

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202091360** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2020.08.24

(51) Int. Cl. *C07K 16/28* (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.11.30

(54) **ГУМАНИЗИРОВАННЫЕ АНТИ-LIV1 АНТИТЕЛА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

(31) 62/593,660

(32) 2017.12.01

(33) US

(86) PCT/US2018/063425

(87) WO 2019/109007 2019.06.06

(71) Заявитель:

СИЭТЛ ДЖЕНЕТИКС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

Кеннеди Дана, Костик Ана, Корвин

Элизабет, Дрекмэн Джонатан, Хогни

Питер, Чжао Байтэн, Гарфин Филлип,

Паланка-Уэсселс Коринна, Абидое

Оевале О. (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Предложены способы использования анти-LIV1-антител, включая конъюгированные с лекарственными средствами анти-LIV1-антитела, для ингибирования пролиферации клетки, экспрессирующей LIV-1, а также для лечения одного или нескольких заболеваний или расстройств, связанных с клетками, экспрессирующими LIV-1 (например, LIV-1-ассоциированный рак молочной железы).

A1

202091360

202091360

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420- 563034EA/55

ГУМАНИЗИРОВАННЫЕ АНТИ-LIV1 АНТИТЕЛА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА СВЯЗАННУЮ ЗАЯВКУ

[0001] По настоящей заявке испрашивается приоритет по предварительной заявке США № 62/593660, поданной 1 декабря 2017 г., содержание которой полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

ПРЕДСТАВЛЕНИЕ СПИСКА ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ НА ТЕКСТОВОМ ФАЙЛЕ ASCII

[0002] Содержание следующего представления на текстовом файле ASCII полностью включено в настоящий документ посредством ссылки: машиночитаемая форма (CRF) списка последовательностей (название файла: 761682001440SEQLIST.TXT, дата записи: 30 ноября 2018 года, размер: 3 КБ).

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Настоящее изобретение относится к области лечения на основе антител рака молочной железы. В частности, настоящее изобретение относится к применению гуманизированных анти-LIV1 антител и их антигенсвязывающих фрагментов или их конъюгатов (например, конъюгаты LIV1-антитело-лекарственное средство (LIV1-ADC)) для лечения злокачественного новообразования, экспрессирующего LIV-1, такого как, например, рак молочной железы (например, местно-распространенный или метастатический рак молочной железы).

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0004] Рак молочной железы классифицируется на основе трех маркеров экспрессии белка: эстрогенный рецептор (ER), прогестероновый рецептор (PgR) и сверхэкспрессия рецептора фактора роста HER2/neu. Гормональная терапия, включая тамоксифен и ингибиторы ароматазы, может быть эффективной при лечении опухолей, которые экспрессируют рецепторы гормонов ER и PgR. HER2-направленная терапия может быть использована при опухолях, которые экспрессируют HER2/neu; эти опухоли являются единственным классом рака молочной железы, для которого в настоящее время приемлема иммунотерапия. Для этих пациентов в сочетании с химиотерапией обычно используются неконъюгированные антитела, такие как герцептин или перьета.

[0005] Варианты лечения тройных негативных опухолей молочной железы, которые не экспрессируют ER, PgR или HER2/neu, ограничены химиотерапией, облучением и хирургическим вмешательством. Кроме того, существуют ограниченные эффективные варианты лечения для пациентов с запущенной стадией заболевания с относительно низкой выживаемостью пациентов III стадии (52%) и значительно худшими для пациентов IV стадии (15%).

[0006] Очевидно, что существует значительная потребность в эффективных способах лечения рака молочной железы, особенно рака молочной железы на поздней

стадии.

[0007] LIV-1 (SLC39A6) является членом семейства транспортера растворенных веществ, многопролетного трансмембранного белка с предполагаемой активностью транспортера цинка и металлопротеиназы. LIV-1 был впервые идентифицирован как эстроген-индуцированный ген в клеточной линии рака молочной железы ZR-75-1. LIV-1 экспрессируется в большинстве подтипов метастатического рака молочной железы.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0008] Настоящее изобретение основано на неожиданном открытии, что неизлечимый неоперабельный местно-распространенный или метастатический рак молочной железы можно лечить с помощью анти-LIV1 антител и их антигенсвязывающих фрагментов, описанных в настоящем документе.

[0009] В одном аспекте предложен способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека, где вводимая доза составляет меньше чем примерно 200 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения, и где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область тяжелой цепи (HCVR), имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи (LCVR), имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 2.

[0010] В другом аспекте предложен способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека, где вводимая доза меньше или равна примерно 250 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область тяжелой цепи (HCVR), имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи (LCVR), имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 2, и где, если вводимая доза выше или равна примерно 200 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения, способ дополнительно включает введение субъекту гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF). В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения если вводится GCSF, то он вводится профилактически.

[0011] В другом аспекте предложен способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий введение субъекту гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF), введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека, где

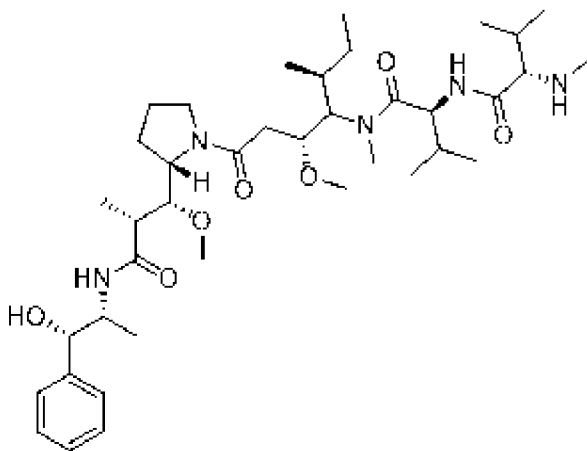
вводимая доза выше или равна примерно 200 мг и меньше или равна примерно 250 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи (LCVR), имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 2. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения GCSF вводится профилактически.

[0012] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения LIV-1-ассоциированное злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы, тройной негативный рак молочной железы, метастатический рак молочной железы, тройной негативный метастатический рак молочной железы или гормон-рецептор положительный метастатический рак молочной железы.

[0013] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения курс лечения составляет примерно каждые три недели (Q3W).

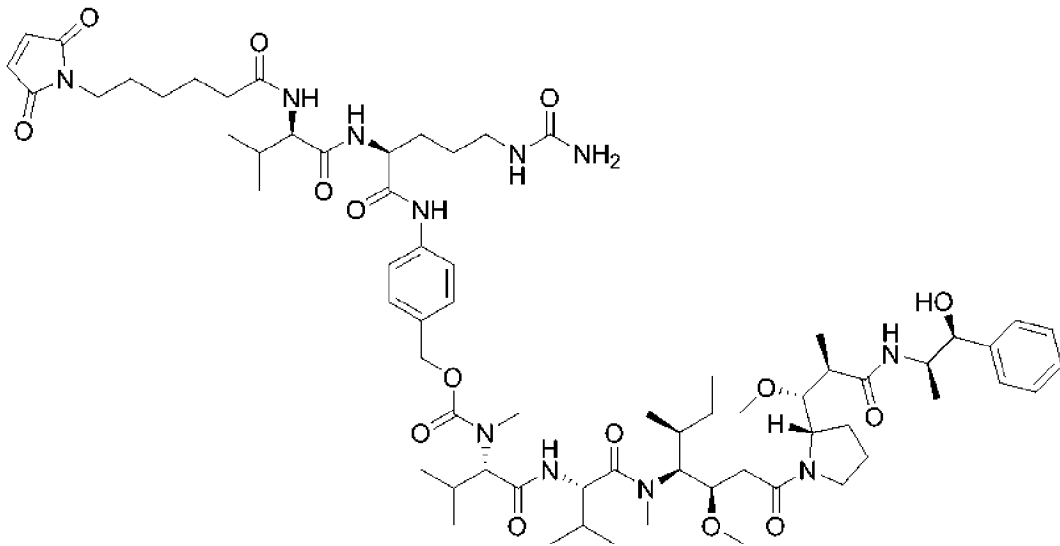
[0014] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения доза составляет около 2,5 мг/кг веса тела субъекта.

[0015] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с монометил ауристатином E (MMAE):



MMAE.

[0016] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с валин-цитрулинмонометил ауристатин E (vcMMAE):



vcMMAE.

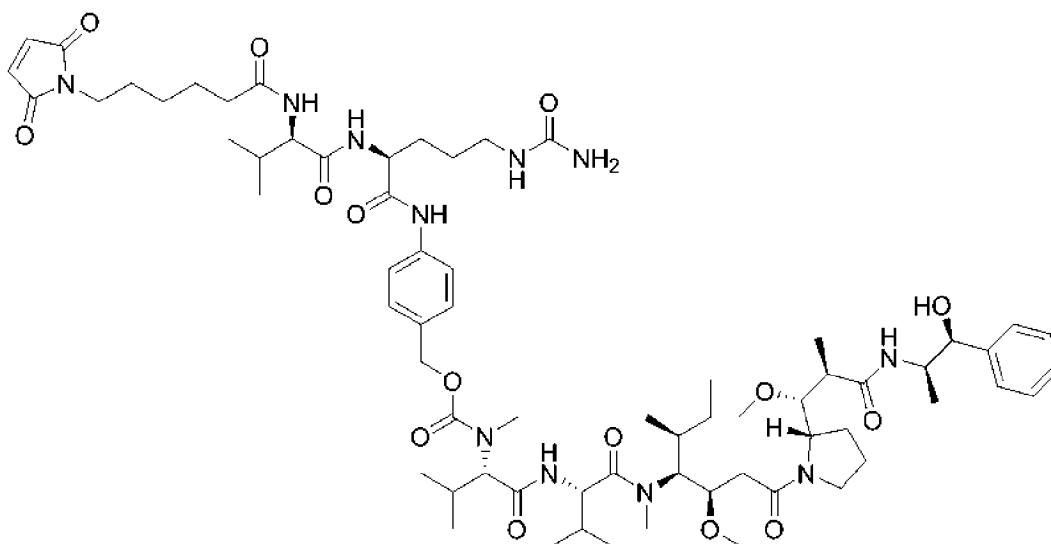
[0017] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения отношение vcMMAE к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту составляет от около 1 до около 8 или около 4.

[0018] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения HCVR имеет по меньшей мере 97% идентичности последовательности с последовательностью SEQ ID NO: 1, и LCVR имеет по меньшей мере 97% идентичности последовательности с последовательностью SEQ ID NO: 2.

[0019] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения HCVR имеет по меньшей мере 99% идентичности последовательности с последовательностью SEQ ID NO: 1, и LCVR имеет по меньшей мере 99% идентичности последовательности с последовательностью SEQ ID NO: 2.

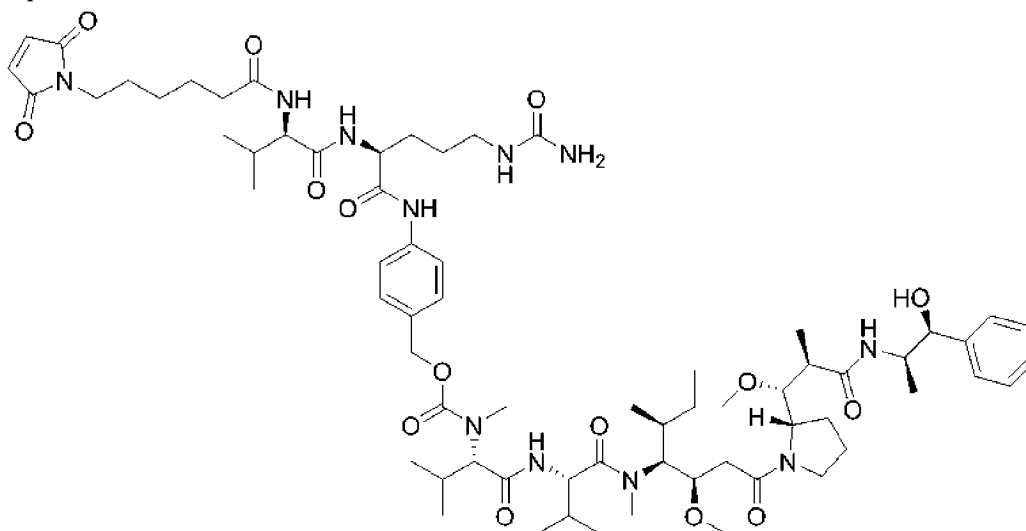
[0020] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения субъектом является человек.

[0021] В другом аспекте предложен способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека, где вводимая доза составляет меньше чем примерно 200 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 1, и LCVR, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 2, и где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE:



vcMMAE.

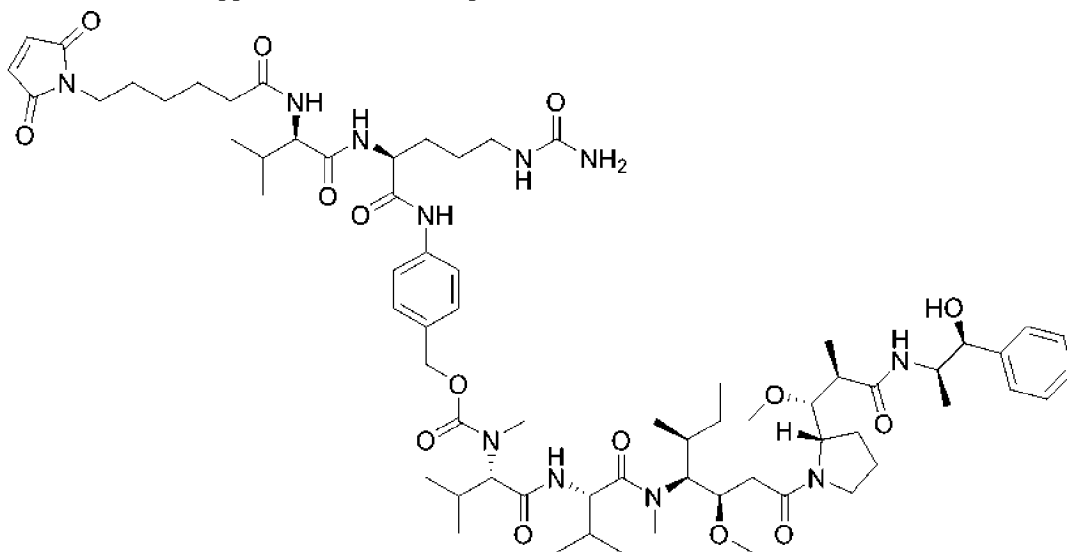
[0022] В другом аспекте предложен способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека, где вводимая доза меньше или равна примерно 250 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 1, и LCVR, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 2, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE:



vcMMAE,

и где, если вводимая доза выше или равна примерно 200 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения, способ дополнительно включает введение субъекту гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF). В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения если вводится GCSF, то он вводится профилактически.

[0023] В другом аспекте предложен способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий введение субъекту гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF), введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека, где вводимая доза выше или равна примерно 200 мг и меньше или равна примерно 250 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 1, и LCVR, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 2, и где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE:



vcMMAE.

В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения GCSF вводится профилактически.

[0024] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения доза вводится в концентрации примерно 2,5 мг/кг веса тела субъекта.

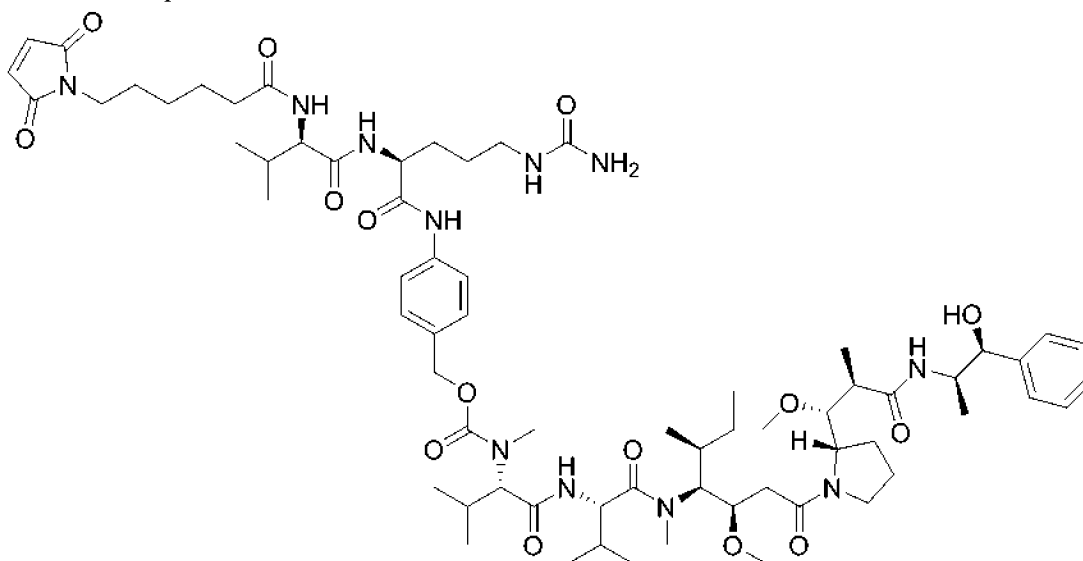
[0025] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения каждый курс лечения проводят у субъекта Q3W.

[0026] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения отношение vcMMAE к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту составляет от около 1 до около 8 или около 4.

[0027] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения LIV-1-ассоциированное злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы, тройной негативный рак молочной железы, метастатический рак молочной железы, тройной негативный метастатический рак молочной железы, или гормон-рецептор положительный метастатический рак молочной железы.

