

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **037084**

(13) **B1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2021.02.04**

**(21)** Номер заявки  
**201791208**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2015.12.02**

**(51)** Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**A61P 35/02** (2006.01)

---

**(54) АНТИТЕЛА К CD38 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОСТРОГО МИЕЛОЛЕЙКОЗА**

---

**(31)** 62/087,442

**(32)** 2014.12.04

**(33)** US

**(43)** 2017.10.31

**(86)** PCT/US2015/063371

**(87)** WO 2016/089960 2016.06.09

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**ЯНССЕН БАЙОТЕК, ИНК. (US)**

**(72)** Изобретатель:  
**Доши Парул, Данет-Денуаер Гвенн,  
Дос Сантос Седрик, Сассер Эми,  
Шань Сяочуань (US)**

**(74)** Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**

**(56)** WO-A1-2006099875  
US-A1-20100285004  
US-A1-20130209355

DEWEERS, M et al. Daratumumab, A Novel Therapeutic Human CD38 Monoclonal Antibody, Induces Killing of Multiple Myeloma and Other Hematological Tumors. J Immunol. 01 February 2011, Vol. 186, No. 3; pages 1840-1848. DOI. 10.4049/jimmunol.1003032.

VAN BUEREN, JL et al. Direct In Vitro Comparison Of Daratumumab With Surrogate Analogs Of Anti-CD38 Antibodies. New Evidence. April 2015 [retrieved on 03 February 2016] Retrieved from the Internet: <URL:http://www.newevidence.com/oncology/direct-in-vitro-comparison-of-daratumumab-with-surrogate-analogs-of-anti-cd38-antibodies/>

---

**(57)** Настоящее изобретение относится к способам лечения острого миелолейкоза с использованием антител к CD38.

---

**037084 B1**

**037084 B1**

### Область применения изобретения

Настоящее изобретение относится к способам лечения острого миелолейкоза с использованием антител к CD38.

### Предпосылки создания изобретения

CD38 относится к мембранным белкам II типа с активностью АДФ-рибозилциклазы, катализирующей образование вторичных мессенджеров циклической АДФ-рибозы (цАДФР) и никотиновой кислоты-аденидинуклеотидфосфата (НКАДФ) из НАД и НАДФ соответственно. CD38 опосредует мобилизацию кальция, регулирует внутриклеточные уровни НАД и предположительно играет роль при осуществлении различных физиологических функций (Funaro et al., J Immunology 145:2390-6, 1990; Terhorst et al., Cell 77:1-80, 1981; Guse et al., Nature 398:70-3, 1999; Adriouch et al., 14:1284-92, 2012; Chiarugi et al., Nature Reviews 12:741-52, 2012; Wei et al., WJBC 5:58-67, 2014)

Острый миелолейкоз (ОМЛ) относится к гетерогенным гематологическим расстройствам, для которых характерна клональная экспансия миелоидных blastов в костном мозге, периферической крови и других тканях. Несмотря на достигнутые в последнее время успехи, существующие схемы лечения ОМЛ с уровнем 5-летней безрецидивной выживаемости ниже 30% по-прежнему неудовлетворительны.

Поэтому существует потребность в эффективных видах лечения ОМЛ.

### Изложение сущности изобретения

Один вариант осуществления изобретения представляет собой способ лечения субъекта с острым миелолейкозом (ОМЛ), включающий введение требующему этого субъекту антитела к CD38 в течение времени, достаточного для лечения ОМЛ.

В одном варианте осуществления изобретения предлагается способ лечения субъекта с острым миелолейкозом (ОМЛ), включающий введение требующему этого субъекту антитела к CD38, которое конкурирует за связывание с CD38 с антителом, содержащим вариабельную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 4 и вариабельную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 5 в течение времени, достаточного для лечения ОМЛ.

### Краткое описание рисунков

На фиг. 1А показан пример индуцированного даратумумабом апоптоза при отсутствии поперечных сшивок в клеточной линии ОМЛ NB-4. PI: пропидий-йодид.

На фиг. 1В показан пример индуцированного даратумумабом апоптоза при наличии поперечных сшивок в клеточной линии ОМЛ NB-4. PI: пропидий-йодид.

На фиг. 2А показана эффективность даратумумаба в модели 3406 полученного от пациента ксенотрансплантата (PDX) ОМЛ, которую определяли по снижению процента (%) лейкозных клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup> в костном мозге (BM), селезенке (SPL) и периферической крови (PB). Контроль: без обработки; IgG1: изотипический контроль; Dara: даратумумаб. На фигуре приведены р-значения (изотипический контроль по сравнению с даратумумабом).

На фиг. 2В показана эффективность даратумумаба в модели 7577 полученного от пациента ксенотрансплантата (PDX) ОМЛ, которую определяли по снижению процента (%) лейкозных клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup> в костном мозге (BM), селезенке (SPL) и периферической крови (PB). Контроль: без обработки; IgG1: изотипический контроль; Dara: даратумумаб, ns: не значимый. \*\*\*p<0,001.

На фиг. 2С показана эффективность даратумумаба в модели 8096 полученного от пациента ксенотрансплантата (PDX) ОМЛ, которую оценивали по снижению процента (%) лейкозных клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup> в костном мозге (BM), селезенке (SPL) и периферической крови (PB). Контроль: без обработки; IgG1: изотипический контроль; Dara: даратумумаб, ns: не значимый. \*p<0,05.

На фиг. 3А показана эффективность даратумумаба в модели 3406 полученного от пациента ксенотрансплантата (PDX) ОМЛ, которую оценивали по снижению общей лейкозной нагрузки в костном мозге (число клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup> для четырех костей). Контроль: без обработки; IgG1: изотипический контроль; Dara: даратумумаб. Не отмечалось существенных различий (p>0,01) в лейкозной нагрузке в костном мозге между Контролем и Dara. Показано р-значение для сравнения между группами изотипического контроля и лечения даратумумабом.

На фиг. 3В показана эффективность даратумумаба в модели 3406 полученного от пациента ксенотрансплантата (PDX) ОМЛ, которую оценивали по снижению общей лейкозной нагрузки в селезенке (число клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup> на селезенку). Контроль: без обработки; IgG1: изотипический контроль; Dara: даратумумаб. Приводится р-значение между группами изотипического контроля и лечения даратумумабом.

На фиг. 3С показана эффективность даратумумаба в модели 3406 полученного от пациента ксенотрансплантата (PDX) ОМЛ, которую оценивали по снижению общей лейкозной нагрузки в периферической крови (число клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup> на мкл крови). Контроль: без обработки; IgG1: изотипический контроль; Dara: даратумумаб. Показано р-значение между группами изотипического контроля и лечения даратумумабом.

На фиг. 4А показан пример индуцированного даратумумабом снижения экспрессии поверхностного CD38 в модели 3406 полученного от пациента ксенотрансплантата (PDX) ОМЛ в костном мозге (BM), селезенке (SPL) и периферической крови (PB) через 5 недель лечения даратумумабом. Контроль: без обработки; IgG1: изотипический контроль; Dara: даратумумаб. Приведенные на фигуре р-значения отно-

сятся к изотипическому контролю по сравнению с даратумумабом.

На фиг. 4B показан пример индуцированного даратумумабом сокращения процентного содержания CD38-положительных лейкобластов в модели 3406 полученного от пациента ксенотрансплантата (PDX) ОМЛ в костном мозге (BM), селезенке (SPL) и периферической крови (PB) через 5 недель лечения даратумумабом. Контроль: без обработки; IgG1: изотипический контроль; Dara: даратумумаб. Указаны р-значения для сравнения между группами изотипического контроля и лечения даратумумабом.

На фиг. 5A показана эффективность даратумумаба (dara) при применении в качестве монотерапии или в комбинации с дакогеном (DAC) или цитарабином и доксорубицином (chemo) для снижения лейкозной нагрузки в модели 3406 полученного от пациента ксенотрансплантата (PDX) ОМЛ в костном мозге. Лейкозную нагрузку оценивали как % клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup>. Контроль: изотипический контроль; \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001; ns: не значимый.

На фиг. 5B показана эффективность даратумумаба (dara) при применении в качестве монотерапии или в комбинации с дакогеном (DAC) или цитарабином и доксорубицином (chemo) для снижения лейкозной нагрузки в модели 3406 полученного от пациента ксенотрансплантата (PDX) ОМЛ в селезенке. Лейкозную нагрузку оценивали как % клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup>. Контроль: изотипический контроль; \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001; ns: не значимый.

На фиг. 5C показана эффективность даратумумаба (dara) при применении в качестве монотерапии или в комбинации с дакогеном (DAC) или цитарабином и доксорубицином (chemo) для снижения лейкозной нагрузки в модели полученного от пациента ксенотрансплантата (PDX) ОМЛ в периферической крови. Лейкозную нагрузку оценивали как % клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup>. Контроль: изотипический контроль; \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001; ns: не значимый.

На фиг. 6A показано влияние даратумумаба (dara) при применении в качестве монотерапии или в комбинации с дакогеном (DAC) или цитарабином и доксорубицином (chemo) на экспрессию CD38 на CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup> ОМЛ бластах костного мозга в модели 3406 полученного от пациента ксенотрансплантата (PDX). Лейкозную нагрузку оценивали как % клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup>. Контроль: изотипический контроль. \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001; ns: не значимый; СИФ: средняя интенсивность флуоресценции.

На фиг. 6B показано влияние даратумумаба (dara) при применении в качестве монотерапии или в комбинации с дакогеном (DAC) или цитарабином и доксорубицином (chemo) на экспрессию CD38 на CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup> ОМЛ бластах селезенки в модели 3406 полученного от пациента ксенотрансплантата (PDX). Лейкозную нагрузку оценивали как % клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup>. Контроль: изотипический контроль; \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001; ns: не значимый.

На фиг. 6C показано влияние даратумумаба (dara) при применении в качестве монотерапии или в комбинации с дакогеном (DAC) или цитарабином и доксорубицином (chemo) на экспрессию CD38 на CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup> ОМЛ бластах периферической крови в модели 3406 полученного от пациента ксенотрансплантата (PDX). Лейкозную нагрузку оценивали как % клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup>. Контроль: изотипический контроль; \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001; ns: не значимый.

#### Подробное описание изобретения

Термин "CD38" относится к белку CD38 человека (синонимы: АДФ-рибозилциклаза 1, цАДФ-гидролаза 1, циклическая АДФ-рибозогидролаза 1). Человеческий CD38 имеет аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 1

Предполагается, что термин "антитела" в настоящем документе используется в широком смысле и включает в себя молекулы иммуноглобулинов, включая моноклональные антитела, включающие мышинные, человеческие, адаптированные для человека, гуманизированные и химерные моноклональные антитела, фрагменты антител, биспецифические или мультиспецифические антитела, димерные, тетрамерные или мультимерные антитела, а также одноцепочечные антитела.

Имуноглобулины могут относиться к пяти основным классам, а именно IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, в зависимости от аминокислотной последовательности константного домена тяжелой цепи. IgA и IgG дополнительно классифицируются на изотипы IqA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> и IgG<sub>4</sub>. Легкие цепи антител любых видов позвоночных в зависимости от аминокислотных последовательностей их константных доменов можно отнести к одному из двух четко отличающихся типов, а именно каппа (κ) и лямбда (λ).

Термин "фрагменты антитела" относится к части молекулы иммуноглобулина, которая сохраняет антигенсвязывающий сайт тяжелой цепи и/или легкой цепи, такой как определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) 1, 2 и 3, определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR) 1, 2 и 3, переменная область тяжелой цепи (VH) или переменная область легкой цепи (VL). Фрагменты антител включают фрагмент Fab - одновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, HV, CL и CH1; фрагмент F(ab)<sub>2</sub> - двухвалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области; фрагмент Fd, состоящий из доменов VH и CH1; фрагмент Fv, состоящий из доменов VL и VH одного плеча антитела; фрагмент доменного антитела (dAb) (Ward et al (1989) Nature 341:544-546), который состоит из домена VH. Домены VH и VL могут быть сконструированы и связаны вместе посредством синтетического линкера с образованием различных типов конфигураций одноцепочечных антител, в которых домены VH/VL соединяются в пару внутримолекулярно или межмолекулярно в тех случаях, когда домены VH и VL экспрессируются отдельными одноцепочеч-

ными конструкциями антител, с образованием одновалентного антигенсвязывающего сайта, такого как одноцепочечный Fv (scFv) или диатело; они описаны, например, в международных публикациях РСТ №№ WO 1998/44001, WO 1988/01649, WO 1994/13804 и WO 1992/01047. Данные фрагменты антител получают с помощью методик, хорошо известных специалистам в данной области, и проводят скрининг фрагментов на пригодность таким же образом, как и для полноразмерных антител.

Словосочетание "выделенное антитело" означает антитело или фрагмент антитела, по существу не содержащие других антител, имеющих разные значения антигенной специфичности (например, выделенное антитело, специфически связывающееся с CD38, по существу не содержит антител, специфически связывающихся с антигенами, отличными от человеческого CD38). Однако выделенное антитело, специфически связывающееся с CD38, может иметь перекрестную реактивность с другими антигенами, такими как ортологи человеческого CD38, например CD38 *Macaca fascicularis* (яванского макака). Более того, выделенное антитело может по существу не содержать другого клеточного материала и/или химических веществ.

Вариабельная область антитела состоит из "каркасной" области, разделенной тремя "антигенсвязывающими сайтами".

Антигенсвязывающие сайты определены с помощью различных терминов: области, определяющие комплементарность (CDR), три в VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) и три в VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3), основаны на вариабельности последовательности (Wu and Rabat *J Exp Med* 132:211-50, 1970; Kabat et al. *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991), "гипервариабельные области", HVR или HV, три в VH (H1, H2, H3) и три в VL (L1, L2, L3), относятся к областям вариабельных доменов антитела, которые являются гипервариабельными по структуре согласно определению Chothia and Lesk (Chothia and Lesk, *Mol. Biol* 196:901-17, 1987). Другие термины включают IMGT-CDR (Lefranc et al., *Dev Comparat Immunol* 27:55-77, 2003) и "использование остатков, определяющих специфичность" (SDRU) (Almagro *Mol Recognit* 17:132-43, 2004). В международной базе данных ImMunoGeneTics (IMGT) ([http://www\\_imgt\\_org](http://www_imgt_org)) представлены стандартизированная нумерация и определение антигенсвязывающих сайтов. Соответствие между разграничениями CDR, HV и IMGT описано в публикации Lefranc et al., *Dev Comparat Immunol* 27:55-77, 2003.

При использовании в настоящем документе термин "остатки по Chothia" означает остатки VL и VH антител с нумерацией по Al-Lazikani (Al-Lazikani et al., *J Mol Biol* 273:927-48, 1997).

"Каркас" или "каркасные последовательности" представляют собой остаточные последовательности вариабельной области, которые отличаются от тех, которые определены как антигенсвязывающие сайты. Поскольку для определения антигенсвязывающих сайтов могут использоваться разные термины, как описано выше, определение точной аминокислотной последовательности каркасной области зависит от определения антигенсвязывающего сайта.

Термин "гуманизованное антитело" относится к антителу, в котором антигенсвязывающие сайты получены из видов, отличных от человека, а каркасы вариабельной области получены от последовательностей человеческих иммуноглобулинов.

