



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.07.21

(21) Номер заявки
201500019

(22) Дата подачи заявки
2012.07.31

(51) Int. Cl. **A61K 39/395** (2006.01)

(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ GD2-ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО РАКА

(31) РСТ/EP2012/061618

(32) 2012.06.18

(33) EP

(43) 2015.05.29

(86) РСТ/EP2012/064970

(87) WO 2013/189554 2013.12.27

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АПЕЙРОН БИОЛОДЖИКС АГ (AT)

(72) Изобретатель:
**Лойбнер Ханс, Шустер Манфред,
Янецк-Хавлат Эвелин, Видеркум
Сюзанн, Пабаль Бернхард, Штраннер
Штефан, Мучлехнер Оливер, Гройсс
Франц, Ладенштайн Рут (AT), Лоде
Хольгер (DE)**

(74) Представитель:
Бадаева Т.Н., Фелицына С.Б. (RU)

(56) Lode, H. and Dobke, J.: "A Phase I/II Dose Schedule Finding Study of ch14.18/CH0 Continuous Infusion Combined with Subcutaneous Aldesleukin (=Proleukin) (IL-2) in Patients with Primary Refractory or Relapsed Neuroblastoma. A SIOPEX Study", 13 June 2012 (2012-06-13), pages 1-3, XP002688973, Retrieved from the Internet: URL: http://www.kinderkrebsinfo.de/health_professionals/clinical_trials/phase_i_ii_trials_in_the_gpo/longterminfusion_study_lti_ch1418/index_eng.html [retrieved on 2012-12-10], the whole document

MURRAY JAMES L. ET AL.: "Phase I trial of murine monoclonal antibody 14G2a administered by prolonged intravenous infusion in patients with neuroectodermal tumors", JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, vol. 12, no. 1, 1994, pages 184-193, XP009165391, ISSN: 0732-183X, the whole document

ALICE L. YU ET AL.: "Anti-GD2 Antibody with GM-CSF, Interleukin-2, and Isotretinoin for Neuroblastoma", NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, vol. 363, no. 14, 30 September 2010 (2010-09-30), pages 1324-1334, XP055045834, ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJMoa0911123, the whole document

YU A.L. ET AL.: "Phase I trial of a human-Mouse chimeric anti-disialoganglioside monoclonal antibody ch14.18 in patients with refractory neuroblastoma and

osteosarcoma", JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY, US, vol. 16, no. 6, 1 June 1998 (1998-06-01), pages 2169-2180, XP008120914, ISSN: 0732-183X, the whole document

SALEH M. ET AL.: "PHASE I TRIAL OF THE MURINE MONOCLONAL ANTI-G-D-2 ANTIBODY 14G2A IN METASTATIC MELANOMA", CANCER RESEARCH, vol. 52, no. 16, 1992, pages 4342-4347, XP002688756, ISSN: 0008-5472, the whole document

JAMI D. FROST ET AL.: "A Phase I/IB trial of murine monoclonal anti-GD2 antibody 14.G2a plus interleukin-2 in children with refractory neuroblastoma", CANCER, vol. 80, no. 2, 15 July 1997 (1997-07-15), pages 317-333, XP055045923, ISSN: 0008-543X, DOI: 10.1002/(SICI)1097-0142(19970715)80:2<317::AID-CNCR21>3.0.CO;2-W, the whole document

HANDGRETINGER R. ET AL.: "A phase I study of human/mouse chimeric antiganglioside GD2 antibody ch14.18 in patients with neuroblastoma", EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, vol. 31, no. 2, 1 January 1995 (1995-01-01), pages 261-267, XP055045925, ISSN: 0959-8049, DOI: 10.1016/0959-8049(94)00413-Y, the whole document

HANDGRETINGER R. ET AL.: "A phase I study of neuroblastoma with the anti-ganglioside GD2 antibody 14.G2a", CANCER IMMUNOLOGY AND IMMUNOTHERAPY, SPRINGER-VERLAG, BERLIN, DE, vol. 35, no. 3, 1 January 1992 (1992-01-01), pages 199-204, XP009165370, ISSN: 0340-7004, the whole document

NAVID FARIBA ET AL.: "Anti-GD2 antibody therapy for GD2-expressing tumors", CURRENT CANCER DRUG TARGETS MAR 2010, vol. 10, no. 2, March 2010 (2010-03), pages 200-209, XP002688757, ISSN: 1873-5576 the whole document

CHAMES PATRICK ET AL.: "Bispecific antibodies for cancer therapy The light at the end of the tunnel?", MABS, vol. 1, no. 6, November 2009 (2009-11), pages 539-547, XP002688758, ISSN: 1942-0862, the whole document

MUELLER B.M. ET AL.: "ENHANCEMENT OF ANTIBODY-DEPENDENT CYTOTOXICITY WITH A CHIMERIC ANTI-GD2 ANTIBODY", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, THE AMERICAN ASSOCIATION OF IMMUNOLOGISTS, US, vol. 144, no. 4, 15 February 1990 (1990-02-15), pages 1382-1386, XP002934990, ISSN: 0022-1767, the whole document

BATOVA A. ET AL.: "THE CH14.18-GM-CSF FUSION PROTEIN IS EFFECTIVE AT MEDIATING ANTIBODY-DEPENDENT CELLULAR CYTOTOXICITY AND COMPLEMENT-DEPENDENT CYTOTOXICITY IN VITRO", CLINICAL CANCER

-
- (57) Изобретение относится к способу лечения GD2-положительного рака путем введения больному препарата, содержащего антитело ch14.18 в суточной дозе 1-25 мг/м² в режиме непрерывной внутривенной инфузии 24 ч в сутки в дозе 50-150 мг/м²/цикл, где препарат вводят пациенту на протяжении 4, 10, 14, 15 или 21 суток подряд. Подобная схема введения обладает благоприятным эффектом при противораковой терапии и, кроме того, снижает побочный эффект боли, возникающий от введения антитела против GD2. Благодаря этому можно значительно сократить или даже прекратить введение морфина или других обезболивающих средств в процессе лечения.

Область техники, к которой относится изобретение

Данное изобретение относится к способу лечения GD2-положительного рака препаратом, содержащим антитела против GD2, который вводят больному путем непрерывного внутривенного вливания на протяжении 24 ч в сутки.

Уровень техники

Среди раковых поражений мозга у детей в возрасте до пяти лет наиболее часто встречающейся солидной опухолью является нейробластома. При нейробластоме высокого риска более чем у половины больных, получавших стандартное лечение, возникает рецидив, и они умирают. В 90% случаев это заболевание случается в возрасте до шести лет. В промышленно развитых странах заболеваемость нейробластомой составляет около 2000 случаев в год.

В последнее время в онкологии все больше используются моноклональные антитела против специфических антигенов. Они действуют совершенно иначе, нежели цитотоксические агенты, в связи с чем стали ценным терапевтическим средством, что демонстрирует пример первых таких препаратов - трастузумаба, цетуксимаба, бевацизумаба, ритуксимаба и др. Дисиалоганглиозид GD2 - это гликофинголипид, который экспрессируется преимущественно на клеточной поверхности. Экспрессия GD2 в нормальных тканях встречается редко, главным образом в центральной нервной системе, в периферических нервах и в меланоцитах. Что касается раковых клеток, то GD2 равномерно экспрессируется в нейробластомах и в большинстве меланом, а также в различной степени в саркомах костной и мягких тканей, мелкоочечных раковых опухолях легких, почечноочечных карциномах и в опухолях мозга (Navid et al., Curr Cancer Drug Targets, 2010). Благодаря относительно избирательной экспрессии в опухолях и локализации на клеточной поверхности GD2 представляет хорошую мишень для противораковой иммунотерапии на основе антител.

Поэтому предприняты доклинические и клинические исследования эффекта ряда антител против GD2 в отношении нейробластом, меланом и других раковых заболеваний, ассоциированных с GD2.

APN311 - это препарат химерных моноклональных антител против GD2 ch14.18, получаемых рекомбинантным путем в клетках яичника китайского хомячка (CHO), которые служат стандартной линией клеток млекопитающих для получения антител на продажу. На первой фазе клинических исследований у больных с рецидивной/рефрактерной нейробластомой при использовании этих антител в качестве единственного терапевтического агента достигалась ремиссия. В 2006 г. Международное общество детской онкологии в Европе (SIOPEN) начало третью фазу клинических испытаний, включающую лечение с использованием APN311; в настоящее время изучается эффект этого препарата в отношении бессобытийной и общей выживаемости при использовании APN311 вместе с изотретиноином (цис-ретиноевой кислотой), в сочетании с подкожным введением интерлейкина-2 (IL-2) и без него. В сходном исследовании, проведенном в США, для лечения использовали вместе четыре средства, а именно соответствующие антитела, полученные в мышинных гибридах SP2/0, вводимый внутривенно интерлейкин-2 (IL-2), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) и изотретиноин, в результате чего наблюдалось улучшение выживаемости у детей с нейробластомой, причем после начальной терапии достигалась полная ремиссия и отсутствие проявлений заболевания.

APN301 - это препарат иммуноцитокина, содержащего гуманизированное антитело против GD2 (hu14.18) и интерлейкин-2 (IL-2), образующих слитый белок. Его антителная часть специфично связывается с антигеном GD2, который интенсивно экспрессируется при нейробластоме и ряде других раковых заболеваний. Цитокин IL-2 мобилизует множество различных эффекторных иммунных клеток. У больных с нейробластомой APN301 за счет своего антителного компонента должен находить GD2-положительные опухолевые клетки. Затем слитый с антителом IL-2 стимулирует реакцию иммунной системы организма больного, направленную против опухоли, путем активации NK-клеток и Т-лимфоцитов, в то время как Fc-часть антитела инициирует уничтожение опухолевых клеток по механизмам антитело-зависимой цитотоксичности (ADCC), и комплемент-зависимой цитотоксичности (CDC). Активность этого иммуноцитокина была продемонстрирована на второй фазе клинического исследования, в котором участвовали дети с рецидивной/рефрактерной нейробластомой (Shusterman et al.; JCO 2010), а также проверялась на первой/второй фазах исследования применительно к поздней стадии злокачественной меланомы; в этих исследованиях наблюдалась активация иммунной системы.

Исследуются и разрабатываются и другие антитела против GD2, в числе которых, например моноклональные антитела 3F8 (мышинные - на второй фазе клинических исследований, гуманизированные - на первой) и 8B6 (специфичные к О-ацетилованному GD2, доклинические исследования). Также изучались в качестве потенциальных противоопухолевых вакцин антиидиотипические антитела, например 4B5, 1A7 и A1G4, однако от их дальнейшей разработки, по-видимому, отказались. В публикации WO 2008/049643 описываются антиидиотипические антитела, имитирующие эпитопы GD2 (GD2-мимотопы).

Другой вариант антител 14.18 против GD2 - это hu14.18K322A, описанные в публикации WO 2005/070967; у этих антител имеется точечная мутация в области Fc, чтобы ослабить комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC), но сохранить антитело-зависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (ADCC), например, путем экспрессии в клетках линии, подходящей для усиления ADCC,

например YB2/0. Считается, что ослабление CDC приводит к ослаблению боли, связанной с введением антител.

Противоопухолевая активность антител обычно осуществляется путем комплемент-зависимой цитотоксичности (CDC или фиксация комплемента) либо путем антитело-зависимой клеточноопосредованной цитотоксичности (ADCC). Эти две активности принято называть эффекторными функциями; они опосредуются антителами, в частности иммуноглобулинами класса G. Все подклассы IgG, кроме IgG4 (IgG1, IgG2, IgG3), опосредуют ADCC и в некоторой степени фиксацию комплемента, причем IgG1 и IgG3 обладают наибольшей активностью этих двух функций. Считается, что ADCC имеет место, когда рецепторы Fc на NK-клетках и/или другие клетки иммунной системы, несущие рецепторы Fc (эффекторные клетки), связываются с областью Fc антител, образовавших комплекс с антигеном на клеточной поверхности. Связывание с рецептором Fc подает сигнал эффекторной клетке к уничтожению клетки-мишени. Предполагается, что комплемент-зависимая цитотоксичность (CDC), осуществляется посредством многих механизмов; один из этих механизмов приходит в действие, когда антитело связывается с антигеном на клеточной поверхности. Как только образовался комплекс антиген-антитело, с ним связывается компонент C1q, который затем расщепляется, иницируя каскад ферментативной активации и расщепления других белков комплемента, а те связываются с поверхностью клетки-мишени и способствуют ее гибели путем, например, лизиса и/или поглощения макрофагами.

Однако комплемент-зависимая цитотоксичность сопряжена, как считается, с таким побочным эффектом, как боль, особенно в случае антител против GD2. Как описано в публикации WO 2005/070967, нейроны могут быть особенно чувствительны к фиксации комплемента, поскольку этот процесс затрагивает образование каналов в клеточной мембране, из-за чего через нее возможен неконтролируемый поток ионов. В нейронах, имеющих отношение к ощущению боли, даже небольшая в количественном отношении фиксация комплемента может оказаться существенной из-за генерации потенциала действия. Таким образом, обусловленная связыванием антител против GD2 на нейронах комплемент-зависимая цитотоксичность любой интенсивности приведет к боли.

Соответственно, согласно ранее достигнутым представлениям в данной области техники предпочтительно снижать уровень фиксации комплемента, чтобы ослабить побочные эффекты у больного; считается также, что противоопухолевая активность антител против GD2 происходит в основном из антитело-зависимой цитотоксичности (ADCC), а не от фиксации комплемента (см., например, WO 2005/070967).

В противоположность сказанному выше ключевым моментом в данном изобретении является то, что для противоопухолевого эффекта антител против GD2 существенна их цитолитическая способность, оцениваемая путем анализа CDC или анализа цельной крови (WBT). В отличие от анализа CDC или ADCC при анализе цельной крови (WBT) определяют литический потенциал образца гепаринизированной цельной крови. При таком анализе оценивается не какой-то один эффекторный механизм, а в физиологических условиях сочетание ADCC и CDC (и любого другого компонента и/или механизма, присутствующего в образце гепаринизированной цельной крови, который может иметь отношение к литической способности, направленной против опухолевых клеток). Применение способов по данному изобретению открывает возможность уменьшить дозу антител до минимально необходимой для лизиса клеток-мишеней, оцениваемого путем анализа CDC или путем анализа цельной крови. Также способы по данному изобретению позволяют определять индивидуальную эффективную дозу антител и таким образом учитывать индивидуальные различия в противоопухолевой реакции у пациентов. Важно также то, что данное изобретение делает возможным ослабление и контроль побочного эффекта, а именно боли, путем определения пороговой дозы антител против GD2, которую нужно ввести больному для индуцирования CDC и/или цитолитической активности в цельной крови. Ценным открытием данного изобретения является то, что побочный эффект (боль) можно существенно уменьшить, если вводить антитела против GD2 путем непрерывной инфузии до достижения предварительно установленной суммарной дозы для данного пациента. С помощью способов по данному изобретению можно в ходе лечения антителами значительно сократить введение обезболивающих средств, в частности введение таких сильных анальгетиков, как морфин, и тем самым существенно ослабить побочные эффекты введения обезболивающих.

Краткое описание изобретения

Данное изобретение относится к способу лечения GD2-положительного рака путем введения больному препарата, содержащего антитело ch14.18 в суточной дозе 1-25 мг/м² в режиме непрерывной внутривенной инфузии 24 ч в сутки в дозе 50-150 мг/м²/цикл, где препарат вводят пациенту на протяжении 4, 10, 14, 15 или 21 суток подряд.

В частности, указанный препарат может вводиться больному в дозе 50, 60, 75, 80, 100, 120 или 150 мг/м²/цикл. При этом суточная доза препарата может составлять 1-15 или 1-20 мг/м², например 7, 10, 15 или 20 мг/м². Всего препарат, содержащий ch14.18 антитело, может вводиться больному в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 циклах лечения.

Вводимое антитело ch14.18 может быть представлено ch14.18/CHO или ch14.18/SP2/0. В частности, препарат, содержащий ch14.18 антитело, представляющее собой ch14.18/CHO, может вводиться больному в дозе 10 мг/м²/сут на протяжении 10 суток подряд в 6 циклах лечения, а если антитело в препарате

представлено ch14.18/SP2/0, то препарат вводится больному в дозе 25 мг/м²/сут на протяжении 4 суток подряд в 5 циклах лечения.

Введение препарата, содержащего е антитело ch14.18, может предваряться и/или сопровождаться введением препарата, содержащего цитокин, выбранный из группы, состоящей из IL-2, GM-CSF, G-CSF, IL-12, IL-15 и их комбинации.

Также способ по изобретению может дополнительно включать введение одного или нескольких обезболивающих агентов, и при этом:

а) суточная доза обезболивающего агента(ов) ниже в течение всех дней лечения обезболивающим агентом(ами) или в течение тех одного или более дней, в которые делается непрерывная внутривенная инфузия препарата, содержащего антитело ch14.18, по сравнению с суточной дозой обезболивающего агента(ов) при не непрерывном введении препарата, содержащего антитело ch14.18;

б) обезболивающий агент(ы) вводится не во все дни, когда вводится препарат, содержащий антитело ch14.18; в) доза обезболивающего агента(ов) за цикл лечения, вводимая в одном или более циклах лечения, включающих непрерывную внутривенную инфузию препарата, содержащего антитело ch14.18, ниже, чем доза обезболивающего агента(ов) за цикл лечения при не непрерывной инфузии препарата, содержащего антитело ch14.18;

д) доза обезболивающего агента(ов) за все время лечения ниже, чем доза обезболивающего агента(ов) за все время лечения при не непрерывной инфузии препарата, содержащего антитело ch14.18;

е) вводимая доза обезболивающего агента(ов) ниже чем 50 мкг/кг/ч или ниже чем 30 мкг/кг/ч в течение всех часов или дней лечения обезболивающим агентом(ами) или в течение тех одного или более часов или дней, в которые также делается непрерывная внутривенная инфузия препарата, содержащего антитело ch14.18.

Вводимым обезболивающим агентом может быть морфин, и в таком случае:

а) суточная доза морфина ниже в течение всех дней лечения морфином или в течение тех одного или более дней, в которые делается непрерывная внутривенная инфузия препарата, содержащего антитело ch14.18, по сравнению с суточной дозой морфина при не непрерывном введении препарата, содержащего антитело ch14.18;

б) морфин вводится не во все дни, когда вводится препарат, содержащий антитело ch14.18;

в) доза морфина за цикл лечения, вводимая в одном или более циклах лечения, включающих непрерывную внутривенную инфузию препарата, содержащего антитело ch14.18, ниже, чем доза морфина за цикл лечения при не непрерывной инфузии препарата, содержащего антитело ch14.18;

д) доза морфина за все время лечения ниже, чем доза морфина за все время лечения при не непрерывной инфузии препарата, содержащего антитело ch14.18;

е) вводимая доза морфина ниже чем 50 мкг/кг/ч или ниже, чем 30 мкг/кг/ч в течение всех часов или дней лечения морфином или в течение тех одного или более часов или дней, в которые также делается непрерывная внутривенная инфузия препарата, содержащего антитело ch14.18;

ф) вводимая суточная доза морфина ниже, чем 0,9; 0,72; 0,48; 0,38; 0,4375 и/или 0,205 мг/кг/сут в течение всех дней лечения морфином или в течение тех одного или более дней, в которые делается непрерывная внутривенная инфузия препарата, содержащего антитело ch14.18.

GD2-положительный рак, который предполагается лечить способом изобретения, может представлять собой нейробластому, глиобластому, медуллобластому, астроцитому, меланому, мелкоклеточный рак легкого, десмопластическую мелкокруглоклеточную опухоль, остеосаркому, рабдомиосаркому или другую саркому мягких тканей.

У больного, которого предполагается лечить способом по изобретению, может иметься первичная рефрактерная или рецидивная нейробластома высокого риска или минимальное остаточное заболевание при нейробластоме высокого риска.

Краткое описание иллюстраций

Фиг. 1 представляет результаты анализа цельной гепаринизированной крови (WBT) с использованием меченных ⁵¹Cg клеток-мишеней (человеческих нейробластомных клеток) и анализа CDC, гепаринизированной плазмы (также с использованием меченных ⁵¹Cg человеческих нейробластомных клеток-мишеней), взятых у двух здоровых доноров, в присутствии APN311. Видно, что между этими донорами имеется существенная разница в лизисе при анализе WBT: 50%-ный лизис достигается при концентрации APN311 2 нг/мл цельной крови в случае донора 3 и при 10 нг/мл в случае донора 4. Однако при анализе CDC разницы нет: в обоих случаях 50%-ный лизис достигается при концентрации APN311 1000 нг/мл плазмы. При анализе обоими методами (WBT и CDC) время инкубации (20 ч) и конечная концентрация комплемента были одинаковыми.

Фиг. 2 представляет результаты анализа цельной гепаринизированной крови (WBT) с использованием меченных ⁵¹Cg клеток-мишеней (человеческих нейробластомных клеток) и анализа CDC, гепаринизированной плазмы (также с использованием меченных ⁵¹Cg человеческих нейробластомных клеток-мишеней), взятых у здорового донора, в присутствии APN301 или APN311. Видно, что между этими антителами препаратами имеется существенная разница в лизисе при анализе WBT: 50%-ный лизис достигается при концентрации APN311 21 нг/мл цельной крови и при концентрации APN301 234 нг/мл. Од-

нако при анализе CDC разница значительно меньше: 50%-ный лизис достигается при концентрации APN311 470 нг/мл плазмы и при концентрации APN301 619 нг/мл.

Фиг. 3 представляет результаты анализа WBT или CDC образцов цельной крови или плазмы, взятых у здорового донора, в которые ввели 5 мкг/мл APN311, в сравнении с образцами цельной крови или плазмы больного, которого лечили APN311. Забор образцов у больного проводили на 17-й день цикла лечения, т.е. в конце периода лечения APN311, который в данном случае продолжался с 8- по 18-й день цикла лечения.

Фиг. 4 представляет результаты анализа WBT, показанные на фиг. 3, в сравнении с теми же образцами с добавлением 5-кратного избытка специфичных антиидиотипических антител (a-ID), которые подавляют лизис клеток-мишеней.

