

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202092853 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.09.30

(22) Дата подачи заявки
2016.01.06

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(54) РЕЖИМ ДОЗИРОВАНИЯ АНТАГОНИСТОВ MAdCAM

(31) 62/101,877; 62/263,197; 62/263,910

(32) 2015.01.09; 2015.12.04; 2015.12.07

(33) US

(62) 201791227; 2016.01.06

(71) Заявитель:
ПФАЙЗЕР ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Катальди Фабио, Клэр Роберт А.,
Камер Гейл М., Прадхан Вивекананда,
Ахмад Алаа, Хассан-Захраи Мина,
Тилли Мера Кришнан, Чжан Вэйдун,
Банерджи Аниндита, Пейдж Карен
Мишель, Винсент Майкл Стивен,
Фон Шак Дэвид Дж. (US)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к способу лечения пациента, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 1 до около 150 мг антитела-антагониста MAdCAM. Также предусмотрены биомаркеры для оценивания ответа пациента на анти-MAdCAM лечение.

A1

202092853

202092853

A1

РЕЖИМ ДОЗИРОВАНИЯ АНТАГОНИСТОВ MAdCAM

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к режимам дозирования антител-антагонистов MAdCAM.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Молекула клеточной адгезии типа «адрессин» в слизистых оболочках (MAdCAM, также известная как адрессин) является членом иммуноглобулинового суперсемейства рецепторов клеточной адгезии. Селективность хоминга лимфоцитов в специализированные лимфоидные ткани и участки слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта определяется эндотелиальной экспрессией MAdCAM. MAdCAM уникально экспрессируется на клеточной поверхности венул с высоким эндотелием в организованной кишечной лимфоидной ткани, таких как пейеровы бляшки и брыжеечные лимфатические узлы, а также и в других лимфоидных органах, таких как поджелудочная железа, жёлчный пузырь и вены селезёнки и маргинальный синус белой пульпы селезёнки.

Поскольку MAdCAM играет физиологическую роль в иммунном надзоре кишечника, она, по-видимому, облегчает повышенную экстравазацию лимфоцитов при воспалительных заболеваниях кишечника в условиях хронического воспаления желудочно-кишечного тракта. ФНО α (фактор некроза опухолей) и другие провоспалительные цитокины увеличивают эндотелиальную экспрессию MAdCAM, и в препаратах биопсии, которые отобраны у пациентов с болезнью Крона и язвенным колитом (ЯК), наблюдается приблизительно 2-3-кратное очаговое повышение экспрессии MAdCAM в участках воспаления. Аналогичные закономерности повышенной экспрессии наблюдались в экспериментальных моделях колита. В других доклинических моделях воспалительных состояний, таких как реакция трансплантата против хозяина при инсулинозависимом диабете, хроническое заболевание печени, воспалительная энцефалопатия и гастрит, происходит также реактивация зародышевой экспрессии MAdCAM и участие активированных $\alpha_4\beta_7^+$ лимфоцитов в патогенезе заболевания. В таких воспалительных моделях, а также в гаптен-опосредованных моделях (например, TNBS, DSS и т. д.) или моделях адоптивного переноса ($CD4^+ CD45Rb^{\text{высокий}}$) мышинного колита, крысиное моноклональное антитело (mAb) против MAdCAM мыши, MECA-367, которое блокирует связывание $\alpha_4\beta_7^+$ лимфоцитов с MAdCAM, уменьшает рекрутирование лимфоцитов, экстравазацию тканей, воспаление и тяжесть заболевания.

В WO2005067620 раскрыты антитела-антагонисты MAdCAM и их применение. В WO2006096490 раскрыты антитела-антагонисты MAdCAM и их композиции.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В изобретении предложены варианты реализации изобретения, которые изложены ниже, каждый из которых обозначен прилагаемой к нему буквой «Е»:

Е1. Способ лечения пациента, подверженного повышению экспрессии MAdCAM, или у которого диагностировали патологическое состояние, связанное с повышением экспрессии MAdCAM, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 5 мг до около 150 мг антитела-антагониста MAdCAM.

Е2. Способ лечения пациента, подверженного повышению экспрессии MAdCAM, или у которого диагностировали патологическое состояние, связанное с повышением экспрессии MAdCAM, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 5 мг до менее чем около 150 мг антитела-антагониста MAdCAM.