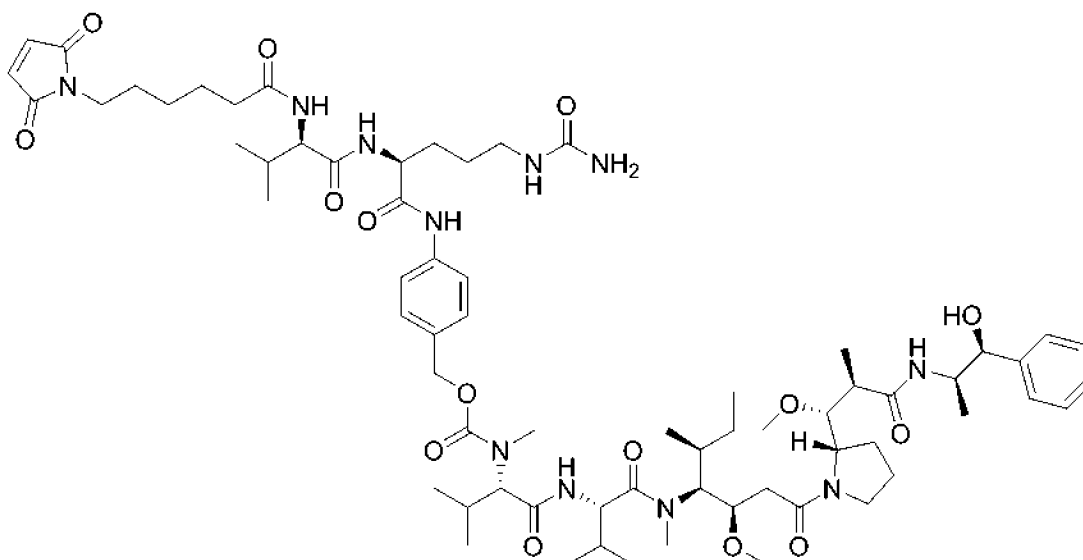
[0028] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения субъектом является человек.

[0029] В другом аспекте предложен способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека, где вводимая доза составляет меньше чем примерно 200 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения Q3W, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR последовательности SEQ ID NO: 1, и LCVR последовательности SEQ ID NO: 2, и где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE:



vcMMAE.

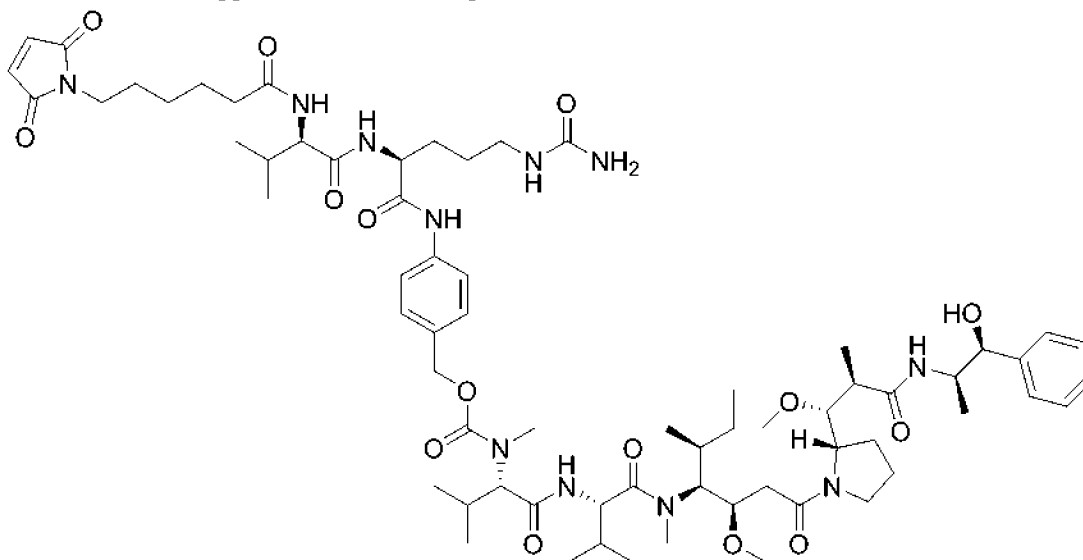
[0030] В другом аспекте предложен способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека, где вводимая доза меньше или равна примерно 250 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения Q3W, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR последовательности SEQ ID NO: 1, и LCVR последовательности SEQ ID NO: 2, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE:



vcMMAE,

и где, если вводимая доза выше или равна примерно 200 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения, способ дополнительно включает введение субъекту гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF). В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения если вводится GCSF, то он вводится профилактически.

[0031] В другом аспекте предложен способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий введение субъекту гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF), введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека, где вводимая доза выше или равна примерно 200 мг и меньше или равна примерно 250 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения Q3W, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR последовательности SEQ ID NO: 1, и LCVR последовательности SEQ ID NO: 2, и где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE:



vcMMAE.

В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения GCSF вводится профилактически.

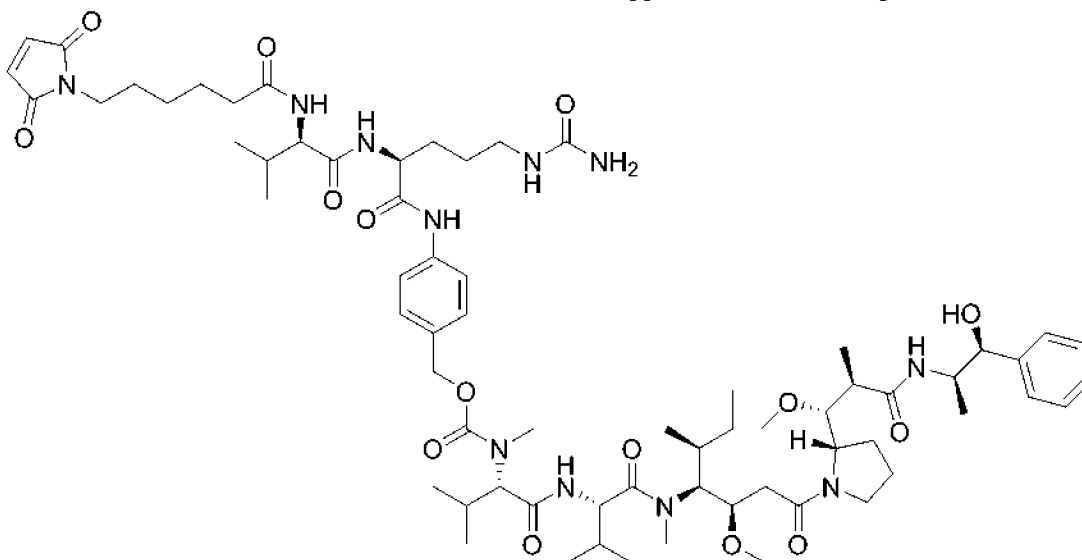
[0032] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения LIV-1-ассоциированное злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы, тройной негативный рак молочной железы, метастатический рак молочной железы, тройной негативный метастатический рак молочной железы или гормон-рецептор положительный метастатический рак молочной железы.

[0033] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения отношение vcMMAE к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту составляет около 4.

[0034] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения доза составляет около 2,5 мг/кг веса тела субъекта.

[0035] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения субъектом является человек.

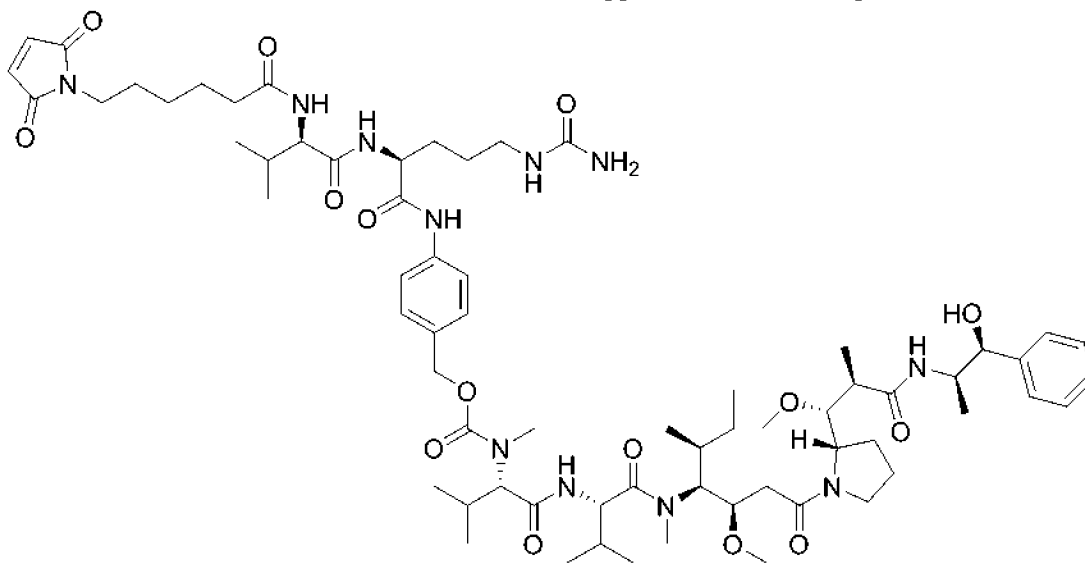
[0036] В другом аспекте предложен способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного рака молочной железы, включающий введение субъекту дозы около 2,5 мг/кг веса тела субъекта антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1, где вводимая доза составляет меньше чем примерно 200 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения Q3W, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR последовательности SEQ ID NO: 1, и LCVR последовательности SEQ ID NO: 2, и где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE:



vcMMAE.

[0037] В другом аспекте предложен способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного рака молочной железы, включающий введение субъекту дозы около 2,5 мг/кг веса тела субъекта антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1, где вводимая доза меньше или равна примерно 250 мг антитела или его антигенсвязывающего

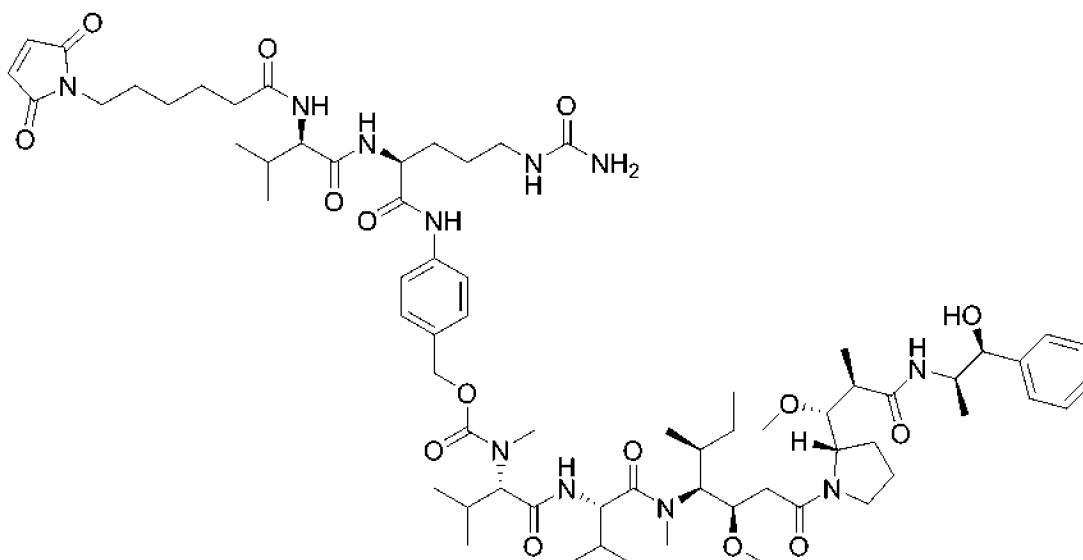
фрагмента на курс лечения Q3W, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR последовательности SEQ ID NO: 1, и LCVR последовательности SEQ ID NO: 2, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE:



vcMMAE,

и где, если вводимая доза выше или равна примерно 200 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения, способ дополнительно включает введение субъекту гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF). В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения если вводится GCSF, то он вводится профилактически.

[0038] В другом аспекте предложен способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного рака молочной железы, включающий введение субъекту гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF), введение субъекту дозы около 2,5 мг/кг веса тела субъекта антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1, где вводимая доза выше или равна примерно 200 мг и меньше или равна примерно 250 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения Q3W, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR последовательности SEQ ID NO: 1, и LCVR последовательности SEQ ID NO: 2, и где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE:



vsMMAE.

В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения GCSF вводится профилактически.

[0039] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения рак молочной железы представляет собой тройной негативный рак молочной железы, метастатический рак молочной железы, тройной негативный метастатический рак молочной железы или гормон-рецептор положительный метастатический рак молочной железы.

[0040] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения отношение vsMMAE к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту составляет около 4.

[0041] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения субъектом является человек.

[0042] Сущность изобретения, описанного выше, не является ограничивающей, и другие признаки и преимущества описанных антител, а также способов их получения и применения будут очевидны из подробного описания, примера и формулы изобретения.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0043] Чтобы изобретение было более понятным определенные технические и научные термины конкретно определены ниже. Если специально не определено где-либо еще в данном документе, все другие технические и научные термины, используемые в нем, имеют значение, общепринятое для специалиста в области техники, к которой относится это изобретение.

I. Определения

[0044] Как используется в данном документе, включая прилагаемую формулу изобретения, формы слов в единственном числе включают в себя соответствующие им формы во множественном числе, если контекст явно не предписывает иное.

[0045] Термин «конъюгат антитело-лекарственное средство» или «ADC» относится к антителу, конъюгированному с цитотоксическим агентом или цитостатическим агентом. Обычно конъюгаты антитело-лекарственное средство связываются с целевым антигеном (например, LIV1) на поверхности клетки с последующей интернализацией конъюгата

антитело-лекарственное средство в клетку и далее высвобождением лекарственного средства в клетке. В некоторых примерах вариантов осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство представляет собой LIV1-ADC.

[0046] «Полипептид» или «полипептидная цепь» представляют собой полимер из аминокислотных остатков, соединенных пептидными связями, независимо от того, получены ли они природным или синтетическим путем. Полипептиды с менее чем 10 аминокислотными остатками обычно называют «пептидами».

[0047] «Белок» представляет собой макромолекулу, содержащую одну или несколько полипептидных цепей. Белок также может содержать непептидные компоненты, такие как карбогидратные группы. К белку могут быть добавлены карбогидраты и другие непептидные заместители с помощью клетки, в которой продуцируется белок, и они будут варьироваться в зависимости от типа клетки. Белки определены в настоящем документе с точки зрения их структуры аминокислотных скелетов. Заместители, такие как карбогидратные группы, обычно не указаны, но, тем не менее, могут присутствовать.

[0048] Термины «аминоконцевой» и «карбоксиконцевой» обозначают положения внутри полипептидов. Там, где позволяет контекст, эти термины используются со ссылкой на конкретную последовательность или часть полипептида для обозначения близости или относительного положения. Например, некоторая последовательность, расположенная на карбокси-конце контрольной последовательности в полипептиде, расположена близко к карбокси-концу контрольной последовательности, но необязательно находится на карбокси-конце полного полипептида.

[0049] В целях классификации аминокислотных замен как консервативных или неконсервативных следующие аминокислотные замены считаются консервативными заменами: серин, замененный треонином, аланином или аспарагином; треонин, замененный пролином или серином; аспарагин, замененный аспарагиновой кислотой, гистидином или серином; аспарагиновая кислота, замененная глутаминовой кислотой или аспарагином; глутаминовая кислота, замененная глутамином, лизином или аспарагиновой кислотой; глутамин, замененный аргинином, лизином или глутаминовой кислотой; гистидин, замененный тирозином или аспарагином; аргинин, замененный лизином или глутамином; метионин, замененный изолейцином, лейцином или валином; изолейцин, замененный лейцином, валином или метионином; лейцин, замененный валином, изолейцином или метионином; фенилаланин, замененный тирозином или триптофаном; тирозин, замененный триптофаном, гистидином или фенилаланином; пролин, замененный треонином; аланин, замененный серином; лизин, замененный глутаминовой кислотой, глутамином или аргинином; валин, замененный метионином, изолейцином или лейцином; и триптофан, замененный фенилаланином или тирозином. Консервативные замены также могут означать замены между аминокислотами одного и того класса. Классами являются следующие: группа I (гидрофобные боковые цепи): met, ala, val, leu, ile; группа II (нейтральные гидрофильные боковые цепи): cys, ser, thr; группа III (кислотные боковые

цепи): asp, glu; группа IV (основные боковые цепи): asn, gin, his, lys, arg; группа V (остатки, влияющие на ориентацию цепи): gly, pro; и группа VI (ароматические боковые цепи): trp, tyr, phe.

[0050] Две аминокислотные последовательности имеют «100% идентичность аминокислотной последовательности», если аминокислотные остатки двух аминокислотных последовательностей одинаковы при выравнивании для максимального соответствия. Сравнение последовательностей может быть выполнено с использованием стандартных программ, таких как программы, включенные в пакет биоинформатических вычислений LASERGENE, который выпускается DNASTAR (Мадисон, Висконсин). Другие способы сравнения двух нуклеотидных или аминокислотных последовательностей путем определения оптимального выравнивания хорошо известны специалистам в данной области. (см., например, Peruski and Peruski, *The Internet and the New Biology: Tools for Genomic and Molecular Research* (ASM Press, Inc. 1997); Wu et al. (eds.), «*Information Superhighway and Computer Databases of Nucleic Acids and Proteins*», *Methods in Gene Biotechnology* 123-151 (CRC Press, Inc. 1997); Bishop (ed.), *Guide to Human Genome Computing* (2nd ed., Academic Press, Inc. 1998).) Считается, что две аминокислотные последовательности имеют «существенную идентичность последовательности», если две последовательности имеют по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90% или по меньшей мере около 95% идентичности последовательности относительно друг друга.

[0051] Процент идентичности последовательностей определяют с помощью последовательностей антител, максимально выровненных в соответствии с правилом нумерации по Кабату. После выравнивания, если область рассматриваемого антитела (например, весь переменный домен тяжелой или легкой цепи) сравнивается с одной и той же областью эталонного антитела, процентная идентичность последовательности между областями исследуемого и эталонного антитела представляет собой число положений, занимаемых одной и той же аминокислотой как в области исследуемого, так и контрольного антитела, деленное на общее количество выровненных положений в этих двух областях, при этом пробелы не учитываются, и умножается на 100, чтобы преобразовать в процент.

[0052] Композиции или способы, «содержащие» один или несколько перечисленных элементов, могут включать в себя другие элементы, конкретно не указанные. Например, композиция, которая содержит антитело, может содержать антитело отдельно или в комбинации с другими ингредиентами.

[0053] Обозначение диапазона значений включает все целые числа в пределах или определении диапазона.

[0054] В антителах или других белках, описанных в настоящем документе, ссылка на аминокислотные остатки, соответствующие тем, которые указаны в SEQ ID NO, включает посттрансляционные модификации таких остатков.

