至数小时内最频繁地发生，Klinger M 等人，Blood. 2012, 119 (26) : 6226-6233; Lee DW 等人，Blood. 2014, 124 (2) : 188-195; Zimmerman Z 等人，Int Immunol., 2015, 27 (1) : 31-37。

[0626] 指示 CRS 的临床症状可包括但不限于由细胞因子释放引起的发烧、呼吸急促、头痛、心动过速、低血压、皮疹和缺氧。还考虑对其他器官的影响，诸如幻觉、意识错乱、头痛、癫痫、言语困难、震颤或其他神经系统毒性。CRS 的潜在危及生命的并发症可包括心脏功能障碍、成人呼吸窘迫综合征、肾和肝衰竭以及弥散性血管内凝血。应密切监测参与者的指示 CRS 的早期体征和症状，并且应立即中断研究药物输注。针对凝血和炎性标记物的实验室测试可如临床指示进行，以监测弥散性血管内凝血和炎症，其可作为 CRS 的表现而发生。细胞因子释放综合征将被采集作为特别感兴趣的不良事件 (参见第 8.3.5 节)，并且将根据 NCI CTCAE 5.0 版进行评估。

[0627] CRS的临床管理建议提供于下表27中,并且包括用托珠单抗 ACTEMRA® (托珠单抗) 治疗。处方信息。South San Francisco,CA:Genentech,Inc;2017。托珠单抗的施用应被认为是 ≥ 2 级CRS (根据CTCAE v5.0);另外,可根据护理指南的机构标准施用托珠单抗。因此,确保在输注研究药物之前,在该研究中心处可获得托珠单抗(参见第6.5.4节)。对于CRS事件的住院需求,参见第4.1节。

[0628] 表27. 细胞因子释放综合征管理指南

[0629] 来源:根据Kymriah™ (tisagenlecleucel) 美国包装说明书Kymriah™ [US FDA包装说明书] 修改。East Hanover,USA.Novartis Pharmaceutical Corporation;2018年5月。

[0630]

毒性等级	细胞因子释放综合征严重程度	管理
1 级	前驱综合征: 低烧、乏力、厌食	亲自观察; 排除感染; 如果为中性粒细胞减少症, 则按照当地指南施用抗生素; 提供症状性支持。
2 级至 3 级	需要轻度干预的 CRS (以下中的一种或多种): - 高烧 - 缺氧 - 轻度低血压	根据需要施用退热剂、氧气、静脉内流体和/或低剂量血管加压剂。 按照机构指南施用托珠单抗: - 患者体重小于 30kg: 1 小时内静脉内 12mg/kg - 患者体重大于或等于 30kg: 1 小时内静脉内 8mg/kg (最大剂量 800mg) - 如果没有临床改善, 则根据需要以至多每 8 小时的最大频率重复托珠单抗
4 级	需要中度至积极干预的 CRS (以下中的一种或多种): - 血液动力学不稳定性, 尽管有静脉内流体和血管加压剂支持 - 呼吸窘迫恶化, 包括肺部渗入, 增加了氧气需求, 包括高流量氧气和/或机械通气的需要 - 快速临床恶化	根据需要施用高剂量或多种血管加压剂、氧气、机械通气和/或其他支持性护理。 施用托珠单抗: - 患者体重小于 30kg: 1 小时内静脉内 12mg/kg - 患者体重大于或等于 30kg: 1 小时内静脉内 8mg/kg (最大剂量 800mg) 如果没有临床改善, 则根据需要以 8 小时的最小间隔重复托珠单抗。 如果对第二剂量的托珠单抗没有响应, 则考虑第三剂量的托珠单抗或寻求治疗 CRS 的替代措施。 限制到最大总共 4 个托珠单抗剂量。 - 如果在第一次托珠单抗剂量的 12 至 18 小时内没有临床改善, 或在任何时间恶化, 则施用甲泼尼龙 2mg/kg 作为初始剂量, 然后每天 2mg/kg 直至不再需要血管加压剂和高流量氧气, 然后逐渐减少。

[0631] 经历CRS的参与者的剂量修改/中止指南提供于表28中。应根据需要施用治疗后药物。参与者必须如4.1节中所述住院。

[0632] 表28. 细胞因子释放综合征管理的剂量修改指南

毒性等级	动作
1级和2级	恢复后, 以相同剂量继续。如果这些事件发生在初免期间, 则初免计划表可继续。
[0633] 3级	第1次发生: 恢复至基线或 ≤ 1 级后, 将当前剂量减少1个剂量水平。 ^a 如果没有发生附加的 ≥ 3 级CRS, 则在与申办方协商后可重新递增后续剂量。 第2次发生: 永久性中止。
4级	永久性中止研究药物并随访直至恢复。

[0634] a. 剂量减少计划表参见第6.6.2节。

[0635] 6.1.2.4. 神经系统不良事件

[0636] 研究药物是否会引起神经系统毒性是未知的; 然而, 由于PSMA在小脑和脊髓的神经胶质细胞中的表达(细胞质), 这是潜在的风险。另外, 已用CD3重定向剂诸如CD19xCD3博纳吐单抗观察到神经系统毒性。这些毒性的病因尚不清楚, 并且通常可能与CD19表达、T细胞重定向或细胞因子释放特异性相关。在使用博纳吐单抗(CD19xCD3 BiTE)的临床试验中, 在约50%的患者中发生神经系统毒性, 并且包括脑病、惊厥、语言障碍、意识障碍、意识错乱和定向障碍以及协调与平衡障碍。大多数事件在博纳吐单抗中断后消退, 但一些导致治疗中止。与神经系统作用相关联的体征和症状的监测将在整个研究中发生。

[0637] 基于研究药物的特定作用模式, 可能发生重度或严重的神经系统毒性。早期识别神经系统不良事件对于管理是至关重要的。应监测参与者的神经系统毒性, 包括但不限于语言障碍、惊厥和意识障碍、意识错乱、定向障碍或协调与平衡障碍。如果参与者注意到运动功能受损(例如, 虚弱)、感觉变化(例如, 麻木)或暗示可能的中枢神经系统异常的症状(诸如, 新的头痛发作或精神状态变化), 则应当建议他们寻求医学评估。

[0638] 还应建议参与者在治疗后前72小时期间避免驾驶和从事危险职业或活动, 诸如操作重型或潜在危险的机器, 并且对于经历将损害此类活动的 ≥ 2 级神经系统毒性的参与者, 将其延长至治疗的前4周。如果参与者的状态在任何时候恶化, 则应重新实施这些限制。

[0639] 研究中心人员将进行基础神经系统检查, 以评估如29所示的神经系统状态。如果观察到这些或其他神经系统毒性, 则必须咨询申办方医疗监查者。经历神经系统毒性的参与者的剂量修改/中止指南提供于表29中。应根据需要施用治疗后药物。经历神经系统毒性的参与者必须如4.1节中所述住院。

[0640] 表29. 神经系统毒性管理的剂量修改指南

毒性等级	动作
1级 以及 2级	按照当地/机构指南施用支持性疗法。恢复后，以相同剂量继续。如果这些事件发生在初免期间，则初免剂量施用可继续。
[0641] 3级	按照当地/机构指南施用支持性疗法。 第1次发生：恢复至基线或≤1级后，将当前剂量减少1个剂量水平 ^a 。 第2次发生：永久性中止。
4级	按照当地/机构指南施用支持性疗法。永久性中止研究药物并随访直至恢复。

[0642] a. 剂量减少计划表参见第6.6.2节。

[0643] 6.2. 制备/处理/储存/责任

[0644] 储存

[0645] 研究药物必须储存在受控温度下。研究药物的储存条件和处理的详细说明将伴随临床药物供应到临床研究中心。研究药物标签将包含满足适用的监管要求的信息

[0646] 责任

[0647] 研究者负责确保在整个研究中清点并核算在研究中心接收的所有研究药物和稀释剂。施用于参与者的研究药物和稀释剂必须记录在研究药物责任表上。所有研究药物和稀释剂将根据申办方的说明进行储存和处置。研究中心人员不得混合研究药品容器的内容物。

[0648] 研究药物必须严格按照方案和容器标签处理，并且必须在研究中心处储存在有限进入区域中或在适当的环境条件下储存在锁定柜中。在现场监测访视期间，未使用的研究药物必须可供申办方的研究场所监查者验证。未使用的研究药物返回给申办方将记录在研究药物返回表上。当研究中心是授权销毁单元并且研究药物供应品被现场销毁时，这也必须记录在研究药物返回表上。

[0649] 潜在危险的材料，诸如用过的安瓿、针头、注射器和包含危险液体的小瓶，应以安全的方式立即处理，并且因此出于研究药物责任目的将不被保留。

[0650] 研究药物应在研究者或研究中心人员的合格成员的监督下或由医院/诊所药剂师来分配。研究药物和稀释剂将仅提供给本研究的参与者。研究药物或稀释剂不可被重新标记或重新分配以供其他参与者使用。研究者同意既不从与申办方达成一致的研究场所之外的任何场所分配研究药物，也不将研究药物储存在与申办方达成一致的研究场所之外的任何场所。

[0651] 6.3. 最小化偏差的措施：随机化和盲法

[0652] 不适用。

[0653] 6.4. 研究药物依从性

[0654] 研究药物由主要研究者或列作亚研究者的合格医师以所需形式作为静脉内输注施用。在整个研究中，将对每个参与者的药物供应进行清点和核算。研究药物的施用也必须记录在参与者的源文档中。

[0655] 交互式网络响应系统将用于为研究中招募的每个参与者分配集中提供的研究治疗试剂盒。研究药物不能用于除本方案中概述的目的之外的任何目的，包括其他人类研究、

动物调查或体外测试。

[0656] 静脉内研究药物将在临床研究中心的受控环境中在合格的研究中心人员的直接观察下施用。每次施用的详情将记录在eCRF中(包括IV输注的日期、开始和停止时间以及输注的体积)。参与者将审查与研究药物的使用相关的预防措施和禁止的伴随药物。

[0657] 在研究终止时,或在申办方或其被指定者的请求下,药剂师必须在所有药物供应品已被核算之后将研究药物返回给申办方或其被指定者,除非在申办方和该场所两者达成一致的场所将其销毁。

[0658] 6.5. 伴随疗法

[0659] 在筛选期间,应将先前系列的疗法记录在eCRF上。在整个研究中,除了第6.5.2节中列出的那些之外,研究者可开具被认为提供足够支持性护理所必要的任何伴随药物或治疗的处方。在整个研究中,从签署ICF开始直至研究药物最后一次给药后30天或者如果更早的话直至后续抗癌治疗开始,必须记录所有不同于研究药物的药物(包括处方和非处方产品,以及血液产品的输血)。这包括任何伴随疗法和任何用于治疗或支持不良事件或严重不良事件的药物。记录的信息将包括药物类型、给药方案、施用途径、治疗持续时间及其适应症的描述。

[0660] 不应出于使参与者进入研究的明确目的而修改有效的预先存在的疗法。在整个研究治疗中,未进行睾丸切除术的mCRPC参与者将保持接受雄激素剥夺疗法或研究者选择的GnRH类似物。所有药物应记录在eCRF的适当章节中。

[0661] 6.5.1. 允许的疗法

[0662] 参与者将在研究期间接受全面支持性护理。以下是可在研究期间使用的支持性疗法的示例:

[0663] • 根据机构标准并如研究者认为有必要的,如临床指示的标准支持性护理疗法(止吐药、止泻药、抗胆碱能剂、解痉药、退热剂、抗组胺药、止痛药、抗生素和其他抗微生物剂、组胺受体[H2]拮抗剂或质子泵抑制剂,以及旨在治疗疾病症状或体征或不良事件的其他药物)。

[0664] • 根据标准机构实践,记录的感染并发症应用口服或IV抗生素或治疗研究者认为适合给定感染状况的其他抗感染剂来治疗。

[0665] • 允许生长因子支持、促红细胞生成素刺激剂和输血诸如红细胞和血小板根据当地护理标准治疗中性粒细胞减少症、贫血或血小板减少症的症状或体征;在DLT期期间不允许这些药剂作为预防性治疗。

[0666] • 如表中所示,用作研究药物的预治疗药物的皮质类固醇是允许的,并且如果日剂量小于10mg泼尼松或等效物,则其被允许用于治疗预先存在的疾病。皮质类固醇可用作成像造影的预防。

[0667] • 第6.1.2节中指出的防止或管理潜在毒性的最佳支持性护理。

[0668] • 对骨病变的姑息放射疗法。

[0669] • GnRH激动剂和拮抗剂

[0670] • 如果在研究药物首次给药之前开始,则允许可降低PSA水平的药物(例如,醋酸甲地孕酮、雌激素、孕酮、5 α -还原酶抑制剂[例如,非那雄胺、度他雄胺])。

[0671] 6.5.2. 禁止或限制的疗法

[0672] 在研究期间禁止使用以下药物。必须提前 (或在此后尽快) 通知申办方任何施用禁止疗法的情况。

[0673] • 对内脏病变的任何化学疗法、抗癌免疫疗法 (除研究药物之外)、实验疗法或放射疗法。

[0674] • 已知降低癫痫发作阈值的药物。

[0675] • 为了使CRS对CYP450酶活性的潜在影响 (其继而可影响CYP450底物的血液浓度) 最小化, 在研究药物的第一剂量施用期间, CYP450底物尤其是具有窄治疗指数的那些 (例如, 华法林) 的伴随施用应暂停48小时。应当监测参与者的来自所有CYP450底物的潜在毒性并且可根据需要调整伴随药物的剂量。

[0676] • 除了管理不良事件之外, 禁止施用>10天的超过每天10mg泼尼松或等同物的皮质类固醇慢性剂量。

[0677] • 其他免疫抑制剂, 除非用作方案指定的预防性药物或用于治疗不良事件 (例如, CRS)。

[0678] • 在研究药物施用当天不应进行常规输血。

[0679] • 草药产品。

[0680] 6.5.3. 输注前药物

[0681] 在每次研究药物输注之前, 本研究中的参与者必须接受如下表30中所示的前药。如果由于急性毒性而中断研究药物输注 ≥ 4 小时, 则应再次施用表30中的抗组胺剂和退热剂治疗。输注前药物可基于如由SET确定的新出现的安全性和其他数据而改变。

[0682] 表30. 在研究药物输注之前施用的药物

前药	剂量	施用	动作
皮质类固醇药物 ^a			
注: 对于第一治疗剂量和初免剂量 (如果施用初免), 施用下文所述的全 (16mg) 剂量地塞米松 (或等同物)。如果未观察到反应, 则对于第二治疗剂量施用一半 (即,			

[0683]

