

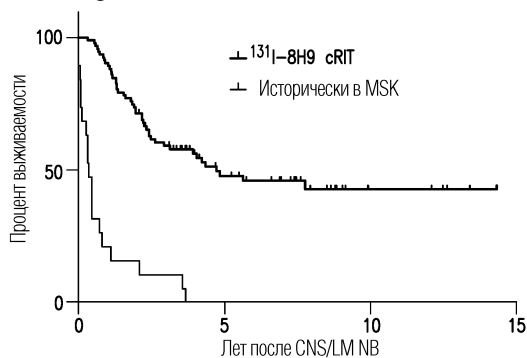
(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201992683** (13) **A1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**(43) Дата публикации заявки
2020.04.23(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)
A61K 35/17 (2015.01)
A61K 51/10 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2018.05.14(54) **ПРИМЕНЕНИЕ АНТИТЕЛ ПРОТИВ В7Н3 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ
ОПУХОЛЕЙ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ**(31) **62/505,558**(32) **2017.05.12**(33) **US**(86) **PCT/US2018/032559**(87) **WO 2018/209346 2018.11.15**(71) Заявитель:
**МЕМОРИАЛ СЛОАН-КЕТТЕРИНГ
КЭНСЕР СЕНТЕР; УАЙ-МЭБС
ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)**(72) Изобретатель:
**Крамер Ким, Най-Конг Ченг (US),
Бодсгор Оле, Меллер Сан-Педро
Клаус Й. (DK)**(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к применениям антител против В7Н3 для лечения злокачественных опухолей в центральной нервной системе (ЦНС), включая опухоли, метастазирующие в ЦНС, и в частности лептоменингеальный карциноматоз.

**A1****201992683****201992683****A1**

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420–559886EA/032

ПРИМЕНЕНИЕ АНТИТЕЛ ПРОТИВ В7НЗ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

По настоящей заявке испрашивается приоритет Предварительной патентной заявки США No.: 62/505558, поданной 12 мая 2017 г., полное содержание которой приведено в качестве ссылки, и по которой испрашивается приоритет.

СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

В это описание включен в качестве ссылки список последовательностей, принятый через EFS 14 мая 2018 г. В соответствии с 37 C.F.R. § 1.52(e)(5), текстовый файл списка последовательностей, идентифицированный как 0727340700SL, имеет размер 21716 байт и создан 14 мая 2018 г. Список последовательностей, поданный в электронной форме 14 мая 2018 г., не выходит за рамки объема описания и таким образом, не содержит новых объектов.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Описанный в настоящее время объект изобретения относится к использованию антител против В7НЗ для лечения злокачественных опухолей в центральной нервной системе (ЦНС), включая опухоли, метастазирующие в ЦНС, и в частности, лептоменингеальный карциноматоз.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ ДЛЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Опухоли в ЦНС у взрослых включают первичные опухоли ЦНС (сформированные злокачественными клетками, возникшими внутри ЦНС) и опухоли, метастазирующие в ЦНС (клетки злокачественных опухолей, распространившиеся в ЦНС из первичных опухолей, возникающих в других органах организма). Приблизительно 20000 новых случаев первичных опухолей ЦНС диагностируют в США каждый год, и по оценкам, 24–45% из всех пациентов с злокачественными опухолями в США имеют метастазы в головном мозге. Мягкая и паутинная оболочки мозга (две внутренние мембраны оборачивающие головной и спинной мозг) выступают в качестве участка–убежища для метастазирования, приводящего к рецидиву. Лептоменингеальное метастазирование (LM; также обозначенное как лептоменингеальный карциноматоз) возникает, когда клетки опухолей получают доступ к путям спинномозговой жидкости, транспортируются к отдаленным участкам головного и спинного мозга, оседают и растут. Является общепринятым, что LM является неизменно летальным.

Первичные опухоли ЦНС являются третьими из наиболее распространенных злокачественных опухолей, возникающих у подростков и молодых взрослых (в возрасте 15–39), и третьей из наиболее распространенных причин смерти из-за злокачественной опухоли в этой возрастной группе. Метастазирующие в ЦНС опухоли, с другой стороны, являются более распространенными у взрослых, чем у детей. Таким образом, остается необходимость в инновационном лечении опухолей ЦНС у взрослых.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Фигура 1. Выживаемость пациентов детского возраста с нейробластомой, подвергнутых лечению в MSK до cRIT 8H9, по сравнению с выживаемостью всех подвергнутых лечению ^{131}I -8H9-пациентов.

Фигура 2. Выживаемость пациентов детского возраста с нейробластомой, подвергнутых лечению в MSK до 2003 г., по сравнению с выживаемостью подвергнутых лечению ^{131}I -8H9 пациентов. Выживаемость 64 пациентов, подвергнутых лечению с использованием направленной на всю ЦНС терапии (синяя линия), 29 пациентов, подвергнутых лечению с использованием ^{131}I -8H9 и других видов терапии (красная линия) и 19 пациентов, подвергнутых лечению в MSK до начала протокола в 2003 г. (фиолетовая линия) сравнивали с использованием анализа Каплана–Мейера.

Фигура 3. Выживаемость на основании возраста первоначального диагноза нейробластомы.

Фигуры 4А–4В. Время до первого радиографического улучшения в группах пациентов (4А и 4В) с поддающимся измерению заболеванием при входе в исследование. Длина горизонтальных столбцов равна продолжительности участия субъекта в протоколе 03–133 или в отслеживании после исследования. Радиографическое улучшение определяли посредством сравнения сканирований до лечения со сканированиями после лечения. Улучшение определяют как полный ответ, частичный ответ или отсутствие доказательства заболевания. ♦ Ромб представляет собой дату первого радиографического улучшения после первого цикла ^{131}I -8H9. ω Незакрашенные стрелки вправо обозначают пациентов, которые были живыми на дату определения их статуса. ▼ Закрашенные стрелки вниз обозначают дату смерти. Ось Y представляет индивидуальных пациентов, ось X представляет время. Y=присутствует радиологический ответ, N=отсутствует радиологический ответ, как указано.

Фигура 5. Многоочаговая очаговая нейробластома в ЦНС в ремиссии в течение >7 лет. Рецидив в ЦНС, для которого показаны бесчисленные супратенториальные, инфратенториальные и спинномозговые метастазы.

Фигура 6. Анализы подгрупп и эффекты на общую выживаемость пациентов. Эффекты конкретных переменных на общую выживаемость пациентов оценивали посредством анализов Каплана–Мейера подгрупп пациентов, подвергнутых лечению с использованием ^{131}I -8H9. (А) Эффект возраста на выживаемость оценивали у пациентов ≤18 месяцев (синяя линия) и у пациентов >18 месяцев (красная линия) на время первоначального диагноза нейробластомы. (В) Эффект статуса MYCN на выживаемость оценивали у подвергнутых лечению ^{131}I -8H9 пациентов с опухолями с амплифицированным MYCN (синяя линия) и у пациентов с не амплифицированным MYCN (красная линия). (С) Эффект периода регистрации в протокол на выживаемость оценивали у пациентов, зарегистрированных в 2003–2009 гг. (синяя линия) и у пациентов, зарегистрированных в 2010–2016 гг. (красная линия) в протокол. (D) Эффект предшествующей терапии CSI на выживаемость оценивали у пациентов, которых не

подвергали лечению с использованием CSI (синяя линия) и у пациентов, которых подвергали лечению с использованием CSI (красная линия) до ^{131}I -8H9 cRIT.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Описанный в настоящее время объект изобретения относится к использованию антител против B7H3 для лечения злокачественных опухолей в ЦНС, включая первичные злокачественные опухоли в ЦНС и злокачественные опухоли, метастазирующие в ЦНС. В конкретных вариантах осуществления, антитела против B7H3 вводят в ЦНС для лечения лептоменингеального метастазирования злокачественной опухоли у взрослого субъекта.

В конкретных неограничивающих вариантах осуществления, описанный в настоящее время объект изобретения относится к способам лечения злокачественной опухоли у субъекта-человека, включающим введение в ЦНС субъекта терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, специфически связывающего B7H3. В конкретных вариантах осуществления, злокачественная опухоль представляет собой первичную злокачественную опухоль ЦНС или злокачественную опухоль, метастазирующую в ЦНС. В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгируют с радиоактивным изотопом и/или терапевтической группой (например, хелатообразующим соединением или противораковым средством). В конкретных вариантах осуществления, субъект-человек является взрослым. В конкретных вариантах осуществления, злокачественная опухоль является метастазирующей в мягкую и паутинную оболочки мозга. В конкретных вариантах осуществления, злокачественная опухоль, метастазирующая в ЦНС, представляет собой солидную опухоль, возникшую вне ЦНС. В конкретных вариантах осуществления, солидная опухоль выбрана из группы, состоящей из саркомы, меланомы, рака яичника и рабдомиосаркомы. В конкретных вариантах осуществления, солидная опухоль выбрана из группы, состоящей из меланомы, рака яичника и рабдомиосаркомы. В конкретных вариантах осуществления, злокачественная опухоль центральной нервной системы (ЦНС) выбрана из группы, состоящей из нейробластомы и первичных рецидивирующих злокачественных новообразований ЦНС. В конкретных вариантах осуществления, злокачественная опухоль, метастазирующая в ЦНС, представляет собой солидную опухоль, выбранную из группы, состоящей из рака молочной железы (например, трижды отрицательного рака молочной железы) и рака легкого (например, мелкоклеточного рака легкого и немелкоклеточного рака легкого). В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой, происходит из и/или является структурно родственным 8H9, включая, но без ограничения, мышиные, гуманизированные, химерные и человеческие варианты 8H9 (см. ниже).

В конкретных неограничивающих вариантах осуществления, описанный в настоящее время объект изобретения относится к способам лечения злокачественной опухоли у субъекта-человека, включающим введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента,

конъюгированного с радиоактивным изотопом и/или с другой терапевтической группой, специфически связывающего В7Н3 человека. В конкретных вариантах осуществления, злокачественная опухоль представляет собой любую злокачественную опухоль, содержащую положительные по В7Н3 клетки злокачественных опухолей или опухолей. В конкретных вариантах осуществления, злокачественная опухоль является первичной для ЦНС или метастазирующей в ЦНС субъекта, и антитело вводят в ЦНС субъекта. В конкретных вариантах осуществления, субъект является взрослым. В конкретных вариантах осуществления, субъект не является взрослым.

В конкретных неограничивающих вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, специфически связывающие В7Н3 человека, выбраны из группы, состоящей из мышинных антител или их антигенсвязывающих фрагментов, гуманизированных антител или их антигенсвязывающих фрагментов, химерных антител или их антигенсвязывающих фрагментов и человеческих антител или их антигенсвязывающих фрагментов. В конкретных вариантах осуществления, антитело представляет собой мышинное антитело или его антигенсвязывающие фрагменты. В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает FG–петлю В7Н3. В конкретных вариантах осуществления, антитело или антигенсвязывающий фрагмент представляет собой, происходит из и/или является структурно родственным 8Н9, включая, но без ограничения, мышинные, гуманизированные, химерные и человеческие варианты 8Н9 (см. ниже).

В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (а) CDR1 вариательной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3 (NYDIN), (b) CDR2 вариательной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 4 (WIFPGDGSTQY), (c) CDR3 вариательной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5 (QTTATWFAY), (d) CDR1 вариательной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 6 (RASQSIDYLN), (e) CDR2 вариательной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7 (YASQSI), и/или (f) CDR3 вариательной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 8 (QNGHSFPLT). В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (а) вариательную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 1, и/или (b) вариательную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 2.

В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит по меньшей мере: (а) вариательную область тяжелой цепи CDR, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3 (NYDIN), SEQ ID NO: 4 (WIFPGDGSTQY) или SEQ ID NO: 5 (QTTATWFAY), и (b) вариательную

область легкой цепи CDR, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 6 (RASQISDY LH), SEQ ID NO: 7 (YASQIS) или SEQ ID NO: 8 (QNGHSFPLT).

В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят интратекально субъекту. В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят субъекту посредством интравентрикулярного устройства. В конкретных вариантах осуществления, интравентрикулярное устройство представляет собой интравентрикулярный катетер. В конкретных вариантах осуществления, интравентрикулярное устройство представляет собой интравентрикулярный резервуар.

В конкретных вариантах осуществления, радиоактивный изотоп, конъюгированный с антителом или фрагментом, представляет собой ^{124}I , ^{131}I , ^{177}Lu или $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

В конкретных вариантах осуществления, описанные в настоящее время способы дополнительно включают подвергание субъекта одному циклу лечения антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. В конкретных вариантах осуществления, способы включают подвергание субъекта двум циклам лечения антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. В конкретных вариантах осуществления, один цикл лечения включает дозиметрическую дозу и дозу для лечения. В конкретных вариантах осуществления, терапевтически эффективное количество составляет от приблизительно 10 мКи до приблизительно 200 мКи. В конкретных вариантах осуществления, терапевтически эффективное количество составляет приблизительно 50 мКи.

В конкретных вариантах осуществления, способ продлевает выживаемость субъекта, по сравнению с контрольным субъектом или контрольной популяцией субъектов, не подвергаемых лечению. В конкретных вариантах осуществления, способ продлевает ремиссию злокачественной опухоли у субъекта, по сравнению с контрольным субъектом или контрольной популяцией субъектов, не подвергаемых лечению.

В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 99% или приблизительно 100% гомологии с аминокислотной последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 17. В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17. В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет аминокислоты 224–241 из SEQ ID NO: 17. В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет аминокислоты 242–267 из SEQ ID NO: 17.

В конкретных вариантах осуществления, терапевтическая группа выбрана из группы, состоящей из одного или нескольких хелатообразующих соединений, одного или нескольких химиотерапевтических средств, одного или нескольких средств,

ингибирующих контрольные точки, и радиотерапевтических средств. В конкретных вариантах осуществления, терапевтическая группа, не являющаяся радиоактивным изотопом, конъюгирована с антителом. В конкретных вариантах осуществления, терапевтическая группа представляет собой хелатообразующее соединение. В конкретных вариантах осуществления, радиоактивный изотоп не напрямую связан с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом посредством хелатообразующего соединения, например, DOTA, подобного DOTA соединения или DTPA. В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с хелатообразующим соединением, где хелатообразующее соединение связано с радиоактивным изотопом. В конкретных вариантах осуществления, хелатообразующее соединение представляет собой DOTA или DTPA. В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с хелатообразующим соединением (например, DOTA, DTPA, или родственным соединением), и хелатообразующее соединение связано, *in vitro* или *in vivo*, с радиоактивным изотопом (например, ^{124}I , ^{131}I , ^{177}Lu или $^{99\text{m}}\text{Tc}$).

В конкретных вариантах осуществления, терапевтическое средство представляет собой моноклональное антитело 3F8 (MoAb 3F8), гранулоцитарно–моноцитарный колониестимулирующий фактор (GM–CSF) или их комбинацию. В конкретных вариантах осуществления, терапевтическое средство вводят в ЦНС субъекта и/или вводят системно субъекту. В конкретных вариантах осуществления, терапевтическое средство вводят субъекту одновременно или последовательно с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, специфически связывающему B7H3 человека, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с хелатообразующим соединением, где хелатообразующее соединение связано с радиоактивным изотопом.

В конкретных вариантах осуществления, антитело выбрано из группы, состоящей из мышиных антител и их антигенсвязывающих фрагментов, гуманизированных антител и их антигенсвязывающих фрагментов, химерных антител и их антигенсвязывающих фрагментов, и человеческих антител и их антигенсвязывающих фрагментов. В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой мышиное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает FG–петлю B7H3.

В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: а) CDR1 варибельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3, б) CDR2 варибельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 4, в) CDR3 варибельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5, д) CDR1 варибельной

области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 6, е) CDR2 вариательной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7, и f) CDR3 вариательной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 8.

В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (а) вариательную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 1, и (b) вариательную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 2.

В конкретных вариантах осуществления, радиоактивный изотоп представляет собой ^{124}I , ^{131}I , ^{177}Lu или ^{99}mTc . В конкретных вариантах осуществления, хелатообразующее соединение представляет собой DOTA или DTPA.

В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 99% или приблизительно 100% гомологии с аминокислотной последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 17. В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17. В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет аминокислоты 224–241 из SEQ ID NO: 17. В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет аминокислоты 242–267 из SEQ ID NO: 17.

В конкретных вариантах осуществления, терапевтическое средство представляет собой моноклональное антитело 3F8 (MoAb 3F8), гранулоцитарно–моноцитарный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) или их комбинацию. В конкретных вариантах осуществления, терапевтическое средство вводят в ЦНС субъекта и/или системно субъекту. В конкретных вариантах осуществления, терапевтическое средство вводят субъекту одновременно или последовательно с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой конъюгат DOTA–8H9 или конъюгат DTPA–8H9. В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой конъюгат ^{177}Lu –DOTA–8H9 или конъюгат ^{177}Lu –DTPA–8H9, или (177)LU–CHX–A"–DTPA–8H9.

В конкретных вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой одноцепочечный вариательный фрагмент (scFv). В конкретных вариантах осуществления, scFv содержит часть аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 13 и SEQ ID NO: 14.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к композициям, содержащим антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем описании.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем описании, и фармацевтически приемлемый носитель.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу визуализации опухоли у субъекта, включающему введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанных в настоящем описании.

В другом аспекте, настоящее изобретение относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, описанным в настоящем описании, для использования в качестве лекарственного средства.

В другом аспекте, настоящее изобретение относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, описанным в настоящем описании, для использования в лечении злокачественной опухоли.

В другом аспекте, настоящее изобретение относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, описанным в настоящем описании, для использования в лечении злокачественной опухоли центральной нервной системы (ЦНС).

В другом аспекте, настоящее изобретение относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, описанным в настоящем описании, для использования в лечении метастазирующих в ЦНС нейробластомы, саркомы, меланомы, карциномы яичников и первичных рецидивирующих злокачественных новообразований ЦНС.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, описанным в настоящем описании, для использования в способе визуализации опухоли у субъекта.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, описанным в настоящем описании, для использования в способе, описанном в настоящем описании.

В другом аспекте, настоящее изобретение относится к использованию антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанных в настоящем описании, для получения лекарственного средства для визуализации клеток опухолей, несущих антиген, узнаваемый антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

В другом аспекте, настоящее изобретение относится к использованию антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанных в настоящем описании, для получения лекарственного средства для способа, описанного в настоящем описании.

А. В конкретных неограничивающих вариантах осуществления, описанный в настоящее время объект изобретения относится к способу лечения злокачественной опухоли ЦНС у взрослого субъекта—человека, включающему введение в ЦНС субъекта терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, специфически связывающего В7Н3 человека, где злокачественная опухоль представляет собой первичную злокачественную опухоль центральной нервной системы (ЦНС) или злокачественную опухоль, метастазирующую в ЦНС, и антитело или фрагмент конъюгированы с радиоактивным изотопом и/или другой терапевтической группой.

A1. Способ по А, где злокачественная опухоль метастазирует в мягкую и паутинную оболочки мозга.

A2. Способ по А, где злокачественная опухоль, метастазирующая в ЦНС, представляет собой солидную опухоль вне ЦНС.

A3. Способ по А2, где солидная опухоль выбрана из группы, состоящей из меланомы, рака яичника и рабдомиосаркомы.

A4. Способ по А, где антитело выбрано из группы, состоящей из мышинных антител, гуманизированных антител, химерных антител и человеческих антител.

A5. Способ по А, где антитело представляет собой мышинное антитело.

A6. Способ по А, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает FG–петлю B7H3.

A7. Способ по А, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(a) CDR1 варибельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3 (NYDIN),

(b) CDR2 варибельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 4 (WIFPGDGSTQY),

(c) CDR3 варибельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5 (QTTATWFAY),

(d) CDR1 варибельной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 6 (RASQSIDYLH),

(e) CDR2 варибельной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7 (YASQSIG), и

(f) CDR3 варибельной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 8 (QNGHSFPLT).

A8. Способ по А, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(a) варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 1, и

(b) варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 2.

A9. Способ по А, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят интратекально субъекту.

A10. Способ по А, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят субъекту посредством интравентрикулярного устройства.

A11. Способ по А, где интравентрикулярное устройство представляет собой интравентрикулярный катетер.

A12. Способ по А, где интравентрикулярное устройство представляет собой интравентрикулярный резервуар.