[0055] Термин «антитело» обозначает белки иммуноглобулина, продуцируемые

организмом в ответ на присутствие антигена и связывающиеся с антигеном, а также их антигенсвязывающие фрагменты и сконструированные варианты. Следовательно, термин «антитело» включает, например, интактные моноклональные антитела (например, антитела, полученные с использованием гибридомной технологии) и фрагменты антигенсвязывающих антител, такие как $F(ab')_2$, фрагмент F_v , диатело, одноцепочечное антитело, фрагмент scF_v или scF_v -Fc. Включены также генетически сконструированные интактные антитела и фрагменты, такие как химерные антитела, гуманизированные антитела, одноцепочечные F_v -фрагменты, одноцепочечные антитела, диатела, мини-тела, линейные антитела, поливалентные или мультиспецифичные (например, биспецифичные) гибридные антитела и тому подобное. Таким образом, термин «антитело» широко используется для включения любого белка, который содержит антигенсвязывающий сайт антитела и способен специфически связываться с его антигеном.

[0056] Термин антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает «конъюгированное» антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или «конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC)», в котором антитело или его антигенсвязывающий фрагмент ковалентно или нековалентно связаны с фармацевтическим агентом, например, с цитостатическим или цитотоксическим лекарственным средством.

[0057] Термин «генно-инженерные антитела» относится к антителу, в котором аминокислотная последовательность отличается от последовательности нативного или родительского антитела. Возможных вариаций много, и они варьируются от замены только одной или нескольких аминокислот до полного изменения конструкции, например, вариабельной или константной области. Изменения в константной области, как правило, делаются для улучшения или изменения характеристик, таких как, например, связывание комплемента и другие эффекторные функции. Как правило, изменения в вариабельной области вносятся для улучшения антигенсвязывающих характеристик, улучшения стабильности вариабельной области и/или снижения риска иммуногенности.

[0058] Термин «химерное антитело» относится к антителу, в котором часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителе, полученном от определенного вида (например, человека) или принадлежащем к конкретному классу или подклассу антител, тогда как остальная часть цепи(ей) идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителе, полученном от другого вида (например, мыши) или принадлежащем к другому классу или подклассу антител, а также к фрагментам такого антитела, при условии, что они проявляют желаемую биологическую активность.

[0059] «Антигенсвязывающий сайт антитела» представляет собой ту часть антитела, которая достаточна для связывания с его антигеном. Минимальная такая область обычно представляет собой вариабельный домен или его генно-инженерный вариант. Сайты связывания с одним доменом могут быть получены из верблюжьих антител (см. Muyltermans and Lauwereys, *Mol. Recog.* 12: 131-140, 1999; Nguyen et al.,

EMBO J. 19:921-930, 2000) или из доменов VH других видов для получения однодоменных антител («dAbs», см. Ward et al., Nature 341: 544-546, 1989; патент США № 6248516, выданный Winter et al). Обычно антигенсвязывающий сайт антитела содержит как переменный домен тяжелой цепи (VH), так и переменный домен легкой цепи (VL), которые связываются с общим эпитопом. В контексте настоящего изобретения антитело может содержать один или несколько компонентов в дополнение к антигенсвязывающему сайту, например, такие как второй антигенсвязывающий сайт антитела (который может связываться с тем же или другим эпитопом, или с тем же или другим антигеном), пептидный линкер, константная область иммуноглобулина, шарнир иммуноглобулина, амфипатическая спираль (см. Pack и Pluckthun, Biochem. 31: 1579-1584, 1992), непептидный линкер, олигонуклеотид (см. Chaudri et al., FEBS Letters 450:23-26, 1999), цитостатическое или цитотоксическое лекарственное средство и тому подобное, и может представлять собой мономерный или мультимерный белок. Примеры молекул, содержащих антигенсвязывающий сайт антитела, известны в данной области и включают, например, Fv, одноцепочечный Fv (scFv), Fab, Fab', F(ab')₂, F(ab)₂, диатела, мини-тела, нанотела, слияния Fab-scFv, биспецифичный (scFv)₄-IgG и биспецифичный (scFv)₂-Fab. (см., например, Hu et al, Cancer Res. 56:3055-3061, 1996; Atwell et al., Molecular Immunology 33: 1301-1312, 1996; Carter and Merchant, Curr. Op. Biotechnol. 8:449-454, 1997; Zuo et al., Protein Engineering 13:361-367, 2000; и Lu et al., J. Immunol. Methods 267:213-226, 2002).

[0060] Термин «иммуноглобулин» относится к белку, состоящему из одного или нескольких полипептидов, по существу кодируемых геном(ами) иммуноглобулина. Одна форма иммуноглобулина составляет основную структурную единицу нативных (то есть природных или родительских) антител у позвоночных. Эта форма представляет собой тетрамер и состоит из двух идентичных пар цепей иммуноглобулина, каждая из которых имеет одну легкую цепь и одну тяжелую цепь. В каждой паре переменные области легкой и тяжелой цепи (VL и VH) вместе в первую очередь ответственны за связывание с антигеном, а константные области прежде всего ответственны за эффекторные функции антитела. У высших позвоночных были идентифицированы пять классов белков иммуноглобулина (IgG, IgA, IgM, IgD и IgE). IgG относится к основному классу и обычно существует в качестве второго наиболее распространенного белка в плазме. У людей IgG состоит из четырех подклассов, обозначаемых IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Каждая тяжелая цепь иммуноглобулина обладает константной областью, которая состоит из белковых доменов константной области (CH1, шарнир, CH2 и CH3; IgG3 также содержит домен CH4), которые у вида по существу инвариантны для данного подкласса.

[0061] Последовательности ДНК, кодирующие цепи иммуноглобулинов человека и не человека, известны в данной области. (см., например, Ellison et al, DNA 1:11-18, 1981; Ellison et al, Nucleic Acids Res. 10:4071-4079, 1982; Kenten et al., Proc. Natl. Acad. Set USA 79:6661-6665, 1982; Seno et al., Nucl. Acids Res. 11:719-726, 1983; Riechmann et al., Nature 332:323-327, 1988; Amster et al., Nucl. Acids Res. 8:2055-2065, 1980; Rusconi and Kohler,

Nature 314:330-334, 1985; Boss et al., Nucl. Acids Res. 12:3791-3806, 1984; Bothwell et al., Nature 298:380-382, 1982; van der Loo et al., Immunogenetics 42:333-341, 1995; Karlin et al., J. Mol. Evol. 22: 195-208, 1985; Kindsvogel et al., DNA 1:335-343, 1982; Breiner et al., Gene 18: 165-174, 1982; Kondo et al., Eur. J. Immunol. 23:245-249, 1993; и GenBank Accession No. J00228). Для обзора структур и функций иммуноглобулина см. работы Putnam, The Plasma Proteins, Vol V, Academic Press, Inc., 49-140, 1987; и Padlan, Mol. Immunol. 31: 169-217, 1994. Термин «иммуноглобулин» используется в настоящем документе в его общем значении, обозначающем интактное антитело, его составляющие цепи или фрагменты цепей, в зависимости от контекста.

[0062] Полноразмерные «легкие цепи» иммуноглобулина (около 25 кДа или 214 аминокислот) кодируются геном варибельной области на аминоконце (кодирующем около 110 аминокислот) и геном константной области каппа или лямбда на карбоксильном конце. Полноразмерные «тяжелые цепи» иммуноглобулина (около 50 кДа или 446 аминокислот) кодируются геном варибельной области (кодирующим около 116 аминокислот) и геном константной области гамма, мю, альфа, дельта или эпсилон (кодирующим около 330 аминокислот), причем последний определяет изотип антитела как IgG, IgM, IgA, IgD или IgE, соответственно. Внутри легкой и тяжелой цепей варибельные и константные области соединены областью «J» из примерно 12 или более аминокислот, причем тяжелая цепь также включает область «D» из еще примерно 10 аминокислот. (см. в основном Fundamental Immunology (Paul, ed., Raven Press, N.Y., 2nd ed. 1989), Ch. 7).

[0063] Варибельная область легкой или тяжелой цепи иммуноглобулина (также называемая в настоящем документе «варибельный домен легкой цепи» («домен VL») или «варибельный домен тяжелой цепи» («домен VH»), соответственно) состоит из «каркасной» области, прерванной тремя «определяющими комплементарность областями» или «CDR». Каркасные области служат для выравнивания CDR для специфического связывания с эпитопом антигена. Таким образом, термин «CDR» относится к аминокислотным остаткам антитела, которые в первую очередь ответственны за связывание антигена. От аминоконца до карбоксильного конца оба домена VL и VH содержат следующие каркасные (FR) и CDR области: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

[0064] Назначение аминокислот каждому домену варибельной области соответствует определениям Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1987 and 1991). Kabat также предоставляет широко используемое правило нумерации (нумерация Kabat), в котором соответствующим остаткам между различными варибельными областями тяжелой цепи или между различными варибельными областями легкой цепи присваивается один и тот же номер. CDR 1, 2 и 3 домена VL также упоминаются в данном документе, соответственно, как CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3. CDR 1, 2 и 3 домена VH также упоминаются в настоящем документе, соответственно, как CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3. Когда указывается, вместо

Kabat соотнесение CDR может быть в соответствии с IMGT® (Lefranc et al., *Developmental & Comparative Immunology* 27:55-77; 2003).

[0065] Нумерация константной области тяжелой цепи осуществляется с помощью индекса EU, как изложено в работе Kabat (Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1987 and 1991).

[0066] Если контекст не требует иного, термин «моноклональное антитело» не ограничивается антителами, полученными с помощью гибридомной технологии. Термин «моноклональное антитело» может включать антитело, полученное из одного клона, включая любой эукариотический, прокариотический или фаговый клон. В конкретных вариантах осуществления антитела, описанные в настоящем документе, являются моноклональными антителами.

[0067] Термин «гуманизированный домен VH» или «гуманизированный домен VL» относится к домену VH или VL иммуноглобулина, включающему некоторые или все CDR полностью или по существу из донорского нечеловеческого иммуноглобулина (например, мыши или крысы), и каркасные последовательности переменного домена, полностью или по существу, из последовательностей иммуноглобулина человека. Нечеловеческий иммуноглобулин, обеспечивающий CDR, называется «донором», а человеческий иммуноглобулин, обеспечивающий каркас, называется «акцептором». В некоторых случаях гуманизированные антитела сохраняют некоторые нечеловеческие остатки в каркасных областях переменного домена человека для улучшения надлежащих характеристик связывания (например, когда антитело гуманизировано, могут потребоваться мутации в каркасах для сохранения аффинности связывания).

[0068] «Гуманизированное антитело» представляет собой антитело, содержащее один или оба из гуманизированного домена VH и гуманизированного домена VL. Константные области иммуноглобулина не обязательно должны присутствовать, но если присутствуют, они полностью или в значительной степени относятся к константным областям иммуноглобулина человека.

[0069] Гуманизированное антитело представляет собой генно-инженерное антитело, в котором CDR от нечеловеческого «донорного» антитела привиты к последовательностям «акцепторных» антител человека (см., например, Queen, US 5530101 и 5585089; Winter, US 5225539; Carter, US 6407213; Adair, US 5859205; и Foote, US 6881557). Последовательности акцепторных антител могут быть, например, последовательностью зрелого человеческого антитела, совокупностью таких последовательностей, консенсусной последовательностью последовательностей человеческого антитела или последовательностью области зародышевой линии.

[0070] Для высокой степени идентичности последовательностей в каркасах переменных областей с донорными последовательностями, чтобы сопоставить канонические формы между акцепторной и донорной CDR, среди других критериев могут быть выбраны человеческие акцепторные последовательности. Таким образом, гуманизированное антитело представляет собой антитело, имеющее CDR полностью или

по существу от донорных антител и каркасных последовательностей переменных областей, и константные области, если они присутствуют, полностью или по существу от последовательностей антител человека. Аналогично, гуманизованная тяжелая цепь обычно имеет все три CDR полностью или по существу из тяжелой цепи донорного антитела, а также каркасную последовательность переменной области тяжелой цепи и константную область тяжелой цепи, если они присутствуют, по существу из каркасной области переменной области тяжелой цепи человека и последовательности константной области. Аналогично, гуманизованная легкая цепь обычно имеет все три CDR полностью или по существу из легкой цепи донорного антитела и последовательность каркасной области переменной области легкой цепи и константную область легкой цепи, если она присутствует, по существу из каркасной области переменной области легкой цепи человека и последовательности константной области.

[0071] CDR в гуманизованном антителе по существу происходит от соответствующего CDR в нечеловеческом антителе, когда по меньшей мере около 80%, около 81%, около 82%, около 83%, около 84%, около 85%, около 86%, около 87%, около 88%, около 89%, около 90%, около 91%, около 92%, около 93%, около 94%, около 95%, около 96%, около 97%, около 98% или около 99% соответствующих остатков (как определено нумерацией по Кабату) или где около 100% соответствующих остатков (как определено нумерацией по Кабату) идентичны между соответствующими CDR. Каркасные последовательности переменной области цепи антитела или константной области цепи антитела по существу происходят из каркасной последовательности переменной области человека или константной области человека, соответственно, когда идентичными являются по меньшей мере около 80%, около 81%, около 82%, около 83%, около 84%, около 85%, около 86%, около 87%, около 88%, около 89%, около 90%, около 91%, около 92%, около 93%, около 94%, около 95%, около 96%, около 97%, около 98% или около 99% соответствующих остатков (как определено нумерацией Kabat для переменной области и нумерацией EU для константной области), или около 100% соответствующих остатков (как определено нумерацией Kabat для переменной области и нумерацией EU для константной области).

[0072] Хотя гуманизованные антитела часто включают в себя все шесть CDR (предпочтительно, как определено Kabat или IMGT®) от мышиного антитела, они также могут быть получены с использованием менее чем шести CDR (например, по меньшей мере 3, 4 или 5) CDR от мышиного антитела (например, Pascalis et al., *J. Immunol.* 169:3076, 2002; Vajdos et al., *Journal of Molecular Biology*, 320: 415-428, 2002; Iwahashi et al., *Mol. Immunol.* 36:1079-1091, 1999; Tamura et al, *Journal of Immunology*, 164: 1432- 1441, 2000).

[0073] CDR в гуманизованном антителе является «по существу от» соответствующего CDR в антителе не человека, когда, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или 100% соответствующих остатков (как определено Kabat (или IMGT)) идентичны между соответствующими CDR.

В конкретных вариациях гуманизованного домена VH или VL, в котором CDR по существу получены из нечеловеческого иммуноглобулина, CDR домена гуманизованного VH или VL имеют не более шести (например, не более пяти, не более четырех, не более трех, не более двух или не более одной) аминокислотных замен (предпочтительно, консервативных замен) во всех трех CDR относительно соответствующих CDR VH или VL не человека. Каркасные последовательности вариабельной области VH- или VL-домена антитела или, если присутствует, последовательность константной области иммуноглобулина «по существу, происходят от» каркасной последовательности VH или VL человека или константной области человека соответственно, когда по меньшей мере около 80%, около 81%, около 82%, около 83%, около 84%, около 85%, около 86%, около 87%, около 88%, около 89%, около 90%, около 91%, около 92%, около 93%, около 94%, около 95%, около 96%, около 97%, около 98% или около 99% соответствующих остатков (как определено нумерацией Kabat для вариабельной области и нумерацией EU для константной области), или около 100% соответствующих остатков (как определено нумерацией Kabat для вариабельной области и нумерацией EU для константной области) идентичны. Следовательно, все части гуманизованного антитела, за исключением CDR, как правило, полностью или в значительной степени происходят из соответствующих частей последовательностей природного иммуноглобулина человека.

[0074] Антитела обычно предоставляются в выделенной форме. Это означает, что антитело обычно имеет чистоту, по меньшей мере, примерно 50% мас/мас от примесных белков и других загрязнений, возникающих в результате его получения или очистки, но не исключает возможности того, что антитело объединяют с избытком фармацевтически приемлемого носителя (носителей) или другой несущей среды, предназначенных для облегчения его использования. Иногда антитела имеют по меньшей мере около 60%, около 70%, около 80%, около 90%, около 95% или около 99% мас./мас. чистоты от примесных белков и загрязняющих веществ при получении или очистке. Антитела, включая выделенные антитела, могут быть конъюгированы с цитотоксическими агентами и предоставлены в виде конъюгатов антител с лекарственными средствами..

[0075] Специфическое связывание антитела с его антигеном-мишенью обычно относится к аффинности по меньшей мере около 10^6 , около 10^7 , около 10^8 , около 10^9 или около 10^{10} M^{-1} . Специфическое связывание заметно выше по величине и отличается от неспецифического связывания, происходящего по меньшей мере с одной неспецифической мишенью. Специфическое связывание может быть результатом образования связей между конкретными функциональными группами или определенным пространственным соответствием (например, типа ключ-замок), тогда как неспецифическое связывание обычно является результатом Ван-дер-Ваальсовых сил.

[0076] Термин «эпитоп» относится к сайту антигена, с которым связывается антитело. Эпитоп может быть образован из смежных аминокислот или несмежных аминокислот, расположенных рядом путем третичного сворачивания одного или

нескольких белков. Эпитопы, образованные из смежных аминокислот, обычно сохраняются при воздействии денатурирующих агентов, например, растворителей, тогда как эпитопы, образованные путем третичного свертывания, обычно теряются при обработке денатурирующими агентами, например растворителями. Эпитоп обычно включает по меньшей мере около 3, и, более обычно, по меньшей мере около 5, по меньшей мере около 6, по меньшей мере около 7 или около 8-10 аминокислот в уникальной пространственной конформации. Методы определения пространственной конформации эпитопов включают, например, рентгеновскую кристаллографию и двумерный ядерный магнитный резонанс. См., например, *Epitope Mapping Protocols, in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, Glenn E. Morris, Ed. (1996).*

[0077] Антитела, которые распознают одинаковые или перекрывающиеся эпитопы, могут быть идентифицированы простым иммуноанализом, показывающим способность одного антитела конкурировать со связыванием другого антитела с антигеном-мишенью. Эпитоп антитела также может быть определен с помощью рентгеновской кристаллографии антитела, связанного с его антигеном, для идентификации контактных остатков.

[0078] Альтернативно, два антитела имеют один и тот же эпитоп, если все аминокислотные мутации в антигене, которые уменьшают или устраняют связывание одного антитела, уменьшают или устраняют связывание другого (при условии, что такие мутации не вызывают глобального изменения структуры антигена). Два антитела имеют перекрывающиеся эпитопы, если некоторые аминокислотные мутации, которые уменьшают или устраняют связывание одного антитела, уменьшают или устраняют связывание другого антитела.