Фиг. 5 представляет результаты анализа CDC, показанные на фиг. 3, в сравнении с теми же образцами с добавлением 5-кратного избытка специфичных антиидиотипических антител (a-ID), которые подавляют лизис клеток-мишеней.

Фиг. 6 представляет фармакокинетику APN311 в сыворотке крови пациентов. Числа над кривой означают количество пациентов, по которому рассчитывалась данное среднее значение уровня APN311 в сыворотке в указанный день забора образцов. Период лечения APN311 продолжался с 8-го по 18-й день, первый период лечения интерлейкином-2 (IL-2) продолжался с 1- по 5-й день, второй - с 8- по 12-й день цикла лечения.

Фиг. 7 представляет результаты анализа CDC (измерялось высвобождение кальцеина) в 1-, 8- и 15-й дни цикла лечения у 37 больных, которых лечили APN311. Период лечения APN311 продолжался с 8- по 18-й день, первый период лечения интерлейкином-2 (IL-2) продолжался с 1- по 5-й день, второй - с 8- по 12-й день цикла лечения.

Фиг. 8 и 9 представляют примеры схем лечения препаратом, содержащим антитела против GD2, в сочетании с другими терапевтическими средствами.

Фиг. 10 иллюстрирует использование морфина (в процентах от назначаемой стандартной скорости инфузии, составляющей 30 мкг/кг/ч) в ходе непрерывной инфузии APN311 у 37 пациентов (средние значения). Инфузию антител всегда начинали на 8-й день цикла лечения.

Фиг. 11-16 демонстрируют результаты цитолиза, полученные для образцов крови, взятых у указанных пациентов на различных стадиях их циклов лечения. Данные показаны в стандартизованном виде, представляющем примененную схему лечения, а именно введение APN311 в дозе 100 мг/м²/цикл, 10 суток непрерывной внутривенной инфузии с помощью мини-насоса; алдеслейкин (IL2) в дозе 60×10⁶ МЕ/м²/цикл, 10 суток за один цикл, два периода введения по 5 суток каждый, в дозе 6×10⁶ МЕ/м²/сут, подкожно; 13-цис-ретиноевая кислота (изотретиноин) в дозе 2240 мг/м²/цикл, введение в течение 14 суток (раз в день) в дозе 160 мг/м²/сут, перорально. Суммарное время лечения включает 5 циклов продолжительностью 35 суток каждый, 36-й день первого цикла является первым днем второго цикла. Забор образцов крови в начале (т.е. в первый день) периода лечения APN311 (соответствует 8-му дню цикла лечения) проводили до начала введения APN311; см. также табл. 8.

Фиг. 17 представляет сравнение начальных скоростей инфузии, увеличения скорости инфузии и дозы морфина в ходе введения антител при использовании двух различных режимов введения: применяемого на первой фазе клинических испытаний, проводимых SIOPEN (инфузия антител по 8 ч в сутки на протяжении 5 дней подряд), и предлагаемой по данному изобретению схемы (непрерывная инфузия 24 ч в сутки в течение 10 дней подряд), а также дополнительного болюсного введения морфина.

Осуществление изобретения

Оказалось, что лечение препаратами, содержащими антитела против GD2, в дозе, установленной по цитолитической способности, например измеренной путем анализа CDC или путем анализа цельной крови, обладает благоприятным эффектом при противораковой терапии, особенно в отношении такого побочного эффекта, как боль. Препарат, содержащий антитела против GD2, вводится в дозе, как можно меньшей, но все же достаточной для того, чтобы индуцировать CDC, и/или цитолиз в цельной крови, и указанная пороговая для цитолиза доза вводится в течение периода времени, требующегося для достижения предварительно установленной суммарной дозы для данного пациента, то боль может значительно ослабнуть и благодаря этому можно значительно сократить или даже прекратить введение морфина или других обезболивающих средств.

В одном из своих аспектов данное изобретение касается способа лечения GD2-положительного рака путем введения (непрерывной внутривенной инфузией в течение 24 ч в сутки) пациенту препарата, содержащего антитела против GD2. Препарат, содержащий антитела против GD2, вводится в течение периода времени, требующегося для достижения предварительно установленной суммарной дозы для данного пациента.

В другом своем аспекте данное изобретение касается способа лечения GD2-положительного рака путем введения пациенту препарата, содержащего антитела против GD2, в дозе, достаточной для того, чтобы вызвать лизис опухолевых клеток (пороговая цитолитическая доза), причем указанная пороговая цитолитическая доза вводится до тех пор, пока не будет достигнута предварительно установленная сум-

марная доза для данного пациента.

В некоторых воплощениях данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, вводят пациенту в дозе, достаточной для того, чтобы вызвать лизис опухолевых клеток (пороговая цитолитическая доза), путем непрерывной внутривенной инфузии на протяжении 24 ч в сутки. В другом воплощении данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, вводят пациенту в дозе, достаточной для того, чтобы вызвать лизис опухолевых клеток (пороговая цитолитическая доза), путем непрерывной внутривенной инфузии на протяжении 24 ч в сутки до тех пор, пока не будет достигнута предварительно установленная суммарная доза для данного пациента.

В некоторых воплощениях данного изобретения пороговая цитолитическая доза - это терапевтически эффективное количество препарата, содержащего антитела против GD2. Это терапевтически эффективное количество можно установить путем анализа CDC или путем анализа цельной крови, используя взятую у больного сыворотку или плазму крови или гепаринизированную цельную кровь. В некоторых воплощениях данного изобретения пороговая цитолитическая доза - это минимальная пороговая цитолитическая доза, например наименьшая доза, для которой установлено, что она обеспечивает некоторый уровень цитолиза при анализе CDC или анализе цельной крови. В одном из воплощений данного изобретения пороговая цитолитическая доза - это доза, для которой при специфичном анализе CDC или анализе цельной крови установлено, что она вызывает 30% максимально возможного лизиса клеток-мишеней, установленного соответствующими методами. В некоторых воплощениях данного изобретения пороговая цитолитическая доза - это доза, при которой достигается 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100% (или любой диапазон между указанными значениями) максимально возможного лизиса клеток, установленного соответствующими методами (путем специфичного анализа CDC или анализа цельной крови). Скажем, как проделано в примерах 2 и 3 и показано на фиг. 1, 2 и 7, для построения кривой лизиса клеток по данным анализа CDC или анализа цельной крови брали несколько концентраций препарата, содержащего антитела против GD2, который вводили в кровь или плазму донора либо который уже присутствовал в крови или плазме пациента, получавшего лечение препаратом, содержащим антитела против GD2. Путем построения кривой для измеренных концентраций антител против GD2 можно установить дозу или концентрацию антител против GD2, при которой достигается определенный пороговый цитолиз (например, 50% от максимально возможного лизиса клеток-мишеней). В примере, иллюстрируемом фиг. 1, пороговый 5%-ный цитолиз (например, 50% от максимально возможного лизиса клеток-мишеней) достигается при концентрации 2 или 10 нг/мл в случае цельной крови соответствующего донора при анализе цельной крови или при 1000 нг/мл в случае сыворотки или плазмы крови при анализе CDC. В этом примере пороговый цитолиз составляет 50%.

Термины "пороговый цитолиз" и/или "уровень цитолиза" в настоящем документе означают уровень лизиса клеток-мишеней при специфичном анализе CDC или анализе цельной крови для установления пороговой цитолитической дозы в сыворотке, плазме или цельной крови путем указанного анализа CDC или анализа цельной крови (WBT).

В некоторых воплощениях данного изобретения пороговый цитолиз поддерживается на протяжении одного или более периодов времени в пределах всего срока лечения, в течение которых больной не получает препарата, содержащего антитела против GD2, т.е. в интервалах между периодами лечения препаратом, содержащим антитела против GD2 (если таковые имеются, т.е. если пациент получает препарат, содержащий антитела против GD2, не непрерывно на протяжении всего срока лечения). В некоторых воплощениях данного изобретения определенный уровень цитолиза поддерживается на протяжении полного цикла лечения. В некоторых воплощениях данного изобретения определенный уровень цитолиза поддерживается на протяжении всего времени лечения.

Как демонстрируют фиг. 11, 13 и 15, повышенный уровень цитолиза от 30 до 50% поддерживался даже на протяжении интервала, когда пациент не получал препарата, содержащего антитела против GD2.

В одном из воплощений данного изобретения пороговую цитолитическую дозу определяли для каждого пациента индивидуально.

Термин "предварительно установленная суммарная доза для данного пациента" в настоящем документе означает суммарную дозу, полученную данным индивидом в течение цикла лечения, чему дается определение ниже.

Термин "пациент/больной" в настоящем документе означает животное или человека, больного раком, в частности GD2-положительным раком.

Если в настоящем документе приводится какой-либо диапазон значений, то подразумевается, что любой такой диапазон включает любой диапазон между приведенными значениями (т.е. между нижним и верхним пределами данного диапазона). Например, если приведен диапазон, скажем, "от 1 до 5 суток", то он включает 1, 2, 3, 4 и 5 суток. То же применимо к любым другим диапазонам, выключая (но не ограничиваясь перечисленным здесь) другие периоды времени (например, время инфузии, выраженное в часах), дозы в различных выражениях (например, на 1 м² поверхности тела, на 1 кг массы тела, в сутки, в течение цикла лечения и проч.), скорость инфузии, концентрации, процентные доли, коэффициенты кратности, отношения и номера.

Цитолитическую пороговую дозу можно установить путем анализа комплемент-зависимого цито-

лиза (CDC) или путем анализа цельной крови (WBT). При анализе цельной крови клетки-мишени или компоненты-мишени (например, клетки, липосомы или другие подобные клеткам структуры, которые подлежат лизису) контактируют с взятой у пациента цельной кровью, обработанной подходящими противосвертывающими агентами. Анализ CDC может быть, например, стандартным, известным в данной области техники (например, описанным в работе Indusogie et al., J. Immunol. 2000, Zeng et al., Molecular Immunology, 2005 или в публикации WO2005/070967). Анализ CDC и/или анализ цельной крови могут осуществляться с клетками-мишенями, несущими GD2, например с клетками опухолевых линий, полученных в случае подлежащего лечению GD2-положительного ракового заболевания. Например, если у больного, которому требуется лечение, имеется нейробластома, то клеточная линия может быть линией нейробластомных клеток, например человеческих нейробластомных клеток LAN-1. В другом примере, если у больного, которому требуется лечение, имеется меланома, то клеточная линия может быть линией меланомных клеток, например человеческих меланомных клеток M21. В еще одном воплощении данного изобретения клетки-мишени при анализе CDC и/или анализе цельной крови являются опухолевыми клетками, взятыми у больного, т.е. аутологичными для данного индивида опухолевыми клетками. В другом воплощении данного изобретения компонент-мишень при анализе CDC и/или анализе цельной крови является липосомой, несущей на своей поверхности доступный GD2. Клетки-мишени или компоненты мишени метят каким-либо сигнальным компонентом, например радиоактивным изотопом, например ^{51}Cr , или флуоресцирующим агентом, например кальцеином. Сигнальный компонент содержится в клетке-мишени или в компоненте-мишени, т.е. он находится внутри клетки-мишени или компонента-мишени (например, липосома заключает в себе сигнальный компонент и несет доступный GD2 на своей поверхности), и высвобождается в результате лизиса клетки-мишени или компонента-мишени. Таким образом, сигнальный компонент обеспечивает показания при аналитическом определении. Клетки-мишени или компоненты-мишени, нагруженные сигнальным веществом, контактируют с цельной кровью, сывороткой или плазмой в определенном соотношении. Для анализа CDC или анализа WBT перед добавлением к образцу цельную кровь, сыворотку или плазму разводят, например, в соотношении 1:2 или больше, например 1:4, 1:5 или 1:10, или в любом интервале между указанными соотношениями. Но можно добавлять их к образцу и не разбавленными. Конечная концентрация цельной крови, плазмы или сыворотки в образце при анализе CDC или анализе WBT может составлять, например, от 10 до 50%. Лизис клеток-мишеней или компонентов-мишеней оценивают по высвобождению указанного сигнального агента при помощи сцинтилляционного счетчика или спектрофотометра. Например, лизис клеток-мишеней или компонентов-мишеней можно определять, измеряя при помощи сцинтилляционного счетчика количество ^{51}Cr , высвободившегося в супернатант. В процентном выражении лизис можно определить по следующему уравнению:

$$100 \times (\text{высвобождение в опыте} - \text{спонтанное высвобождение}) / (\text{максимальное высвобождение} - \text{спонтанное высвобождение}).$$

Для анализа CDC источником цитолитических компонентов (или эффекторных компонентов) служит взятая у больного или донора сыворотка крови или плазма, обработанная подходящим противосвертывающим агентом, которые содержат компоненты системы комплемента. В случае WBT источником цитолитических компонентов (или эффекторных компонентов) служит взятая у больного или донора цельная кровь, обработанная подходящим противосвертывающим агентом, которая содержит компоненты системы комплемента, а также все клеточные компоненты и другие компоненты, входящие в состав цельной крови, которые могут иметь отношение к лизису клеток-мишеней; также имеет значение взаимодействие всех компонентов (например, известно, что активация комплемента приводит к активации определенных эффекторных клеток, например гранулоцитов). При анализе CDC и/или при анализе WBT сыворотку, плазму крови или цельную кровь можно добавлять к клеткам-мишеням или к компонентам-мишеням в различных разведениях.

Также при анализе CDC и/или при WBT в один или более образцов можно вводить антитела против GD2 в различных концентрациях, например для построения стандартной кривой.

В другом воплощении данного изобретения для подавления лизиса клеток-мишеней, опосредованного антителами, к образцу можно добавлять одно или более антиидиотипических антител против GD2, узнающих переменный домен антител против GD2; это может служить отрицательным контролем или проверкой специфичности аналитического метода, а также это может показать, что лизис клеток-мишеней, определяемый без антиидиотипических антител, опосредован антителами или зависит от них.

Если цитолитическую пороговую дозу для данного пациента определяют до начала лечения препаратом, содержащим антитела против GD2, то при анализе CDC и/или WBT к образцам добавляют (в дополнение к сыворотке, плазме или цельной крови пациента) антитела против GD2 или препарат, содержащий антитела против GD2, в различных разведениях, чтобы определить пороговую цитолитическую дозу.

Как обсуждается в настоящем документе далее, клетки-мишени для определения пороговой дозы могут быть человеческими клетками линий такой же опухоли, какая имеется у больного (например, человеческими нейробластомными клетками в случае нейробластомы у пациента), или, если это целесообразно и технически осуществимо, аутологичными для данного индивида опухолевыми клетками.

Если протеолитическую пороговую дозу определяют для больного в ходе лечения препаратом, содержащим антитела против GD2, то при анализе CDC и/или WBT к образцам добавляют сыворотку, плазму или цельную кровь, взятые у этого пациента (которые содержат антитела против GD2) в различных разведениях (не добавляя отдельно антител против GD2), чтобы определить пороговую цитолитическую дозу.

Дозу, достаточную для индуцирования CDC и/или цитолиза цельной крови, можно определить как дозу, при которой достигается по меньшей мере 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50% (или любой диапазон между этими уровнями) от максимально в возможного лизиса клеток-мишеней при осуществлении аналитического метода (специфичного анализа CDC или анализа цельной крови). В одном из воплощений данного изобретения эту дозу определяют как дозу, при которой достигается по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или 100% (или любой диапазон между этими уровнями) от максимально возможного лизиса клеток при осуществлении соответствующего аналитического метода (специфичного анализа CDC или анализа цельной крови).

Пороговая цитолитическая доза, устанавливаемая при специфичном анализе CDC или при анализе цельной крови, - это уровень антител против GD2 в сыворотке, плазме и/или крови. Дозу препарата, содержащего антитела против GD2, которую нужно ввести пациенту для того, чтобы достигнуть такого уровня антител в крови, плазме и/или сыворотке, требуется определить соответственно на основе фармакокинетических данных для указанного препарата. Как показано на фиг. 1 и 2, для того, чтобы индуцировать по меньшей мере 50%-ный лизис опухолевых клеток при анализе CDC, достаточны низкие уровни антител: 470-1000 нг/мл сыворотки или плазмы, например 470 нг/мл (фиг. 2) или 1000 нг/мл (фиг. 1) APN311 и 619 нг/мл APN301 (фиг. 2). В одном из воплощений данного изобретения цитолитическая пороговая доза составляет 470-1000 нг/мл сыворотки или плазмы, или же 470-10000 нг/мл сыворотки или плазмы, или любой диапазон между этими уровнями.

Если путем анализа CDC или анализа цельной крови установлена некоторая цитолитическая пороговая доза, особенно если при этом брали клетки-мишени, отличные от опухолевых клеток данного больного, то указанный цитолитический порог, установленный *in vitro* (цитолитическая пороговая доза *in vitro*), может быть повышен для безопасности, чтобы доза антител наверняка оказалась достаточной, чтобы вызвать цитолиз опухолевых клеток данного пациента *in vivo* (цитолитическая пороговая доза *in vivo*). Цитолитическая пороговая доза *in vitro* может быть увеличена с кратностью 1-10 (или любым диапазоном между этими значениями).

В некоторых воплощениях данного изобретения цитолитическая пороговая доза составляет 1410-3000 или 2350-5000 нг/мл сыворотки или плазмы крови (или любой диапазон между этими уровнями).

Соответственно устанавливают дозу препарата, содержащего антитела против GD2, которую нужно ввести данному больному; т.е. указанный препарат вводят в такой дозе, чтобы достигнуть указанных уровней в сыворотке или плазме крови в первые 1-4 суток лечения препаратом, содержащим антитела против GD2 (например, в 1-, 2-, 3- или 4-й день периода лечения препаратом, содержащим антитела против GD2), и указанный уровень в сыворотке или плазме крови поддерживается на протяжении всего периода лечения препаратом, содержащим антитела против GD2. Как показано на фиг. 1 и 2, при анализе цельной крови для того, чтобы вызвать лизис по меньшей мере 50% опухолевых клеток, достаточны относительно низкие уровни антител (2-234 нг/мл), например 2 нг/мл (фиг. 1), или 10 нг/мл (фиг. 1), или 21 нг/мл (фиг. 2) в случае APN311 и 234 нг/мл в случае APN301 (фиг. 2). В одном из воплощений данного изобретения цитолитическая пороговая доза составляет 2-250 нг/мл цельной крови, или 2-2500 нг/мл цельной крови, или любой диапазон между указанными уровнями. В некоторых воплощениях данного изобретения цитолитическая пороговая доза составляет 2-100 нг/мл цельной крови, или 5-200 нг/мл цельной крови, или любой диапазон между указанными уровнями. В некоторых воплощениях данного изобретения цитолитическая пороговая доза составляет 6-750, 6-7500, 10-1250, 10-12500, 6-300, 10-500, 15-600 или 25-1000 нг/мл цельной крови.

Соответственно устанавливают дозу препарата, содержащего антитела против GD2, которую нужно ввести данному больному; т.е. указанный препарат вводят в такой дозе, чтобы достигнуть указанных уровней в цельной крови в первые 1-4 суток лечения препаратом, содержащим антитела против GD2 (например, в 1-, 2й, 3- или 4-й день периода лечения препаратом, содержащим антитела против GD2) и указанный уровень в сыворотке или плазме крови поддерживается на протяжении всего периода лечения препаратом, содержащим антитела против GD2. Как видно на фиг. 6, если препарат, содержащий антитела против GD2, вводится в дозе 10 мг/м²/сут путем непрерывной внутривенной инфузии (т.е. 24 ч в сутки) с помощью мини-насоса, то в первые 1-2 дня лечения антителами против GD2 может быть достигнут уровень 1000 нг/мл (1 мкг/мл) сыворотки. Так, в одном из воплощений данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, вводится в дозе 5, 7, 10 или 15, в частности 10 мг/м²/сут (или любой диапазон между этими дозами) путем непрерывной внутривенной инфузии (24 ч в сутки). В одном из воплощений данного изобретения цитолитическая пороговая доза достигается в первый, второй, третий или четвертый день лечения препаратом, содержащим антитела против GD2. Фиг. 7 показывает, что если препарат, содержащий антитела против GD2, вводится в дозе 10 мг/м²/сут путем непрерывной внут-

ривенной инфузии (т.е. 24 ч в сутки) с помощью мини-насоса, то 50%-ный цитолиз может быть достигнут в первые три-четыре дня лечения препаратом, содержащим антитела против GD2.

Способы по данному изобретению позволяют снизить дозу антител до минимальной, необходимой для лизиса опухолевых клеток и/или лизиса клеток-мишеней и определяемой путем анализа CDC или WBT. В некоторых воплощениях данного изобретения цитолитическая пороговая доза антител, определяемая путем анализа CDC и/или WBT, меньше 50, 40, 30, 25, 20, 15, 10, 7,5 мг/м²/сут или меньше любого диапазона между этими дозами. Также способы по данному изобретению позволяют устанавливать индивидуальную цитолитическую пороговую дозу путем анализа CDC и/или WBT и таким образом можно учитывать индивидуальные различия в литической способности в отношении опухолевых клеток у разных больных. Благодаря этому для каждого пациента можно подобрать оптимальную дозу антител - как можно более низкую, чтобы свести к минимуму потенциальные побочные эффекты, в частности боль, но достаточную для эффективного лизиса опухолевых клеток.

Препарат по данному изобретению можно вводить нуждающимся в том индивидам. В одном из воплощений данного изобретения указанный индивид - это больной GD2-положительным раком. GD2-положительный рак - это такое раковое заболевание, при котором GD2 экспрессируется на поверхности опухолевых клеток; к таким заболеваниям относятся, например, нейробластома, глиобластома, медуллобластома, астроцитомы, меланома, мелкоклеточный рак легкого, десмопластическая мелкоклеточная опухоль, остеосаркома, рабдомиосаркома и другие саркомы мягких тканей. В одном из воплощений данного изобретения у пациента имеется первичная рефрактерная или рецидивная нейробластома высокого риска либо минимальная остаточная болезнь при нейробластоме высокого риска. Этого пациента, возможно, лечили ранее или же он в данный момент получает другое лечение, например хирургическое, химиотерапию, лучевую терапию, пересадку стволовых клеток, лечение цитокинами (например, интерлейкином-2 и/или гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором) и/или ретиноидами (например, изотретиноином).