8mg) 皮质类固醇剂量。如果第二剂量后无反应, 则不需要进一步的皮质类固醇。如果发生 3 级 CRS, 则在下一次研究药物施用之前施用全 (16mg) 剂量的地塞米松 (或等同物)。如果未观察到反应, 则对于随后的研究药物施用而言施用一半 (即, 8mg) 皮质类固醇剂量。如果在 2 次连续研究药物施用后没有发生进一步的 CRS 事件, 则可省略皮质类固醇。			
糖皮质激素	地塞米松 (16mg)	IV-输注前约 30-60 分钟施用	需要 ^b - 参见上文
糖皮质激素	地塞米松 (8mg)	IV-输注前约 30-60 分钟施用	需要 ^b - 参见上文
其他药物			
[0684] 抗组胺剂	苯海拉明 (50mg) 或等同物	口服-研究药物前至少 1 小时 (±15 分钟) 施用 或者 IV-研究药物前约 15 至 30 分钟开始输注	需要
退热剂	对乙酰氨基酚 (650mg 至 1,000mg) 或等同物	口服或 IV-研究药物前约 15 至 30 分钟施用	需要
H ₂ 拮抗剂	雷尼替丁 (50mg) 或等同物	IV-研究药物前 30 (±15) 分钟开始输注	任选的
止吐药	昂丹司琼 (16mg) 或等同物	IV-研究药物前约 15 至 30 分钟开始输注	任选的

[0685] 缩写: CRS = 细胞因子释放综合征; IRR = 输注相关反应; IV = 静脉内。

[0686] a. 输注前药物仅在第一治疗剂量和初免剂量 (如果施用) 之前需要。

[0687] 6.5.4. 急救药物

[0688] CRS 的临床管理建议包括用托珠单抗治疗。因此, 该场所必须确保在施用研究药物之前在该场所可获得托珠单抗。研究场所将提供托珠单抗急救药物, 这些急救药物将源自本地并由申办方报销。必须记录急救药物施用的日期和时间以及急救药物的名称和剂量方案。

[0689] 6.5.5. 后续抗癌疗法

[0690] 在研究药物最后一次给药后施用的后续抗癌疗法 (包括开始和结束日期以及最佳响应, 如果可用) 应记录在 eCRF 中。

[0691] 6.6. 剂量修改

[0692] 任何剂量/剂量调整应由医学合格的研究中心人员 (主要或副研究者, 除非立即出现安全风险) 监督。剂量延迟和剂量减少是用于管理毒性的主要方法。可针对第 6.6.3 节中所述的特定毒性实施初免剂量计划表。如果毒性满足第 7.1 节中的治疗中止的标准, 则将中止治疗。

[0693] 6.6.1. 剂量延迟

[0694] 如果剂量延迟超过 72 小时, 则后续剂量将被延迟, 确保每周剂量之间的最小 5 天间隔和每周两次剂量之间的 3 天间隔。对于第 6.1.2 节中概述的事件, 应遵循表 31 中所示的剂量递增计划表, 与申办方协商。

[0695] • 在治疗期间发生DLT(表)的情况下,如临床指示,必须暂时暂停治疗并施用支持性疗法。对于治疗期间的其他3级临床显著毒性,如临床指示,应施用支持性疗法并可暂停治疗。

[0696] • 如果毒性在28天内消退至 \leq 1级或基线,则可与申办方协商重新开始治疗,除了满足中止原因的标准(参见第7节)外。

[0697] 6.6.2. 剂量减少

[0698] 如果确定为最受参与者关注,则可在与申办方医疗监查者协商后,以相同或较低的剂量重新开始研究药物,前提条件是不满足第7节中中止研究疗法的标准。表中所示的较低剂量水平表示先前评估的声称安全的剂量水平。

[0699] 表31. 剂量减少计划表

[0700]	剂量减少	剂量水平
	当前剂量	当前剂量
	第一剂量减少	低于1个剂量水平或更低 ^a
	第二剂量减少	低于2个剂量水平或更低 ^a

[0701] a如果认为临床上合适并且在申办方医疗监查者与研究者之间讨论后,可选择较低剂量。较低剂量水平是被评估并声称为安全的那些。

[0702] 6.6.3. 初免剂量期间的剂量修改

[0703] • 如果在初免剂量施用期间发生毒性:

[0704] • 在施用研究药物的下一个初免或治疗剂量之前必须满足第6.1.1节中的所有再治疗标准。

[0705] • 如果2级毒性在72小时内消退至基线或 \leq 1级,则参与者可以最后的初免剂量水平继续研究治疗。

[0706] • 如果在初免剂量期间或之后发生 \geq 3级CRS,但在72小时内消退至 \leq 1级,则将如表中所述减少剂量。在与申办方协商后可考虑剂量重新递增。

[0707] • 如果在初免剂量期间或之后发生4级CRS,则永久性中止研究治疗。

[0708] • 对于其他 \geq 3级毒性,在与申办方协商的情况下可允许再治疗。

[0709] 6.7. 研究结束后的研究药物

[0710] 申办方将确保继续受益于用研究药物治疗的参与者将能够在CSR的数据截止后继续治疗。还将指示参与者在他们完成/中止研究药物后他们将无法获得研究药物,并且他们应返回至他们的主治医师以确定护理标准。

[0711] 7. 研究药物的中止和参与者中止/退出

[0712] 7.1. 研究药物的中止

[0713] 如果参与者不得不中止研究药物,则他或她将不会自动退出研究。如果出现下列情况,必须中止参与者的研究药物:

[0714] • 参与者接受并发(非方案)抗癌治疗。

[0715] • 确认疾病进展,除非研究者判断在获得申办方医疗监查者的书面批准后继续使用研究药物治疗符合参与者的最佳利益。

[0716] • 阻止进一步施用研究药物的并发疾病

[0717] • 参与者拒绝用研究药物进一步治疗

- [0718] • 参与者怀孕
- [0719] • 不良事件在研究药物最后一次给药的4周内没有消退至 ≤ 1 级,使得研究药物被连续中断超过28天,除非申办方医疗监查者和研究者基于临床益处的证据另有同意。
- [0720] • 尽管2次剂量减少和最佳支持性护理但仍再发生3级或4级非血液毒性,除非申办方医疗监查者和研究者基于临床益处的证据另有同意。
- [0721] • 2次连续剂量的研究药物后再发生3级IRR
- [0722] • 4级IRR(第6.1.2.1节)。
- [0723] • CRS:
- [0724] o7天内未改善至 ≤ 1 级的2级或3级CRS
- [0725] o5天内未改善至 ≤ 2 级的3级CRS
- [0726] o两个独立的3级CRS事件(复发)
- [0727] o4级CRS
- [0728] • 复发3级或任何4级神经系统毒性(第6.1.2.4节)
- [0729] • 尽管2次剂量减少和最佳支持性护理但仍再发生4级血液毒性,除非申办方医疗监查者和研究者基于临床益处的证据另有同意
- [0730] • 治疗中止后,参与者应完成EOT访视(参见第1.3节)。治疗中止的主要原因将记录在eCRF中。出于毒性以外的原因而退出的参与者将根据申办方的判断进行替换(参见第4.1.1节)。
- [0731] 7.2.参与者中止/退出研究
- [0732] 参与者将由于以下原因中的任一种而退出研究:
- [0733] • 失访
- [0734] • 撤销同意
- [0735] • 申办方中止研究
- [0736] 当参与者在完成研究之前退出时,退出的原因应记录在eCRF和源文档中。分配给退出参与者的研究药物不得分配给另一个参与者。
- [0737] 如果参与者中止研究药物,则应获得EOT和治疗后随访评估。如果退出研究的原因是撤销同意,则不允许进行附加的评估。
- [0738] 7.2.1.撤销研究样本的使用
- [0739] 退出研究的参与者将具有关于研究样本的以下选项:
- [0740] • 收集的样本将根据参与者对研究样本的原始知情同意而保留和使用。
- [0741] • 参与者可撤销对研究样本的同意,在这种情况下样本将被销毁,并且将不进行进一步测试。为了启动样本销毁过程,研究者必须通知申办方研究中心联系人关于撤销对研究样本的同意,并请求进行样本销毁。申办方研究中心联系人将继而联系生物标记物代表以执行样本销毁。如果请求,研究者将从申办方收到样本已被销毁的书面确认。
- [0742] 在留在主要研究中时撤销研究样本
- [0743] 参与者可在留在研究中时撤销对研究样本的同意。在此类情况下,研究样本将被销毁。样本销毁过程将如上所述进行。
- [0744] 撤销样本在未来研究中的使用
- [0745] 参与者可撤销对研究样本使用的同意。在此类情况下,样本将在临床研究不再需

要后被销毁。用于研究的样本保留的详情在ICF中给出。

[0746] 7.3. 失访

[0747] 如果参与者失访,则研究中心人员必须作出一切合理的努力来联系该参与者并确定中止/退出的原因。必须记录采取后续措施。“参与者中止/退出研究”参考第7.2节。

[0748] 8. 研究评估和程序

[0749] 概述

[0750] 研究分为3个时期:筛选阶段、治疗阶段和治疗后随访阶段。“活动计划表”汇总了研究过程的频率和定时以及适用于本研究的评估。

[0751] 必须完成所有计划的评估,包括临床实验室测试,并且在每次临床访视时对结果进行审查。如果计划对相同时间点进行多次评估,则建议按以下顺序执行程序:ECG、生命体征、抽血。治疗决策将基于在该中心进行的安全性和疾病评估。如果临床指示,则可进行更频繁的研究访视,并且可更频繁地重复临床评估。

[0752] 用于药代动力学和药效学评估的血液收集应尽可能保持与指定时间接近。如果需要,可在比指定时间点更早的时间进行其他测量。评估的实际日期和时间将记录在源文档和eCRF或实验室申请表中。出于安全原因或样本的技术问题,可能会采取重复或非计划的样本(即药代动力学、药效学、生物标记物)。可根据研究者需要确定或当地法规要求执行附加的血清或尿液妊娠测试,以确定在参与者参与本研究期间的任何时间不存在妊娠。对于每名参与者,在筛选阶段将抽取约23mL的血液。在治疗阶段期间,大多数样本将在治疗的前8周期间收集。在此期间将抽取约450mL(每周计划表)至490mL(每周两次计划表)的血液。如果实施了初免计划表,则可能需要附加的25mL。样本将为或评估安全性、药代动力学和药效学参数。

[0753] 如果研究药物是外周输注的,则血液样本必须从与研究药物输注的手臂对侧的静脉或通过中心线抽取。如果研究药物通过中心线输注,则血液样本必须从任一臂中的静脉抽取。

[0754] 筛选阶段

[0755] 所有参与者必须在进行任何研究相关的过程之前签署ICF。筛选阶段在进行第一次筛选评估时并且在研究药物首次给药之前的30天内开始。在筛选期间,如果评估是作为参与者的常规临床评估的一部分进行的并且不是专门用于本研究,则在已获得签署的知情同意之后不需要重复该评估,前提条件是该评估满足研究要求并且在研究药物首次给药之前的指定时间范围内进行。如果在研究药物首次给药前6周(42天)内进行,则诸如放射学测试(例如,MRI和CT扫描)的测试结果对于筛选是可接受的。筛选时需要新鲜的肿瘤活检样本(来自转移性疾病的可触及部位)。然而,在研究药物首次给药6周(42天)内获得的样本是可接受的,前提条件是参与者在时间范围期间未接受主动抗癌疗法。这些样本将被送至由申办方指定的中心实验室(详情参见“实验室手册”)。

[0756] 治疗阶段

[0757] 治疗阶段在第1天以研究药物的施用开始,并持续到EOT访视完成为止。在治疗阶段期间,将从所选择的队列中收集活检样本。为了便于安全监测,参与者将如第4.1节中概述的那样住院。在研究药物输注期间,将以规则的间隔监测生命体征、体温和氧饱和度测量值。在每次研究中心访视时,将评估参与者的可能毒性。参与者可继续接收研究药物,直至

满足第7节中概述的任何治疗中止标准。对于因疾病进展而中止治疗的参与者,必须完成疾病进展表并在治疗中止之前将其送至申办方医疗监查者。在中止研究药物时,参与者将完成EOT访视。

[0758] 治疗结束

[0759] 所有参与者均需要EOT访视,包括出于任何原因中止研究药物的那些参与者,除了失访、死亡或撤销研究参与的同意之外。EOT访视将在研究药物最后一次给药后30(+7)天或在开始新的抗癌疗法之前((以先发生者为准))完成。如果参与者不能返回EOT访视的研究中心,或者如果EOT访视发生在研究药物最后一次给药后30天之前,则应联系参与者以收集不良事件和伴随药物,直至研究药物最后一次给药后30天或直至后续抗癌疗法开始。

[0760] 治疗后阶段(随访)

[0761] 治疗后随访阶段在EOT访视后开始,并将持续直至满足第7.2节中退出研究标准中的一项为止。如果研究药物在疾病进展发作之前中止,如由疾病特定响应标准所定义的,则应将按照当地护理标准进行的疾病评估结果记录在eCRF上。一旦确认疾病进展,就不需要后续疾病评估。

[0762] 在EOT访视后,将每12周一次获得生存状态以及后续抗癌疗法,直至研究结束,除非参与者死亡、失访或撤销同意。在研究药物最后一次给药后至多30天收集不良事件。研究者可重新联系参与者或指定代表,以获得如在知情同意表中指出的关于参与者的安全性或生存状态的长期随访信息。如果通过电话联系获得有关生存的信息,则必须在源文件中提供通信的书面文件以供审查。如果参与者死亡,将收集死亡的日期和原因并记录在eCRF上(如果可用或当可用时)。在当地法律允许的情况下,可使用公共记录来记录死亡以及获得生存状态。

[0763] 样本收集和处理

[0764] 样本收集的实际日期和时间必须记录在eCRF或实验室申请表中。关于样本的收集、处理、储存和运输的说明可见于将提供的“实验室手册”/研究中心试验用药品和程序手册(SIPPM)中。样本的收集、处理、储存和运输必须在“实验室手册”/SIPPM中指示的指定和在适用的情况下受控温度条件下进行。所有样本收集的定时和频率参考“活动计划表”。

[0765] 研究特定材料

[0766] 向研究者提供以下供应品:

[0767] • 研究方案

[0768] • 研究者手册

[0769] • 研究中心SIPPM

[0770] • 实验室手册

[0771] • IPPI和辅助供应品

[0772] • ECG手册

[0773] • ECG机

[0774] • 交互式网络响应系统手册

[0775] • 电子数据采集手册

[0776] • 样本ICF

[0777] 8.1. 功效评估

[0778] 疾病评估包括下文列出的评估。这些评估的频率定时在“活动计划表”（第1.3节）中提供。

[0779] 在基线处和整个研究过程中，应使用相同的方法（CT扫描或MRI或^{99m}Tc骨扫描）进行疾病评估，以表征每个识别和报告的病变以记录疾病状态。超声、氟¹⁸F-氟脱氧葡萄糖正电子发射断层扫描（PET）和普通X射线是评估疾病响应的不可接受的方法。成像不应由于研究药物施用的延迟而延迟。

[0780] 对治疗的响应将由研究者在研究中心评估，并且结果将记录在eCRF中。如果临床指示，则应考虑非计划评估，并将结果收集在eCRF中。如果申办方要求，则应保留图像直至研究完成，以有利于中心审查。

[0781] 功效评估包括如下：

[0782] 仅mCRPC癌症：PSA和全身骨扫描（^{99m}Tc）

[0783] • CT扫描

[0784] • MRI

[0785] 前列腺癌的治疗响应的评估将根据PCWG3标准进行（Sawicki LM等人，Eur J Nucl Med Mol Imaging.2017;44(1):102-107）。

[0786] 按照RECIST v1.1具有客观响应的参与者必须在4周后进行确认性扫描。如果参与者在研究药物治疗期间的任何时间被评估为具有部分响应（PR）或完全响应（CR），但在≥4周后未确认，则根据参与者的下一次立即评估，参与者的最佳响应将被归类为稳定疾病/进行性疾病/不可评估。在研究期间，将使用已知病变位置的CT或MRI扫描来评估疾病响应。