A13. Способ по А, где радиоактивный изотоп представляет собой ^{131}I , ^{177}Lu или $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

A14. Способ по А, включающий подвергание субъекта одному циклу лечения антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

A15. Способ по А, включающий подвергание субъекта двум циклам лечения антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

A16. Способ по А, где один цикл лечения включает дозиметрическую дозу и дозу для лечения.

A17. Способ по А, где терапевтически эффективное количество составляет от приблизительно 10 мКи до приблизительно 200 мКи или от приблизительно 10 мКи до приблизительно 100 мКи.

A18. Способ по А, где терапевтически эффективное количество составляет приблизительно 50 мКи.

A19. Способ по А, где способ продлевает выживаемость субъекта.

A20. Способ по А, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает полипептид В7Н3 человека, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 99% или приблизительно 100% гомологии с аминокислотной последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 17.

A21. Способ по А, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает полипептид В7Н3 человека, содержащий аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17.

A22. Способ по А, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает полипептид В7Н3 человека, имеющий аминокислоты 224–241 из SEQ ID NO: 17.

A23. Способ по А, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает полипептид В7Н3 человека, имеющий аминокислоты 242–267 из SEQ ID NO: 17.

A24. Способ по А, дополнительно включающий введение субъекту дополнительного терапевтического средства, например, но без ограничения, одного или нескольких химиотерапевтических средств, одного или нескольких средств, ингибирующих контрольные точки, и/или радиотерапевтических средств. Такое одно или несколько дополнительных терапевтических средств можно вводить в ЦНС и/или системно, либо одновременно, либо последовательно с нацеленными на В7Н3 антителами или антигенсвязывающими фрагментами, описанными в настоящем описании.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Полное содержание всех публикаций, патентов и других ссылок, процитированных в настоящем описании, приведено в настоящем описании в качестве ссылки.

Для целей ясности описания, а не для ограничения, подробное описание разделено на следующие подразделы:

1. Определения
2. Антитела против В7Н3
3. Способы лечения

1. Определения

В следующем ниже описании, следуют определенным правилам применительно к использованию терминологии. В общем, термины, используемые в настоящем описании, предназначены для систематической интерпретации с значениями этих терминов, как известно специалисту в данной области.

В рамках изобретения, термин «антитело» обозначает не только интактные молекулы антитела, но также фрагменты молекул антител, сохраняющие способность связывания иммуногена. Такие фрагменты также хорошо известны в данной области, и их регулярно используют как *in vitro*, так и *in vivo*. Соответственно, в рамках изобретения, термин «антитело» обозначает не только интактные молекулы иммуноглобулинов, но также хорошо известные активные фрагменты $F(ab')_2$ и Fab. Фрагменты $F(ab')_2$ и Fab, лишенные фрагмента Fc интактного антитела, выводятся более быстро из кровотока, и могут иметь меньшее неспецифическое связывание в тканях, чем интактное антитело (Wahl et al., J. Nucl. Med. 24:316–325 (1983)). Антитела по изобретению включают полноразмерные нативные антитела, биспецифические антитела; химерные антитела; Fab, Fab', одноцепочечные фрагменты области V (scFv), слитые полипептиды и не общепринятые антитела. В конкретных вариантах осуществления, антитело представляет собой гликопротеин, содержащий по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные между собой дисульфидными связями. Каждая тяжелая цепь состоит из вариабельной области тяжелой цепи (сокращенно обозначенной в настоящем описании как V_H) и константной области тяжелой цепи (C_H). Константная область тяжелой цепи состоит из трех доменов, CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь состоит из вариабельной области легкой цепи (сокращенно обозначенной в настоящем описании как V_L) и константной области легкой цепи C_L . Константная область легкой цепи состоит из одного домена, C_L . Области V_H и V_L можно далее подразделять на области гипервариабельности, названные определяющими комплементарность областями (CDR), перемежающимися более консервативными областями, названными каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от amino-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Вариабельные области тяжелых и легких цепей содержат связывающий домен, взаимодействующий с антигеном. Константные области антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента.

В рамках изобретения, взаимозаменяемо, термины «антигенсвязывающая часть», «антигенсвязывающий фрагмент», или «антигенсвязывающая область» антитела, относятся к области или части антитела, которая связывается с антигеном и которая придает антигенную специфичность антителу; фрагменты антигенсвязывающих белков, например, антител, включают один или несколько фрагментов антитела, сохраняющих способность специфически связываться с антигеном (например, комплексом пептид/HLA). Показано, что антигенсвязывающую функцию антитела могут осуществлять

фрагменты полноразмерного антитела. Примеры антигенсвязывающих частей, охваченных термином «фрагменты антитела», антитела включают фрагмент Fab, моновалентный фрагмент, состоящий из доменов V_L , V_H , C_L и $CH1$; фрагмент $F(ab)_2$, двухвалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, соединенных дисульфидным мостиком в шарнирной области; фрагмент Fd, состоящий из доменов V_H и $CH1$; фрагмент F_v , состоящий из доменов V_L и V_H одного плеча антитела; фрагмент dAb (Ward et al., 1989 Nature 341:544–546), состоящий из домена V_H ; и выделенную определяющую комплементарность область (CDR).

«CDR» определяют как определяющие комплементарность область аминокислотных последовательностей антитела, представляющие собой гипервариабельные области тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов. См., например, Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 4th U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health (1987). Термин «гипервариабельная область» или «HVR», в рамках изобретения, относится к каждой из областей вариабельного домена антитела, которые являются гипервариабельными по последовательности («определяющие комплементарность области» или «CDR») и/или формируют структурно определенные петли («гипервариабельные петли»), и/или содержат контактирующие с антигеном остатки («контакты с антигеном»). Как правило, антитела содержат три CDR или области CDR тяжелой цепи и три CDR или области CDR легкой цепи в вариабельной области. CDR предоставляют большинство контактных остатков для связывания антитела с антигеном или эпитопом.

Кроме того, несмотря на то, что два домена фрагмента F_v , V_L и V_H , кодированы отдельными генами, их можно соединять, с использованием рекомбинантных способов, посредством синтетического линкера, позволяющего получать их в форме отдельной белковой цепи, в которой области V_L и V_H образуют пару для формирования моновалентных молекул. Они известны как одноцепочечные F_v (scFv); см., например, Bird et al., 1988 Science 242:423–426; и Huston et al., 1988 Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879–5883. Эти фрагменты антител получают с использованием общепринятых способов, известных специалисту в данной области, и эти фрагменты подвергают скринингу по применимости таким же способом, что и интактные антитела.

В рамках изобретения, антитело, которое «специфически связывает B7H3» относится к антителу, связывающему B7H3 (например, B7H3 человека) с K_d 5×10^{-7} М или менее, 1×10^{-7} М или менее, 5×10^{-8} М или менее, 1×10^{-8} М или менее, 5×10^{-9} М или менее, 1×10^{-9} М или менее, 5×10^{-10} М или менее, 1×10^{-10} М или менее, 5×10^{-11} М или менее, или 1×10^{-11} М или менее.

«Антитело, которое конкурирует за связывание» или «антитело, которое перекрестно конкурирует за связывание» с эталонным антителом, за связывание с антигеном, например, B7H3, относится к антителу, которое блокирует связывание эталонного антитела с антигеном (например, B7H3) в конкурентном анализе приблизительно на 50% или более, например, приблизительно на 55% или более,

приблизительно на 60% или более, приблизительно на 65% или более, приблизительно на 70% или более, приблизительно на 75% или более, приблизительно на 80% или более, приблизительно на 85% или более, приблизительно на 90% или более, приблизительно на 95% или более, приблизительно на 98% или более или приблизительно на 99% или более, и наоборот, эталонное антитело блокирует связывание антитела с антигеном (например, В7Н3) в конкурентном анализе приблизительно на 50% или более, например, приблизительно на 55% или более, приблизительно на 60% или более, приблизительно на 65% или более, приблизительно на 70% или более, приблизительно на 75% или более, приблизительно на 80% или более, приблизительно на 85% или более, приблизительно на 90% или более, приблизительно на 95% или более, приблизительно на 98% или более или приблизительно на 99% или более. Иллюстративный конкурентный анализ описан в «Antibodies», Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY) (1988). В конкретных вариантах осуществления, эталонное антитело представляет собой мышинное антитело против В7Н3. В конкретных вариантах осуществления, эталонное антитело представляет собой 8Н9.

«Антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которые конкурируют за связывание» или «антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которые перекрестно конкурируют за связывание» с эталонным антителом, за связывание с антигеном, например, В7Н3, относится к антителу или антигенсвязывающему фрагменту, которые блокируют связывание эталонного антитела с антигеном (например, В7Н3) в конкурентном анализе приблизительно на 50% или более, например, приблизительно на 55% или более, приблизительно на 60% или более, приблизительно на 65% или более, приблизительно на 70% или более, приблизительно на 75% или более, приблизительно на 80% или более, приблизительно на 85% или более, приблизительно на 90% или более, приблизительно на 95% или более, приблизительно на 98% или более или приблизительно на 99% или более, и наоборот, эталонное антитело блокирует связывание антитела или антигенсвязывающего фрагмента с антигеном (например, В7Н3) в конкурентном анализе приблизительно на 50% или более, например, приблизительно на 55% или более, приблизительно на 60% или более, приблизительно на 65% или более, приблизительно на 70% или более, приблизительно на 75% или более, приблизительно на 80% или более, приблизительно на 85% или более, приблизительно на 90% или более, приблизительно на 95% или более, приблизительно на 98% или более или приблизительно на 99% или более. Иллюстративный конкурентный анализ описан в «Antibodies», Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY) (1988).

Гомологию последовательностей или идентичность последовательностей, как правило, измеряют с использованием программного обеспечения для анализа последовательностей (например, пакета программного обеспечения для анализа последовательностей от Genetics Computer Group, University of Wisconsin Biotechnology Center, 1710 University Avenue, Madison, Wis. 53705, программы BLAST, BESTFIT, GAP, или PILEUP/PRETTYBOX). Такое программное обеспечение определяет соответствие

идентичных или сходных последовательностей посредством приписывания степеней гомологии различным заменам, делециям и/или другим модификациям. В иллюстративном способе определения степени идентичности, можно использовать программу BLAST, с оценкой вероятности в баллах между e^{-3} и e^{-100} , показывающим близко родственную последовательность.

«Терапевтически эффективное количество» средства, например, антитела против В7НЗ или его антигенсвязывающего фрагмента, относится к количеству, эффективному, в необходимых дозах и в течение необходимых периодов времени, для достижения желательного терапевтического или профилактического результата, например, лечения злокачественной опухоли (например, первичных злокачественных опухолей в ЦНС или злокачественных опухолей, метастазирующих в ЦНС, например, мягкую и паутинную оболочки мозга).

«Субъект», в рамках изобретения, может представлять собой субъекта–человека или не относящегося к человеку субъекта, например, но без ограничения, нечеловекообразного примата, собаку, кошку, лошадь, грызуна, кролика и т.д. Взрослый субъект–человек представляет собой субъекта, достигшего возраста по меньшей мере 18 лет или по меньшей мере 20 лет. Взрослый не относящийся к человеку субъект представляет собой субъекта, достигшего половой зрелости. Субъект–человек, не являющийся взрослым, представляет собой субъекта детского возраста.

«Введение в ЦНС субъекта», в рамках изобретения, обозначает введение в одно или несколько из спинномозговой жидкости, субарахноидального пространства, менингеальной ткани и/или тканей нервной системы (головного и/или спинного мозга) субъекта.

В рамках изобретения, «лечение» (и его грамматические варианты, такие как «лечить» или «осуществляющий лечение») относится к клиническому вмешательству в попытке изменить естественное течение заболевания у индивидуума, подвергаемого лечению, и его можно проводить либо для профилактики, либо в ходе клинической патологии. Желательные эффекты лечения включают, но без ограничения, продление выживаемости, предотвращение рецидива заболевания, облегчение симптомов, уменьшение любых прямых или опосредованных патологических последствий заболевания, предотвращение метастазирования, уменьшение скорости прогрессирования заболевания, облегчение или смягчение состояния заболевания и ремиссию или улучшение прогноза. В конкретных вариантах осуществления, антитела из описанного в настоящее время объекта изобретения используют для задержки развития заболевания или для замедления прогрессирования заболевания, например, злокачественной опухоли, первичной для ЦНС, или злокачественной опухоли, метастазирующей в ЦНС (например, мягкую и паутинную оболочки мозга).

В рамках изобретения, термин «около» или «приблизительно» означает в пределах приемлемого диапазона ошибки для конкретного значения, как определено специалистом в данной области, что может зависеть, частично, от того, каким образом значение

измеряют или определяют, т.е., от ограничений системы измерения. Например, «приблизительно» может означать в пределах 3 или более 3 стандартных отклонений, в соответствии с практикой в данной области. Альтернативно, «приблизительно», может означать диапазон вплоть до 20%, предпочтительно, вплоть до 10%, более предпочтительно, вплоть до 5%, и более предпочтительно, вплоть до 1% от данного значения. Альтернативно, в частности применительно к биологическим системам или процессам, термин может означать в пределах порядка величины, предпочтительно, в пределах 5-кратного, и более предпочтительно, в пределах 2-кратного значения.

Как описано в настоящем описании, любой диапазон концентраций, диапазон процентов, диапазон соотношений или диапазон целых чисел следует понимать как включающий значение любого целого числа внутри диапазона и, когда это целесообразно, их доли (такие как одна десятая и одна сотая целого числа), если не указано иное.

2. Антитела против B7H3

Описанный в настоящее время объект изобретения относится к применениям антител против B7H3 или их антигенсвязывающих фрагментов для лечения злокачественных опухолей, например, злокачественных опухолей, первичных для ЦНС, или злокачественных опухолей, метастазирующих в ЦНС (например, в паренхиму или в мягкую и паутинную оболочки мозга). Антитела против B7H3 могут представлять собой мышиные, гуманизированные, химерные или человеческие антитела.

В конкретных вариантах осуществления, антитела против B7H3 или его антигенсвязывающие фрагменты связывают полипептид B7H3. В конкретных вариантах осуществления, полипептид B7H3 представляет собой полипептид B7H3 человека. Полипептид B7H3 может иметь аминокислотную последовательность, по меньшей мере приблизительно на 10%, приблизительно на 20%, приблизительно на 30%, приблизительно на 40%, приблизительно на 50%, приблизительно на 60%, приблизительно на 70%, приблизительно на 80%, приблизительно на 90%, приблизительно на 95%, приблизительно на 99%, или приблизительно на 100% гомологичную SEQ ID NO: 17 (гомологию в данном случае можно определять с использованием стандартного программного обеспечения, такого как BLAST или FASTA), как представлено ниже, или ее фрагментам, и/или может, необязательно, содержать вплоть до одной или вплоть до двух, или вплоть до трех аминокислотных замен (например, консервативных замен). В конкретных вариантах осуществления, полипептид B7H3 содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17. В конкретных вариантах осуществления, полипептид B7H3 может иметь аминокислотную последовательность, представляющую собой непрерывный фрагмент из SEQ ID NO: 17, имеющий длину по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 25, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90, по меньшей мере 100, по меньшей мере 150, по меньшей мере 200, по меньшей мере 250, по меньшей мере 300, по меньшей мере 350, по меньшей мере 400, по меньшей мере 450, по

меньшей мере 500, и вплоть до 534 аминокислот. Альтернативно или дополнительно, в неограничивающих различных вариантах осуществления, полипептид B7H3 имеет аминокислотную последовательность из аминокислот 1–534, 1–50, 50–100, 100–150, 150–200, 200–250, 224–241, 242–267, 241–267, 250–300, 300–350 или 350–400, 400–450, 450–500 и 500–534 из SEQ ID NO: 17. В конкретных вариантах осуществления, полипептид B7H3 содержит аминокислоты 224–241 из SEQ ID NO: 17. Аминокислоты 224–241 из SEQ ID NO: 17 имеют аминокислотную последовательность NPVLQQDAHSSVTITPQR (SEQ ID NO: 15). В конкретных вариантах осуществления, полипептид B7H3 содержит аминокислоты 242–267 из SEQ ID NO: 17. Аминокислоты 242–267 из SEQ ID NO: 17 имеют аминокислотную последовательность SPTGAVEVQVPEDPVVALVGTDATLR (SEQ ID NO: 16).

MLRRRGSPGMGVHVGAAALGALWFCLTGALEVQVPEDPVVALVGTDATLCCSFS
PEPGFSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFAEGQDQGSAYANRTALFPDLLAQGNASLRLQRV
RVADEGSFTCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDTVITCSSLQGY
EAEVFWQDGGQGVPLTGNVTTSQMANEQGLFDVHSILRVVLGANGTYSCLVRNPVLQQ
DAHSSVTITPQRSPTGAVEVQVPEDPVVALVGTDATLRCSFSPEPGFSLAQLNLIWQLTD
TKQLVHSFTEGRDQGSAYANRTALFPDLLAQGNASLRLQRVVADEGSFTCFVSIRDFG
SAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDTVITCSSLQGYEAEVFWQDGGQGVPLTGN
VTTSQMANEQGLFDVHSVLRVVLGANGTYSCLVRNPVLQQDAHGSVTITGQPMTFPE
ALWVTVGLSVCLIALLLVALAFVCWRKIKQSCEEENAGAEDQDGEGEKSKTALQPLKHS
DSKEDDGQEIA (SEQ ID NO: 17)

В конкретных вариантах осуществления, антитело против B7H3 представляет собой мышинное антитело. В конкретных вариантах осуществления, антитело против B7H3 представляет собой антитело 8H9, описанное в Патентах США No: 7737258, 7666424, 8148154, 7740845, 8414892, 9062110 и 8501471, и Международной публикации патента No. WO2008/116219, полное содержание всех из которых приведено в качестве ссылки.

В конкретных вариантах осуществления, антитело против B7H3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR1 варибельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3 (NYDIN), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 4 (WIFPGDGSTQY), CDR3 варибельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5 (QTTATWFAY), CDR1 варибельной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 6 (RASQSIDYLH), CDR2 варибельной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7 (YASQIS), и/или CDR3 варибельной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 8 (QNGHSFPLT). В конкретных вариантах осуществления, антитело против B7H3 содержит (а) варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 1, и/или (b) варибельную область легкой

цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 2. SEQ ID NO: 1–8 представлены ниже.

QVQLQSQGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTNYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPG
DGSTQYNEKFKGKATLTDTSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARQTTATWFAYWGQGT
LVTVSAAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTF
PAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPE
VSSVFIFPPKPKDVLITLTPKVTCTVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQF
NSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQ
MAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVNPKS
NWEAGNTFTCSVLHEGLHNHTEKSLSHSPGK (SEQ ID NO: 1)

DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSSISDYHLHWYQQKSHESPRLLIKYASQSSIS
GIPSRFSGSGSGSDFTLSINSVEPEDVGVYYCQNGHSFPLTFGAGTKLELKRADAAPTFSI
FPPSSEQLTSGGASVVCFLNFPYKDKINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMS
STLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID NO: 2)

NYDIN (SEQ ID NO: 3)

WIFPGDGSTQY (SEQ ID NO: 4)

QTTATWFAY (SEQ ID NO: 5)

RASQSSISDYHL (SEQ ID NO: 6)

YASQSSIS (SEQ ID NO: 7)

QNGHSFPLT (SEQ ID NO: 8)

В конкретных вариантах осуществления, антитело против B7H3 или его антигенсвязывающий фрагмент перекрестно конкурирует за связывание с B7H3 с антителом 8H9. В конкретных вариантах осуществления, антитело против B7H3 или его антигенсвязывающий фрагмент перекрестно конкурирует за связывание с B7H3 с эталонным антителом, которое содержит CDR1 вариательной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3 (NYDIN), CDR2 вариательной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 4 (WIFPGDGSTQY), CDR3 вариательной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5 (QTTATWFAY), CDR1 вариательной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 6 (RASQSSISDYHL), CDR2 вариательной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7 (YASQSSIS), и CDR3 вариательной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 8 (QNGHSFPLT). В конкретных вариантах осуществления, антитело против B7H3 или его антигенсвязывающий фрагмент перекрестно конкурирует за связывание с B7H3 с эталонным антителом, которое содержит (а) вариательную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 1, и (б) вариательную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 2.

В конкретных вариантах осуществления, антитело против B7H3 или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с тем же эпитопом на B7H3, что и антитело 8H9. В конкретных вариантах осуществления, антитело против B7H3 или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с тем же эпитопом на B7H3, что и эталонное антитело, которое содержит CDR1 вариательной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3 (NYDIN), CDR2 вариательной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 4 (WIFPGDGSTQY), CDR3 вариательной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5 (QTTATWFAY), CDR1 вариательной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 6 (RASQISDYLH), CDR2 вариательной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7 (YASQIS), и CDR3 вариательной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 8 (QNGHSFPLT). В конкретных вариантах осуществления, антитело против B7H3 или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с тем же эпитопом на B7H3 что и эталонное антитело, которое содержит (а) вариательную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 1, и (b) вариательную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 2.