Антитела по данному изобретению выбирают из группы рекомбинантных или искусственных, включая одноцепочечные, антитела млекопитающих, человека или гуманизированных антител. Они могут содержать константные и/или переменные участки антител или могут быть выбраны из них, в частности из Fc, подобных Fc, Fv, Fab, F(ab)₂, Fab', F(ab')₂, scFv, scFc, VHH. Но любой такой антительный фрагмент должен содержать участок Fc, ответственный за связывание комплемента, и таким образом должен быть способен опосредовать естественные (или *in vivo*) эффекторные функции. Предпочтительно антитело по данному изобретению содержит легкую и тяжелую цепи антитела. Антитело по данному изобретению может содержать одну или две области, связывающие антиген, которые могут связывать одинаковые или же разные антигены, например GD2, причем связывать специфично. Антитела по данному изобретению могут быть направлены против антигенов, определенных выше, например образуются в результате иммунизации таким антигеном. Антитела против GD2 могут быть гуманизированными или химерными, например гуманизированными или химерными антителами 14.18, 3F8 или 8B6 или их фрагментами, связывающими антиген, которые опосредуют естественные эффекторные функции. В антителах против GD2 может быть одна или более модификаций аминокислотной последовательности, например модифицированная область Fc. В одном из воплощений данного изобретения антитела против GD2 - это hu14.18K322A. В другом воплощении данного изобретения антитела против GD2 - это химерные антитела 14.18. В одном из воплощений данного изобретения в антителах против GD2 имеются аминокислотная последовательность легкой цепи, кодируемая нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 1 (см. также пример 1), и аминокислотная последовательность тяжелой цепи, кодируемая нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 2 (см. также пример 1). В одном из воплощений данного изобретения в антителах против GD2 имеются аминокислотная последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 3 (см. также пример 1) и аминокислотная последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 4 (см. также пример 1). Относительная молекулярная масса антитела, содержащего две легких и две тяжелых цепи, составляет приблизительно 150 000 Да. В одном из воплощений данного изобретения антитела против GD2 - это APN311. Антитела против GD2 могут экспрессироваться в клетках CHO, SP2/0 или в клетках других подходящих линий, например HEK-293, MRC-5, Vero, PerC6 или NS0. В одном из воплощений данного изобретения антитела против GD2 - это химерные антитела 14.18, экспрессирующиеся в клетках SP2/0. В другом воплощении данного изобретения антитела против GD2 - это химерные антитела 14.18, экспрессирующиеся в клетках CHO. Антитела против GD2 могут также быть представлены иммуноцитокинами - слитыми белками, содержащими молекулу антитела против GD2 (или его фрагмент, связывающий антиген, который опосредует естественные эффекторные функции) и цитокин. Антительная часть иммуноцитокина может быть гуманизированным или химерным антителом против GD2, например гуманизированным или химерным антителом 14.18, 3F8 или 8B6. В антительной части белка-иммуноцитокина может быть одна или более модификаций аминокислотной последовательности, например модифицированная область Fc. В одном из воплощений данного изобретения антительной частью иммуноцитокина является hu14.18K322A. В другом воплощении данного изобретения антительной частью иммуноцитокина является гуманизированное антитело 14.18. Цитокинной частью слитого белка антитело против GD2-цитокин может быть, например, интерлейкин-2 (IL-2), или интерлейкин-12 (IL-12), или интерлейкин-15 (IL-15),

или гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF). Слитый белок антитело-цитокин может содержать линкерную последовательность. В одном из воплощений данного изобретения в иммуноцитокине имеются легкая цепь, кодируемая нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 5 (см. также пример 1), и тяжелая цепь, кодируемая нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 6 (см. также пример 1). В одном из воплощений данного изобретения в иммуноцитокине имеются аминокислотная последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 7 (см. также пример 1) и аминокислотная последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 8 (см. также пример 1). В одном из воплощений данного изобретения иммуноцитокин - это APN301. Иммуноцитокин по данному изобретению может экспрессироваться в клетках NS0 или в клетках других подходящих линий, например CHO, HEK-293, MRC-5, Vero или PerC6.

В некоторых воплощениях данного изобретения антитела против GD2 не слиты ни с какими другими молекулами. В некоторых воплощениях данного изобретения антитела против GD2 не являются иммуноцитокинами.

Препарат, содержащий антитела против GD2, по данному изобретению может также содержать соли и воду для инъекций (WFI). В одном из воплощений данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, содержит также буферный раствор, например физиологический раствор, забуференный фосфатом, который включает указанные соли и воду для инъекций.

Препарат, содержащий антитела против GD2, по данному изобретению может также содержать стабилизирующие агенты, консерванты, носители и другие эксципиенты. Препарат, содержащий антитела против GD2, по данному изобретению может быть лиофилизированным. В одном из воплощений данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, содержит слитый белок антитело против GD2-цитокин (например, hu14.18-IL-2), а также сахарозу, L-аргинин, моногидрат лимонной кислоты, полисорбат 20 и хлористоводородную кислоту. В одном из воплощений данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, - это APN301, антителом против GD2 является hu14.18-IL-2 и этот препарат содержит 4 мг/мл иммуноцитокина, 20 мг/мл сахарозы, 13,9 мг/мл L-аргинина, 2 мг/мл полисорбата 20 и 2,1 мг/мл моногидрата лимонной кислоты. В одном из воплощений данного изобретения указанный препарат, содержащий иммуноцитокин и другие эксципиенты, лиофилизован и может быть разведен в 0,9%-ном растворе хлорида натрия, причем pH полученного раствора составляет 5,5. В одном из воплощений данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, не содержит стабилизирующих агентов, консервантов и других эксципиентов. Препарат, содержащий антитела против GD2, по данному изобретению можно поместить в инфузионный мешок, например в инфузионный мешок, содержащий 100 мл 0,9%-ного раствора NaCl и 5 мл 20%-ного раствора человеческого альбумина.

Антитела против GD2 или препарат, содержащий антитела против GD2, можно вводить больному в дозировке 1-30, 1-35, 1-50 или 1-60 мг антител/м²/сут, например 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 7.5, 8, 9, 10, 12, 15, 20, 25, 30, 32, 35, 40, 45, 50 или 60 мг антител/м²/сут, или в любом диапазоне между указанными значениями. Например доза 10 мг/м²/сут означает, что пациент получает ежедневно 10 мг антител против GD2 на каждый квадратный метр поверхности тела. В настоящем документе доза (например, выраженная в миллиграммах или микрограммах) означает дозу активного ингредиента препарата. Например, данная доза может относиться к количеству антител против GD2 в препарате, содержащем антитела против GD2, или к количеству иммуноцитокина в препарате, содержащем иммуноцитокин, или к количеству цитокина в препарате, содержащем цитокин. Как указано в примере выше, доза 10 мг/м²/сут означает, что пациент ежедневно получает 10 мг антител против GD2 (при необходимости содержащихся в определенном объеме препарата, включающего антитела против GD2) на каждый квадратный метр поверхности тела. В настоящем документе размерность дозы, включающая обозначение /м², означает что данное количество приходится на один квадратный метр поверхности тела (BSA) индивида. В настоящем документе размерность дозы, включающая обозначение /кг, означает, что данное количество приходится на один килограмм массы тела индивида.

В некоторых воплощениях данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, вводят в дозах от 1 до 15, от 1 до 20, от 1 до 25, от 1 до 30 или от 1 до 35 мг/м²/сут, или в любом диапазоне между этими суточными дозами. В некоторых воплощениях данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, вводят в дозах менее чем 50, 40, 30 или 25 мг/м²/сут. В некоторых воплощениях данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, вводят в дозах до 7, 10, 15 или 20 мг/м²/сут. Антитела против GD2 можно вводить в дозе 10, 20, 25, 50, 60, 75, 80, 100, 120, 150, 200, 210, 250 или 300 мг/м²/цикл или в любом диапазоне между этими дозами. Суммарную дозу за курс лечения для данного пациента можно определить как предварительно установленную суммарную дозу для данного пациента.

В некоторых воплощениях данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, вводят на протяжении периода лечения вплоть до достижения терапевтического эффекта. В некоторых воплощениях данного изобретения терапевтический эффект может состоять в усилении иммунного ответа, направленного против опухоли, что определяется, например, по увеличению биологических показателей иммунной системы (например, показателей крови - количества лимфоцитов и/или NK-клеток; и/или цитокинов). В некоторых воплощениях данного изобретения терапевтический эффект может состоять в

уменьшении опухолевых маркеров (например, катехоламинов). В некоторых воплощениях данного изобретения терапевтический эффект можно определить такими методами, как скинтиграфия с метайодбензилгуанидином, (mIBG), визуализация с помощью ядерного магнитного резонанса (MRI), или рентгеновская компьютерная томография (СТ), и/или гистологическое исследование костного мозга (с забором образцов путем аспирационной биопсии или трепанобиопсии).

В некоторых воплощениях данного изобретения терапевтический эффект можно определить как стабилизацию заболевания (т.е. не происходит дальнейшего нарастания поражения, увеличения опухолевой ткани и/или размеров), частичный ответ на лечение (т.е. сокращение поражений, опухолевой ткани и/или размеров) и/или полный ответ на лечение (т.е. полная ремиссия всех поражений и опухолевой ткани).

Полный ответ на лечение (CR) можно далее определить следующим образом:

полное исчезновение всех поддающихся измерению и оценке проявлений заболевания;

не возникают новые поражения;

нет связанных с заболеванием симптомов и/или

нет свидетельств для оценки заболевания, включая, например нормализацию маркерных показателей и/или других результатов лабораторных исследований, которые были аномальными.

В некоторых воплощениях данного изобретения все измеримые, оцениваемые и не оцениваемые поражения и проявления подлежат исследованию с использованием тех же методик, что и исходное состояние.

Частичный ответ на лечение (PR) можно далее определить следующим образом:

относится только к случаям, когда у пациента имеется по меньшей мере одно поддающееся измерению поражение;

уменьшение суммы произведений двух взаимно перпендикулярных диаметров всех измеряемых поражений на 50% или более по сравнению с исходным состоянием;

оцениваемое заболевание не прогрессирует;

не возникают новые поражения.

В некоторых воплощениях данного изобретения все измеримые и оцениваемые поражения и проявления подлежат исследованию с использованием тех же методик, что и исходное состояние. Препарат, содержащий антитела против GD2, можно вводить путем непрерывной внутривенной инфузии (24 ч в сутки). Препарат, содержащий антитела против GD2, можно вводить в течение 10, 14, 15 или 21 суток подряд или брать любой диапазон между этими периодами времени. Препарат, содержащий антитела против GD2, можно вводить также в течение 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 2 или более суток подряд. В некоторых воплощениях данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, вводят на протяжении всего цикла лечения, например на протяжении 35 суток. В некоторых воплощениях данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, вводят путем непрерывной внутривенной инфузии на протяжении всего времени лечения, например на протяжении пяти циклов лечения продолжительностью 35 суток каждый, т.е. в сумме в течение 180 суток. Суточную дозу антител можно соответственно уменьшать так, чтобы оказалась введена предварительно установленная для данного пациента доза антител. В одном из воплощений данного изобретения предварительно установленная доза антител составляет 100 мг/м²/цикл лечения. В одном из воплощений данного изобретения общее время лечения составляет пять циклов. В этом примере доза антител в расчете на все время лечения составит, соответственно, 500 мг/м². В одном из воплощений данного изобретения эта суммарная доза антител - 500 мг/м² на все время лечения вводится в течение 180 суток, т.е. в дозировке 2,77 мг/м²/сут. Препарат, содержащий антитела против GD2, можно вводить путем непрерывной внутривенной инфузии на протяжении периода времени 24 ч в сутки. Для такой непрерывной инфузии можно использовать осмотический мини-насос. В одном из воплощений данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, вводят путем непрерывной внутривенной инфузии на протяжении 24 ч в сутки в течение 10, 14, 15 или 21 суток подряд (или берут любой диапазон между этими периодами времени), в указанных выше суточных дозах (например, 7, 10 или 15 мг/м²/сут), например 10 мг/м²/сут в течение 10 суток, 15 мг/м²/сут в течение 10 суток, 7 мг/м²/сут в течение 14 суток, 15 мг/м²/сут в течение 14 суток, 10 мг/м²/сут в течение 15 суток, 7 мг/м²/сут в течение 21 суток или 10 мг/м²/сут в течение 21 суток (или берут любой диапазон между этими дозами). В некоторых воплощениях данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, не вводят путем непрерывной внутривенной инфузии на протяжении 5 суток в дозировке 40 мг/м²/сут. В некоторых воплощениях данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, не вводят путем непрерывной внутривенной инфузии на протяжении 5 суток, т.е. инфузия не занимает 120 ч. В некоторых воплощениях данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, вводят путем непрерывной внутривенной инфузии на протяжении более чем 5 суток. В некоторых воплощениях данного изобретения препарат, содержащий антитела против GD2, вводят путем непрерывной внутривенной инфузии на протяжении 6 или более суток.

Иммуноцитокин или препарат, содержащий иммуноцитокин, по данному изобретению можно вводить в дозировке 0,8-50 мг/м²/сут, например 0,8; 1,6; 2; 3,2; 4; 4,8; 5; 6; 7; 7,5; 8; 9; 10; 12; 14,4; 15; 20; 25; 30; 32; 40; 45 или 50 мг/м²/сут (или берут любой диапазон между этими дозами). Например, суточная

доза 10 мг/м^2 ($10 \text{ мг/м}^2/\text{сут}$) означает, что пациент получает 10 мг иммуноцитокина на каждый квадратный метр площади поверхности тела в сутки. В одном из воплощений данного изобретения 1 мг слитого белка содержит приблизительно $0,8 \text{ мг}$ антител hu14.18 и приблизительно $3 \times 10^6 \text{ Е}$ интерлейкина-2 (IL-2). Препарат, содержащий иммуноцитокин, по данному изобретению можно вводить подкожно или путем внутривенной инфузии, например, 1 раз в сутки. Препарат, содержащий иммуноцитокин, по данному изобретению можно вводить внутривенно на протяжении периода времени 24 ч в сутки. Препарат, содержащий иммуноцитокин, по данному изобретению можно вводить в течение 2, 3, 4, 5, 10, 14, 15 или 21 суток подряд (или брать любой диапазон между этими периодами времени). В другом воплощении данного изобретения препарат, содержащий иммуноцитокин, вводят путем непрерывной внутривенной инфузии на протяжении 24 ч в сутки в течение 10, 14, 15 или 21 суток подряд. Для такой непрерывной инфузии можно использовать осмотический мини-насос. В одном из воплощений данного изобретения иммуноцитокин вводят в дозировке $12 \text{ мг/м}^2/\text{сут}$ на протяжении 3 суток подряд циклами по 28 суток (до 10 циклов).

Период лечения препаратом, содержащим антитела против GD2, может предвшаться и/или сопровождаться одним или более периодами лечения цитокином. В одном из воплощений данного изобретения цитокин является гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (G-CSF), гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (GM-CSF), интерлейкином-2 (IL-2), -12 (IL-12) и/или -15 (IL-15). Цитокин можно вводить подкожно (например, один раз в сутки) или путем внутривенной инфузии. В одном из воплощений данного изобретения цитокин является интерлейкином-2 (IL-2) и вводится подкожно один раз в сутки в дозировке $6 \times 10^6 \text{ МЕ/м}^2/\text{сут}$, например в 1- и 2-й дни и в дни с 8- по 14-й цикла лечения, или, например, в дни с 1-го по 5-й и с 8-го по 12-й цикла лечения. В одном из воплощений данного изобретения суммарная доза интерлейкина-2, получаемая пациентом, составляет $60 \times 10^6 \text{ МЕ/м}^2/\text{цикл}$. В другом воплощении данного изобретения цитокин представляет собой гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор и вводится внутривенно один раз в сутки в течение 2 ч в дозировке $250 \text{ мкг/м}^2/\text{сут}$, например, в 1- и 2-й и с 8- по 14-й день цикла лечения.

За периодом лечения препаратом, содержащим антитела против GD2, может следовать один или более периодов лечения ретиноидом. В одном из воплощений данного изобретения ретиноид является ретиноевой кислотой (RA), например изотретиноином.

Любой такой период лечения можно повторять. За любым таким периодом лечения может следовать интервал без лечения теми же и/или другими лекарствами или способами. В одном из воплощений данного изобретения в интервал между периодами лечения какое бы то ни было лечение может отсутствовать. В другом воплощении данного изобретения в указанный интервал не происходит лечения теми же препаратами или способами, что и в предшествующий ему период лечения, однако могут применяться другие препараты или способы лечения.

Также способ по данному изобретению может предвшаться или сопровождаться лечением одним или более обезболивающими агентами, например нестероидными противовоспалительными средствами (например, индометацином), и/или одним или более опиоидами, и/или одним или более другими анальгетиками, или любыми их комбинациями. В одном из воплощений данного изобретения обезболивающий агент является опиоидом, например морфином и/или его производными, например гидроморфоном. Могут использоваться и другие опиоиды, например трамадол, петидин, кодеин, пиритрамид, левометадон, а также фентанил, алфентанил, ремифентанил и суфентанил.

В некоторых воплощениях данного изобретения один или более обезболивающих агентов выбирают из аналогов γ -аминомасляной кислоты (GABA), в числе которых, например, габапентин. Так, больной может получать габапентин, например, на протяжении трех дней перед началом периода лечения антителами. Габапентин можно вводить перорально в дозе 10 мг/кг на один прием один, два или три раза в сутки. Габапентин можно давать в дозировке до 300 мг/кг/прием . Габапентин - доступный препарат, имеющийся в продаже; его можно принимать внутрь в виде раствора для перорального применения, содержащего $250 \text{ мг/габапентина}$ в 5 мл , или в виде капсул (содержанием 100 , 300 и 400 мг). Лечение габапентином может дополнять лечение морфином и/или другими обезболивающими агентами. Также больному можно давать парацетамол (в дозировке $10\text{-}15 \text{ мг/кг/прием}$, каждые 4 ч или четыре раза в сутки, перорально или внутривенно), ибупрофен (в дозировке $5\text{-}10 \text{ мг/кг/прием}$ перорально каждые 6-12 ч), метамизол (в дозировке $10\text{-}15 \text{ мг/кг/прием}$ перорально каждые 4 ч), дифенгидрамин (в дозировке $0,5\text{-}1 \text{ мг/кг/прием}$ перорально или внутривенно) и/или индометацин (например, $0,3\text{-}0,5 \text{ мг/кг/прием}$ или $25\text{-}50 \text{ мг/прием}$, перорально или внутривенно каждые 6 ч). Указанное лечение парацетамолом, ибупрофеном, метамизолом и/или индометацином может дополнять лечение морфином, и/или габапентином, и/или другими обезболивающими агентами.

Один или более обезболивающих агентов можно вводить путем внутривенной инфузии, в частности путем непрерывной внутривенной инфузии 24 ч в сутки. Период лечения одним или более обезболивающими агентами может предвшать и/или сопровождать период лечения препаратом, содержащим антитела против GD2.

Применение способов по данному изобретению позволяет уменьшить дозы, изменить путь введе-

ния (например, вводить не внутривенно, а перорально), сократить продолжительность периода (периодов) лечения обезболивающими средствами и/или использовать другого рода препарат одного или более обезболивающих агентов. Таким образом, данное изобретение даже открывает возможность амбулаторного ведения больных, получающих курс лечения препаратом, содержащим антитела против GD2, по меньшей мере часть цикла лечения.

В некоторых воплощениях данного изобретения суточная доза одного или более обезболивающих агентов в один или более дней лечения по данному изобретению (непрерывная инфузия) ниже, чем обычно применяемая суточная доза, получаемая больным в ходе лечения препаратом, содержащим антитела против GD2, который вводят путем не непрерывной внутривенной инфузии или который вводят путем непрерывной внутривенной инфузии в течение 5 суток при суточной дозе 40 мг/м².

В некоторых воплощениях данного изобретения доза (например, суточная доза) одного или более обезболивающих агентов (например, морфина) снижается со временем, например на протяжении всего времени лечения, на протяжении цикла лечения, на протяжении периода лечения антителами в пределах цикла лечения, изо дня в день в те дни цикла лечения, когда вводятся антитела, и/или с каждым следующим циклом лечения. Примеры такого сокращения дозы морфина приведены в табл. 9. Так, доза морфина может быть снижена на 10% по истечении 9-го дня третьего цикла лечения, а именно с 28 до 18% стандартной скорости инфузии (которая составляет в этом примере 30 мг/кг/ч) или с 8,1 до 4,53 мг/кг/ч или с 0,19 до 0,11 мг/кг/ч. В некоторых воплощениях данного изобретения дозу морфина снижают непрерывно на протяжении цикла лечения, в течение периода лечения антителами в пределах цикла лечения и/или изо дня в день в те дни цикла лечения, когда вводятся антитела.

Например, обычные дозы морфина, вводимые до и/или в ходе периода лечения путем не непрерывной инфузии (или болюсной инфузии, т.е. инфузии в течение менее 24 ч в сутки) препарата, содержащего антитела против GD2, приведены в табл. 1. В этом примере делается 5 циклов введения препарата ch14.18/CHO (APN311) путем инфузии продолжительностью 8 ч в сутки на протяжении 5 суток подряд в дозе 20 мг/м²/сут (т.е. за один цикл вводится 100 мг/м²) и каждый день, когда вводятся антитела, вводят морфина гидрохлорид перед началом инфузии APN311 в течение 2 ч в болюсной дозе 0,05 мг/кг/ч, в ходе инфузии APN311 в течение 8 ч со скоростью инфузии 0,03 мг/кг/ч, в промежутке со скоростью инфузии 0,01 мг/кг/ч в течение 14 ч в первые сутки лечения APN311 и в течение 4 ч в последующие дни лечения APN311 при условии переносимости (с интервалом в 10 ч без морфина). В случае необходимости дозу морфина увеличивали (например, увеличивали скорость инфузии во время инфузии антител) и/или вводили дополнительные болюсные дозы. Назначаемая доза морфина составляла по меньшей мере 0,38 мг/кг/сут, по меньшей мере 2 мг/кг на один цикл лечения (включающий 5 суток введения антител) и по меньшей мере 10 мг/кг на все время лечения (включающего три цикла).