Е3. Способ лечения пациента, подверженного язвенному колиту (ЯК), или у которого диагностировали язвенный колит, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 5 мг до около 150 мг антитела-антагониста MAdCAM.

Е4. Способ лечения пациента, подверженного ЯК, или у которого диагностировали ЯК, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 5 мг до менее чем около 150 мг антитела-антагониста MAdCAM.

Дополнительные варианты реализации изобретения излагаются ниже, в тех случаях, когда варианты реализации изобретения обозначены буквой «Е».

Е5. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 7,5 мг до около 75 мг антитела-антагониста MAdCAM.

Е6. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 20 мг до около 75 мг антитела-антагониста MAdCAM.

Е7. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 22,5 мг до около 75 мг антитела-антагониста MAdCAM.

Е8. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 25 мг до около 75 мг антитела-антагониста MAdCAM.

Е9. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту начальной дозы около 50 мг антитела-антагониста MAdCAM.

E10. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 50 мг до около 150 мг антитела-антагониста MAdCAM.

E11. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 75 мг до около 125 мг антитела-антагониста MAdCAM.

E12. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах около 100 мг антитела-антагониста MAdCAM.

E13. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, причём антитело-антагонист MAdCAM дозируется в таком диапазоне, нижний предел которого выбирают из группы, которая состоит из около 5 мг, около 6 мг, около 7 мг, около 7,5 мг, около 8 мг, около 9 мг, около 10 мг, около 12 мг, около 15 мг, около 20 мг, около 22,5 мг, около 25 мг, около 30 мг, около 35 мг, около 45 мг, около 50 мг, около 55 мг, около 65 мг, около 65 мг, около 70 мг, около 75 мг, около 80 мг, около 85 мг, около 90 мг, около 95 мг, около 100 мг, а верхний предел которого выбирают из группы, которая состоит из около 22,5 мг, около 25 мг, около 30 мг, около 35 мг, около 40 мг, около 45 мг, около 50 мг, около 55 мг, около 60 мг, около 65 мг, около 70 мг, менее чем около 75 мг, около 75 мг, около 80 мг, около 85 мг, около 90 мг, около 95 мг, около 100 мг, около 105 мг, около 110 мг, около 115 мг, около 120 мг, 125 мг, около 130 мг, около 135 мг, около 140 мг, около 145 мг, менее чем около 150 мг и около 150 мг.

E14. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту одной или более последующих доз антитела-антагониста MAdCAM.

E15. Способ, который изложен в варианте E14, при котором одну или более последующих доз антитела-антагониста MAdCAM вводят в количестве, которое приблизительно равно или меньше начальной дозы.

E16. Способ, который изложен в варианте E14, при котором одну или более последующих доз антитела-антагониста MAdCAM вводят в количестве, которое приблизительно равно начальной дозе.

E17. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту последующей дозы в пределах от около 5 мг до около 150 мг антитела-антагониста MAdCAM.

E18. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту последующей дозы в пределах от около 20 мг до около 75 мг антитела-антагониста MAdCAM.

E19. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту последующей дозы в пределах от около 22,5 мг до около 75 мг антитела-антагониста MAdCAM.

E20. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту последующей дозы в пределах от около 25 мг до около 75 мг антитела-антагониста MAdCAM.

E21. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту последующей дозы около 50 мг антитела-антагониста MAdCAM.

E22. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту последующей дозы в пределах от около 50 мг до около 150 мг антитела-антагониста MAdCAM.

E23. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту последующей дозы в пределах от около 75 мг до около 125 мг антитела-антагониста MAdCAM.

E24. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту последующей дозы в пределах около 100 мг антитела-антагониста MAdCAM.

E25. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту последующей дозы антитела-антагониста MAdCAM в таком диапазоне, нижний предел которого выбирают из группы, которая состоит из около 5 мг, 6 мг, около 7 мг, около 7,5 мг, около 8 мг, около 9 мг, около 10 мг, около 12 мг, около 15 мг, около 20 мг, около 22,5 мг, около 25 мг, около 30 мг, около 35 мг, около 45 мг, около 50 мг, около 55 мг, около 65 мг, около 65 мг, около 70 мг, около 75 мг, около 80 мг, около 85 мг, около 90 мг, около 95 мг и около 100 мг, а верхний предел которого выбирают из группы, которая состоит из 22,5 мг, около 25 мг, около 30 мг, около 35 мг, около 40 мг, около 45 мг, около 50 мг, около 55 мг, около 60 мг, около 65 мг, около 70 мг, менее чем около 75 мг, около 75 мг, около 80 мг, около 85 мг, около 90 мг, около 95 мг, около 100 мг, около 105 мг, около 110 мг, около 115 мг, около 120 мг, 125 мг, около 130 мг, около 135 мг, около 140 мг, около 145 мг, менее чем около 150 мг и около 150 мг.