[0079] Конкуренцию между антителами можно определить с помощью анализа, в котором тестируемое антитело ингибирует специфическое связывание эталонного антитела с общим антигеном (см., например, *Junghans et al., Cancer Res. 50: 1495, 1990*). Тестируемое антитело конкурирует с эталонным антителом, если избыток тестируемого антитела ингибирует связывание эталонного антитела.

[0080] Антитела, идентифицированные конкурентным анализом (конкурирующие антитела), включают антитела, которые связываются с тем же эпитопом, что и эталонное антитело, и антитела, которые связываются с соседним эпитопом, достаточно близко расположенным к эпитопу, связанному с эталонным антителом, для возникновения стерических помех. Антитела, идентифицированные конкурентным анализом, также включают антитела, которые косвенно конкурируют с эталонным антителом, вызывая конформационное изменение в белке-мишени, тем самым предотвращая связывание эталонного антитела с другим эпитопом, иным чем тот, который связан с тестируемым антителом.

[0081] Эффекторная функция антитела относится к функции, обеспечиваемой Fc-областью Ig. Такими функциями могут быть, например, антителозависимая клеточная цитотоксичность (ADCC), антителозависимый клеточный фагоцитоз (ADCP) или

комплементзависимая цитотоксичность (CDC). На такую функцию может влиять, например, связывание области Fc с рецептором Fc на иммунной клетке с фагоцитарной или литической активностью или связывание области Fc с компонентами системы комплемента. Как правило, эффект (эффекты), опосредуемый Fc-связывающими клетками или компонентами комплемента, приводит к ингибированию и/или истощению клетки-мишени LIV1. Fc-области антител могут рекрутировать клетки, экспрессирующие Fc-рецептор (FcR), и сопоставлять их с клетками-мишенями, покрытыми антителами. Клетки, экспрессирующие поверхностный FcR для IgG, включая FcγRIII (CD16), FcγRII (CD32) и FcγRI (CD64), могут действовать как эффекторные клетки для разрушения клеток, покрытых IgG. Такие эффекторные клетки включают моноциты, макрофаги, натуральные киллеры (NK), нейтрофилы и эозинофилы. Включение FcγR IgG активирует ADCC или ADCP. ADCC опосредуется эффекторными клетками CD16+ через секрецию мембранных порообразующих белков и протеаз, в то время как фагоцитоз опосредуется эффекторными клетками CD32+ и CD64+ (см. *Fundamental Immunology*, 4th ed., Paul ed., Lippincott-Raven, N.Y., 1997, Chapters 3, 17 and 30; Uchida et al., *J. Exp. Med.* 199:1659-69, 2004; Akewanlop et al., *Cancer Res.* 61:4061-65, 2001; Watanabe et al., *Breast Cancer Res. Treat.* 53: 199-207, 1999).

[0082] Помимо к ADCC и ADCP, Fc-области антител, связанных с клетками, также могут активировать классический путь комплемента для выявления CDC. C1q системы комплемента связывается с областями Fc антител, когда они образуют комплекс с антигенами. Связывание C1q с клеточными антителами может инициировать каскад событий, включающих протеолитическую активацию C4 и C2 для генерации C3 конвертазы. Расщепление C3 в C3b конвертазой C3 позволяет активировать терминальные компоненты комплемента, включая C5b, C6, C7, C8 и C9. В совокупности эти белки образуют поры комплекса мембранно-атака на клетках, покрытых антителами. Эти поры нарушают целостность клеточной мембраны, убивая клетку-мишень (см. *Immunobiology*, 6th ed., Janeway et al, Garland Science, N. Y., 2005, Chapter 2).

[0083] Термин «антителозависимая клеточная цитотоксичность» или «ADCC» относится к механизму индукции гибели клеток, который зависит от взаимодействия покрытых антителом клеток-мишеней с иммунными клетками, обладающими литической активностью (также называемыми эффекторными клетками). Такие эффекторные клетки включают естественные клетки-киллеры, моноциты/макрофаги и нейтрофилы. Эффекторные клетки прикрепляются к Fc-области Ig, связанной с клетками-мишенями через их антигенсвязывающие сайты. Гибель покрытой антителом клетки-мишени происходит в результате активности эффекторных клеток. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения анти-LIV1 IgG1 антитело по изобретению опосредует равный или повышенный ADCC по сравнению с родительским антителом и/или относительно к анти-LIV1 IgG3 антителу.

[0084] Термин «антителозависимый клеточный фагоцитоз» или «ADCP» относится к процессу, посредством которого клетки, покрытые антителами, интернализуются,

полностью или частично, фагоцитарными иммунными клетками (например, макрофагами, нейтрофилами и/или дендритными клетками), которые связываются с Fc-областью Ig. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения анти-LIV1 IgG1 антитело по изобретению опосредует равный или повышенный ADCP по сравнению с родительским антителом и/или относительно к анти-LIV1 IgG3 антителу.

[0085] Термин «комплемент-зависимая цитотоксичность» или «CDC» относится к механизму индукции гибели клеток, по которому Fc-область антитела, связанного с мишенью, активирует ряд ферментативных реакций, кульминацией которых является образование дырок в клеточной мембране-мишени.

[0086] Обычно комплексы антиген-антитело, такие как комплексы на клетках-мишенях, покрытых антителами, связывают и активируют компонент C1q комплемента, который, в свою очередь, активирует каскад комплемента, приводящий к гибели клеток-мишеней. Активация комплемента может также приводить к отложению компонентов комплемента на поверхности клеток-мишеней, которые способствуют ADCC, связывая рецепторы комплемента (например, CR3) на лейкоцитах.

[0087] «Цитотоксический эффект» относится к истощению, устранению и/или уничтожению клетки-мишени. «Цитотоксический агент» относится к соединению, которое оказывает цитотоксическое действие на клетку, тем самым опосредуя истощение, элиминацию и/или уничтожение клетки-мишени. В некоторых вариантах осуществления изобретения цитотоксический агент конъюгирован с антителом или вводится в комбинации с антителом. Подходящие цитотоксические агенты описаны в настоящем документе далее.

[0088] «Цитостатический эффект» относится к ингибированию пролиферации клеток. «Цитостатический агент» относится к соединению, которое оказывает цитостатическое действие на клетку, тем самым опосредуя ингибирование роста и/или размножения клеток определенного типа и/или подмножества клеток. Подходящие цитостатические агенты описаны в настоящем документе далее.

[0089] Термин «пациент» или «субъект» включает людей и других млекопитающих, таких как приматы, не люди, кролики, крысы, мыши и тому подобное, и их трансгенные виды, которые получают либо профилактическое, либо терапевтическое лечение.

[0090] Термин «эффективное количество» в контексте лечения расстройства, экспрессирующего LIV1, путем введения анти-LIV1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, LIV1-ADC), как описано в настоящем документе, относится к такому количеству антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое достаточно для подавления возникновения или для ослабления одного или нескольких симптомов расстройства, связанного с LIV1 (например, злокачественного новообразования, экспрессирующего LIV1). Эффективное количество антитела вводят в «эффективном режиме». Термин «эффективный режим» относится к комбинации количества вводимого антитела и частоты дозирования, адекватные для осуществления

профилактического или терапевтического лечения расстройства (например, профилактического или терапевтического лечения злокачественного новообразования, экспрессирующего LIV1).

[0091] Термин «фармацевтически приемлемый» означает одобренный или заслуживающий одобрения регулирующим органом Федерального правительства или правительства штата, или внесенный в список Фармакопеи США или другой общепризнанной фармакопеи, для применения на животных и, более конкретно, на людях. Термин «фармацевтически совместимый ингредиент» относится к фармацевтически приемлемому разбавителю, адьюванту, нейтральному вспомогательному веществу или наполнителю, с которым составлено анти-LIV1 антитело (например, LIV1-ADC).

[0092] Фраза «фармацевтически приемлемая соль» относится к фармацевтически приемлемым органическим или неорганическим солям. Типичные соли включают сульфат, цитрат, ацетат, оксалат, хлорид, бромид, йодид, нитрат, бисульфат, фосфат, кислый фосфат, изоникотинат, лактат, салицилат, кислый цитрат, тартрат, олеат, таннат, пантотенат, битартрат, аскорбат, сукцинат, малеат, гентизинат, фумарат, глюконат, глюкуронат, сахарат, формиат, бензоат, глутамат, метансульфонат, этансульфонат, бензолсульфонат, п-толуолсульфонат и памоат (то есть 1,1'-метилден-бис-(2-гидрокси-3-нафтоат)). Фармацевтически приемлемая соль может дополнительно содержать дополнительную молекулу, такую как, например, ацетат-ион, сукцинат-ион или другой противоион. Противоион может быть любым органическим или неорганическим фрагментом, который стабилизирует заряд исходного соединения. Кроме того, фармацевтически приемлемая соль может иметь более одного заряженного атома в своей структуре. В тех случаях, когда несколько заряженных атомов являются частью фармацевтически приемлемой соли, они могут иметь несколько противоионов. Следовательно, фармацевтически приемлемая соль может иметь один или несколько заряженных атомов и/или один или несколько противоионов.

[0093] Если иное не очевидно из контекста, когда значение выражается как «около» X или «приблизительно» X, заявленное значение X будет восприниматься с точностью до $\pm 10\%$.

[0094] Сольватами в контексте изобретения являются такие формы соединений по изобретению, которые образуют комплекс в твердом или жидком состоянии при координации с молекулами растворителя. Гидраты представляют собой одну особую форму сольватов, в которой координация происходит с водой. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения сольваты в контексте настоящего изобретения представляют собой гидраты.

II. Анти-LIV1 антитела и антигенсвязывающие фрагменты

[0095] Настоящее изобретение относится к выделенным рекомбинантным и/или синтетическим анти-LIV1 антителам человека, приматов, грызунов, млекопитающих, к химерным, гуманизированным и/или CDR-привитым антителам и их антигенсвязывающим фрагментам (например, LIV1-ADC), а также к композициям и

молекулам нуклеиновых кислот, содержащим по меньшей мере один полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере часть одной молекулы анти-LIV1 антитела. Настоящее изобретение дополнительно включает, но не ограничивается ими, способы получения и применения таких нуклеиновых кислот и антител, включая диагностические и терапевтические композиции, способы и устройства. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения предложены гуманизированные анти-LIV1 IgG1 антитела. В других примерах вариантов осуществления изобретения предложены гуманизированные конъюгаты анти-LIV1 IgG1 антитело-лекарственное средство.

[0096] Если не указано иное, конъюгат анти-LIV1-антитело лекарственное средство (то есть LIV1-ADC) включает антитело, специфичное к белку LIV-1 человека, конъюгированному с цитотоксическим агентом.

[0097] SGN-LIV1A представляет собой гуманизированное анти-LIV-1 антитело (также обозначаемое как hLIV22), которое конъюгировано с монометилауристатином E (ММАЕ) через расщепляемый протеазой линкер (то есть линкер валин-цитруллин). При связывании с клеткой, экспрессирующей LIV-1, SGN-LIV1A интернализуется и высвобождает ММАЕ, который разрушает микротубулин и индуцирует апоптоз.

[0098] SGN-LIV1A представляет собой гуманизированную форму мышинового антитела BR2-22а, описанную в патенте США № 9228026. Антитело SGN-LIV1A по существу совпадает с BR2-22а в пределах ошибки эксперимента и содержит семь обратных мутаций. Способы получения антитела SGN-LIV1A также описаны в патенте США № 9228026, который включен в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте для всех целей.

[0099] Аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи SGN-LIV1A представлена в настоящем документе как SEQ ID NO: 1. Аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи SGN-LIV1A представлена в настоящем документе как SEQ ID NO: 2. Синтез и конъюгирование лекарственного линкера vсММАЕ (показан ниже; также обозначаемый как 1006), кроме того, описаны в патенте США № 9228026 и в публикации патента США № 2005/0238649, которые включены в настоящий документ посредством ссылки во всей их полноте для всех целей.

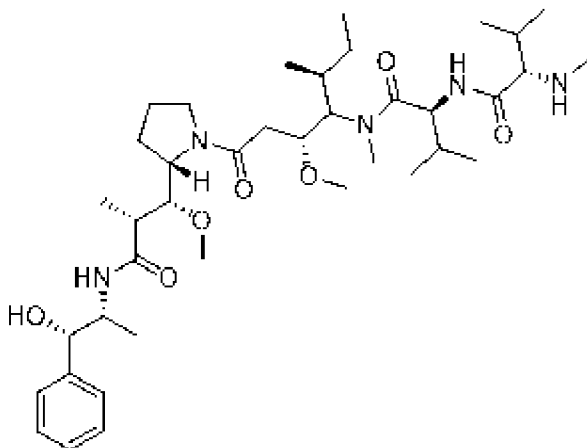
Таблица 1. HCVR в SGN-LIV1A (SEQ ID NO: 1).

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Leu Thr Ile Glu Asp Tyr
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Gly Pro Lys Phe
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Val His Asn Ala His Tyr Gly Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

Таблица 2. LCVR в SGN-LIV1A (SEQ ID NO: 2).

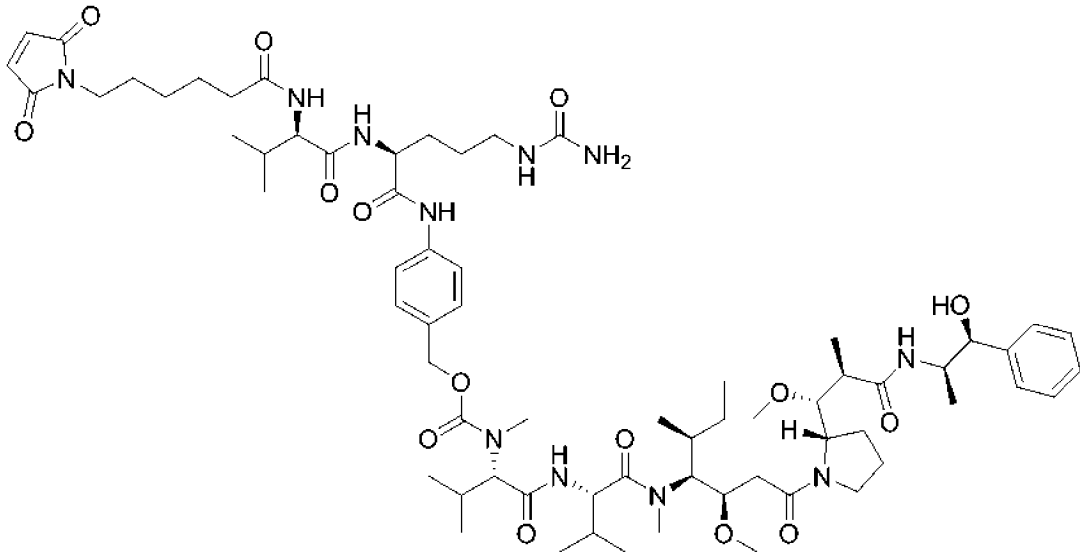
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 Pro Arg Pro Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Thr Arg Phe Ser Gly Val Pro
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
 Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 Arg

[0100] В соответствии с некоторыми примерами вариантов осуществления изобретения LIV1-ADC содержит монометил ауристатин E (MMAE) (PubChem CID: 53297465):



MMAE.

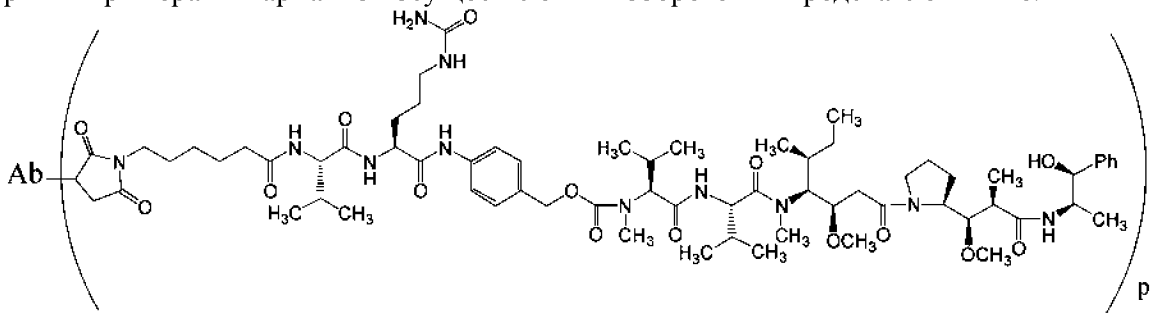
[0101] В соответствии с некоторыми примерами вариантов осуществления изобретения LIV1-ADC содержит конъюгированный с ним vcMMAE. vcMMAE представляет собой конъюгат лекарственное средство-линкер для ADC с сильной противоопухолевой активностью, включающий антимитотический агент MMAE, связанный через лизосомально расщепляемый дипептид валин-цитруллин (vc):



vcMMAE.

В патенте США № 9228026 описаны способы конъюгирования vcMMAE с hLIV22.

[0102] Конъюгат vcMMAE-антитело (например, LIV1-ADC) в соответствии с некоторыми примерами вариантов осуществления изобретения представлен ниже.



[0103] В соответствии с некоторыми примерами вариантов осуществления изобретения предложен, как указано выше, конъюгат vcMMAE-антитело (например, LIV1-ADC), где Ab может включать анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, hLIV22), и где p может обозначать любое целое число от около 1 до около 8. В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен, как указано выше, конъюгат vcMMAE-антитело (например, LIV1-ADC), где Ab может включать анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, hLIV22), и где p обозначает 1, представляя отношение vcMMAE к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту как 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен, как указано выше, конъюгат vcMMAE-антитело (например, LIV1-ADC), где Ab может включать анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, hLIV22), и где p обозначает 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10, представляя отношение vcMMAE к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту (также известное как «соотношение лекарственное средство-антитело» или «DAR») как 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10, соответственно. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения предложен, как указано выше, конъюгат vcMMAE-антитело (например, LIV1-ADC), где отношение vcMMAE к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту составляет 1, 2,

3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения предложен, как указано выше, конъюгат vсММАЕ-антитело (например, LIV1-ADC), где Ab может включать анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, hLIV22), и где р обозначает 4, представляя отношение vсММАЕ к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту как 4. Таким образом, в некоторых примерах вариантов осуществления изобретения предложен, как указано выше, конъюгат vсММАЕ-антитело (например, LIV1-ADC), где отношение vсММАЕ к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту составляет 4.