[0787] 如果在没有记录放射摄影进展的情况下发生症状性恶化，则用于作出该确定的临床发现必须在eCRF中被指定为“临床疾病进展”并记录在源文档中。应当作出各种努力以通过放射摄影确认来记录客观进展，甚至在中止治疗症状性恶化之后也是如此。临床活动将由研究者在eCRF中报告。

[0788] 在记录疾病进展后，参与者将进行EOT访视并进入研究治疗后随访阶段（第8节）。对于在疾病进展之前中止研究治疗的参与者，根据该研究中心处护理标准的功效评估在EOT访视之后将继续，直至记录到疾病进展、开始新的抗癌疗法、至多52周或研究结束，以先发生者为准；结果应记录在CRF中。

[0789] 8.1.1. 疾病响应和进行性疾病的评估

[0790] 8.1.1.1. 软组织病变评估（CT或MRI、体检）

[0791] 基线疾病负荷将使用颈部、胸部、腹部和骨盆加上适当时其他区域的CT扫描利用IV造影来评估。不耐受IV造影剂的参与者可用口服造影剂进行CT扫描，并且不使用IV造影剂的原因将记录在源文档中。研究期间的后续功效评估将包括在基线处记录的所有疾病部位的放射摄影成像。

[0792] 磁共振成像可用于评估使用CT不能充分成像的疾病部位（在需要MRI的任何情况下，它必须是在基线处和所有后续响应评估时用于评估疾病的成像技术）。对于所有其他的疾病部位，MRI评估不替换所需的颈部、胸部、腹部和骨盆CT扫描，除非CT扫描是禁忌的。只有在临床指示时才需要脑MRI。如果MRI是禁忌的，则可使用头部的CT扫描。

[0793] 对于具有可触知/浅表病变的参与者，应在基线处和整个研究药物治疗中通过体检进行临床疾病评估，如临床指示。照射或切除的病变将被认为是不可测量的，并且仅监测

疾病进展。

[0794] 8.1.1.2. 前列腺癌中的骨病变评估

[0795] 患有前列腺癌的参与者的骨疾病将根据PCWG3 (即, 评估响应的持续时间) 如下评估:

[0796] • 如RECIST v1.1中所定义的通过CT或MRI测量的软组织病变的进展。

[0797] • 通过骨扫描和基于PCWG3观察到的骨病变的进展。在这些标准下, 任何骨进展必须通过 ≥ 6 周后的后续扫描来确认。第8周扫描 (第一次治疗后扫描) 应用作参考扫描, 所有后续扫描与其比较以确定进展。骨扫描被定义为以下中的一种:

[0798] 1. 与基线扫描相比, 观察到第8周扫描具有 ≥ 2 个新骨病变的参与者将需要在 ≥ 6 周后进行确认性扫描, 并且将落入以下2类中的一类中:

[0799] a. 确认性扫描 (其在 ≥ 6 周后进行) 与第8周扫描相比显示 ≥ 2 个新病变 (即, 与基线扫描相比总共 ≥ 4 个新病变) 的参与者将被认为在第8周具有骨扫描进展。

[0800] b. 确认性扫描与第8周扫描相比未显示 ≥ 2 个新病变的参与者将不被认为在那时具有骨扫描进展。第8周扫描将被认为是后续扫描与之比较的参考扫描。

[0801] 2. 对于第8周扫描与基线扫描相比不具有 ≥ 2 个新骨病变的参与者, 如果这些新病变通过 ≥ 6 周后的后续扫描得到确认, 则显示与第8周扫描相比 ≥ 2 个新病变的第一扫描时间点将被认为是骨扫描进展时间点。

[0802] 8.1.1.3. 免疫应答评估或软组织病变

[0803] 研究者可根据免疫-RECIST v1.1 (iRECIST) 评估对治疗的响应 (Seymour L. 等人, Lancet Oncol. 2017; 18 (3), e143-e152)。

[0804] 8.1.2. 初始疾病进展后的治疗

[0805] 在根据RECIST v1.1或PCWG3前列腺标准存在进行性疾病, 但治疗医师强烈认为继续研究治疗符合参与者的最佳利益的情况下, 然后通过申办方医疗监查者的书面批准, 可允许参与者继续使用研究药物。在这种情况下, 在记录进行性疾病之后, 可按照护理标准进行局部疗法诸如放射。

[0806] 一旦满足RECIST v1.1所定义的疾病进展的特定标准或PCWG3前列腺标准, 如果临床上必要 (但不早于先前评估的4周), 应在下一个按照方案计划的评估时间点或更早进行重复功效评估以确认疾病进展。尽管有初始放射学进展, 但这种允许继续治疗考虑了观察到一些参与者可在免疫疗法开始后前几个月具有瞬时燃瘤反应, 但发展出后续疾病响应 (Zimmerman Z等人, Int Immunol., 2015; 27 (1): 31-37)。如果参与者为如由以下标准定义的临床稳定的, 则他们应根据治疗医师的判断继续研究治疗, 同时等待确认疾病进展:

[0807] • 不存在指示疾病进展的临床体征和症状

[0808] • 不需要立即治疗干预的临床疾病进展

[0809] • ECOG体能状态没有下降

[0810] • 关键解剖位点 (例如, 脊髓压迫) 处不存在需要紧急的替代医学干预的进行性肿瘤

[0811] 如果在评估后, 参与者被认为是临床不稳定的, 则他或她可在不重复成像以确认进行性疾病的情况下退出研究治疗。

[0812] 在继续研究治疗之前, 将要求参与者提供书面知情同意 (如按照当地法规或要

求)。“活动计划表”(参见第1.3节)中指出的所有程序将按照方案继续。

[0813] 8.2. 安全性评估

[0814] 安全性将由SET监测。关于研究评估小组的详情在第4.1.4节中提供。安全性将通过不良事件、临床实验室测试结果、ECG、生命体征测量、体检发现(包括基础神经系统检查)以及第1.3节中的时间点处的ECOG体能状态评分的评估来测量。如果临床指示,则可更频繁地进行安全监测,并且研究者应根据标准实践来评估不良事件。

[0815] 不良事件

[0816] 不良事件将由研究者报告并跟进。不良事件将根据NCI CTCAE 5.0版进行分级。研究期间发生的任何临床相关变化必须记录在eCRF的“不良事件”章节中。研究者将跟进在研究结束时持续的任何临床显著毒性,直至消退或达到临床稳定条件。

[0817] 研究将包括根据“活动计划表”中提供的时间点对安全性和耐受性进行的以下评估。

[0818] 8.2.1. 体检

[0819] 一般体检

[0820] 筛查体检至少包括参与者的身高、体重、一般外观、皮肤、耳、鼻、喉、肺、心脏、腹部、肢体、肌肉骨骼系统、淋巴系统和神经系统的检查。此后,将在后续时间点进行针对症状和针对疾病的体检。异常将记录在eCRF的适当章节中。还将测量体重。临床上显著的基线后异常应被记录为不良事件。

[0821] 神经系统检查

[0822] 研究中心人员将进行基础神经系统检查。将在筛选和治疗阶段用体检进行评估,以评估参与者的中枢神经系统相关毒性。任何与基线相比的临床显著变化将被记录为不良事件。

[0823] ECOG体能状态

[0824] ECOG体能状态量表将用于对参与者日常生活活动的变化进行分级。

[0825] 8.2.2. 生命体征

[0826] 将评估体温、脉搏/心率、呼吸率、血压和氧饱和度。将使用全自动化装置评估血压和脉搏/心率测量值。只有当自动化装置不可用时,才将使用手动技术。应在安静的环境中不受干扰(例如,电视、手机)地休息至少5分钟后才进行血压和脉搏/心率测量。

[0827] 8.2.3. 心电图

[0828] 一式三份的12导联ECG将由合格的研究中心人员使用由申办方提供的自动计算心率并测量脉搏率以及RR、QRS、QT和QTc间隔的ECG机来进行。应以约5分钟(±3分钟)的间隔尽可能接近地连续获得3个单独的ECG描记线。在ECG的收集期间,参与者应处于安静的环境中,不受干扰(例如,电视、手机)。参与者应在ECG收集之前以仰卧体位休息至少5分钟,并且应在进行ECG前至少10分钟避免说话或移动手臂或腿。重要的是应注意,对于筛选和研究中的ECG两者,实际测试时间对于每个时间点应是一致的,以使所获得的结果的可变性最小化。

[0829] 应在临床上适当地进行附加的心血管评估以确保参与者安全性。临床研究者将审查结果,包括ECG形态,以用于立即管理。筛选时注意到的异常应包括在病史中。ECG数据将被提交给中央实验室并且由心脏病专家审查以用于间隔测量和总体解释。

[0830] 8.2.4. 超声心动图或多门控采集扫描

[0831] 将在筛选时进行超声心动图 (ECHO) 或多门控采集 (MUGA) 扫描 (如果ECHO不可用) 以建立基线心脏状态。如果临床指示, 则将进行进一步的评估。

[0832] 8.2.5. 临床安全性实验室评估

[0833] 将收集临床实验室样本。研究者必须审查实验室报告, 记录该审查, 并将研究期间发生的任何临床相关变化记录在eCRF的不良事件章节中。实验室报告必须与源文档一起提交。必须在研究中心招募任何参与者之前将研究中心实验室设施的实验室证书或认证和正常范围提交给申办方。如果参与者在与研究场所相关联的实验室设施之外的实验室设施处进行实验室评估, 则研究者也必须向申办方提交该设施的实验室证书或认证以及正常范围。实验室报告必须与源文档一起提交。

[0834] 8.3. 不良事件和严重不良事件

[0835] 来自临床研究的安全性信息的及时、准确和完整的报告和分析对于保护参与者、研究者和申办方是至关重要的, 并且由全球监管机构强制执行。申办方已确立符合全球监管要求的标准操作程序 (Standard Operating Procedures), 以确保安全性信息的适当报告; 申办方或其附属机构进行的所有临床研究将根据那些程序进行。

[0836] 将由参与者 (或者, 在适当的情况下, 由护理者、替代者或参与者的法律上可接受的代表) 从获得签名和注明日期的知情同意的时间开始到研究药物最后一次给药后至多30天或者如果更早的话直至后续抗癌疗法开始报告不良时间 (参见第8.3.1节, 报告不良事件的时间段)。预期事件将不被记录和报告, 因为这是一项FIH研究, 其中所有严重的不良事件对于理解产品的安全性都是重要的。

[0837] 8.3.1. 用于收集不良事件和严重不良事件信息的时间段和频率

[0838] 所有不良事件

[0839] 所有不良事件和特殊报告情况, 无论是严重还是不严重, 都将从获得签名和注明日期的ICF的时间开始到研究药物最后一次给药后至多30天, 或者如果更早的话直至后续抗癌疗法开始进行报告, 并且可包括用于安全性随访的联系。研究者将跟进不良事件, 并根据NCI CTCAE 5.0版进行分级。具有3级或更高级的毒性或导致研究药物中止的未消退不良事件的参与者将继续被评估, 直至恢复至1级或基线、该事件被认为不可逆、研究结束或最长6个月, 以先发生者为准。

[0840] 必须使用严重不良事件表报告严重不良事件, 包括在研究药物最后一次给药后30天内自发向研究者报告的那些不良事件。申办方将评估研究者自发报告的超出方案中指定的时间框架的任何安全性信息。

[0841] 严重不良事件

[0842] 研究期间发生的所有严重不良事件必须由研究中心人员在了解事件后24小时内报告给适当的申办方联系人。关于严重不良事件的信息将使用“严重不良事件表”传输到申办方, 该“严重不良事件表”必须由医师在研究中心完成和签署, 并且在24小时内传输到申办方。严重不良事件的初始和随访报告应通过传真 (fax) 进行。

[0843] 8.3.2. 不良事件和严重不良事件的随访

[0844] 研究者将跟进不良事件, 包括妊娠。

[0845] 8.3.3. 严重不良事件的监管报告要求

[0846] 申办方承担了向监管机构适当报告不良事件的责任。申办方还将向研究者(以及研究机构的领导者,如果需要的话)报告所有疑似出乎意料的严重不良反应(SUSAR)。除非独立伦理委员会/机构审查委员会(IEC/IRB)另有要求和记录,否则研究者(或申办方,如果需要的话)必须将SUSAR报告给批准该方案的适当IEC/IRB。

[0847] 8.3.4. 妊娠

[0848] 所有女性参与者或男性参与者的伴侣妊娠的初始报告必须由研究中心人员使用适当的妊娠通知表在他们了解该事件后24小时内报告给申办方。异常妊娠结果(例如,自然流产、胎儿死亡、死胎、先天性异常、异位妊娠)被认为是严重不良事件,并且必须使用“严重不良事件表”进行报告。任何在研究期间妊娠的参与者都必须中止使用研究药物进行治疗。将需要关于妊娠结果和婴儿任何产后后遗症的随访信息。

[0849] 8.3.5. 特别感兴趣的不良事件

[0850] 任何等级的细胞因子释放综合征将作为申办方的标准安全监测活动的一部分被跟进。无论严重程度如何(即,严重和不严重不良事件),这些事件都将在意识到该事件的24小时内报告给申办方,并且将需要增强的数据收集。必须跟进CRS事件(任何等级),直至恢复或直至没有进一步改善。

[0851] 8.4. 过量治疗

[0852] 由于这是研究药物在人体中的首次经验,MTD是未知的;因此,不能定义过量。在剂量误差>预期剂量的25%的情况下,研究者或治疗医师应:

[0853] • 立即联系申办方医疗监查者。

[0854] • 密切监测参与者AE/SAE和实验室异常情况,直至不再能全身检测到研究药物(至少5天)。

[0855] • 尽快获得用于药代动力学分析的血清样本,并且从研究药物最后一次给药的日期起,依次重复连续5天。

[0856] • 在eCRF中记录处方剂量。

[0857] • 在eCRF中记录施用的实际剂量。

[0858] 8.5. 药代动力学和免疫原性

[0859] 8.5.1. 评估

[0860] 将收集静脉血液样本以用于测量研究药物和抗研究药物抗体的血清浓度。将每份血清样本分成3个等分试样(各1份用于药代动力学、抗研究药物抗体和备份)。收集用于分析研究药物血清浓度和针对研究药物的抗体的样本可另外用于评估解决在研究期间或之后出现的问题的安全性或功效方面,用于进一步表征免疫原性或用于评估相关生物标记物(例如,可溶性PSMA的可能存在)。不对这些血清样本进行遗传分析。将保持参与者的机密性。关于生物样本的收集、处理和运输的附加信息可见于“实验室手册”中。

[0861] 8.5.2. 分析程序

[0862] 药代动力学

[0863] 由申办方或在申办方的监督下使用验证过的、特异性的和灵敏的免疫测定法来分析血清样本以确定研究药物的浓度。

[0864] 免疫原性

[0865] 将由申办方或在申办方的监督下使用经验证的测定方法来进行抗研究药物抗体

的检测和表征。收集用于检测抗研究药物抗体的所有样本也将针对研究药物血清浓度进行评估,以使得能够解释抗体数据。

[0866] 8.5.3. 药代动力学参数和评估

[0867] 在研究期间收集血液样本,用于在表19中概述的时间点处测量研究药物的药代动力学。在研究药物中止后,还将在治疗结束访视时收集样本。

[0868] 必须记录在实验室申请表上收集的所有样本的血液取样的确切日期和时间。样本收集要求参考“实验室手册”。收集的样本必须在“实验室手册”中指示的温度的特定受控条件下储存。