Гуманизованные антитела могут включать замены в каркасных областях, в результате чего каркас может не являться точной копией экспрессированного человеческого иммуноглобулина или зародышевых генных последовательностей.

Термин "адаптированные для человека" антитела или "адаптированные для человеческого каркаса (HFA)" антитела относится к гуманизованным антителам, адаптированным по способам, описанным в патентной публикации США № US 2009/0118127. Адаптированные для человека антитела гуманизируют путем выбора человеческих каркасов-акцепторов на основе максимальных сходств CDR и FR, совместимости длин и сходств последовательностей петель CDR1 и CDR2 и части петель CDR3 легкой цепи.

Термин "человеческое антитело" относится к антителу, имеющему вариабельные области тяжелой и легкой цепей, в которых как каркасные, так и антигенсвязывающие сайты получены из последовательностей человеческого происхождения. Если антитело содержит константную область, константная область также получена из последовательностей человеческого происхождения.

Человеческое антитело содержит вариабельные области тяжелой или легкой цепей, которые "получены из" последовательностей человеческого происхождения, причем вариабельные области антитела получены из системы, в которой применяется человеческий иммуноглобулин зародышевого типа или перестроенные гены иммуноглобулинов. Такие системы включают библиотеки генов человеческих иммуноглобулинов, отображаемые на фаге, и трансгенных животных, отличных от человека, таких как мыши, несущих локусы человеческих иммуноглобулинов, как описано в настоящем документе. Человеческое антитело может содержать аминокислотные отличия по сравнению с человеческой зародышевой линией или перестроенные последовательности иммуноглобулинов, обусловленные, например, встречающимися в естественных условиях соматическими мутациями или намеренным введением замен в каркасные или антигенсвязывающие сайты. Как правило, человеческое антитело по аминокислотной последовательности по меньшей мере на около 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентично аминокислотной последовательности, кодируемой геном человеческой зародышевой линии или перестроенным геном иммуноглобулина. В некоторых случаях человеческое

антитело может содержать консенсусные каркасные последовательности, полученные в результате анализов человеческих каркасных последовательностей, например, как описано в публикации Knappik et al., J Mol Biol 296:57-86, 2000, или синтетические HCDR3, включенные в библиотеки генов человеческих иммуноглобулинов, отображаемые на фаге, например, как описано в публикации Shi et al., J Mol Biol 397:385-96, 2010 и международной патентной публикации № WO 2009/085462. Антитела, в которых антигенсвязывающие сайты получены от видов, отличных от человека, не подходят под определение человеческого антитела.

Выделенные гуманизированные антитела могут быть синтетическими. Человеческие антитела могут быть созданы с помощью систем, таких как фаговый дисплей, содержащих синтетические CDR и/или синтетические каркасные области, или могут быть подвержены *in vitro* мутагенезу для улучшения свойств антитела.

Термин "рекомбинантное антитело" в настоящем документе включает в себя все антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные рекомбинантными способами, такие как антитела, выделенные из животного (например, мыши или крысы), являющегося трансгенным или трансхромосомным по генам человеческих иммуноглобулинов, или полученные из его гибридомы (дополнительно описано ниже), антитела, выделенные из клетки-хозяина, трансформированной для экспрессии антитела, антитела, выделенные из рекомбинантной комбинаторной библиотеки антител, и антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любыми другими способами, которые охватывают сплайсинг последовательностей генов человеческих иммуноглобулинов с другими последовательностями ДНК, или антитела, созданные *in vitro* путем обмена плеч Fab с получением биспецифических антител.

Термин "моноклональное антитело" в настоящем документе относится к препарату молекул антитела одномолекулярной композиции. Композиция моноклонального антитела демонстрирует одинарную специфичность связывания и аффинность к конкретному эпитопу или в случае биспецифического моноклонального антитела двойную специфичность связывания к двум отдельным эпитопам.

При использовании в настоящем документе термин "эпитоп" означает часть антигена, с которым специфически связывается антитело. Как правило, эпитопы состоят из химически активных (таких как полярные, неполярные или гидрофобные) поверхностных группировок фрагментов, таких как боковые цепи аминокислот или полисахаридов, и они могут иметь конкретные характеристики трехмерной структуры, а также конкретные характеристики заряда. Эпитоп может быть образован из смежных и/или несмежных аминокислот, образующих конформационный пространственный блок. В случае несмежного эпитопа аминокислоты из разных участков линейной последовательности антигена подходят близко друг к другу в трехмерном пространстве благодаря сворачиванию молекулы белка.

Термин "вариант" в настоящем документе относится к полипептиду или полинуклеотиду, который отличается от эталонного полипептида или эталонного полинуклеотида одной или более модификациями, например заменами, вставками или делециями.

Термины "синергия", "синергизм" или "синергетический" означают эффект комбинации, превышающий ожидаемый аддитивный эффект.

Термин "в комбинации с" в настоящем документе означает, что два или более терапевтических средства вместе можно вводить субъекту в смеси, одновременно в виде отдельных агентов или последовательно в виде отдельных агентов в любом порядке.

Термины "лечить" или "лечение" относятся к терапевтическому лечению, при котором целью является замедление течения (уменьшение) нежелательного физиологического изменения или заболевания, такого как развитие, увеличение объема или распространение опухоли или опухолевых клеток, или же достижение благоприятного или желаемого клинического результата в ходе лечения. Преимущественные или желательные клинические результаты включают в себя ослабление симптомов, уменьшение степени заболевания, стабилизацию (т.е. отсутствие ухудшения) состояния заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания, облегчение или временное улучшение болезненного состояния и ремиссию (частичную или полную), как обнаруживаемые, так и не обнаруживаемые. Термин "лечение" может также означать продление времени жизни по сравнению с ожидаемым в отсутствие лечения субъекта. К требующим лечения относятся субъекты, у которых уже отмечаются нежелательные физиологические изменения или заболевание, а также субъекты, склонные к физиологическим изменениям или заболеванию.

Выражение "ингибирует рост" (например, в отношении клеток, таких как опухолевые клетки) относится к измеримому снижению роста клеток *in vitro* или *in vivo* при приведении их в контакт с терапевтическим средством или комбинацией терапевтических или лекарственных средств по сравнению с ростом тех же клеток, растущих в соответствующих контрольных условиях, хорошо известных специалистам в данной области. Ингибирование роста клетки *in vitro* или *in vivo* может составлять по меньшей мере около 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 99 или 100%. Ингибирование роста клеток может происходить в соответствии с разнообразными механизмами, например посредством антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (ADCC), антителозависимого клеточного фагоцитоза (ADCP), комплемент-зависимой цитотоксичности (CDC), апоптоза, некроза, ингибирования ферментативной активности CD38 или ингибирования пролиферации клеток.

Термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству, эффективному в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество может изменяться в зависимости от таких факторов как состояние заболевания, возраст, пол и масса тела субъекта, а также от способности терапевтического средства или комбинации терапевтических средств вызывать у субъекта желаемый ответ. Примеры показателей эффективного терапевтического средства или комбинации терапевтических средств включают, например, улучшение самочувствия пациента, сокращение опухолевой нагрузки, прекращение или замедление роста опухоли и/или отсутствие метастазирования раковых клеток в другие участки организма.

В одном из вариантов осуществления изобретения, описанном в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления предлагается способ лечения субъекта с острым миелолейкозом (ОМЛ), включающий введение требующему этого субъекту антитела к CD38 в течение времени, достаточного для лечения ОМЛ.

В другом варианте осуществления изобретения, описанном в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления предлагается способ лечения субъекта с острым миелолейкозом (ОМЛ), включающий введение требующему этого субъекту антитела к CD38, которое конкурирует за связывание CD38 с антигеном, содержащим вариабельную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 4 и вариабельную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 5, в течение времени, достаточного для лечения ОМЛ.

В другом варианте осуществления изобретения, описанном в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления предлагается способ лечения субъекта с острым миелолейкозом (ОМЛ), включающий введение требующему этого субъекту антитела к CD38, которое связывается с областью SKRNIQF-SCKNIYR (SEQ ID NO: 2) и областью EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) человеческого CD38 (SEQ ID NO: 1), в течение времени, достаточного для лечения ОМЛ.

Антитело к CD38 связывается с областью SKRNIQF-SCKNIYR (SEQ ID NO: 2) и областью EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) человеческого CD38 (SEQ ID NO: 1), если антитело связывается, по меньшей мере, с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 или 14 аминокислотными остатками в последовательности SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, в том числе в перечисленных ниже пронумерованных вариантах осуществления, антитело к CD38 связывает по меньшей мере одну аминокислоту в области SKRNIQF-SCKNIYR (SEQ ID NO: 2) и по меньшей мере одну аминокислоту в области EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) человеческого CD38 (SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, в том числе в перечисленных ниже пронумерованных вариантах осуществления, антитело к CD38 связывает по меньшей мере две аминокислоты в области SKRNIQF-SCKNIYR (SEQ ID NO: 2) и по меньшей мере две аминокислоты в области EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) человеческого CD38 (SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, в том числе в перечисленных ниже пронумерованных вариантах осуществления, антитело к CD38 связывает по меньшей мере три аминокислоты в области SKRNIQF-SCKNIYR (SEQ ID NO: 2) и по меньшей мере три аминокислоты в области EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) человеческого CD38 (SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, в том числе в перечисленных ниже пронумерованных вариантах осуществления, антитело к CD38 связывает по меньшей мере остатки KRN в области SKRNIQF-SCKNIYR (SEQ ID NO: 2) и по меньшей мере остатки VQLT (SEQ ID NO: 14) в области EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) человеческого CD38 (SEQ ID NO: 1).

Примером антитела, которое связывается с областью SKRNIQF-SCKNIYR (SEQ ID NO: 2) и областью EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) человеческого CD38 (SEQ ID NO: 1) или как минимум с остатками KRN и VQLT (SEQ ID NO: 14), как показано выше, является даратумумаб (см. международную патентную публикацию № WO 2006/0998647). Даратумумаб содержит аминокислотную последовательность VH и VL, показанные в SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно, CDR тяжелой цепи HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно и CDR легкой цепи LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 9, 10 и 11 соответственно, и является подтипом IgG1/κ. Аминокислотная последовательность тяжелой цепи даратумумаба показана в SEQ ID NO: 12, а аминокислотная последовательность легкой цепи показана в SEQ ID NO: 13.

В одном варианте осуществления изобретения, описанном в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления предлагается способ лечения субъекта с острым миелолейкозом (ОМЛ), включающий введение требующему этого субъекту антитела к CD38, содержащего вариабельную область тяжелой цепи (VH) и вариабельную область легкой цепи (VL) последовательностей SEQ ID NO: 4 и 5 соответственно, в течение времени, достаточного для лечения ОМЛ.

В одном варианте осуществления изобретения, описанном в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления предлагается способ лечения субъекта с острым миелолейкозом (ОМЛ), включающий

введение требующему этого субъекту антитела к CD38, содержащего CDR тяжелой цепи HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно и CDR легкой цепи LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 9, 10 и 11 соответственно, в течение времени, достаточного для лечения ОМЛ.

SEQ ID NO: 1

MANCEFSPVSGDKPCCRLSRRALCLGVSILVLLVVLAVVVRWRQQWSGPGTTRKF  
PETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQTVPCNKIL  
LWSRIKDLAHQFTQVQRDMFTLEDTLGLYLADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDWRKDCSNNPVS  
FWKTVSRRFAEAACDVVHMLNGSRSKI FDKNSTFGSVEVHNLQPEKVQTTLEAWVIHGGREDSR  
DLCQDPTIKELESIIISKRNIFSCKNIYRPDKFLQCVKNPEDSSCTSEI

SEQ ID NO: 2

SKRNIFSCKNIYR

SEQ ID NO: 3

EKVQTTLEAWVIHGG

SEQ ID NO: 4

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSA  
ISGSGGGTTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYFCAKDK  
ILWFGPEPVFDYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO: 5

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD  
ASNRATGIPARFSGSGGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQ  
GTKVEIK

SEQ ID NO: 6

SFAMS

SEQ ID NO: 7

AISGSGGGTTYADSVKG

SEQ ID NO: 8

DKILWFGPEPVFDY

SEQ ID NO: 9

RASQSVSSYLA

SEQ ID NO: 10

DASNRAT

SEQ ID NO: 11

QQRSNWPPTF

SEQ ID NO: 12

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGGTY  
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDKILWFGEVFDYWGQGLTVTVSSA  
 STKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTEFPAVLQSSGLYSL  
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK  
 PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH  
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP  
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ  
 KSLSLSPGK

SEQ ID NO: 13

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP  
 ARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE  
 QLKSGTASVVCLLNFPYKAKVQWVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYE  
 KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 14

VQLT

Антитела можно оценивать по их конкуренции с даратумумабом, имеющим VH с SEQ ID NO: 4 и VL с SEQ ID NO: 5, в отношении связывания CD38 с применением хорошо известных методов *in vitro*. В примере метода клетки CHO, рекомбинантно экспрессирующие CD38, могут инкубироваться с немеченым даратумумабом в течение 15 мин при 4°C с последующим инкубированием с избытком флуоресцентно меченного тестового антитела в течение 45 мин при 4°C. После промывания в фосфатно-солевом буферном растворе с бычьим сывороточным альбумином (PBS/BSA) можно проводить измерение флуоресценции проточной цитометрией с помощью стандартных методов. В другом примере способа внеклеточный участок человеческого CD38 может быть нанесен на поверхность планшета для ELISA. В течение около 15 мин может добавляться избыток немеченого даратумумаба, а впоследствии могут добавляться биотинилированные тестовые антитела. После промывок в PBS/Tween можно выявлять связывание тестового биотинилированного антитела с помощью конъюгированного с пероксидазой хрена (HRP) стрептавидина и обнаруживать сигнал с помощью стандартных методов. Очевидно, что в конкурентных анализах даратумумаб может быть меченым, а тестовое антитело - немеченым. Тестовое антитело конкурирует с даратумумабом, если даратумумаб ингибирует связывание тестового антитела или тестовое антитело ингибирует связывание даратумумаба на 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95 или 100%. Можно дополнительно определить эпитоп тестового антитела, например путем пептидного картирования, или посредством анализов с защитой водорода/дейтерия с помощью известных методов, или же посредством определения структуры кристалла.

Антитела, связывающиеся с одной и той же областью на CD38, такие как даратумумаб, могут быть получены, например, путем иммунизации мышей пептидами, имеющими аминокислотные последовательности, показанные в SEQ ID NO: 2 и 3, с помощью стандартных способов, а также как описано в настоящем документе. Дополнительная оценка антител может проводиться, например, путем анализа конкуренции между даратумумабом и тестовым антителом за связывание с CD38, как описано в настоящем документе и с использованием хорошо известных методов *in vitro*.

К другим примерам антител к CD38, которые могут применяться в любом варианте осуществления настоящего изобретения, описанном в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления, относятся перечисленные ниже.

mAb003, содержащее последовательности VH и VL SEQ ID NO: 15 и 16 соответственно, и описанное в патенте США № 7829693. VH и VL mAb003 могут экспрессироваться в виде IgG1/κ.