[0104] SGN-LIV1A может быть введен субъектам на уровне, который ингибирует рост клеток рака молочной железы и в то же время хорошо переносится субъектом.

[0105] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) содержит CDR из HCVR, представленные в виде последовательности SEQ ID NO: 1, и/или CDR из LCVR, представленные в виде последовательности SEQ ID NO: 2. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) содержат HCVR, представленную в виде последовательности SEQ ID NO: 1, и/или LCVR, представленную в виде последовательности SEQ ID NO: 2. В других вариантах осуществления изобретения анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) содержат пару HCVR/LCVR SEQ ID NO: 1/SEQ ID NO: 2. В других вариантах осуществления изобретения анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) содержат HCVR, которая имеет по меньшей мере около 80% гомологии или идентичности (например, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) с последовательностью SEQ ID NO: 1, и/или содержат LCVR, которая имеет по меньшей мере около 80% гомологии или идентичности (например, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) с последовательностью SEQ ID NO: 2.

[0106] Анти-LIV1 антитела и их антигенсвязывающие фрагменты (например, LIV1-ADC), описанные в настоящем документе, могут быть экспрессированы в модифицированной форме. Например, область дополнительных аминокислот, особенно заряженных аминокислот, может быть добавлена к N-концу анти-LIV1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, LIV1-ADC) чтобы улучшить стабильность и устойчивость в клетке-хозяине в процессе очистки или в процессе последующей обработки и хранения. Также к анти-LIV1 антителу или его антигенсвязывающему фрагменту (например, LIV1-ADC) по настоящему изобретению для облегчения очистки могут быть добавлены пептидные фрагменты. Такие области могут быть удалены перед завершением получения молекулы антитела или по меньшей мере одного ее фрагмента. Такие методы описаны во многих стандартных лабораторных руководствах, таких как Sambrook, выше; Ausubel, et al., ed., Current Protocols In Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., NY, N.Y. (1987-2001).

[0107] Анти-LIV1 антитела или их антигенсвязывающие фрагменты (например,

LIV1-ADC), описанные в настоящем документе обычно связывают LIV-1 с константой равновесного связывания около ≤ 1 мкМ, например, около ≤ 100 нМ, около ≤ 10 нМ или около ≤ 1 нМ, как измерено с использованием стандартных анализов связывания, например, анализа связывания на основе Biacore.

[0108] Молекулы антител по настоящему изобретению можно охарактеризовать относительно эталонного анти-LIV-1 антитела, например, BR2-22a. Антитело BR2-22a описано в US 8591863 и коммерчески доступно из Американской коллекции типовых культур.

Конъюгаты антитело-лекарственное средство

[0109] В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-LIV1 антитела по изобретению можно комбинировать с конъюгатами антитело-лекарственное средство (ADC). Типичным анти-LIV1-ADC антителом является SGN-LIV1A. Конкретные ADC могут включать цитотоксические агенты (например, химиотерапевтические агенты), ферменты, преобразующие пролекарство, радиоактивные изотопы или соединения или токсины (эти группы в совокупности называют терапевтическими агентами). Например, ADC может быть конъюгирован с цитотоксическим агентом, таким как химиотерапевтический агент, или токсином (например, с цитостатическим или цитотоксическим агентом, таким как, например, абрин, ризин А, псевдомонадный экзотоксин, или дифтерийным токсином). Примеры используемых классов цитотоксических агентов включают, например, связывающие вещества с малыми бороздками ДНК, алкилирующие агенты ДНК и ингибиторы тубулина. Типичные цитотоксические агенты включают, например, ауристатины, камптотецины, калихеамицины, дуокармицины, этопозиды, майтансиноиды (например, DM1, DM2, DM3, DM4), таксаны, бензодиазепины (например, пирроло[1,4]бензодиазепины, индолинобензодиазепины и оксазолидинобензодиазепины, включая димеры пирроло[1,4]бензодиазепина, димеры индолинобензодиазепина и димеры оксазолидинзиндеодина) и алкалоиды барвинка.

[0110] ADC может быть конъюгирован с пролекарственным ферментом. Фермент, преобразующий пролекарство, может быть рекомбинантно слит с антителом или химически конъюгирован с ним с использованием известных методов. Примерами преобразующих пролекарства ферментов являются карбоксипептидаза G2, бета-глюкуронидаза, пенициллин-V-амидаза, пенициллин-G-амидаза, β -лактамаза, β -глюкозидаза, нитроредуктаза и карбоксипептидаза А.

[0111] Способы конъюгирования терапевтических агентов с белками и, в частности, с антителами хорошо известны (см., например, Alley et al., Current Opinion in Chemical Biology 2010 14: 1-9; Senter, Cancer J., 2008, 14(3): 154-169.) Терапевтический агент может быть конъюгирован таким образом, что снижается его активность, если он не отщепляется от антитела (например, гидролизом, протеолитической деградацией или расщепляющим агентом). В некоторых аспектах терапевтический агент присоединяется к антителу с помощью расщепляемого линкера, который восприимчив к расщеплению во внутриклеточной среде раковой клетки, экспрессирующей LIV-1, но по существу не

чувствителен во внеклеточной среде, так что конъюгат отщепляется от антитела, когда оно интернализуется экспрессирующей LIV-1 раковой клеткой (например, в эндосомальной или, например, в силу чувствительности к рН или чувствительности к протеазе, в лизосомальной среде или в кавеолярной среде). В некоторых вариантах осуществления изобретения терапевтический агент также может быть присоединен к антителу с помощью нерасщепляемого линкера.

[0112] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения ADC может включать линкерную область между цитотоксическим или цитостатическим агентом и антителом. Как отмечено выше, обычно линкер может расщепляться во внутриклеточных условиях, так что расщепление линкера высвобождает терапевтический агент из антитела во внутриклеточной среде (например, в лизосоме, эндосоме или кавеоле). Линкер может представлять собой, например, пептидильный линкер, который расщепляется внутриклеточным пептидазным или протеазным ферментом, включая лизосомальную или эндосомальную протеазу. Расщепляющие агенты могут включать катепсины В и D и плазмин (см., например Dubowchik and Walker, *Pharm. Therapeutics* 83:67-123, 1999). Наиболее типичными являются пептидильные линкеры, которые расщепляются ферментами, присутствующими в клетках, экспрессирующих LIV-1. Например, можно использовать пептидильный линкер, который расщепляется тиолзависимой протеазой катепсином-В, которая высоко экспрессируется в раковой ткани (например, линкер, содержащий пептид Phe-Leu или Val-Cit).

[0113] Расщепляемый линкер может быть чувствительным к рН, то есть чувствительным к гидролизу при определенных значениях рН. Как правило, рН-чувствительный линкер гидролизуется в кислых условиях. Например, может быть использован кислотолабильный линкер, который гидролизуется в лизосоме (например, гидразон, семикарбазон, тиосемикарбазон, цис-аконитамид, ортоэфир, ацеталь, кеталь или тому подобное) (см., например, патенты США №№ 5122368; 5824805; 5622929; Dubowchik and Walker, *Pharm. Therapeutics* 83:67-123, 1999; Neville et al, *Biol. Chem.* 264: 14653-14661, 1989). Такие линкеры относительно стабильны в условиях нейтрального рН, такого как в крови, но нестабильны при рН ниже 5,5 или 5,0, приблизительно рН лизосомы.

[0114] Другие линкеры расщепляются в восстанавливающих условиях (например, дисульфидный линкер). Дисульфидные линкеры включают такие, которые могут образовываться с использованием SATA (N-сукцинимидил-S-ацетилтиоацетат), SPDP (N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)пропионат), SPDB (N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)бутират) и SMPT (N-сукцинимидил-оксикарбонил-альфа-метил-альфа-(2-пиридил-дитио)толуол), SPDB и SMPT (см., например, Thorpe et al., *Cancer Res.* 47:5924-5931, 1987; Wawrzynczak et al., *In Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimager and Therapy of Cancer* (C. W. Vogel ed., Oxford U. Press, 1987. См. также патент США № 4880935).

[0115] Линкер также может представлять собой малонатный линкер (Johnson et al.,

Anticancer Res. 15: 1387-93, 1995), малеимидобензоильный линкер (Lau et al., Bioorg-Med-Chem. 3: 1299-1304, 1995) или 3'-N-амидный аналог (Lau et al., Bioorg-Med-Chem. 3:1305-12, 1995).

[0116] Линкер также может представлять собой нерасщепляемый линкер, такой как малеимидо-алкиленовый или малеимид-арильный линкер, который непосредственно присоединен к терапевтическому агенту и высвобождается в результате протеолитической деградации антитела.

[0117] Как правило, линкер не является по существу чувствительным к внеклеточной среде, что означает, что не более около 20%, обычно не более около 15%, более типично не более около 10% и даже более типично не более чем около 5%, не более чем около 3% или не более чем около 1% линкеров в образце ADC расщепляются, когда ADC присутствует во внеклеточной среде (например, в плазме). Независимо от того, является ли линкер по существу не чувствительным к внеклеточной среде, можно определить, например, независимо инкубируя с плазмой как (a) ADC («образец ADC»), так и (b) равное молярное количество неконъюгированного антитела или терапевтического агента («контрольный образец») в течение предварительно определенного периода времени (например, 2, 4, 8, 16 или 24 часа) и затем сравнивая количество неконъюгированного антитела или терапевтического агента, присутствующего в образце ADC, с количеством, присутствующим в контрольном образце, определенного, например, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

[0118] Линкер также может стимулировать клеточную интернализацию, например, когда он конъюгирован с терапевтическим агентом (то есть в окружении линкер-фрагмент терапевтического агента производного ADC или ADC, описанного в настоящем документе). Альтернативно, линкер может стимулировать клеточную интернализацию, когда он конъюгирован как с терапевтическим агентом, так и с антителом (то есть в среде ADC, как описано в настоящем документе).

[0119] Анти-LIV-1 антитело может быть конъюгировано с линкером через гетероатом антитела. Эти гетероатомы могут присутствовать на антителе в его естественном состоянии или могут быть введены в анти-LIV-1 антитело. В некоторых аспектах анти-LIV-1 антитело будет конъюгировано с линкером через атом серы остатка цистеина. Способы конъюгирования линкера и лекарственного линкера с антителами известны в данной области.

[0120] Примеры конъюгатов антитело-лекарственное средство включают конъюгаты антитело-лекарственное средство на основе ауристатиона, что означает, что лекарственный компонент представляет собой ауристатиновый лекарственный препарат. Было показано, что ауристатины связывают тубулин, влияют на динамику микротрубочек, деление ядра и клеток и обладают противоопухолевой активностью. Обычно конъюгат антитело-лекарственный препарат на основе ауристатиона содержит линкер между ауристатиновым лекарственным препаратом и анти-LIV 1 антителом. Линкер может быть, например, расщепляемым линкером (например, пептидильным линкером) или

нерасщепляемым линкером (например, линкером, высвобождаемым при деградации антитела). Ауристатины включают MMAF и MMAE. Синтез и структура типичных ауристатинов описаны в патентах США №№ 7659241, 7498298, 7968687 и в публикациях США №№ 2009/0111756 и 2009/0018086, каждая из которых включены в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте и для любых целей.

[0121] В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент могут быть объединены с конъюгатом лекарственное средство-антитело (ADC) и могут иметь соотношение частей лекарственного средства и антитела от около 1 до около 8. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент могут быть объединены с ADC и могут иметь соотношение частей лекарственного средства и антитела от около 2 до около 5. В некоторых вариантах осуществления изобретения отношение частей лекарственного средства и антитела составляет 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых примерных вариантах осуществления анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент могут быть объединены с ADC и иметь соотношение частей лекарственного средства и антитела 4. Способы определения соотношения частей лекарственного средства и антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в ADC хорошо известны специалистам в данной области.

III. Терапевтические применения

[0122] Изобретение относится к способам лечения расстройств, связанных с клетками, которые экспрессируют LIV-1, например, злокачественного новообразования (например, рака молочной железы, такого как местно-распространенный рак молочной железы или метастатический рак молочной железы). В результате изобретение обеспечивает способ лечения субъекта, например, субъекта, страдающего раком молочной железы, с использованием анти-LIV1 антител и их антигенсвязывающих фрагментов (например, LIV1-ADC), описанных в настоящем документе. Способ включает введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества анти-LIV1 антитела или композиции, содержащей анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC).

[0123] Как используется в настоящем документе, термины «субъект» и «пациент» относятся к организмам, подлежащим лечению способами по настоящему изобретению. Такие организмы, предпочтительно, включают, но не ограничиваются ими, млекопитающих (например, мышей, обезьян, лошадей, крупный рогатый скот, свиней, собак, кошек и тому подобное) и, более предпочтительно, включают людей. Как используется в настоящем документе, термины «лечить», «лечение» и «излечение» включают в себя любой эффект, например, облегчение, уменьшение, модуляцию, ослабление или устранение, который приводит к улучшению состояния, заболевания, расстройства и тому подобного, или ослаблению его симптома, такого как, например, уменьшение количества раковых клеток, уменьшение размера опухоли, уменьшение скорости инфильтрации раковых клеток в периферические органы или уменьшение

скорости метастазирования опухоли или роста опухоли.

[0124] Положительные терапевтические эффекты при злокачественном новообразовании могут быть определены несколькими путями (см., W. A. Weber, J. Null. *Med.* 50:1S-10S (2009); Eisenhauer et al., выше). В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения реакцию на анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) оценивают с использованием критериев RECIST 1.1. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение, достигаемое терапевтически эффективным количеством, представляет собой любое из следующих: частичный ответ (PR), полный ответ (CR), выживаемость без прогрессирования (PFS), выживаемость без заболевания (DFS), объективный ответ (OR) или общая выживаемость (OC). Схема приема лекарственного средства при терапии, описанной в настоящем документе, которая эффективна для лечения пациента с раком молочной железы, может варьироваться в зависимости от таких факторов, как состояние заболевания, возраст и вес пациента, а также от способности терапии вызывать противораковый ответ у пациента. Хотя вариант способа лечения, лекарственные средства и применения по настоящему изобретению могут быть неэффективными при достижении положительного терапевтического эффекта у каждого субъекта, он должен быть достигнут у статистически значимого числа субъектов, что определяется любым статистическим тестом, известным в данной области техники, такие как t-критерий Стьюдента, χ^2 -критерий, U-критерий по Манну и Уитни, критерий Крускала-Уоллиса (H-критерий), критерий Джонкхира-Терпстры и критерий Уилкоксона.

[0125] Термин «критерии ответа RECIST 1.1», используемый в данном документе, означает определения, изложенные в работе Eisenhauer et al., E. A. et al., *Eur. J Cancer* 45:228-247 (2009) для целевых или нецелевых поражений, в зависимости от ситуации, в зависимости от контекста, в котором измеряется ответ.

[0126] «Опухоль» по отношению к субъекту, у которого диагностировано или предположительно имеется злокачественное новообразование (например, рак молочной железы), относится к злокачественным или потенциально злокачественным новообразованиям или массе ткани любого размера. Солидная опухоль представляет собой аномальный рост или массу ткани, которая обычно не содержит кист или жидких областей. Различные типы солидных опухолей названы по типу клеток, которые их образуют. Примерами солидных опухолей являются саркомы, карциномы и лимфомы. Примерами солидных опухолей являются саркомы, карциномы и лимфомы. При лейкемии (рак крови) обычно не образуется солидных опухолей (Национальный институт рака, Словарь терминов по раку).

[0127] «Опухолевая нагрузка», также называемая «опухолевой массой», относится к общему количеству опухолевого материала, распределенного по всему организму. Опухолевая нагрузка относится к общему количеству раковых клеток или к общему размеру опухоли во всем организме, включая лимфатические узлы и костный мозг. Нагрузка опухоли может быть определена различными способами, известными в данной

области, такими как, например, измерение размеров опухоли (опухолей) при удалении у субъекта, например, с использованием штангенциркуля, или непосредственно в организме с использованием методов визуализации, например УЗИ, сканирование костей, компьютерная томография (КТ) или магнитно-резонансная томография (МРТ).

[0128] Термин «размер опухоли» относится к полному размеру опухоли, который можно измерить в виде длины и ширины опухоли. Размер опухоли может быть определен различными способами, известными в данной области, такими как, например, путем измерения размеров опухоли (опухолей) при удалении у субъекта, например, с помощью штангенциркуля, или непосредственно в организме, используя методы визуализации, например, сканирование костей, ультразвук, КТ или МРТ.

[0129] Как используется в настоящем документе, термин «эффективное количество» относится к количеству соединения (например, анти-LIV1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента), достаточному для достижения полезных или желаемых результатов. Эффективное количество анти-LIV1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, LIV1-ADC) может быть введено за одно или несколько введений, применений или дозировок и не предназначено для ограничения конкретным препаратом или путем введения. Обычно терапевтически эффективное количество анти-LIV1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, LIV1-ADC) находится в диапазоне от 0,5 мг/кг до 2,8 мг/кг при максимальной дозе около 200 мг. Вводимая доза может варьироваться в зависимости от известных факторов, таких как фармакодинамические характеристики конкретного агента, а также способ и пути его введения; возраста, здоровья и веса получателя; типа и степени заболевания или показаний к лечению, характера и степени симптомов, вида сопутствующего лечения, частоты лечения и желаемого эффекта. Начальная доза может быть увеличена за пределы верхнего уровня, чтобы быстрее достичь желаемого уровня в крови или уровня в ткани. Альтернативно, начальная доза может быть меньше оптимальной, и суточная доза может постепенно увеличиваться в течение курса лечения. Частота дозирования может варьироваться в зависимости от таких факторов, как путь введения, дозировка, период полувыведения антитела из сыворотки и заболевание, которое лечат. Примерами частоты дозирования являются один раз в день, один раз в неделю, один раз каждые две недели и один раз каждые три недели. Состав лекарственных средств на основе моноклональных антител известен специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело лиофилизируют и затем восстанавливают в забуференном солевом растворе в процессе введения.

[0130] В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) вводят пациенту, у которого не удалось достичь устойчивого ответа после предшествующей терапии (например, после неудачной или неэффективной терапии с помощью системной противораковой терапии, которая не является анти-LIV1-антителом или его антигенсвязывающим фрагментом (например, LIV1-ADC)), то есть имеющему опыт лечения злокачественного

новообразования.

[0131] В некоторых вариантах осуществления изобретения лекарственный препарат, содержащий анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC), как описано выше, может быть предоставлен в виде жидкой композиции или приготовлен путем разведения лиофилизированного порошка стерильной водой для инъекций перед использованием.