В некоторых воплощениях данного изобретения использовались одна или более суточных доз морфина, и/или одна или более скоростей инфузии морфина, и/или одна или более долей (в процентах) от стандартных доз морфина, приведенные в табл. 9. Например, в одном из воплощений данного изобретения доля (в процентах) от стандартной дозы морфина, введенная на 12-е сутки первого цикла лечения, составляет 41%, скорость инфузии морфина на 12-е сутки первого цикла лечения составляет 12,26 мг/кг/ч, суточная доза морфина на 12-е сутки первого цикла лечения составляет 0,29 мг/кг.

Таблица 1

Схема введения морфина

Растворить 10 мг морфина в 40 мл 5%-ного раствора глюкозы (0,25 мг = 1 мл)

	Продолжительность инфузии морфина (ч)	Скорость инфузии морфина (мг/кг/ч)	Доза морфина (мг/кг)
Предварительная инфузия	2	0,05	0,1
Инфузия в ходе лечения APN311	8	0,03	0,24
Инфузия в промежутке между периодами введения антител	14 или 4	0,01	0,14 или 0,04
Суммарная доза за сутки лечения (мг/кг/24 ч)			0,48 или 0,38

В другом примере APN311 вводят путем инфузии 8 ч в сутки 5 суток подряд, делая три таких цикла; при этом дозировка следующая: 10, 20 и 30 мг/м²/сут и 50, 100, 150 мг/м²/цикл. В каждый день лечения антителами вводят морфина гидрохлорид в болюсной дозе 0,5-1,0 мг/кг/прием (непосредственно перед началом инфузии антител) и путем непрерывной инфузии со скоростью 0,05 мг/кг/ч в процессе инфузии APN311. При необходимости дозу морфина увеличивают (например, увеличивают скорость инфузии в процессе инфузии антител) и/или вводят дополнительную болюсную дозу. Таким образом, назначаемая доза морфина составляет по меньшей мере 0,9 мг/кг/сут, по меньшей мере 4,5 мг/кг на один цикл лечения (включающий 5 суток введения антител) и по меньшей мере 13,5 мг/кг на все время лечения (включающее три цикла).

В других примерах, когда инфузия ch14.18 не непрерывная (или болюсная), морфин вводят со ско-

ростью инфузии до 1,2 мг/кг/ч на протяжении 24 ч.

В другом примере вводят ch14.18/Sp2/0 в дозировке 25 мг/м²/сут четверо суток подряд. Каждая доза ch14.18/Sp2/0 вводится путем внутривенной инфузии на протяжении 5,75 ч, начиная с 1,25 мг/м²/ч×0,5 ч, затем 2,5 мг/м²/ч×0,5 ч, затем 3,75 мг/м²/ч×0,5 ч, затем до 5 мг/м²/ч на оставшуюся дозу, при условии переносимости пациентом. В указанном примере каждый цикл лечения начинается в День 0, причем День 0 цикла лечения является первым днем лечения цитокином.

Таблица 2

Схема пяти циклов введения ch14.18/Sp2/0, цитокинов и изотретиноина (ретиноевой кислоты, RA)

Цикл 1	Цикл 2	Цикл 3	Цикл 4	Цикл 5
Ch14.18	Ch14.18	Ch14.18	Ch14.18	Ch14.18
GM-CSF	Алдеслейкин (IL-2)	GM-CSF	Алдеслейкин (IL-2)	GM-CSF
RA	RA	RA	RA	RA

Лечение Ch14.18/SP2/0 проводится каждые 28 суток в дозировке 25 мг/м²/сут на протяжении четырех суток подряд; таких циклов делается пять. GM-CSF вводят в дозировке 250 мкг/м²/сут в течение 14 суток; алдеслейкин (IL-2) - в дозировке 3 мМЕ/м²/сут в первую неделю и 4,5 мМЕ/м²/сут во вторую неделю.

Таблица 3

Схема лечения для циклов с GM-CSF

Day	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14-23	24
GM-CSF	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		Начало
ch14.18				↑	↑	↑	↑									Цикл 2 и 4
RA											↑	↑	↑	↑	↑	

Примечание. В варианте приведенной выше схемы лечение ретиноевой кислотой (RA) начинается на 11-й день первого цикла, но по схеме на 10-й день третьего и четвертого циклов. Соответственно, в варианте приведенной выше схемы лечения 24-й день первого цикла является последним днем лечения ретиноевой кислотой первого цикла.

GM-CSF вводят в дозировке 250 мкг/м²/сут путем подкожной инъекции (наиболее рекомендуемый путь введения) или внутривенной инфузии в течение 2 ч в сутки начиная со Дня 0 и по 13-й день включительно (ежедневно в ходе инфузии ch14.18/SP2/0, а также в течение 3 дней до и 7 дней после лечения антителами).

Таблица 4

Схема лечения для циклов с алдеслейкином (IL-2)

День	0	1	2	3	4-6	7	8	9	10	11-13	14	15	16	17	18-27
IL-2	X	X	X	X		X	X	X	X						
ch14.18						↑	↑	↑	↑						
RA											↑	↑	↑	↑	↑

В дни 28-31 циклов с алдеслейкином лечебных агентов не вводится. В день 32 начинается следующий цикл (с GM-CSF), т.е. День 32 = День 0 следующего цикла.

Алдеслейкин (интерлейкин-2, IL-2) вводится в дозировке 3 мМЕ/м²/сут путем непрерывной инфузии (с помощью амбулаторного инфузионного насоса CADD® или аналогичного приспособления) в течение 4 суток (Дни 0-3) в первую неделю каждого цикла. На протяжении второй недели каждого цикла алдеслейкин (IL-2) вводится в дозировке 4,5 мМЕ/м²/сут в течение 4 суток (Дни 7-10, в ходе инфузии ch14.18/SP2/0). Непрерывная внутривенная инфузия алдеслейкина проводится на протяжении 96 ч через катетер с помощью амбулаторного инфузионного насоса в 5%-ном водном растворе декстрозы (который при необходимости может содержать 0,1% человеческого сывороточного альбумина); суммарный объем зависит от насоса.

Спустя 14 суток без введения лечебных агентов может быть добавлен шестой цикл лечения (начиная с 24-го дня пятого цикла, который становится Днем 0 шестого цикла), после чего на протяжении 14 суток вводят только изотретиноин.

В указанном примере за 20 мин до начала инфузии ch14.18/SP2/0 вводят внутривенно в течение 10 мин гидроксизин (1 мг/кг; максимальная доза 50 мг) или дифенгидрамин (0,5-1,0 мг/кг; максимальная доза 50 мг) и за 20 мин до начала инфузии ch14.18/SP2/0 дают перорально ацетаминофен (10 мг/кг; максимальная доза 650 мг) и/или непосредственно перед введением ch14.18/SP2/0 вводят ударную дозу морфина сульфата (50 мкг/кг), затем вводят морфина сульфат капельно со скоростью инфузии 20-50 мкг/кг/ч, продолжая такое введение в течение 2 ч после завершения инфузии ch14.18/SP2/0. Кроме этого, можно использовать другие наркотические препараты, например гидроморфон или фентанил, или

же при необходимости делают инфузию лидокаина в сочетании с болюсным внутривенным введением морфина. Рекомендации по инфузии лидокаина приведены ниже.

Введение лидокаина:

а) за 30 мин до начала инфузии ch14.18/SP2/0 вводят лидокаин внутривенно в болюсной дозе 2 мг/кг в 50 см³ нормального физиологического раствора (NS);

б) вместе с началом инфузии ch14.18/SP2/0 начинают внутривенную инфузию лидокаина со скоростью 1 мг/кг/ч и продолжают такое введение 2 ч после завершения инфузии ch14.18/SP2/0;

с) при необходимости вводят морфин внутривенно в болюсной дозе 25-50 мкг/кг каждые 2 ч.

В указанном примере можно также вводить габапентин одновременно с ударной дозой морфина, а морфин вводить путем инфузии или болюсно по мере необходимости; можно начать с дозировки габапентина 10 мг/кг/сут и постепенно повышать ее до 30-60 мг/кг/сут в зависимости от клинического ответа пациента.

В указанном примере при необходимости введение доз гидроксизина (или дифенгидрамина) и ацетаминифена можно повторять каждые 6 ч (внутривенно или перорально).

В указанном примере в ходе инфузии ch14.18/SP2/0 для купирования нейропатической боли можно вводить дополнительные дозы морфина, после чего увеличивать скорость инфузии сульфата морфина, однако при этом следует внимательно наблюдать за состоянием больного. Если переносимость морфина плохая (например, пациент страдает от зуда), морфин можно заменить фентанилом или гидроморфоном или же при необходимости с внутривенным болюсным введением морфина можно сочетать инфузию лидокаина.

Термин "доза морфина" в настоящем документе относится к количеству морфина (в миллиграммах или микрограммах) на 1 кг массы тела пациента. Если речь идет о суточной дозе морфина, то это количество морфина (в миллиграммах или микрограммах) на 1 кг массы тела пациента, полученное им за сутки; если указана доза морфина в час, то это количество морфина (в миллиграммах или микрограммах) на 1 кг массы тела пациента, полученное им за 1 ч (или скорость инфузии морфина); если указана доза морфина за цикл лечения, то это количество морфина (в миллиграммах или микрограммах) на 1 кг массы тела пациента, полученное им за один цикл лечения; если указана доза морфина за все время лечения, то это количество морфина (в миллиграммах или микрограммах) на 1 кг массы тела пациента, полученное им за все время лечения.

В некоторых воплощениях данного изобретения суточная доза морфина, вводимая на протяжении одних или более суток непрерывной внутривенной инфузии антител по данному изобретению и/или на протяжении всех дней лечения морфином, ниже, чем суточная доза морфина, вводимая в ходе не непрерывного введения антител, например, в одном или более примерах, описанных выше. В некоторых воплощениях данного изобретения суточная доза морфина во время непрерывной инфузии антител в первый цикл лечения составляет 80% или менее от дозы морфина, вводимой или назначаемой в случае не непрерывной инфузии антител, во второй цикл лечения - 58% или менее, в третий цикл лечения - 57% или менее, в четвертый цикл лечения - 42% или менее, в пятый цикл лечения - 34% или менее. В одном из воплощений данного изобретения суточная доза морфина, вводимая во время лечения антителами по данному изобретению, ниже, чем суточная доза морфина, вводимая во время лечения антителами, когда их вводят путем непрерывной внутривенной инфузии в течение 5 суток в суточной дозе 40 мг/м². В некоторых воплощениях данного изобретения суточная доза морфина, вводимая на протяжении одних или более суток непрерывной внутривенной инфузии антител по данному изобретению и/или на протяжении всех дней лечения морфином, меньше, чем 0,9; 0,72; 0,48; 0,38; 0,4375 и/или 0,205 мг/кг/сут.

В некоторых воплощениях данного изобретения суточная доза морфина, вводимая на пятый, шестой, седьмой, восьмой, девятый и/или десятый день введения антител в первый цикл лечения (когда применяется непрерывная внутривенная инфузия антител по данному изобретению), ниже, чем суточная доза морфина, вводимая при не непрерывной инфузии, например, составляет 78% или меньше. В некоторых воплощениях данного изобретения доза морфина, вводимая в указанный день и в любой из последующих дней данного цикла лечения и/или всего времени лечения, ниже, чем суточная доза морфина, вводимая при не непрерывной инфузии. В некоторых воплощениях данного изобретения суточная доза морфина, вводимая на третий, четвертый, пятый, шестой, седьмой, восьмой, девятый и/или десятый день введения антител во второй цикл лечения (когда применяется непрерывная внутривенная инфузия антител по данному изобретению), ниже, чем суточная доза морфина, вводимая при не непрерывной инфузии, например, составляет 60% или меньше. В некоторых воплощениях данного изобретения доза морфина, вводимая в указанный день и в любой из последующих дней данного цикла лечения и/или всего времени лечения, ниже, чем суточная доза морфина, вводимая при не непрерывной инфузии. В некоторых воплощениях данного изобретения суточная доза морфина, вводимая в первый день введения антител в третий и в любой из последующих цикл лечения (когда применяется непрерывная внутривенная инфузия антител по данному изобретению), ниже, чем суточная доза морфина, вводимая при не непрерывной инфузии, например, составляет 57% или меньше. В некоторых воплощениях данного изобретения доза морфина, вводимая в указанный день и в любой из последующих дней данного цикла лечения и/или всего времени лечения, ниже, чем суточная доза морфина, вводимая при не непрерывной инфузии.

В некоторых воплощениях данного изобретения морфин вводят не во все те дни, когда вводятся антитела, например морфин вводят только в первые 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 суток непрерывной инфузии антител, например во втором, третьем, четвертом и/или пятом циклах. В некоторых воплощениях данного изобретения в шестом цикле непрерывной инфузии антител морфин не вводят.

В некоторых воплощениях данного изобретения скорость инфузии морфина, т.е. количество морфина, получаемое пациентом в расчете на 1 кг его массы тела (или доза морфина) за 1 ч на протяжении 1 ч или более или дней непрерывной внутривенной инфузии антител по данному изобретению и/или на протяжении всех часов или дней лечения морфином, меньше, чем стандартная скорость инфузии морфина, назначаемая по указанной схеме, и/или скорость инфузии морфина в период не непрерывного введения антител в описанном выше примере, например, составляет 96% или менее на второй день, 84% или менее на третий день, 65% или менее на четвертый день, 41% или менее на пятый день, 14% на шестой день, 5% или менее на седьмой день, 3% на восьмой день, 2% или менее на девятый день и/или 1% на десятый день первого цикла лечения, 72% или менее в течение второго цикла лечения, 30% или менее в течение третьего цикла лечения, 22% или менее в течение четвертого цикла лечения, 18% или менее в течение пятого цикла лечения. В некоторых воплощениях данного изобретения скорость инфузии морфина, вводимого на протяжении одного или более дней непрерывной внутривенной инфузии антител по данному изобретению и/или на протяжении всех дней лечения морфином, меньше, чем 50, 40, 30, 20, 10 и/или 5 мкг/кг/ч, и/или любой диапазон между этими скоростями инфузии. В некоторых воплощениях данного изобретения скорость инфузии морфина, вводимого на протяжении одного или более дней непрерывной внутривенной инфузии антител по данному изобретению и/или на протяжении всех дней лечения морфином, меньше чем 30 мкг/кг/ч в первом цикле лечения и при необходимости в любом из последующих циклов; меньше 22 мкг/кг/ч во втором цикле лечения и при необходимости в любом из последующих циклов; меньше чем 10 мкг/кг/ч в третьем цикле лечения и при необходимости в любом из последующих циклов; меньше чем 7 мкг/кг/ч в четвертом цикле лечения и при необходимости в любом из последующих циклов; меньше чем 6 мкг/кг/ч в пятом цикле лечения и при необходимости в любом из последующих циклов.

В некоторых воплощениях данного изобретения доза морфина за один цикл лечения, вводимого на протяжении одного или более циклов лечения, включающих непрерывное внутривенное введение антител по данному изобретению, ниже, чем доза морфина за один цикл лечения при не непрерывной инфузии, например составляет 66% или менее в первом цикле лечения; 64% или менее или 28% или менее во втором цикле лечения; 29% или менее или 13% или менее в третьем цикле лечения; 16% или менее или 7% или менее в четвертом цикле лечения и/или 15% или менее или 6% или менее в пятом цикле лечения. В некоторых воплощениях данного изобретения доза морфина за один цикл лечения во втором цикле лечения и в любом из последующих циклов, вводимого на протяжении одного или более циклов лечения, включающих непрерывное внутривенное введение антител по данному изобретению, ниже, чем доза морфина за один цикл лечения при не непрерывной инфузии. В некоторых воплощениях данного изобретения доза морфина в указанном цикле лечения и в любом из последующих циклов и/или во всем периоде лечения ниже, чем доза морфина за один цикл лечения при не непрерывной инфузии. В некоторых воплощениях данного изобретения доза морфина за один цикл лечения, вводимого на протяжении одного или более циклов, включающих непрерывную внутривенную инфузию антител по данному изобретению, меньше чем 7,2; 4,8; 4,5; 2; 1,75 и/или 0,82 мг/кг/цикл или любой диапазон между этими дозами.

В некоторых воплощениях данного изобретения доза морфина за все время лечения (с применением непрерывной внутривенной инфузии антител по данному изобретению) меньше, чем доза морфина за все время лечения при не непрерывной инфузии. В одном из воплощений данного изобретения доза морфина за все время лечения (с применением непрерывной внутривенной инфузии антител по данному изобретению) составляет 55% или менее, 50% или менее, 45% или менее или 40% или менее от дозы морфина за все время лечения при не непрерывной инфузии. В некоторых воплощениях данного изобретения доза морфина за все время лечения (с применением непрерывной внутривенной инфузии антител по данному изобретению) меньше чем 43,2; 28,8; 13,5; 10; 8,75 и/или 4,1 мг/кг/все время лечения и/или любой диапазон между этими дозами.

В некоторых воплощениях данного изобретения дозы морфина, используемые при не непрерывной инфузии и в настоящем документе взятые для сравнения с дозами морфина, используемыми при непрерывной инфузии по данному изобретению, относятся к стандартным дозам морфина при указанной схеме введения или к дозам морфина, назначаемым по указанной схеме (например, как приведено в протоколах клинических исследований). В некоторых воплощениях данного изобретения дозы морфина, в настоящем документе взятые для сравнения, относятся к дозе морфина, вводимой в первые сутки лечения препаратом, содержащим антитела против GD2, в цикле лечения с непрерывной и/или не непрерывной инфузией антител, и называется стартовой дозой морфина.

Соответственно термин "доза морфина, взятая для сравнения" в настоящем документе включает дозы морфина при схемах лечения, отличных от предлагаемых по данному изобретению, и/или стартовые дозы морфина; этот термин также охватывает все примеры тех доз морфина, которые в настоящем документе взяты для сравнения с другими дозами морфина, используемыми в схемах лечения с непрерывной

инфузией по данному изобретению.

В некоторых воплощениях данного изобретения взятая для сравнения доза морфина за 1 ч инфузии, т.е. взятая для сравнения скорость инфузии, на протяжении периода введения антител составляет 50 мкг/кг/ч. В некоторых воплощениях данного изобретения взятая для сравнения доза морфина за 1 ч инфузии, т.е. взятая для сравнения скорость инфузии, на протяжении периода введения антител составляет 30 мкг/кг/ч. В некоторых воплощениях данного изобретения взятая для сравнения доза морфина составляет 50, 40, 30 и/или 20 мкг/кг/ч. В некоторых воплощениях данного изобретения взятая для сравнения доза морфина составляет 0,9; 0,72; 0,48; 0,38; 0,4375 и/или 0,205 мг/кг/сут. В некоторых воплощениях данного изобретения взятая для сравнения доза морфина составляет 7,2; 4,8; 4,5; 2; 1,75 и/или 0,82 мг/кг/цикл. В некоторых воплощениях данного изобретения взятая для сравнения доза морфина составляет 43,2; 28,8; 13,5; 10; 8,75 и/или 4,1 мг/кг/все время лечения. В некоторых воплощениях данного изобретения взятая для сравнения доза индометацина составляет 0,3-0,5 мг/кг/прием, или 25, или 50 мг/прием (пероральное или внутривенное введение каждые 6 ч). В некоторых воплощениях данного изобретения взятая для сравнения доза морфина при не непрерывной инфузии, которая, как говорилось выше, используется для сравнения с дозами морфина при непрерывной инфузии по данному изобретению, относится к дозам морфина, которые фактически получают пациенты (например, относительное среднее значение доз морфина, вводимых всем получающим лечение пациентам в клиническом исследовании).

Дозы морфина при схеме лечения с непрерывной инфузией по данному изобретению, сравниваемые в настоящем документе с дозами морфина при не непрерывной инфузии, могут относиться к стандартным дозам морфина в указанной схеме лечения или к дозам морфина, назначаемым по указанной схеме лечения (например, предписанных протоколом клинического исследования). В некоторых воплощениях данного изобретения доза морфина за 1 ч инфузии, т.е. скорость инфузии, на протяжении одного или более часов или дней, в которые осуществляется непрерывное введение антител, ниже чем 50 мкг/кг/ч. В некоторых воплощениях данного изобретения доза морфина за 1 ч инфузии, т.е. скорость инфузии, на протяжении одного или более часов или дней, в которые осуществляется непрерывное введение антител, ниже чем 30 мкг/кг/ч. В некоторых воплощениях данного изобретения дозы морфина при непрерывной инфузии по данному изобретению, которые выше сравниваются с дозами морфина при не непрерывной инфузии, относятся к дозам морфина, которые фактически получают пациенты (например, относительное среднее значение доз морфина, вводимых всем получающим лечение пациентам в клиническом исследовании).

Вообще говоря, индивидуальные дозы обезболивающих агентов могут варьировать в зависимости от того, как данный пациент переносит боль. Дозировку можно подбирать так, чтобы добиться максимального обезболивания.

Период лечения препаратом, содержащим антитела против GD2, можно сочетать с одним или более периодами лечения цитокином, с одним или более периодами лечения ретиноидом и/или с одним или более периодами лечения обезболивающими агентами. В одном воплощении данного изобретения период лечения препаратом, содержащим антитела против GD2, в сочетании с одним или более периодами другого лечения представлял один цикл лечения.

В одном из воплощений данного изобретения больной, получающий лечение способом по данному изобретению, также получает гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), интерлейкин-2 (IL-2) и/или изотретиноин и при необходимости морфин, и/или одно или более производных морфина, и/или один или более других обезболивающих агентов. В одном из воплощений данного изобретения периоду лечения препаратом, содержащим антитела против GD2, предшествует период лечения цитокином. В одном из воплощений данного изобретения период лечения препаратом, содержащим антитела против GD2, сопровождается периодом лечения цитокином. В одном из воплощений данного изобретения период лечения препаратом, содержащим антитела против GD2, следует за периодом лечения цитокином и сопровождается еще одним периодом лечения цитокином.