SEQ ID NO: 15

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYA<sup>F</sup>SWVRQAPGQGLEWMGRVLPFLGIAN

SAQKFQGRVTITADKSTSTAY

MDLSSLRSEDTAVYYCARDDIAALGPF<sup>F</sup>DYWGQGTLLVTVSSAS

SEQ ID NO: 16

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISSWLA<sup>W</sup>YQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT<sup>I</sup>SSLPEDFATYYCQQYNSYPRTFGQGT<sup>K</sup>VEIK;

mAb024, содержащее последовательности VH и VL SEQ ID NO: 17 и 18 соответственно, описанное в патенте США № 7829693. VH и VL mAb024 могут экспрессироваться в виде IgG1/κ.

SEQ ID NO: 17

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSF<sup>S</sup>NYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIP<sup>H</sup>SDARYSPSFQGVTF<sup>S</sup>ADKSI<sup>S</sup>TAYLQWSSLKASDTAMYYCARHVGWGSRYWYFDLWGRGTLVTVSS

SEQ ID NO: 18

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSS<sup>Y</sup>LAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT<sup>I</sup>SSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGT<sup>K</sup>VEIK;

MOR-202 (MOR-03087), содержащее последовательности VH и VL SEQ ID NO: 19 и 20 соответственно, описанное в патенте США № 8088896. VH и VL MOR-202 могут экспрессироваться в виде IgG1/κ.

SEQ ID NO: 19

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS<sup>Y</sup>YMNWVRQAPGKGLEWVSGISGDPSNTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN<sup>S</sup>LRAEDTAVYYCARDLPLVYTG<sup>F</sup>AYWGQGTLLVTVSS

SEQ ID NO: 20

DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRH<sup>Y</sup>YVYWYQQKPGQAPV<sup>L</sup>VIYGDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADY<sup>C</sup>QTYTGGASLVFGGGTKLTVLGQ;

Изатуксимаб, содержащий последовательности VH и VL SEQ ID NO: 21 и 22 соответственно, описанный в патенте США № 8153765. VH и VL изатуксимаба могут экспрессироваться в виде IgG1/κ.

SEQ ID NO 21:

QVQLVQSGAEVAKPGT<sup>S</sup>VKLSCKASGYTFTDYWMQV<sup>K</sup>QRPGGLEWIGTIYPGDGDTGYAQKFQ<sup>K</sup>GKATLTADKSSKTVYMH<sup>S</sup>SSLASEDSAVYYCARGDYYGSNSLDYWGQ<sup>T</sup>SVTVSS

SEQ ID NO: 22:

DIVMTQSHLSMSTSLGDPV<sup>S</sup>ITCKASQDVSTVVAWYQQKPGQSP<sup>R</sup>RLIYSASYRYIGV<sup>P</sup>DRFTGSGAGTDF<sup>T</sup>FTISSVQAEDLAVYYCQQH<sup>S</sup>YSPPYTFGG

GTKLEIK.

Другие примеры антител к CD38, которые можно применять в способах изобретения, включают антитела, описанные в международной патентной публикации №. WO 05/103083, международной патентной публикации №. WO 06/125640, международной патентной публикации №. WO 07/042309, международной патентной публикации № WO 08/047242 или международной патентной публикации № WO 14/178820.

В другом варианте осуществления изобретения, описанном в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления предлагается способ лечения субъекта с острым миелолейкозом (ОМЛ), включающий введение требующему этого субъекту антитела к CD38, содержащего переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL) последовательностей SEQ ID NO: 15 и 16 соответственно, в течение времени, достаточного для лечения ОМЛ.

В другом варианте осуществления изобретения, описанном в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления предлагается способ лечения субъекта с острым миелолейкозом (ОМЛ), включающий введение требующему этого субъекту антитела к CD38, содержащего переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL) последовательностей SEQ ID NO: 17 и 18 соответственно, в течение времени, достаточного для лечения ОМЛ.

В другом варианте осуществления изобретения, описанном в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления предлагается способ лечения субъекта с острым миелолейкозом (ОМЛ), включающий введение требующему этого субъекту антитела к CD38, содержащего переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL) последовательностей SEQ ID NO: 19 и 20 соответственно, в течение времени, достаточного для лечения ОМЛ.

В другом варианте осуществления изобретения, описанном в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления предлагается способ лечения субъекта с острым миелолейкозом (ОМЛ), включающий введение требующему этого субъекту антитела к CD38, содержащего переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL) последовательностей SEQ ID NO: 21 и 22 соответственно, в течение времени, достаточного для лечения ОМЛ.

Участок Fc антитела может опосредовать эффекторные функции антитела, такие как антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность (ADCC), антителозависимый клеточный фагоцитоз (ADCP) или комплемент-зависимая цитотоксичность (CDC). Такая функция может быть опосредована связыванием эффекторного(ых) домена(ов) Fc с рецептором Fc на иммунной клетке с фагоцитарной или литической активностью или связыванием эффекторного(ых) домена(ов) Fc с компонентами системы комплемента. Как правило, эффект(ы), опосредованный(ые) Fc-связывающими клетками или компонентами комплемента, приводят к ингибированию и/или истощению популяции клеток-мишеней, например CD38-экспрессирующих клеток. Изоотипы IgG человека IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 показывают различную способность к выполнению эффекторных функций. ADCC может быть опосредована IgG1 и IgG3, ADCP может быть опосредован IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, а CDC может быть опосредована IgG1 и IgG3.

В описанных в настоящем документе способах и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 имеет изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

В описанных в настоящем документе способах и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 индуцирует посредством апоптоза уничтожение клеток ОМЛ, которые экспрессируют CD38.

Антитела к CD38, применяемые в способах, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления, могут индуцировать уничтожение клеток ОМЛ посредством апоптоза. Способы оценки апоптоза хорошо известны и включают, например окрашивание аннексином IV с помощью стандартных методов. Антитела к CD38, применяемые в способах изобретения, могут индуцировать апоптоз около 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100% клеток.

В описанных в настоящем документе способах и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 индуцирует посредством ADCC уничтожение клеток ОМЛ, которые экспрессируют CD38.

В описанных в настоящем документе способах и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 индуцирует посредством CDC уничтожение клеток ОМЛ, которые экспрессируют CD38.

В описанных в настоящем документе способах и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 индуцирует посредством ADCP уничтожение клеток ОМЛ, которые экспрессируют CD38.

В описанных в настоящем документе способах и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 индуцирует посредством ADCC и CDC уничтожение клеток ОМЛ, которые экспрессируют CD38.

Термин "антителозависимая клеточная цитотоксичность", или "антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность", или "ADCC" представляет собой механизм индукции гибели клеток, который зависит от взаимодействия покрытых антителами клеток-мишеней с эффекторными клетками, обладающими литической активностью, например естественными клетками-киллерами, моноцитами, макрофагами и нейтрофилами, посредством гамма-рецепторов Fc (FcγR), экспрессирующихся на эффекторных клетках. Например, NK-клетки экспрессируют FcγRIIIa, тогда как моноциты экспрессируют FcγRI, FcγRII и FcγRIIIa. Гибель покрытых антителами клеток-мишеней, таких как CD38-экспрессирующие клетки, происходит в результате активности эффекторных клеток через секрецию мембранных порообразующих белков и протеаз. Для оценки ADCC-активности антитела к CD38 это антитело можно добавлять к CD38-экспрессирующим клеткам в комбинации с эффекторными клетками иммунной системы, которые могут быть активированы комплексами антиген-антитело, что приводит к цитолизу клетки-мишени. Цитоллиз по существу обнаруживают по высвобождению из лизированных клеток метки (например, радиоактивных субстратов, флуоресцентных красителей или естественных внутриклеточных белков). Примеры эффекторных клеток для таких анализов включают мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) и NK-клетки. Примеры клеток-мишеней включают клетки Дауди

(ATCC® CCL-213™) или опухолевые клетки В-клеточного лейкоза или лимфомы, экспрессирующие CD38. В примере анализа клетки-мишени метят 20 мКи  $^{51}\text{Cr}$  в течение 2 ч и тщательно промывают. Концентрацию клеток-мишеней могут корректировать до  $1 \times 10^6$  клеток/мл и добавляют антитела к CD38 в различных концентрациях. Проведение анализа начинают посредством добавления клеток Дауди в соотношении эффекторная клетка:клетка-мишень, равном 40:1. После инкубирования в течение 3 ч при 37°C проведение анализа прекращают путем центрифугирования, и на сцинтилляционном счетчике измеряют высвобождение  $^{51}\text{Cr}$  из лизированных клеток. Процентное значение клеточной цитотоксичности можно рассчитывать как процент максимального лизиса, который можно индуцировать путем добавления к клеткам-мишеням 3% хлорной кислоты. Антитела к CD38, применяемые в способах изобретения, могут индуцировать ADCC на уровне около 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100% по сравнению с контролем (лизис клеток, индуцированный 3% хлорной кислотой).

Термин "антителозависимый клеточный фагоцитоз" (ADCP) относится к механизму уничтожения покрытых антителами клеток-мишеней путем интернализации фагоцитарными клетками, такими как макрофаги или дендритные клетки. ADCP может оцениваться с помощью моноцитарных макрофагов в качестве эффекторных клеток и клеток Дауди (ATCC® CCL-213™) или опухолевых клеток В-клеточного лейкоза или лимфомы, экспрессирующих CD38, в качестве клеток-мишеней, сконструированных с целью экспрессии зеленого флуоресцентного белка (GFP) или другой меченой молекулы. Соотношение эффекторная клетка:клетка-мишень может составлять, например, 4:1. Эффекторные клетки можно инкубировать с клетками-мишенями в течение 4 ч, с антителом к CD38 или без него. После инкубации клетки можно отделить с помощью аккутазы. Идентификацию макрофагов можно провести с помощью антител к CD11b и к CD14, связанных с флуоресцентной меткой, и можно определить процентное значение фагоцитоза на основании процента флуоресцирующего GFP в макрофагах  $\text{CD11}^+\text{CD14}^+$  с помощью стандартных методов. Антитела к CD38, применяемые в способах изобретения, могут индуцировать ADCP на уровне около 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100%.

Термин "комплемент-зависимая цитотоксичность", или "CDC", относится к механизму индукции гибели клеток, в рамках которого эффекторный домен Fc связанного с мишенью антитела связывает и активирует компонент комплемента C1q, который в свою очередь активирует каскад комплемента, приводящий к гибели клетки-мишени. Активация комплемента может также приводить к осаждению компонентов комплемента на поверхности клеток-мишеней, что способствует проявлению ADCC посредством связывания на лейкоцитах с рецепторами комплемента (например, CR3). CDC для CD38-экспрессирующих клеток может измеряться, например, путем высевания клеток Дауди в количестве  $1 \times 10^5$  клеток/лунка (50 мкл/лунка) в RPMI-B (RPMI с добавлением 1% BSA), добавления 50 мкл антител к CD38 в лунки до конечной концентрации в диапазоне 0-100 мкг/мл, инкубирования реакционной смеси в течение 15 мин при комнатной температуре, добавления в лунки 11 мкл объединенной человеческой сыворотки и инкубирования реакционной смеси в течение 45 мин при 37°C. Процентное количество (%) лизированных клеток может определяться как процент окрашенных пропидий-йодидом клеток при анализе FACS с помощью стандартных методов. Антитела к CD38, применяемые в способах изобретения, могут индуцировать CDC на уровне около 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100%.

Способность моноклональных антител индуцировать ADCC можно усилить путем конструирования их олигосахаридного компонента. Человеческий IgG1 или IgG3 является N-гликозилированным по Asn297, как большинство гликанов в хорошо известных 2-антенарных формах G0, G0F, G1, G1F, G2 или G2F. Антитела, продуцируемые несконструированными клетками CHO, как правило, имеют содержание фукозы в гликанах около по меньшей мере 85%. Удаление центральной фукозы из олигосахаридов типа 2-антенарного комплекса, присоединенных к областям Fc, усиливает ADCC антител посредством улучшенного связывания Fc $\gamma$ RIIIa без изменения связывания с антигеном или CDC-активности. Такие mAb можно получать с помощью различных способов, которые, по имеющимся данным, приводят к успешной экспрессии антител с относительно высокой степенью дефукозилирования, несущих Fc-олигосахариды типа 2-антенарного комплекса, такими способами как контроль осмоляльности культуральной среды (Konno et al., *Cytotechnology* 64:249-65, 2012), применение в качестве линии клеток-хозяев вариантной линии CHO Lec13 (Shields et al., *J Biol Chem* 277:26733-26740, 2002), применение в качестве линии клеток-хозяев вариантной линии клеток CHO EB66 (Olivier et al., *MAbs*;2(4), 2010; электронное издание до печатного издания; PMID:20562582), применение линии клеток гибридомы крыс YB2/0 в качестве линии клеток-хозяев (Shinkawa et al., *J Biol Chem* 278:3466-3473, 2003), введение малой интерферирующей РНК, специфичной к гену  $\alpha$ 1,6-фукозилтрансферазы (FUT8) (Mori et al., *Biotechnol Bioeng* 88:901-908, 2004), или коэкспрессия  $\beta$ -1,4-N-ацетилглюкозаминилтрансферазы III и  $\alpha$ -маннозидазы II комплекса Гольджи, или применение сильного ингибитора альфа-маннозидазы I, кифунензина (Ferrara et al., *J Biol Chem* 281:5032-5036, 2006, Ferrara et al., *Biotechnol Bioeng* 93:851-861, 2006; Xhou et al., *Biotechnol Bioeng* 99:652-65, 2008). ADCC, вызываемая антителами к CD38, которые применяются в способах изобретения и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже прототипированных вариантов осуществления, может также усиливаться за счет некоторых замен в Fc антите-

ла. Примерами замен являются, например, замены в положениях аминокислот 256, 290, 298, 312, 356, 330, 333, 334, 360, 378 или 430 (нумерация остатков соответствует EU-индексу), как описано в патенте США № 6737056.

В некоторых описанных в настоящем документе способах и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитела к CD38 содержат замену в Fc антитела.

В некоторых описанных в настоящем документе способах и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитела к CD38 содержат замену в Fc антитела в положениях аминокислот 256, 290, 298, 312, 356, 330, 333, 334, 360, 378 или 430 (нумерация остатков соответствует EU-индексу).

В некоторых описанных в настоящем документе способах и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитела к CD38 обладает 2-антенарной гликановой структурой с содержанием фукозы в диапазоне от около 0 до около 15%, например 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 или 0%.

В некоторых описанных в настоящем документе способах и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитела к CD38 обладает 2-антенарной гликановой структурой с содержанием фукозы около 50, 40, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 или 0%.

Замены в Fc и сниженное содержание фукозы может усиливать активность ADCC антитела к CD38.