[0132] В некоторых вариантах осуществления изобретения режим дозирования будет включать введение анти-LIV1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, LIV1-ADC) в дозе около 2,5 мг/кг веса тела субъекта с интервалами примерно 21 день (± 2 дня) на протяжении всего курса лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) используются в дозе меньше чем около 200 мг каждые 3 недели.

[0133] В некоторых вариантах осуществления изобретения режим дозирования будет включать введение анти-LIV1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, LIV1-ADC) в дозе около 2,5 мг/кг веса тела субъекта с интервалами примерно 21 день (± 2 дня) на протяжении всего курса лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) используются в дозе меньше или равной примерно 250 мг каждые 3 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) используются в дозе меньше или равной 250 мг каждые 3 недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту дополнительно вводится гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (GCSF). В некоторых вариантах осуществления изобретения, если анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) используются в дозе больше или равной 200 мг и меньше или равной примерно 250 мг каждые 3 недели, субъекту дополнительно вводится GCSF. В некоторых вариантах осуществления изобретения, если анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) используются в дозе больше или равной 200 мг и меньше или равной 250 мг каждые 3 недели, субъекту дополнительно вводится GCSF. В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF вводится профилактически. В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF представляет собой рекомбинантный GCSF человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF представляет собой филграстим (NEUPOGEN®). В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF представляет собой PEG-филграстим (NEULASTA®). В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF представляет собой ленограстим (GRANOCYTE®). В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF представляет собой tbo-филграстим (GRANIX®).

[0134] В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту парентерально вводят дозировку, например, внутривенной (IV) инфузией, лекарственного препарата, содержащего анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например,

LIV1-ADC).

[0135] В конкретном варианте осуществления изобретения анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) вводят субъекту в виде жидкого препарата в дозе, выбранной из группы, состоящей из 0,5 мг/кг веса тела каждые три недели (Q3W) или каждые 21 день (Q21D), около 1,0 мг/кг веса тела Q3W или Q21D, около 1,5 мг/кг веса тела Q3W или Q21D, около 2,0 мг/кг веса тела Q3W или Q21D, около 2,5 мг/кг веса тела Q3W или Q21D, или около 2,8 мг/кг веса тела Q3W или Q21D, и максимальных эквивалентов любой из этих доз, таких как, например, менее чем около 200 мг Q3W или Q21D.

[0136] В конкретном варианте осуществления изобретения анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) вводят субъекту в виде жидкого препарата в дозе, выбранной из группы, состоящей из 0,5 мг/кг веса тела каждые три недели (Q3W) или каждые 21 день (Q21D), около 1,0 мг/кг веса тела Q3W или Q21D, около 1,5 мг/кг веса тела Q3W или Q21D, около 2,0 мг/кг веса тела Q3W или Q21D, около 2,5 мг/кг веса тела Q3W или Q21D, или около 2,8 мг/кг веса тела Q3W или Q21D, и максимальных эквивалентов любой из этих доз, таких как, например, меньше или равных примерно 250 мг Q3W или Q21D. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту дополнительно вводится GCSF. В некоторых вариантах осуществления изобретения, если доза выше или равна примерно 200 мг и меньше или равна примерно 250 мг Q3W или Q21D, субъекту дополнительно вводится GCSF. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту дополнительно вводится GCSF. В некоторых вариантах осуществления изобретения, если доза больше или равна 200 мг и меньше или равна 250 мг Q3W или Q21D, субъекту дополнительно вводится GCSF. В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF вводится профилактически. В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF представляет собой рекомбинантный GCSF человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF представляет собой филграстим (NEUPOGEN®). В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF представляет собой PEG-филграстим (NEULASTA®). В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF представляет собой ленограстим (GRANOCYTE®). В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF представляет собой tbo-филграстим (GRANIX®).

[0137] В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) предложены в дозировке около 10 мг, около 20 мг, около 30 мг, около 40 мг, около 50 мг, около 60 мг, около 70 мг, около 80 мг, около 90 мг, около 100 мг, около 110 мг, около 120 мг, около 130 мг, около 140 мг, около 150 мг, около 160 мг, около 170 мг, около 180 мг, около 190 мг, около 191 мг, около 192 мг, около 193 мг, около 194 мг, около 195 мг, около 196 мг, около 197 мг, около 198 мг, около 199 мг или около 200 мг. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) предложены в дозировке меньше чем около 200 мг, например, в дозировке

около 200 мг, в дозировке около 199 мг, около 198 мг, около 197 мг, около 196 мг, около 195 мг, около 190 мг, около 185 мг, около 180 мг, около 175 мг, около 170 мг, около 165 мг, около 160 мг, около 155 мг, около 150 мг, около 145 мг, около 140 мг, около 135 мг, около 130 мг, около 125 мг, около 120 мг, около 115 мг, около 110 мг, около 105 мг или около 100 мг.

[0138] В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) предложены в дозировке около 10 мг, около 20 мг, около 30 мг, около 40 мг, около 50 мг, около 60 мг, около 70 мг, около 80 мг, около 90 мг, около 100 мг, около 110 мг, около 120 мг, около 130 мг, около 140 мг, около 150 мг, около 160 мг, около 170 мг, около 180 мг, около 190 мг, около 200 мг, около 210 мг, около 220 мг, около 230 мг, около 240 мг, около 245 мг или около 250 мг. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) предложены в дозировке меньше или равной примерно 250 мг, например, в дозировке около 250 мг, в дозировке около 245 мг, около 240 мг, около 235 мг, около 230 мг, около 225 мг, около 220 мг, около 215 мг, около 210 мг, около 205 мг, около 200 мг, около 195 мг, около 190 мг, около 185 мг, около 180 мг, около 175 мг, около 170 мг, около 165 мг, около 160 мг, около 155 мг, около 150 мг, около 145 мг, около 140 мг, около 135 мг, около 130 мг, около 125 мг, около 120 мг, около 115 мг, около 110 мг, около 105 мг или около 100 мг.

[0139] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения настоящее изобретение относится к способу лечения злокачественного новообразования в клетке, ткани, органе, у животного или у пациента. В конкретных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения рака молочной железы у человека.

[0140] В некоторых случаях рака молочной железы обнаруживаются определяемые уровни LIV-1, измеренные либо по белку (например, с помощью иммуноанализа с использованием одного из приведенных в качестве примеров антител), либо по уровню мРНК. В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы показывает повышенные уровни LIV-1 относительно незлокачественной ткани или клеток того же типа, например, других клеток молочной железы или тканей молочной железы от того же пациента. В других вариантах осуществления рак молочной железы показывает сходные уровни LIV-1 относительно незлокачественной ткани молочной железы или клеток молочной железы того же типа, например, от одного и того же пациента.

[0141] Примерный уровень белка LIV-1 в клетках рака молочной железы, подлежащих лечению, составляет 5000-150000 белков LIV-1 на клетку, хотя можно лечить рак молочной железы, связанный с более высокими или более низкими уровнями. Необязательно, уровни LIV-1 (например, уровни белка LIV-1) при раке молочной железы у субъекта измеряют до проведения лечения.

[0142] Примерами рака молочной железы являются такие, которые экспрессируют LIV-1 в клетке, экспрессирующей рак (то есть рак, экспрессирующий LIV1). В некоторых примерных вариантах осуществления рак молочной железы выбран из группы,

включающей карциному, саркому, листовидные опухоли, болезнь Педжета и ангиосаркому. Рак молочной железы может быть *in situ* (например, протоковая карцинома *in situ* (DCIS), лобулярная карцинома *in situ* (LCIS) и тому подобное) или инвазивным/инфильтрирующим (например, инвазивная протоковая карцинома (IDC), инвазивная лобулярная карцинома (ILC), воспалительный рак молочной железы (IBC) и тому подобное).

[0143] Рак молочной железы может иметь следующие характеристики: эстроген-рецептор положительный (ER+); прогестерон-рецептор положительный (PR+); гормон-отрицательный рецептор (HR-); сверхэкспрессия гена HER2 (HER2+); ген HER2 дикого типа или недостаточно экспрессирующий (HER2-); группа 1 (люминал А), то есть ER+/PR+/HER2-; группа 2 (люминал В), то есть ER+/PR-/HER2+; группа 3 (HER2+), то есть ER-/PR-/HER2+; и группа 4 (базально-подобная или тройная отрицательная (TN)), то есть ER-/PR-/HER2-.

[0144] Рак молочной железы может быть далее классифицирован как 1, 2 или 3 степени. Рак молочной железы 1 степени или хорошо дифференцированный (оценка 3, 4 или 5) рак молочной железы содержит клетки, которые растут медленнее и больше похожи на нормальную ткань молочной железы, чем в случае более высоких степеней рака молочной железы. Рак молочной железы 2 степени или умеренно дифференцированный (6, 7 баллов) содержит клетки, которые растут с большой скоростью и выглядят как клетки где-то между 1 и 3 степенью. Рак молочной железы 3 степени или слабо дифференцированный (8, 9) рак молочной железы содержит клетки, которые очень отличаются от нормальных клеток и обычно растут и распространяются быстрее, чем в случае 1 или 2 степени.

[0145] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения рак молочной железы представляет собой неизлечимый неоперабельный местно-распространенный или метастатический рак молочной железы (LA/MBC). В некоторых вариантах осуществления изобретения рак молочной железы представляет собой один из следующих видов: тройной негативный (TN) (ER-/PR-/HER2-) рак молочной железы, ER- и/или PR+/HER2- рак молочной железы и LA/MBC рак молочной железы. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения рак молочной железы представляет собой HER2+ и LA/MBC. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения рак молочной железы представляет собой TN и LA/MBC. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения рак молочной железы выбран из группы, включающий TN рак молочной железы, метастатический рак молочной железы и метастатический TN рак молочной железы.

[0146] Во всем описании, когда композиции и наборы описаны как имеющие, включающие или содержащие конкретные компоненты, или когда процессы и способы описаны как имеющие, включающие или содержащие конкретные стадии, предполагается, что, кроме того, существуют композиции и наборы по настоящему изобретению, которые по существу состоят или состоят из перечисленных компонентов, и

что существуют процессы и способы согласно настоящему изобретению, которые по существу состоят или состоят из перечисленных стадий обработки и способа.

IV. Фармацевтические композиции и составы

[0147] Для терапевтического применения анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) объединяют с фармацевтически приемлемым носителем. Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемый носитель» означает буферы, носители и нейтральные вспомогательные вещества, подходящие для использования в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, соразмерные с разумным соотношением успех/риск. Носитель(и) должен быть «приемлемым» в том смысле, что он совместим с другими ингредиентами рецептур и не является вредным для реципиента. Фармацевтически приемлемые носители включают буферы, растворители, дисперсионные среды, покрытия, изотонические и замедляющие абсорбцию агенты и тому подобное, которые совместимы с фармацевтическим введением. Использование таких сред и агентов для фармацевтически активных веществ известно в данной области.

[0148] Таким образом, композиции анти-LIV1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, LIV1-ADC) по настоящему изобретению могут содержать по меньшей мере один из любых подходящих нейтральных вспомогательных веществ, таких как, но не ограничиваясь ими, разбавитель, связующее, стабилизатор, буферы, соли, липофильные растворители, консерванты, адъюванты или тому подобное. Фармацевтически приемлемые нейтральные вспомогательные вещества являются предпочтительными. Неограничивающие примеры и способы приготовления таких стерильных растворов хорошо известны в данной области, такие как, но не ограничиваясь этим, описанные в работе Gennaro, Ed., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, Mack Publishing Co. (Easton, Pa.) 1990. Фармацевтически приемлемые носители, так чтобы они являлись подходящими для способа введения, растворимости и/или стабильности молекулы антитела, фрагмента или варианта композиции, могут быть выбраны обычным образом, что хорошо известно в данной области техники или как описано в настоящем документе.

[0149] Подходящие фармацевтические нейтральные вспомогательные вещества и/или добавки для использования в композициях молекул антител в соответствии с изобретением известны в данной области, например, как указано в обзоре «Remington: The Science & Practice of Pharmacy», 19th ed., Williams & Williams, (1995), и в работе «Physician's Desk Reference», 52nd ed., Medical Economics, Montvale, N.J. (1998).

[0150] Фармацевтические композиции, содержащие анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC), как описано в настоящем документе, могут быть представлены в виде единичной дозированной формы и могут быть получены любым подходящим способом. Фармацевтическая композиция должна быть составлена так, чтобы она была совместима с предполагаемым путем введения.

Примерами путей введения являются внутривенное (в/в), внутрикожное, ингаляционное, трансдермальное, местное, трансмукозальное и ректальное введение. Предпочтительным путем введения моноклональных антител является внутривенная инфузия. Полезные составы могут быть получены способами, известными в области фармацевтики. Например, см. Remington's Pharmaceutical Sciences (1990), выше. Компоненты составов, подходящих для парентерального введения, включают стерильный разбавитель, такой как вода для инъекций, физиологический раствор, жирные масла, полиэтиленгликоли, глицерин, пропиленгликоль или другие синтетические растворители; антибактериальные агенты, такие как бензиловый спирт или метилпарабены; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфит натрия; хелатообразующие агенты, такие как ЭДТА; буферы, такие как ацетаты, цитраты или фосфаты; и агенты для регулирования тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза.

[0151] Для внутривенного введения подходящие носители включают физиологический солевой раствор, бактериостатическую воду, кремофор ELTM (BASF, Parsippany, N.J.) или физиологический раствор с фосфатным буфером (PBS). Носитель должен быть стабильным в условиях изготовления и хранения и должен быть защищен от микроорганизмов. Носителем может быть растворитель или дисперсионная среда, содержащая, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль) и их подходящие смеси.

[0152] Фармацевтические составы, предпочтительно, являются стерильными. Стерилизация может быть выполнена любым подходящим способом, например фильтрацией через стерильные фильтрующие мембраны. Если композиция лиофилизирована, стерилизацию на фильтре можно проводить до или после лиофилизации и восстановления.

[0153] Композиции по настоящему изобретению могут иметь различные формы. Они включают, например, жидкие, полутвердые и твердые лекарственные формы, такие как жидкие растворы (например, растворы для инъекций и инфузий), дисперсии или суспензии и липосомы. Конкретная форма зависит от предполагаемого способа введения и терапевтического применения. В примерах вариантов осуществления изобретения представленные композиции находятся в виде растворов для инъекций или инфузий. Примерами введения являются парентеральное (например, внутривенное, подкожное, внутриглазное, внутрибрюшинное, внутримышечное). В типичном варианте осуществления препарат вводят внутривенной инфузией или инъекцией. В другом предпочтительном варианте осуществления препарат вводят внутримышечной или подкожной инъекцией.

[0154] Фразы «парентеральное введение» и «парентеральное введение», как используется в настоящем документе, означают способы введения, отличные от энтерального и местного введения, обычно путем инъекции, и включают, без ограничения, внутривенные, внутримышечные, подкожные, внутриартериальные, интратекальные, внутрикапсулярные, интраорбитальные, интравитреальные,

внутрисердечные, внутрикожные, внутривентрикулярные, транстрахеальные, ингаляционные, подкожные, субкутикулярные, интраспинальные, эпидуральные и интратеральные инъекцию и инфузию.

[0155] Примерами доз анти-LIV1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, LIV1-ADC) являются около 0,5 мг/кг веса тела субъекта, около 1,0 мг/кг веса тела субъекта, около 1,5 мг/кг веса тела субъекта, около 2,0 мг/кг веса тела субъекта, около 2,5 мг/кг веса тела субъекта или около 2,8 мг/кг веса тела субъекта. В конкретном варианте осуществления изобретения примером дозы анти-LIV1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, LIV1-ADC) является около 2,5 мг/кг веса тела субъекта. В другом конкретном варианте осуществления изобретения примером максимальной дозы анти-LIV1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, LIV1-ADC) является около 200 мг на курс. В другом конкретном варианте осуществления изобретения примером максимальной дозы анти-LIV1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, LIV1-ADC) является около 250 мг на курс.

[0156] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения субъекту вводится доза около 2,5 мг/кг при максимальной дозе около 200 мг один раз в три недели. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения субъекту вводится внутривенная доза около 2,5 мг/кг при максимальной дозе около 200 мг один раз в три недели.

[0157] В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения субъекту вводится доза около 2,5 мг/кг при максимальной дозе около 250 мг один раз в три недели. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения субъекту вводится внутривенная доза около 2,5 мг/кг при максимальной дозе около 250 мг один раз в три недели. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения субъекту дополнительно вводится GCSF. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения, если анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) используются в дозе больше или равной 200 мг и меньше или равной примерно 250 мг один раз в три недели, субъекту дополнительно вводится GCSF. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения, если анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC) используются в дозе больше или равной 200 мг и меньше или равной 250 мг один раз в три недели, субъекту дополнительно вводится GCSF. В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF вводится профилактически. В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF представляет собой рекомбинантный GCSF человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF представляет собой филграстим (NEUPOGEN®). В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF представляет собой PEG-филграстим (NEULASTA®). В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF представляет собой ленограстим (GRANOCYTE®). В некоторых вариантах осуществления изобретения GCSF представляет собой тбо-филграстим (GRANIX®).

[0158] В настоящем изобретении предложен набор, включающий упаковочный

материал и, по меньшей мере, один флакон, содержащий раствор, по меньшей мере, одного анти-LIV1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, LIV1-ADC) с предписанными буферами и/или консервантами, необязательно, в водном разбавителе. Концентрация консерванта, используемого в составе, является концентрацией, достаточной для получения антимикробного эффекта. Такие концентрации зависят от выбранного консерванта и легко определяются специалистом в данной области.

[0159] Для введения субъекту анти-LIV1 антител или их антигенсвязывающих фрагментов могут быть использованы различные системы доставки. В некоторых примерах вариантов осуществления изобретения введение анти-LIV1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, LIV1-ADC) осуществляется внутривенной инфузией.

[0160] Любой из составов, описанных выше, может храниться в жидком или замороженном виде и может быть необязательно подвергнут процессу консервации. В некоторых вариантах осуществления описанные выше составы лиофилизированы, то есть они подвергнуты лиофилизации. В некоторых вариантах осуществления описанные выше составы подвергают процессу консервации, например, лиофилизации, и затем восстанавливают подходящей жидкостью, например водой. Под лиофилизацией подразумевается, что композиция была лиофилирована в вакууме. Лиофилизация обычно достигается путем замораживания конкретного состава, так что растворенные вещества отделяются от растворителя(ей). Растворитель затем удаляют сублимацией (то есть первичной сушкой) и затем десорбцией (то есть вторичной сушкой).