E26. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором последующую дозу вводят в количестве, которое приблизительно равно или меньше начальной дозы, причём указанная последующая доза предоставляется в пределах от около 1 недели до около 12 недель после введения начальной дозы.

E27. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором последующую дозу вводят в количестве, которое приблизительно равно или меньше начальной дозы, причём указанная последующая доза предоставляется в пределах от около 4 недель до около 12 недель после введения начальной дозы.

E28. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором последующую дозу вводят в количестве, которое приблизительно равно или меньше начальной дозы, причём указанная последующая доза предоставляется в пределах от около 2 недель до около 8 недель после введения начальной дозы.

E29. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором последующую дозу вводят в количестве, которое приблизительно равно или меньше начальной дозы, причём указанная последующая доза предоставляется в пределах от около 4 недель до около 8 недель после введения начальной дозы.

E30. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором последующую дозу вводят в количестве, которое приблизительно равно или меньше начальной дозы, причём указанная последующая доза предоставляется около 4 недель после введения начальной дозы.

E31. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором последующую дозу вводят в количестве, которое приблизительно равно или меньше начальной дозы, причём указанная последующая доза предоставляется около 1 месяца после введения начальной дозы.

E32. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором последующую дозу вводят в количестве, которое приблизительно равно или меньше начальной дозы, причём указанная последующая доза предоставляется около 6 недель после введения начальной дозы.

E33. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором последующую дозу вводят в количестве, которое приблизительно равно или меньше начальной дозы, причём указанная последующая доза предоставляется около 8 недель после введения начальной дозы.

E34. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором последующую дозу вводят в количестве, которое приблизительно равно или меньше начальной дозы, причём указанная последующая доза предоставляется около 2 месяцев после введения начальной дозы.

E35. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором наблюдаемая доля пациентов с клинической ремиссией приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы, как определено с использованием шкалы Мейо (англ. Mayo), составляет по крайней мере около 3 %.

E36. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором наблюдаемая доля пациентов с клинической ремиссией приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы, как определено с использованием шкалы Мейо, составляет по крайней мере около 5 %.

E37. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором наблюдаемая доля пациентов с клинической ремиссией

E58. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором доля пациентов с заживлением слизистой оболочки приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы составляет по крайней мере около 27 %.

E59. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором доля пациентов с заживлением слизистой оболочки приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы составляет по крайней мере около 30 %.

E60. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором доля пациентов с заживлением слизистой оболочки приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы составляет по крайней мере около 35 %.

E61. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором доля пациентов с заживлением слизистой оболочки приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы составляет по крайней мере около 37 %.

E62. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором пациент не принимает антагонист ФНО или ингибитор ФНО.

E63. Способ, который изложен в варианте E62, при котором ингибитор ФНО представляет собой один или более, выбранный из группы, которая состоит из инфликсимаба, этанерцепта, адалимумаба, псоралена в сочетании с облучением ультрафиолетом А (ПУФА), цертолизумаба пегола, метотрексата, циклоспорина, куркумина, катехинов, каннабиса и эхинацеи пурпурной.

E64. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором антители-антагонист MAdCAM вводят подкожно.