Термин "содержание фукозы" означает количество моносахарида фукозы в пределах сахаридной цепи в положении Asn297. Относительное количество фукозы представляет собой процентное содержание фукозосодержащих структур, относящихся ко всем гликоструктурам. Они могут быть охарактеризованы и количественно измерены посредством множества методов, например: (1) при помощи времяпролетной матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (MALDI-TOF) образца, обработанного N-гликозидазой F (например, комплексные, гибридные, олигоманнозные и высокоманнозные структуры), как описано в международной патентной публикации № WO 2008/077546; (2) посредством ферментативного высвобождения гликанов Asn297 с последующей дериватизацией и обнаружением/количественным определением посредством ВЭЖХ (СВЭЖХ) с обнаружением с помощью флуоресценции и/или ВЭЖХ-МС (СВЭЖХ-МС); (3) анализом интактного белка нативного или восстановленного mAb с обработкой гликанов Asn297 или без нее с помощью Endo S или другого фермента, который расщепляет связь между первым и вторым моносахаридами GlcNAc, сохраняя фукозу присоединенной к первому GlcNAc; (4) расщеплением mAb на составляющие пептиды посредством ферментативного расщепления (например, трипсином или эндопептидазой Lys-C) и последующим разделением, обнаружением и количественным определением посредством ВЭЖХ-МС (СВЭЖХ-МС) или (5) отделением олигосахаридов mAb от белка mAb на Asn 297 посредством специфического ферментативного дегликозилирования с помощью PNGase F. Высвобожденные олигосахариды можно метить флуорофором, разделять и идентифицировать различными вспомогательными методами, которые позволяют точно охарактеризовать структуры гликанов посредством масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI) путем сравнения экспериментальных масс с теоретическими массами, определять степень сиалилирования ионообменной ВЭЖХ (GlycoSep C), разделять и количественно измерять формы олигосахаридов по критерию гидрофильности посредством ВЭЖХ с обычной фазой (GlycoSep N) и разделять и количественно измерять олигосахариды посредством высокоэффективного капиллярного электрофореза с лазер-индуцированной флуоресценцией (HPCE-LIF).

Определение "низкофукозный" или "с низким содержанием фукозы" в настоящей заявке относится к антителам с содержанием фукозы около 0-15%.

Определение "нормофукозный" или "с нормальным содержанием фукозы" в настоящем документе относится к антителам с содержанием фукозы более около 50%, как правило, более около 60, 70, 80 или более 85%.

Антитела к CD38, применяемые в способах, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления, могут индуцировать уничтожение клеток ОМЛ посредством модуляции ферментативной активности CD38. CD38 представляет собой многофункциональный эктофермент с активностью АДФ-рибозилциклазы, катализирующей образование циклической АДФ-рибозы (цАДФР) и АДФР из НАД. CD38 также катализирует обмен никотинамидной группы НАДФ<sup>+</sup> на никотиновую кислоту в условиях кислой среды с получением НКАДФ<sup>+</sup> (никотиновая кислота-адениндинуклеотидфосфат). Модуляцию ферментативной активности CD38 человека антителами к CD38, применяемыми в способах изобретения, можно измерять в анализе, описанном в публикации Graeff et al., J. Biol. Chem. 269, 30260-30267 (1994). Например, субстрат НГД<sup>+</sup> можно инкубировать с CD38, а модуляцию продукции циклической ГДФ-рибозы (цГДФР) можно отслеживать спектrophотометрически по возбуждению на длине волны 340 нм и испусканию на длине волны 410 нм в различные моменты времени после добавления антитела в различных концентрациях. Ингибирование синтеза цАДФР можно определять в соответствии с методом ВЭЖХ, описанным в публикации Munshi et al., J. Biol. Chem. 275, 21566-21571 (2000). Антитела к CD38,

применяемые в способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления, могут ингибировать ферментативную активность CD38 на по меньшей мере около 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100%.

В некоторых способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 содержит последовательности определяющих комплементарность областей тяжелой цепи (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) и 3 (HCDR3) с SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно.

В некоторых способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 содержит последовательности определяющих комплементарность областей легкой цепи (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) и 3 (LCDR3) с SEQ ID NO: 9, 10 и 11 соответственно.

В некоторых способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 содержит последовательности определяющих комплементарность областей тяжелой цепи (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) и 3 (HCDR3) с SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно и последовательности определяющих комплементарность областей легкой цепи (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) и 3 (LCDR3) с SEQ ID NO: 9, 10 и 11 соответственно.

В некоторых способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 4 и вариабельную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 5.

В некоторых способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 содержит тяжелую цепь с SEQ ID NO: 12 и легкую цепь с SEQ ID NO: 13.

В некоторых способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности SEQ ID NO: 12, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности SEQ ID NO: 13.

Антитела, которые по существу идентичны антителу, содержащему тяжелую цепь с SEQ ID NO: 12 и легкую цепь с SEQ ID NO: 13, могут использоваться в способах изобретения. Термин "по существу идентичный" в настоящем документе означает, что аминокислотные последовательности двух сравниваемых тяжелых цепей или легких цепей антител идентичны или имеют несущественные отличия. Несущественные отличия представляют собой замены 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислот в тяжелой цепи или легкой цепи антитела, не оказывающие отрицательного влияния на свойства антитела. Процентное значение идентичности можно определять, например, путем попарного выравнивания с применением настроек по умолчанию в модуле AlignX программы Vector NTI v.9.0.0 (Invitrogen, г. Карлсбад, штат Калифорния, США). Белковые последовательности настоящего изобретения можно применять в качестве искомой последовательности при осуществлении поиска в общедоступных или патентованных базах данных, например, для идентификации родственных последовательностей. Примерами программ, используемых для выполнения таких поисков, являются программы XBLAST или BLASTP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) или пакет GenomeQuest™ (GenomeQuest, г. Вестборо, штат Массачусетс, США) с использованием настроек по умолчанию. Примеры замен, которые могут проводиться для антител к CD38, применяемых в способах изобретения, представляют собой, например, консервативные замены на аминокислоты, имеющие аналогичный заряд, гидрофобные свойства или стереохимические характеристики. Также могут осуществляться консервативные замены для улучшения свойств антитела, например стабильности или аффинности, или для улучшения эффекторных функций антитела. Можно осуществить 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислотных замен, например, в тяжелой или легкой цепи антитела к CD38. Более того, любой нативный остаток в тяжелой или легкой цепи также можно замещать аланином, как ранее было описано в отношении аланин-сканирующего мутагенеза (MacLennan et al., *Acta Physiol Scand Suppl* 643:55-67, 1998; Sasaki et al., *Adv Biophys* 35:1-24, 1998). Специалисты в данной области могут определять желательные аминокислотные замены, когда такие замены необходимы. Аминокислотные замены могут быть осуществлены, например, с помощью ПЦР-мутагенеза (патент США № 4683195).

Библиотеки вариантов можно создавать с помощью хорошо известных способов, например путем применения случайных (NNK) или неслучайных кодонов, например кодонов DVK, кодирующих 11 аминокислот (Ala, Cys, Asp, Glu, Gly, Lys, Asn, Arg, Ser, Tyr, Trp), и скрининга библиотек на варианты с желательными свойствами. Созданные варианты можно тестировать на их связывание с CD38 и их способность индуцировать апоптоз или модулировать ферментативную активность CD38 с применением методов, описанных в настоящем документе.

В описанных в настоящем документе способах и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 может связывать CD38 человека в диапазоне значений аффинности ( $K_D$ ). В одном варианте осуществления в соответствии с изобретением и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 связывается с CD38 с  $K_D$ , равной или меньшей чем около  $1 \times 10^{-8}$  М, например  $5 \times 10^{-9}$  М,  $1 \times 10^{-9}$  М,  $5 \times 10^{-10}$  М,  $1 \times 10^{-10}$  М,  $5 \times 10^{-11}$  М,  $1 \times 10^{-11}$  М,  $5 \times 10^{-12}$  М,  $1 \times 10^{-12}$  М,  $5 \times 10^{-13}$  М,  $1 \times 10^{-13}$  М,  $5 \times 10^{-14}$  М,  $1 \times 10^{-14}$  М или  $5 \times 10^{-15}$  М, или любой диапазон, входящий в приведенные выше значения, как определяется методом поверхностного плазмонного резонанса или методом Кинеха, которые используются специалистами в данной области. В одном примере значение аффинности равно  $1 \times 10^{-8}$  М или менее. В другом примере значение аффинности равно  $1 \times 10^{-9}$  М или менее.

В некоторых вариантах осуществления и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 представляет собой биспецифическое антитело. Области VL и/или VH существующих антител к CD38 или области VL и VH, идентифицированные *de novo*, как описано в настоящем документе, могут быть сконструированы с получением биспецифических полноразмерных антител. Такие биспецифические антитела могут быть получены путем модуляции взаимодействий СНЗ в Fc антител с образованием биспецифических антител с помощью методик, таких как описанные в патенте США № 7695936; международной патентной публикации № WO 04/111233; патентной публикации США № US 2010/0015133; патентной публикации США № US 2007/0287170; международной патентной публикации № WO 2008/119353; патентной публикации США № US 2009/0182127; патентной публикации США № US 2010/0286374; патентной публикации США № US 2011/0123532; международной патентной публикации № WO 2011/131746; международной патентной публикации № WO 2011/143545; или патентной публикации США № US 2012/0149876.

Например, биспецифические антитела в соответствии с изобретением можно создавать *in vitro* в бесклеточной среде, вводя асимметричные мутации в областях СНЗ двух моноспецифических гомодимерных антител и образуя биспецифическое гетеродимерное антитело из двух исходных моноспецифических гомодимерных антител в восстановительных условиях, что способствует изомеризации дисульфидной связи, в соответствии со способами, описанными в международной патентной публикации № WO 2011/131746. В этих способах первое моноспецифическое двухвалентное антитело (например, антитело к CD38) и второе моноспецифическое двухвалентное антитело конструируют так, чтобы они имели определенные замены в домене СНЗ, обеспечивающие стабильность гетеродимера; антитела инкубируют вместе в восстановительных условиях, достаточных, чтобы цистеины в шарнирной области подверглись изомеризации дисульфидной связи; и в результате обмена плечами Fab образуется биспецифическое антитело. Условия инкубирования можно оптимально вернуть к невозстановительным. К примерам пригодных для использования восстанавливающих агентов относятся 2-меркаптоэтиламин (2-MEA), дитиотреитол (ДТТ), дитиозритритол (ДТЕ), глутатион, трис(2-карбокситил)фосфин (ТСЕР), L-цистеин и бета-меркаптоэтанол, предпочтительно восстанавливающий агент выбирают из группы, состоящей из 2-меркаптоэтиламина, дитиотреитола и трис(2-карбокситил)фосфина. Например, можно использовать инкубирование в течение по меньшей мере 90 мин при температуре по меньшей мере 20°C в присутствии по меньшей мере 25 мМ 2-MEA или в присутствии по меньшей мере 0,5 мМ дитиотреитола при значении pH от 5 до 8, например при pH=7,0 или при pH=7,4.

К возможным иллюстративным мутациям СНЗ в первой тяжелой цепи и во второй тяжелой цепи биспецифического антитела относятся K409R и/или F405L.

Дополнительные биспецифические структуры, в которые могут быть встроены области VL и/или VH антител в соответствии с изобретением, могут представлять собой, например, иммуноглобулины с двойным переменным доменом (DVD) (международная патентная публикация № WO 2009/134776) или структуры, включающие в себя различные димеризационные домены для соединения двух плеч антител с разной специфичностью, например "лейциновую застежку-молнию" или коллагеновые димеризационные домены (международная патентная публикация № WO 2012/022811, патент США № 5932448; патент США № 6833441). DVD представляют собой полноразмерные антитела, содержащие тяжелую цепь, имеющую структуру VH1-линкер-VH2-CH, и легкую цепь, имеющую структуру VL1-линкер-VL2-CL, причем линкер является необязательным.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 конъюгировано с токсином. Способы конъюгации и приемлемые токсины хорошо известны.

Постановка диагноза ОМЛ проводится врачом в соответствии с существующими рекомендациями, например в соответствии с классификация ОМЛ Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) (Brunner et al., World Health Organization Classification of Tumors, 3, pp 77-80; eds. Jaffe et al., Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues) и в соответствии с рекомендациями, предлагаемыми, например, Национальной всеобщей онкологической сетью ([http://\\_www\\_nccn.org/\\_profession-](http://_www_nccn.org/_profession-)

als/\_physician\_gls/\_f\_guideline\_s\_asp#site). Классификация ВОЗ включает клинические особенности, цитогенетику, иммунофенотип, морфологию и генетику, чтобы определить биологически гомогенные подгруппы, имеющие терапевтическое и прогностическое значение, и подразделяет ОМЛ на четыре основных подтипа: ОМЛ с рекуррентными генетическими аномалиями, ОМЛ с мультилинейной дисплазией, связанные с терапией ОМЛ и не включенный в другие категории ОМЛ.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления ОМЛ представляет собой ОМЛ по меньшей мере с одной генетической аномалией.

ОМЛ может быть связан с транслокацией между хромосомами 8 и 21, транслокацией или инверсией в хромосоме 16, транслокацией между хромосомами 15 и 17 или изменениями в хромосоме 11.

К распространенным хромосомным перестройкам, связанным с ОМЛ, относятся транслокации t(8; 21)(q22; q22) (AML1/ETO), inv(16)(p13; q22) или t(16; 16)(p13; q22); (CBFβ/МУН11) или t(15; 17)(q22; q12); (PML/RARA). Пациенты с такими благоприятными хромосомными транслокациями могут быть более восприимчивы к лечению и обеспечивать более высокие показатели полной ремиссии (CR).

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления ОМЛ связан с транслокацией между хромосомами 8 и 21, транслокацией или инверсией в хромосоме 16, транслокацией между хромосомами 15 и 17 или изменениями в хромосоме 11.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления ОМЛ связан с хромосомной аномалией t(8; 21)(q22; q22)(AML1/ETO), inv(16)(p13; q22) или t(16; 16)(p13; q22); (CBFβ/МУН11) или t(15; 17)(q22; q12); (PML/RARA).

Были выявлены соматические мутации в различных генах, которые были отнесены к связанным с патогенезом ОМЛ. К ним относятся мутации связанной с FMS тирозинкиназы-3 (FLT3), нуклеофосмина (NPM1), изоцитратдегидрогеназы-1 (IDH1), изоцитратдегидрогеназы-2 (IDH2), ДНК-(цитозин-5)-метилтрансферазы-3 (DNMT3A), ССААТ/энхансер-связывающего белка альфа (СЕВРА), вспомогательного фактора-1 U2 малой ядерной РНК (U2AF1), энхансера белка Zeste 2 субъединицы ингибиторного комплекса-2 polycomb (EZH2), структурного сохранения хромосом 1A (SMC1A) и структурного сохранения хромосом 3 (SMC3) (The Cancer Genome Atlas Research Network; N Engl J Med 368:2059-74, 2013).

Активирующие мутации в гене FLT3 были описаны у около 20-30% пациентов с впервые установленным диагнозом ОМЛ. К ним относятся FLT3-ITD, внутренние мутации тандемной дупликации в результате дупликации и тандемной вставки частей околочембранного домена гена FLT3 (Schnittger et al., Blood 100:59-66, 2002) и мутации D835 в домене FLT3-киназы. Для пациентов с мутациями FLT3-ITD характерна сниженная общая выживаемость (OS) с повышенной частотой рецидивов (Kottaridis et al., Blood 98: 1752-9, 2001; Yanada et al., Leukemia 19: 1345-9, 2005).

Мутации в IDH1 и IDH2 присутствуют у около 15% пациентов с впервые установленным диагнозом. Мутации IDH1 включают замены R132H, R132X (X обозначает любую аминокислоту) и R100Q/R104V/F108L/R119Q/I130V, а мутации IDH2 включают замены R140Q и R172. Мутации IDH1/2 связывают с более неблагоприятным прогнозом, исключая IDH2<sup>R140Q</sup>, которая связана с несколько более продолжительной выживаемостью (Molenaar et al., Biochim Biophys Acta 1846: 326-41, 2014). Частота мутации IDH1/2 нарастает по мере прогрессирования заболевания (Molenaar et al., Biochim Biophys Acta 1846: 326-41, 2014).