[0161] Составы по настоящему изобретению можно использовать в способах, описанных в настоящем документе, или в других способах лечения заболевания. Составы анти-LIV1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (например, LIV1-ADC) могут быть дополнительно разбавлены перед введением субъекту. В некоторых вариантах осуществления изобретения составы разбавляют физиологическим раствором и хранят в пакетах или шприцах для внутривенного введения перед введением субъекту. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения способы лечения у субъекта злокачественного новообразования, экспрессирующего LIV-1, будут включать введение нуждающемуся в этом субъекту еженедельной дозы фармацевтической композиции, содержащей анти-LIV1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, LIV1-ADC).

[0162] Специалистам в данной области техники будет очевидно, что другие подходящие модификации и адаптации способов, описанные в настоящем документе, могут быть осуществлены с использованием подходящих эквивалентов, не выходя за рамки объема вариантов осуществления, описанных в настоящем документе. Подробно описанные в настоящий момент некоторые варианты осуществления будут более понятны при ссылке на следующие примеры, которые включены только в целях иллюстрации и не предназначены для ограничения. Все патенты, патентные заявки и ссылки, описанные в

настоящем документе, включены в качестве ссылки во всей их полноте для всех целей.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Фаза 1 исследования конъюгата антитело-лекарственное средство SGN-LIV1A у пациентов с интенсивной предшествующей терапией тройного негативного метастатического рака молочной железы

Методы

[0163] В проводимом исследовании фазы 1 оценивали безопасность, переносимость, фармакокинетику и противоопухолевую активность SGN-LIV1A (q3wks IV) у женщин с LIV-1-положительным неоперабельным местно-распространенным или метастатическим раком молочной железы (LA/MBC) (NCT01969643). Подходящими являлись пациенты с измеряемыми проявлениями болезни и ≥ 2 предшествующих цитотоксических схем для LA/MBC. Пациенты с ≥ 2 степенью невропатии были исключены. Ответ был оценен согласно RECIST v1.1; Пациенты, имеющие стабильное заболевание (SD) или лучше, могут продолжать лечение до прогрессирования заболевания или невыносимой токсичности. После завершения повышения дозы у гормон-рецептор-положительных/HER2-отрицательных (HR+/HER2-) и тройно-отрицательных (TN) пациентов были открыты когорты для дальнейшей оценки безопасности и противоопухолевой активности монотерапии у пациентов с TN. Биопсии опухоли были оценены на экспрессию LIV1.

Результаты

[0164] На данный момент 69 пациентов (18 HR+/HER2-, 51 TN) получили в среднем 3 цикла (диапазон 1-12) SGN-LIV1A в дозах от 0,5 до 2,8 мг/кг. Средний возраст пациентов составил 56 лет. Пациенты имели медиану трех предшествующих цитотоксических схем для LA/MBC. У 58 пациентов была висцеральная болезнь и у 37 пациентов были метастазы в кости. У 19, оцениваемых по DLT, токсичности, ограничивающей дозу (DLT), не наблюдалось. Максимальная переносимая доза не превышалась при 2,8 мг/кг. Расширенные когорты TN pts были открыты в 2,0 и 2,5 мг/кг.

[0165] Нежелательные явления (AE), возникающие при лечении, отмеченные у $\geq 25\%$ пациентов, представляли собой усталость (59%), тошноту (51%), периферическую невропатию (44%), алопецию (36%), снижение аппетита (33%), запоры (30%), боли в животе (25%), диарею (25%) и нейтропению (25%). Большинство AE были класса 1/2. AE ≥ 3 степени включали нейтропению (25%) и анемию (15%). Фебрильная нейтропения возникла у 2 пациентов, у которых общая доза превысила 200 мг за цикл, включая одну связанную с лечением смерть из-за сепсиса. Никаких других смертей, связанных с лечением, во время исследования не происходило. Семь пациентов прекратили лечение из-за AE.

[0166] При повышении дозы активность наблюдалась у 17 оцениваемых по эффективности (EE) HR+/HER2-pts с уровнем контроля заболевания (DCR=CR+PR+SD) 59% (10 SD), включая одного пациента с SD ≥ 24 недель. Среди 44 пациентов с EE TN (увеличение дозы плюс расширение когорт) частота объективного ответа (ORR) составила

32% (14 PR) с подтвержденным уровнем PR 21%, DCR составила 64% (14 PR, 14 SD), и частота клинического эффекта ($CBR=CR+PR+SD \geq 24$ недели) составила 36% (16 пациентов). Для пациентов с TN медиана PFS составила 11,3 недели (95% CI: 6,1, 17,1). 10 пациентов остаются на лечении.

[0167] Из 631 образцов опухолей MBC всех клинических подтипов, оцененных для LIV-1, 91% были положительными, а 75% имели умеренную-высокую экспрессию (H-показатель ≥ 100).

[0168] После завершения повышения дозы были открыты многочисленные расширенные когорты для лечения монотерапией SGN-LIV1A (часть A), чтобы включить до 15 пациентов с определенными подтипами рака молочной железы при рекомендуемом уровне доз для дальнейшего определения безопасности и противоопухолевой активности. После анализа безопасности и активности в группах с дозой 2,0 мг/кг по сравнению с 2,5 мг/кг рекомендованная доза фазы 2 была определена как 2,5 мг/кг (максимальная доза 200 мг на цикл).

[0169] Обзор данных по безопасности, доступных на данный момент, показал, что частота АЕ нейтропении 3-й степени или выше при уровне дозы 2,5 мг/кг части А (57%) была выше, чем в общей популяции исследования монотерапии (39%). Кроме того, один случай нейтропении в группе 2,5 мг/кг привел к смерти от сепсиса. В результате было принято решение оценить уровень дозы 2 мг/кг в расширенных когортах. Пациенты, зарегистрированные на эту дату или после этой даты, получали начальную дозу 2 мг/кг, а пациентам, которые ранее получали 2,5 мг/кг SGN-LIV1A в более ранних циклах, доза была снижена до 2 мг/кг для последующих доз.

[0170] Зачисление в расширенную когорту mTNBC 2,0 мг/кг близится к завершению, когда 10 пациентов оставались на лечении на момент отбора данных. Сравнение безопасности между 2,0 мг/кг (N=26) и 2,5 мг/кг (дозы ≤ 200 мг) (N=18) не выявило никаких фебрильных нейтропенических событий или связанных с нейтропенией SAE. Напротив, в дозах 2,5 мг/кг >200 мг (N=11) нейтропения была более распространенной, у 5 из 11 пациентов наблюдались SAE, связанные с нейтропенией. Фебрильная нейтропения возникла у 2 из 11 пациентов, в том числе у одного из них в результате сепсиса произошла смерть. Никаких других смертельных исходов, связанных с лечением, не наблюдалось.

Пример 2: Фаза 1 исследования конъюгата антитело-лекарственное средство SGN-LIV1A у пациентов с интенсивной предшествующей терапией тройного негативного метастатического рака молочной железы

Методы

[0171] Это исследование является продолжением когортного исследования по расширению дозы для монотерапии SGN-LIV1A (часть A) исследования фазы 1, описанного в примере 1, которое включает данные о 22 дополнительных введениях SGN-LIV1A (q3wks IV). Пациенты были такими, как описано в примере 1. Эти дополнительные введения проводились для оценки безопасности общей максимальной дозы 250 мг на

цикл. Пациентам вводили дозу 2,5 мг/кг, и каждое из этих 22 дополнительных введений было больше или равно 200 мг за цикл из-за того, что пациенты имели вес, превышающий или равный 80 кг.

Результаты

[0172] Из 22 дополнительных введений, больших или равных 200 мг, вплоть до максимальной дозы 250 мг на цикл, 7 введений SGN-LIV1A вводили совместно с гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (G-CSF) и 15 введений SGN-LIV1A не было. Из 15 введений SGN-LIV1A, которые не вводились совместно с G-CSF, 5 привели к развитию нейтропении (33,3%). Однако ни одно из 7 введений SGN-LIV1A, которые вводились совместно с G-CSF, не приводило к развитию нейтропении. Эти результаты показывают, что частота нейтропении у пациентов, получающих дозы, превышающие или равные 200 мг, вплоть до максимальной дозы 250 мг на цикл, может быть значительно снижена с помощью G-CSF.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий:

введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека,

где вводимая доза составляет меньше чем примерно 200 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения, и

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область тяжелой цепи (HCVR), имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи (LCVR), имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 2.

2. Способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий:

введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека,

где вводимая доза меньше или равна примерно 250 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область тяжелой цепи (HCVR), имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи (LCVR), имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 2, и

где, если вводимая доза выше или равна примерно 200 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения, способ дополнительно включает введение субъекту гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF).

3. Способ по п.2, где, если вводится GCSF, то он вводится профилактически.

4. Способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий:

введение субъекту гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF),

введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека,

где вводимая доза выше или равна примерно 200 мг и меньше или равна примерно 250 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область тяжелой цепи (HCVR), имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи (LCVR), имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 2.

5. Способ по п.4, где GCSF вводится профилактически.

6. Способ по любому из пп.1-5, где LIV-1-ассоциированное злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы.

7. Способ по п.6, где рак молочной железы представляет собой тройной

негативный рак молочной железы.

8. Способ по п.6, где рак молочной железы представляет собой метастатический рак молочной железы.

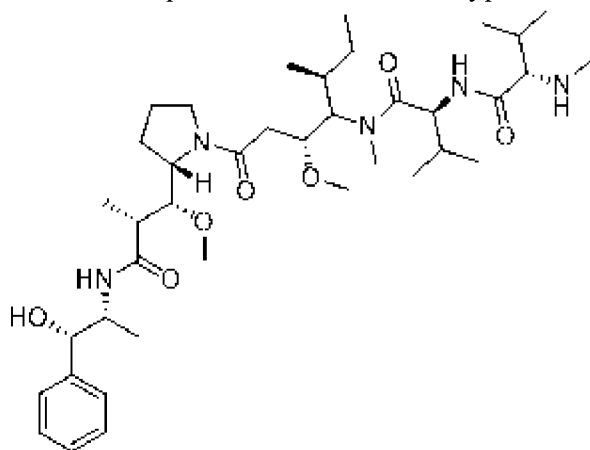
9. Способ по п.6, где рак молочной железы представляет собой тройной негативный метастатический рак молочной железы.

10. Способ по п.6, где рак молочной железы представляет собой гормон-рецептор положительный метастатический рак молочной железы.

11. Способ по любому из пп.1-10, где курс лечения составляет примерно каждые три недели (Q3W).

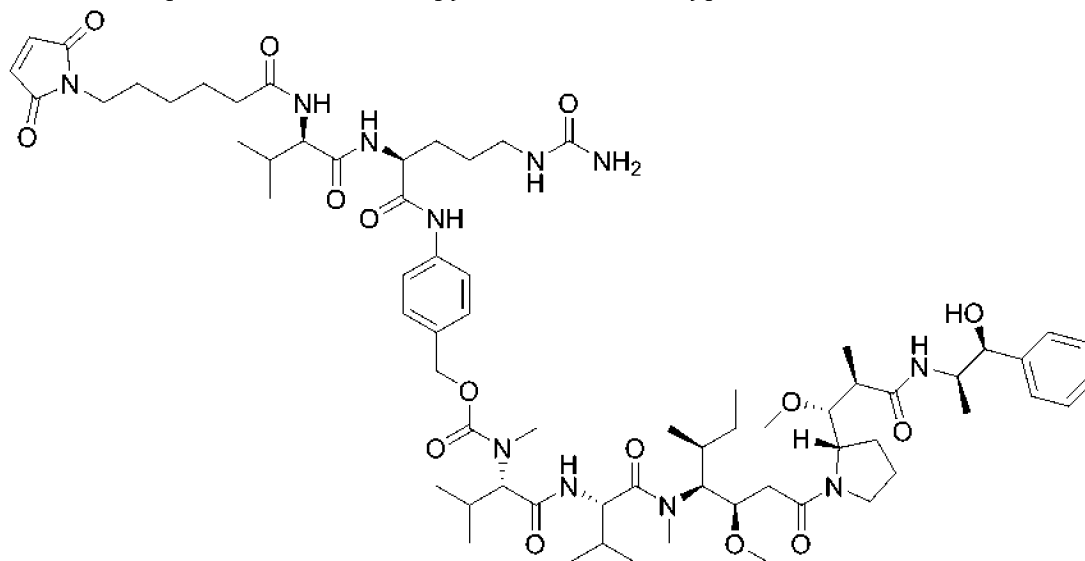
12. Способ по любому из пп.1-11, где доза составляет около 2,5 мг/кг веса тела субъекта.

13. Способ по любому из пп.1-12, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с монометил ауристатином E (ММАЕ):



ММАЕ.

14. Способ по любому из пп.1-13, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с валин-цитрулинмонометил ауристатином E (vcMMAE):



vcMMAE.

15. Способ по п.14, где отношение vcMMAE к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту составляет от около 1 до около 8.

16. Способ по п.15, где отношение vcMMAE к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту составляет около 4.

17. Способ по любому из пп.1-16, где HCVR имеет по меньшей мере 97% идентичности последовательности с последовательностью SEQ ID NO: 1, и LCVR имеет по меньшей мере 97% идентичности последовательности с последовательностью SEQ ID NO: 2.

18. Способ по любому из пп.1-17, где HCVR имеет по меньшей мере 99% идентичности последовательности с последовательностью SEQ ID NO: 1, и LCVR имеет по меньшей мере 99% идентичности последовательности с последовательностью SEQ ID NO: 2.

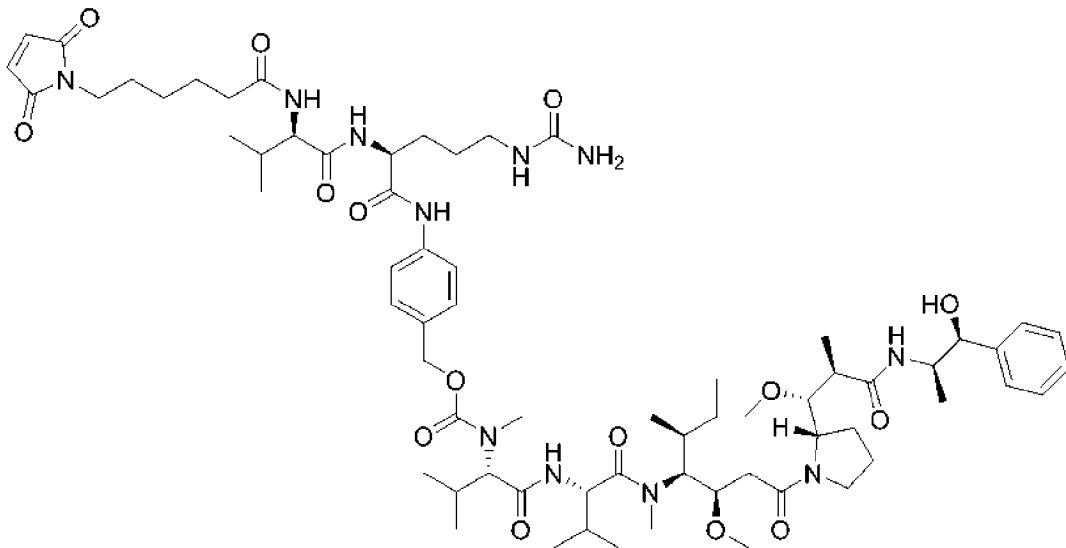
19. Способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий:

введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека,

где вводимая доза составляет меньше чем примерно 200 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 1, и LCVR, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 2, и

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE :



vcMMAE .

20. Способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий:

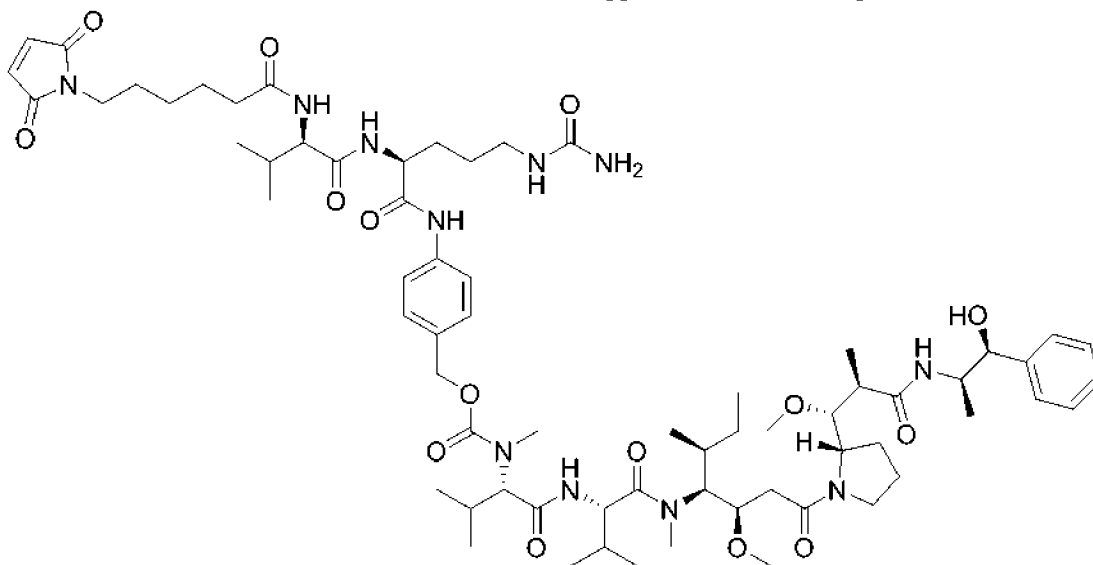
введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека,

где вводимая доза меньше или равна примерно 250 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR, имеющую

по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 1, и LCVR, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 2,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE:



vcMMAE, и где, если вводимая доза выше или равна примерно 200 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения, способ дополнительно включает введение субъекту гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF).

21. Способ по п.20, где, если вводится GCSF, то он вводится профилактически.

22. Способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий:

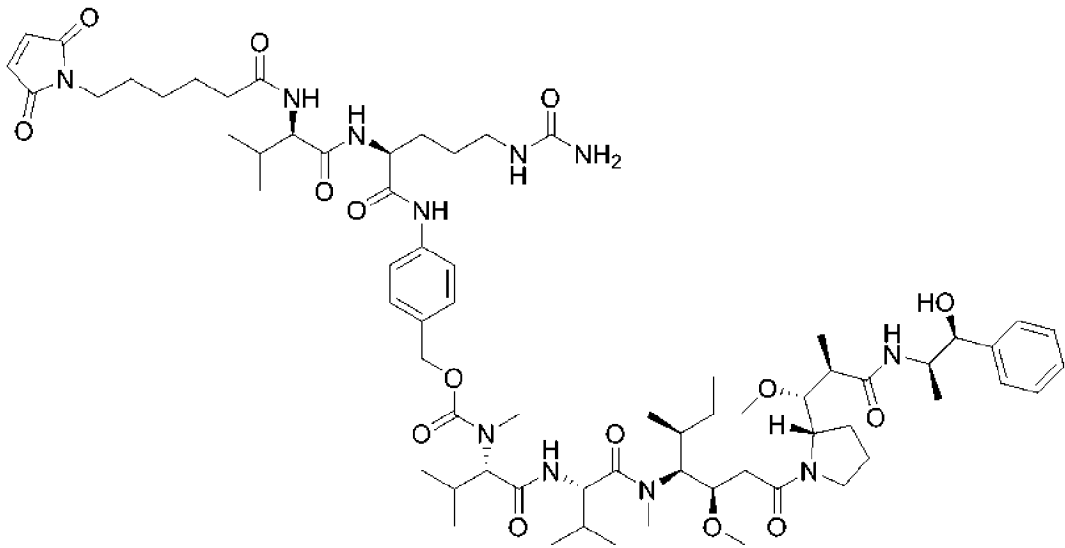
введение субъекту гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF),

введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека,

где вводимая доза выше или равна примерно 200 мг и меньше или равна примерно 250 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 1, и LCVR, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 2, и

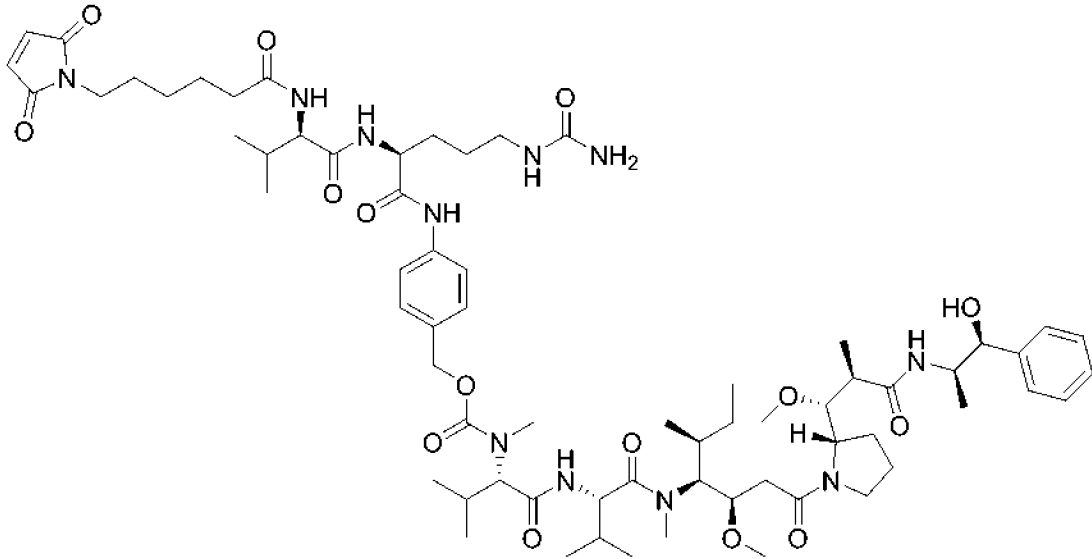
где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE:



vcMMAE.

23. Способ по п.22, где GCSF вводится профилактически.
24. Способ по любому из пп.19-23, где доза вводится в концентрации примерно 2,5 мг/кг веса тела субъекта.
25. Способ по любому из пп.19-24, где каждый курс лечения проводят у субъекта Q3W.
26. Способ по любому из пп.19-25, где отношение vcMMAE к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту составляет от около 1 до около 8.
27. Способ по п.26, где отношение vcMMAE к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту составляет около 4.
28. Способ по любому из пп.19-27, где LIV-1-ассоциированное злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы.
29. Способ по п.28, где рак молочной железы представляет собой тройной негативный рак молочной железы.
30. Способ по п.28, где рак молочной железы представляет собой метастатический рак молочной железы.
31. Способ по п.28, где рак молочной железы представляет собой тройной негативный метастатический рак молочной железы.
32. Способ по п.28, где рак молочной железы представляет собой гормон-рецептор положительный метастатический рак молочной железы.
33. Способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий:
 - введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека,
 - где вводимая доза составляет меньше чем примерно 200 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения Q3W,
 - где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR последовательности SEQ ID NO: 1, и LCVR последовательности SEQ ID NO: 2, и

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE:



vcMMAE.

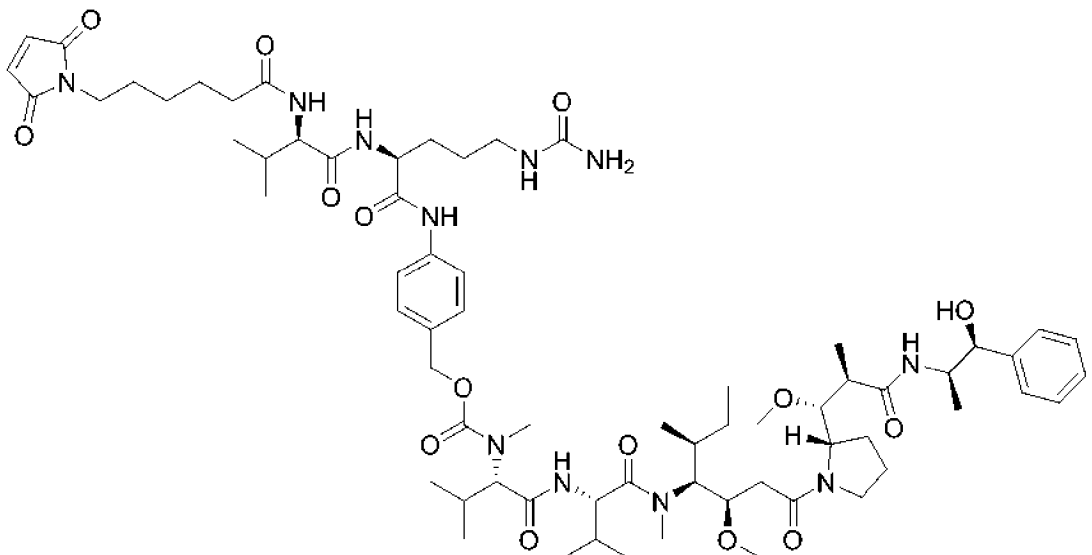
34. Способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий:

введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека,

где вводимая доза меньше или равна примерно 250 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения Q3W,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR последовательности SEQ ID NO: 1, и LCVR последовательности SEQ ID NO: 2,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE:



vcMMAE,

и где, если вводимая доза выше или равна примерно 200 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения, способ дополнительно включает введение субъекту гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF).

35. Способ по п.34, где, если вводится GCSF, то он вводится профилактически.

36. Способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного злокачественного новообразования, включающий:

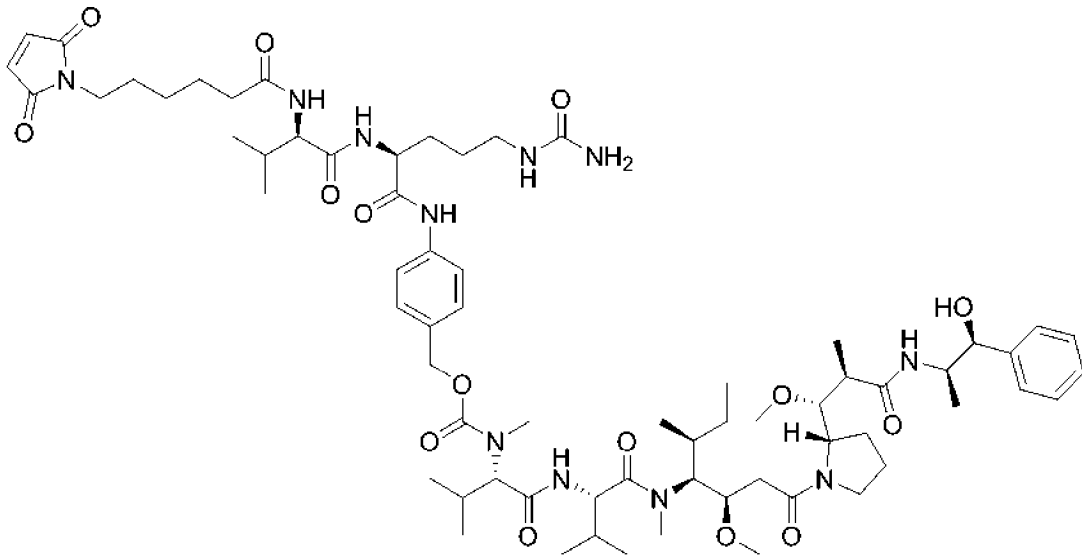
введение субъекту гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF),

введение субъекту терапевтически эффективной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1 человека,

где вводимая доза выше или равна примерно 200 мг и меньше или равна примерно 250 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения Q3W,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR последовательности SEQ ID NO: 1, и LCVR последовательности SEQ ID NO: 2, и

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE:



vcMMAE.

37. Способ по п.36, где GCSF вводится профилактически.

38. Способ по любому из пп.33-37, где LIV-1-ассоциированное злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы.

39. Способ по п.38, где рак молочной железы представляет собой тройной негативный рак молочной железы.

40. Способ по п.38, где рак молочной железы представляет собой метастатический рак молочной железы.

41. Способ по п.38, где рак молочной железы представляет собой тройной негативный метастатический рак молочной железы.

42. Способ по п.38, где рак молочной железы представляет собой гормон-рецептор положительный метастатический рак молочной железы.

43. Способ по любому из пп.33-42, где отношение vcMMAE к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту составляет около 4.

44. Способ по любому из пп.33-43, где доза составляет около 2,5 мг/кг веса тела субъекта.

45. Способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-

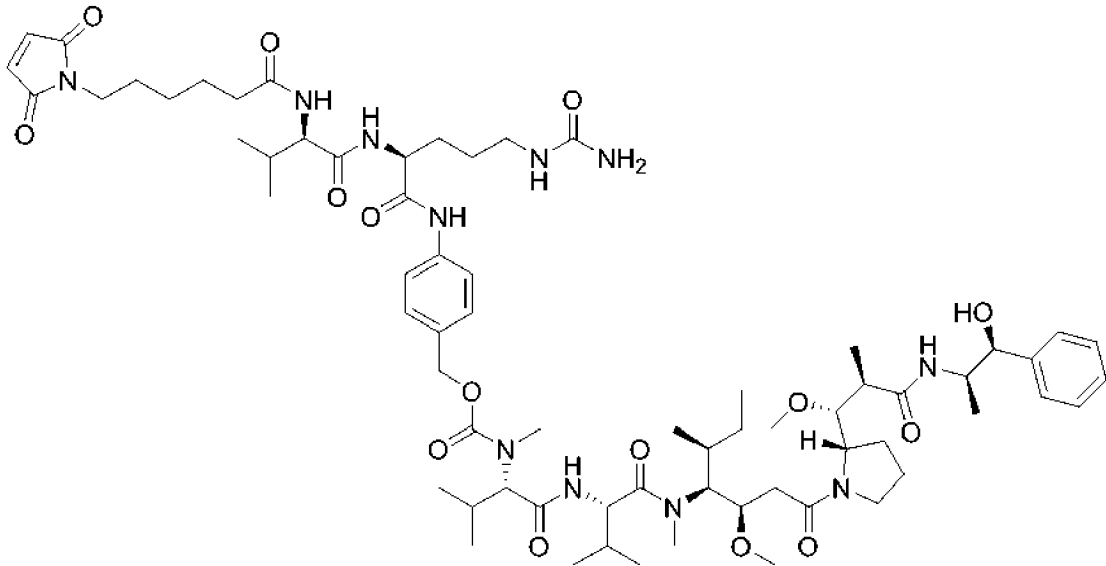
ассоциированного рака молочной железы, включающий:

введение субъекту дозы около 2,5 мг/кг веса тела субъекта антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1,

где вводимая доза составляет меньше чем примерно 200 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения Q3W,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR последовательности SEQ ID NO: 1, и LCVR последовательности SEQ ID NO: 2, и

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE:



vcMMAE.

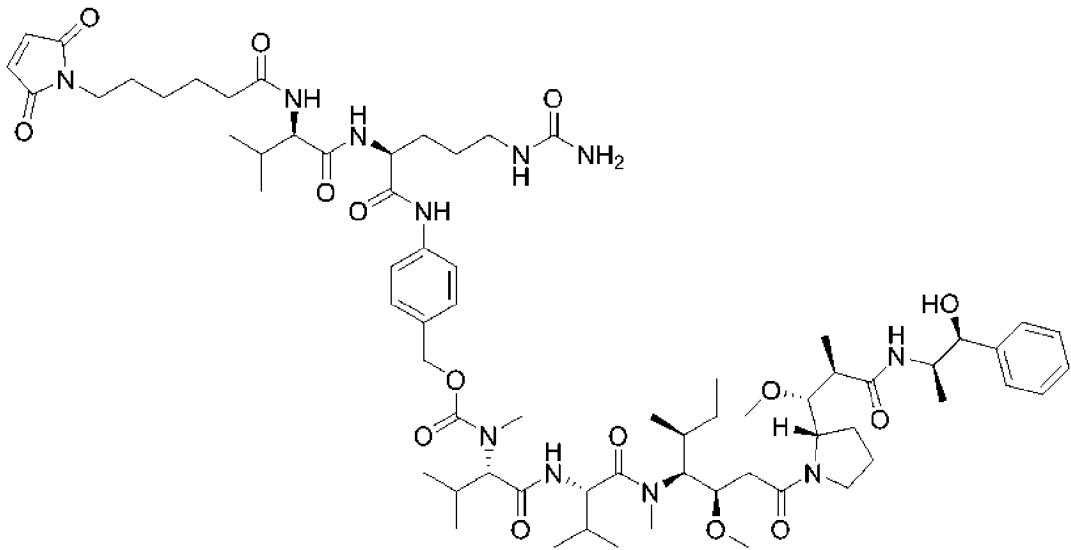
46. Способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного рака молочной железы, включающий:

введение субъекту дозы около 2,5 мг/кг веса тела субъекта антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1,

где вводимая доза меньше или равна примерно 250 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения Q3W,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR последовательности SEQ ID NO: 1, и LCVR последовательности SEQ ID NO: 2,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE:



vcMMAE,

и где, если вводимая доза выше или равна примерно 200 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения, способ дополнительно включает введение субъекту гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF).

47. Способ по п.46, где, если вводится GCSF, то он вводится профилактически.

48. Способ лечения субъекта, страдающего от или подверженного риску LIV-1-ассоциированного рака молочной железы, включающий:

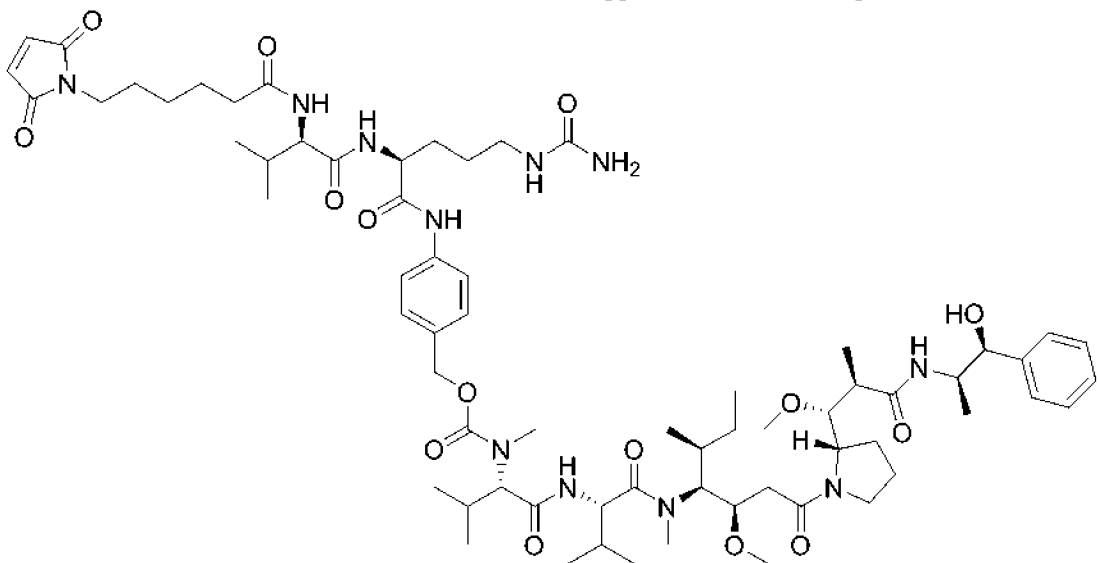
введение субъекту гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF),

введение субъекту дозы около 2,5 мг/кг веса тела субъекта антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают LIV-1,

где вводимая доза выше или равна примерно 200 мг и меньше или равна примерно 250 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на курс лечения Q3W,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR последовательности SEQ ID NO: 1, и LCVR последовательности SEQ ID NO: 2, и

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с vcMMAE:



vcMMAE.

49. Способ по п.48, где GCSF вводится профилактически.
50. Способ по любому из пп.45-49, где рак молочной железы представляет собой тройной негативный рак молочной железы.
51. Способ по любому из пп.45-50, где рак молочной железы представляет собой метастатический рак молочной железы.
52. Способ по п.51, где рак молочной железы представляет собой тройной негативный метастатический рак молочной железы.
53. Способ по любому из пп.45-50, где рак молочной железы представляет собой гормон-рецептор положительный метастатический рак молочной железы.
54. Способ по любому из пп.45-53, где отношение $vсMMAE$ к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту составляет около 4.
55. Способ по любому из пп.1-54, где субъектом является человек.

По доверенности