[0869] 如果需要,收集的样本可另外用于评估解决在研究期期间或之后出现的问题的安全性或功效方面,或解决关于稍后可能出现的药物特性的问题。将保持参与者的机密性。关于生物样本的收集、处理和运输的附加信息可见于“实验室手册”中。

[0870] 药代动力学参数

[0871] 将估计个体的药代动力学参数,并且将计算每个剂量水平的描述性统计。还可探索 C_{max} 和AUC与剂量的相关性。药代动力学参数可包括但不限于 C_{max} 、 T_{max} 、 $AUC_{(t1-t2)}$ 、 AUC_{tau} 、 C_{min} 和累积比(RA);如果有足够的数据可用于估计,则将计算参数。此外,基于探索性群体药代动力学的方法也可应用于药代动力学分析。

[0872] 8.5.4. 免疫原性评估(抗研究药物抗体)

[0873] 将根据表19在第1部分和第2部分两者期间从所有参与者收集的的血清样本中评估抗研究药物抗体。另外,还将在最终访视时从中止研究药物或退出研究的参与者中收集血清样本。

[0874] 血清样本将用于评估抗研究药物抗体的免疫原性。收集用于免疫原性分析的样本可另外用于评估解决在研究期期间或之后出现的问题的安全性或功效方面。

[0875] 8.6. 药效学

[0876] 在研究药物治疗之前和治疗后分析来自外周血的细胞因子产生。分析将监测可通知免疫细胞活化的细胞因子的水平,该细胞因子可包括但不限于IL-1 β 、IL-2、IL-6、IL-8、IL-10、IFN- γ 和TNF- α 。

[0877] 为了确定用研究药物治疗是否通过PSMA阳性肿瘤细胞的重定向T细胞介导的杀伤和细胞毒性T细胞的活化增加而导致抗肿瘤活性增加,可通过诸如流式细胞术或飞行时间细胞术(CyTOF)的方法分析全血样本和转移性组织样本以评估肿瘤和免疫细胞群。将收集来自转移性疾病可触及部位的新鲜组织肿瘤活检并测试肿瘤中的PSMA表达和药效学标记物。

[0878] 可使用流式细胞术分析全血样本以评估外周免疫细胞群。将收集静脉血液样本用于通过流式细胞术对T细胞上的CD3受体占用率(RO)进行探索性评估。关于肿瘤组织样本要求、制备和运输的更多详情参考“实验室手册”。药效学样本收集时间参见第1.3节。

[0879] 8.7. 遗传学

[0880] 在本研究中将不评估药物基因组学或药物遗传学。

[0881] 8.8. 生物标记物

[0882] 本研究中的生物标记物评估将集中于以下目标:1)评估指示肿瘤和血液中的T细胞响应的免疫应答作为研究药物的潜在贡献;2)评估响应于研究药物施用的细胞因子产

生;以及3)评估预测对治疗的响应的其他标记物,包括PSMA表达。

[0883] 与正常人前列腺相比,PSMA在某些肿瘤上经常以高水平表达。先前研究显示PSMA表达在患有mCRPC的患者中的可变表达。此外,前列腺的神经内分泌肿瘤显示对PSMA靶向疗法具有抗性。因此,将通过IHC从肿瘤评估PSMA和神经内分泌标记物的表达。可评估肿瘤中PSMA和神经内分泌标记物的治疗前和治疗后表达以评估治疗效果。将从所选择的队列收集肿瘤样本。

[0884] 基线肿瘤免疫状态可预测响应,因此,将从基线肿瘤和治疗后评估T细胞活化、衰竭和影响T细胞响应的其他免疫细胞。将在治疗之前和之后评估肿瘤和外周血中的免疫细胞应答。将从在输注之前和之后收集的血清样本中评估由于T细胞活化而释放的细胞因子。此外,将收集和储存PBMC。潜在的未来用途可包括鉴定对研究药物有不同响应的免疫表型亚群。

[0885] 在第2部分期间,除了上述生物标记物之外,还将收集循环肿瘤DNA和CTC并用于探索T细胞克隆性的变化、鉴定预测响应/抗性的标记物以及评估外周血和肿瘤内的免疫特征。

[0886] 将在肿瘤组织样本、全血和血清中评估生物标记物。生物标记物样本可用于帮助解决新出现的问题,并且使得能够开发更安全、更有效和最终个体化的疗法。这些样本将仅在当地法规和运输物流允许的研究中心收集,并且分析将在中心实验室进行。

[0887] 为了理解用研究药物治疗前和治疗后的肿瘤微环境变化,将对转移性肿瘤来源的RNA样本进行下一代RNA测序。基因和基因组将与治疗结果相关。

[0888] 停止分析

[0889] 生物标记物分析取决于适当生物标记物测定的可用性和临床响应率。如果在研究期间或结束时,分析将不具有用于生物标记物评估的足够的科学价值,或者如果不存在足够的样本或响应者以允许进行足够的生物标记物评估,则生物标记物分析可被推迟或不进行。在研究早期终止或显示不良的临床功效的情况下,生物标记物评估的完成基于数据的合理性和预期效用。

[0890] 附加收集

[0891] 如果在研究完成前的任何时间确定需要来自福尔马林固定的石蜡包埋肿瘤样本的附加材料以成功完成方案指定的分析,则申办方可请求从现有样本中检索附加材料。另外,基于新出现的科学证据,申办方可在研究完成期间或之后从先前收集的肿瘤样本请求附加的材料以用于回顾性分析。在这种情况下,此类分析对于与研究药物或被研究疾病相关的研究是特定的。

[0892] 8.9. 卫生经济学或医疗资源利用与卫生经济学

[0893] 不适用。

[0894] 9. 统计学考虑

[0895] 将不进行正式的假设检验。将使用描述性统计来汇总数据。连续变量将根据需要使用观察值的数量、平均值、标准偏差、变异系数、中值和范围来汇总。分类值将根据需要使用观察值的数量和百分比来汇总。

[0896] 9.1. 统计假设

[0897] 不适用。剂量递增将由下文所述的统计模型指导。

[0898] 9.1.1. 支持剂量递增的统计模型

[0899] 通过利用EWOC原则的双参数BLRM得出的DLT概率将是有助于剂量递增和RP2D建议的主要指南,其等于或低于估计的MTD。

[0900] DLT的发生率,例如DLT在DLT评估期期间是否发生(第4.1.3节),是剂量递增的主要变量。这些来自DLT可评估分析组的有资格的参与者的累积DLT数据将用于对研究药物的剂量与DLT之间的关系进行建模。双参数BLRM将用于计算剂量d处DLT的概率。

$$[0901] \text{logit}(\pi(d)) = \log(\alpha) + \beta \cdot \log(d/d^*), \alpha > 0, \beta > 0$$

[0902] 其中, $\pi(d)$ 为当研究药物作为单一药剂以剂量=d给药时DLT的概率,d为DLT评估期期间的计划剂量,并且 $\text{logit}(\pi(d)) = \log[\pi(d) / \{1 - \pi(d)\}]$,并且 d^* 为参考剂量。

[0903] 通过BLRM得出的DLT概率

[0904] 每个剂量水平的真实DLT率的概率将汇总如下:

[0905] [0%, 20%) 剂量不足区间

[0906] [20%, 33%) 目标毒性区间

[0907] [33%, 100%] 过度毒性区间

[0908] 如上所述,当剂量队列中的所有参与者完成DLT评估期时,将通过BLRM计算DLT的概率。将使用在研究药物的所有剂量水平下的DLT概率来推荐下一个剂量队列的最高剂量水平。最高剂量将需要满足EWOC原则,即估计DLT率在过度毒性区间内的概率小于25%,并且估计DLT率在目标毒性区间内的概率最高。此外,下一个队列的剂量选择和MTD或RP2D的决策将遵循第4.1.1节中所述的规则。

[0909] 9.2. 样本量确定

[0910] 在剂量递增期间,将在加速滴定阶段以一定剂量水平招募1名或更多参与者,在标准滴定阶段以一定剂量水平招募3名或更多参与者,其中至少有6名参与者以安全且可耐受的RP2D招募。招募的参与者总数将取决于DLT的频率以及何时确定RP2D。最大样本量为约70名参与者。

[0911] 由于第2部分旨在评估研究药物在RP2D处的安全性和初步临床活性,因此选择约20(mCRPC)的样本量以提供具有合理精度的点估计。表描述了针对感兴趣事件类型(例如,客观响应或特别感兴趣的不良事件)在所选择的频率下的点估计及其90%精确置信区间(双侧)。

[0912] 表32. 点估计和90%精确置信区间

	具有事件的参与者数量	观察到的事件概率	90%精确 CI (双侧)
	0	0%	(NA, 14%)
	2	10%	(2%, 28%)
[0913]	4	20%	(7%, 40%)
	6	30%	(14%, 51%)
	8	40%	(22%, 61%)
	10	50%	(30%, 70%)
	12	60%	(39%, 78%)

[0914] 具体地,如果感兴趣事件的真实概率为15%或更高,则观察不到经历该事件的参与者的概率小于5%。

[0915] 9.3. 用于分析的群体

[0916] 本研究的分析群体如下定义：

[0917] • 所有治疗分析组：该组由接受至少1个剂量的研究药物的参与者组成。该分析组将被认为是主要的，并且将用于所有安全性和功效汇总。

[0918] • DLT可评估分析组：该组是“所有治疗分析”组的子组。在第4.1.3节中定义的DLT观察期期间接受至少75%计划剂量的研究药物的参与者将包括在该分析中。

[0919] • 生物标记物分析组：该组由接受至少1个剂量的研究药物并具有至少1次治疗前或治疗后生物标记物测量值的所有参与者组成。

[0920] • 药代动力学分析组：该组由接受至少1个剂量的研究药物并具有研究药物的至少1个可评估浓度测量值的所有参与者组成。

[0921] 9.4. 统计分析

[0922] 9.4.1. 功效分析

[0923] 终点定义

[0924] 总体响应率 (ORR) 被定义为根据疾病特定响应标准具有PR或更好的参与者的比例。研究者将评估对治疗的响应。

[0925] 响应持续时间 (DOR) 将从初始记录响应 (PR或更好) 的日期到如在疾病特定响应标准中定义的首次记录进行性疾病证据的日期或由任何原因导致的死亡 (以先发生者为准) 来计算。对于对疾病治疗有响应 (CR或PR) 的未进展且存活的参与者，数据将在开始任何后续抗癌疗法之前在最后的疾病评估时进行删失。

[0926] 响应时间 (TTR) 被定义为从研究药物首次给药的日期到首次记录响应的日期的时间。

[0927] 分析方法

[0928] 总体响应率将与其两侧90%精确置信区间一起制成表格。此外，每个响应类别中的参与者的数量和百分比将制成表格。对于响应时间，将使用描述性统计来汇总结果，包括具有响应的参与者的平均值、中值、标准偏差和范围。对于DOR，将使用Kaplan-Meier方法进行描述性汇总。

[0929] 9.4.2. 安全性分析

[0930] 所有安全性分析将对来自“所有治疗分析组”的数据进行。安全性评估的基线值被定义为在最接近首次研究药物施用开始但在其之前的时间收集的值。待评估的安全性参数是不良事件的发生率、严重程度和类型，参与者体检发现的临床显著变化，生命体征测量，临床实验室和其他临床测试结果 (例如，ECG)。暴露于研究药物和中止研究药物的原因将制成表格。不良事件将通过系统器官类别、优选术语、参与者经历的最差等级和剂量水平来汇总。

[0931] 不良事件

[0932] 研究者在eCRF中用于鉴定不良事件的逐字术语将是用监管活动医学词典 (MedDRA) 编码的。研究药物突发性不良事件是在研究药物阶段期间发作的不良事件，或是自基线以来恶化的预先存在的病症的结果。将在分析中包括所有报告的不良事件。对于每个不良事件，经历给定事件的至少1次发生的参与者的百分比将按剂量水平/剂量队列进行汇总。

[0933] 对于死亡、因不良事件而中止研究药物或经历重度或严重不良事件的参与者，可

酌情提供汇总、列表、数据集或参与者叙述。DLT的列表将使用DLT可评估分析组。将列出DLT,并且发生率由主要系统器官类别、优选术语、不良事件的最差等级和类型以及剂量水平汇总。

[0934] 临床实验室测试

[0935] 实验室数据将按实验室测试的类型进行汇总。在实验室数据的汇总中将使用参考范围。在基线处计算每种实验室分析物的描述性统计,并且计算在每个计划时间点处观察到的值和自基线的变化。治疗期间最差的毒性等级将根据NCI CTCAE 5.0版给出。参与者在研究期间经历的从基线到最差毒性等级的变化将作为变动表提供。将提供任何实验室结果在参考范围之外的参与者列表。

[0936] 心电图 (ECG)

[0937] 将借助于描述性统计和频率列表来评估研究药物对QTc的影响。将探索药代动力学/药效学模型以理解和表征暴露-响应关系。

[0938] 生命体征

[0939] 将在每个计划时间点对体温、脉搏/心率和血压(收缩压和舒张压)值以及自基线的变化的描述性统计进行汇总。将汇总值超过临床重要限值的参与者的百分比。

[0940] 9.4.3. 其他分析

[0941] 药代动力学分析

[0942] 将对来自“药代动力学分析组”的数据进行药代动力学分析。所有低于最低可定量浓度的血清浓度或缺失数据将在浓度数据库中如此标记。在汇总统计中,低于可定量浓度下限的浓度将被视为零。如果参与者的数据不允许充分评估参数,则将其从药代动力学参数分析中排除。从分析中排除的所有参与者和样本将清楚地记录在CSR中。

[0943] 将列出每剂量水平具有可用血清浓度的所有参与者的数据。如果参与者的数据不允许准确评估药代动力学(例如,研究药物的施用不完全;给药和取样时间的信息遗失;浓度数据不足以用于药代动力学参数计算),则参与者将被排除在药物动力学分析之外。

[0944] 描述性统计将用于按研究药物的药代动力学参数的剂量队列汇总在每个取样时间点处的研究药物血清浓度。将绘制平均血清研究药物浓度时间曲线,并且还可绘制个体血清浓度时间曲线。

[0945] 如果可获得适当的数据,则可使用非线性混合效应建模来进行研究药物的血清浓度-时间数据的群体药代动力学分析。详情将在单独的群体药代动力学分析计划中给出,并且群体药代动力学分析的结果将在单独的报告中呈现。

[0946] 生物标记物分析

[0947] 生物标记物分析将通过临床协变量或分子亚组使用适当的统计学方法(例如,参数或非参数、单变量或多变量、方差分析或生存分析,具体取决于终点)进行分层。基线表达水平或表达水平的变化与对事件时间终点的响应的相关性将鉴定除了在用研究药物治疗后减弱的基因和途径之外的响应性(或抗性)亚组。