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления ОМЛ связан с одной или более мутациями FMS тирозинкиназы-3 (FLT3), нуклеофосмина (NPM1), изоцитратдегидрогеназы-1 (IDH1), изоцитратдегидрогеназы-2 (IDH2), ДНК-(цитозин-5)-метилтрансферазы-3 (DNMT3A), ССААТ/энхансер-связывающего белка альфа (СЕВРА), вспомогательного фактора-1 U2 малой ядерной РНК (U2AF1), энхансера белка Zeste 2 субъединицы ингибиторного комплекса-2 polycomb (EZH2), структурного сохранения хромосом 1A (SMC1A) и структурного сохранения хромосом 3 (SMC3).

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления ОМЛ связан с одной или более мутациями FMS тирозинкиназы-3 (FLT3).

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления ОМЛ связан с FLT3-ITD.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления ОМЛ связан с одной или более мутациями изоцитратдегидрогеназы-1 (IDH1) или изоцитратдегидрогеназы-2 (IDH2).

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах

тах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления ОМЛ связан с мутациями R132H, R132X или R100Q/R104V/F108L/R119Q/I130V в изоцитратдегидрогеназе-1 (IDH1).

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления ОМЛ связан с мутациями R140Q и R172 в изоцитратдегидрогеназе-2 (IDH2).

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления ОМЛ представляет собой ОМЛ с мультилинейной дисплазией.

ОМЛ, связанный с мультилинейной дисплазией, характеризуется дисплазией в двух или более линиях миелоидных клеток и по меньшей мере 20% увеличением численности бластов в крови или костном мозге.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления ОМЛ представляет собой связанный с терапией ОМЛ.

Связанный с терапией ОМЛ является результатом ранее проводившейся химиотерапии и/или радиационной терапии и может проявляться через несколько лет после воздействия мутагенного агента. У более 90% пациентов со связанным с терапией ОМЛ наблюдаются хромосомные аномалии, включая аномалии в хромосомах 5 и/или 7.

Хромосомные перестройки можно идентифицировать с использованием хорошо известных методов, например флуоресцентной гибридизацией *in situ*, кариотипированием, саузерн-блоттингом или секвенированием.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления ОМЛ представляет собой недифференцированный ОМЛ (M0), ОМЛ с минимальным созреванием (M1), ОМЛ с созреванием (M2), острый миеломоноцитарный лейкоз (M4), острый моноцитарный лейкоз (M5), острый эритроидный лейкоз (M6), острый мегакариобластный лейкоз (M7), острый базофильный лейкоз, острый панмиелоз с фиброзом или миелоидную саркому.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления ОМЛ представляет собой ОМЛ в ремиссии.

Ремиссия ОМЛ обычно определяется по нормальному содержанию клеток в костном мозге с менее 5% бластов, нормальным показателям периферической крови  $>100000/\text{мм}^3$  тромбоцитов и  $>1000/\text{мм}^3$  нейтрофилов.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления ОМЛ является рефрактерным или рецидивирующим.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления пациент, имеющий ОМЛ, получает лечение идарубицином, цитарабином или гидроксимочевинной.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления ОМЛ представляет собой ОМЛ у взрослых.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления ОМЛ представляет собой ОМЛ у детей.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 вводят для индуцирования ремиссии, после ремиссии или в качестве поддерживающей терапии.

Для определения того, произошел ли у субъекта рецидив, имеет ли он резистентность, приобретенную резистентность или предрасположенность к приобретению резистентности к лечению лекарственным или терапевтическим средством, можно использовать различные качественные и/или количественные способы. Симптомы, которые могут быть связаны с рецидивом и/или резистентностью, включают, например, ухудшение или отсутствие улучшения самочувствия пациента, увеличение размера опухоли или опухолевой нагрузки, увеличение количества раковых клеток, прекращение или замедление торможения роста опухоли или опухолевых клеток и/или распространение раковых клеток в организме из одного места к другим органам, тканям или клеткам. Повторное появление или ухудшение различных симптомов, связанных с опухолью, также может быть показателем того, что у субъекта произошел рецидив или развилась резистентность или он является предрасположенным к развитию резистентности к лекарственному или терапевтическому средству. Симптомы, связанные с раковым заболеванием, могут варьировать в зависимости от типа ракового заболевания. Например, симптомы, связанные с ОМЛ, могут



включать слабость, утомляемость, головокружение или озноб, головные боли, частые носовые кровотечения, частые кровоизлияния или кровоточивость десен.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 вводят в комбинации по меньшей мере с одним дополнительным лекарственным средством.

Для лечения ОМЛ могут использоваться цитарабин (цитозин арабинозид или ара-С) и/или антрациклиновые лекарственные средства, например доксорубин, даунорубин, дауномицин, идарубин и митоксантрон. К другим химиотерапевтическим лекарственным средствам, которые могут применяться для лечения ОМЛ, относятся гидроксимочевина (Hydrea®), децитабин (Dacogen®), кладрибин (Leustatin®, 2-CdA), флударабин (Fludara®), топотекан, этопозид (VP-16), 6-тиогуанин (6-TG), кортикостероидные лекарственные средства, например преднизон или дексаметазон (Decadron®), метотрексат (MTX), 6-меркаптопурин (6-MP) или азациитидин (Vidaza®).

К другим лекарственным средствам, которые могут применяться для лечения ОМЛ, относятся полностью транс-ретиноевая кислота (ATRA), третиноин или Vesanoid® и триоксид мышьяка (ATO, Trisepox®). ATRA и триоксид мышьяка могут применяться для лечения острого промиелоцитарного лейкоза.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 вводят пациенту в комбинации с цитарабином, даунорубицином/дауномицином, идарубицином, митоксантроном, гидроксимочевиной, децитабином, кладрибином, флударабином, топотеканом, этопозидом, 6-тиогуанином, кортикостероидом, преднизолом, дексаметазоном, метотрексатом, 6-меркаптопурин или азациитидином.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 вводят пациенту в комбинации с децитабином.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитело к CD38 вводят пациенту в комбинации с цитарабином и доксорубицином.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления субъект получал или будет получать радиотерапию.

Радиотерапия может представлять собой внешнее направленное излучение, радиационную терапию с модуляцией интенсивности (IMRT), сфокусированное облучение или может быть любой формой радиохирургии, включая гамма-нож, кибер-нож, Linac и внутритканевое облучение (например, имплантированные радиоактивные зерна, баллон GliaSite) и/или с хирургическим лечением.

К способам сфокусированного облучения, которые могут быть использованы, относятся стереотаксическая радиохирургия, фракционированная стереотаксическая радиохирургия и радиационная терапия с модуляцией интенсивности (IMRT). Очевидно, что стереотаксическая радиохирургия включает точную доставку излучения в опухолевую ткань, например опухоли мозга, одновременно исключая попадание в окружающие нормальные ткани, не пораженные опухолью. Доза излучения, применяемая в ходе стереотаксической радиохирургии, может меняться обычно от 1 до около 30 Гр и может включать промежуточные интервалы, включая, например, дозы от 1 до 5, 10, 15, 20, 25 и до 30 Гр. Поскольку при этом используются неинвазивные фиксирующие устройства, стереотаксическое облучение необязательно осуществлять в ходе разовой процедуры. План лечения можно надежным образом повторять ежедневно, тем самым позволяя воздействовать множественными дробными дозами облучения. При использовании для лечения опухоли в течение определенного времени радиохирургию называют "фракционированной стереотаксической радиохирургией" или FSR. Напротив, стереотаксическая хирургия предполагает облучение за один сеанс. Фракционированная стереотаксическая радиохирургия может обеспечивать высокий терапевтический индекс, т.е. высокий показатель уничтожения опухолевых клеток и низкий уровень воздействия на здоровую ткань. Опухоль и здоровая ткань различным образом реагируют на высокие разовые дозы облучения по сравнению с дробными меньшими дозами облучения. Разовые высокие дозы облучения могут уничтожать больше здоровой ткани, чем несколько меньших доз облучения. Соответственно множественные мелкие дозы облучения могут уничтожать больше опухолевых клеток, не затрагивая здоровую ткань. Доза излучения, применяемая в ходе фракционированной стереотаксической радиохирургии, может меняться обычно от 1 до около 50 Гр и может включать промежуточные интервалы, например дозы от 1 до 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 и до 50 Гр в гипофракционированных дозах. Может также использоваться радиационная терапия с модуляцией интенсивности (IMRT). IMRT представляет собой современный метод высокоточной трехмерной конформной радиационной терапии (3DCRT), который использует управляемые компьютером линейные ускорители для воздействия точными дозами облучения на злокачественную опухоль или конкретные области внутри опухоли. В 3DCRT форма профиля каждого луча облучения настраивается таким образом, чтобы соответствовать профилю мишени в видоискателе луча (BEV) с помощью многолепесткового коллиматора (MLC), который в результате обеспе-

чивает несколько лучей. IMRT позволяет более точно настраивать дозу облучения в соответствии с трехмерной (3D) формой опухоли за счет модуляции интенсивности луча облучения во множестве малых объемов. Соответственно, IMRT позволяет концентрировать более высокие дозы облучения на областях внутри опухоли, сводя к минимуму дозу облучения окружающих здоровых важнейших образований. IMRT улучшает возможность приведения в соответствие объема обработки с вогнутыми формами опухоли, например, если опухоль образуется вокруг уязвимой области, например спинного мозга, или важного органа, или кровеносного сосуда.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления субъект подвергается трансплантации гематопозитических стволовых клеток (HSCT).

В некоторых вариантах осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления всех и каждого из пронумерованных вариантов осуществления, перечисленных ниже, HSCT является аллогенной, аутологической или изогенной, т.е. донором является близнец. Аутологическая HSCT включает извлечение HSC у субъекта и замораживание полученных HSC. После миелоабляции хранимые HSC субъекта обратно трансплантируют субъекту. При аллогенной HSCT используют HSC, полученные у аллогенного донора HSC, у которого тип HLA совпадает с субъектом.

"Трансплантацией гематопозитических стволовых клеток" называют трансплантацию стволовых клеток крови, полученных из костного мозга (в данном случае известную как трансплантация костного мозга), крови (например, периферической крови и крови пуповины) или амниотической жидкости.

"Проведение трансплантации гематопозитических стволовых клеток" означает, что пациенту уже проведена, проводится или будет проводиться HSCT.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления всех и каждого из пронумерованных вариантов осуществления, перечисленных ниже, перед проведением HSCT пациент завершил курс химиотерапии и/или радиационной терапии.

Пациенты могут получать курс химиотерапии и/или радиационной терапии перед проведением HSCT (так называемая подготовка к трансплантации) для уничтожения некоторых или всех гематопозитических клеток пациента перед трансплантацией. В случае аллогенной HSCT пациента могут также лечить иммунодепрессантами. Примером подготовительной терапии перед трансплантацией является использование высоких доз мелфалана (см., например, Skinner et al., *Ann Intern Med* 140:85-93, 2004; Gertz et al., *Bone Marrow Transplant* 34: 1025-31, 2004; Perfetti et al., *Haematologica* 91:1635-43, 2006). Радиационная терапия, которая может быть использована для лечения перед трансплантацией, может проводиться в соответствии с общеизвестными протоколами для данной области. Радиационная терапия может также проводиться одновременно, последовательно или отдельно от терапии антителом к CD38.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления субъект с ОМЛ является гомозиготным по фенилаланину в положении 158 CD16 (генотип FcγRIIIa-158F/F) или гетерозиготным по валину и фенилаланину в положении 158 CD16 (генотип FcγRIIIa-158F/V). CD16 также известен как Fc-гамма рецептор IIIa (FcγRIIIa) или изоформа III-A низкоаффинного рецептора к области Fc иммуноглобулина гамма. Было показано, что полиморфизм валин/фенилаланин (V/F) в положении остатка 158 белка FcγRIIIa отрицательно влияет на аффинность FcγRIIIa к человеческому IgG. Рецептор с полиморфизмами FcγRIIIa-158F/F или FcγRIIIa-158F/V демонстрирует сниженное взаимодействие с Fc и, таким образом, сниженную ADCC по сравнению с FcγRIIIa-158V/V. Отсутствие или низкое количество фукозы в человеческих N-связанных олигосахаридах повышает способность антител индуцировать ADCC вследствие улучшенного связывания антител с человеческим FcγRIIIa (CD16) (Shields et al., *J Biol Chem* 277:26733-40, 2002). С помощью стандартных способов можно проанализировать наличие у пациентов полиморфизма FcγRIIIa.

В изобретении также предлагается способ лечения субъекта с ОМЛ, включающий введение требующему этого пациенту антитела к CD38, которое связывается с областью SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID NO: 2) и областью EKVQTLEAWVINGG (SEQ ID NO: 3) человеческого CD38 (SEQ ID NO: 1), в котором субъект является гомозиготным по фенилаланину в положении 158 в CD16 или гетерозиготным по валину и фенилаланину в положении 158 в CD16.

В изобретении также предлагается антитело к CD38 для применения в лечении субъекта, имеющего ОМЛ, причем у субъекта имеется мутация в связанной с FMS тирозинкиназе-3 (FLT3).

В изобретении также предлагается антитело к CD38 для применения в лечении субъекта, имеющего ОМЛ, причем у субъекта имеется мутация FLT3-ITD.

В изобретении также предлагается антитело к CD38 для применения в лечении субъекта, имеющего ОМЛ, причем у субъекта имеется мутация в изоцитратдегидрогеназе-2 (IDH2).

В изобретении также предлагается антитело к CD38 для применения в лечении субъекта, имеющего ОМЛ, причем у субъекта имеется мутация R140Q в изоцитратдегидрогеназе-2 (IDH2).

В изобретении также предлагается антитело к CD38 для применения в лечении субъекта, имеющего









ID NO: 20, для применения в лечении субъекта, имеющего ОМЛ, причем у субъекта имеется мутация R882H в ДНК-(цитозин-5)-метилтрансферазе-3 (DNMT3A).

В изобретении также предлагается антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 21 и VL с SEQ ID NO: 22, для применения в лечении субъекта, имеющего ОМЛ, причем у субъекта имеется мутация в связанной с FMS тирозинкиназе-3 (FLT3).

В изобретении также предлагается антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 21 и VL с SEQ ID NO: 22, для применения в лечении субъекта, имеющего ОМЛ, причем у субъекта имеется мутация FLT3-ITD.

В изобретении также предлагается антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 21 и VL с SEQ ID NO: 22, для применения в лечении субъекта, имеющего ОМЛ, причем у субъекта имеется мутация в изоцитратдегидрогеназе-2 (IDH2).

В изобретении также предлагается антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 21 и VL с SEQ ID NO: 22, для применения в лечении субъекта, имеющего ОМЛ, причем у субъекта имеется мутация R140Q в изоцитратдегидрогеназе-2 (IDH2).

В изобретении также предлагается антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 21 и VL с SEQ ID NO: 22, для применения в лечении субъекта, имеющего ОМЛ, причем у субъекта имеется мутация в ДНК-(цитозин-5)-метилтрансферазе-3 (DNMT3A).