E65. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором пациента также лечат другим фармацевтическим агентом, выбранным из группы, которая состоит из AMG-181, адалимумаба, alicaforsam, абатацепта, аспирина, ацетаминофена, азатиоприна, AVX 470, AEB-071, амитриптилина, антралина, ацитретина, алефацепта, алосетрона, абатацепта, amelubant, анакинра, апремиласта, апилимода, ацеклофенака, актарита (actarit), амоксапина, будесонида, беклометазона, бетаметазона, балсалазида, бензотиазинона, бензокаина, белимумаба, бупренорфина, целекоксиба, циклоспорина, кортизона, цертолизумаба пегола, куркумина, каннабиса, ципрофлоксацина; кальципотриена; циклобензаприна; клобетазола пропионата, кодеина, камфары, дексаметазона, доксепина, деносуаба, диацереина, диклофенака, дифлунизала, дефлазакорта, дипиридамола, дигидрокодеина, деракоксиба, дулоксетина, этролизумаба, этанерцепта, эфализумаба, этодолака, экулизумаба, эторикоксиба, флуоксетина, фонтонизумаба, фелбинака, фенопрофена, фентанила, голимумаба,

габапентина, hmpl-004, гидроморфона, гидрокодона, индометацина, ибупрофена, инфликсимаба, интерлейкина-2, имипрамина, иберогаста, имидазола салицилата, игуратимода (iguratimod), иммуноглобулина, гидроксикортизона, гидроксимочевины, гилауроновой кислоты, карпаргост, krp-203, лоперамида, лорноксикама, lumericoxib, лефлуномида, ликофелона, люмиракоксиба, лидокаина, метилпреднизолон 6-меркаптопурина, метотрексата, метронидазола, мезаламина, мелатонина, мезаламина, мелоксикама, мизопростола, метилсалицилата, напроксена натрия, никотина, нортриптилина, намбуметона, непафенака, норадреналина, норэпинефрина, олсалазина, OM-89, Oztela, опрелвекина (oprelvekin), офатумумаба, окрелизумаба, оксикодона, оксиморфона, преднизона, преднизолона, фосфатидилхолина, пароксетина, паклитаксела, просорбы, пелубипрофена, пироксикама, pegsunercept, пралнакасана, prinaberel, парекоксиба, прегабалина, римексолон, ризедроната натрия, росиглитазона, рофекоксиба, ропивакаина, ребоксетина, (S,S)-ребокетина, reumasol, сульфасалазина, сульфасалазина с лоперамидом, сертралина, сидленафила, трамадола, триамцинолона, такролимуса, талидомида, тофацитиниба, Trichuris suis, тразодона, тазаротена, тегасерода, тоцилизумаба, темсиrolимуса, теноксикама, валдекоксиба, ведолизумаба, Xeljanz, золпидема, золедроновой кислоты, ¹⁵³Sm-EDTMP, и SK-1306X и 10rT1 антитела, CP-481715, ABN-912, MLN-3897, HuMax-IL-15, RA-1, Org-37663, Org 39141, AED-9056, AMG-108, GW-274150, AT-001, 681323 (GSK) K-832, R-1503, DE-096, Cpn10, THC+CBD (GW Pharma), 856553 (GSK), ReN-1869, mm-093, SCIO-469, ABT-874, LenkoVAX, LY-2127399, TRU-015, KC-706, и TAK-715, PG 760564, VX-702, PMX-53, CF-101, tgAAV-TNFR:Fc, R-788, PMI-001, S-[2-[(1-иминоэтил)амино]этил]-L-гомоцистеина, S-[2-[(1-иминоэтил)-амино]этил]-4,4-диоксо-L-цистеина, S-[2-[(1-иминоэтил)амино]этил]-2-метил-L-цистеина, (2S,5Z)-2-амино-2-метил-7-[(1-иминоэтил)амино]-5-гептеновой кислоты, 2-[[[(1R,3S)-3-амино-4-гидрокси-1-(5-тиазолил)-бутил]тио]-5-хлор-3-пиридинкарбонитрила; 2-[[[(1R,3S)-3-амино-4-гидрокси-1-(5-тиазолил)бутил]тио]-4-хлорбензонитрила, (2S,4R)-2-амино-4-[[2-хлор-5-(трифторметил)фенил]тио]-5-тиазолбутанола, 2-[[[(1R,3S)-3-амино-4-гидрокси-1-(5-тиазолил)бутил]тио]-6-(трифторметил)-3-пиридинкарбонитрила, 2-[[[(1R,3S)-3-амино-4-гидрокси-1-(5-тиазолил)бутил]тио]-5-хлорбензонитрила, N-[4-[2-(3-хлорбензиламино)этил]фенил]тиофен-2-карбоксамидина, N-[(2-[4-(2-этил-4,6-диметил-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-1-ил)фенил]этил)амино)-карбонил]-4-метилбензолсульфонамида, 4 -[(1S)-1 -([5-хлор-2-(3-фторфенокси)пиридин-3-ил]карбонил)амино]этил]бензойной кислоты, и 1-(3-бифенил-4-илметил-4-гидрокси-хроман-7-ил)циклопентанкарбоновой кислоты.