[0948] 将列出任何药动学量度、制成表格,并且在适当的情况下绘图。参与者可按队列、剂量计划表或临床响应分组。由于这是一项没有对照组的开放标签研究,因此将进行统计学分析以有助于理解结果。

[0949] 生物标记物分析的结果可在单独的报告中呈现。计划的分析基于临床上有效的测

定的可用性,并且如果新出现的研究数据显示不存在提供有用的科学信息的可能性,则可推迟。

[0950] 受体占用率分析

[0951] 描述性统计将用于汇总研究药物CD3 R0结果。将探索研究药物的血清浓度与R0之间的关系以及R0与下游药效学作用之间的关系。任何此类分析的结果可在单独的报告中呈现。

[0952] 免疫原性分析

[0953] 将汇总所有接受至少1个剂量的研究药物并具有用于检测研究药物的抗体的适当样本的参与者(即,在研究药物首次给药后获得至少1个样本的参与者)的抗研究药物抗体的发生率。将提供对研究药物的抗体呈阳性的参与者列表。对于对研究药物的抗体呈阳性的参与者,将汇总抗体对研究药物的最大滴度。可进行其他免疫原性分析以进一步表征所产生的免疫应答。

[0954] 药效学分析

[0955] 在截止日期之后由合同供应商或申办方接收的药效学样本将不被分析,因此将其排除在药效学分析之外。将探索所选标记物的基线水平与自基线的变化和临床响应之间的关联。该分析的结果将在单独的报告中呈现。

[0956] 药代动力学/药效学分析

[0957] 将探索药代动力学/药效学模型以理解和表征关键功效、安全性和药效学/生物标记物终点的暴露-响应关系。详情将在单独的分析计划中提供,并且分析结果可汇总在单独的报告中。

序列表

<110> JANSSEN BIOTECH, INC
 MCDEVITT, THERESA
 SHETTY, SHOBA
 XIE, HONG

<120> 用抗 PSMA/CD3 抗体治疗前列腺癌的方法

<130> JBI6080WOPCT1

<140>

<141>

<150> 62/836, 270

<151> 2019-04-19

<160> 28

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 750

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 1

[0001]

```

Met Trp Asn Leu Leu His Glu Thr Asp Ser Ala Val Ala Thr Ala Arg
1           5           10           15
Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala Leu Val Leu Ala Gly Gly Phe
                20           25           30
Phe Leu Leu Gly Phe Leu Phe Gly Trp Phe Ile Lys Ser Ser Asn Glu
                35           40           45
Ala Thr Asn Ile Thr Pro Lys His Asn Met Lys Ala Phe Leu Asp Glu
                50           55           60
Leu Lys Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu Tyr Asn Phe Thr Gln Ile
65           70           75           80
Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe Gln Leu Ala Lys Gln Ile
                85           90           95
Gln Ser Gln Trp Lys Glu Phe Gly Leu Asp Ser Val Glu Leu Ala His
                100           105           110
Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Lys Thr His Pro Asn Tyr Ile
                115           120           125
Ser Ile Ile Asn Glu Asp Gly Asn Glu Ile Phe Asn Thr Ser Leu Phe
                130           135           140
Glu Pro Pro Pro Pro Gly Tyr Glu Asn Val Ser Asp Ile Val Pro Pro
145           150           155           160
Phe Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly Met Pro Glu Gly Asp Leu Val Tyr
                165           170           175
Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe Lys Leu Glu Arg Asp Met
                180           185           190
Lys Ile Asn Cys Ser Gly Lys Ile Val Ile Ala Arg Tyr Gly Lys Val

```

	195		200		205
	Phe Arg Gly Asn Lys Val	Lys Asn Ala Gln Leu Ala Gly Ala Lys Gly			
	210		215		220
	Val Ile Leu Tyr Ser Asp	Pro Ala Asp Tyr Phe Ala Pro Gly Val Lys			
	225		230		235
	Ser Tyr Pro Asp Gly Trp	Asn Leu Pro Gly Gly Gly Val Gln Arg Gly			
		245		250	255
	Asn Ile Leu Asn Leu Asn	Gly Ala Gly Asp Pro Leu Thr Pro Gly Tyr			
		260		265	270
	Pro Ala Asn Glu Tyr Ala	Tyr Arg Arg Gly Ile Ala Glu Ala Val Gly			
		275		280	285
	Leu Pro Ser Ile Pro Val	His Pro Ile Gly Tyr Tyr Asp Ala Gln Lys			
		290		295	300
	Leu Leu Glu Lys Met Gly	Gly Ser Ala Pro Pro Asp Ser Ser Trp Arg			
		305		310	315
	Gly Ser Leu Lys Val Pro	Tyr Asn Val Gly Pro Gly Phe Thr Gly Asn			
		325		330	335
	Phe Ser Thr Gln Lys Val	Lys Met His Ile His Ser Thr Asn Glu Val			
		340		345	350
	Thr Arg Ile Tyr Asn Val	Ile Gly Thr Leu Arg Gly Ala Val Glu Pro			
		355		360	365
[0002]	Asp Arg Tyr Val Ile Leu	Gly Gly His Arg Asp Ser Trp Val Phe Gly			
		370		375	380
	Gly Ile Asp Pro Gln Ser	Gly Ala Ala Val Val His Glu Ile Val Arg			
		385		390	395
	Ser Phe Gly Thr Leu Lys	Lys Glu Gly Trp Arg Pro Arg Arg Thr Ile			
		405		410	415
	Leu Phe Ala Ser Trp Asp	Ala Glu Glu Phe Gly Leu Leu Gly Ser Thr			
		420		425	430
	Glu Trp Ala Glu Glu Asn	Ser Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly Val Ala			
		435		440	445
	Tyr Ile Asn Ala Asp Ser	Ser Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu Arg Val			
		450		455	460
	Asp Cys Thr Pro Leu Met	Tyr Ser Leu Val His Asn Leu Thr Lys Glu			
		465		470	475
	Leu Lys Ser Pro Asp Glu	Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Glu Ser			
		485		490	495
	Trp Thr Lys Lys Ser Pro	Ser Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg Ile			
		500		505	510
	Ser Lys Leu Gly Ser Gly	Asn Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln Arg Leu			
		515		520	525
	Gly Ile Ala Ser Gly Arg	Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Glu Thr Asn			
		530		535	540
	Lys Phe Ser Gly Tyr Pro	Leu Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr Tyr Glu			

545	550	555	560
Leu Val Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Met Phe Lys Tyr His Leu Thr Val			
	565	570	575
Ala Gln Val Arg Gly Gly Met Val Phe Glu Leu Ala Asn Ser Ile Val			
	580	585	590
Leu Pro Phe Asp Cys Arg Asp Tyr Ala Val Val Leu Arg Lys Tyr Ala			
	595	600	605
Asp Lys Ile Tyr Ser Ile Ser Met Lys His Pro Gln Glu Met Lys Thr			
	610	615	620
Tyr Ser Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser Ala Val Lys Asn Phe Thr			
625	630	635	640
Glu Ile Ala Ser Lys Phe Ser Glu Arg Leu Gln Asp Phe Asp Lys Ser			
	645	650	655
Asn Pro Ile Val Leu Arg Met Met Asn Asp Gln Leu Met Phe Leu Glu			
	660	665	670
Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr Arg			
	675	680	685
His Val Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly Glu Ser			
	690	695	700
Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Leu Phe Asp Ile Glu Ser Lys Val Asp			
705	710	715	720
Pro Ser Lys Ala Trp Gly Glu Val Lys Arg Gln Ile Tyr Val Ala Ala			
	725	730	735
Phe Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu Ser Glu Val Ala			
	740	745	750
<210> 2			
<211> 750			
<212> PRT			
<213> 黑猩猩(Pan troglodytes)			
<400> 2			
Met Trp Asn Leu Leu His Glu Thr Asp Ser Ala Val Ala Thr Ala Arg			
1	5	10	15
Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala Leu Val Leu Ala Gly Gly Phe			
	20	25	30
Phe Leu Leu Gly Phe Leu Phe Gly Trp Phe Ile Lys Ser Ser Asn Glu			
	35	40	45
Ala Thr Asn Ile Thr Pro Lys His Asn Met Lys Ala Phe Leu Asp Glu			
	50	55	60
Leu Lys Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu Tyr Asn Phe Thr Gln Ile			
65	70	75	80
Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe Gln Leu Ala Lys Gln Ile			
	85	90	95
Gln Ser Gln Trp Lys Glu Phe Gly Leu Asp Ser Val Glu Leu Ala His			
	100	105	110

[0003]

	Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Lys Thr His Pro Asn Tyr Ile		
	115	120	125
	Ser Ile Ile Asn Glu Asp Gly Asn Glu Ile Phe Asn Thr Ser Leu Phe		
	130	135	140
	Glu Pro Pro Pro Pro Gly Tyr Glu Asn Val Leu Asp Ile Val Pro Pro		
	145	150	155 160
	Phe Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly Met Pro Glu Gly Asp Leu Val Tyr		
	165	170	175
	Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe Lys Leu Glu Arg Asp Met		
	180	185	190
	Lys Ile Asn Cys Ser Gly Lys Ile Val Ile Ala Arg Tyr Gly Lys Val		
	195	200	205
	Phe Arg Gly Asn Lys Val Lys Asn Ala Gln Leu Ala Gly Ala Lys Gly		
	210	215	220
	Val Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Ala Asp Tyr Phe Ala Pro Gly Val Lys		
	225	230	235 240
	Ser Tyr Pro Asp Gly Trp Asn Leu Pro Gly Gly Gly Val Gln Arg Gly		
	245	250	255
	Asn Ile Leu Asn Leu Asn Gly Ala Gly Asp Pro Leu Thr Pro Gly Tyr		
	260	265	270
	Pro Ala Asn Glu Tyr Ala Tyr Arg His Gly Ile Ala Glu Ala Val Gly		
	275	280	285
[0004]	Leu Pro Ser Ile Pro Val His Pro Ile Gly Tyr Tyr Asp Ala Gln Lys		
	290	295	300
	Leu Leu Glu Lys Met Gly Gly Ser Ala Pro Pro Asp Ser Ser Trp Arg		
	305	310	315 320
	Gly Ser Leu Lys Val Pro Tyr Asn Val Gly Pro Gly Phe Thr Gly Asn		
	325	330	335
	Phe Ser Thr Gln Lys Val Lys Met His Ile His Ser Thr Asn Glu Val		
	340	345	350
	Thr Arg Ile Tyr Asn Val Ile Gly Thr Leu Arg Gly Ala Val Glu Pro		
	355	360	365
	Asp Arg Tyr Val Ile Leu Gly Gly His Arg Asp Ser Trp Val Phe Gly		
	370	375	380
	Gly Ile Asp Pro Gln Ser Gly Ala Ala Val Val His Glu Ile Val Arg		
	385	390	395 400
	Ser Phe Gly Thr Leu Lys Lys Glu Gly Trp Arg Pro Arg Arg Thr Ile		
	405	410	415
	Leu Phe Ala Ser Trp Asp Ala Glu Glu Phe Gly Leu Leu Gly Ser Thr		
	420	425	430
	Glu Trp Ala Glu Glu Asn Ser Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly Val Ala		
	435	440	445
	Tyr Ile Asn Ala Asp Ser Ser Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu Arg Val		
	450	455	460

Asp Cys Thr Pro Leu Met Tyr Ser Leu Val Tyr Asn Leu Thr Lys Glu
 465 470 475 480
 Leu Lys Ser Pro Asp Glu Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Glu Ser
 485 490 495
 Trp Thr Lys Lys Ser Pro Ser Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg Ile
 500 505 510
 Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln Arg Leu
 515 520 525
 Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Glu Thr Asn
 530 535 540
 Lys Phe Ser Gly Tyr Pro Leu Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr Tyr Glu
 545 550 555 560
 Leu Val Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Met Phe Lys Tyr His Leu Thr Val
 565 570 575
 Ala Gln Val Arg Gly Gly Met Val Phe Glu Leu Ala Asn Ser Ile Val
 580 585 590
 Leu Pro Phe Asp Cys Arg Asp Tyr Ala Val Val Leu Arg Lys Tyr Ala
 595 600 605
 Asp Lys Ile Tyr Asn Ile Ser Met Lys His Pro Gln Glu Met Lys Thr
 610 615 620
 Tyr Ser Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser Ala Val Lys Asn Phe Thr
 625 630 635 640
 [0005] Glu Ile Ala Ser Lys Phe Thr Glu Arg Leu Gln Asp Phe Asp Lys Ser
 645 650 655
 Asn Pro Ile Leu Leu Arg Met Met Asn Asp Gln Leu Met Phe Leu Glu
 660 665 670
 Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr Arg
 675 680 685
 His Val Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly Glu Ser
 690 695 700
 Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Leu Phe Asp Ile Glu Ser Lys Val Asp
 705 710 715 720
 Pro Ser Lys Ala Trp Gly Asp Val Lys Arg Gln Ile Ser Val Ala Ala
 725 730 735
 Phe Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu Ser Glu Val Ala
 740 745 750
 <210> 3
 <211> 750
 <212> PRT
 <213> 食蟹猕猴(Macaca fascicularis)
 <400> 3
 Met Trp Asn Leu Leu His Glu Thr Asp Ser Ala Val Ala Thr Ala Arg
 1 5 10 15
 Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala Leu Val Leu Ala Gly Gly Phe

	20		25		30											
	Phe	Leu	Leu	Gly	Phe	Leu	Phe	Gly	Trp	Phe	Ile	Lys	Ser	Ser	Ser	Glu
		35						40					45			
	Ala	Thr	Asn	Ile	Thr	Pro	Lys	His	Asn	Met	Lys	Ala	Phe	Leu	Asp	Glu
		50					55					60				
	Leu	Lys	Ala	Glu	Asn	Ile	Lys	Lys	Phe	Leu	His	Asn	Phe	Thr	Gln	Ile
	65					70					75				80	
	Pro	His	Leu	Ala	Gly	Thr	Glu	Gln	Asn	Phe	Gln	Leu	Ala	Lys	Gln	Ile
					85					90					95	
	Gln	Ser	Gln	Trp	Lys	Glu	Phe	Gly	Leu	Asp	Ser	Val	Glu	Leu	Thr	His
					100					105					110	
	Tyr	Asp	Val	Leu	Leu	Ser	Tyr	Pro	Asn	Lys	Thr	His	Pro	Asn	Tyr	Ile
		115						120							125	
	Ser	Ile	Ile	Asn	Glu	Asp	Gly	Asn	Glu	Ile	Phe	Asn	Thr	Ser	Leu	Phe
		130					135						140			
	Glu	Pro	Pro	Pro	Ala	Gly	Tyr	Glu	Asn	Val	Ser	Asp	Ile	Val	Pro	Pro
	145					150						155				160
	Phe	Ser	Ala	Phe	Ser	Pro	Gln	Gly	Met	Pro	Glu	Gly	Asp	Leu	Val	Tyr
					165							170				175
	Val	Asn	Tyr	Ala	Arg	Thr	Glu	Asp	Phe	Phe	Lys	Leu	Glu	Arg	Asp	Met
					180							185				190
[0006]	Lys	Ile	Asn	Cys	Ser	Gly	Lys	Ile	Val	Ile	Ala	Arg	Tyr	Gly	Lys	Val
		195						200						205		
	Phe	Arg	Gly	Asn	Lys	Val	Lys	Asn	Ala	Gln	Leu	Ala	Gly	Ala	Thr	Gly
		210						215						220		
	Val	Ile	Leu	Tyr	Ser	Asp	Pro	Asp	Asp	Tyr	Phe	Ala	Pro	Gly	Val	Lys
	225					230						235				240
	Ser	Tyr	Pro	Asp	Gly	Trp	Asn	Leu	Pro	Gly	Gly	Gly	Val	Gln	Arg	Gly
					245						250					255
	Asn	Ile	Leu	Asn	Leu	Asn	Gly	Ala	Gly	Asp	Pro	Leu	Thr	Pro	Gly	Tyr
					260					265					270	
	Pro	Ala	Asn	Glu	Tyr	Ala	Tyr	Arg	Arg	Gly	Met	Ala	Glu	Ala	Val	Gly
		275						280							285	
	Leu	Pro	Ser	Ile	Pro	Val	His	Pro	Ile	Gly	Tyr	Tyr	Asp	Ala	Gln	Lys
		290						295						300		
	Leu	Leu	Glu	Lys	Met	Gly	Gly	Ser	Ala	Ser	Pro	Asp	Ser	Ser	Trp	Arg
	305					310						315				320
	Gly	Ser	Leu	Lys	Val	Pro	Tyr	Asn	Val	Gly	Pro	Gly	Phe	Thr	Gly	Asn
					325							330				335
	Phe	Ser	Thr	Gln	Lys	Val	Lys	Met	His	Ile	His	Ser	Thr	Ser	Glu	Val
					340										350	
	Thr	Arg	Ile	Tyr	Asn	Val	Ile	Gly	Thr	Leu	Arg	Gly	Ala	Val	Glu	Pro
		355						360							365	
	Asp	Arg	Tyr	Val	Ile	Leu	Gly	Gly	His	Arg	Asp	Ser	Trp	Val	Phe	Gly