Под периодом лечения определенным препаратом или воздействием в настоящем документе понимается промежуток времени, в течение которого пациент получает указанный препарат или воздействие, т.е. период времени, состоящий из последовательных дней лечения. Например, если препарат, содержащий цитокин, вводится на протяжении 5 дней подряд, после чего один или более дней препарат, содержащий цитокин, не вводится, то период лечения препаратом, содержащим цитокин, составляет 5 суток. В другом примере, если препарат, содержащий антитела против GD2, вводится непрерывно 24 ч в сутки на протяжении 10 дней подряд, после чего один или более дней препарат, содержащий антитела против GD2, не вводится, то период лечения препаратом, содержащим антитела против GD2, составляет 10 суток. В другом примере, если изотретиноин вводится два раза в день на протяжении 14 дней, после чего один или более дней изотретиноин не вводится, то период лечения изотретиноином составляет 14 суток. Любые такие периоды лечения могут повторяться и/или перекрываться. Например, схема лечения, представленная на фиг. 8 и 9, включает два периода лечения интерлейкином-2 продолжительностью 5 суток каждый и второй период перекрывается с периодом лечения ch14.18 (APN311) продолжительностью 10 суток (или 14, или 15 или 21 сутки), после чего следует период лечения изотретиноином продолжи-

тельностью 14 суток.

Выражения "сочетается/комбинируется" или "сочетание/комбинация" в настоящем документе применительно к периодам лечения означают, что два или более периода лечения одинаковыми и/или разными препаратами или воздействиями входят в один цикл лечения. Указанные два или более периода лечения разными препаратами или воздействиями могут частично или полностью перекрываться или же не перекрываются. Любые такие периоды лечения могут быть разделены промежутками времени, когда лечение одинаковыми и/или разными препаратами или воздействиями не проводится.

Термин "цикл лечения" в настоящем документе означает курс одного или более видов лечения или периодов лечения, которые повторяются в определенном порядке, чередуясь с периодами отсутствия лечения. Например, лечение, проводимое в течение одной недели, после чего следуют три недели перерыва, составляет один цикл лечения. В одном из воплощений данного изобретения один цикл лечения включает один период лечения препаратом, содержащим антитела против GD2. Этот цикл лечения при необходимости может также включать один или более периодов лечения цитокином, один или более периодов лечения ретиноидом и/или один или более периодов лечения обезболивающими агентами.

В одном из воплощений данного изобретения один цикл лечения включает 28-49 суток, например 28, 35, 42 или 49 суток или любой диапазон между этими периодами. Цикл лечения начинается с того дня, когда больной первый раз получает любой препарат или воздействие из числа входящих в указанный цикл лечения (день 1), например введение препарата, содержащего антитела против GD2, и/или цитокин, и/или любой другой препарат или воздействие.

За периодом лечения антителами против GD2 и/или цитокином может следовать период лечения ретиноидом (например, изотретиноином), который наступает сразу после или же с интервалом продолжительностью один или более дней, когда никакое лечение не проводится, например 1, 2, 3, 4 или 5 дней без лечения. В одном из воплощений данного изобретения изотретиноин вводят перорально два раза в сутки в дозе 160 мг/м²/сут на протяжении 14 суток, например с 19- по 32-й день цикла лечения. За периодом лечения изотретиноином может следовать промежуток времени продолжительностью один или более дней, когда лечение не проводится, например 1, 2, 3, 4 или 5 суток без лечения.

В одном из воплощений данного изобретения цикл лечения включает два периода лечения цитокином продолжительностью 5 суток каждый (например, цитокин вводится с 1- по 5-й день и с 8- по 12-й день цикла лечения), один период лечения антителами против GD2 продолжительностью 10 суток (например, с 8- по 17-й день цикла вводят 10 или 15 мг/м²/сут, чтобы за весь цикл пациент получил 100 или 150 мг/м²/цикл) и один период лечения изотретиноином продолжительностью 14 суток (например, изотретиноин вводят с 19- по 32-й день цикла лечения), после чего в течение 3 суток лечение не проводится, а на 36-й день начинается следующий цикл (т.е. 36-й день первого цикла является первым днем второго).

В одном из воплощений данного изобретения цикл лечения включает два периода лечения цитокином продолжительностью 5 суток каждый (например, цитокин вводится с 1- по 5-й день и с 8- по 12-й день цикла лечения), один период лечения антителами против GD2 продолжительностью 14 суток (например, с 8- по 21-й день цикла вводят 7 или 15 мг/м²/сут, чтобы за весь цикл пациент получил 100 или 210 мг/м²/цикл) и один период лечения изотретиноином продолжительностью 14 суток (например, изотретиноин вводят с 26- по 39-й день цикла лечения), после чего в течение 3 суток лечение не проводится, а на 43-й день начинается следующий цикл (т.е. 43-й день первого цикла является первым днем второго).

В одном из воплощений данного изобретения цикл лечения включает два периода лечения цитокином продолжительностью 5 суток каждый (например, цитокин вводится с 1- по 5-й день и с 8- по 12-й день цикла лечения) один период лечения антителами против GD2 продолжительностью 15 суток (например, с 8- по 22-й день цикла вводят 10 мг/м²/сут, чтобы за весь цикл пациент получил 150 мг/м²/цикл) и один период лечения изотретиноином продолжительностью 14 суток (например, изотретиноин вводят с 26- по 39-й день цикла лечения), после чего в течение 3 суток лечение не проводится, а на 43-й день начинается следующий цикл (т.е. 43-й день первого цикла является первым днем второго).

В одном из воплощений данного изобретения цикл лечения включает два периода лечения цитокином продолжительностью 5 суток каждый (например, цитокин вводится с 1- по 5-й день и с 8- по 12-й день цикла лечения) один период лечения антителами против GD2 продолжительностью 21 сутки (например, с 8- по 28-й день цикла вводят 7, или 10, или 15 мг/м²/сут, чтобы за весь цикл пациент получил 150 или 210 мг/м²/цикл) и один период лечения изотретиноином продолжительностью 14 суток (например, изотретиноин вводят с 33- по 46-й день цикла лечения), после чего в течение 3 суток лечение не проводится, а на 50-й день начинается следующий цикл (т.е. 50-й день первого цикла является первым днем второго).

В одном из воплощений данного изобретения цикл лечения включает один период лечения иммуноцитоклином (например, APN301) продолжительностью 3 суток (например, иммуноцитоклин вводится с 4- по 6-й день цикла лечения), два периода лечения цитокином (например, GM-CSF, который вводится, например, в 1- и 2- и с 8- по 14-й дни цикла лечения) и один период лечения изотретиноином продолжительностью 14 суток (например, изотретиноин вводят с 11- по 24-й день цикла лечения), после чего в течение 4 суток лечение не проводится, а на 29-й день начинается следующий цикл (т.е. 29-й день первого цикла является первым днем второго).

В одном из воплощений данного изобретения цикл лечения включает один период лечения препаратом, содержащим антитела против GD2 (например, ch14.18/SP2/0) продолжительностью 4 суток (например, указанный препарат вводят в дозе 25 мг/м²/сут с 3-го по 6-й день 24-дневного цикла лечения, начинающегося в день 0 (если в качестве цитокина используется GM-CSF), или с 7- по 10-й день 32-дневного цикла лечения, начинающегося в день 0 (если в качестве цитокина используется интерлейкин-2), на протяжении пяти циклов (например, в первом цикле используется GM-CSF, во втором - интерлейкин-2, в третьем - GM-CSF, в четвертом - интерлейкин-2 и в пятом - GM-CSF); один или два периода лечения цитокином (например, когда вводят GM-CSF в дозе 250 мкг/м²/сут на протяжении 14 суток с 0- по 13-й день цикла лечения, начинающегося в день 0; или алдеслейкин в дозе 3 мМЕ/м²/сут с 0- по 3-й день и в дозе 4,5 мМЕ/м²/сут с 7- по 10-й день цикла лечения, начинающегося в день 0, и один период лечения ретиноевой кислотой (например, вводится изотретиноин с 10- по 23-й день цикла лечения, начинающегося в день 0 (если в качестве цитокина используется GM-CSF) или с 14- по 27-й день цикла лечения, начинающегося в день 0 (если в качестве цитокина используется интерлейкин-2)). В одном из воплощений данного изобретения применяется схема лечения, приведенная в табл. 2, 3 и/или 4.

Цикл лечения можно повторять; повторный цикл лечения может быть таким же, как первый, или измененным, например используются другие дозы или режим введения, или дополнительно применяются какие-либо другие воздействия (например, используются один или более других цитокинов). Таким образом, общее (суммарное) время лечения (т.е. промежуток времени, включающий все последовательные циклы лечения, или суммарное время непрерывного лечения) может включать по меньшей мере 1, или 2, или более циклов, или до 10 циклов. В одном из воплощений данного изобретения общее время лечения включает 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 циклов. Как говорилось выше, циклы лечения могут включать периоды, когда лечение не проводится (промежутки времени, когда пациент не получает никакого воздействия, т.е. ему не вводят антител, цитокинов или каких-либо иных препаратов). Таким образом, в настоящем документе общее время лечения может включать также указанные периоды отсутствия воздействия в пределах циклов лечения.

В одном из воплощений данного изобретения цикл лечения продолжительностью 35, 42 или 49 суток повторяется, как говорилось выше, 4 или 5 раз, так что суммарное время непрерывного лечения включает 5 или 6 циклов.

Предпочтительно данное изобретение определяется следующим образом:

Определение 1. Способ лечения GD2-положительного рака путем введения больному препарата, содержащего антитела против GD2, путем непрерывной внутривенной инфузии 24 ч в сутки.

Определение 2. Способ по определению 1, в котором препарат, содержащий антитела против GD2, вводят больному в дозе, достаточной, чтобы вызвать лизис опухолевых клеток (цитолитическая пороговая доза).

Определение 3. Способ по определению 2, в котором цитолитическую пороговую дозу определяют индивидуально для каждого пациента.

Определение 4. Способ по определению 2 или 3, в котором цитолитическую пороговую дозу устанавливают путем определения комплемент-зависимого цитолиза.

Определение 5. Способ по определению 2 или 3, в котором цитолитическую пороговую дозу определяют путем анализа цельной крови.

Определение 6. Способ по любому из определений 1-5, в котором цитолитическая пороговая доза - это доза, которая при специфичном определении комплемент-зависимого цитолиза или при анализе цельной крови вызывает лизис клеток-мишеней по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 25%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 35%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или на 100% от максимально возможного при данном методе анализа.

Определение 7. Способ по любому из определений 1-6, в котором цитолитическая пороговая доза - это доза, которая при специфичном определении комплемент-зависимого цитолиза или при анализе цельной крови вызывает лизис клеток-мишеней на 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или на 100% от максимально возможного при данном методе анализа.

Определение 8. Способ по любому из определений 1-7, в котором цитолитическая пороговая доза составляет 470-1000, 470-10 000, 1410-3000 или 2350-5000 нг/мл сыворотки или плазмы крови.

Определение 9. Способ по любому из определений 1-8, в котором цитолитическая пороговая доза составляет 2-250, 2-2500, 2-100, 5-200, 6-750, 6-7500, 10-1250, 10-12 500, 6-300, 10-500, 15-600 или 25-1000 нг/мл цельной крови.

Определение 10. Способ по любому из определений 1-9, в котором препарат, содержащий антитела против GD2, вводится больному в дозе для достижения цитолитической пороговой дозы в сыворотке, плазме или цельной крови за 1, 2, 3 или 4 дня лечения препаратом, содержащим антитела против GD2.

Определение 11. Способ по любому из определений 1-10, в котором цитолитическая пороговая доза поддерживается в течение даже тех одного или более периодов в пределах общего времени лечения, ко-

гда пациент не получает препарата, содержащего антитела против GD2.

Определение 12. Способ по любому из определений 1-11, в котором определенный уровень цитолиза поддерживается на протяжении всего цикла лечения.

Определение 13. Способ по любому из определений 1-12, в котором определенный уровень цитолиза поддерживается на протяжении всего времени лечения.

Определение 14. Способ по любому из определений 1-13, в котором препарат, содержащий антитела против GD2, вводится в суточной дозе 1-30, 1-35, 1-50 или 1-60 мг/м².

Определение 15. Способ по любому из определений 1-14, в котором препарат, содержащий антитела против GD2, вводится в суточной дозе 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 7.5, 8, 9, 10, 12, 15, 20, 25, 30, 32, 35, 40, 45, 50 или 60 мг/м².

Определение 16. Способ по любому из определений 1-15, в котором препарат, содержащий антитела против GD2, вводится в течение периода лечения до тех пор, пока не будет введена вся предварительно установленная для данного пациента суммарная доза.

Определение 17. Способ по любому из определений 1-16, в котором препарат, содержащий антитела против GD2, вводится в течение периода лечения до тех пор, пока не будет достигнут определенный терапевтический эффект.

Определение 18. Способ по любому из определений 1-17, в котором препарат, содержащий антитела против GD2, вводится с помощью мини-насоса.

Определение 19. Способ по любому из определений 1-18, в котором антитела против GD2 являются химерными или гуманизированными.

Определение 20. Способ по любому из определений 1-19, в котором антитела против GD2 являются ch14.18/CHO или ch14.18/SP2/0.

Определение 21. Способ по любому из определений 1-20, в котором препарат, содержащий антитела против GD2, является APN311 или APN301.

Определение 22. Способ по любому из определений 1-21, в котором препарат, содержащий антитела против GD2, вводится в дозе 7, 10, 15 или 25 мг/м²/сут.

Определение 23. Способ по любому из определений 1-22, в котором препарат, содержащий антитела против GD2, вводится на протяжении 4, 10, 14, 15 или 21 суток подряд.

Определение 24. Способ по любому из определений 1-23, в котором препарат, содержащий антитела против GD2, вводится в 3, 4, 5 или 6 циклах лечения.

Определение 25. Способ по любому из определений 1-24, в котором препарат, содержащий антитела против GD2, является APN311 и вводится в дозе 10 мг/м²/сут на протяжении 10 суток подряд в шести циклах лечения.

Определение 26. Способ по любому из определений 1-24, в котором антитела против GD2 являются ch14.18/SP2/0 и вводятся в дозе 25 мг/м²/сут на протяжении 4 суток подряд в пяти циклах лечения.

Определение 27. Способ по любому из определений 1-26, в котором введению препарата, содержащего антитела против GD2, предшествует введение интерлейкина-2 или гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, или другого цитокина и/или введение указанных антител сопровождается введением какого-либо из указанных цитокинов.

Определение 28. Способ по любому из определений 1-27, в котором за периодом введения препарата, содержащего антитела против GD2, может следовать период введения изотретиноина или другого ретиноида.

Определение 29. Способ по любому из определений 1-28, в котором введение препарата, содержащего антитела против GD2, сопровождается введением морфина и/или одного или более других обезболивающих агентов.

Определение 30. Способ по любому из определений 1-29, в котором суточная доза морфина, вводимая в те один или более дней, в которые делается непрерывная внутривенная инфузия антител по данному изобретению, и/или во все дни лечения морфином, ниже, чем суточная доза морфина при не непрерывном введении антител.

Определение 31. Способ по любому из определений 1-30, в котором морфин вводится только в некоторые, но не во все дни, когда вводятся антитела.

Определение 32. Способ по любому из определений 1-31, в котором доза морфина за цикл лечения, вводимая в один или более циклов лечения, включающих непрерывную внутривенную инфузию антител по данному изобретению, ниже, чем доза морфина за цикл лечения при не непрерывной инфузии.

Определение 33. Способ по любому из определений 1-32, в котором доза морфина за все время лечения ниже, чем доза морфина за все время лечения при не непрерывной инфузии.

Определение 34. Способ по любому из определений 1-33, в котором доза морфина, вводимая в те один или более часов или дней, в которые делается непрерывная внутривенная инфузия антител по данному изобретению, и/или во все часы или дни лечения морфином, ниже, чем 50 мкг/кг/ч, или ниже, чем 30 мкг/кг/ч.

Определение 35. Способ по любому из определений 1-34, в котором суточная доза морфина, вводимая в те один или более дней, в которые делается непрерывная внутривенная инфузия антител по данно-

му изобретению, и/или во все дни лечения морфином, ниже, чем 0,9; 0,72; 0,48; 0,38; 0,4375 и/или 0,205 мг/кг/сут.

Определение 36. Способ по любому из определений 1-35, в котором доза одного или более обезболивающих агентов, в частности морфина, снижается за все время лечения, за цикл лечения, на протяжении периода лечения антителами в пределах цикла лечения, от одного дня лечения антителами к следующему дню лечения антителами в пределах цикла лечения и/или от одного цикла лечения к следующему.

Определение 37. Способ по любому из определений 1-36, в котором доза морфина непрерывно снижается за цикл лечения, на протяжении периода лечения антителами в пределах цикла лечения и/или от одного дня лечения антителами к следующему дню лечения антителами в пределах цикла лечения.

Определение 38. Антитела против GD2 для применения в лечении по любому из определений 1-37.

Определение 39. Применение антител против GD2 при получении медикамента для лечения по любому из определений 1-37.

Примеры

Пример 1. Последовательности APN311 и APN301 и связанные с этим данные.

Данные по последовательности APN311.

Таблица 5

Молекулярная масса и pI (расчетные значения)

	pI ¹⁾	Мол. масса (дальтон) ¹⁾	Количество AS	Условия	2D-DIGE ²⁾
Антитело	8,61	144701,10	1324	не восстановительные	X
Антитело (1/2)	8,58	72359,56	662	восстановительные	X
Тяжелая цепь	8,58	48306,59	442	восстановительные	X
Легкая цепь	8,48	24070,98	220	восстановительные	X

¹⁾Рассчитано с помощью http://web.expasy.org/compute_pi/.

²⁾Из-за молекулярной массы красителей при двумерном дифференциальном гель-форезе (2D-DIDG) следует ожидать некоторого завышения значений молекулярной массы.

Нуклеотидная последовательность (кДНК, включая лидерную последовательность).

"TAG" действует как стоп-кодон и потому не транслируется при синтезе полипептида.

Легкая цепь (SEQ ID NO: 1):

```

61 GAA ATA GTG ATG ACG CAG TCT CCA GCC ACC CTG TCT GTG TCT CCA
GGG GAA AGA GCC ACC
121 CTC TCC TGC AGA TCT AGT CAG AGT CTT GTA CAC CGT AAT GGA AAC
ACC TAT TTA CAT TGG
181 TAC CTG CAG AAG CCA GGC CAG TCT CCA AAG CTC CTG ATT CAC
AAA GTT TCC AAC CGA TTT
241 TCT GGG GTC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGA TCA GGG ACA
GAT TTC ACA CTC AAG ATC
301 AGC AGA GTG GAG GCT GAG GAT CTG GGA GTT TAT TTC TGT TCT CAA
AGT ACA CAT GTT CCT
361 CCG CTC ACG TTC GGT GCT GGG ACC AAG CTG GAG CTG AAA CGA
ACT GTG GCT GCA CCA TCT
421 GTC TTC ATC TTC CCG CCA TCT GAT GAG CAG TTG AAA TCT GGA ACT
GCC TCT GTT GTG TGC
481 CTG CTG AAT AAC TTC TAT CCC AGA GAG GCC AAA GTA CAG TGG
AAG GTG GAT AAC GCC CTC
541 CAA TCG GGT AAC TCC CAG GAG AGT GTC ACA GAG CAG GAC AGC
AAG GAC AGC ACC TAC AGC
601 CTC AGC AGC ACC CTG ACG CTG AGC AAA GCA GAC TAC GAG AAA
CAC AAA GTC TAC GCC TGC
661 GAA GTC ACC CAT CAG GGC CTG AGC TCG CCC GTC ACA AAG AGC
TTC AAC AGG GGA GAG TGT

```

Тяжелая цепь (SEQ ID NO: 2)

61 GTC CAA CTG CTG CAG TCT GGA CCT GAG CTG GAG AAG CCT GGC GCT
 TCA GTG ATG ATA TCC
 121 TGC AAG GCT TCT GGT TCC TCA TTC ACT GGC TAC AAC ATG AAC TGG
 GTG AGG CAG AAC ATT
 181 GGA AAG AGC CTT GAA TGG ATT GGA GCT ATT GAT CCT TAC TAT GGT
 GGA ACT AGC TAC AAC
 241 CAG AAG TTC AAG GGC AGG GCC ACA TTG ACT GTA GAC AAA TCG
 TCC AGC ACA GCC TAC ATG
 301 CAC CTC AAG AGC CTG ACA TCT GAG GAC TCT GCA GTC TAT TAC TGT
 GTA AGC GGA ATG GAG
 361 TAC TGG GGT CAA GGA ACC TCA GTC ACC GTC TCC TCA GCC TCC ACC
 AAG GGC CCA TCG GTC
 421 TTC CCC CTG GCA CCC TCC TCC AAG AGC ACC TCT GGG GGC ACA GCG
 GCC CTG GGC TGC CTG
 481 GTC AAG GAC TAC TTC CCC GAA CCG GTG ACG GTG TCG TGG AAC
 TCA GGC GCC CTG ACC AGC
 541 GGC GTG CAC ACC TTC CCG GCT GTC CTA CAG TCC TCA GGA CTC TAC
 TCC CTC AGC AGC GTG
 601 GTG ACC GTG CCC TCC AGC AGC TTG GGC ACC CAG ACC TAC ATC TGC
 AAC GTG AAT CAC AAG
 661 CCC AGC AAC ACC AAG GTG GAC AAG AGA GTT GAG CCC AAA TCT
 TGT GAC AAA ACT CAC ACA
 721 TGC CCA CCG TGC CCA GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC
 TTC CTC TTC CCC CCA
 781 AAA CCC AAG GAC ACC CTC ATG ATC TCC CGG ACC CCT GAG GTC
 ACA TGC GTG GTG GTG GAC
 841 GTG AGC CAC GAA GAC CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG
 GAC GGC GTG GAG GTG CAT
 901 AAT GCC AAG ACA AAG CCG CGG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACG
 TAC CGT GTG GTC AGC GTC
 961 CTC ACC GTC CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAT GGC AAG GAG TAC
 AAG TGC AAG GTC TCC AAC
 1021 AAA GCC CTC CCA GCC CCC ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC
 AAA GGG CAG CCC CGA GAA
 1081 CCA CAG GTG TAC ACC CTG CCC CCA TCC CGG GAG GAG ATG ACC
 AAG AAC CAG GTC AGC CTG
 1141 ACC TGC CTG GTC AAA GGC TTC TAT CCC AGC GAC ATC GCC GTG
 GAG TGG GAG AGC AAT GGG
 1201 CAG CCG GAG AAC AAC TAC AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC
 TCC GAC GGC TCC TTC TTC
 1261 CTC TAT AGC AAG CTC ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG
 GGG AAC GTC TTC TCA TGC
 1321 TCC GTG ATG CAT GAG GCT CTG CAC AAC CAC TAC ACG CAG AAG
 AGC CTC TCC CTG TCC CCG
 1381 GGT AAA

Нуклеотиды с 1- по 60-й (зачеркнуты) - лидерная последовательность.