Е66. Способ, который изложен в варианте Е65, при котором пациента лечат одновременно антителом к MAdCAM и другим фармацевтическим агентом.

Е67. Способ, который изложен в варианте Е65, при котором пациента лечат последовательно антителом к MAdCAM и другим фармацевтическим агентом.

E68. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором антитело-антагонист MAdCAM содержит легкую цепь, CDR которой соответствуют CDR из SEQ ID № 3, и тяжелую цепь, CDR которой соответствуют CDR из SEQ ID № 4.

E69. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором антитело-антагонист MAdCAM включает SEQ ID № 3 и SEQ ID № 4.

E70. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором антитело-антагонист MAdCAM включает SEQ ID № 1 и SEQ ID № 2.

E71. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 22,5 мг до около 75 мг антитела-антагониста MAdCAM, с дальнейшим введением одной или более последующих доз антитела-антагониста MAdCAM в количестве, которое приблизительно равно начальной дозе, причём одна или более последующих доз представляют собой дозы, которые вводят приблизительно один раз в 4 недели.

E72. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, который включает введение пациенту начальной дозы около 50 мг антитела-антагониста MAdCAM, с дальнейшим введением одной или более последующих доз антитела-антагониста MAdCAM в количестве, которое приблизительно равно начальной дозе, причём одна или более последующих доз представляют собой дозы, которые вводят приблизительно один раз в 4 недели.

E73. Способ, который изложен в любом из вариантов реализации изобретения E1-E71, который включает введение пациенту начальной дозы около 40 мг антитела-антагониста MAdCAM, с дальнейшим введением одной или более последующих доз антитела-антагониста MAdCAM в количестве, которое приблизительно равно начальной дозе, причём одна или более последующих доз представляют собой дозы, которые вводят приблизительно один раз в 4 недели.

E74. Способ, который изложен в любом из вариантов реализации изобретения E1-E71, который включает введение пациенту начальной дозы около 30 мг антитела-антагониста MAdCAM, с дальнейшим введением одной или более последующих доз антитела-антагониста MAdCAM в количестве, которое приблизительно равно начальной дозе, причём одна или более последующих доз представляют собой дозы, которые вводят приблизительно один раз в 4 недели.

E75. Способ, который изложен в любом из вариантов реализации изобретения E1-E71, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 50 мг до около 150 мг антитела-антагониста MAdCAM, с дальнейшим введением одной или более последующих доз антитела-антагониста MAdCAM в количестве, которое приблизительно

равно начальной дозе, причём одна или более последующих доз представляют собой дозы, которые вводят приблизительно один раз в 8 недель.

E76. Способ, который изложен в любом из вариантов реализации изобретения E1-E71, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 75 мг до около 125 мг антитела-антагониста MAdCAM, с дальнейшим введением одной или более последующих доз антитела-антагониста MAdCAM в количестве, которое приблизительно равно начальной дозе, причём одна или более последующих доз представляют собой дозы, которые вводят приблизительно один раз в 8 недель.

E77. Способ, который изложен в любом из вариантов реализации изобретения E1-E71, который включает введение пациенту начальной дозы около 100 мг антитела-антагониста MAdCAM, с дальнейшим введением одной или более последующих доз антитела-антагониста MAdCAM в количестве, которое приблизительно равно начальной дозе, причём одна или более последующих доз представляют собой дозы, которые вводят приблизительно один раз в 8 недель.

E78. Способ, который изложен в любом из предыдущих вариантов реализации изобретения, в котором патологическое состояние, связанное с повышением экспрессии MAdCAM, выбрано из группы, которая состоит из язвенного колита (ЯК), болезни Крона (БК), синдрома раздраженного кишечника (СРК), болезни раздражённого кишечника (БРК), ревматоидного артрита, реактивного артрита, остеоартрита, инфекционного артрита, псориатического артрита, полиартрита, ювенильного артрита, ювенильного ревматоидного артрита, ювенильного реактивного артрита, ювенильного псориатического артрита, боли, фиброза, синдрома фибромиалгии, анкилозирующего спондилоартрита, недифференцированной спондилоартропатии, ювенильного спондилоартрита, псориаза, подагры, болезни Кастлемана, сепсиса, диабета I типа, диабета II типа, множественной миеломы и почечно-клеточной карциномы.