370	375	380	
Gly Ile Asp Pro Gln Ser	Gly Ala Ala Val Val His Glu Ile Val Arg		
385	390	395	400
Ser Phe Gly Met Leu Lys Lys	Glu Gly Trp Arg Pro Arg Arg Thr Ile		
405	410	415	
Leu Phe Ala Ser Trp Asp Ala	Glu Glu Phe Gly Leu Leu Gly Ser Thr		
420	425	430	
Glu Trp Ala Glu Glu Asn Ser	Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly Val Ala		
435	440	445	
Tyr Ile Asn Ala Asp Ser Ser	Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu Arg Val		
450	455	460	
Asp Cys Thr Pro Leu Met Tyr	Ser Leu Val Tyr Asn Leu Thr Lys Glu		
465	470	475	480
Leu Glu Ser Pro Asp Glu Gly	Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Glu Ser		
485	490	495	
Trp Thr Lys Lys Ser Pro Ser	Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg Ile		
500	505	510	
Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn	Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln Arg Leu		
515	520	525	
Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala	Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Glu Thr Asn		
530	535	540	
Lys Phe Ser Ser Tyr Pro Leu	Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr Tyr Glu		
545	550	555	560
Leu Val Glu Lys Phe Tyr Asp	Pro Met Phe Lys Tyr His Leu Thr Val		
565	570	575	
Ala Gln Val Arg Gly Gly Met	Val Phe Glu Leu Ala Asn Ser Val Val		
580	585	590	
Leu Pro Phe Asp Cys Arg Asp	Tyr Ala Val Val Leu Arg Lys Tyr Ala		
595	600	605	
Asp Lys Ile Tyr Asn Ile Ser	Met Lys His Pro Gln Glu Met Lys Thr		
610	615	620	
Tyr Ser Val Ser Phe Asp Ser	Leu Phe Ser Ala Val Lys Asn Phe Thr		
625	630	635	640
Glu Ile Ala Ser Lys Phe Ser	Glu Arg Leu Arg Asp Phe Asp Lys Ser		
645	650	655	
Asn Pro Ile Leu Leu Arg Met	Met Asn Asp Gln Leu Met Phe Leu Glu		
660	665	670	
Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu	Gly Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr Arg		
675	680	685	
His Val Ile Tyr Ala Pro Ser	Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly Glu Ser		
690	695	700	
Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala	Leu Phe Asp Ile Glu Ser Lys Val Asp		
705	710	715	720
Pro Ser Gln Ala Trp Gly Glu	Val Lys Arg Gln Ile Ser Ile Ala Thr		

[0007]

725 730 735
Phe Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu Ser Glu Val Ala
740 745 750

<210> 4
<211> 207
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 4

Met Gln Ser Gly Thr His Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys Leu Leu Ser
1 5 10 15
Val Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr
20 25 30
Gln Thr Pro Tyr Lys Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr
35 40 45
Cys Pro Gln Tyr Pro Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys
50 55 60
Asn Ile Gly Gly Asp Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp
65 70 75 80
His Leu Ser Leu Lys Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr
85 90 95
Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu
100 105 110
Tyr Leu Arg Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Val Met
115 120 125
Ser Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp Ile Cys Ile Thr Gly Gly Leu
130 135 140
Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys
145 150 155 160
Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn
165 170 175
Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg
180 185 190
Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile
195 200 205

<210> 5
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 人工序列的描述: 合成多肽
<400> 5

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Lys Ser Asp

20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Glu Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Tyr Val Gly Asp Tyr Phe Asp
 100 105 110
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 6

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 6

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 [0009] Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 7

<211> 451

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 7

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Lys Ser Asp

		20				25				30					
Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
	35					40				45					
Ser	Glu	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55				60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70				75					80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85						90					95	
Ala	Arg	Asp	Ser	Tyr	Asp	Ser	Ser	Leu	Tyr	Val	Gly	Asp	Tyr	Phe	Asp
	100							105				110			
Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys
	115					120				125					
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu
130						135				140					
Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
145				150						155				160	
Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr
				165						170				175	
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val
			180							185				190	
Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn
	195						200					205			
Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser
210						215				220					
Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly
225					230					235				240	
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
				245					250					255	
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln
	260								265					270	
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
	275					280						285			
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr
	290					295						300			
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
305				310						315				320	
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile
				325						330				335	
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
	340								345					350	
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
	355					360								365	
Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu

370	375	380																			
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro						
385					390					395					400						
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val						
				405					410					415							
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met						
			420					425				430									
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser						
			435				440					445									
Leu	Gly	Lys																			
450																					
<210>	8																				
<211>	214																				
<212>	PRT																				
<213>	人工序列																				
<220>																					
<223>	人工序列的描述: 合成多肽																				
<400>	8																				
Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly						
1			5					10						15							
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Tyr						
			20					25					30								
[0011]	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile					
			35				40					45									
Tyr	Asp	Ala	Ser	Asn	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly						
	50					55						60									
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Pro						
65					70					75				80							
Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Arg	Ser	Asn	Trp	Pro	Leu						
				85						90				95							
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala						
			100					105					110								
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly						
			115					120					125								
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala						
						135							140								
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln						
145						150						155			160						
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser						
				165									170		175						
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr						
				180										185		190					
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser						
				195				200						205							

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 9

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 9

Ser Asp Ala Met His

1 5

<210> 10

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 10

Glu Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

[0012]

<210> 11

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 11

Asp Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Tyr Val Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 12

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 12

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 13

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽
 <400> 13
 Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
 1 5
 <210> 14
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽
 <400> 14
 Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr
 1 5
 <210> 15
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 <400> 15
 [0013] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 <210> 16
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列的描述: 合成多肽
 <400> 16

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 17

<211> 452

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 17

[0014]

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 115 120 125
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
 130 135 140
 Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 145 150 155 160
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 165 170 175
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser

			180					185				190				
	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys
			195					200				205				
	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu
			210					215				220				
	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala
	225						230				235				240	
	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu
					245					250					255	
	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser
				260					265					270		
	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu
			275					280					285			
	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr
			290					295				300				
	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn
	305					310					315				320	
	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser
					325					330					335	
	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln
				340					345					350		
[0015]	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val
				355				360					365			
	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val
	370						375					380				
	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro
	385					390					395				400	
	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Leu	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr
				405						410					415	
	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val
				420					425					430		
	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu
			435				440						445			
	Ser	Leu	Gly	Lys												
			450													
	<210>		18													
	<211>		215													
	<212>		PRT													
	<213>		人工序列													
	<220>															
	<223>		人工序列的描述: 合成多肽													
	<400>		18													
	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly
	1				5					10					15	

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
 100 105 110
 Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
 115 120 125
 Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
 145 150 155 160
 Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
 165 170 175
 Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
 180 185 190
 Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
 195 200 205
 Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210 215
 <210> 19
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽
 <400> 19
 Thr Tyr Ala Met Asn
 1 5
 <210> 20
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽
 <400> 20
 Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala Ser
 1 5 10 15

Val

<210> 21

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 21

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 22

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 22

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn

1 5 10

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 23

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro

1 5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 24

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val

1 5

<210> 25

<211> 1410

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

[0017]

	<400> 25	
	atggcttggg tgtggacctt gctattcctg atggcagctg cccaaagtat acaggccgag	60
	gttcagctgc tggaatctgg cggaggattg gttcagcctg gcggtctctt gagactgtct	120
	tgtgccgctt ctggcttcac cttcaagtcc gacgctatgc actgggtccg acaggcccct	180
	ggaaaaggac tggaatgggt gtccgagatc tctggctctg gcggtctacac caactacgcc	240
	gactccatga agtcccgggt caccatctct cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg	300
	cagatgaact ccctgagagc cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agactcctac	360
	gactccagcc tgtactggg cgactacttc gattattggg gccagggcac cctggtcacc	420
	gtttcttctg cttccaccaa gggcccatcc gtcttcccc tggcgcctg ctccaggagc	480
	acctccgaga gcacagccgc cctgggctgc ctggteaagg actacttccc cgaaccgggtg	540
	acggtgtcgt ggaactcagg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta	600
	cagtctcag gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag cagcttgggc	660
	acgaaaacct acacctgcaa cgtagatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga	720
	gttgagtcca aatatggtec cccatgccca ccatgccag cacctgagge cgccggggga	780
	ccatcagtct tcctgttccc cccaaaacce aaggacactc tcatgatctc ccggaccctt	840
	gaggtcacgt gcgtgggtgt ggacgtgagc caggaagacc ccgaggtcca gttcaactgg	900
	tactgtgatg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgccgggagga gcagttcaac	960
	agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtctgcacc aggactggct gaacggcaag	1020
	gagtacaagt gcaaggcttc caacaaaggc ctcccgtcct ccatcgagaa aaccatctcc	1080
	aaagccaaag ggcagcccc agagccacag gtgtacacce tgccccate ccaggaggag	1140
	atgaccaaga accaggctcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctacce cagcgacatc	1200
[0018]	gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg	1260
	ctggactccg acggtcctt cttcctctac agcaggctaa ccgtggacaa gagcaggtgg	1320
	caggagggga atgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca	1380
	cagaagagcc tctccctgtc tctgggtaaa	1410
	<210> 26	
	<211> 699	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
	<400> 26	
	atggcctggg tgtggacctt gctgttctg atggccgccg cccagagcat ccaggccgag	60
	atcgtgctga cccagagccc cgccaccctg agcctgagcc ccggcgagcg ggccaccctg	120
	agctgccggg ccagccagag cgtgagcagc tacctggcct ggtaccagca gaagcccggc	180
	caggcccccc ggctgtgat ctacgacgcc agcaaccggg ccaccggcat cccgcccgg	240
	ttcagcggca gcggcagcgg caccgacttc accctgacca tcagcagcct ggagcccag	300
	gacttcgccg tgtactactc ccagcagcgg agcaactggc ccctgacctt cggccagggc	360
	accaaggtgg agatcaagcg tacggtggct gcaccatctg tcttcatctt cccgccatct	420
	gatgagcagt tgaatcttgg aactgcctct gttgtgtgcc tgctgaataa cttctatccc	480
	agagaggcca aagtacagtg gaaggtggat aacgccctcc aatcgggtaa ctcccaggag	540
	agtgctcacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgtg	600
	agcaaagcag actacgagaa acacaaagtc tacgcttgcg aagtcacca tcagggcctg	660
	agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgt	699

<210> 27	
<211> 1356	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
<400> 27	
gaagtgcagc tgggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg	60
agctgtgccg ccagcggcctt caccttcaac acctacgcca tgaactgggt gcgccaggcc	120
cctggcaaag gcctggaatg ggtggccccg atcagaagca agtacaacaa ttacgccacc	180
tactacgccg cctccgtgaa gggcagattc accatcagcc gggacgacag caagaacagc	240
ctgtacctgc agatgaactc cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcgccaga	300
cacggcaact tcggcaacag ctatgtgtct tggtttgctt actggggcca gggcacctc	360
gtgaccgtgt catctgcttc caccaagggc ccacccgtct tccccctggc gccctgctcc	420
aggagcacct ccgagagcac agccgccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa	480
ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgc ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccggt	540
gtcctacagt cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc	600
ttgggcacga aaacctacac ctgcaacgta gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac	660
aagagagttg agtccaaata tggccccca tgcccacat gccagcacc tgaggccgcc	720
gggggacct cagtcttctt gtcccccca aaacccaagg aactctcat gatctcccgg	780
accctgagg tcacgtcgt ggtggtggac gtgaccagg aagacccga ggtccagttc	840
aactggtacg tggatggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag	900
ttcaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctaccgtcc tgcaccagga ctggctgaac	960
ggcaaggagt acaagtcaa ggtctccaac aaaggcctcc cgtctccat cgagaaaacc	1020
atctccaaag ccaaagggca gccccgagag ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccag	1080
gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctaccaccagc	1140
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct	1200
cccgtgctgg actccgacgg ctcttctctc ctctacagca agctaaccgt ggacaagagc	1260
aggtggcagg aggggaaatgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggtctt gcacaaccac	1320
tacacacaga agagcctctc cctgtctctg ggtaaa	1356
<210> 28	
<211> 645	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
<400> 28	
cagaccgtcg tgaccagga acctagcctg accgtgtctc ctggcggcac cgtgacctg	60
acctgcagat cttctacagg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcagcag	120
aagccaggcc aggctcccag aggactgac ggcggcacca acaagagagc ccctggcacc	180
cctgccagat tcagcggatc tctgctggga gaaaggccg ccctgacact gtctggcgtg	240
cagcctgaag atgaggccga gtactactgc gcctgtggt acagcaacct gtgggtgttc	300
ggcggaggca ccaagctgac agtctgggt cagcccaagg ctgcaccag tgtcactctg	360
ttcccgcct cctctgagga gcttcaagcc acaaggcca cactggtgtg tctcataagt	420

[0019]

	gacttctacc cgggagccgt gacagtggcc tggaaggccg atagcagccc cgtcaaggcg	480
[0020]	ggagtggaga ccaccacacc ctccaaacaa agcaacaaca agtacgcggc cagcagctat	540
	ctgagcctga cgctgagca gtggaagtcc cacagaagct acagctgcca ggtcacgcat	600
	gaagggagca ccgtggagaa gacagtggcc cctacagaat gttca	645