В конкретных вариантах осуществления, антитело против B7H3 представляет собой одноцепочечный вариательный фрагмент (scFv). scFv может представлять собой мышинный, гуманизированный или человеческий scFv. В конкретных вариантах осуществления, антитело против B7H3 представляет собой мышинный scFv. В конкретных вариантах осуществления, антитело против B7H3 представляет собой scFv, содержащий аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 9 (представленной ниже). В конкретных вариантах осуществления, антитело против B7H3 представляет собой scFv, содержащий аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 13 (представленной ниже). В конкретных вариантах осуществления, антитело против B7H3 представляет собой scFv, содержащий аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 14 (представленной ниже).

QVKLQQSGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTNYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPG
DGSTQYNEKFKGKATLTDTSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARQTTATWFAYWGQGT
TVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIELTQSPTTSLVTPGDRVSLSCRASQISDYLHWYQQ
KSHESPRLLIKYASQSIGIPSRFSGSGSGSDFTLSINSVEPEDVGVIYCQNGHSFPLTFGA
GTKLELKQAA (SEQ ID NO: 9)

QVKLQQSGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTNYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPG
DGSTQYNEKFKGKATLTDTSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARQTTATWFAYWGQGT
TVTVSSDGGGGSGGGGSGGGGSDIELTQSPTTSLVTPGDRVSLSCRASQISDYLHWYQQ

KSHESPRLLIKYASQSIGIPSRFSGSGSGSDFTLSINSVEPEDVGVYYCQNGHSFPLTFGA
GTKLELKQAA (SEQ ID NO: 13)

QVKLQQSGAELVEPGASVKLSCKASGYTFTNYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPG
DGSTQYNEKFKGKATLTDDTSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARQTTATWFAYWGQGT
TVTVSSDGGGSGGGGSGGGGSDIELTQSPTTSLVTPGDQVSLSCRASQSIGSYLHWYQQ
KSHESPQLLIKYASQSIGIPSRFSGSGSGSDFTLSINSVEPEDVGVYYCQNGHSFPLTFGA
GTELELEQAA (SEQ ID NO: 14)

Нуклеотидная последовательность, кодирующая SEQ ID NO: 9, представляет собой SEQ ID NO: 10 (смысловую) и SEQ ID NO: 11 (комплементарную). SEQ ID NO: 10 и 11 представлены ниже.

caggctcaaac tgcagcagtc tggggctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaaattg tcttgaagg cttctggcta
caccttcaca aactatgata taaactgggt gaggcagagg cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctg
gagatggttag tactcaatac aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca catctccag cacagcctac
atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgtgtct atttctgtgc aagacagact acggctacct ggtttgctta
ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtctc ctgagtgga ggcgggtcag gcggaggtgg ctctggcggg ggcggatcgg
acatcgagct cactcagctt ccaaccaccc tgtctgtgac tccaggagat agagtctctc ttctctgag ggccagccag
agtattagcg actacttaca ctggtacca caaaaatcac atgagtctcc aaggcttctc atcaaatatg ctcccaatc catctctggg
atcccccca gggtcagtg cagtggatca gggtcagatt tcactctcag tatcaacagt gtggaacctg aagatgttgg
agtgtattac tgcaaaatg gtcacagctt tccgtcagc ttcggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa caggcggccg c (SEQ
ID NO: 10)

gtccagttg acgtctcag accccgactt gaccatttcg gaccccgaag tcactttaac aggacgttcc gaagaccgat
gtggaagtgt ttgatactat atttgaccca ctccgtctcc ggacttgcc ctgaactcac ctaacctacc taaaaggac ctctaccac
atgagttatg ttactcttca agttcccggt ccggtgtgac tgatgtctgt gtaggaggtc gtgtcggatg tacgtcagtg cgtccgactg
tagactcctg agacgacaga taaagacacg ttctgtctga tgccgatgga ccaaacgaat gaccccggtt ccctgggtcc
agtggcagag gactccacct ccgccaagtc cgcctccacc gagaccgcca ccgcctagcc tgtagctcga gtgagtcaga
ggttggtggg acagacactg aggtcctcta tctcagagag aaaggacgtc ccggtcggtc tcataatcgc tgatgaatgt
gaccatggtt gtttttagtg tactcagagg ttccgaagag tagtttatac gaagggttag gtagagaccc taggggaggt
ccaagtcacc gtcacctagt cccagtctaa agtgagagtc atagttgtca caccttgac ttctacaacc tcacataatg acagttttac
cagtgtcgaaggcagtgac aagccacgac cctggttcga cctcagcttt gtccgcccgc r (SEQ ID NO: 11)

В конкретных вариантах осуществления, нуклеотидная последовательность, кодирующая scFv, связывающий полипептид B7H3, имеет нуклеотидную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 12 (представленной ниже).

caggctcaaac tgcagcagtc tggggctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaaattg tcttgaagg cttctggcta
caccttcaca aactatgata taaactgggt gaggcagagg cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctg
gagatggttag tactcaatac aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca catctccag cacagcctac
atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgtgtct atttctgtgc aagacagact acggctacct ggtttgctta
ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtctc ctgagtgga ggcgggtcag gcggaggtgg ctctggcggg ggcggatcgg
acatcgagct cactcagctt ccaaccaccc tgtctgtgac tccaggagat agagtctctc ttctctgag ggccagccag
agtattagcg actacttaca ctggtacca caaaaatcac atgagtctcc aaggcttctc atcaaatatg ctcccaatc catctctggg
atcccccca gggtcagtg cagtggatca gggtcagatt tcactctcag tatcaacagt gtggaacctg aagatgttgg

agtgtattac tgtcaaatg gtcacagctt tccgctcacg ttcggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa caggcggccg c (SEQ ID NO: 12)

В конкретных вариантах осуществления, антитело против В7Н3 представляет собой гуманизированное антитело. В конкретных вариантах осуществления, антитело против В7Н3 представляет собой гуманизированное антитело против В7Н3, описанное в Международной публикации патента No. WO2016/033225, полное содержание которой приведено в качестве ссылки. В конкретных вариантах осуществления, антитело против В7Н3 представляет собой гуманизированное антитело, реакционноспособное по отношению к В7–Н3, описанное в Патентах США No. 8802091 и 9441049, полное содержание обоих из которых приведено в качестве ссылки.

В конкретных вариантах осуществления, антитело против В7Н3 или его антигенсвязывающий фрагмент перекрестно конкурирует за связывание с В7Н3 с гуманизированным антителом против В7Н3, описанным в Международной публикации патента No. WO2016/033225. В конкретных вариантах осуществления, антитело против В7Н3 или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с тем же эпитопом на В7Н3, что и гуманизированное антитело против В7Н3, описанное в Международной публикации патента No. WO2016/033225.

В конкретных вариантах осуществления, антитело против В7Н3 или его антигенсвязывающий фрагмент перекрестно конкурирует за связывание с В7Н3 с гуманизированным антителом, реакционноспособным по отношению к В7–Н3, описанным в Патентах США No. 8802091 и 9441049. В конкретных вариантах осуществления, антитело против В7Н3 или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с тем же эпитопом на В7Н3, что и гуманизированное антитело, реакционноспособное по отношению к В7–Н3, описанное в Патентах США No. 8802091 и 9441049.

Например, и без ограничения, перекрестно конкурирующие антитела могут связываться с той же областью эпитопа, например, с тем же эпитопом, соседним эпитопом или перекрывающимся эпитопом, что и эталонное антитело (например, антитело 8Н9, гуманизированное антитело против В7Н3, описанное в Международной публикации патента No. WO2016/033225, или гуманизированное антитело, реакционноспособное по отношению к В7–Н3, описанное в Патентах США No. 8802091 и 9441049).

Такие перекрестно конкурирующие антитела можно идентифицировать на основании их способности перекрестно конкурировать с эталонным антителом в стандартных анализах связывания В7Н3. Например, анализ Вiasore, анализы ELISA или проточную цитометрию можно использовать для демонстрации перекрестной конкуренции с эталонным антителом. Способность тестируемого антитела ингибировать связывание эталонного антитела с В7Н3 (например, В7Н3 человека) показывает, что тестируемое антитело может конкурировать с эталонным антителом за связывание с В7Н3, и таким образом, связывается с той же областью эпитопа на В7Н3, что и эталонное антитело. В конкретных вариантах осуществления, перекрестно конкурирующее антитело

связывается с тем же эпитопом на В7Н3 (например, В7Н3 человека), что и эталонное антитело.

В неограничивающем примере конкурентного анализа, иммобилизованный антиген, например, полипептид В7Н3 (например, В7Н3 человека), можно инкубировать в растворе, содержащем первое меченое антитело, связывающее антиген, и второе немеченое антитело, подвергаемое тестированию по его способности конкурировать с первым антителом за связывание с антигеном. В конкретных вариантах осуществления, второе антитело может присутствовать в супернатанте гибридомы. В качестве контроля, иммобилизованный антиген инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, но не второе немеченое антитело. После инкубации в условиях, позволяющих связывание первого антитела с антигеном, избыток несвязанного антитела удаляют, и измеряют количество метки, ассоциированной с иммобилизованным антигеном. Если количество метки, ассоциированной с иммобилизованным антигеном, по существу, уменьшается, например, больше чем приблизительно на 50%, в тестируемом образце, по сравнению с контрольным образцом, тогда это указывает на то, что второе антитело конкурирует с первым антителом за связывание с антигеном. См. Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

В конкретных вариантах осуществления, перекрестно конкурирующее антитело имеет K_d приблизительно 5×10^{-7} М или менее, приблизительно 1×10^{-7} М или менее, приблизительно 5×10^{-8} М или менее, приблизительно 1×10^{-8} М или менее, приблизительно 5×10^{-9} М или менее, приблизительно 1×10^{-9} М или менее, приблизительно 5×10^{-10} М или менее, или приблизительно 1×10^{-10} М или менее, для В7Н3 (например, В7Н3 человека).

В конкретных вариантах осуществления, антитело против В7Н3 конъюгируют с радиоактивным изотопом для получения цитотоксических радиолекарственных средств, также обозначенных как радиоиммуноконъюгаты. Примеры радиоактивных изотопов, которые можно конъюгировать с антителами для диагностического или терапевтического использования, включают, но без ограничения, ^{211}At , ^{14}C , ^{51}Cr , ^{57}Co , ^{58}Co , ^{67}Cu , ^{152}Eu , ^{67}Ga , ^3H , ^{111}In , ^{59}Fe , ^{212}Pb , ^{177}Lu , ^{32}P , ^{223}Ra , ^{224}Ra , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{75}Se , ^{35}S , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{227}Th , ^{89}Zr , ^{90}Y , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I и испускающие альфа-излучение частицы. Неограничивающие примеры испускающих альфа-излучение частиц включают ^{209}Bi , ^{211}Bi , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{210}Po , ^{211}Po , ^{212}Po , ^{214}Po , ^{215}Po , ^{216}Po , ^{218}Po , ^{211}At , ^{215}At , ^{217}At , ^{218}At , ^{218}Rn , ^{219}Rn , ^{220}Rn , ^{222}Rn , ^{226}Rn , ^{221}Fr , ^{223}Ra , ^{224}Ra , ^{226}Ra , ^{225}Ac , ^{227}Ac , ^{227}Th , ^{228}Th , ^{229}Th , ^{230}Th , ^{232}Th , ^{231}Pa , ^{233}U , ^{234}U , ^{235}U , ^{236}U , ^{238}U , ^{237}Np , ^{238}Pu , ^{239}Pu , ^{240}Pu , ^{244}Pu , ^{241}Am , ^{244}Cm , ^{245}Cm , ^{248}Cm , ^{249}Cf и ^{252}Cf . В конкретных вариантах осуществления радиоактивные изотопы можно выбирать среди $^{94\text{m}}\text{Tc}$, ^{64}Cu , ^{68}Ga , ^{66}Ga , ^{76}Br , ^{86}Y , ^{82}Rb , $^{110\text{m}}\text{In}$, ^{13}N , ^{11}C и ^{18}F . Способы получения радиоиммуноконъюгатов разработаны в данной области. Примеры радиоиммуноконъюгатов являются коммерчески доступными, включая зевалинTM (IDEC Pharmaceuticals) и бексарTM (Corixa Pharmaceuticals), и сходные способы можно

использовать для получения радиоиммуноконъюгатов с использованием антител по изобретению.

Радиоактивно меченные средства на основе антител можно получать в соответствии с хорошо известными в данной области технологиями. Например, моноклональные антитела можно иодировать посредством контакта с иодидом натрия и/или калия и химическим окисляющим средством, таким как гипохлорит натрия, или ферментным окисляющим средством, таким как лактопероксидаза. Представленные средства на основе антител можно метить технецием-99m способом обмена лигандов, например, посредством восстановления пертехната с использованием содержащего олово раствора, хелатирования восстановленного технеция на колонке с Sephadex и нанесения антитела на эту колонку. В конкретных вариантах осуществления, представленные средства на основе антител метят с использованием способов прямого мечения, например, посредством инкубации пертехната, восстанавливающего средства, такого как SnCl_2 , буферного раствора, такого как раствор фталата натрия-калия, и антитела. Промежуточными функциональными группами, которые часто используют для связывания радиоактивных изотопов, которые существуют в виде ионов металлов, с антителом, являются диэтилентриаминпентауксусная кислота (DTPA) или этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), или 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота (DOTA), или п-аминобензил-DOTA (DOTA-Bn). Радиоактивные изотопы можно детектировать, например, посредством дозиметрии.

1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота (также известная как DOTA) представляет собой органическое соединение с формулой $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NCH}_2\text{CO}_2\text{H})_4$. Молекула состоит из центрального 12-членного тетрааза (т.е., содержащего четыре атома азота) кольца. DOTA используют в качестве комплексообразующего средства, особенно для ионов лантанидов. Ее комплексы имеют медицинские применения в качестве контрастных средств и лекарственных средств против злокачественных опухолей. Существует несколько форм DOTA, каждая из которых имеет различные константы кинетики и стабильности. Бифункциональные хелатирующие агенты могут связывать металлы и все еще обладать химически реакционноспособной функциональной группой для ковалентного присоединения к пептидам.

DOTA можно конъюгировать с моноклональными антителами посредством связывания одной из четырех карбоксильных групп в форме амида.

Триаминпентауксусная кислота или диэтилентриаминпентауксусная кислота (DTPA) представляет собой аминополикарбоновую кислоту, состоящую из диэтилентриаминового остова с пятью карбоксиметильными группами. DTPA имеет молекулярную формулу $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_{10}$ и наименование IUPAC 2-[бис[2-[бис(карбоксиметил)амино]этил]амино]уксусная кислота. DTPA представляет собой эдетат и хелатирующий агент, используемый для получения радиофармацевтических средств. DTPA может хелатировать группы металлов несвязанных, внеклеточных

радиоиммунотерапевтических средств, таким образом, вызывая агрегацию радиоиммунотерапевтических средств локально в более высоких концентрациях, и улучшая радиоцитотоксичность для клеток опухоли, в то же время защищая нормальные ткани от радиоцитотоксических эффектов. Кроме того, ДТРА используют в способах радиовизуализации в форме комплексов с радиоактивными изотопами. В качестве хелатирующего агента, ДТРА оборачивается вокруг иона металла посредством формирования вплоть до восьми связей. Переходные металлы обычно образуют менее восьми координационных связей, так что ДТРА все еще имеет способность связываться с другими реагентами после образования комплекса с этими металлами.

В конкретных вариантах осуществления, количество молекул DOTA или молекул ДТРА, использованное для конъюгации со средством на основе антител, выбрано из группы, состоящей из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 молекул DOTA, или молекул ДТРА. В конкретных вариантах осуществления, DOTA или ДТРА представляет собой промежуточную функциональную группу. В конкретных вариантах осуществления, радиоактивно меченное антитело содержит 2 или 3 молекулы DOTA или молекулы ДТРА.

Можно достигать высоко специфической активности с использованием DOTA-пептидов, радиоактивно меченных с использованием ^{90}Y , ^{111}In , ^{68}Ga и ^{177}Lu . Даже более высокой специфической активности можно достигать при радиоактивном мечении ДТРА-пептидов. Главным недостатком использования DOTA-пептидов является то, что включение радиоактивного металла требует нагревания и времени, в то время как ДТРА-пептиды можно радиоактивно метить при комнатной температуре. В то время как определенный уровень радиоактивности является необходимым для детекции поглощения в ткани-мишени посредством систем визуализации, можно вводить соответствующие низкие массовые дозы ДТРА-пептидов.

В конкретных вариантах осуществления радиоактивно меченное средство на основе антител представляет собой конъюгат ^{177}Lu -DOTA-8H9 или конъюгат ^{177}Lu -ДТРА-8H9, или (177)LU-CHX-A"-ДТРА-8H9.

В конкретных вариантах осуществления, субъекта-человека детского возраста подвергают лечению злокачественной опухоли, включая, но без ограничения, злокачественную опухоль, первичную для ЦНС или метастазирующую в ЦНС, посредством введения терапевтически эффективного количества ^{177}Lu -DOTA-8H9, ^{177}Lu -ДТРА-8H9 или (177)LU-CHX-A"-ДТРА-8H9. В конкретных родственных вариантах осуществления, ^{177}Lu -DOTA-8H9, ^{177}Lu -ДТРА-8H9 или (177)LU-CHX-A"-ДТРА-8H9 вводят в ЦНС субъекта-человека детского возраста.

3. Способы лечения

Антитела против B7H3 из описанного в настоящее время объекта изобретения можно вводить для терапевтического лечения субъекту-человеку (например, взрослому субъекту-человеку), страдающему злокачественной опухолью (например, злокачественной опухолью, первичной для ЦНС, или злокачественной опухолью, метастазирующей в ЦНС), в количестве, достаточном для предотвращения,

ингибирования или уменьшения прогрессирования злокачественной опухоли. Прогрессирование включает, например, рост, инвазивность, метастазирование и/или рецидив злокачественной опухоли.

В конкретных вариантах осуществления, антитела против B7H3 или их антигенсвязывающие фрагменты продлевают выживаемость субъекта, по сравнению с контрольным субъектом или контрольной популяцией субъектов, не подвергаемых указанному лечению. В конкретных вариантах осуществления, период выживаемости продлевают по меньшей мере приблизительно на 25 процентов или по меньшей мере приблизительно на 30 процентов, или по меньшей мере приблизительно на 50 процентов.

В конкретных вариантах осуществления, антитела против B7H3 или их антигенсвязывающие фрагменты продлевают ремиссию злокачественной опухоли у субъекта, по сравнению с контрольным субъектом или контрольной популяцией субъектов, не подвергаемых указанному лечению.

В конкретных вариантах осуществления, способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела против B7H3 или его антигенсвязывающего фрагмента (или его фармацевтической композиции) для получения противоракового эффекта у субъекта. В конкретных вариантах осуществления, «противораковый эффект» означает одно или несколько из: уменьшения агрегации массы клеток злокачественной опухоли, уменьшения скорости роста клеток злокачественной опухоли, уменьшения пролиферации клеток злокачественной опухоли, уменьшения массы опухоли, уменьшения объема опухоли, уменьшения пролиферации клеток злокачественной опухоли, уменьшения скорости роста клеток злокачественной опухоли или уменьшения метастазирования злокачественной опухоли. В конкретных вариантах осуществления, противораковый эффект представляет собой уменьшение количества клеток злокачественной опухоли. В конкретных вариантах осуществления, где злокачественная опухоль представляет собой солидную опухоль, противораковый эффект может представлять собой уменьшение размера опухоли и/или уменьшение скорости роста опухоли. В конкретных вариантах осуществления, противораковый эффект представляет собой уменьшение количества клеток NB в спинномозговой жидкости. В конкретных вариантах осуществления, противораковый эффект представляет собой уменьшение нагрузки агрегатов клеток злокачественной опухоли. В конкретных вариантах осуществления, противораковый эффект представляет собой уменьшение скорости пролиферации клеток и/или увеличение скорости гибели клеток. В конкретных вариантах осуществления, противораковый эффект представляет собой продление выживаемости. В конкретных вариантах осуществления, противораковый эффект представляет собой продление интервала до рецидива, по сравнению с контрольным субъектом или контрольной популяцией субъектов, не подвергаемых указанному лечению.