Последние три нуклеотида (зачеркнуты) - стоп-кодон.

Аминокислотная последовательность (включая сигнальный пептид).

Сигнальный пептид отщепляется в процессе посттрансляционного процессинга и не входит в состав конечного рекомбинантного белка.

Легкая цепь (SEQ ID NO: 3):

21 EIVMTQSPATLSVSPGERAT
 41 LSCRSSQSLVHRNGNTYLHW
 61 YLQKPGQSPKLLIHKVSNRF
 81 SGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
 101 SRVEAEDLG VYFCSQSTHVP
 121 PLTFGAGTKLELKR TVAAP S
 141 VFIFPPSDEQLKSGTASVVC
 161 LLN NFYPREAKVQWKVDNAL
 181 QSGNSQESVTEQDSKDS TYS
 201 LSSTLTLSKADYEKHKVYAC
 221 EVTHQGLSSPVT KSFNRGEC

Тяжелая цепь (SEQ ID NO: 4):

21 VQLLQSGPELEKPGASVMIS
 41 CKASGSSFTGYNMNWVRQNI
 61 GKSLEWIG AIDPYYGGTSYN
 81 QKFKGRATLTVDKSSSTAYM
 101 HLKSLTSEDSAVYYCVSGME
 121 YWGQGTSTVTVSSASTKGPSV
 141 FPLAPSSKSTSGGTAALGCL
 161 VKDYFPEPVTVSWNSGALTS
 181 GVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
 201 VTPVSSSLGTQTYICNVNHK
 221 PSNTKVDK RVEPKSCDKTHT
 241 CPPCPAPELLGGPSVFLFPP
 261 KPKDTLMISRTPEVTCVVVD
 281 VSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
 301 NAKTKPREEQYNSTYRVVSV
 321 LTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
 341 KALPAPIEKTISKAKGQPRE
 361 PQVYTLPPSREEMTKNQVSL
 381 TCLVKGFYPSDIAVEWESNG
 401 QPENNYKTTTPVLDSDGSFF
 421 LYSKLTVDKSRWQQGNV FSC
 441 SVMHEALHNHYTQKSLSLSP
 461 GK

Аминокислотные остатки с 1- по 20-й (зачеркнуты) - лидерная последовательность.
 Данные по последовательности APN301.

Таблица 6

Молекулярная масса и pI (расчетные значения)

	pI ¹⁾	Мол. масса (дальтон) ¹⁾	Количество AS	Условия	2D- DIGE ²⁾
Иммуноцитокин	8,52	175741,35	1592	не восстановительные	x
Антитело	8,61	144941,37	1326	не восстановительные	
Иммуноцитокин (1/2)	8,49	87879,68	796	восстановительные	x
Антитело (1/2)	8,57	72479,69	663	восстановительные	
Тяжелая цепь + IL-2	8,47	63861,72	576	восстановительные	x
Тяжелая цепь	8,59	48461,73	443	восстановительные	
Легкая цепь	8,27	24035,97	220	восстановительные	x
IL-2	7,05	15418,01	133	восстановительные	

1) Рассчитано с помощью http://web.expasy.org/compute_pi/.

2) Из-за молекулярной массы красителей при двумерном дифференциальном геле электрофорезе (2D-DIGE) следует ожидать некоторого завышения значений молекулярной массы.

3) Интерлейкин-2 (IL-2) не должен отщепляться из иммуноцитокина при восстановительных условиях, поскольку он ковалентно связан через линкерную структуру с участком Fc, поэтому в результатах 2D-DIGE не должно быть тяжелой цепи, антитела и $1/2$ антитела.

Нуклеотидная последовательность (кДНК, включая лидерную последовательность).

"TAG" и "TGA" действуют как стоп-кодоны и не транслируются при синтезе полипептида.

Легкая цепь (SEQ ID NO: 5):

```

61      GTG GTG ATG ACC CAG ACC CCC CTG TCC CTG CCC GTG ACC CCC
GGC GAG CCC GCC TCC ATC
121    TCC TGC AGA TCT AGT CAG AGT CTT GTA CAC CGT AAT GGA AAC ACC
TAT TTA CAT TGG TAC
181    CTG CAG AAG CCA GGC CAG TCT CCA AAG CTC CTG ATT CAC AAA GTT
TCC AAC CGA TTT TCT
241    GGG GTC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGA TCA GGG ACA GAT
TTC ACA CTC AAG ATC AGC
301    AGA GTG GAG GCT GAG GAT CTG GGA GTT TAT TTC TGT TCT CAA AGT
ACA CAT GTT CCT CCG
361    CTC ACG TTC GGT GCT GGG ACC AAG CTG GAG CTG AAA CGA ACT
GTG GCT GCA CCA TCT GTC
421    TTC ATC TTC CCG CCA TCT GAT GAG CAG TTG AAA TCT GGA ACT GCC
TCT GTT GTG TGC CTG
481    CTG AAT AAC TTC TAT CCC AGA GAG GCC AAA GTA CAG TGG AAG
GTG GAT AAC GCC CTC CAA
541    TCG GGT AAC TCC CAG GAG AGT GTC ACA GAG CAG GAC AGC AAG
GAC AGC ACC TAC AGC CTC
601    AGC AGC ACC CTG ACG CTG AGC AAA GCA GAC TAC GAG AAA CAC
AAA GTC TAC GCC TGC GAA
661    GTC ACC CAT CAG GGC CTG AGC TCG CCC GTC ACA AAG AGC TTC
AAC AGG GGA GAG TGT

```

Тяжелая цепь (включая IL-2, SEQ ID NO: 6)

```

61      GTG CAG CTG GTG CAG TCC GGC GCC GAG GTG GAG AAG CCC GGC
GCC TCC GTG AAG ATC TCC
121    TGC AAG GCC TCC GGC TCC TCC TTC ACC GGC TAC AAC ATG AAC TGG
GTG CGC CAG AAC ATC
181    GGC AAG TCC CTG GAG TGG ATC GGC GCC ATC GAC CCC TAC TAC
GGC GGC ACC TCC TAC AAC
241    CAG AAG TTC AAG GGC CGC GCC ACC CTG ACC GTG GAC AAG TCC
ACC TCC ACC GCC TAC ATG
301    CAC CTG AAG TCC CTG CGC TCC GAG GAC ACC GCC GTG TAC TAC TGC
GTG TCC GGC ATG GAG
361    TAC TGG GGC CAG GGC ACC TCC GTG ACC GTG TCC TCC GCC TCC ACC
AAG GGC CCA TCG GTC
421    TTC CCC CTG GCA CCC TCC TCC AAG AGC ACC TCT GGG GGC ACA GCG
GCC CTG GGC TGC CTG
481    GTC AAG GAC TAC TTC CCC GAA CCG GTG ACG GTG TCG TGG AAC
TCA GGC GCC CTG ACC AGC
541    GGC GTG CAC ACC TTC CCG GCT GTC CTA CAG TCC TCA GGA CTC TAC

```

TCC CTC AGC AGC GTG
 601 GTG ACC GTG CCC TCC AGC AGC TTG GGC ACC CAG ACC TAC ATC TGC
 AAC GTG AAT CAC AAG
 661 CCC AGC AAC ACC AAG GTG GAC AAG AGA GTT GAG CCC AAA TCT
 TGT GAC AAA ACT CAC ACA
 721 TGC CCA CCG TGC CCA GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC
 TTC CTC TTC CCC CCA
 781 AAA CCC AAG GAC ACC CTC ATG ATC TCC CGG ACC CCT GAG GTC
 ACA TGC GTG GTG GTG GAC
 841 GTG AGC CAC GAA GAC CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG
 GAC GGC GTG GAG GTG CAT
 901 AAT GCC AAG ACA AAG CCG CGG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACG
 TAC CGT GTG GTC AGC GTC
 961 CTC ACC GTC CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAT GGC AAG GAG TAC
 AAG TGC AAG GTC TCC AAC
 1021 AAA GCC CTC CCA GCC CCC ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC
 AAA GGG CAG CCC CGA GAA
 1081 CCA CAG GTG TAC ACC CTG CCC CCA TCC CGG GAG GAG ATG ACC
 AAG AAC CAG GTC AGC CTG
 1141 ACC TGC CTG GTC AAA GGC TTC TAT CCC AGC GAC ATC GCC GTG
 GAG TGG GAG AGC AAT GGG
 1201 CAG CCG GAG AAC AAC TAC AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC
 TCC GAC GGC TCC TTC TTC
 1261 CTC TAT AGC AAG CTC ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG
 GGG AAC GTC TTC TCA TGC
 1321 TCC GTG ATG CAT GAG GCT CTG CAC AAC CAC TAC ACG CAG AAG
 AGC CTC TCC CTG TCC CCG
 1381 GGT AAA GCC CCA ACT TCA AGT TCT ACA AAG AAA ACA CAG CTG
 CAA CTG GAG CAT CTC CTG
 1441 CTG GAT CTC CAG ATG ATT CTG AAT GGA ATT AAC AAC TAC AAG
 AAT CCC AAA CTC ACC AGG
 1501 ATG CTC ACA TTC AAG TTC TAC ATG CCC AAG AAG GCC ACA GAG
 CTC AAA CAT CTC CAG TGT
 1561 CTA GAG GAG GAA CTC AAA CCT CTG GAG GAA GTG CTA AAC CTC
 GCT CAG AGC AAA AAC TTC
 1621 CAC TTA AGA CCT AGG GAC TTA ATC AGC AAT ATC AAC GTA ATA
 GTT CTG GAA CTA AAG GGA
 1681 TCC GAA ACA ACA TTC ATG TGT GAA TAT GCT GAT GAG ACA GCA
 ACC ATT GTA GAA TTT CTG
 1741 AAC AGA TGG ATT ACC TTT TGT CAA AGC ATC ATC TCA ACA CTA
 ACT

Нуклеотиды с 1- по 57-й (зачеркнуты) - лидерная последовательность.

Нуклеотиды с 1387- по 1385-й: последовательность IL-2.

Последние три нуклеотида (зачеркнуты) - стоп-кодон.

Аминокислотная последовательность (включая сигнальный пептид).

Сигнальный пептид отщепляется в процессе посттрансляционного процессинга и не входит в состав конечного рекомбинантного белка.

Легкая цепь (SEQ ID NO: 7):

21 V V M T Q T P L S L P V T P G E P A S I
 41 S C R S S Q S L V H R N G N T Y L H W Y
 61 L Q K P G Q S P K L L I H K V S N R F S
 81 G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S
 101 R V E A E D L G V Y F C S Q S T H V P P
 121 L T F G A G T K L E L K R T V A A P S V
 141 F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L
 161 L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q
 181 S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L
 201 S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E
 221 V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C
 121 Y W G Q G T S V T V S S A S T K G P S V
 141 F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L
 161 V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S
 181 G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V
 201 V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K
 221 P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T
 241 C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P
 261 K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D
 281 V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H
 301 N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V
 321 L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N
 341 K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E
 361 P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L
 381 T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G
 401 Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F
 421 L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C
 441 S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P
 461 G K A P T S S S T K K T Q L Q L E H L L
 481 L D L Q M I L N G I N N Y K N P K L T R
 501 M L T F K F Y M P K K A T E L K H L Q C
 521 L E E E L K P L E E V L N L A Q S K N F
 541 H L R P R D L I S N I N V I V L E L K G
 561 S E T T F M C E Y A D E T A T I V E F L
 581 N R W I T F C Q S I I S T L T

Аминокислотные остатки с 1- по 19-й (зачеркнуты) - лидерная последовательность.

Аминокислотные остатки с 463- по 595-й - последовательность IL-2.

Таблица 7

Состав конечного препарата APN311

Название продукта	Химерные (мышь-человек) моноклональные антитела IgG1 против GD2 (ch 14.18/CHO; APN311)
Содержание	4,25 – 4,75 мг/мл (точное количество в 1 мл может несколько варьировать от партии к партии; указывается на каждом сосуде)
Буферный раствор	Гистидин 20 мМ, сахароза 5 %, Tween 20 0,01 %, вода для инъекций
pH	5,5 – 6,5
Экспципенты	Нет

Рекомендации по получению антител.

Антитела следует получать в стерильных условиях. Из сосудов берут нужный объем антител ch14.18/CHO (APN311). Перед введением пациенту раствор антител следует профильтровать (0,2-1,2 дм), используя встроенный фильтр в инфузионной системе (так обычно делается во многих клиниках) или фильтр тонкой очистки (например, фильтр Ng. MF1830 производства Impromediform, Германия). Нужный объем раствора антител вносят в инфузионный мешок, содержащий 100 мл 0,9%-ного раствора NaCl и 5 мл 20%-ного раствора человеческого альбумина.

Расчет разведения ch14.18/CHO (APN311).

Требующееся для введения количество $ch14.18/CHO$ (APN311) рассчитывают следующим образом:
Дозировка: $10 \text{ мг/м}^2/\text{сут}$, дни 8-17, инфузия 24 ч.

Пример расчета: если площадь поверхности тела у пациента (BSA) составляет 0,7, то требуется 7 мг ($10 \times 0,7$) в сутки или 70 мг за 10 дней лечения (один цикл).

Пример 2. Анализ комплемент-зависимой цитотоксичности (CDC).

Основы анализа CDC.

Индукирование цитотоксичности нормальной человеческой сыворотки или плазмы в присутствии APN301 или APN311 либо сыворотки или плазмы больного после инфузии одного из этих антител в отношении опухолевых клеток-мишеней (линии нейробластомных клеток LAN-1, несущих антиген GD2) определяли по высвобождению радиоактивного хрома (^{51}Cr).

Клетки-мишени инкубировали с $\text{Na}_2^{51}\text{Cr(VI)}\text{O}_4$, который проникает через клеточную мембрану и связывается в восстановленной (Cr III) форме с цитоплазматическими белками и таким образом из интактных клеток он больше не выходит. Когда эти клетки подвергаются лизису в результате инкубации с сывороткой или плазмой крови и антителами или с сывороткой или плазмой больного, радиоактивный компонент высвобождается и оказывается в супернатанте в количестве, зависящем от литической способности анализируемого образца.

В каждом опыте определяли спонтанный фоновый лизис и суммарный лизис (максимально достижимый лизис клеток или максимально возможный лизис клеток-мишеней) под действием поверхностно-активного вещества. Лизис, обусловленный анализируемым образцом, рассчитывали как долю (в процентах) от суммарного лизиса за вычетом спонтанного лизиса.

Образцы плазмы или сыворотки.

У здоровых доноров (людей) или у больных брали цельную кровь в вакуумные пробирки с гепарином для плазмы или в вакуумные пробирки для сыворотки с активатором свертывания. Пробирки центрифугировали при 2000 g в течение 20 мин. Полученные супернатанты плазмы или сыворотки сразу использовали для исследования или же хранили при температуре -20°C (не допуская оттаивания и повторного замораживания).

Мечение клеток-мишеней ^{51}Cr .

Клетки LAN-1 выращивали в среде RPMI 1640, содержащей 10% фетальной телячьей сыворотки (FCS), инактивированной нагреванием. В день накануне анализа их переносили в чистые флаконы со свежей средой.

Анализ проводили в 96-луночном плоскодонном культуральном планшете; брали 4×10^4 меченых клеток на лунку с активностью 800 нКи ^{51}Cr на лунку.

Из культуральных флаконов брали нужное количество клеток, суспензию центрифугировали и ресуспендировали в 1 мл физиологического раствора, забуференного фосфатом (PBS) дефиц., содержащим 0,1% EDTA и 1% FCS. Прибавляли рассчитанный объем раствора, содержащего ^{51}Cr , и инкубировали клетки, осторожно вращая пробирку, в течение 90 мин при температуре 37°C в атмосфере с 5% CO_2 .

Затем суспензию клеток два раза промывали культуральной средой для удаления радиоактивности с наружной поверхности клеток. Эта среда содержала дополнительно пенициллин G (100 ед./мл) и стрептомицина сульфат (100 мкг/мл). Осадок меченых клеток промывали и ресуспендировали до желаемой концентрации (4×10^5 клеток/мл).

Проведение анализа.

Для определения цитолитической способности антител брали

50 мкл образца (разведения антител),

100 мкл нормальной человеческой сыворотки или плазмы, предварительно разведенной 1:4,

100 мкл меченой ^{51}Cr суспензии клеток (4×10^5 клеток/мл).

Для определения цитолитической способности плазмы или сыворотки больного брали

50 мкл среды,

100 мкл сыворотки или плазмы больного, предварительно разведенной 1:4,

100 мкл меченой ^{51}Cr суспензии клеток (4×10^5 клеток/мл).

Для анализа CDC планшеты инкубировали в CO_2 -инкубаторе при температуре 37°C , в атмосфере с 5% CO_2 в течение 4 ч или, когда сравнивали непосредственно с WBT, в течение 20 ч.

Затем собирали супернатанты из каждой лунки с помощью автоматизированной системы для работы с культурами клеток (Skatron) с прессом и впитывающими картриджами. Картриджи, содержащие супернатанты, переносили в кювету гамма-счетчика. Во всех образцах измеряли радиоактивность, пропорциональную высвобождению хрома в результате разрушения меченых клеток-мишеней, и выражали ее в импульсах за минуту (cpm). Результаты рассчитывали как долю (в процентах) лизиса: из показаний образца вычитали радиоактивность за счет спонтанного лизиса и брали отношение полученной величины к радиоактивности, соответствующей максимально достижимому лизису в результате обработки клеток поверхностно-активным веществом (100%).

$100 \times (\text{cpm образца} - \text{cpm из-за спонтанного лизиса}) = \% \text{ лизис образца,}$

cpm при максимальном лизисе - cpm из-за спонтанного лизиса.

Описанный выше метод анализа CDC применялся в случае результатов, представленных на фиг. 1-3 и 5.

Сходный метод анализа CDC применялся в случае результатов, представленных на фиг. 7 с той разницей, что в качестве метки для клеток LAN-1 вместо хрома использовали кальцеин.

Пример 3. Метод анализа цельной крови (WBT).

Основы анализа WBT.

Индукция цитотоксичности нормальной человеческой цельной крови в присутствии APN301 или APN311 либо цельной крови больного после инфузии одного из этих антител в отношении опухолевых клеток-мишеней (линии нейробластомных клеток LAN-1, несущих антиген GD2) определяли по высвобождению радиоактивного хрома (^{51}Cr).

Клетки-мишени инкубировали с $\text{Na}_2^{51}\text{Cr(VI)}\text{O}_4$, который проникает через клеточную мембрану и связывается в восстановленной (Cr(III)) форме с цитоплазматическими белками, и таким образом из интактных клеток он больше не выходит. Когда эти клетки подвергаются лизису в результате инкубации с цельной кровью и антителами или с цельной кровью больного, радиоактивный компонент высвобождается и оказывается в супернатанте в количестве, зависящем от литической способности анализируемого образца.

В каждом опыте определяли спонтанный фоновый лизис и суммарный лизис (максимально достижимый лизис клеток или максимально возможный лизис клеток-мишеней) под действием поверхностно-активного вещества. Лизис, обусловленный анализируемым образцом, рассчитывали как долю (в процентах) от суммарного лизиса за вычетом спонтанного лизиса.

Образцы цельной крови.

У здоровых доноров (людей) или у больных брали цельную кровь в вакуумные пробирки с гепарином.

Мечение клеток-мишеней ^{51}Cr .

Клетки LAN-1 выращивали в среде RPMI 1640, содержащей 10% фетальной телячьей сыворотки (FCS), инактивированной нагреванием. В день накануне анализа их переносили в чистые флаконы со свежей средой.

Анализ проводили в 96-луночном плоскодонном культуральном планшете; брали 4×10^4 меченых клеток на лунку с активностью 800 нКи ^{51}Cr на лунку.

Из культуральных флаконов брали нужное количество клеток, суспензию центрифугировали и ресуспендировали в 1 мл физиологического раствора, забуференного фосфатом (PBS) дефиц., содержащим 0,1% EDTA и 1% FCS. Прибавляли рассчитанный объем раствора, содержащего ^{51}Cr , и инкубировали клетки, осторожно вращая пробирку, в течение 90 мин при температуре 37°C в атмосфере с 5% CO_2 .

Затем суспензию клеток два раза промывали культуральной средой для удаления радиоактивности с наружной поверхности клеток. Эта среда содержала дополнительно пенициллин G (100 ед./мл) и стрептомицин сульфат (100 мкг/мл). Осадок меченых клеток промывали и ресуспендировали до желаемой концентрации (4×10^5 клеток/мл)

Проведение анализа.

Для определения цитолитической способности антител брали

50 мкл образца (разведения антител),

100 мкл нормальной человеческой цельной крови, предварительно разведенной 1:2,

100 мкл меченной ^{51}Cr суспензии клеток (4×10^5 клеток/мл).

Для определения цитолитической способности цельной крови больного брали

50 мкл среды,

100 мкл цельной крови больного, предварительно разведенной 1:2,

100 мкл меченной ^{51}Cr суспензии клеток (4×10^5 клеток/мл).

Планшеты инкубировали в CO_2 -инкубаторе при температуре 37°C , в атмосфере с 5% CO_2 в течение 20 ч.