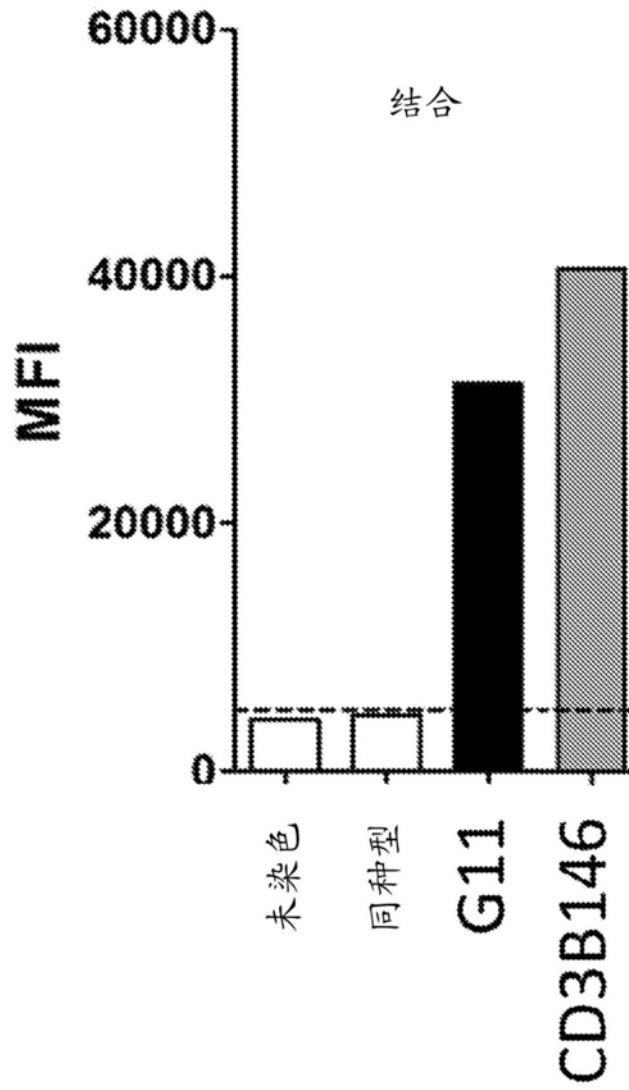


图1

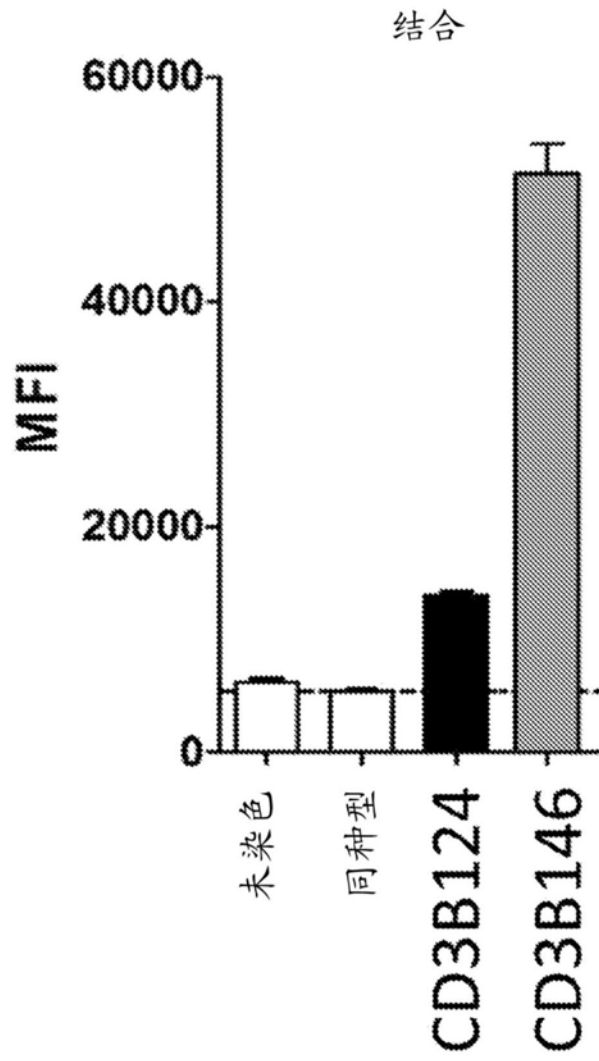


图2

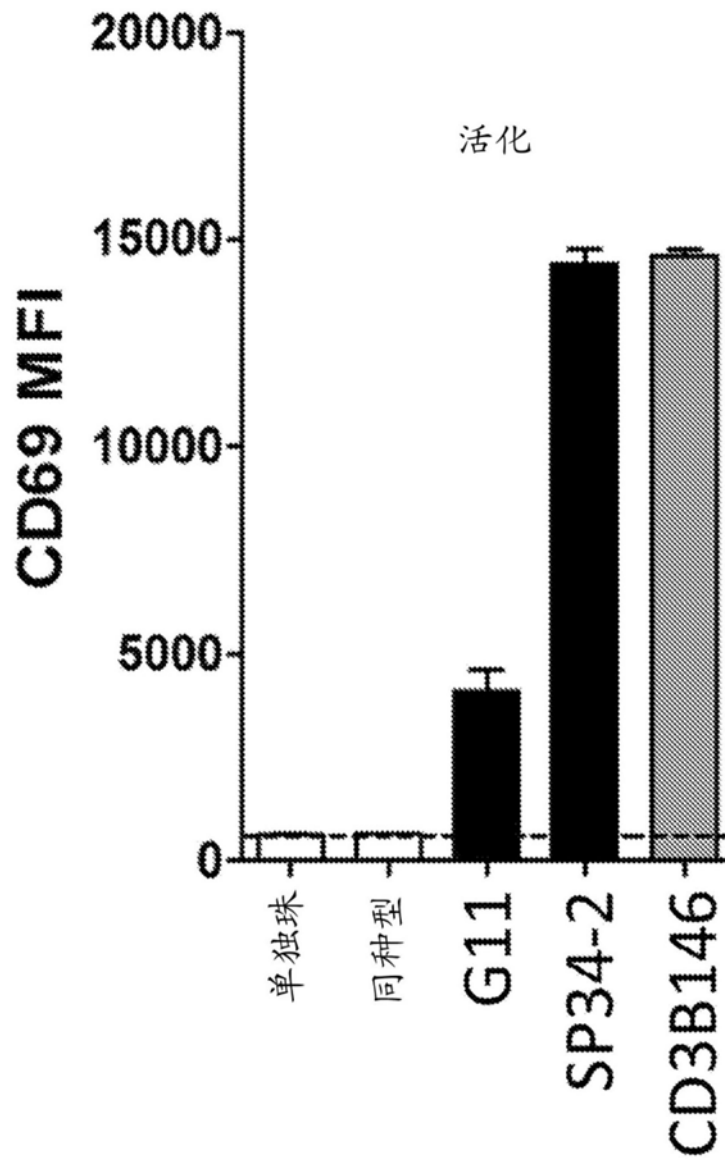


图3

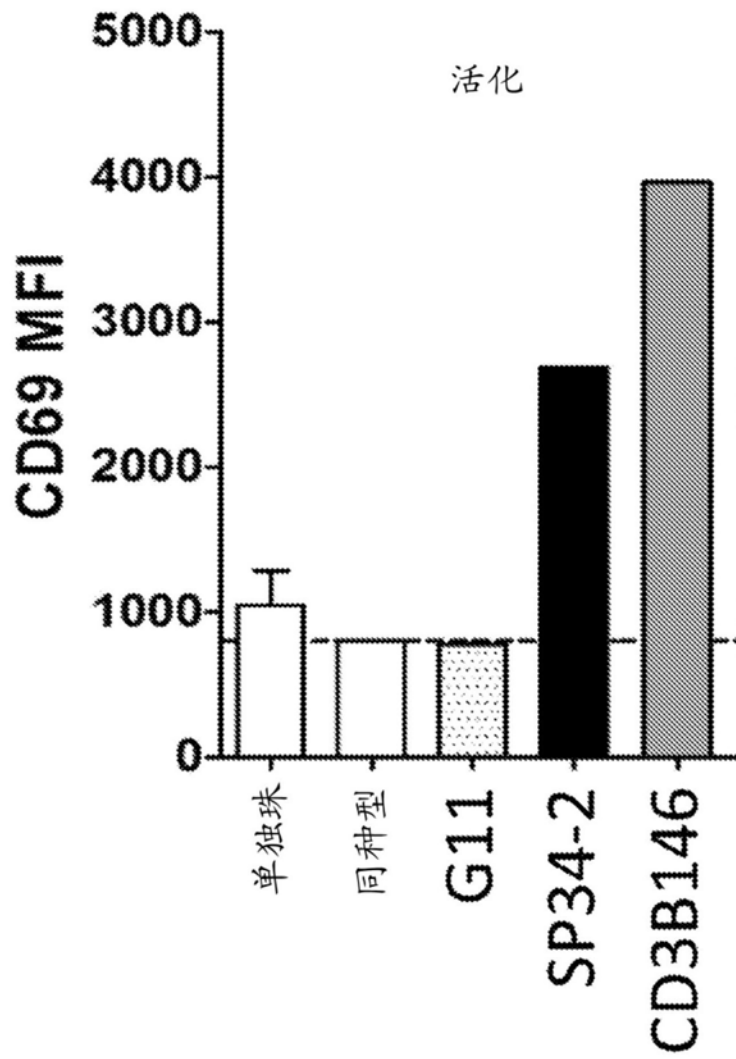


图4

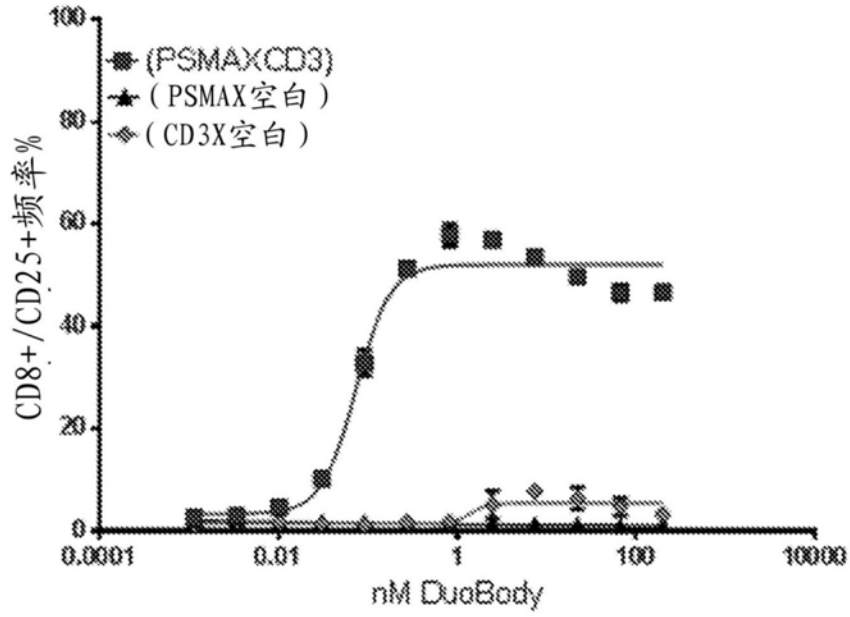


图5

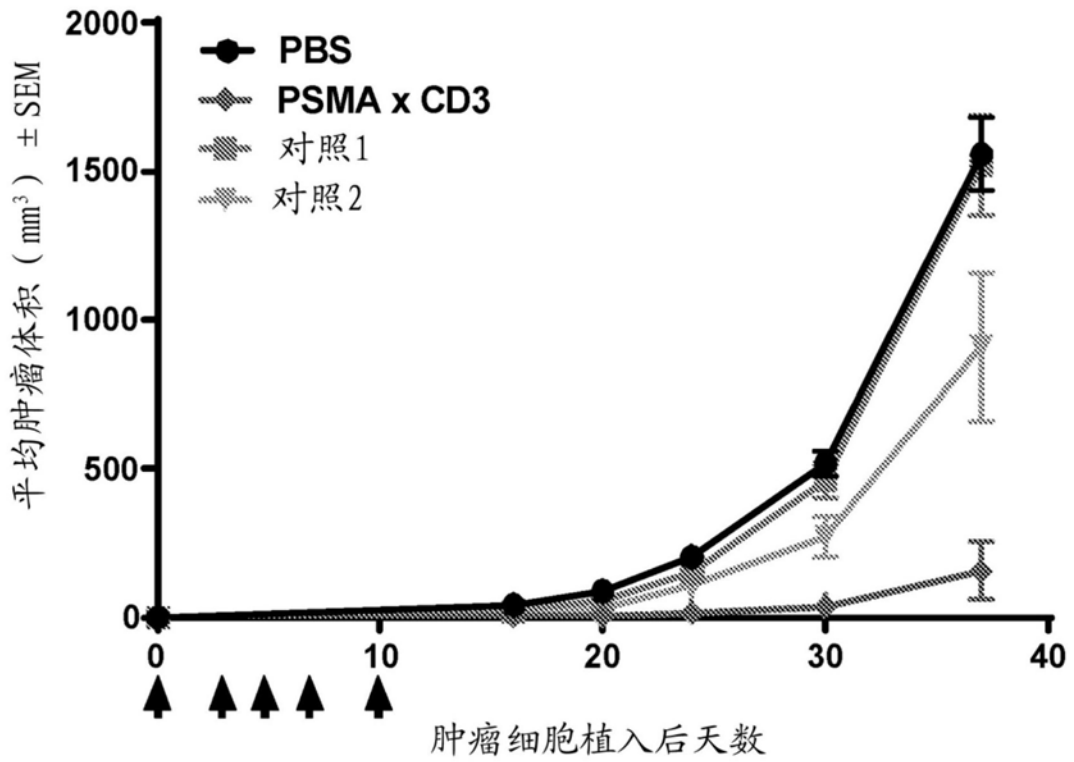


图6

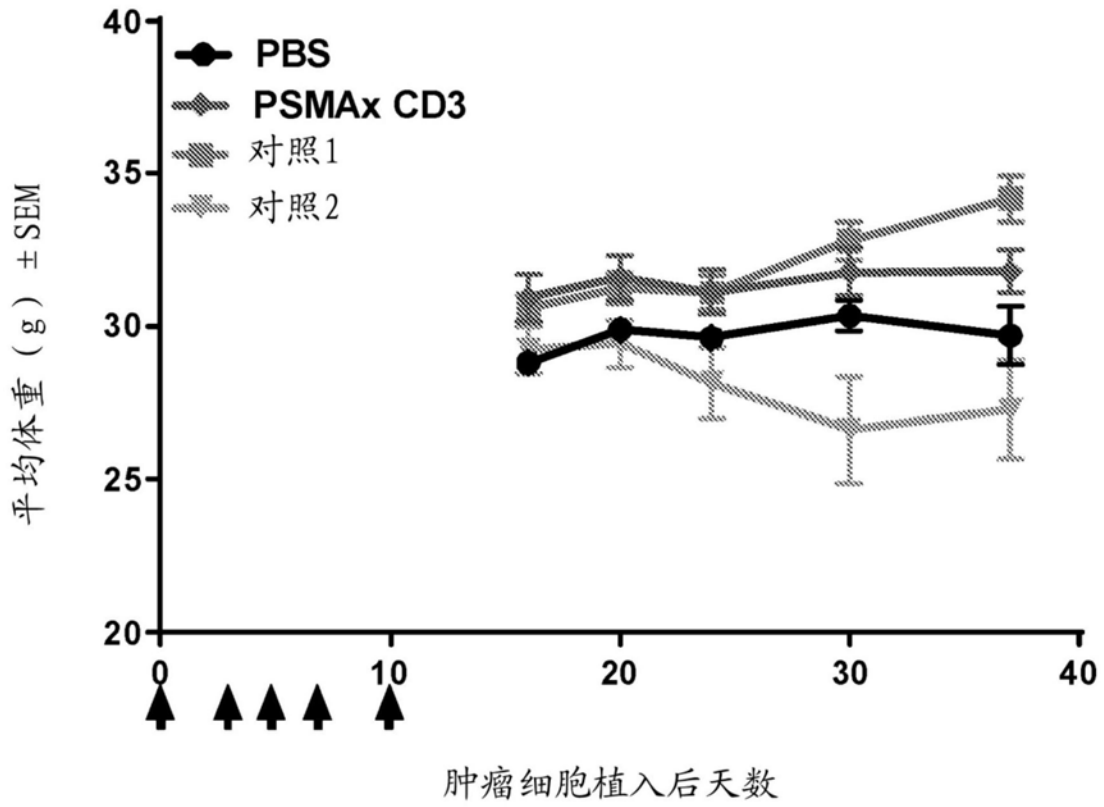


图7

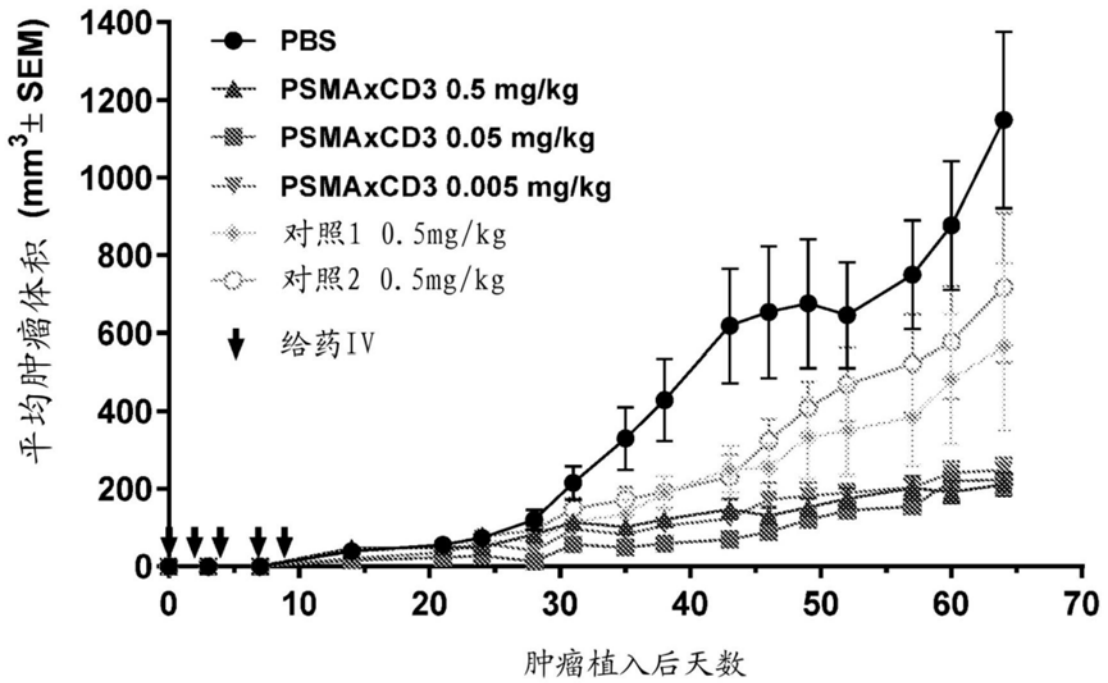


图8

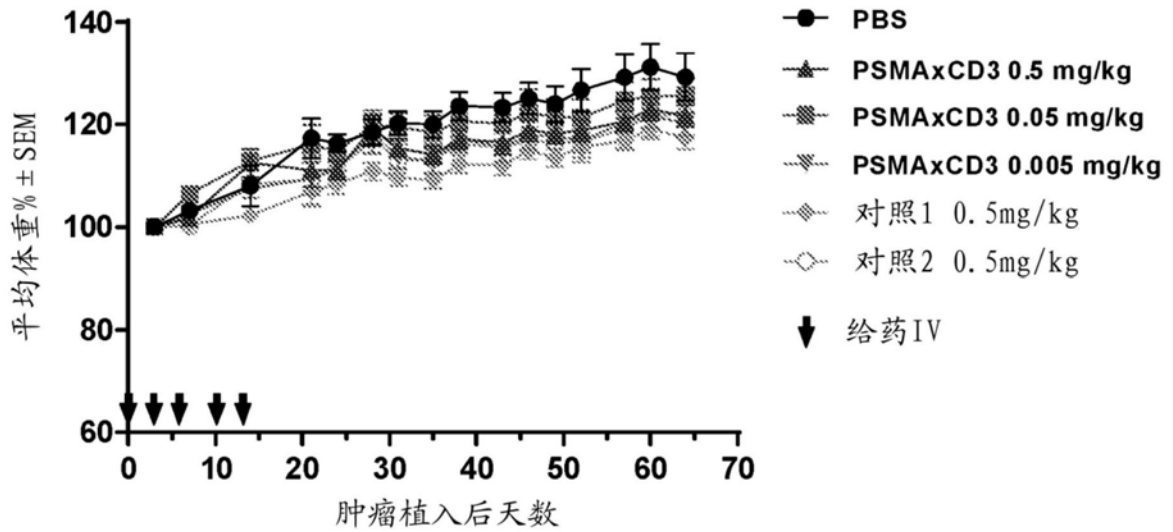


图9

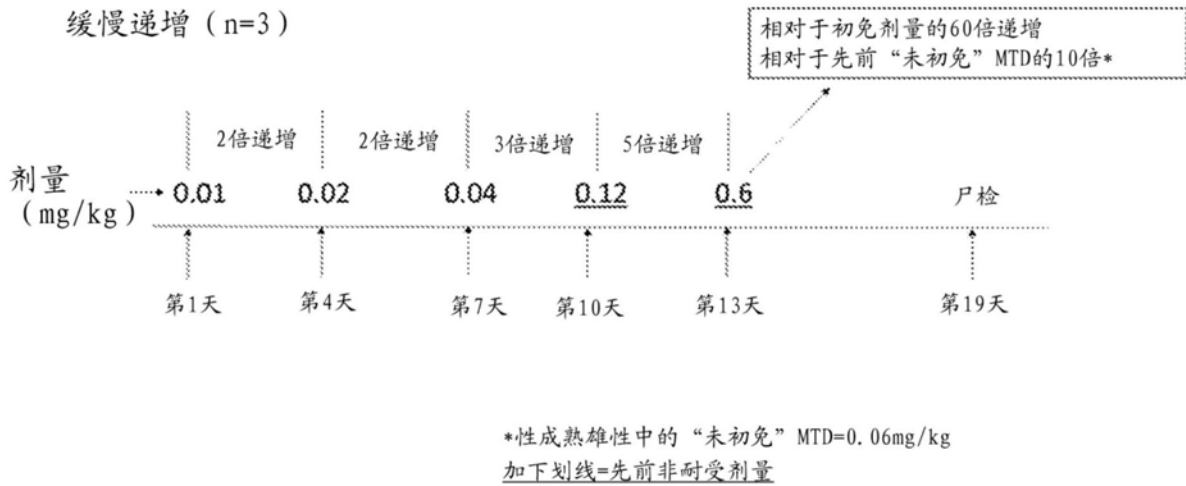