Терапевтически эффективное количество может зависеть от тяжести заболевания и общего состояния собственной иммунной системы субъекта. В конкретных вариантах

осуществления, антитело против В7Н3 или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгирован с радиоактивным изотопом, например, изотопами, описанными в настоящем описании (например, ^{131}I). В конкретных вариантах осуществления, терапевтически эффективное количество составляет от приблизительно 1 мКи до приблизительно 200 мКи, например, от приблизительно 1 мКи до приблизительно 10 мКи, от приблизительно 10 мКи до приблизительно 200 мКи, от приблизительно 10 мКи до приблизительно 160 мКи, от приблизительно 10 мКи до приблизительно 120 мКи, от приблизительно 10 мКи до приблизительно 100 мКи, от приблизительно 10 мКи до приблизительно 70 мКи, от приблизительно 10 мКи до приблизительно 50 мКи, от приблизительно 50 мКи до приблизительно 200 мКи, от приблизительно 100 до приблизительно 200 мКи, от приблизительно 100 мКи до приблизительно 120 мКи, от приблизительно 120 мКи до приблизительно 160 мКи, от приблизительно 50 мКи до приблизительно 100 мКи, от приблизительно 40 мКи до приблизительно 60 мКи, от приблизительно 60 мКи до приблизительно 80 мКи или от приблизительно 80 мКи до приблизительно 100 мКи. В конкретных вариантах осуществления, терапевтически эффективное количество составляет от приблизительно 40 мКи до приблизительно 60 мКи. В конкретных вариантах осуществления, терапевтически эффективное количество составляет приблизительно 10 мКи, приблизительно 20 мКи, приблизительно 30 мКи, приблизительно 40 мКи, приблизительно 50 мКи, приблизительно 60 мКи, приблизительно 70 мКи, приблизительно 80 мКи, приблизительно 90 мКи, приблизительно 100 мКи, приблизительно 110 мКи, приблизительно 120 мКи, приблизительно 130 мКи, приблизительно 140 мКи, приблизительно 150 мКи, приблизительно 160 мКи, приблизительно 170 мКи, приблизительно 180 мКи, приблизительно 190 мКи или приблизительно 200 мКи. В конкретных вариантах осуществления, терапевтически эффективное количество составляет приблизительно 50 мКи. В конкретных вариантах осуществления, терапевтически эффективное количество не превышает приблизительно 100 мКи. В конкретных вариантах осуществления, терапевтически эффективное количество не превышает приблизительно 50 мКи.

В конкретных вариантах осуществления, способ включает подвергание субъекта одному циклу лечения антителом против В7Н3 или его антигенсвязывающим фрагментом. В конкретных вариантах осуществления, способ включает подвергание субъекта вплоть до двух, вплоть до трех, вплоть до четырех или вплоть до пяти циклов лечения антителом против В7Н3 или его антигенсвязывающим фрагментом. В конкретных вариантах осуществления, способ включает подвергание субъекта двум циклам лечения антителом против В7Н3 или его антигенсвязывающим фрагментом. В конкретных вариантах осуществления, способ включает подвергание дополнительным циклам лечения (например, двум новым циклам лечения) пациента с рецидивом.

В конкретных вариантах осуществления, один цикл лечения включает дозу для лечения. В конкретных вариантах осуществления, доза для лечения составляет от приблизительно 1 мКи до приблизительно 100 мКи, например, от приблизительно 1 мКи

до приблизительно 10 мКи, от приблизительно 10 мКи до приблизительно 100 мКи, от приблизительно 10 мКи до приблизительно 40 мКи, от приблизительно 10 мКи до приблизительно 70 мКи, от приблизительно 10 мКи до приблизительно 50 мКи, от приблизительно 50 мКи до приблизительно 100 мКи, от приблизительно 40 мКи до приблизительно 60 мКи, от приблизительно 60 мКи до приблизительно 80 мКи или от приблизительно 80 мКи до приблизительно 100 мКи. В конкретных вариантах осуществления, доза для лечения составляет от приблизительно 40 мКи до приблизительно 60 мКи. В конкретных вариантах осуществления, доза для лечения составляет приблизительно 50 мКи. В конкретных вариантах осуществления, дозу для лечения вводят во время недели 1 одного цикла лечения. В конкретных вариантах осуществления, дозу для лечения вводят во время недели 2 одного цикла лечения.

В конкретных вариантах осуществления, один цикл лечения включает дозиметрическую дозу и дозу для лечения. В конкретных вариантах осуществления, дозиметрическая доза составляет от приблизительно 1 мКи до приблизительно 10 мКи, например, от приблизительно 1 мКи до приблизительно 3 мКи, от приблизительно 3 мКи до приблизительно 5 мКи, от приблизительно 5 мКи до приблизительно 7 мКи или от приблизительно 7 мКи до приблизительно 10 мКи). В конкретных вариантах осуществления, дозиметрическая доза составляет приблизительно 1 мКи, приблизительно 2 мКи, приблизительно 3 мКи, приблизительно 4 мКи, приблизительно 5 мКи, приблизительно 6 мКи, приблизительно 7 мКи, приблизительно 8 мКи, приблизительно 9 мКи или приблизительно 10 мКи. В конкретных вариантах осуществления, дозиметрическая доза составляет приблизительно 2 мКи. В конкретных вариантах осуществления, дозиметрическую дозу вводят до дозы для лечения. В конкретных вариантах осуществления, дозиметрическую дозу вводят во время недели 1 одного цикла лечения.

В конкретных вариантах осуществления, один цикл лечения дополнительно включает период наблюдения. В конкретных вариантах осуществления, период наблюдения продолжается в течение приблизительно 2 недель, и следует за дозой для лечения. В конкретных вариантах осуществления, один цикл лечения дополнительно включает оценки после лечения. В конкретных вариантах осуществления, оценки после лечения продолжаются в течение приблизительно 1 недели и следуют за периодом наблюдения.

В конкретных вариантах осуществления, лечение проводят после того, как субъекта подвергали лечению с использованием одного или нескольких других видов лечения злокачественных опухолей. В конкретных вариантах осуществления, вышеуказанное лечение проводят одновременно или последовательно, в то время как субъекта подвергают лечению с использованием одного или нескольких других видов лечения злокачественных опухолей. Примеры таких других видов лечения злокачественных опухолей включают, но без ограничения, хирургию, химиотерапию, ингибиторы контрольных точек и радиоактивное облучение.

В конкретных вариантах осуществления, субъекта подвергают второму циклу лечения, если для субъекта не показано никакого объективного прогрессирования заболевания (например, как определено посредством неврологического или радиографического обследования) после дозы для лечения в первом цикле лечения (например, приблизительно 4 недели после дозы для лечения в первом цикле лечения), и он не испытывал никакого неблагоприятного события степени 3 или 4 (например, как определено в Национальном институте онкологии США (NCI)). Неблагоприятное событие степени 3, как правило, определяют как «тяжелое и нежелательное неблагоприятное событие (значительные симптомы, требующие госпитализации или инвазивного вмешательства; трансфузии; планового радиологического вмешательства; терапевтической эндоскопии или операции)». Неблагоприятное событие степени 4, как правило, определяют как «угрожающее жизни или инвалидизирующее неблагоприятное событие (осложненное острыми, угрожающими жизни метаболическими или сердечно-сосудистыми осложнениями, такими как нарушение кровообращения, кровоизлияние, сепсис. Угрожающие жизни физиологические последствия; необходимость интенсивной терапии или неотложной инвазивной процедуры; неотложного радиологического вмешательства, терапевтической эндоскопии или операции)». Поддающиеся контролю лихорадка, головная боль, тошнота и рвота не являются неожиданными неблагоприятными событиями степени 3 или 4.

В конкретных вариантах осуществления, субъекту вводят вплоть до приблизительно 0,5 мг, вплоть до приблизительно 1 мг, вплоть до приблизительно 2 мг, вплоть до приблизительно 3 мг, вплоть до приблизительно 4 мг, вплоть до приблизительно 5 мг, вплоть до приблизительно 6 мг, вплоть до приблизительно 7 мг, вплоть до приблизительно 8 мг, вплоть до приблизительно 9 мг, вплоть до приблизительно 10 мг, вплоть до приблизительно 15 мг или вплоть до приблизительно 20 мг антитела против В7Н3 на цикл лечения. В конкретных вариантах осуществления, субъекту вводят по меньшей мере приблизительно 0,5 мг, по меньшей мере приблизительно 1 мг, по меньшей мере приблизительно 2 мг, по меньшей мере приблизительно 3 мг, по меньшей мере приблизительно 4 мг, или по меньшей мере приблизительно 5 мг антитела против В7Н3 на цикл лечения.

В конкретных вариантах осуществления, один цикл лечения продолжается приблизительно 1 неделю, приблизительно 2 недели, приблизительно 3 недели, приблизительно 4 недели, приблизительно 5 недель, приблизительно 6 недель, приблизительно 7 недель, приблизительно 8 недель, приблизительно 9 недель или приблизительно 10 недель. В конкретных вариантах осуществления, один цикл лечения продолжается приблизительно 5 недель.

В конкретных вариантах осуществления, объем спинномозговой жидкости, равный объему антитела против В7Н3, подлежащему инъекции, удаляют перед введением антитела против В7Н3. В конкретных вариантах осуществления, скорость инъекции не превышает 1 мл/мин в ходе введения антитела против В7Н3.

Расписания дозирования также можно менять в зависимости от состояния заболевания и статуса субъекта, и оно, как правило, лежит в диапазоне от однократной болюсной дозы или непрерывной инфузии до множественных введений в сутки, или как определяют лечащий терапевт и состояние субъекта.

Идентификация медицинских состояний, поддающихся лечению посредством антител против B7H3, полностью находится в пределах возможностей и знаний специалиста в данной области. Например, индивидуумы–люди, страдающие от первичных для ЦНС злокачественных опухолей или злокачественных опухолей, метастазирующих в ЦНС, являются подходящими для введения антитела против B7H3. Специалист в области клиники может легко определять, например, с использованием клинических тестов, физического обследования и медицинского/семейного анамнеза, является ли индивидуум кандидатом для такого лечения. В конкретных вариантах осуществления, злокачественная опухоль является метастазирующей в мягкую и паутинную оболочки мозга. В конкретных вариантах осуществления, злокачественная опухоль представляет собой солидную опухоль.

Неограничивающие примеры первичных для ЦНС злокачественных опухолей, которые можно подвергать лечению с использованием антитела против B7H3, включают пинеобластому, эпендимому, медуллобластому, хордому, астроцитому, глиобластому, атипичную тератоидно–рабдоидную опухоль (ATRT), эмбриональную опухоль с многослойными розетками (ETMR) и карциному хориоидного сплетения. В конкретных вариантах осуществления, злокачественная опухоль выбрана из группы, состоящей из пинеобластомы, эпендимомы, медуллобластомы, хордомы, астроцитомы и глиобластомы. В конкретных вариантах осуществления, злокачественная опухоль представляет собой солидную опухоль, например, пинеобластому, эпендимому, медуллобластому, астроцитому, глиобластому или хордому.

Неограничивающие примеры злокачественных опухолей, метастазирующих в ЦНС (например, метастазирующих в мягкую и паутинную оболочки мозга), которые можно подвергать лечению с использованием антитела против B7H3, включают саркому, ретинобластому, меланому, рак яичника, рабдомиосаркому, рак молочной железы и рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого (SCLC) и немелкоклеточный рак легкого (NSCLC)). В конкретных вариантах осуществления, злокачественная опухоль выбрана из группы, состоящей из меланомы, рака яичника, рабдомиосаркомы, рака молочной железы и рака легкого (например, мелкоклеточного рака легкого (SCLC) и немелкоклеточного рака легкого (NSCLC)). В конкретных вариантах осуществления, злокачественная опухоль представляет собой меланому. В конкретных вариантах осуществления, злокачественная опухоль представляет собой рак яичника.

В конкретных вариантах осуществления, злокачественная опухоль, которую можно подвергать лечению с использованием антитела против B7H3, представляет собой злокачественную опухоль, реакционноспособную по отношению к 8H9. Реакционноспособные по отношению к 8H9 злокачественные опухоли описаны в

Публикации патента США No. 2002/0102264, полное содержание которой приведено в качестве ссылки. Реакционноспособные по отношению к 8H9 злокачественные опухоли включают, но без ограничения, злокачественные опухоли из различных линий: нейроэктодермальной, мезенхимальной и эпителиальной.

Любой подходящий способ или путь можно использовать для введения антитела против В7Н3 или его антигенсвязывающего фрагмента в ЦНС. В конкретных вариантах осуществления, антитело против В7Н3 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят интратекально. В конкретных вариантах осуществления, антитело против В7Н3 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят посредством интравентрикулярного устройства. В конкретных вариантах осуществления, интравентрикулярное устройство представляет собой интравентрикулярный катетер. В конкретных вариантах осуществления, интравентрикулярное устройство представляет собой интравентрикулярный резервуар, например, но без ограничения, резервуар Оммайя. В конкретных вариантах осуществления, введение можно осуществлять посредством спинномозговой пункции или интрапаренхимально.

Антитела против В7Н3 можно вводить в форме композиции, кроме того, содержащей фармацевтически приемлемый носитель. Пригодные фармацевтически приемлемые носители включают, например, один или несколько из воды, солевого раствора, фосфатно-солевого буфера, декстрозы, глицерина, этанола и т.п., так же как их комбинации. Фармацевтически приемлемые носители могут дополнительно содержать незначительные количества вспомогательных веществ, таких как увлажняющие средства или эмульгаторы, консерванты или буферы, увеличивающие срок хранения или эффективность связывающих белков. Композиции для инъекций можно, как хорошо известно в данной области, составлять таким образом, чтобы обеспечивать быстрое, замедленное или отсроченное высвобождение активного ингредиента после введения млекопитающему.

В конкретных вариантах осуществления, субъектам вводят дополнительное терапевтическое средство. Неограничивающие примеры терапевтических средств включают химиотерапевтические средства, средства для ингибирования контрольных точек и радиотерапию. В конкретных вариантах осуществления, терапевтическое средство представляет собой моноклональное антитело 3F8 (MoAb 3F8), гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) или их комбинацию. Такие одно или несколько дополнительных терапевтических средств можно вводить в ЦНС и/или системно, либо одновременно, либо последовательно с нацеленными против В7Н3 антителами или антигенсвязывающими фрагментами, описанными в настоящем описании.

ПРИМЕРЫ

Описанный в настоящее время объект изобретения будет более понятным со ссылкой на следующие примеры, представленные для иллюстрации описанного в настоящее время объекта изобретения, а не для ограничения.

Пример 1: Способы лечения нейробластомы, метастазирующей в центральную нервную систему с использованием ^{131}I -8Н9.

Уровень техники

Нейробластому, метастазирующую в центральную нервную систему (NB ЦНС) является сложной для лечения и почти поголовно летальной (медианная выживаемость <6 месяцев, <10% выживаемость 36 месяцев). Интравентрикулярная компартментная радиоиммунотерапия (сRIT) с использованием меченного радиоактивным иодом моноклонального антитела ^{131}I -8Н9 предоставляет терапевтический способ уничтожения NB в спинномозговой жидкости.

Проводили клиническое исследование для демонстрации клинической эффективности ^{131}I -8Н9 сRIT для продления выживаемости субъектов с NB ЦНС.

Дизайн исследования и протокол лечения

Подходящие субъекты в Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSK) имели радиографическое или патологическое подтверждение NB ЦНС. Зарегистрированных субъектов подвергали либо (1) режиму терапии спасения ЦНС MSK на основе темозоламида/иринотекана, включающему ^{131}I -8Н9 сRIT плюс системной иммунотерапии, либо (2) не входящим в режим видам терапии с использованием ^{131}I -8Н9 сRIT. Данные представлены как общая выживаемость после диагноза метастазирования в ЦНС.

Один цикл лечения с использованием ^{131}I -8Н9 являлся следующим:

Неделя 1: ^{131}I -8Н9 (дозиметрическая доза: 2 мКи, тестовая доза для визуализации)

Неделя 2: ^{131}I -8Н9 (доза для лечения)

Недели 3 и 4: период наблюдения

Неделя 5: Повторная МРТ головы и позвоночника, цитология спинномозговой жидкости

Субъектов подвергали вплоть до двух циклов терапии ^{131}I -8Н9. Для измерения кумулятивной токсичности и фармакокинетики, и для оценки системного иммунного ответа на ^{131}I -8Н9 (например, антител человека против антител мыши), субъекты без объективного прогрессирования заболевания (как определено посредством неврологического или радиографического обследования), через 4 недели после последней интравентрикулярной инъекции и без неожиданной токсичности степени 3 или 4 (поддающиеся контролю лихорадка или головная боль, тошнота, рвота не включены), являлись подходящими для второй инъекции в таких же дозах, какие вводили во время первого цикла. Субъектов подвергали лечению по такому же плану и таким же обследованиям после лечения, после второй инъекции для лечения.

Результаты

Из 105 субъектов с NB ЦНС, допущенных в MSK, со времени начала протокола, 80 подвергали лечению с использованием ^{131}I -8Н9 сRIT, включая 57, завершивших полную терапию спасения ЦНС. Медианный возраст среди 80 субъектов, подвергнутых лечению с использованием ^{131}I -8Н9 сRIT, составлял 4,39 года.

Доза на начало лечения составляла 10 мКи ^{131}I -8Н9 на цикл для каждого субъекта, и уровни дозирования лежали в диапазоне до 80 мКи ^{131}I -8Н9. Восемидесяти субъектам, а именно, с метастазированием нейробластомы в ЦНС/LM, вводили дозы от 10 мКи до 70 мКи. Средняя специфическая активность составляла приблизительно 5 мКи/мг ^{131}I -8Н9 в диапазоне доз 10–50 мКи, и приблизительно 50 мКи/мг ^{131}I -8Н9 в диапазоне доз 50–100 мКи. Для субъектов в возрасте 3 года или менее проводили коррекцию дозы.

Из 19 субъектов с поддающимися оценке злокачественными опухолями, лечение с использованием ^{131}I -8Н9 вызывало по меньшей мере частичный ответ у 7 (36%) субъектов. При анализе, 45 (56%) из подвергнутых лечению с использованием ^{131}I -8Н9 субъектов были все еще живы через 4,8–152 месяцев (медиана 58 месяцев) после метастазирования в ЦНС, включая 36 (45%), которые выжили в течение по меньшей мере 36 месяцев, и 23 (29%) которые выжили в течение по меньшей мере 60 месяцев. Для сравнения, историческая популяция из 19 субъектов с NB ЦНС, подвергнутая лечению в MSK до того, как cRIT стала стандартом лечения в этом учреждении (1989–2003 гг.), выживала в течение между 2 суток и 44 месяцев (медиана 5,5 месяцев) после метастазирования в ЦНС, включая 2 (11%) которые выжили в течение по меньшей мере 36 месяцев, и ни одного выжившего дольше 44 месяцев. Анализ подгрупп субъектов, подвергнутых лечению с использованием ^{131}I -8Н9, идентифицировал возраст на время первоначального диагноза NB (<18 месяцев) и локализацию рецидивирующего заболевания (изолированную в ЦНС) как факторы, положительно коррелирующие с выживаемостью; ни амплификация онкогена MYCN, ни период времени регистрации для исследования, ни вспомогательное краниоспинальное облучение не являлись факторами, ассоциированными с выживаемостью у этих субъектов.

Заключения

76% субъектов с NB ЦНС, подвергнутых лечению в MSK, подвергали ^{131}I -8Н9 cRIT, и приблизительно половина завершила агрессивную терапию спасения ЦНС с использованием ^{131}I -8Н9 cRIT. Несмотря на поражение ЦНС на поздних стадиях, включая множественные паренхимальные массы, в присутствии или в отсутствие лептоменингеального заболевания, у 42% субъектов, более 50% субъектов, подвергнутых лечению с использованием ^{131}I -8Н9 cRIT, все еще живы, и около 50% выживали в течение по меньшей мере 36 месяцев. ^{131}I -8Н9 cRIT представляет значительное улучшение в лечении NB ЦНС, почти поголовно летального заболевания, для которого в настоящее время не существует удовлетворительной стандартной терапии.

Пример 2: Интратекальная радиоиммунотерапия с использованием ^{131}I -8Н9 против неоплазий центральной нервной системы/лептоменингеальных неоплазий (ЦНС/LM) у взрослых субъектов.