E79. Антитело-антагонист MAdCAM для использования по способу, который изложен в любом из вариантов реализации изобретения E1-E78.

E80. Фармацевтическая композиция, которая содержит антитело, которое предложено в варианте E79.

E81. Фармацевтическая композиция, которая изложена в варианте E80, которая содержит антитело-антагонист MAdCAM в виде сухой лекарственной формы для растворения, такой как лиофилизированный порошок, сублимированный порошок или концентрат без воды.

E82. Фармацевтическая композиция, которая изложена в варианте E80, которая содержит антитело-антагонист MAdCAM в виде жидкой лекарственной формы.

E83. Использование антитела-антагониста MAdCAM, которое предложено в варианте E79, для получения лекарственного препарата для лечения патологического состояния, выбранного из группы, которая состоит из язвенного колита (ЯК), болезни Крона (БК),

синдрома раздраженного кишечника (СРК), болезни раздражённого кишечника (БРК), глютенной болезни, первичного склерозирующего холангита, болезни билиарной системы, ревматоидного артрита, реактивного артрита, остеоартрита, инфекционного артрита, псориатического артрита, полиартрита, ювенильного артрита, ювенильного ревматоидного артрита, ювенильного реактивного артрита, ювенильный псориатического артрита, боли, фиброза, синдрома фибромиалгии, анкилозирующего спондилоартрита, недифференцированной спондилоартропатии, ювенильного спондилоартрита, псориаза, подагры, болезни Кастлемана, сепсиса, диабета I типа, диабета II типа, множественной миеломы и почечно-клеточной карциномы.

Е84. Использование антитела-антагониста MAdCAM, которое предложено в варианте Е79, для получения лекарственного препарата для лечения язвенного колита.

Е85. Использование антитела-антагониста MAdCAM, которое предложено в варианте Е79, для получения лекарственного препарата для лечения болезни Крона.

Е86. Способ по любому из вариантов реализации изобретения Е1-Е78, который дополнительно включает:

а) измерение уровня биомаркера в биологическом образце от указанного пациента, причём упомянутый биомаркер представляет собой: (i) любой из биомаркеров или их комбинацию, выбранный из группы, которая состоит из: фекального кальпротектина, sMAdCAM, hsCRP, AR, CHI3L1, CXCL1, CXCL11, CXCL13, CXCL9, Dkk-1, EGF, EN-RAGE, EPO, FGF-21, GH, ИЛ-17C, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, MIP-1 альфа, MMP-1, MMP-10, MMP-12, MMP-3, NT-pro-BNP, OSM, PTPN22, PTX3, REG-4, RETN, TNFRSF4, TRANCE и VEGF-A; (ii) CCR9; (iii) циркулирующие клетки $\alpha 4\beta 7+$; или (iv) любую комбинацию вышеизложенного; а также

б) сравнение упомянутого уровня с контролем;

таким образом, чтобы изменение уровня биомаркера по сравнению с контролем прогнозировало благоприятный терапевтический ответ при патологическом состоянии.

Е87. Способ оценки наличия или отсутствия полезного ответа у пациента с язвенным колитом (ЯК) после введения антитела-антагониста MAdCAM, который включает:

а) измерение уровня биомаркера в биологическом образце от указанного пациента, причём упомянутый биомаркер представляет собой: (i) любой из биомаркеров или их комбинацию, выбранный из группы, которая состоит из: фекального кальпротектина, sMAdCAM, hsCRP, AR, CHI3L1, CXCL1, CXCL11, CXCL13, CXCL9, Dkk-1, EGF, EN-RAGE, EPO, FGF-21, GH, ИЛ-17C, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, MIP-1 альфа, MMP-1, MMP-10, MMP-12, MMP-3, NT-pro-BNP, OSM, PTPN22, PTX3, REG-4, RETN, TNFRSF4, TRANCE и VEGF-A; (ii) CCR9; (iii) циркулирующие клетки $\alpha 4\beta 7+$; или (iv) любую комбинацию вышеизложенного; а также

б) сравнение упомянутого уровня с контролем;

причём изменение уровня биомаркера по сравнению с контролем прогнозирует благоприятный ответ у указанного пациента.