Затем собирали супернатанты из каждой лунки с помощью автоматизированной системы для работы с культурами клеток (Skatron) с прессом и впитывающими картриджами. Картриджи, содержащие супернатанты, переносили в кювету гамма-счетчика. Во всех образцах измеряли радиоактивность, пропорциональную высвобождению хрома в результате разрушения меченых клеток-мишеней, и выражали ее в импульсах за минуту (срм). Результаты рассчитывали как долю (в процентах) лизиса: из показаний образца вычитали радиоактивность за счет спонтанного лизиса и брали отношение полученной величины к радиоактивности, соответствующей максимально достижимому лизису в результате обработки клеток поверхностно-активным веществом (100%).

$100 \times (\text{срм образца} - \text{срм из-за спонтанного лизиса}) = \% \text{ лизис образца,}$

срм при максимальном лизисе - срм из-за спонтанного лизиса

Описанный выше метод анализа WBT применялся в случае результатов, представленных на фиг. 1-3 и 4.

Пример 4. Лечение больного путем непрерывной внутривенной инфузии препарата, содержащего

антитела против GD2

В рамках программы благотворительно-испытательного использования ch14.18/CHO (APN311) 41 пациент с рецидивной или рефрактерной нейробластомой получали лечение указанными антителами в режиме непрерывной инфузии с целью по возможности ослабить боль, всегда связанную с иммунотерапией антителами против GD2, в сочетании с подкожным введением интерлейкина-2 и изотретиноина. Клинический ответ определяли врачи по месту лечения на основании результатов сцинтиграфии с метатйодбензилгуанидином (mIBG), визуализации с помощью ядерного магнитного резонанса (MRI) или рентгеновской компьютерной томографии (СТ), гистологического исследования костного мозга (с заборообразцов путем аспирационной биопсии или трепанобиопсии) и определения катехоламинов.

mIBG. До иммунотерапии из 41 пациента у 31 выявлялось данное заболевание по результатам mIBG.

У 5 из этих 31 пациента (16%) наблюдался полный клинический ответ (CR), у 7 (23%) - частичный клинический ответ (PR), у 4 (13%) заболевание было стабильным (SD) и у (42%) оно прогрессировало (PD). У 2 пациентов (6%) состояние не поддавалось оценке. Одному из них после иммунотерапии не делали mIBG, а у другого оставшуюся опухоль удалили хирургическим путем до оценки состояния после иммунотерапии.

В целом у 12 из 31 пациента (39%) с установленным (по данным mIBG) перед иммунотерапией заболеванием после лечения путем иммунотерапии наблюдался полный или частичный клинический ответ.

Кроме того, у 3 из 13 пациентов (23%), у которых по завершении иммунотерапии заболевание прогрессировало, после третьего цикла иммунотерапии был отмечен частичный клинический ответ.

MRI/СТ. До иммунотерапии из 41 пациента у 13 выявлялось данное заболевание по результатам MRI или СТ в мягких тканях.

Еще один случай, в котором у больного до иммунотерапии по результатам MRI выявлялось данное заболевание, не рассматривался, так как у этого пациента полностью удалили оставшуюся опухоль прежде, чем проводилась окончательная оценка состояния. Через три цикла иммунотерапии у него наблюдалось стабильное заболевание.

У 5 из 13 пациентов (38%) с установленным (по результатам MRI или СТ) перед началом иммунотерапии заболеванием наблюдался частичный клинический ответ, у 4 (31%) стабильное заболевание и у 3 (23%) заболевание прогрессировало. У одного пациента (8%) оценка состояния не завершена.

Костный мозг. До иммунотерапии из 41 пациента у 19 выявлялось данное заболевание по результатам гистологического исследования костного мозга. Из этих 19 пациентов у 4 (21%) после иммунотерапии в соответствующих анализах отмечался клинический ответ. Кроме того, у 6 пациентов (32%) клинический ответ наблюдался после трех циклов иммунотерапии. Однако по данным других анализов у 4 из этих пациентов отмечалось прогрессирование заболевания после трех циклов иммунотерапии и у 2 - по окончании иммунотерапии.

Катехоламины. До иммунотерапии из 41 пациента у 18 были повышены уровни метаболитов катехоламинов - ванилилманделовой кислоты (VMA) и/или гомованилиновой кислоты (HVA). У 7 из этих 18 пациентов (39%) после трех циклов и/или по завершении иммунотерапии отмечались нормальные уровни катехоламинов.

Помимо того, что у больных с рецидивной/рефрактерной нейробластомой в результате лечения путем иммунотерапии в режиме непрерывной инфузии (в рамках программы благотворительно-испытательного использования антител) наблюдались описанные выше заметные аспекты клинического ответа, у всех этих пациентов отмечалось существенное ослабление боли, являющейся побочным эффектом иммунотерапии, что позволяло значительно сократить лечение морфином или даже обойтись без него.

При этом лечении стандартная доза морфина, вводимого внутривенно, составляет 30 мкг/кг/ч. Пациентам, получавшим непрерывную инфузию ch14.18/CHO (APN311), можно было вводить значительно меньше морфина, чем пациентам, которым делали болюсные вливания ch14.18/CHO (APN311). У многих больных оказалось даже возможным прервать внутривенное введение морфина и для купирования боли достаточно было только перорального приема габапентина. Применение морфина в ходе непрерывной инфузии ch14.18/CHO (APN311) представлено на фиг. 10 и в табл. 9. Инфузию антител всегда начинали на 8-й день. Фактическая доза морфина (средняя для 37 пациентов), полученная за все время лечения (включающего шесть циклов лечения), составила 5,4 мг/кг - по сравнению с дозой морфина, назначавшейся на ранее проведенной первой фазе клинического исследования, в котором антитела вводили не непрерывно, составлявшей 13,5 мг/кг (0,9 мг/кг/сут, инфузия 8 ч в сутки в течение 5 суток за один цикл лечения; три цикла) и по сравнению с дозой морфина, используемой на текущей третьей фазе и составляющей 10 мг/кг (0,48 мг/кг/сут в первый день и 0,38 мг/кг/сут в последующие дни лечения, инфузия 8 ч в сутки в течение 5 суток за один цикл лечения; пять циклов).

Также на первой/второй фазах исследования, в котором больные с первичной рефрактерной или с рецидивной нейробластомой получали непрерывную инфузию APN311 в сочетании с подкожным введением алдеслейкина (IL-2), было установлено, что

сокращается токсичность (уменьшаются боли), но сохраняется иммуномодулирующая эффектив-

ность ch14.18/CHO mAb (APN311), введение которых сочеталось с подкожным введением IL-2 в фиксированной дозе;

сокращается токсичность (уменьшаются боли) при использовании режима непрерывной инфузии на протяжении 10-21 суток при трех уровнях дозировки (суммарная доза: 100 мг/м² - 150 мг/м² - 200 мг/м²);

улучшается соблюдение пациентами предписанного режима лечения;

сохраняется или даже повышается эффективность иммунотерапии.

Предварительные результаты первой/второй фазы этого исследования показывают, что необходимость в опиоидах, в частности морфине, для купирования сильной инвалидизирующей боли, от которой часто страдают больные при лечении антителами, специфичными к GD2 (включая APN311), у пациентов, участвующих в указанном исследовании, уже на первых циклах инфузии значительно меньше. Начиная с третьего цикла можно даже совершенно воздержаться от стандартного введения морфина, поскольку оно не требуется пациентам благодаря повышенной переносимости препарата, обеспечиваемой усовершенствованной схемой применения.

Значительное снижение доз морфина уменьшает связанные с лечением опиоидами негативные побочные эффекты и поэтому даже открывает возможность амбулаторного режима лечения, что в свою очередь положительно влияет на способность больных детей вести нормальный образ жизни, например участвовать в играх сверстников, посещать школу и пр.

Таблица 8

Образцы крови, результаты анализа (WBT) которых
представлены на фиг. 11-16

Пациент	День лечения (в пределах цикла)	Цикл
MJ	15	I
	8	II
	10	II
NG	до	-
	8	I
	10	I
	15	I
JK	8	III
	10	III
	15	III
MM	15	III
GA	8	V
	10	V
CJJ	10	V

Забор образцов крови в начале (т.е. в первый день) периода лечения APN311 (что соответствует 8-му дню цикла лечения) проводился до начала введения APN311.

Таблица 9

Введение морфина

	Цикл	День 8	День 9	День 10	День 11	День 12	День 13	День 14	День 15	День 16	День 17
% от стандартной скорости инфузии	1	100%	96%	84%	65%	41%	14%	5%	3%	2%	1%
Скорость инфузии (мкг/кг/ч)		30,04	28,93	25,19	19,56	12,26	4,10	1,60	1,00	0,60	0,29
Суточная доза (мг/кг)		0,72	0,69	0,60	0,47	0,29	0,10	0,04	0,02	0,01	0,01
% от стандартной скорости инфузии	2	72%	59%	38%	19%	9%	3%	0%	0%	0%	0%
Скорость инфузии (мкг/кг/ч)		21,61	17,13	9,53	3,73	1,06	0,13	0,01	0	0	0
Суточная доза (мг/кг)		0,52	0,41	0,23	0,09	0,03	0,00	0,00	0	0	0
% от стандартной скорости инфузии	3	30%	28%	18%	10%	3%	1%	0%	0%	0%	0%
Скорость инфузии (мкг/кг/ч)		9,01	8,10	4,53	1,96	0,37	0,04	0	0	0	0
Суточная доза (мг/кг)		0,22	0,19	0,11	0,05	0,01	0,00	0	0	0	0
% от стандартной скорости инфузии	4	22%	15%	8%	2%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Скорость инфузии (мкг/кг/ч)		6,61	4,34	2,02	0,39	0	0	0	0	0	0
Суточная доза (мг/кг)		0,16	0,10	0,05	0,01	0	0	0	0	0	0
% от стандартной скорости инфузии	5	18%	14%	8%	4%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Скорость инфузии (мкг/кг/ч)		5,41	4,05	2,02	0,78	0	0	0	0	0	0
Суточная доза (мг/кг)		0,13	0,10	0,05	0,02	0	0	0	0	0	0
% от стандартной скорости инфузии	6	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Скорость инфузии (мкг/кг/ч)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Суточная доза (мг/кг)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Список последовательностей

<110> Apeiron Biologics AG
 <120> Method for treating a GD2 positive cancer
 <130> r62431
 <150> PCT/EP2012/061618
 <151> 2012-06-18
 <150> EP12172481
 <151> 2012-06-18
 <160> 8
 <170> PatentIn version 3.3
 <210> 1
 <211> 723
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> artificial antibody chain
 <400> 1
 atggaagccc cagcgagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccactgga 60
 gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 120
 ctctcctgca gatctagtca gagtcttcta caccgtaatg gaaacaccta ttacattgg 180
 tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctctgtattc acaaagtttc caaccgattt 240
 tctgggggtcc cagacagggt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 300
 agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgtt ctcaaagtac acatgttcct 360
 ccgctcacgt tcggtgctgg gaccaagctg gagctgaaac gaactgtggc tgcaccatct 420
 gtcttcatct tcccgccatc tgatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc 480
 ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaagggtgga taacgccctc 540
 caatcgggta actcccagga gagtgtcaca gaggcaggaca gcaaggacag cacctacagc 600
 ctacgcagca ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc 660
 gaagtacccc atcagggcct gagctcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt 720
 tag 723
 <210> 2
 <211> 1389
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> artificial antibody chain
 <400> 2
 atgggatgga cctggatctt ttttttaatc ctgtcggtaa ctacaggtgt ccactctgag 60
 gtccaactgc tgcagtctgg acctgagctg gagaagcctg gcgcttcagt gatgatattc 120
 tgcaaggctt ctggttcctc attcactggc tacaacatga actgggtgag gcagaacatt 180

```

ggaaagagcc ttgaatggat tggagctatt gatccttact atggtggaac tagctacaac 240
cagaagttca agggcagggc cacattgact gtagacaaat cgtccagcac agcctacatg 300
cacctcaaga gcctgacatc tgaggactct gcagtctatt actgtgtaag cggaatggag 360
tactggggtc aaggaacctc agtcaccgtc tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttccccctgg caccctctc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ctttccccgc tgtcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660
cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg gggggaccgt cagtcttcct cttccccca 780
aaaccaagg acaccctcat gatctcccg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccacg aagacctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaga caagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc 1260
ctctatagca agctaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggtctt gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtccccg 1380
ggtaaata 1389

```

```

<210> 3
<211> 240
<212> PRT
<213> Artificial

```

```

<220>
<223> artificial antibody chain

```

```

<400> 3

```

```

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1          5          10          15

```

```

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
          20          25          30

```

```

Val Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
          35          40          45

```

```

Leu Val His Arg Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys
50          55          60

```

038188

Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile His Lys Val Ser Asn Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe
100 105 110

Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr
115 120 125

Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
130 135 140

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
145 150 155 160

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
165 170 175

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
180 185 190

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
195 200 205

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
210 215 220

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235 240

<210> 4
<211> 462
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> artificial antibody chain

<400> 4

Met Gly Trp Thr Trp Ile Phe Ile Leu Ile Leu Ser Val Thr Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Glu Val Gln Leu Leu Gln Ser Gly Pro Glu Leu Glu Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Met Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Ser Ser Phe
35 40 45

038188

Thr Gly Tyr Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Asn Ile Gly Lys Ser Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met His Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Val Ser Gly Met Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
115 120 125

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
130 135 140

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
165 170 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
195 200 205

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
210 215 220

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
225 230 235 240

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
245 250 255

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
260 265 270

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
275 280 285

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
290 295 300

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
305 310 315 320

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 325 330 335
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 340 345 350
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 355 360 365
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 370 375 380
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 385 390 395 400
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 405 410 415
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 420 425 430
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 435 440 445
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 5
 <211> 720
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> artificial antibody chain

<400> 5
 atgaagttgc ctggttaggct gttggtgctg atgttctgga ttcctgcttc cttaagcgac 60
 gtggtgatga cccagacccc cctgtccctg cccgtgaccc ccggcgagcc cgcctccatc 120
 tcctgcagat ctagtcagag tcttgtagac cgtaatggaa acacctatctt acattggtac 180
 ctgcagaagc caggccagtc tccaaagctc ctgattcaca aagtttccaa ccgattttct 240
 ggggtccag acaggttcag tggcagtgga tcagggacag atttcacact caagatcagc 300
 agagtggagg ctgaggatct gggagtttat ttctgttctc aaagtagaca tgttcctccg 360
 ctcacgttcg gtgctgggac caagctggag ctgaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420
 ttcatcttcc cgccatctga tgagcagtg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 480
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa 540
 tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600
 agcagcacc tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa 660
 gtcacccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 6
 <211> 1788
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> artificial antibody chain

<400> 6
 atgaagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttcttgcttc cttaaagcgag 60
 gtgcagctgg tgcagtccgg cgccgagggtg gagaagcccc ggcctccgt gaagatctcc 120
 tgcaaggcct ccggctcctc cttcaccggc tacaacatga actgggtgcg ccagaacatc 180
 ggcaagtccc tggagtggat cggcgccatc gaccctact acggcggcac ctcctacaac 240
 cagaagttca agggccgcgc caccctgacc gtggacaagt ccacctccac cgcctacatg 300
 cacctgaagt ccctgcgctc cgaggacacc gccgtgtact actgcgtgtc cggcatggag 360
 tactggggcc agggcacctc cgtgaccgtg tcctccgcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
 ttccccctgg caccctcctc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg 480
 gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 540
 ggcgtgcaca ctttccggc tgtcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
 gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaa 660
 cccagcaaca ccaagggtga caagagagtt gagcccaa atctgtgacaa aactcacaca 720
 tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg gggggaccgt cagtcttctt cttccccca 780
 aaaccaagg acaccctcat gatctcccg acccctgagg tcacatgctg ggtggtggac 840
 gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
 aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
 ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
 aaagccctcc cagccccc atcgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa 1080
 ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
 acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
 cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc 1260
 ctctatagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1320
 tccgtgatgc atgaggtctt gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtccccg 1380
 ggtaaaagccc caacttcaag ttctacaaag aaaacacagc tgcaactgga gcatctcctg 1440
 ctggatctcc agatgattct gaatggaatt aacaactaca agaatcccaa actcaccagg 1500
 atgctcacat tcaagttcta catgcccagc aaggccacag agctcaaaca tctccagtgt 1560
 ctagaggagg aactcaaacc tctggaggaa gtgctaaacc tcgctcagag caaaaacttc 1620
 cacttaagac ctagggactt aatcagcaat atcaacgtaa tagttctgga actaaaggga 1680
 tccgaaacaa cattcatgtg tgaatatgct gatgagacag caaccattgt agaatttctg 1740

aacagatgga ttaccttttg tcaaagcatc atctcaacac taacttga

1788

<210> 7
 <211> 239
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> artificial antibody chain

<400> 7

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ala
 1 5 10 15

Ser Leu Ser Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val
 20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
 35 40 45

Val His Arg Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 50 55 60

Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile His Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 65 70 75 80

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 85 90 95

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys
 100 105 110

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys
 115 120 125

Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
 130 135 140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
 145 150 155 160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
 165 170 175

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
 180 185 190

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
 195 200 205

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
 210 215 220

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

<210> 8
 <211> 595
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> artificial antibody chain

<400> 8

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ala
 1 5 10 15

Ser Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Glu Lys
 20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Ser Ser Phe
 35 40 45

Thr Gly Tyr Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Asn Ile Gly Lys Ser Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn
 65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
 85 90 95

Thr Ala Tyr Met His Leu Lys Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Val Ser Gly Met Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
 115 120 125

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 130 135 140

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 145 150 155 160

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 165 170 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 180 185 190

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
 195 200 205

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
 210 215 220
 Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
 225 230 235 240
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 245 250 255
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 260 265 270
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 275 280 285
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 290 295 300
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 305 310 315 320
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 325 330 335
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 340 345 350
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 355 360 365
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 370 375 380
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 385 390 395 400
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 405 410 415
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 420 425 430
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 435 440 445
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ala Pro
 450 455 460
 Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu
 465 470 475 480

Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro
 485 490 495
 Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala
 500 505 510
 Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu
 515 520 525
 Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro
 530 535 540
 Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly
 545 550 555 560
 Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile
 565 570 575
 Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser
 580 585 590
 Thr Leu Thr
 595

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения GD2-положительного рака путем введения больному препарата, содержащего антитело ch14.18 в суточной дозе 1-25 мг/м² в режиме непрерывной внутривенной инфузии 24 ч в сутки в дозе 50-150 мг/м²/цикл, где препарат вводят пациенту на протяжении 4, 10, 14, 15 или 21 суток подряд.

2. Способ по п.1, в котором указанный препарат вводится больному в дозе 50, 60, 75, 80, 100, 120 или 150 мг/м²/цикл.

3. Способ по любому из пп.1, 2, в котором указанный препарат вводится больному в суточной дозе 1-15 или 1-20 мг/м².

4. Способ по любому из пп.1-3, в котором указанный препарат вводится больному в суточной дозе вплоть до 7, 10, 15 или 20 мг/м².

5. Способ по любому из пп.1-4, в котором антитело ch14.18 является ch14.18/CHO или ch14.18/SP2/0.

6. Способ по любому из пп.1-5, в котором препарат, содержащий ch14.18 антитело, вводится больному в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 циклах лечения.

7. Способ по любому из пп.1-6, в котором препарат, содержащий ch14.18 антитело, является ch14.18/CHO и вводится больному в дозе 10 мг/м²/сут на протяжении 10 суток подряд в 6 циклах лечения или в котором ch14.18 антитело является ch14.18/SP2/0 и вводится больному в дозе 25 мг/м²/сут на протяжении 4 суток подряд в 5 циклах лечения.

8. Способ по любому из пп.1-7, в котором введение препарата, содержащего антитело ch14.18, предваряется и/или сопровождается введением препарата, содержащего цитокин, выбранный из группы, состоящей из IL-2, GM-CSF, G-CSF, IL-12, IL-15 и их комбинации.

9. Способ по любому из пп.1-8, дополнительно включающий введение обезболивающих агентов, в котором обезболивающий агент включает один или несколько обезболивающих агентов, в частности морфин, и где:

а) суточная доза обезболивающего агента(ов) ниже в течение всех дней лечения обезболивающим агентом(ами) или в течение тех одного или более дней, в которые делается непрерывная внутривенная инфузия препарата, содержащего антитело ch14.18, по сравнению с суточной дозой обезболивающего агента(ов) при не непрерывном введении препарата, содержащего антитело ch14.18;

б) обезболивающий агент(ы) вводится не во все дни, когда вводится препарат, содержащий антитело ch14.18;

с) доза обезболивающего агента(ов) за цикл лечения, вводимая в одном или более циклах лечения, включающих непрерывную внутривенную инфузию препарата, содержащего антитело ch14.18, ниже, чем доза обезболивающего агента(ов) за цикл лечения при не непрерывной инфузии препарата, содержащего антитело ch14.18;

д) доза обезболивающего агента(ов) за все время лечения ниже, чем доза обезболивающего агента(ов) за все время лечения при не непрерывной инфузии препарата, содержащего антитело ch14.18;

е) вводимая доза обезболивающего агента(ов) ниже чем 50 мкг/кг/ч или ниже чем 30 мкг/кг/ч в течение всех часов или дней лечения обезболивающим агентом(ами) или в течение тех одного или более часов или дней, в которые также делается непрерывная внутривенная инфузия препарата, содержащего

антитело ch14.18.