图10A

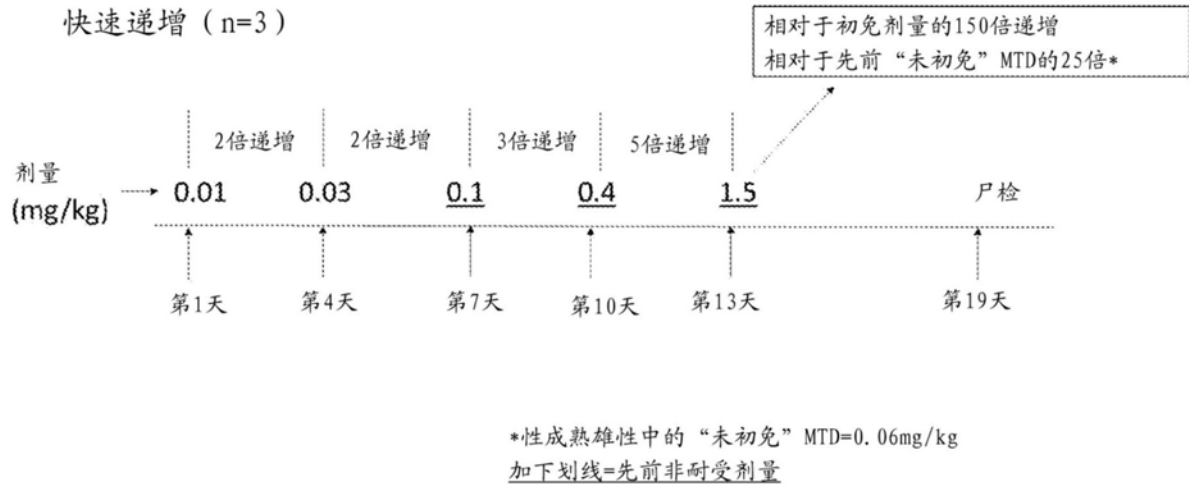
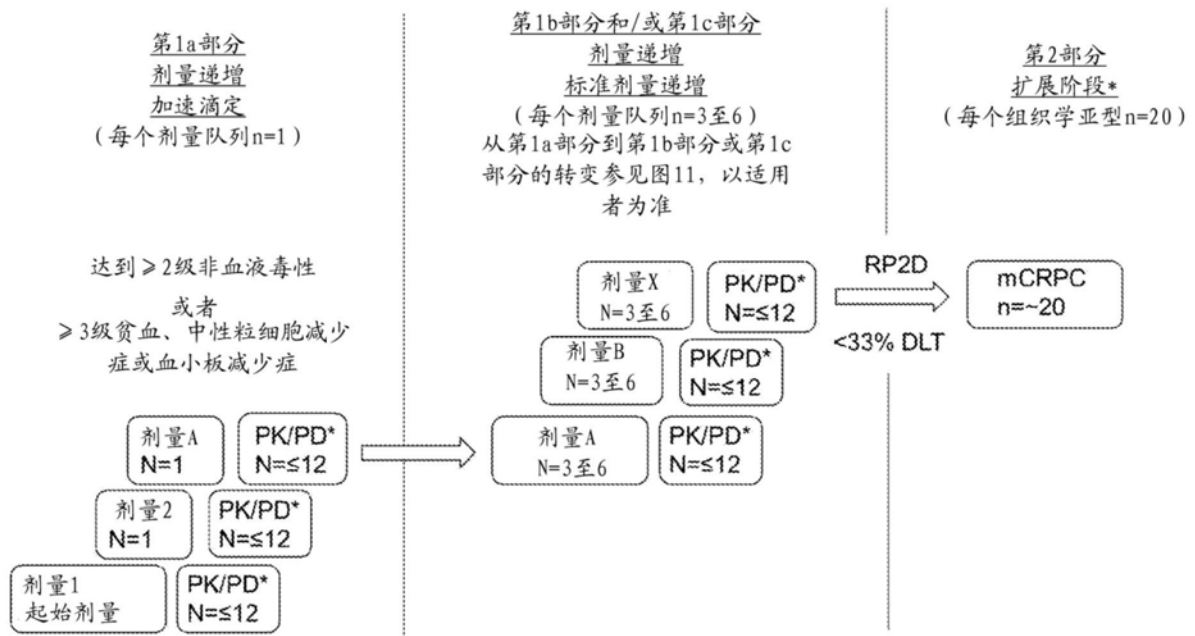


图10B

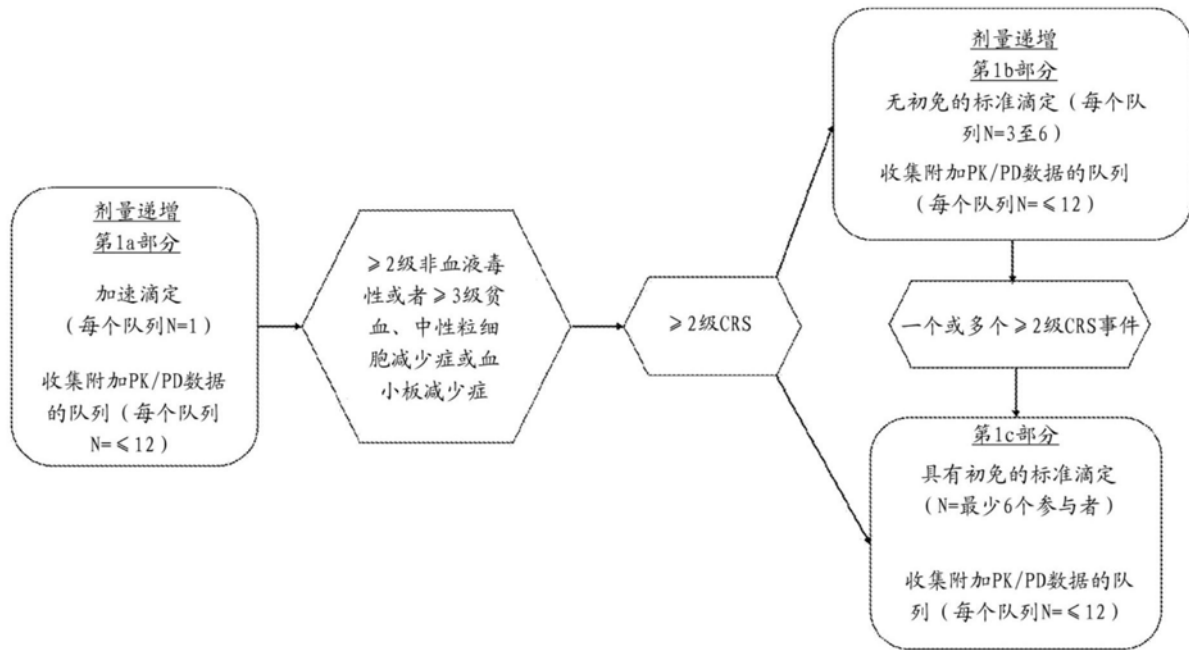


a. ≥ 2级非血液毒性或者 ≥ 3级贫血、中性粒细胞减少症或血小板减少症：独立于初免的从加速剂量递增到标准剂量递增的变化。

b. ≥ 2级CRS：在确认初免剂量后启动初免。

*药代动力学/药效学 (PK/PD) 队列是任选的，并且招募到这些队列中将由SET决定。在审查所有可用数据后已清除剂量水平后，SET将决定是否在先前清除的剂量水平下打开PK/PD队列。至多12名附加的参与者可招募到由SET确定为安全的剂量下的PK/PD队列中，以获得附加的药代动力学、药效学或生物标记物数据。在第1部分和第2部分中对于所选择的PK/PD队列需要肿瘤活检。

图11



缩写：CRS=细胞因子释放综合征；PK/PD=药代动力学/药效学

图12