В изобретении также предлагается антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 21 и VL с SEQ ID NO: 22 для применения в лечении субъекта, имеющего ОМЛ, причем у субъекта имеется мутация R882H в ДНК-(цитозин-5)-метилтрансферазе-3 (DNMT3A).

#### Введение/фармацевтические композиции

В способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления антитела к CD38 могут быть предложены в приемлемых фармацевтических композициях, содержащих антитело к CD38 и фармацевтически приемлемый носитель. Носитель может представлять собой разбавитель, адъювант, эксципиент или несущую среду, с которыми вводят антитело к CD38. Такие носители могут представлять собой жидкости, такие как вода и масла, включая получаемые из нефти, масла животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и т.п. Например, можно применять 0,4% солевой раствор и 0,3% раствор глицина. Эти растворы стерильны и по существу не содержат твердых частиц. Их можно стерилизовать с применением хорошо известных стандартных методик стерилизации (например, фильтрации). Композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, необходимые для приближения к физиологическим условиям, такие как агенты, регулирующие pH, и буферные агенты, стабилизаторы, загустители, смазывающие агенты, красители и т.д. Концентрация молекул или антител изобретения в таком фармацевтическом составе может значительно варьироваться, т.е. от менее чем около 0,5, обычно по меньшей мере до около 1 и до 15 или 20 мас.%, и будет преимущественно выбираться на основании необходимой дозы, объемов текучей среды, значений вязкости и т.д. в соответствии с конкретным выбранным способом введения. Приемлемые несущие среды и составы, включая другие человеческие белки, например сывороточный альбумин человека, описаны, например, в публикации Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21<sup>st</sup> Edition, Troy, D.B. ed., Lipincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA 2006, Part 5, Pharmaceutical Manufacturing pp 691-1092, см., в особенности pp. 958-989.

Способом введения антитела к CD38 в способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления может быть любой приемлемый путь, такой как парентеральное введение, например внутривенное, внутримышечное, интраперитонеальное, внутривенное или подкожное, через легкие, через слизистые (пероральное, интраназальное, интравагинальное, ректальное) или другие известные специалистам способы, как хорошо известно в данной области.

Антитело к CD38 в способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления можно вводить пациенту любым приемлемым путем, например парентерально посредством внутривенной (в/в) инфузии или болюсной инъекции, внутримышечно, или подкожно, или интраперитонеально. В/в инфузия может осуществляться, например, в течение 15, 30, 60, 90, 120, 180 или 240 мин или от 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 ч.

Доза, вводимая пациенту с ОМЛ, является достаточной для ослабления или, по меньшей мере, частичной задержки заболевания, лечение которого осуществляется ("терапевтически эффективное количество"), и может иногда составлять от 0,005 мг до около 100 мг/кг, например от около 0,05 мг до около 30 мг/кг, или от около 5 до около 25 мг/кг, или около 4 мг/кг, около 8 мг/кг, около 16 мг/кг, или около 24 мг/кг, или, например, около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 мг/кг, но может быть даже выше, например, около 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или 100 мг/кг.

Также можно вводить фиксированную стандартную дозу, например 50, 100, 200, 500 или 1000 мг, или доза может быть основана на площади поверхности тела пациента, например 500, 400, 300, 250, 200 или 100 мг/м<sup>2</sup>. Для лечения ОМЛ обычно можно вводить от 1 до 8 доз (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8),

но можно вводить и 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более доз.

Введение антитела к CD38 в способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления можно повторять через одни сутки, двое суток, трое суток, четверо суток, пять суток, шесть суток, одну неделю, две недели, три недели, один месяц, пять недель, шесть недель, семь недель, два месяца, три месяца, четыре месяца, пять месяцев, шесть месяцев или более. Также возможны повторные курсы лечения в виде длительного введения. Повторное введение можно проводить в той же дозе или в другой дозе. Например, антитело к CD38 в способах изобретения можно вводить в дозе 8 или 16 мг/кг с недельным интервалом в течение 8 недель с последующим введением в дозе 8 или 16 мг/кг каждые две недели в течение дополнительных 16 недель, с последующим введением в дозе 8 или 16 мг/кг каждые четыре недели путем внутривенной инфузии.

Антитела к CD38 в способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления можно вводить путем поддерживающей терапии, такой как, например, один раз в неделю в течение периода 6 месяцев или более.

Например, антитела к CD38 в способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления можно вводить в виде суточной дозы в количестве около 0,1-100 мг/кг, например, 0,5, 0,9, 1,0, 1,1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 или 100 мг/кг в сутки, по меньшей мере в одни из суток 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40, или альтернативно по меньшей мере в одну из недель 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 после начала лечения, или в любой их комбинации с применением однократной или разделенных доз каждые 24, 12, 8, 6, 4 или 2 ч, или в любой их комбинации.

Антитела к CD38 в способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления можно также вводить профилактически, чтобы снизить риск развития рака, отложить начало возникновения события в ходе прогрессирования рака и/или снизить риск рецидива в случае ремиссии рака. Это может быть особенно полезно для пациентов, у которых сложно локализовать опухоль, наличие которой установлено на основании других биологических факторов.

Антитело к CD38 в способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления может быть лиофилизировано для хранения, и перед применением его можно растворить в приемлемом носителе. Было показано, что эта методика эффективна для стандартных белковых препаратов, и можно использовать хорошо известные методики лиофилизации и восстановления.

Антитело к CD38 в способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления можно вводить в комбинации с полностью транс-ретиноевой кислотой (ATRA).

ATRA может быть обеспечена в дозе 45 мг/м<sup>2</sup>/сутки п/о или 25 мг/м<sup>2</sup>/сутки п/о.

Антитело к CD38 в способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления можно вводить в комбинации с дакогеном.

Дакоген можно вводить в течение минимум 4 циклов, повторяемых каждые 6 недель в дозе 15 мг/м<sup>2</sup> в/в в течение 3 ч, повторяя дозу каждые 8 ч в течение 3 суток. В альтернативном варианте осуществления дакоген можно вводить в дозе 20 мг/м<sup>2</sup> в/в в течение 1 ч, повторяя ежедневно в течение 5 дней, и цикл повторяется каждые 4 недели.

Антитело к CD38 в способах изобретения, описанных в настоящем документе, и в некоторых вариантах осуществления из всех без исключения перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления можно вводить в комбинации с цитарабином и доксорубицином.

Цитарабин можно вводить в дозе 2-3 г/м<sup>2</sup> в/в в течение 1-3 ч каждые 12 ч вплоть до 12 доз.

Доксорубицин можно вводить в дозе 40-60 мг/м<sup>2</sup> в/в каждые 21-28 дней или в дозе от 60 до 75 мг/м<sup>2</sup> в/в каждый 21 день.

Антитело к CD38 можно вводить вместе с любой формой радиационной терапии, включая внешнее направленное излучение, радиационную терапию с модуляцией интенсивности (IMRT), а также любой формой радиохирургии, включая гамма-нож, кибер-нож, Linac и внутритканевое облучение (например, имплантированные радиоактивные зерна, баллон GliSite), и/или с хирургическим лечением.

Хотя изобретение описано в общих чертах, варианты осуществления изобретения будут дополнительно описаны в следующих примерах, которые не следует толковать как ограничивающие объем формулы изобретения.

#### **Дополнительные варианты осуществления изобретения**

Ниже изложены некоторые дополнительные варианты осуществления изобретения в соответствии с описаниями, представленными в других частях настоящего документа. Элементы из вариантов осуществ-



вления изобретения, изложенных выше, описанные как связанные с изобретением, раскрытым в настоящем документе, также относятся ко всем без исключения из этих дополнительно пронумерованных вариантов осуществления.

1. Антитело к CD38 для применения в лечении субъекта, имеющего острый миелолейкоз (ОМЛ).
2. Антитело к CD38 для применения в лечении субъекта, имеющего ОМЛ, в комбинации со вторым терапевтическим агентом, причем второй терапевтический агент:
  - а) необязательно представляет собой цитарабин, даунорубин, идарубин, митоксантрон, гидроксимочевину, децитабин, кладрибин, флударабин, топотекан, этопозид, 6-тиогуанин, кортикостероид, преднизон, дексаметазон, метотрексат, 6-меркаптопурин, азациитидин, триоксид мышьяка или полностью транс-ретиноевую кислоту; и/или
  - б) увеличивает поверхностную экспрессию CD38.
3. Комбинация антитела к CD38 и полностью транс-ретиноевой кислоты для применения в лечении субъекта, имеющего ОМЛ.
4. Комбинация антитела к CD38 и децитабина для применения в лечении субъекта, имеющего ОМЛ.
5. Комбинация антитела к CD38 и цитарабина и/или доксорубина для применения в лечении субъекта, имеющего ОМЛ.
6. Антитело к CD38 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1 или 2 или комбинация в соответствии с вариантами осуществления 3-5, причем антитело к CD38 конкурирует за связывание с CD38 с антителом, содержащим вариabельную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 4 и вариabельную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 5.
7. Антитело к CD38 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, 2 или 6 или комбинация в соответствии с вариантами осуществления 3-6, причем антитело к CD38 индуцирует уничтожение клеток ОМЛ, экспрессирующих CD38, посредством апоптоза.
8. Антитело к CD38 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, 2, 6 или 7 или комбинация в соответствии с вариантом осуществления 3-7, причем антитело к CD38 связывается с областью SKRNIQFSCCKNIYR (SEQ ID NO: 2) и областью EKVQTLEAWVINGG (SEQ ID NO: 3) человеческого CD38 (SEQ ID NO: 1).
9. Антитело к CD38 для применения в соответствии с вариантами осуществления 1, 2, 6-8 или комбинация в соответствии с вариантами осуществления 3-8, причем антитело к CD38:
  - а) относится к изотипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4;
  - б) имеет 2-антенарную гликановую структуру с содержанием фукозы около 50, 40, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 или 0%; или
  - в) содержит замену в Fc антитела в положениях аминокислот 256, 290, 298, 312, 356, 330, 333, 334, 360, 378 или 430 при нумерации остатков в соответствии с EU-индексом.
10. Антитело к CD38 для применения в соответствии с вариантами осуществления 1, 2, 6-9 или комбинация в соответствии с вариантами осуществления 3-9, причем антитело к CD38 содержит:
  - а) последовательности определяющих комплементарность областей тяжелой цепи (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) и 3 (HCDR3) с SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно;
  - б) последовательности определяющих комплементарность областей легкой цепи (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) и 3 (LCDR3) с SEQ ID NO: 9, 10 и 11 соответственно;
  - в) последовательности HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 6, 7, 8, 9, 10 и 11 соответственно;
  - д) вариabельную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 4 и вариabельную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 5;
  - е) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности SEQ ID NO: 12, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности SEQ ID NO: 13; или
  - ф) тяжелую цепь с SEQ ID NO: 12 и легкую цепь с SEQ ID NO: 13.
11. Антитело к CD38 для применения в соответствии с вариантами осуществления 1, 2, 6-10 или комбинация в соответствии с вариантами осуществления 3-10, причем ОМЛ представляет собой ОМЛ по меньшей мере с одной генетической аномалией, ОМЛ с мультилинейной дисплазией, связанный с терапией ОМЛ, недифференцированный ОМЛ, ОМЛ с минимальным созреванием, ОМЛ с созреванием, острый миеломоноцитарный лейкоз, острый моноцитарный лейкоз, острый эритроидный лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, острый базофильный лейкоз, острый панмиелоз с фиброзом или миелоидную саркому.
12. Антитело к CD38 для применения в соответствии с вариантами осуществления 1, 2, 6-11 или комбинация в соответствии с вариантами осуществления 3-11, причем антитело к CD38 вводят для индуцирования ремиссии, после ремиссии или в качестве поддерживающей терапии.
13. Антитело к CD38 для применения в соответствии с вариантами осуществления 1, 2, 6-12 или комбинация в соответствии с вариантами осуществления 3-12, причем по меньшей мере одной генетической аномалией является транслокация между хромосомами 8 и 21, транслокация или инверсия в хромосоме 16, транслокация между хромосомами 15 и 17, изменения в хромосоме 11 или мутация связанной с

FMS тирозинкиназы-3 (FLT3), нуклеофосмина (NPM1), изоцитратдегидрогеназы-1 (IDH1), изоцитратдегидрогеназы-2 (IDH2), ДНК-(цитозин-5)-метилтрансферазы-3 (DNMT3A), ССААТ/энхансер-связывающего белка альфа (СЕВРА), вспомогательного фактора-1 U2 малой ядерной РНК (U2AF1), энхансера белка Zeste 2 субъединицы ингибиторного комплекса-2 polycomb (EZH2), структурного сохранения хромосом 1A (SMC1A) или структурного сохранения хромосом 3 (SMC3).

14. Антитело к CD38 для применения в соответствии с вариантом осуществления 1, 2, 6-13 или комбинация в соответствии с вариантами осуществления 3-13, причем, по меньшей мере, одной генетической аномалией является транслокация t(8; 21)(q22; q22), инверсия inv(16) (p13; q22), транслокация t(16; 16) (p13; q22), транслокация t(15; 17)(q22; q12), мутация FLT3-ITD, мутации R132H или R100Q/R104V/F108L/R119Q/I130V в IDH1 или мутации R140Q или R172 в IDH2.

15. Антитело к CD38 для применения в соответствии с вариантами осуществления 1, 2, 6-14 или комбинация в соответствии с вариантами осуществления 3-14, причем антитело к CD38 и по меньшей мере один терапевтический агент вводят одновременно, последовательно или отдельно.

16. Антитело к CD38 для применения в соответствии с вариантами осуществления 1, 2, 6-15 или комбинация в соответствии с вариантами осуществления 3-15, причем

- а) субъекту дополнительно проводится или проводилось лечение с применением радиотерапии; или
- б) субъекту проводили трансплантацию гематопозитических стволовых клеток.

### Примеры

Пример 1. Эффективность даратумумаба в клеточных линиях ОМЛ. Несколько клеточных линий ОМЛ использовали для оценки поверхностной экспрессии CD38 и возможной эффективности даратумумаба для индуцирования уничтожения клеток ОМЛ. Оценивали экспрессию белков, ингибирующих комплемент (CIP) CD46, CD55 и CD59, в клеточных линиях ОМЛ, чтобы выявить возможную корреляцию между экспрессией CIP и CDC.

### Способы ADCC

Анализ ADCC *in vitro* проводили с использованием линий опухолевых клеток ОМЛ и мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) в качестве эффекторных клеток в соотношении 50:1. В лунки 96-луночного планшета с U-образным дном добавляли 100 мкл клеток-мишеней (опухолевых) ( $1 \times 10^4$  клеток). Добавляли еще 100 мкл, содержащих или не содержащих антитело, и планшеты инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре (КТ), после чего добавляли эффекторные клетки (PBMC). Затем в лунки планшетов добавляли семьдесят 5 мкл PBMC в концентрации  $6,66 \times 10^6$  клеток/мл, и планшеты инкубировали при 37°C в течение 6 ч. Планшеты центрифугировали с ускорением 250 g в течение 4 мин, удаляли по 50 мкл супернатанта из каждой лунки и определяли клеточный лизис с использованием анализа CellTiter-Glo® (Promega).