10. Способ по любому из пп.1-8, дополнительно включающий введение морфина, в котором:

а) суточная доза морфина ниже в течение всех дней лечения морфином или в течение тех одного или более дней, в которые делается непрерывная внутривенная инфузия препарата, содержащего антитело ch14.18, по сравнению с суточной дозой морфина при не непрерывном введении препарата, содержащего антитело ch14.18;

б) морфин вводится не во все дни, когда вводится препарат, содержащий антитело ch14.18;

с) доза морфина за цикл лечения, вводимая в одном или более циклах лечения, включающих непрерывную внутривенную инфузию препарата, содержащего антитело ch14.18, ниже, чем доза морфина за цикл лечения при не непрерывной инфузии препарата, содержащего антитело ch14.18;

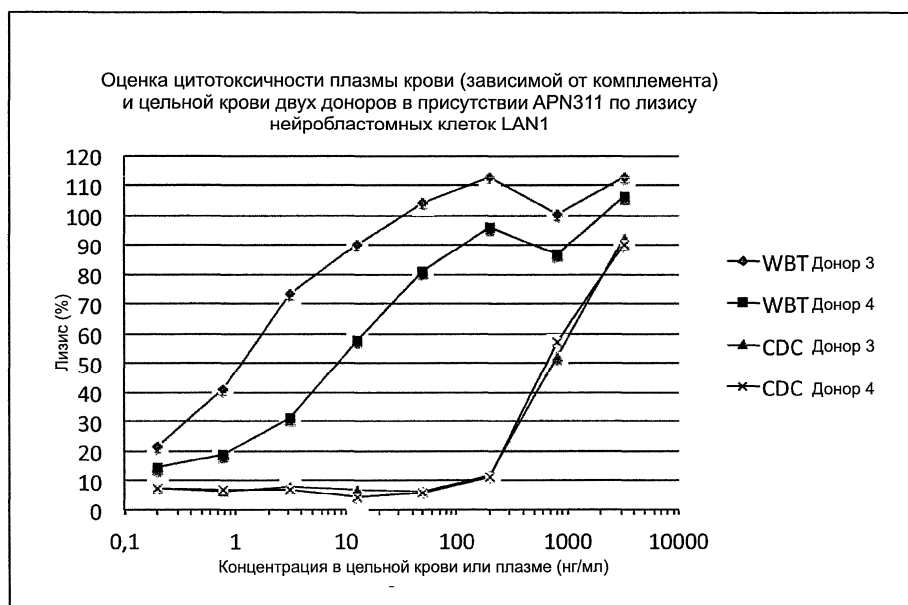
д) доза морфина за все время лечения ниже, чем доза морфина за все время лечения при не непрерывной инфузии препарата, содержащего антитело ch14.18;

е) вводимая доза морфина ниже чем 50 мкг/кг/ч или ниже чем 30 мкг/кг/ч в течение всех часов или дней лечения морфином или в течение тех одного или более часов или дней, в которые также делается непрерывная внутривенная инфузия препарата, содержащего антитело ch14.18;

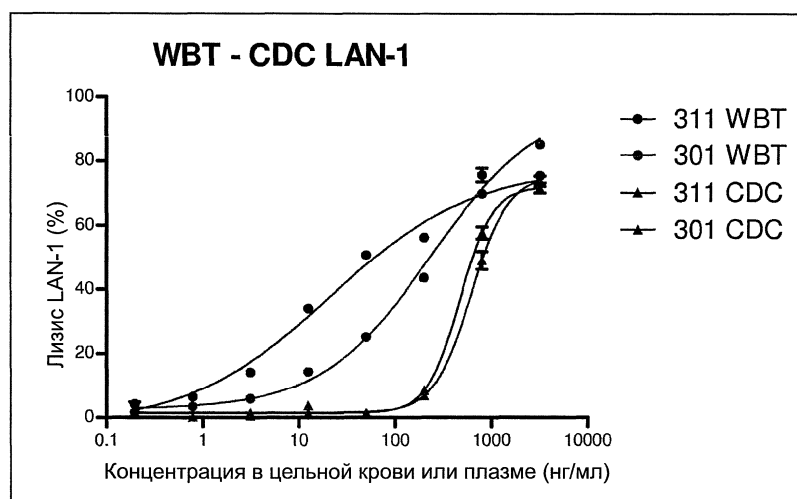
ф) вводимая суточная доза морфина ниже чем 0,9; 0,72; 0,48; 0,38; 0,4375 и/или 0,205 мг/кг/сут в течение всех дней лечения морфином или в течение тех одного или более дней, в которые делается непрерывная внутривенная инфузия препарата, содержащего антитело ch14.18.

11. Способ по любому из пп.1-10, в котором GD2-положительный рак является нейробластомой, глиобластомой, медуллобластомой, астроцитомой, меланомой, мелкоклеточным раком легкого, десмопластической мелкокруглоклеточной опухолью, остеосаркомой, рабдомиосаркомой или другой саркомой мягких тканей.

12. Способ по любому из пп.1-11, в котором у больного имеется первичная рефрактерная или рецидивная нейробластома высокого риска или минимальное остаточное заболевание при нейробластоме высокого риска.



Фиг. 1



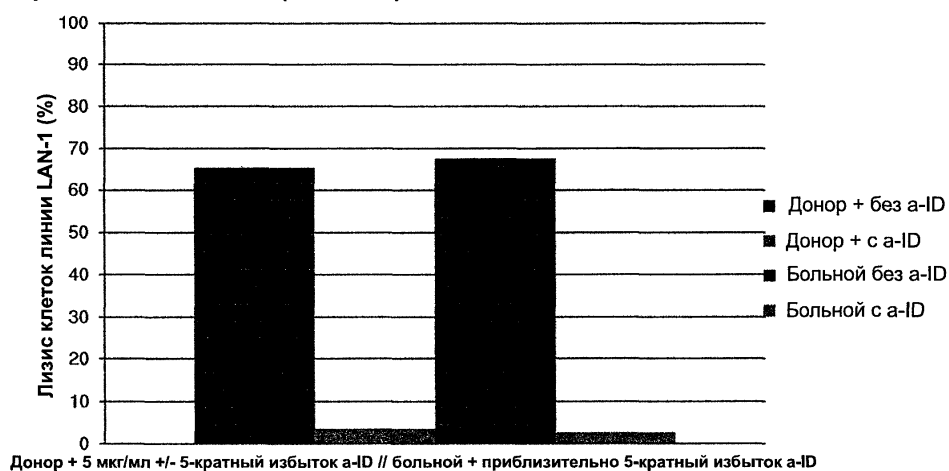
Фиг. 2

Результаты анализа WBT или CDC цельной крови или плазмы здорового донора, в которые ввели APN311 (5 мкг/мл), или больного, которого лечили APN311



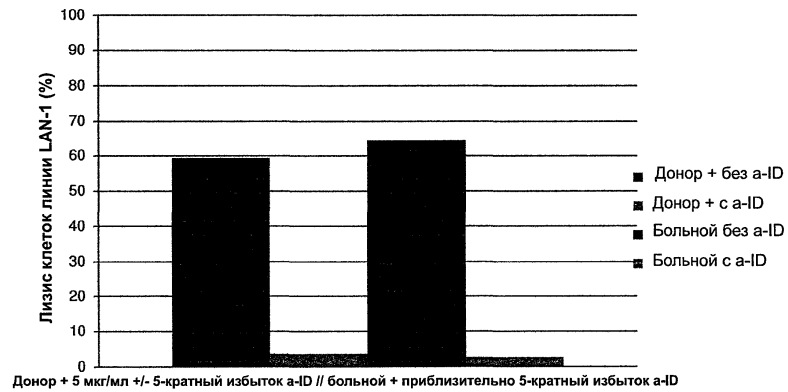
Фиг. 3

Результаты анализа образцов цельной крови, содержащих или не содержащих 5-кратный избыток специфичных антиидиотипических антител, здорового донора, в которые ввели APN311 (5 мкг/мл), или больного, которого лечили APN311

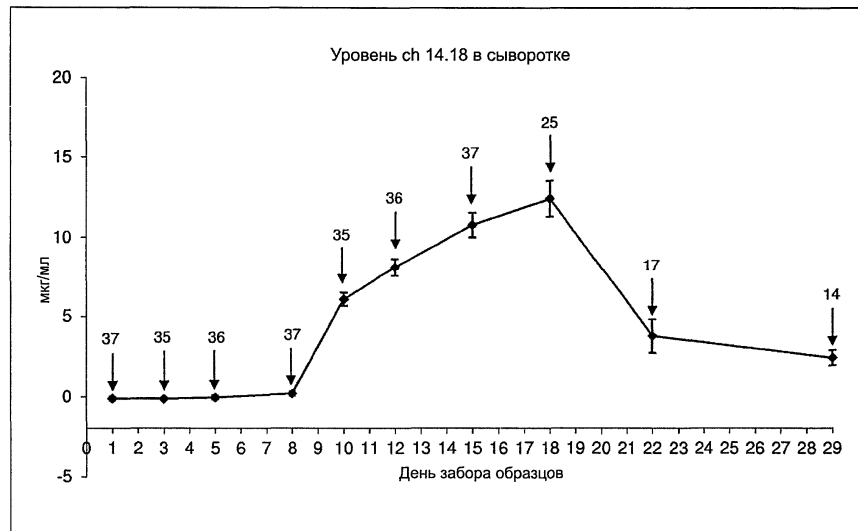


Фиг. 4

Результаты анализа образцов плазмы, содержащих или не содержащих 5-кратный избыток специфических антиидиотипических антител, здорового донора, в которые ввели APN311 (5 мкг/мл), или больного, которого лечили APN311

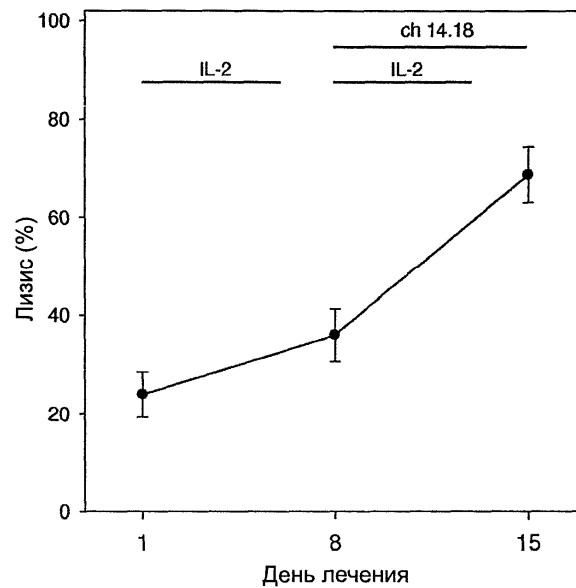


Фиг. 5



Фиг. 6

CDC (цикл 1; 37 пациентов)



Фиг. 7

Схема лечения

ch14.18/CHO

100 мг/м²/цикл, 10 дней: непрерывная внутривенная инфузия

Алдеслейкин (IL-2)

60x10⁶ МЕ/м²/цикл, 10 суток: два периода по 5 суток, 6x10⁶ МЕ/м²/сут, подкожно13-цис-ретиноевая кислота 2240 мг/м²/цикл, 14 суток: 14x160 мг/м²/сут, перорально

5 циклов, интервалы по 35 суток

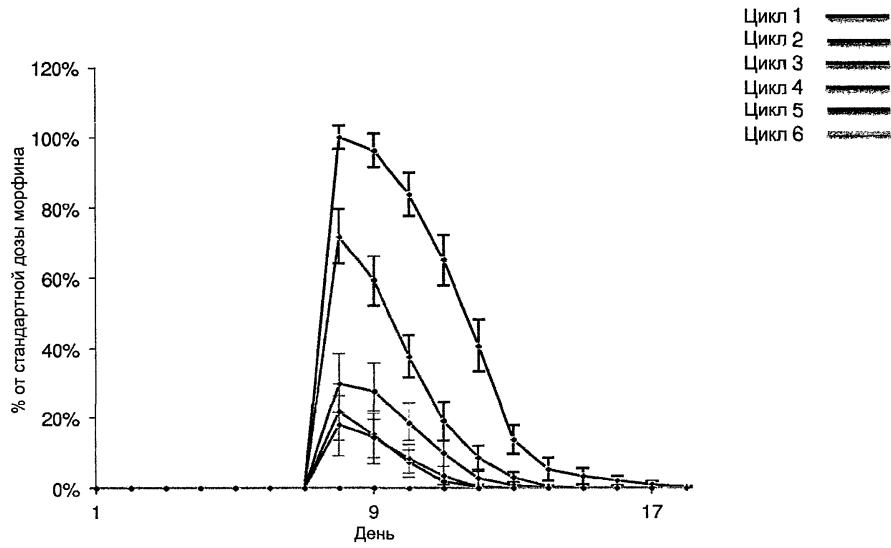


Фиг. 8



Фиг. 9

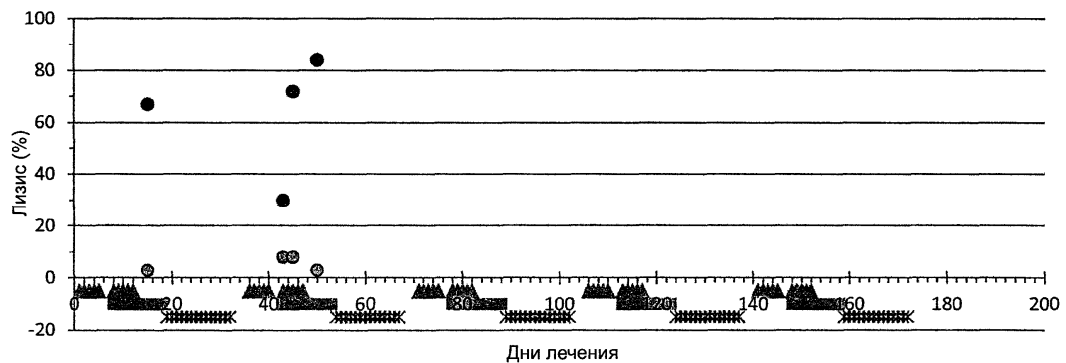
Введение морфина в процентах от стандартной дозы (30 мкг/кг/ч) [среднее по 37 пациентам]



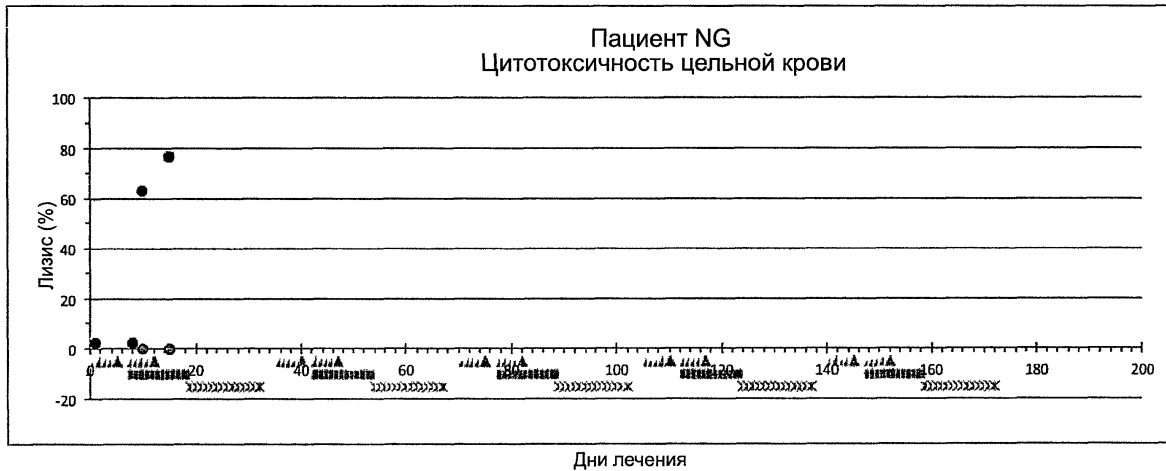
Фиг. 10



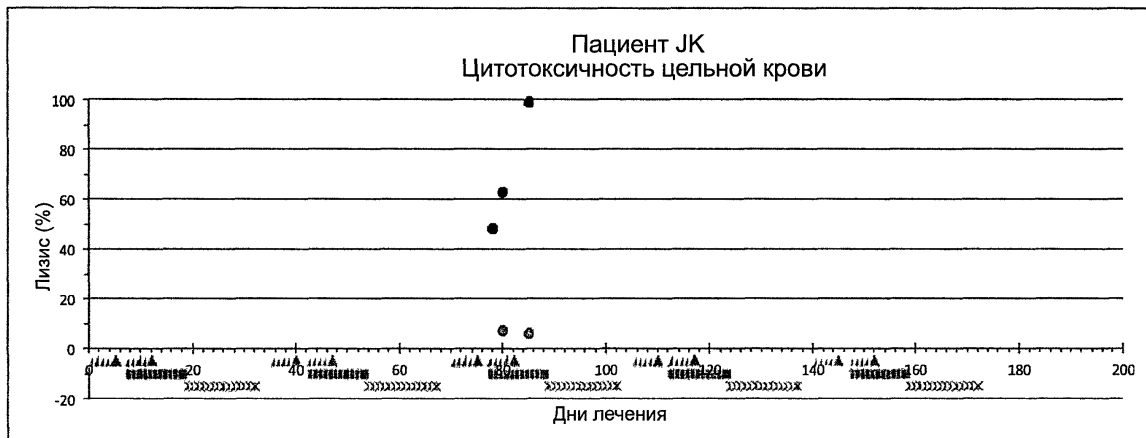
Пациент МJ
Цитотоксичность цельной крови



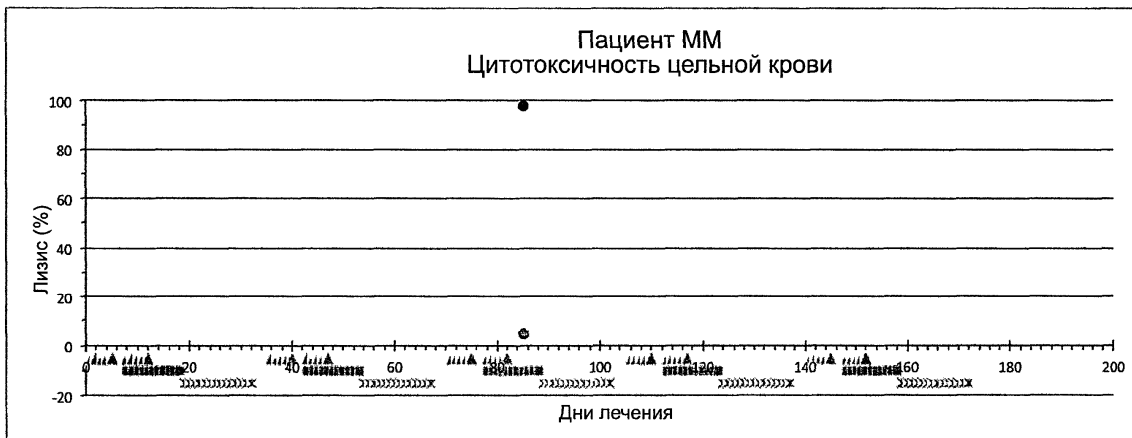
Фиг. 11



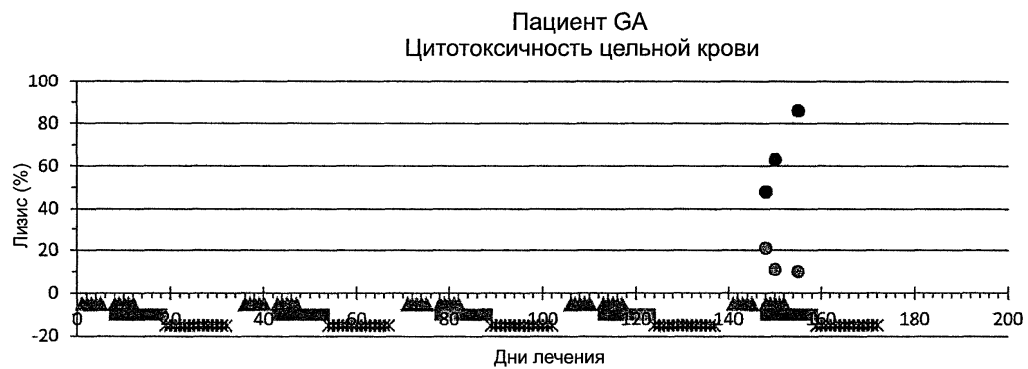
Фиг. 12



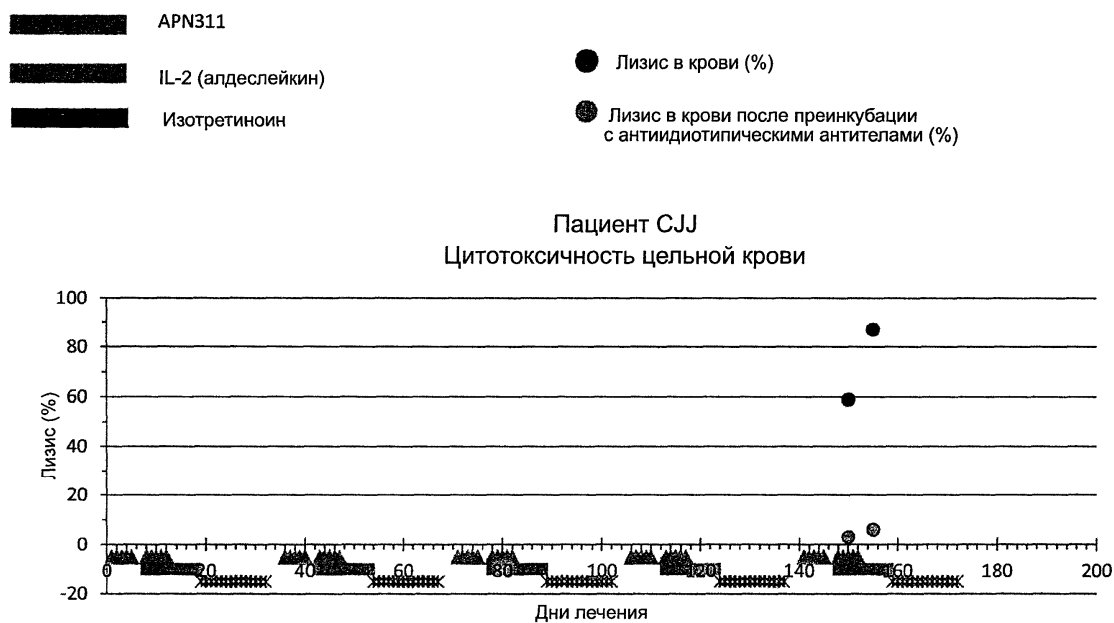
Фиг. 13



Фиг. 14



Фиг. 15



Фиг. 16

**Снижение дозы морфина при непрерывной инфузии
по сравнению с не непрерывной**

Применение морфина	Фаза I клинического испытания, проводимого SIOPEX (n=16)	Непрерывная инфузия по данному изобретению (n=37)
Начальная скорость инфузии	50 мкг/кг/ч	30 мкг/кг/ч
Дополнительное введение (болюсное)	63%	14%
Увеличение дозы	50%	16%

Фиг. 17



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2