Тринадцать взрослых субъектов в возрасте старше 18 лет и имеющих неоплазии ЦНС/LM, подвергали лечению с использованием ^{131}I -8Н9 с использованием cRIT. Средний возраст этих тринадцати взрослых субъектов составлял 35,1 лет, в диапазоне от 19,4 до 53,5 лет. Диагнозы подвергнутых лечению тринадцати взрослых субъектов

включали первичные опухоли ЦНС (пинеобластома N=1, эпендимомы N=2, медуллобластома N=3, хордома N=1) и опухоли, метастазирующие в ЦНС (меланома N=3, рабдомиосаркома N=2 и рак яичника N=1).

Двух из 13 субъектов исключили из исследования после лечения дозиметрической дозой, из-за опасений, связанных с прогрессированием заболевания и соблюдением режима лечения. Остальных 11 взрослых субъектов подвергали лечению с использованием ^{131}I -8H9 cRIT в соответствии с протоколом, описанным в примере 1, с использованием доз для лечения между 10 мКи и 80 мКи. Пяти из 11 субъектов вводили вторую дозу для лечения, подвергая второму циклу терапии с использованием ^{131}I -8H9. В общем, средняя доза, вводимая 11 субъектам, составляла приблизительно 50 мКи, и суммарная доза лежала в диапазоне от приблизительно 10 до приблизительно 160 мКи.

Проверки МРТ после первой дозы для лечения показали радиографическое улучшение у 2 субъектов (где оба имели метастазирующую рабдомиосаркому); стабильное заболевание у трех субъектов; прогрессирующее заболевание у пяти субъектов; и один пациент не имел заболевания на входе в протокол. Среднее время выживаемости после лечения с использованием ^{131}I -8H9 cRIT составляло более одного года. Среди 11 взрослых субъектов, подвергнутых лечению с использованием ^{131}I -8H9 cRIT, один субъект был жив в течение 92 месяцев, один был жив в течение 17 месяцев, и два были живы в течение приблизительно 6 месяцев, после первой инъекции ^{131}I -8H9.

Хотя описанный в настоящее время объект изобретения описан в некоторых подробностях посредством иллюстрации и примера для целей простоты понимания, описания и примеры не следует рассматривать как ограничивающие объем описанного в настоящее время объекта изобретения. Полное содержание всей патентной и научной литературы, процитированной в настоящем описании, явно приведено в качестве ссылки.

Пример 3: Радиоиммунотерапия с использованием интравентрикулярного ^{131}I -8H9 у пациентов с экспрессирующими B7-H3 злокачественными новообразованиями центральной нервной системы: исследование фазы 1/2

Введение

Многие опухоли имеют известную предрасположенность к развитию метастазов в центральной нервной системе (ЦНС). Лечение остается сложнейшей задачей, и прогноз остается неблагоприятным, несмотря на агрессивную терапию (1, 2). Проникновение и накопление в головном мозге радиоактивно меченных опухолеспецифических моноклональных антител после конвекционной доставки или компартментного интравентрикулярного введения (cRIT) могут преодолевать препятствие гематоэнцефалического барьера и улучшать детекцию и лечение.(3–10) В клиническом исследовании фазы 1 в Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSK) показана осуществимость cRIT с использованием мышинового mAb против GD2 3F8, меченного иодом-131.(11)

8H9 представляет собой мышиноое mAb, специфическое для B7-H3, поверхностного иммуномодулирующего гликопротеина, распространенного на мембранах

клеток многих солидных опухолей у детей и взрослых.(12) После радиоактивного мечения иодом ^{124}I , 8Н9 можно использовать для оценки локализации и дозиметрии лекарственного средства с использованием позитронной эмиссионной томографии (РЕТ). После радиоактивного мечения иодом ^{131}I , 8Н9 может доставлять терапевтические дозы радиации и супрессировать опухоли у мышей.(13) Иод- ^{131}I испускает радиоактивное бета-излучение, которое проникает вплоть до 3 мм, вызывает повреждение ДНК и гибель клеток в связанных и соседних клетках опухолей и сосудистой сети опухоли. сRIT

Для улучшения неблагоприятного прогноза для первичных и метастазирующих опухолей центральной нервной системы (ЦНС), компартментную радиоиммунотерапию (сRIT) проводили с использованием интравентрикулярного введения меченного ^{124}I и ^{131}I -8Н9, нацеленного на В7-НЗ, в клиническом исследовании фазы 1/2.

Для улучшения неблагоприятного прогноза для первичных и метастазирующих опухолей центральной нервной системы (ЦНС), компартментную радиоиммунотерапию (сRIT) проводили с использованием интравентрикулярного введения меченного ^{124}I и ^{131}I 8Н9 нацеленного на В7-НЗ в клиническом исследовании фазы 1/2.

Пациенты и способы

Кратко, критерии отбора включали реакционноспособную применительно к В7-НЗ первичную или метастазирующую опухоль ЦНС, адекватный поток спинномозговой жидкости (CSF), токсичность для жизненно важных органов <степени 3, тромбоциты >50000/мкл и ANC >1000/мкл. Пациентам интравентрикулярно вводили 2 мКи ^{124}I - или ^{131}I -8Н9 для визуализации и 10–80мКи ^{131}I -8Н9 для лечения. Дозиметрия была основана на серийном отборе образцов CSF и крови, и сцинтиграфии в течение 48 часов. Отслеживающую магнитно-резонансную томографию проводили на неделе 5. Инъекции повторяли в отсутствие токсичности степени 3 или 4 или прогрессирующего заболевания. Отмечали ответ опухоли и общую выживаемость (OS).

Пациентов с рецидивирующими первичными или метастазирующими опухолями ЦНС регистрировали (2004–2017 гг.) для тестирования протокола MSK ^{131}I -8Н9 сRIT (clinicalstudies.gov NCT00089245). 8Н9 очищали и радиоактивно метили в MSK с использованием способа с иодогеном.(14) Средняя специфическая активность составляла ~5 мКи/мг ^{131}I -8Н9 в диапазоне дозирования 2–40 мКи и ~50 мКи/мг ^{131}I -8Н9 для терапевтических доз ≥ 50 мКи.

Информированное согласие получали от пациентов или опекунов. Критерии отбора включали реакционную способность В7-НЗ в опухоли по иммуногистохимии, стабильный неврологический статус, отсутствие обструктивной или симптоматической гидроцефалии, абсолютное количество нейтрофилов >1000/мкл, количество тромбоцитов >50000/мкл, билирубин в сыворотке <3,0 мг/дл и креатинин в сыворотке <2 мг/дл. Предшествующее очаговое или краниоспинальное облучение (CSI) или химиотерапия являлись допустимыми, но не <3 недель до регистрации. Положение устройства для постоянного интравентрикулярного доступа (например, катетера Омма), проходимость и поток CSF

оценивали посредством исследований предварительной обработки 111-индий-диэтилентриаминпентауксусной кислотой (ДТРА).

Клиническая оценка и оценка заболевания

Оценка до и после лечения включала подробный анамнез, физическое обследование, общий клинический анализ крови (СВС), комплексные профили, тесты функции щитовидной железы и анализ в CSF общего белка, глюкозы, количества клеток, цитологии. Всех пациентов подвергали исходным исследованиям магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного и спинного мозга в присутствии и в отсутствие гадолиния, в пределах 3 недель до и 1 месяца после сRIT. Для пациентов с нейробластомой, определение стадий проводили согласно Международной системе определения стадий нейробластомы. (15, 16) Нейробластому в ЦНС определяли как лептоменингеальное заболевание или накопления метастазов в паренхиме или твердой оболочке мозга ЦНС, исключая метастазы на основе черепной кости; оценка заболевания для пациентов с нейробластомой включала также ^{123}I -метаиодбензилгуанидин (MIBG), компьютерную томографию (СТ) первичного участка, и аспирации и биопсии костного мозга. После завершения сRIT ^{131}I -8H9, статус заболевания оценивали посредством МРТ головного и спинного мозга, и цитологии CSF приблизительно каждые 3 месяца, и включали сканирование СТ первичного участка, сканирования MIBG, оценки костного мозга для пациентов с нейробластомой.

Дозиметрические оценки

Пациентам вводили дозу для визуализации 2 мКи ^{124}I -8H9 или ^{131}I -8H9, с последующим отбором образцов CSF и крови, и 3 сканированиями PET или SPECT, соответственно, в течение 48 часов, для дозиметрической оценки перед терапевтическим дозированием. Определяли распределение и уровни радиоактивности на краниоспинальной оси, и дозы радиоактивного облучения для очагов заболевания и окружающих нормальных тканей. Воздействие радиоактивного облучения ^{131}I -8H9 на CSF, желудочки, спинной мозг, нормальный головной мозг и кровь были основаны на допущении полного локального поглощения радиоактивного бета-излучения ^{131}I . Ихмеренные аликвоты подсчитывали для оценки зависимого от времени уровня активности. Соответствующие данные зависимости активности от времени приводили в соответствие с экспоненциальными функциями и интегрировали для получения площади под кривыми (AUC) распада, представляющей кумулятивный уровень активности в крови и CSF, как описано ранее.(11)

Терапия с использованием ^{131}I -8H9

Для минимизации поглощения в щитовидной железе и для предотвращения возможной менингитной реакции, пациентов подвергали предварительному лечению с использованием пероральных капель SSKI, цитомеля и ацетаминофена до инъекций. Дексаметазон вводили при 1 мг дважды в сутки в 6 дозах (0,5 мг для пациентов массой менее 20 кг), начиная с вечера перед инъекциями.

Начальная доза для этой фазы в мКи выбрана как 10 мКи ^{131}I -8Н9, на основании доклинических исследований и исследования фазы 2 для еженедельных инъекций 10 мКи ^{131}I -3F8 (всего вплоть до 40 мКи), которые могли безопасно вводить. (24) Пациентам вводили однократную дозу 10–80 мКи ^{131}I -8Н9, 5 мКи/мг для уровней дозирования 1–4; 50 мКи/мг для уровней дозирования 5–8. Увеличения дозы составляли 10 мКи для каждого 3–6 пациентов. Предполагая миелосупрессию в этой подвергнутой тяжелому лечению популяции для доз > 50 мКи, с 2009 г., постоянную терапевтическую дозу 50 мКи ^{131}I -8Н9 вводили в расширяющейся когорте. Токсичность определяли посредством Общих критериев терминологии для неблагоприятных событий (CTCAE), версии 3.0, наблюдаемых в течение 5 недель после первого цикла. Если токсичность степени ≥ 3 возникала у ≥ 1 из 3 пациентов при данном уровне дозирования, еще 3 пациентов добавляли на этом уровне дозирования. Ограничивающую дозу токсичность (DLT) определяли как токсичность степени ≥ 3 , возникающую у 2 или более из 6 пациентов на уровне, при котором определяли, что максимальная переносимая доза (MTD) находится на один уровень дозирования ниже DLT. Миелосупрессию из-за заболевания или предшествующей терапии оценивали, но не включали в оценку MTD.

Коррекцию доз на основании возраста и соответствующего объема CSF, обычную практику для интратекально вводимых терапевтических средств, выполняли следующим образом: для пациентов в возрасте ≤ 12 месяцев проводили уменьшение дозы на 50%; для пациентов в возрасте 13–36 месяцев проводили уменьшение дозы на 33%; пациентам в возрасте >36 месяцев вводили полную дозу.

Радиографическая оценка заболевания ЦНС

Пациенты не обязательно должны были иметь поддающееся измерению заболевание на время входа в исследование. Большинство пациентов не имело поддающегося радиографической оценке заболевания, имея недавно завершённую радиотерапию, хирургию и/или химиотерапию спасения. Радиографические изображения проверял получивший профессиональную сертификацию в MSK специалист в области нейрорадиологической диагностики. Поскольку недавняя инициатива по Оценке ответа в нейроонкологии при метастазировании в головном мозге (RANO-BM) не была внедрена на время начала исследования, оценки радиографического улучшения рассчитывали как время до первого доказательства радиографического улучшения (уменьшения размера поддающегося измерению паренхимального заболевания или улучшения применительно к усилению для пациентов с лептоменингеальным заболеванием) со времени начала лечения ^{131}I -8Н9²³. Графики типа «дорожек бассейна» получали для пациентов с поддающимся оценке заболеванием для отображения времени (в неделях) до первого доказательства радиографического улучшения, продолжительности участия пациента в исследовании или в отслеживании и статуса выживаемости. Длительность ответа оценивали посредством расчета времени до последней радиографической оценки заболевания ЦНС со времени начала лечения ^{131}I -8Н9.

Статистические оценки

Пациентов подвергали лечению в расширяющейся когорте на основании гипотезы и пилотных данных, что введение ^{131}I -8Н9 cRIT приводит к улучшению выживаемости (25). Данные выживаемости рассчитывали, начиная со времени диагноза рецидива в ЦНС. Получали графики Каплана–Мейера для оценки общей выживаемости, медианной выживаемости и 95% доверительных интервалов (SAS, Cary, NC). Графики Каплана–Мейера получали для представляющих интерес подгрупп, чтобы оценить влияние конкретных факторов на общую выживаемость, включая гистологический диагноз, возраст, количество предшествующих рецидивов и статус заболевания при входе в исследование. Анализ Мантеля–Кокса проводили для оценки прогностической значимости: количества введенных инъекций, общего количества мКи доставленного ^{131}I -8Н9 и суммарной дозы ^{131}I -8Н9, доставленного в CSF.

Подвергнутые предшествующему лечению пациенты детского возраста с метастазами нейробластомы в ЦНС

Девятнадцать пациентов с нейробластомой в ЦНС подвергали лечению в MSK до начала протокола лечения ^{131}I -8Н9 cRIT. Эту группу и сообщения о выживаемости в литературе использовали в качестве сравнительных групп в анализе выживаемости для пациентов с нейробластомой, подвергнутых лечению с использованием ^{131}I -8Н9.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Демографические данные и дозирование для пациентов, подвергнутых лечению с использованием ^{131}I -8Н9 cRIT

134 пациентов подвергали лечению с использованием 412 инъекций cRIT ^{124}I -8Н9 и ^{131}I -8Н9. Медианный возраст на время первой инъекции cRIT составлял 8,5 лет (диапазон 1,2–53,5 лет). Диагнозы включали метастазирующую нейробластому в ЦНС (n=93), саркому (n=6), меланому (n=4), карциному яичников (n=1) и первичные рецидивирующие злокачественные новообразования в ЦНС, включая медуллобластому/PNET (n=15), эпендимому (n=9), эмбриональную опухоль с многослойными розетками (n=2), рабдоидную опухоль (n=1), хордому (n=1), и карциному хориоидного сплетения (n=2) (таблица 1). Двух пациентов исключили перед терапевтической дозой из-за прогрессирующего заболевания (нейробластома, N=1) и несоблюдения режима лечения (эпендимомы, N=1). 37 пациентов подвергали лечению в фазе увеличения дозы 10–80 мКи ^{131}I -8Н9 (10 мКи n=7, 20 мКи n=3, 30 мКи n=6, 40 мКи n=3, 50 мКи n=3, 60 мКи n=4, 70 мКи n=6, 80 мКи n=5). Оставшихся 95 пациентов подвергали лечению в расширяющейся когорте с постоянным уровнем дозирования 50 мКи ^{131}I -8Н9.

Профиль неблагоприятных событий

Пациентов подвергали лечению общепринятым способом в состоянии бодрствования, у постели больного, при непосредственном содействии группы педиатрии, ядерной медицины и радиационной безопасности, в амбулаторных условиях. Пациенты испытывали редкие, имеющие степень 1 или 2, временные головную боль, лихорадку, рвоту (не требующие лечения, поддающиеся контролю с использованием ацетаминофена,

противорвотных средств). Наиболее распространенным неблагоприятным событием являлась миелосупрессия степени 3 или 4 у пациентов с предшествующим краниоспинальным облучением, недостаточным костномозговым резервом (<100000 тромбоцитов при входе в исследование (таблица 2), и ее наблюдали в первую очередь у пациентов, которым вводили >50 мКи ^{131}I -8Н9. Миелосупрессию предполагали в этой подвергнутой тяжелому лечению популяции пациентов и таким образом, отмечали, но исключали в качестве ограничивающей дозу токсичности. Из 132 пациентов, 73 (59%) вводили 4 инъекции, как планировали (2 дозиметрических и 2 полных терапевтических дозы). Пациентов не подвергали циклу #2 из-за прогрессирующего заболевания ($n=29$), длительной миелосупрессии ($n=20$), острого химического менингита ($n=3$), возникновения субдуральных скоплений с измененным потоком CSF ($n=2$), миелодисплазии ($n=2$) и самоотвода ($n=1$). Химический менингит не наблюдали ни у одного из пациентов в цикле #1, однако, наблюдали при повторном лечении после третьей инъекции у 3 пациентов, с проявлениями острой головной боли, лихорадки, рвоты и плеоцитоза стерильной CSF; все представляли собой не требующие лечения события, подвергнутые лечению с использованием поддерживающей терапии и разрешившиеся в течение нескольких суток. Не достигнуто не относящейся к миелосупрессии DLT (таблица 2).

Дозиметрический анализ

Восемьдесят девять пациентов подвергали дозиметрическим измерениям посредством отбора образцов CSF и ^{131}I -8Н9 SPECT; 45 пациентов подвергали дозиметрическим измерениям посредством ^{124}I -8Н9 PET. Изменение изотопа и ядерного сканирования было основано на доступности обоих изотопов и ограничений бюджета, где ^{124}I -8Н9 PET значительно дороже. Благоприятное терапевтическое окно наблюдали посредством отбора образцов CSF и крови для обоих способов. Наблюдали изменчивость между пациентами для суммарной поглощенной дозы в CSF посредством отбора образцов CSF; средняя поглощенная доза в CSF для всей когорты составляла 104,9 сГр/мКи, по сравнению с поглощенной дозой в крови 2,6 сГр/мКи. Средняя суммарная поглощенная доза в CSF составляла 3368,8 сГр (диапазон 677–13143 сГр) посредством отбора образцов CSF. Среднее выведение из CSF составляло 6,7 часов. Средняя суммарная терапевтическая доза ^{131}I -8Н9, вводимая пациентам с нейробластомой, составляла 67,2 мКи (19,6–104,9 мКи). 65 пациентам, оцениваемым по суммарной дозе, доставляемой в CSF, вводили суммарную дозу в CSF >2100 сГр, включая 24, которым вводили только 1 терапевтическую дозу. Как правило, изображения, определяющие представляющую интерес область, имели самое высокое качество после ^{124}I -8Н9 PET, по сравнению с ^{131}I -8Н9 SPECT, и имели меньшую изменчивость между пациентами, по сравнению с отбором образцов CSF.

Анализ подгрупп нейробластомы

93 пациентам с метастазирующей нейробластомой в ЦНС вводили 188 индикаторных и терапевтических инъекций, (16 в группе увеличения дозы; 77 в расширяющейся когорте); 46 пациентам (50%) вводили однократную терапевтическую

инъекцию; 47 пациентам (50%) вводили 2 терапевтических инъекции. Во время рецидива нейробластомы в ЦНС, пациентов подвергали биопсии или хирургической операции по уменьшению объема опухоли, когда это было целесообразно, с последующей радиотерапией и химиотерапией. График Каплана–Мейера общей выживаемости для пациентов, подвергнутых лечению с использованием ^{131}I -8Н9, по сравнению с пациентами с нейробластомой в ЦНС после предшествующей сRIT в MSK, представлен на фигуре 1. Пациентов анализировали в 2 группах: пациентов группы 1 подвергали полной терапии ЦНС и системной направленной терапии, включая радиотерапию, темозоломид/иринотекан, сRIT ^{131}I -8Н9, плюс системной иммунотерапии с использованием внутривенного MoAb 3F8 и GMCSF, как описано ранее (13). Пациентов группы 2 подвергали лечению с использованием всех других видов терапии и сRIT ^{131}I -8Н9 (фигура 2).

Из 93 пациентов, подвергнутых лечению с использованием ^{131}I -8Н9 сRIT, 42 (53%) оставались живыми от времени метастазирования в ЦНС до даты окончания (диапазон: 4,8–152,4 месяцев). Из 93 пациентов, 98% выживали в течение по меньшей мере 6 месяцев, 88% выживали в течение по меньшей мере 12 месяцев, 71% выживали в течение по меньшей мере 36 месяцев, и 51% выживали в течение более 60 месяцев. Медианная выживаемость пациентов, подвергнутых лечению с использованием ^{131}I -8Н9 сRIT, составляла 31,8 (3,8–170,1) месяцев (95% доверительный интервал [CI] нижний предел: 35,2 месяцев). По сравнению с этим, из 19 пациентов после предшествующей сRIT в MSK, 6 (32%) выживали в течение по меньшей мере 6 месяцев, 4 (21%) выживали в течение по меньшей мере 12 месяцев, 2 (11%) выживали в течение более 36 месяцев, и ни один не выживал до 60 месяцев. Общая выживаемость в контрольной когорте MSK лежала в диапазоне от 2 суток до 44,1 месяцев, с оцененной медианной выживаемостью 5,5 месяцев (95% CI: 1,1–8,7 месяцев).