### CDC

Клетки-мишени собирали и доводили концентрацию до  $80 \times 10^4$  клеток/мл. В лунки 96-луночного планшета добавляли 12 мкл клеток-мишеней и к клеткам добавляли последовательные разбавления антител. Лунки инкубировали в течение 15 мин, после чего добавляли человеческую сыворотку с высоким содержанием комплемента с конечной концентрацией 10%. Реакционную смесь инкубировали 2 1/2 ч при 37°C и определяли клеточный лизис с использованием анализа CellTiter-Glo® (Promega).

### Апоптоз

В лунку 24-луночного планшета добавляли один мл клеток-мишеней ( $5 \times 10^5$  клеток/мл) вместе с тестируемым антителом (1 мкг/мл) в присутствии или в отсутствие антитела кролика к huIgG (10 мкг/мл; F(ab)<sub>2</sub> Fcγ-специфичное). Клетки инкубировали в течение 22 ч (5% CO<sub>2</sub>, 37°C). Затем клетки собирали (1000 об/мин, 5 мин) и дважды промывали в PBS (1000 об/мин, 5 мин). Клетки ресуспендировали в 250 мкл связывающего буфера (Annexin-V Apoptosis kit, BD Biosciences) в соответствии с инструкциями изготовителя с последующим анализом с использованием проточной цитометрии.

Апоптоз оценивали по результатам раннего и позднего апоптоза (Q2 и Q3 на фиг. 1А и фиг. 1В).

Поверхностная экспрессия CD38, CD46, CD55 и CD59

Экспрессию рецепторов анализировали с помощью проточной цитометрии. Число рецепторов CD38 на клетку оценивали с помощью набора MESF с использованием PE-меченного антитела к CD38 (R&D Systems). Число рецепторов рассчитывали следующим образом.

Специфичные MESF/ABC=MESF/ABC (тестируемое антитело) - MESF/ABC (антитело изотипического контроля).

Поверхностную экспрессию CD46, CD55 и CD59 определяли с использованием антител к человеческому CD46, PE-антител к человеческому CD55 и PE-антител к человеческому CD59 (Beckton Dickinson) с ФИТЦ, которая выражалась как средняя интенсивность флуоресценции (СИФ).

### Результаты

В табл. 1 показаны результаты экспериментов. На фиг. 1 показаны репрезентативные результаты проточной цитометрии индуцированного даратумумабом апоптоза в клеточной линии NB-4 без (фиг. 1А) или в присутствии (фиг. 1В) связывающего антитела. В этой линии клеток даратумумаб индуцировал апоптоз в аналогичной степени независимо от присутствия сшивающего агента (19,2% в сравнении с

18,3%).

В линиях клеток ОМЛ даратумумаб не индуцировал значимой ADCC или CDC; напротив, даратумумаб индуцировал уничтожение клеток ОМЛ посредством апоптоза. Кроме того, не отмечалось никакой прямой корреляции между экспрессией CD38 и степенью ADCC и CDC. Оценивали уровни белков, ингибирующих комплемент (CIP) (CD46, CD55 и CD59), чтобы определить, влияют ли перечисленные белки на CDC в ответ на даратумумаб, но не отмечалась никакой прямой корреляции между CDC и экспрессией CIP.

Таблица 1

Клеточная линия	CD38 кол-во/клетка	СИФ CD46	СИФ CD55	СИФ CD59	Апоптоз	CDC	ADCC
HL-60	64,50	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ
Kasumi-1	120,2	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ
ML-2	1253,27	21,53	195,2	0,98	5%	0%	6,30%
MO1M-13	5634,29	35,53	173,2	9,45	10-15%	0%	9,40%
MO1M-16	52 461,11	42,18	886,4	350,42	20-30%	5%	18,20%
MV-4-11	5700,05	207,17	395,42	43,94	10-12%	0%	2,30%
NB4	9370,73	58,25	345,4	66,2	18%	4%	18,30%
THP-1	39 488,19	58,7	375	27,1	5-7%	5%	11,30%
НВ=не выполняли							
СИФ: средняя интенсивность флуоресценции							

Пример 2. ATRA индуцирует экспрессию CD38 на клетках ОМЛ.

Влияние ATRA на поверхностную экспрессию CD38 оценивали в линии клеток ОМЛ NB-4. Опухолевые клетки инкубировали при 37°C в течение 24 ч в присутствии или в отсутствие 10 нМ или 100 нМ ATRA. Через 24 ч инкубирования клетки собирали и окрашивали для выявления CD38. ATRA индуцировала ~10-кратное увеличение рецепторов CD38 в линии клеток NB-4. Поверхностную экспрессию CD38 оценивали с помощью FACS с использованием PE-меченного антитела к CD38 (R&D Systems) (табл. 2).

Таблица 2

Обработка	PE-CD38 молекул/клетка
DMSO	17 238
10 нМ ATRA	185 737
100 нМ ATRA	210 570

Пример 3. Эффективность даратумумаба в моделях полученных от пациента ксенотрансплантатов (PDX).

#### Способы

В исследовании использовали модели полученных от пациента опухолей ОМЛ 3406, ОМЛ 757 7 и ОМЛ 8096.

Модель ОМЛ 3406. Опухолевые клетки пациента были положительными на FLT-3ITD. В анамнезе пациента была истинная полицитемия, и пациент получал идарубин/цитарабин в качестве индукционной химиотерапии. Пациент также получал Hudrea® (гидроксимочевина).

Модель ОМЛ 7577. Лейкозные клетки брали у 69-летнего мужчины с ОМЛ (FAB подтип M5). У пациента был нормальный кариотип и следующие мутации: IDH2(R140Q); FLT3-ITD; DNMT3A R882H,

NPM1, вставка СЕВРА (SNP). В анамнезе пациента была истинная полицитемия, и пациент получал ида-рубицин/цитарабин в качестве индукционной химиотерапии. Пациент также получал Hudrea® (гидро-ксимочевина).

Модель ОМЛ 8096. Лейкозные клетки брали у 21-летнего мужчины с ОМЛ (FAB подтип М2). Число лейкоцитов составляло  $20 \times 10^9/\text{л}$ , 70% из них были бластными клетками. У пациента был нормальный кариотип с TP53, FLT3, NPM1 дикого типа и вставкой 570-587, 3GCACCC>4GCACCC в экзоне 1 СЕВРА. В анамнезе пациента была истинная полицитемия, и пациент получал ида-рубицин/цитарабин в качестве индукционной химиотерапии. Пациент также получал Hudrea® (гидро-ксимочевина). 5 млн моноцитов (MNC) ОМЛ отделяли от Т-клеток и трансплантировали через хвостовую вену сублетально облученных мышей NSG в возрасте 6-8 недель (n=10 на группу). Через 4-6 недель после трансплантации брали аспираты костного мозга у каждой мыши, и анализировали их с использованием проточной цитометрии, чтобы определить уровень приживления трансплантата лейкоза (% человеческих клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup>). По уровню приживления трансплантата мышей рандомизировали и кондиционировали введением либо IgG1, либо даратумумаба (DARA, предварительная дозировка 0,5 мг/кг). Через 24 ч мышей распределяли в группу без лечения (Контроль) или в группу, получавшую в течение 5 последовательных недель DARA или IgG1 по отдельности (в/б, 10 мг/кг раз в неделю). Через 2-3 дня после последнего введения мышей умерщвляли и брали для анализа костный мозг, селезенку, периферическую кровь и плазму. Проводили проточную цитометрию, чтобы оценить процент человеческих клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup> в BM, SPL и PB от 3 пациентов с ОМЛ, трансплантированных мышам NSG (модель ОМЛ 3406: фиг. 2А; модель ОМЛ 7577: фиг. 2В, модель ОМЛ 8096: фиг. 2С) и абсолютное число человеческих клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup> в костном мозге (фиг. 3А), селезенке (фиг. 3В) и периферической крови (фиг. 3С) одного из репрезентативных пациентов с ОМЛ.

#### Результаты

На фиг. 2А, 2В и 2С показана эффективность даратумумаба в модели ОМЛ 3406, модели ОМЛ 7577 и модели ОМЛ 8096 соответственно, оцениваемая по снижению процента лейкозных клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup> в костном мозге, селезенке или периферической крови. Даратумумаб снижал опухолевую нагрузку в селезенке и периферической крови в модели ОМЛ 3406 (фиг. 2А), в периферической крови в модели ОМЛ 7577 (фиг. 2В) и в селезенке в модели ОМЛ 8096 (фиг. 2С).

Эффективность даратумумаба также оценивалась по измерению индуцированного даратумумабом снижения общей опухолевой нагрузки в костном мозге (фиг. 3А), селезенке (фиг. 3В) и крови (фиг. 3С) в модели ОМЛ 3406. Даратумумаб значительно снижал общую опухолевую нагрузку в модели ОМЛ 3406 в селезенке (фиг. 3В) и периферической крови (фиг. 3С).

Пример 4. Воздействие даратумумаба на экспрессию CD38 на бластах ОМЛ.

Воздействие даратумумаба на экспрессию CD38 на лейкобластах оценивали в одной репрезентативной модели ОМЛ, описанной в примере 3, через 5 недель после лечения даратумумабом или изотипическим контролем с использованием PE-меченного антитела к CD38 (R&D Systems).

#### Результаты

На фиг. 4А показано, что лечение даратумумабом снижало экспрессию CD38 на лейкобластах (CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup>-положительные клетки) в костном мозге, селезенке и периферической крови. На фиг. 4В показано, что процент CD38-положительных ОМЛ бластов снижался через 5 недель лечения.

Пример 5. Эффективность комбинированной терапии с даратумумабом в моделях полученного от пациента ксенотрансплантата (PDX).

Эффективность даратумумаба в комбинации с дакогеном или цитарабином и доксорубицином оценивали через 5 недель лечения.

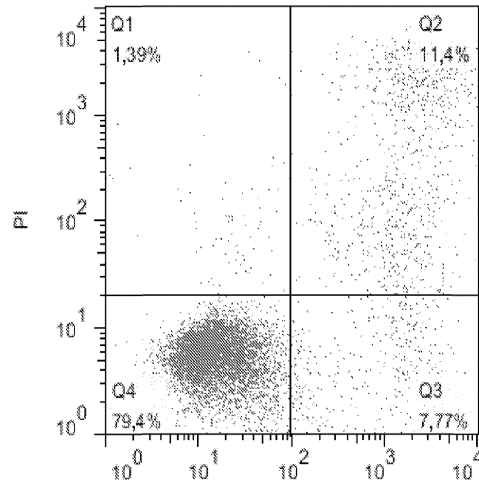
5 млн моноцитов (MNC) ОМЛ отделяли от Т-клеток и трансплантировали через хвостовую вену мышей NSG в возрасте 6-8 недель (n=10 на группу). Через 4-6 недель после трансплантации брали аспираты костного мозга у каждой мыши и анализировали их с использованием проточной цитометрии, чтобы определить уровень приживления трансплантата лейкоза (процент человеческих клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup>). По уровню приживления трансплантата мышей равномерно рандомизировали и кондиционировали введением либо IgG1, либо DARA (предварительная дозировка 0,5 мг/кг). Через 24 ч мышам вводили только IgG1 (в/б 10 мг/кг) один раз в неделю в течение пяти недель, только DARA (в/б 10 мг/кг) один раз в неделю в течение пяти недель, только децитабин (DAC) (0,5 мг/кг/сутки в/б в течение 3 последовательных дней) в течение 5 недель, DAC+DARA (каждая неделя будет включать 3 последовательных дня DAC с введением DARA через 2 дня), комбинацию цитарабина (в/в 50 мг/кг) и доксорубицина (в/в 1,5 мг/кг) (3 последовательных дня доксорубицина (в/в 1,5 мг/кг) плюс цитарабин (50 мг/кг) в течение 3 дней) с DARA или без. Через 2-3 дня после последнего введения мышей умерщвляли и брали для анализа костный мозг, селезенку, периферическую кровь и плазму. Проводили проточную цитометрию, чтобы оценить процент человеческих клеток CD45<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup> в костном мозге (фиг. 5А), селезенке (фиг. 5В) и периферической крови (фиг. 5С) трансплантата одного пациента с ОМЛ, имплантированного мышам NSG.

Экспрессию CD38 (выражаемую как средняя интенсивность флуоресценции, СИФ) оценивали для костного мозга (фиг. 6А), селезенки (фиг. 6В) и периферической крови (фиг. 6С) через 5 недель после

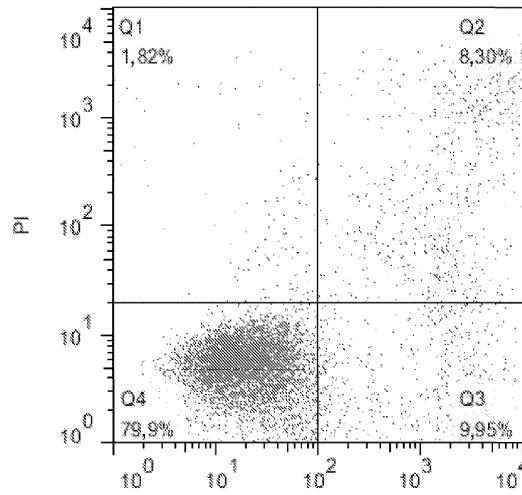
лечения указанными лекарственными средствами.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

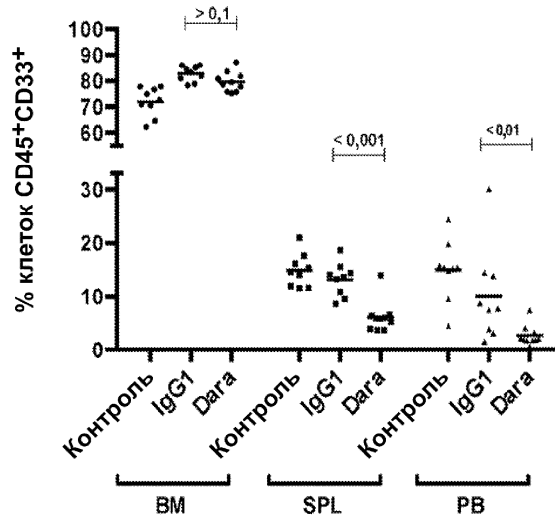
1. Способ лечения больного с рефрактерным или рецидивирующим острым миелолейкозом (ОМЛ), включающий введение больному антитела к CD38, содержащего области, определяющие комплементарность, тяжелой цепи (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) и 3 (HCDR3) с последовательностями 6, 7 и 8 соответственно и области, определяющие комплементарность, легкой цепи (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) и 3 (LCDR3) с последовательностями 9, 10 и 11 соответственно, в течение времени, достаточного для лечения рефрактерного или рецидивирующего ОМЛ, где больной получал лечение идарубицином, цитарабином или гидроксимочевинной.
2. Способ по п.1, в котором антитело к CD38 индуцирует уничтожение клеток ОМЛ, экспрессирующих CD38, посредством апоптоза.
3. Способ по п.1 или 2, в котором антитело к CD38 относится к изотипу IgG1.
4. Способ по п.1, в котором антитело к CD38 содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO:4 и вариабельную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO:5.
5. Способ по п.4, в котором антитело к CD38 содержит тяжелую цепь с SEQ ID NO:12 и легкую цепь с SEQ ID NO:13.
6. Способ по любому из пп.1-5, в котором рефрактерный или рецидивирующий ОМЛ представляет собой ОМЛ по меньшей мере с одной генетической аномалией, ОМЛ, связанный с лечением, или оба варианта одновременно.
7. Способ по п.6, в котором по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой мутацию в
  - fms-связанной тирозинкиназе-3 (FLT3),
  - нуклеофосмине 1 (NPM1),
  - ДНК-(цитозин-5)метилтрансферазе-3А (DNMT3A) или
  - ССААТ/энхансер-связывающем белке-альфа (СЕВРА).
8. Способ по п.6, в котором по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой мутацию FLT3-ITD или мутацию R140Q в IDH2.
9. Способ по любому из пп.1-8, в котором антитело к CD38 вводят для индукции ремиссии, после ремиссии или в качестве поддерживающей терапии.
10. Способ по любому из пп.1-9, в котором антитело к CD38 вводят в комбинации по меньшей мере с одним вторым терапевтическим агентом, выбранным из группы, состоящей из цитарабина, даунорубицина, идарубицина, митоксантрона, гидроксимочевины, децитабина, кладрибина, флударабина, топотекана, этопозида 6-тиогуанина, кортикостероида, преднизона, дексаметазона, метотрексата, 6-меркаптопурина, азациитидина, триоксида мышьяка или полностью транс-ретиноевой кислоты.
11. Способ по п.10, в котором по меньшей мере один второй терапевтический агент представляет собой полностью транс-ретиноевую кислоту, цитарабин, децитабин или доксорубин.
12. Способ по любому из пп.10 или 11, в котором антитело к CD38 и по меньшей мере один второй терапевтический агент вводят одновременно или последовательно.
13. Способ по любому из пп.10-12, в котором по меньшей мере один второй терапевтический агент увеличивает поверхностную экспрессию CD38 на клетках ОМЛ.
14. Способ по любому из пп.9-13, в котором больного дополнительно лечат или лечили с применением радиотерапии.
15. Способ по любому из пп.9-14, в котором больному проводят трансплантацию гематопозитических стволовых клеток (HSCT).
16. Способ по п.15, в котором HSCT является аллогенной, аутологической или изогенной.
17. Способ по п.16, в котором HSCT включает трансплантацию стволовых клеток крови, полученных из костного мозга, крови или амниотической жидкости.