Е88. Способ идентификации пациента с язвенным колитом (ЯК), который получит пользу от лечения антителом-антагонистом MAdCAM, который включает:

- а) измерение уровня биомаркера в биологическом образце от указанного пациента, причём упомянутый биомаркер представляет собой: (i) любой из биомаркеров или их комбинацию, выбранный из группы, которая состоит из: фекального кальпротектина, sMAdCAM, hsCRP, AR, CHI3L1, CXCL1, CXCL11, CXCL13, CXCL9, Dkk-1, EGF, EN-RAGE, EPO, FGF-21, GH, ИЛ-17C, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, MIP-1 альфа, MMP-1, MMP-10, MMP-12, MMP-3, NT-pro-BNP, OSM, PTPN22, PTX3, REG-4, RETN, TNFRSF4, TRANCE и VEGF-A; (ii) CCR9; (iii) циркулирующие клетки $\alpha 4\beta 7+$; или (iv) любую комбинацию вышеизложенного;
- б) сравнение упомянутого уровня с контролем; причём изменение уровня биомаркера по сравнению с контролем прогнозирует, что указанный пациент получит пользу от лечения антителом-антагонистом MAdCAM; а также
- в) выбор указанного пациента для лечения антителом-антагонистом MAdCAM.

Е89. Способ по любому из вариантов реализации изобретения Е86-Е88, в котором упомянутый биомаркер выбран из группы, которая состоит из: фекального кальпротектина, sMAdCAM, hsCRP, AR, CHI3L1, CXCL1, CXCL11, CXCL13, CXCL9, Dkk-1, EGF, EN-RAGE, EPO, FGF-21, GH, ИЛ-17C, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, MIP-1 альфа, MMP-1, MMP-10, MMP-12, MMP-3, NT-pro-BNP, OSM, PTPN22, PTX3, REG-4, RETN, TNFRSF4, TRANCE, VEGF-A и любой комбинации вышеизложенного.

Е90. Способ по любому из вариантов реализации изобретения Е86-Е89, в котором упомянутый биомаркер выбран из группы, которая состоит из: фекального кальпротектина, sMAdCAM, hsCRP, CHI3L1, CXCL1, CXCL13, CXCL9, Dkk-1, EGF, EN-RAGE, EPO, ИЛ-17C, ИЛ-6, ИЛ-7, MIP-1 альфа, MMP-1, MMP-10, MMP-12, MMP-3, NT-pro-BNP, PTPN22, PTX3, RETN, TNFRSF4, TRANCE и любой комбинации вышеизложенного.

Е91. Способ по любому из вариантов реализации изобретения Е86-Е90, в котором упомянутый биомаркер выбран из группы, которая состоит из: фекального кальпротектина, sMAdCAM, hsCRP, AR, CXCL11, CXCL13, EPO, FGF-21, GH, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, MMP-1, MMP-10, MMP-3, OSM, PTPN22, REG-4, RETN, VEGF-A и любой комбинации вышеизложенного.

Е92. Способ по любому из вариантов реализации изобретения Е86-Е91, в котором упомянутый биомаркер выбран из группы, которая состоит из: фекального кальпротектина, sMAdCAM, hsCRP, CXCL13, EPO, ИЛ-6, ИЛ-7, MMP-1, MMP-10, MMP-3, PTPN22, RETN и любой комбинации вышесказанного.

Е93. Способ по любому из вариантов реализации изобретения Е86-Е92, в котором упомянутый биомаркер выбран из группы, которая состоит из: фекального кальпротектина, sMAdCAM, hsCRP, CXCL13, ИЛ-7, PTPN22, RETN и любой комбинации вышеуказанного.

E94. Способ по любому из вариантов реализации изобретения E86-E93, в котором упомянутый биомаркер выбран из группы, которая состоит из: фекального кальпротектина, sMAdCAM, hsCRP и любой комбинации вышеизложенного.

E95. Способ по любому из вариантов реализации изобретения E86-E94, в котором упомянутый биомаркер представляет собой: (i) фекальный кальпротектин, sMAdCAM или hsCRP; (ii) CCR9; (iii) циркулирующие клетки $\alpha 4\beta 7+$; или (iv) любую комбинацию вышеизложенного.