Восемнадцать из 93 пациентов (47%) умерли по причинам, связанным с рецидивом заболевания ЦНС – либо рецидивом только в ЦНС (11 пациентов), либо рецидивом в ЦНС и системным рецидивом (7 пациентов). Шестнадцать пациентов (42%) умерли от рецидива системного заболевания. Четыре пациента (11%) умерли по причинам, отличным от нейробластомы. Доля пациентов, смерть которых не была связана с рецидивом заболевания ЦНС (20/38, 53%), предоставляет дополнительное доказательство эффективности терапии ^{131}I -8Н9 при лечении нейробластомы в ЦНС. Эти пациенты выживали в течение вплоть до 89,8 месяцев после их исходного лечения ^{131}I -8Н9, без рецидива заболевания ЦНС. Одиннадцать выживали в течение более одного года, и четверо выживали в течение по меньшей мере 2 лет после начала терапии ^{131}I -8Н9.

Результаты для грудных детей с нейробластомой в ЦНС

У восемнадцати пациентов с нейробластомой, первоначально диагностированной в возрасте менее 18 месяцев, развилось метастазирование в ЦНС; 12 (66%) имели опухоли с амплификацией MYCN. У пациентов развивалась нейробластома в ЦНС в форме рецидива в участке заболевания (N=13) или в условиях невосприимчивой системной

нейробластомы (N=5). У трех пациентов развилась симптоматическая нейробластома, прогрессировала, и они умерли от системной нейробластомы (N=2) или нейробластомы в ЦНС (n=1) до начала сRIT131I-8H9. Из оставшихся 15, 12 подвергали плану спасения ЦНС, включающему радиотерапию, химиотерапию и сRIT131I-8H9. Общая выживаемость после сRIT 131I-8H9 являлась заметно продленной для этой подгруппы молодых пациентов, по сравнению с пациентами, первоначально диагностированными в возрасте более 18 месяцев ($p=0,0096$;) (фигура 3). Двенадцать пациентов оставались длительно выживающими в течение в среднем 6,3 лет (1,6–11,8 лет) со времени детекции заболевания ЦНС (фигура 3), включая одного пациента, имевшего сотни метастазирующих масс нейробластомы в текальном пространстве (фигура 5).

Эффективность ^{131}I -8H9 сRIT на основании радиографической оценки у пациентов с нейробластомой в ЦНС

Из 93 пациентов, подвергнутых лечению с использованием ^{131}I -8H9 сRIT, 21 (23%) имели радиографическое доказательство заболевания ЦНС/LM на время их подвергания начальному лечению ^{131}I -8H9. На фигурах 4А–4В представлено обобщение в таблице результатов радиографической оценки этих пациентов после начального лечения. Из них, для 9 (43%) показано радиографическое улучшение (уменьшение размера индексного очага и/или уменьшение лептоменингеального усиления), и для 9 пациентов (43%) показано стабильное заболевание на время начальной радиографической оценки. Дополнительное объективное доказательство длительного клинического преимущества терапии ^{131}I -8H9 можно получить посредством анализа длительности радиографической стабильности. В то время как медианная выживаемость для 93 пациентов, подвергнутых лечению с использованием ^{131}I -8H9 (58 месяцев), значительно превосходила медианную выживаемость исторической группы пациентов (5,5 месяцев), значительное улучшение выживаемости может не обязательно коррелировать с длительной, стойкой ремиссией заболевания. Лечение с использованием ^{131}I -8H9 индуцировало длительный ответ у значительного количества пациентов. Медианная длительность радиографического ответа, на основании доступных данных, составляет 49 недель (95% CI: 32,1–73,7 недель) с диапазоном от 2,6 недель до 676 недель (13 лет). Однако, оценка медианной длительности радиографического ответа, вероятно, значительно занижена, поскольку многие пациенты выживали долго после последней даты их сканирования. Независимо от этого, медианная длительность радиографического ответа на лечение ^{131}I -8H9 (11,3 месяцев) превосходила историческую медианную выживаемость 5,5 месяцев (фигуры 4А–4В).

Анализ подгрупп и эффект на общую выживаемость

Существует несколько факторов, которые потенциально могут влиять на выживаемость, которые могут не быть охвачены анализом общей выживаемости, включая известные демографические и генетические факторы риска, характеристики заболевания на время входа в исследование, количество рецидивов до ^{131}I -8H9 и дополнительные виды терапии, проводимые после сRIT 8H9. Для определения эффекта, который эти факторы

риска оказывают на общую выживаемость пациентов, подвергнутых лечению с использованием ^{131}I -8Н9, проводили анализы подгрупп.

Для когорты нейробластомы, несколько факторов риска являлись систематически ассоциированными с прогрессированием нейробластомы и общей выживаемостью, включая возраст при постановке диагноза, стадию INSS и статус амплификации MYCN. В то время как возраст при постановке начального диагноза является прогностическим, общая выживаемость пациентов с опухолями с амплификацией MYCN не являлась ($p=0,2490$). Определяли, существует ли какое-либо различие в выживаемости пациентов на основании того, когда проводили лечение (т.е., в первой половине срока исследования [от 2004 г. до 2009 г.], по сравнению с второй половиной [от 2010 г. до настоящего времени]). Не присутствовало различий в выживаемости пациентов с нейробластомой в ЦНС, подвергнутых лечению в ранний период времени, по сравнению с более недавно подвергнутыми лечению пациентами с нейробластомой в ЦНС ($p=0,8851$). CSI до ^{131}I -8Н9 cRIT не оказывало никакого эффекта на общую выживаемость у этих пациентов ($p=0,9343$). Не присутствовало также статистических различий, когда проводили CSI при 21 Гр, по сравнению с CSI при 18 Гр (фигура 6). Отмечено также отсутствие статистических различий выживаемости среди пациентов, которым вводили >50 мКи ^{131}I -8Н9 или которым вводили >2100 сГр в CSF, посредством отбора образцов CSF. Для пациентов, которым вводили 2 терапевтических инъекции ^{131}I -8Н9, отмечена тенденция к улучшенной выживаемости, хотя статистически не значимая ($p=0,08$).

Для другой когорты пациентов наблюдали продление выживаемости у 6/15 пациентов с рецидивирующей медуллобластомой, 3/9 пациентов с рецидивирующей эпендимомой, 2 пациентов с эмбриональной опухолью с многослойными розетками и 1 пациента с рецидивирующей карциномой хорионидного сплетения (таблица 4).

В общем, 134 пациентам (93 с нейробластомой, 11 с другими опухолями вне ЦНС и 30 с первичными опухолями в ЦНС) вводили 412 инъекции. Средняя поглощенная доза составляла 104,9 сГр/мКи в CSF и 2,6 сГр/мКи в крови. Острая токсичность являлась ограниченной. Хотя и не ограничивающая дозу токсичность, миелосупрессия степени 3 или 4 отмечена у пациентов с предшествующей краниоспинальной радиотерапией и в дозах ≥ 60 мКи ^{131}I -8Н9. Улучшенная OS отмечена для когорты нейробластомы, по сравнению с OS, опубликованной для общепринятых способов терапии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Нацеливание на семейство регуляторов контрольных точек B7 находится на переднем крае исследования злокачественных опухолей, при этом надежные доказательства показывают ключевую регуляторную роль B7-H3 в пролиферации T-клеток. Экспрессия B7-H3 является значимо ассоциированной с неблагоприятным исходом при некоторых злокачественных опухолях, и сверхэкспрессия является уникальной для злокачественных опухолей, по сравнению с нормальными тканями человека. Представлены полные данные (настолько длительные, как за 13 лет) для хорошо переносимого режима на основе cRIT, включающего компартментное введение

радиоактивно меченного антитела против В7–Н3, для неизлечимых эмбриональных опухолей в популяции пациентов детского возраста. Благоприятный профиль неблагоприятных событий, терапевтический индекс и продленная выживаемость для нескольких подвергнутых лечению гистологических диагнозов, включая рецидивирующую нейробластому в ЦНС, медуллобластому, эпендимому, карциному хориоидного сплетения и эмбриональную опухоль с многослойными розетками, являются необычайно вдохновляющими. сRIT с использованием интравентрикулярного введения ^{124}I –8Н9 и ^{131}I –8Н9 кажется безопасной, с поддающимися контролю случаями острой токсичности, даже в популяции очень молодых, подвергнутых тяжелому предшествующему лечению пациентов. Цитотоксичность для клеток опухоли приписывают непосредственному эффекту радиоактивного излучения ^{131}I , хотя существует возможность, что вторичная основа механизма успешного уничтожения клеток микроскопических опухолей может быть частично обусловлена активацией комплемента посредством 8Н9 при размещении в CSF. Показано, что компоненты комплемента C3 и C5b–9 присутствуют в CSF после интравентрикулярного введения ритуксимаба при рецидивирующей лимфоме в ЦНС.(17) Более недавнее доказательство позволяет предполагать, что сосудистая сеть диффузных опухолей имеет сверхэкспрессию В7–Н3; нацеливание на сосудистую сеть опухоли может обеспечивать дополнительное терапевтическое преимущество.

Прогноз для пациентов детского возраста с рецидивирующей нейробластомой в ЦНС, как исторически, так и в настоящее время, с учетом доступных в настоящее время вариантов терапии, остается неблагоприятным. Ожидаемая выживаемость, опубликованная во многих центрах и странах, как правило, не превышает 6 месяцев, и длительная выживаемость, превосходящая 3 года, встречается менее, чем у 10% пациентов.(18–20) Историческая когорта пациентов из настоящего исследования соответствовала этим предшествующим исследованиям, в которых опубликованы короткие периоды времени выживаемости и неблагоприятные прогнозы после метастазирования в ЦНС. Медианная общая выживаемость пациентов, подвергнутых лечению в MSK до начала сRIT в 2004 г., составляла 5,5 месяцев; только 2 из 19 пациентов выживали в течение по меньшей мере 36 месяцев, и ни один не выживал дольше 44 месяцев. Независимо от терапии или географического местонахождения пациента, эти количества значительно не изменялись в течение последних четырех десятилетий. Введение сRIT ^{131}I –8Н9 представляет собой важное продвижение в лечении этого заболевания, с значительным улучшением медианной общей выживаемости и излечения.

Поскольку количество выживших после нейробластомы в ЦНС увеличивается в течение нескольких лет, существовала цель минимизации известных видов риска, ассоциированного с краниоспинальным облучением у детей младшего возраста, наиболее важно, нейрокогнитивного дефицита, эндокринопатий и задержки роста. Данные позволяют предполагать, что для степени нейрокогнитивного дефицита (т.е., мягкой,

умеренной или тяжелой) показаны паттерны зависимости ответа от дозы (11). Эта тенденция, кроме того, показывает, что комбинация краниоспинального облучения и cRIT является способной уничтожать обширные лептоменингеальные скопления, не поддающиеся хирургическому удалению. Половину пациентов в когорте терапии спасения cRIT подвергали лечению с использованием CSI при 2160 сГр, стандартной дозы, вводимой для локального контроля первичных опухолей нейробластом. С 2009 г., поскольку целевое количество сГр, доставляемое посредством cRIT, увеличилось, дозу CSI уменьшили до 1800 сГр, что представляет половину пациентов в этой когорте. Данные не показали существенного уменьшения терапевтического эффекта для комбинации наружной дистанционной радиотерапии при 1800 сГр и cRIT. Кроме того, из-за предшествующей радиотерапии при первоначальном диагнозе, чрезвычайно молодого возраста или выбора родителей, 5 пациентов подвергали CSI при <18 Гр, все еще сохраняя длительный контроль заболевания в ЦНС. Несмотря на то, что ее начали проводить только совсем недавно, радиотерапия с использованием пучка протонов может являться дополнительным способом минимизации долгосрочной заболеваемости, доставляя значительно меньшую дозу радиоактивного облучения к здоровой ткани, по сравнению с общепринятым лечением с использованием фотонов. Уменьшенная доза краниоспинального облучения с целью контроля обширного паренхимального и нодулярного лептоменингеального заболевания, и cRIT, нацеленная на микрометастазы нейробластомы, могут являться достаточными для продления выживаемости.

Исследование дополнительно сфокусировано на определении оптимального количества сГр, доставляемого в CSF посредством cRIT ^{131}I -8Н9, для полного уничтожения скоплений микрометастазов. Поскольку пациентов первоначально регистрировали для исследования фазы I с ^{131}I -8Н9, доза 8Н9 менялась. Всех более поздних пациентов регистрировали для расширенной когорты фазы II с единообразной терапевтической дозой 50 мКи ^{131}I -8Н9. Несмотря на то, что средняя доза для красного костного мозга являлась довольно постоянной у всех пациентов, доза в сГр/мКи, доставляемая посредством cRIT в CSF, являлась очень изменчивой. Это, вероятно, является отражением изменчивых скоростей потока CSF, на основании предшествующих хирургии, радиоактивного облучения, присутствия или отсутствия обширных очагов, которые все приводят к присущим им различиям потока CSF перед cRIT. Поскольку большинство пациентов подвергали лечению с использованием cRIT против укрупнения микрометастазов, фракцию инъецированного антитела, необходимую для уничтожения неопластических очагов, также сложно оценить. Кроме того, другие исследования иммуно-PET у пациентов с метастазированием в головном мозге показывают, что поглощение антитела может являться очень изменчивым даже в различных очагах у одного и того же пациента (12). Не обнаружено различий в выживаемости для пациентов, которым вводили >50 мКи ^{131}I -8Н9, или для пациентов, которым вводили >2100 сГр в CSF, посредством отбора образцов CSF. Это позволяет предполагать, что более высокая

доза cRIT может не являться необходимой, если не учитывать более низкую одновременную дозу CSI.

Предприняты усилия для идентификации того, какие пациенты подвержены риску развития рецидивирующего заболевания ЦНС. Факторы риска включают диагностическую люмбарную пункцию при начальном диагнозе нейробластомы и амплификацию MYCN. (19, 20) Идентификация геномных мутаций, управляющих процессом метастазирования, является сложной задачей. При анализе SNP пар опухолей из метастазов в ЦНС и их первичных опухолей вне ЦНС, обнаружено только небольшое количество специфических и повторяющихся различий в областях генома.(21) Однако, для серий из 13 метастазов нейробластомы в ЦНС с соответствующими первичными опухолями, авторы изобретения ранее показали, что miR-29a может являться биомаркером метастазирования в ЦНС; понижающая регуляция может играть ключевую роль в прогрессировании в ЦНС.(22) Известные онкомишени для miR-29a включали CDC6, CDK6 и DNMT3A, и B7-H3. Обнаружено, что эти мишени имели более высокую дифференциальную экспрессию в метастазах в головном мозге, чем в парных им первичных опухолях.(22) Профилактическое лечение с использованием хорошо переносимой терапии на основе cRIT для пациентов с высоким риском рецидива является предметом, требующим исследования.

cRIT с использованием ^{131}I -8H9 является безопасной, имеет благоприятную дозиметрию в CSF и крови, и является многообещающей для улучшения прогноза для злокачественных новообразований, затрагивающих ЦНС. Метастазирующие в ЦНС опухоли можно полностью уничтожать, устраняя участок-убежище злокачественного новообразования. Интравентрикулярную радиоиммунотерапию можно успешно включать в способы излечивающего лечения для некоторых гистологических образований у детей, включая нейробластому в ЦНС. Эти данные поддерживают роль для других опухолей, включая рецидивирующую медуллобластому, эпендимому, карциномы хориоидного сплетения, эмбриональную опухоль с многослойными розетками. В общем, для 60% пациентов с метастазированием нейробластомы в ЦНС достигают долгосрочной ремиссии, включая 33% пациентов с множественными паренхимальными метастазами. Преимущество для выживаемости наблюдали для пациентов с опухолями со сверхэкспрессией B7-H3, подвергнутых лечению с использованием направленной на ЦНС терапии cRIT ^{131}I -8H9.

Таблица 1: Гистологические диагнозы.

ДИАГНОЗ	Количество пациентов	Количество пациентов в фазе 1 (10–80 мКи)	Количество пациентов в расширенной когорте (50 мКи)	Количество инъекций
Нейробластома	93*	16	77	293
Медуллобластома/PNET	15	6	9	29
Эпендимома	9+	4	5	37
ETMR	2	1	1	4

Саркома	6	3	3	18
Меланома	4	3	1	9
Другие (АТРТ, карцинома хориоидного сплетения, карцинома яичников, ретинобластома)	5	3	2	22
ВСЕГО	134 **	36	98	412

*Один пациент исключен из-за прогрессирования заболевания до введения терапевтической инъекции

+ Один пациент исключен из-за несоблюдения режима лечения до введения терапевтической инъекции

**132 переведены на терапевтические инъекции

Таблица 2: Профиль неблагоприятных событий по гистологии

ДИАГНОЗ	Кол.	Возможное или вероятное неблагоприятное событие (СТС 3.0)	Миелосупрессия (кол., %) (ст. 3 или 4)
Нейробластома	93	Миелосупрессия ст. 3 или 4 (ANC, hgb, тромбоциты) (83) Реакция гиперчувствительности ст. 4 (1) ALT/AST ст. 3 (5) Химический менингит ст. 3 (3) MDS/AML ст. 4 (5)	83 (89%)
Медуллобластома/PNET	15	Миелосупрессия ст. 3 или 4 (6) Химический менингит ст. 4 (1)	6 (43%)
Эпендимома	9	Миелосупрессия ст. 3 или 4 (3)	3(33%)
ЕТМР	2	Миелосупрессия ст. 3 или 4 (2)	2(100%)
Саркома	6	Миелосупрессия ст. 3 или 4 (3) AML ст. 4 (1)	3 (50%)
Меланома	4	Миелосупрессия ст. 3 (2) Тошнота ст. 3 (1) Гипокалиемия ст. 3 (1)	2 (50%)
Другие (АТРТ, карцинома хориоидного сплетения, карцинома яичников, ретинобластома)	5	MDS/AML ст. 4 (1)	
ВСЕГО	132		

Таблица 3: Характеристики когорты НЕЙРОБЛАСТОМЫ.