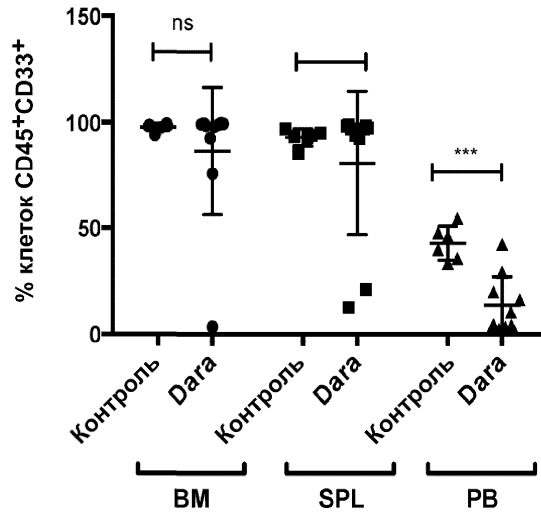
Аннексин V : ФИТЦ  
Фиг. 1А



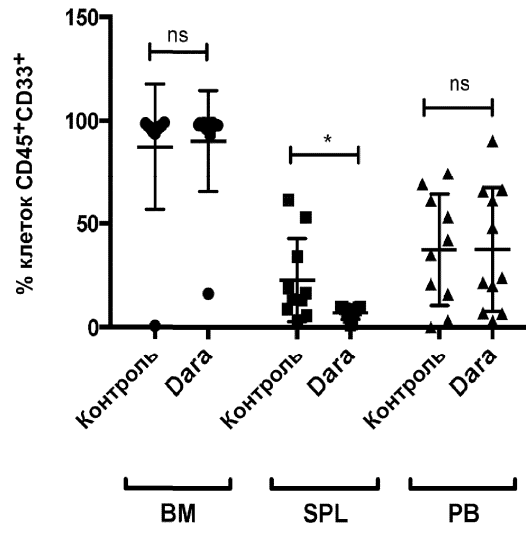
Аннексин V : ФИТЦ  
Фиг. 1В



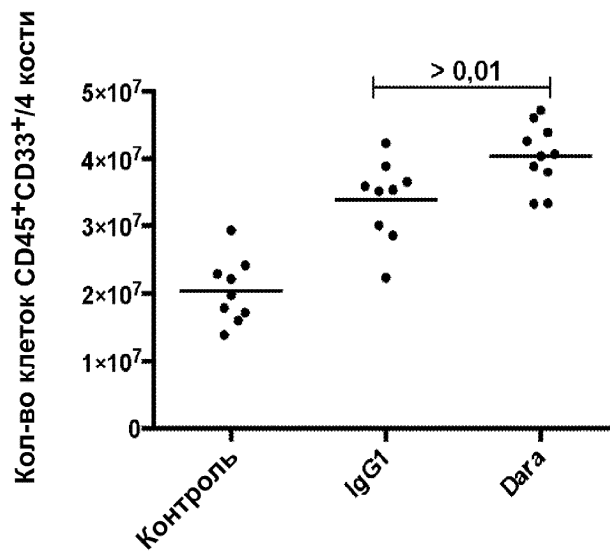
Фиг. 2А



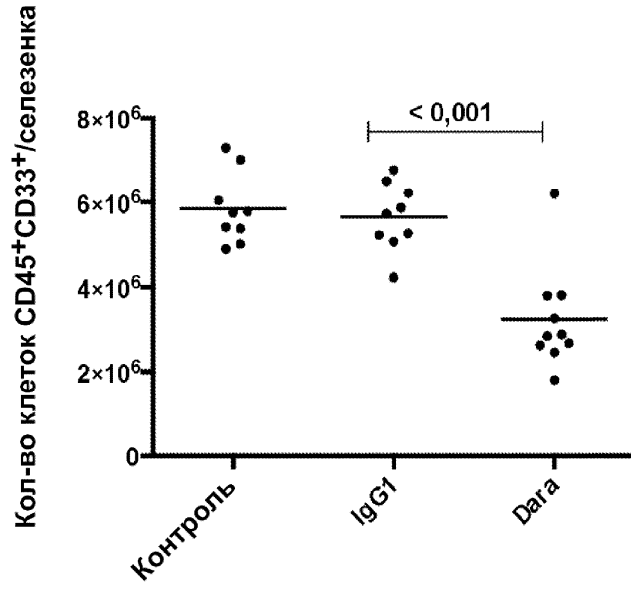
Фиг. 2В



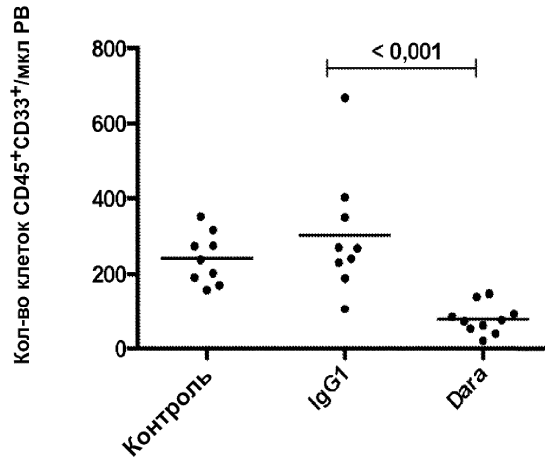
Фиг. 2С



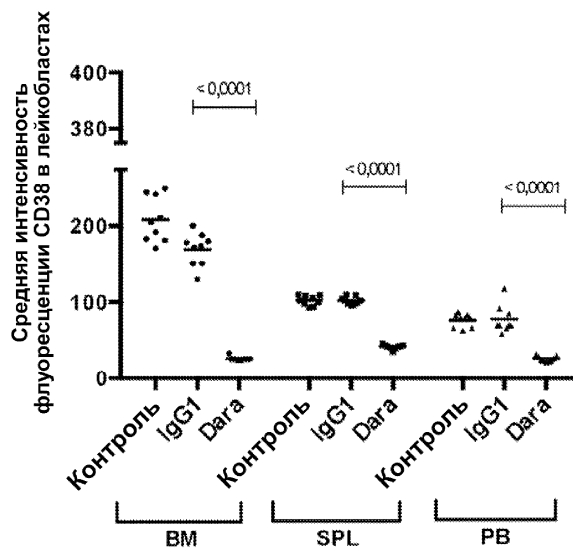
Фиг. 3А



Фиг. 3В

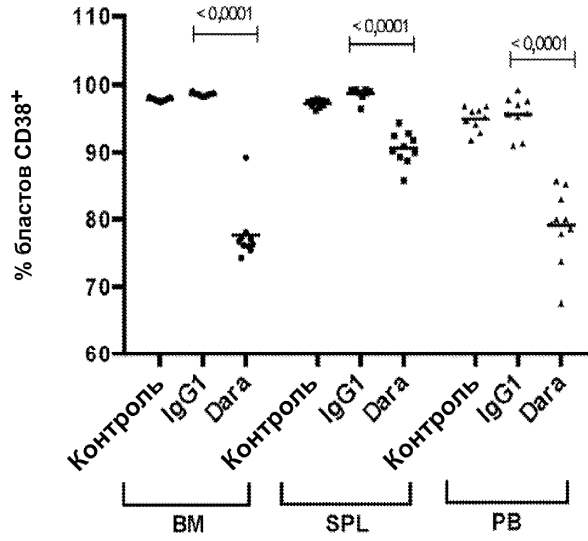


Фиг. 3С

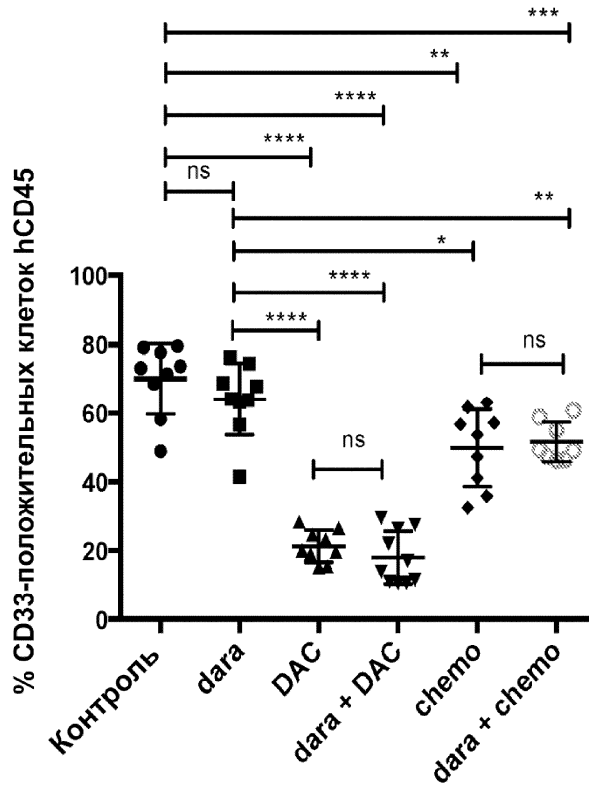


Фиг. 4А



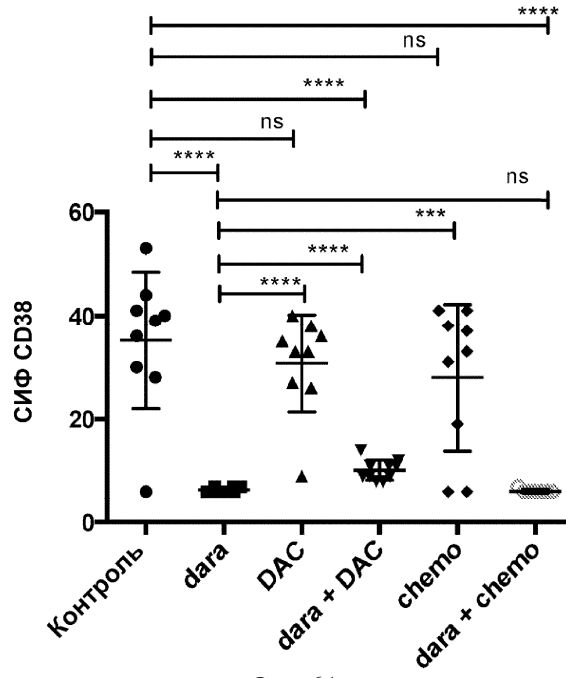


Фиг. 4В

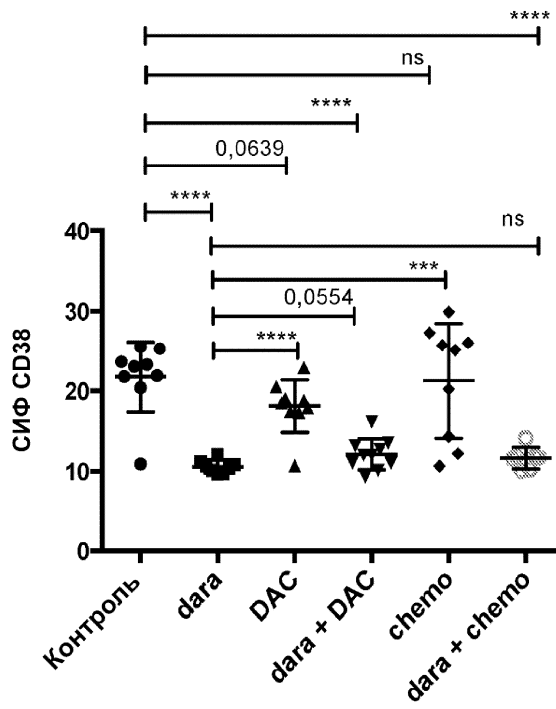


Фиг. 5А

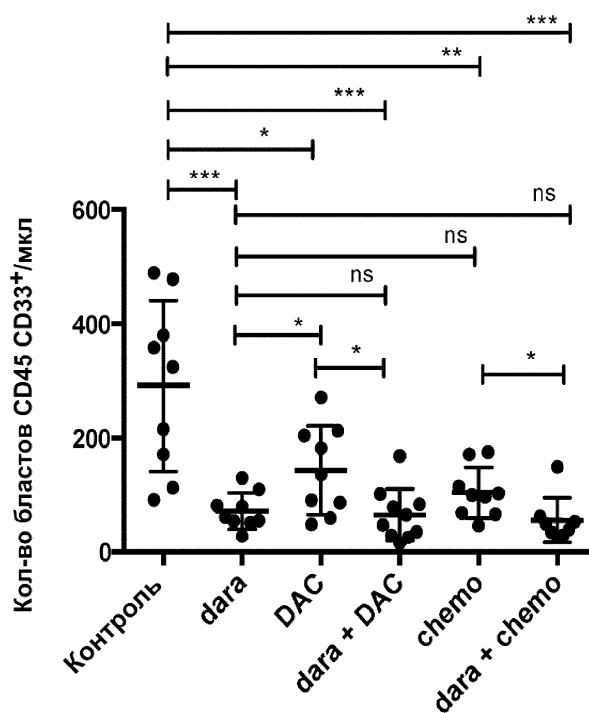




Фиг. 6А



Фиг. 6В



Фиг. 6С