		N=93
--	--	------

Возраст на время первоначального диагноза, лет	Медиана (лет, диапазон)	2,98 (1 сутки–12 лет)
Возраст на время первой инъекции cRIT, лет	Медиана (лет, диапазон)	4,65 (16 месяцев–13 лет)
Стадия на время первоначального диагноза	4	90
	3, 4s	3
НЕЙРОБЛАСТОМА с амплификацией MYCN		46 (49%)
Лечение с использованием краниоспинального облучения при диагнозе заболевания в ЦНС		
	>2160 cГр	3 (3%)
	2160 cГр	30 (32%)
	1800 cГр	44 (47%)
	<18 cГр	7 (8%)
	Только очаговое или отсутствие CSI	9 (10%)
Полное радиоактивное облучение ЦНС, химиотерапия и cRIT–8H9 (группа 1)		64 (69%)
cRIT–8H9 и все другие виды терапии (группа 2)		29 (31%)
# рецидивов до cRIT 8H9	0	55 (59%)
	1	18 (19%)
	2	1 (1%)
	3	0
	4	1 (1%)
	Невосприимчивая системная	17 (18%)
Тип заболевания ЦНС	Одноочаговая паренхимальная масса	54 (58%)
	Многоочаговые паренхимальные	21 (23%)

	массы	
	Лептоменингеальное	9 (10%)
	Паренхимальное+лептоменингеальное	9 (10%)
Симптоматическая НЕЙРОБЛАСТОМА в ЦНС		59 (63%)
Статус при подвергании лечению с использованием сRIT 8H9:	Стабильное поддающееся оценке заболевание	21 (23%)
	Радиографическая/цитологическая ремиссия	72 (77%)

Числа представляют частоты с процентами в скобках, если не указано иное

Таблица 4: Выживаемость для других эмбриональных злокачественных новообразований и других злокачественных новообразований в ЦНС

Диагноз	Количество пациентов	Общая выживаемость (месяцы)
Медуллобластома	15	8,2 (1–100)
Эпендимома	9	13,3 (2,8–117)
ЕТМР	2	34 (2053)
Саркома	6	10 (0,7–46)
Меланома	4	5 (0,6–7,3)
Другие (АТРТ, СРР, карцинома яичника, РВ, хордома)	5	9,3–98

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wiens AL, Hattab EM. The pathologic spectrum of solid CNS metastases in the pediatric population. J Neurosurg Pediatr 2014, 14 (2): 129–135.
2. De B, Kinnaman MD, Wexler LH, Kramer K, Wolden SL. Central nervous system relapse of rhabdomyosarcoma. Pediatr Blood Cancer. 2018 Jan;65(1). doi: 10.1002/pbc.26710. Epub 2017 Jul 11.
3. Pizzo ME, Wolak DJ, Kumar NN, Brunette E, Brunnquell CL, Hannocks MJ, Abbott NJ, Meyerand ME, Sorokin L, Stanimirovic DB, Thorne RG. Intrathecal antibody distribution in the rat brain: surface diffusion, perivascular transport and osmotic enhancement of delivery. J Physiol. 2018 Feb 1;596(3):445–475. doi: 10.1113/JP275105. Epub 2017 Dec 18
4. Convection–Enhanced Delivery for Diffuse Intrinsic Pontine Glioma Treatment. Zhou Z, Singh R, Souweidane MM. Curr Neuropharmacol. 2017;15(1):116–128.
5. Kramer K, Smith–Jones PM, Humm JL, Zanzonico P, Pandit–Taskar N, Carrasquillo J, Modak S, Tickoo S, Gerald WL, Dunkel IJ, Khakoo Y, Gilheaney SW, Souweidane MM, Larson SM, and Cheung NKV. Radioimmunotherapy for High–Risk and Recurrent Central Nervous System (CNS) Cancers: Results of a Phase II Study with intra–Ommaya ¹³¹I–3F8. NeuroOncology 2010; 12(6): ii48

6. Kramer K, Kushner BH, Modak S, Pandit-Taskar N, Smith-Jones P, Zanzonico P, Humm JL, Xu H, Wolden SL, Souweidane MM, Larson SM, Cheung NK. Compartmental intrathecal radioimmunotherapy: results for treatment for metastatic CNS neuroblastoma. *J Neurooncol* 2010;97(3):409–187.
7. Mehta AI, Choi BD, Ajay D, Raghavan R, Brady M, Friedman AH, Pastan I, Bigner DD, Sampson JH. Convection enhanced delivery of macromolecules for brain tumors. *Curr Drug Discov Technol*. 2012 Dec;9(4):305–10.
8. Pizer BL, Papanastassiou V, Moseley R, Tzanis S, Hancock JP, Kemshead JT, et al. Meningeal Leukemia and Medulloblastoma – Preliminary Experience with Intrathecal Radioimmunotherapy. *Antibody Immunoconj*. 1991;4(4):753–61.
9. Bigner DD, Brown MT, Friedman AH, Coleman RE, Akabani G, Friedman HS, et al. Iodine-131-labeled antitenascin monoclonal antibody 81C6 treatment of patients with recurrent malignant gliomas: phase I study results. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1998;16(6):2202–12.
10. Cokgor I, Akabani G, Friedman HS, Friedman AH, Zalutsky MR, Zehngebot LM, et al. Long term response in a patient with neoplastic meningitis secondary to melanoma treated with (131)I-radiolabeled antichondroitin proteoglycan sulfate Mel-14 F(ab')(2): a case study. *Cancer*. 2001;91(9):1809–13.
11. Kramer K, Humm JL, Souweidane MM, Zanzonico PB, Dunkel IJ, Gerald WL, et al. Phase I study of targeted radioimmunotherapy for leptomeningeal cancers using intra-Ommaya 131-I-3F8. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2007;25(34):5465–70.
12. Modak S, Kramer K, Gultekin SH, Guo HF, Cheung NK. Monoclonal antibody 8H9 targets a novel cell surface antigen expressed by a wide spectrum of human solid tumors. *Cancer Res*. 2001;61(10):4048–54.
13. Modak S, Guo HF, Humm JL, Smith-Jones PM, Larson SM, Cheung NK. Radioimmunotargeting of human rhabdomyosarcoma using monoclonal antibody 8H9. *Cancer Biother Radiopharm*. 2005;20(5):534–46.
14. Miraldi FD, Nelson AD, Kraly C, Ellery S, Landmeier B, Coccia PF, et al. Diagnostic imaging of human neuroblastoma with radiolabeled antibody. *Radiology*. 1986;161(2):413–8.
15. Brodeur GM, Seeger RC, Barrett A, Berthold F, Castleberry RP, D'Angio G, et al. International criteria for diagnosis, staging, and response to treatment in patients with neuroblastoma. *J Clin Oncol*. 1988;6(12):1874–81.
16. Monclair T, Brodeur GM, Ambros PF, Brisse HJ, Cecchetto G, Holmes K, et al. The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) Staging System: An INRG Task Force Report. *Journal of Clinical Oncology*. 2009;27(2):298–303.
17. Kadoch C, Li J, Wong VS, Chen L, Cha S, Munster P, et al. Complement activation and intraventricular rituximab distribution in recurrent central nervous system lymphoma. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2014;20(4):1029–41.

18. Kellie SJ, Hayes FA, Bowman L, Kovnar EH, Langston J, Jenkins JJ, 3rd, et al. Primary extracranial neuroblastoma with central nervous system metastases characterization by clinicopathologic findings and neuroimaging. *Cancer*. 1991;68(9):1999–2006.
19. Kramer K, Kushner B, Heller G, Cheung NK. Neuroblastoma metastatic to the central nervous system. The Memorial Sloan–Kettering Cancer Center Experience and A Literature Review. *Cancer*. 2001;91(8):1510–9.
20. Matthay KK, Brisse H, Couanet D, Couturier J, Benard J, Mosseri V, et al. Central nervous system metastases in neuroblastoma: radiographic, clinical, and biologic features in 23 patients. *Cancer*. 2003;98(1):155–65.
21. Cobrinik D, Ostrovnaya I, Hassimi M, Tickoo SK, Cheung IY, Cheung NK. Recurrent pre-existing and acquired DNA copy number alterations, including focal TERT gains, in neuroblastoma central nervous system metastases. *Genes, chromosomes & cancer*. 2013;52(12):1150–66.
22. Cheung IY, Farazi TA, Ostrovnaya I, Xu H, Tran H, Mihailovic A, et al. Deep MicroRNA sequencing reveals downregulation of miR-29a in neuroblastoma central nervous system metastasis. *Genes, chromosomes & cancer*. 2014;53(10):803–14.
23. Alexander BM, Brown PD, Ahluwalia MS, Aoyama H, Baumert BG, Chang SM, Gaspar LE, Kalkanis SN, Macdonald DR, Mehta MP, Soffietti R, Suh JH, van den Bent MJ, Vogelbaum MA, Wefel JS, Lee EQ, Wen PY; Response Assessment in Neuro–Oncology (RANO) group. Clinical trial design for local therapies for brain metastases: a guideline by the Response Assessment in Neuro–Oncology Brain Metastases working group. *Lancet Oncol*. 2018 Jan;19(1):e33–e42. doi: 10.1016/S1470–2045(17)30692–7.
24. Kramer K, Pandit–Taskar N, Humm JL, Zanzonico PB, Haque S, Dunkel IJ, Wolden SL, Donzelli M, Goldman DA, Lewis JS, Lyashchenko SK, Khakoo Y, Carrasquillo JA, Souweidane MM, Greenfield JP, Lyden D, De Braganca KD, Gilheeney SW, Larson SM, Cheung NKV. A phase II study of radioimmunotherapy with intraventricular ¹³¹I–3F8 for medulloblastoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2017 Sep 22. doi: 10.1002/pbc.26754. (PMID: 28940863)
25. Kramer K, Kushner BH, Modak S, Pandit–Taskar N, Smith–Jones P, Zanzonico P, Humm JL, Xu H, Wolden SL, Souweidane MM, Larson SM, Cheung NK. Compartmental intrathecal radioimmunotherapy: results for treatment for metastatic CNS neuroblastoma. *Journal of Neurooncology*, 97:409–418, 2010. (PMID: 19890606)

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения злокачественной опухоли центральной нервной системы (ЦНС) у субъекта–человека, включающий введение в ЦНС субъекта терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, специфически связывающего В7Н3 человека, где злокачественная опухоль представляет собой первичную злокачественную опухоль центральной нервной системы (ЦНС) или злокачественную опухоль, метастазирующую в ЦНС, и антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгируют с радиоактивным изотопом и/или терапевтической группой.

2. Способ по п.1, где субъект–человек является взрослым.

3. Способ по п.1 или 2, где злокачественная опухоль является метастазирующей в мягкую и паутинную оболочки мозга.

4. Способ по любому из пп.1–3, где злокачественная опухоль, метастазирующая в ЦНС, представляет собой солидную опухоль вне ЦНС.

5. Способ по п.4, где солидная опухоль выбрана из группы, состоящей из саркомы, меланомы, рака яичника и рабдомиосаркомы.

6. Способ по п.5, где солидная опухоль выбрана из группы, состоящей из меланомы, рака яичника и рабдомиосаркомы.

7. Способ по любому из пп. 1–6, где злокачественная опухоль центральной нервной системы (ЦНС) выбрана из группы, состоящей из нейробластомы и первичных рецидивирующих злокачественных новообразований ЦНС.

8. Способ по любому из пп. 1–7, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент выбран из группы, состоящей из мышинных антител или их антигенсвязывающих фрагментов, гуманизированных антител и их антигенсвязывающих фрагментов, химерных антител и их антигенсвязывающих фрагментов, и человеческих антител и их антигенсвязывающих фрагментов.

9. Способ по п.8, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой мышинное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

10. Способ по любому из пп. 1–9, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает FG–петлю В7Н3.

11. Способ по любому из пп. 1–10, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(a) CDR1 варибельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3,

(b) CDR2 варибельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 4,

(c) CDR3 варибельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5,

(d) CDR1 варибельной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 6,

(е) CDR2 варибельной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7, и

(ф) CDR3 варибельной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 8.

12. Способ по любому из пп. 1–11, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(а) варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 1, и

(б) варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 2.

13. Способ по любому из пп. 1–12, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят интратекально субъекту.

14. Способ по любому из пп. 1–13, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят субъекту посредством интравентрикулярного устройства.

15. Способ по п.14, где интравентрикулярное устройство представляет собой интравентрикулярный катетер.

16. Способ по п.14, где интравентрикулярное устройство представляет собой интравентрикулярный резервуар.

17. Способ по любому из пп. 1–16, где радиоактивный изотоп представляет собой ^{124}I , ^{131}I , ^{177}Lu или $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

18. Способ по любому из пп. 1–17, включающий подвергание субъекта одному циклу лечения антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

19. Способ по любому из пп. 1–18, включающий подвергание субъекта двум циклам лечения антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

20. Способ по п.18 или 19, где один цикл лечения включает дозиметрическую дозу и дозу для лечения.

21. Способ по любому из пп. 1–20, где терапевтически эффективное количество составляет от приблизительно 10 мКи до приблизительно 200 мКи или от приблизительно 10 мКи до приблизительно 100 мКи.

22. Способ по любому из пп. 1–21, где терапевтически эффективное количество составляет приблизительно 50 мКи.

23. Способ по любому из пп. 1–22, где способ продлевает выживаемость субъекта.

24. Способ по любому из пп. 1–23, где способ продлевает ремиссию злокачественной опухоли у субъекта.

25. Способ по любому из пп. 1–24, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 99% или приблизительно 100% гомологии с аминокислотной последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 17.

26. Способ по любому из пп. 1–25, где антитело или его антигенсвязывающий

фрагмент содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17.

27. Способ по любому из пп. 1–26, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет аминокислоты 224–241 из SEQ ID NO: 17.

28. Способ по любому из пп. 1–26, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет аминокислоты 242–267 из SEQ ID NO: 17.

29. Способ по любому из пп. 1–28, где терапевтическое средство выбрано из группы, состоящей из одного или нескольких хелатообразующих соединений, одного или нескольких химиотерапевтических средств, одного или нескольких средств, ингибирующих контрольные точки, и радиотерапии.

30. Способ по п.29, где терапевтическое средство представляет собой хелатообразующее соединение.

31. Способ по п.29 или 30, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с хелатообразующим соединением, связанным с радиоактивным изотопом.

32. Способ по любому из пп. 29–31, где хелатообразующее соединение представляет собой DOTA или DTPA.

33. Способ по п.29, где терапевтическое средство представляет собой моноклональное антитело 3F8 (MoAb 3F8), гранулоцитарно–моноцитарный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) или их комбинацию.

34. Способ по любому из пп. 1–33, где терапевтическое средство вводят в ЦНС субъекта и/или системно субъекту.

35. Способ по любому из пп. 1–34, где терапевтическое средство вводят субъекту одновременно или последовательно с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

36. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, специфически связывающие B7H3 человека, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с хелатообразующим соединением, связанным с радиоактивным изотопом.

37. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п.36, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент выбраны из группы, состоящей из мышинных антител и их антигенсвязывающих фрагментов, гуманизированных антител и их антигенсвязывающих фрагментов, химерных антител и их антигенсвязывающих фрагментов, и человеческих антител и их антигенсвязывающих фрагментов.

38. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п.36 или 37, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой мышинное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

39. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–38, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает FG–петлю B7H3.

40. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–39, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

а. CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную

последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3,

b. CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 4,

c. CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5,

d. CDR1 вариабельной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 6,

e. CDR2 вариабельной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7, и

f. CDR3 вариабельной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 8.

41. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–40, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 1, и

(b) вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 2.

42. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–41, где радиоактивный изотоп представляет собой ^{124}I , ^{131}I , ^{177}Lu или $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

43. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–42, где хелатообразующее соединение представляет собой DOTA или DTPA

44. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–43, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 99% или приблизительно 100% гомологии с аминокислотной последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 17.

45. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–44, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17.

46. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–45, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет аминокислоты 224–241 из SEQ ID NO: 17.

47. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–46, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет аминокислоты 242–267 из SEQ ID NO: 17.

48. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–47, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой конъюгат DOTA–8H9 или конъюгат DTPA–8H9.

49. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–48, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой конъюгат ^{177}Lu –

DOTA-8H9 или конъюгат ^{177}Lu -DTPA-8H9, или (177)LU-CHX-A"-DTPA-8H9.

50. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–49, где его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv).

51. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п.50, где scFv содержит часть аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 13, и SEQ ID NO: 14.

52. Композиция, содержащая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–51.

53. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–51 и фармацевтически приемлемый носитель.

54. Способ визуализации опухоли у субъекта, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 36–51.

55. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–51 для применения в качестве лекарственного средства.

56. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–51 для применения в лечении злокачественной опухоли.

57. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–51 для применения в лечении злокачественной опухоли центральной нервной системы (ЦНС).

58. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–51 для применения в лечении метастазирующих в ЦНС нейробластомы, саркомы, меланомы, карциномы яичников и первичных рецидивирующих злокачественных новообразований ЦНС.

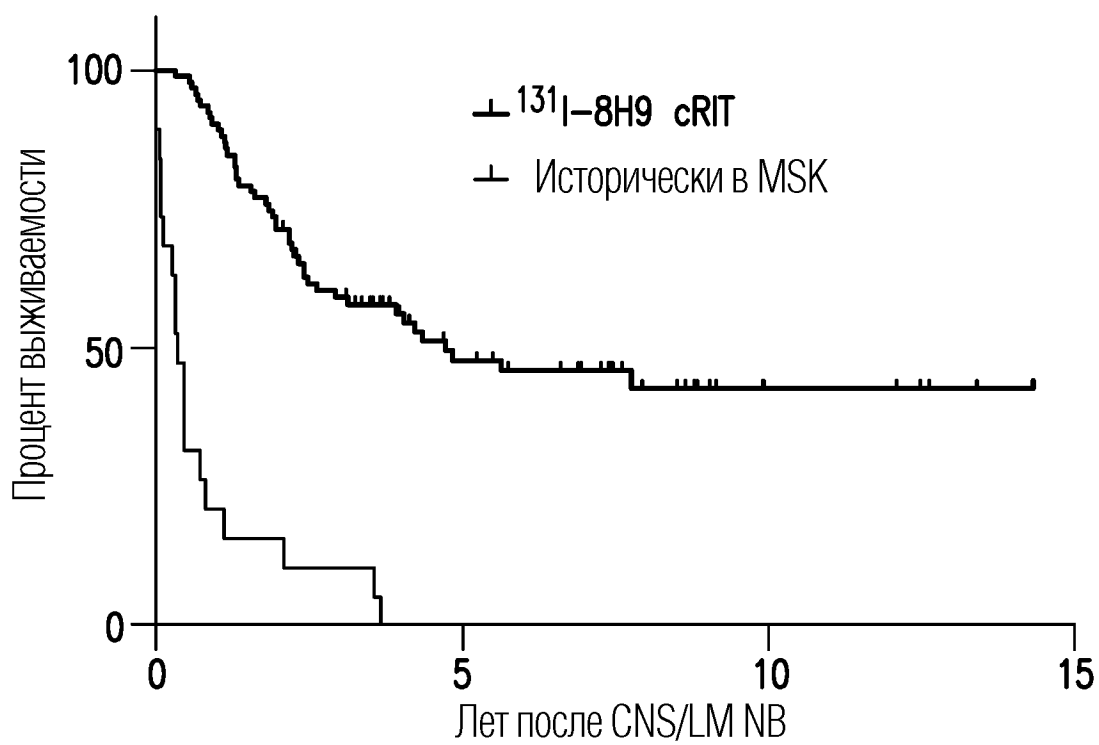
59. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–51 для применения в способе визуализации опухоли у субъекта.

60. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 36–51 для применения в способе по любому из пп. 1–35.

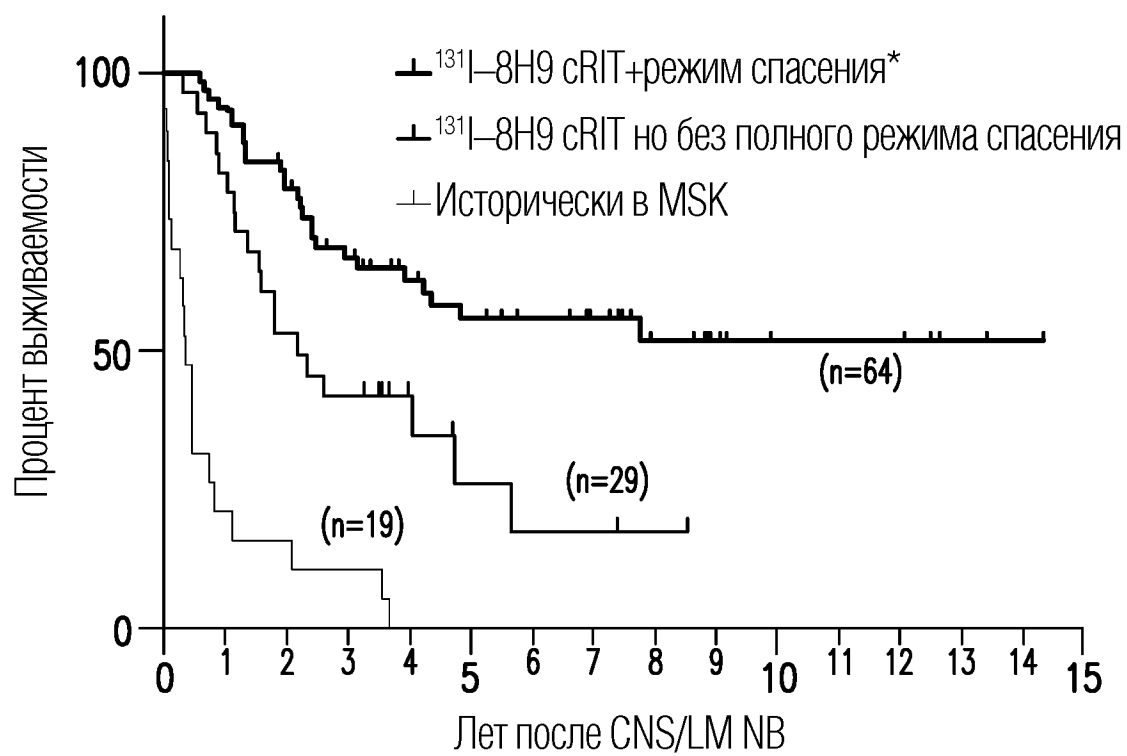
61. Применение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 36–51 для получения лекарственного средства для уничтожения и/или уменьшения количества клеток опухоли, и/или ингибирования роста опухоли.

62. Применение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 36–51 для получения лекарственного средства для визуализации клеток опухолей, несущих антиген, узнаваемый антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

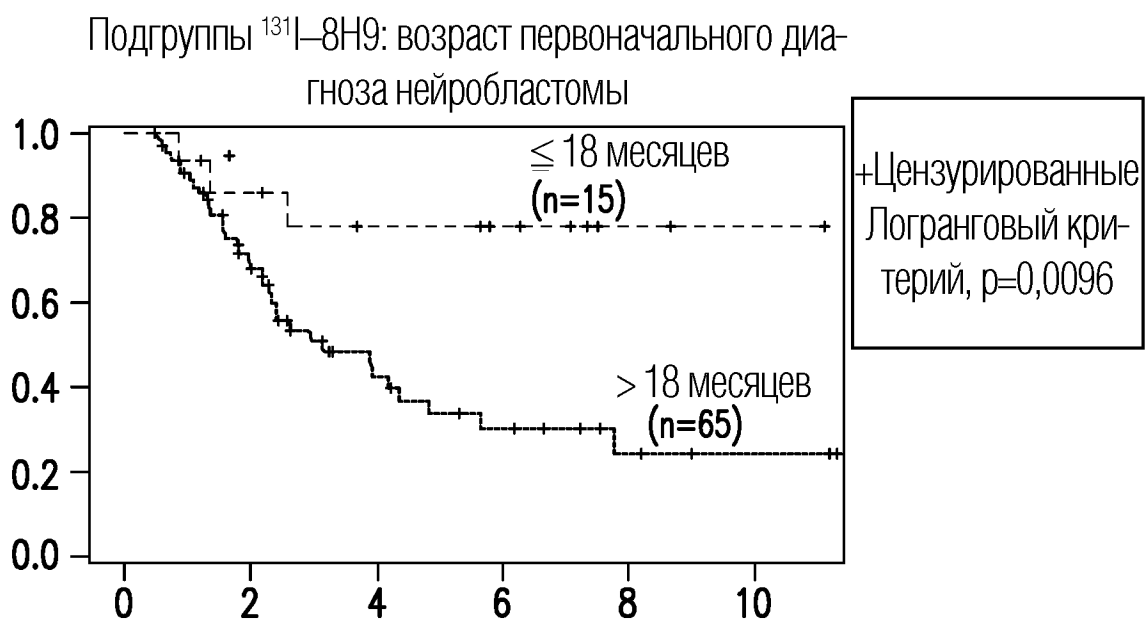
63. Применение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 36–51 для получения лекарственного средства для способа по любому из пп. 1–35.



ФИГ. 1

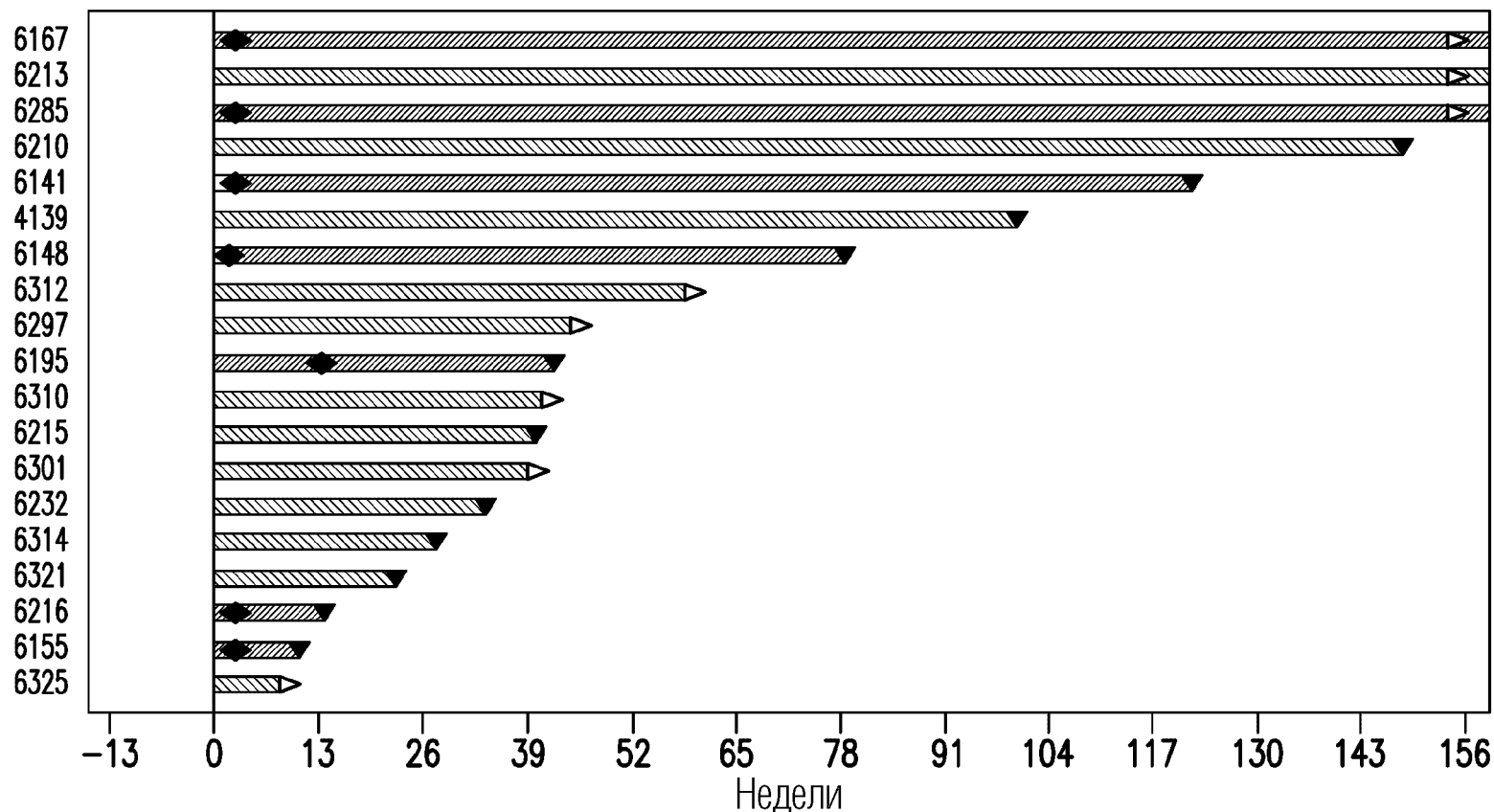


ФИГ. 2



ФИГ. 3

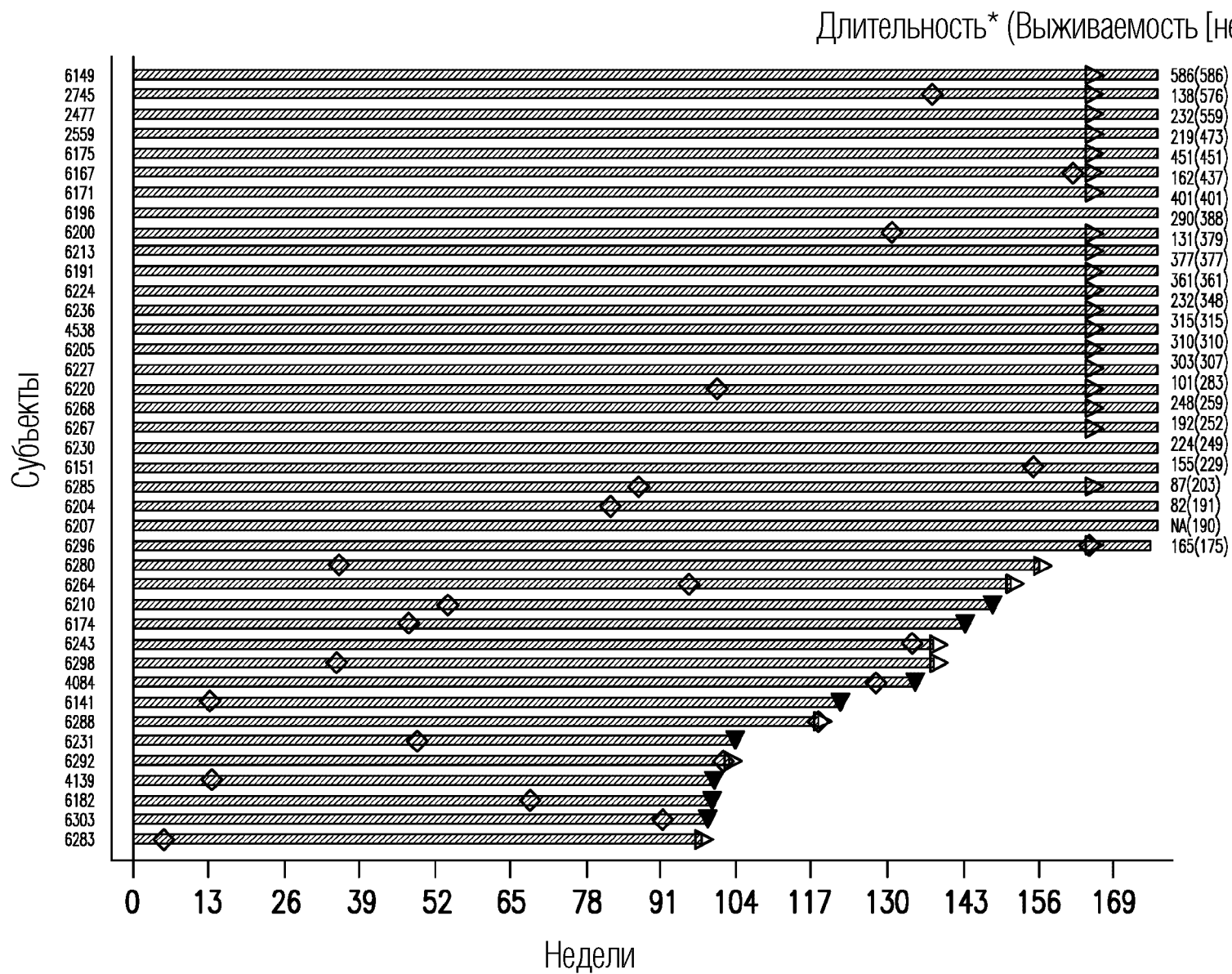
Субъекты с поддающимся измерению заболеванием

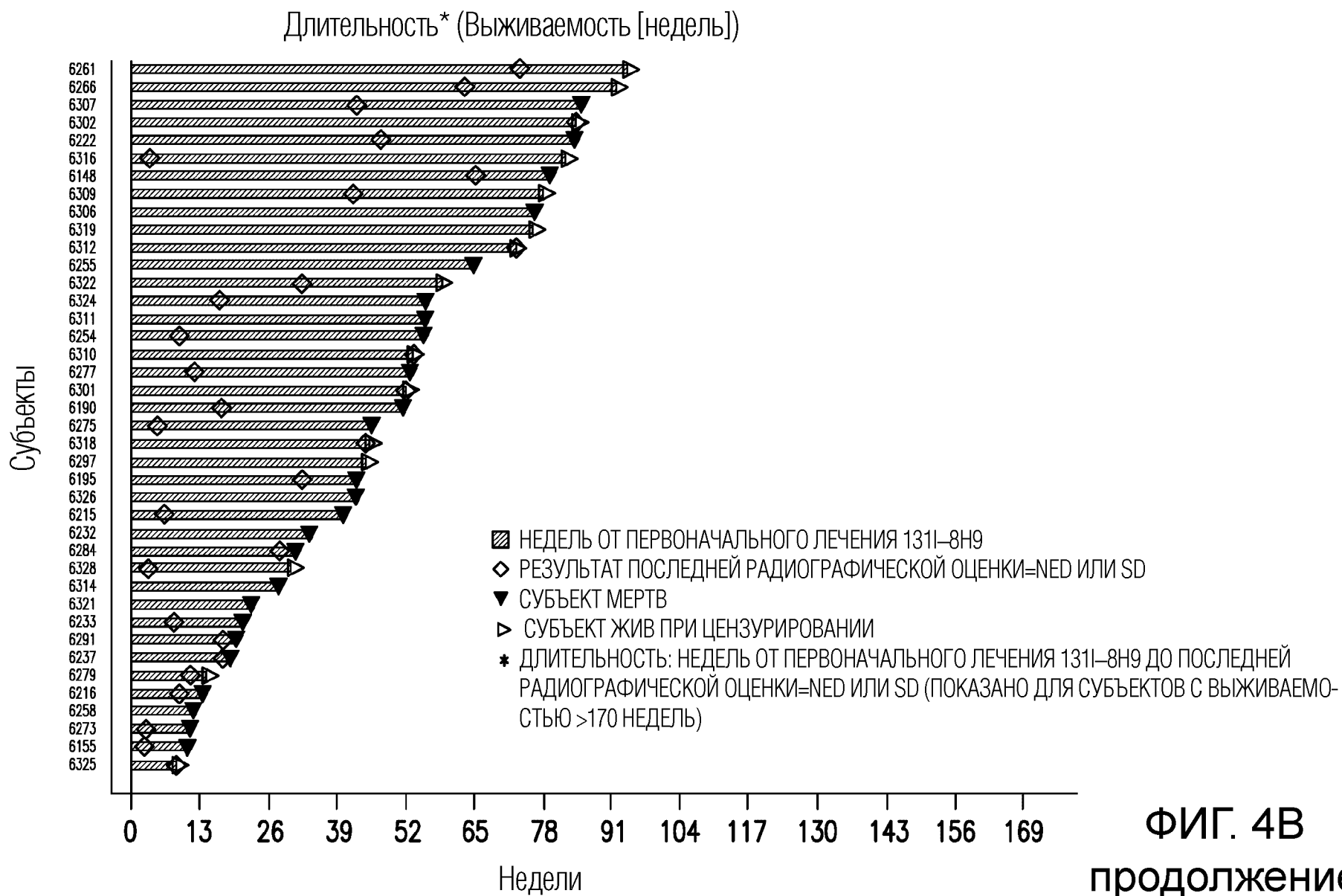


Метка радиографического улучшения Y N

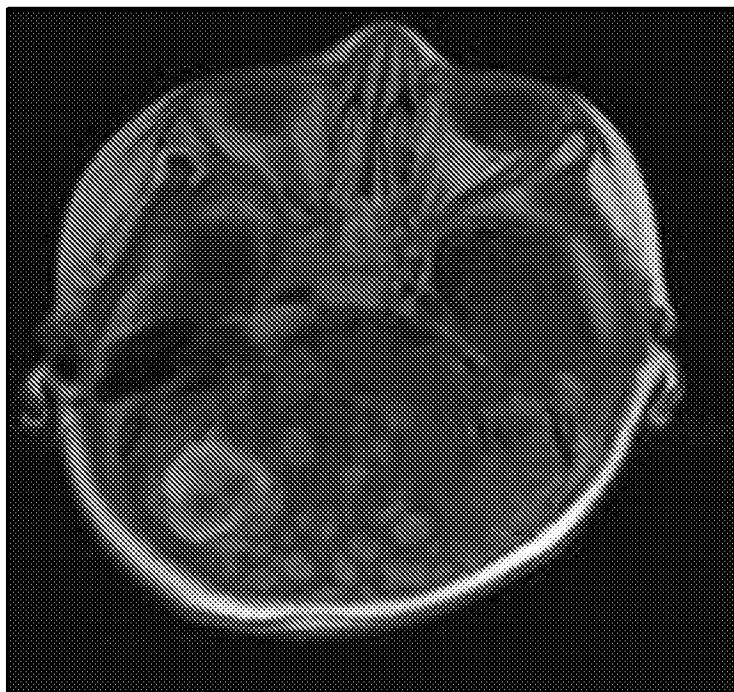
- ◆ РОМБ ПРЕДСТАВЛЯЕТ СОБОЙ ДАТУ ПЕРВОГО РАДИОГРАФИЧЕСКОГО УЛУЧШЕНИЯ ПОСЛЕ ПЕРВОГО ЦИКЛА ^{131}I -8H9.
 - ▷ НЕЗАКРАШЕННЫЕ СТРЕЛКИ ВПРАВО ОБОЗНАЧАЮТ ПАЦИЕНТОВ, КОТОРЫЕ БЫЛИ ЖИВЫМИ НА ДАТУ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИХ СТАТУСА.
 - ▼ ЗАКРАШЕННЫЕ СТРЕЛКИ ВНИЗ ОБОЗНАЧАЮТ ДАТУ СМЕРТИ.
- Y=ПРИСУТСТВУЕТ РАДИОЛОГИЧЕСКИЙ ОТВЕТ, N=ОТСУТСТВУЕТ РАДИОЛОГИЧЕСКИЙ ОТВЕТ, КАК УКАЗАНО

ФИГ. 4А

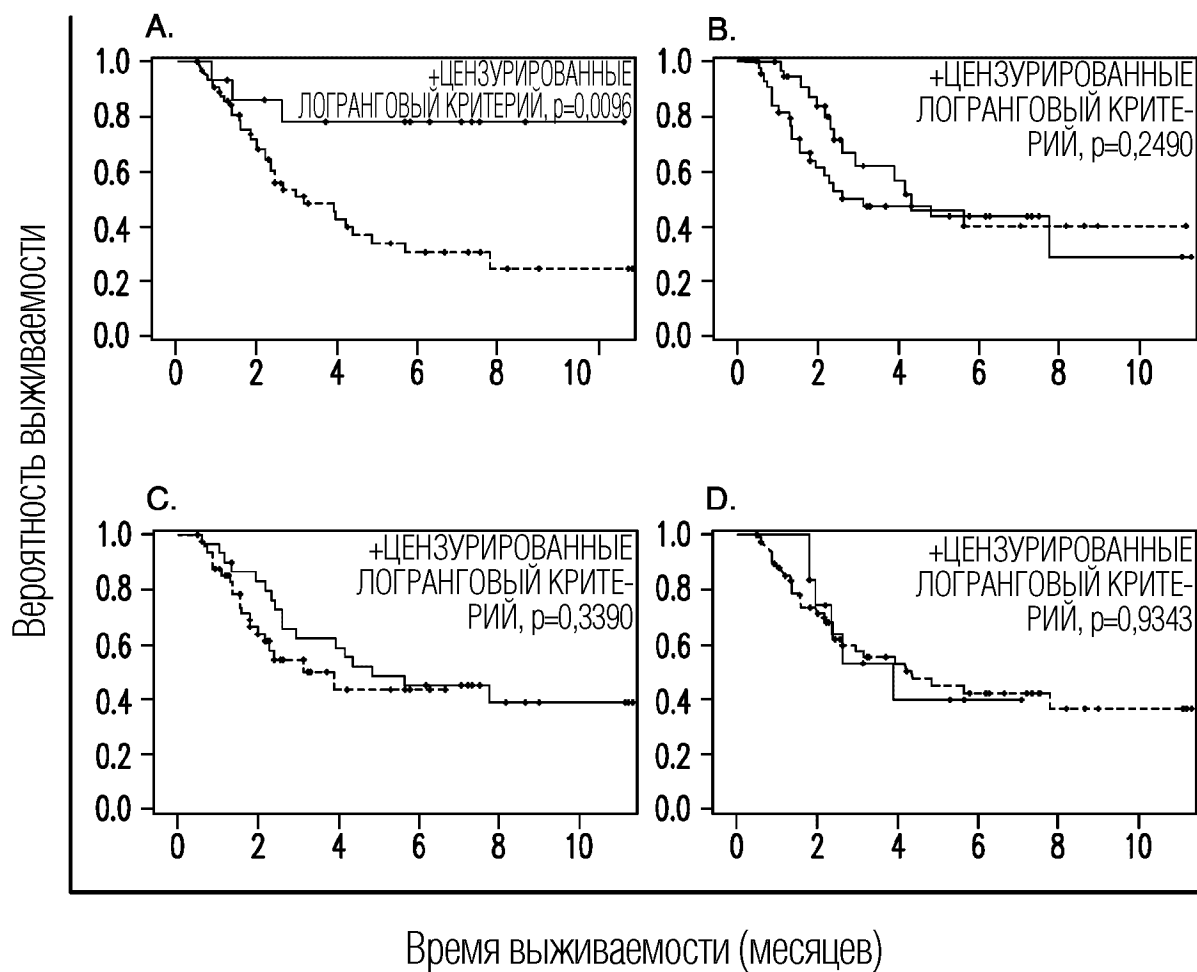




ФИГ. 4В
продолжение



ФИГ. 5



ФИГ. 6