E96. Способ по любому из вариантов реализации изобретения E86-E95, в котором упомянутый биомаркер представляет собой фекальный кальпротектин, и причём снижение уровня фекального кальпротектина по сравнению с контролем прогнозирует, что указанный пациент получит пользу от лечения антителом-антагонистом MAdCAM.

E97. Способ по любому из вариантов реализации изобретения E86-E95, в котором упомянутый биомаркер представляет собой sMAdCAM, и причём снижение уровня sMAdCAM по сравнению с контролем прогнозирует, что указанный пациент получит пользу от лечения антителом-антагонистом MAdCAM.

E98. Способ по любому из вариантов реализации изобретения E86-E95, в котором упомянутый биомаркер представляет собой hsCRP, и причём снижение уровня hsCRP по сравнению с контролем прогнозирует, что указанный пациент получит пользу от лечения антителом-антагонистом MAdCAM.

E99. Способ по любому из вариантов реализации изобретения E86-E88 и E95, в котором упомянутый биомаркер представляет собой CCR9, и причём повышение уровня CCR9 по сравнению с контролем прогнозирует, что указанный пациент получит пользу от лечения антителом-антагонистом MAdCAM.

E100. Способ по любому из вариантов реализации изобретения E86-E88 и E95, в котором упомянутый биомаркер представляет собой циркулирующие клетки $\alpha 4\beta 7+$, и причём повышение уровня циркулирующих клеток $\alpha 4\beta 7+$ по сравнению с контролем прогнозирует, что указанный пациент получит пользу от лечения антителом-антагонистом MAdCAM.

E101. Способ по любому из вариантов реализации изобретения E86-E100, в котором упомянутый биологический образец отбирают по крайней мере около 4-й недели после введения антитела-антагониста MAdCAM.

E102. Способ по любому из вариантов реализации изобретения E86-E101, в котором упомянутый биологический образец отбирают в пределах от около 4-й недели до около 12-й недели после введения антитела-антагониста MAdCAM.

E103. Способ по любому из вариантов реализации изобретения E86-E102, в котором упомянутый биологический образец отбирают приблизительно на 12-й неделе после введения антитела-антагониста MAdCAM.

E104. Способ по любому из вариантов реализации изобретения E1-E78 и E86-E103, в котором указанный пациент дополнительно является носителем аллеля риска (C) в rs11171739.

E105. Способ идентификации пациента с язвенным колитом (ЯК), который получит пользу от лечения антителом-антагонистом MAdCAM, который включает:

а) анализ биологического образца, который содержит геномную ДНК указанного пациента; а также

б) получение SNP rs11171739 последовательности из указанной геномной ДНК; причём наличие аллеля риска (C) в rs11171739 прогнозирует, что указанный пациент получит пользу от лечения антителом-антагонистом MAdCAM.

E106. Способ лечения пациента, подверженного повышению экспрессии MAdCAM, или у которого диагностировали патологическое состояние, связанное с повышением экспрессии MAdCAM, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 5 мг до около 150 мг антитела-антагониста MAdCAM, причём указанный пациент является носителем аллеля риска (C) в rs11171739.

E107. Способ лечения пациента, подверженного повышению экспрессии MAdCAM, или у которого диагностировали патологическое состояние, связанное с повышением экспрессии MAdCAM, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 5 мг до около 150 мг антитела-антагониста MAdCAM, причём указанный пациент идентифицируется любым из способов из вариантов реализации изобретения E86-E105.

E108. Набор, который содержит:

а) детектирующий агент для обнаружения присутствия биомаркера или для измерения уровня биомаркера в биологическом образце, причём указанный биомаркер представляет собой: (i) любой из биомаркеров, перечисленных в таблицах 12, 13, 15; (ii) циркулирующие клетки $\alpha 4\beta 7+$; (iii) аллель риска rs11171739; или (iv) любую комбинацию вышеизложенного; а также

б) инструкции к применению указанного детектирующего агента.

Изобретение обеспечивает, в качестве дополнительного варианта реализации изобретения, вариант, который может быть использован независимо или в комбинации с любым из предыдущих вариантов реализации изобретения, к способу лечения пациента, подверженного повышению экспрессии MAdCAM, или у которого диагностировали патологическое состояние, связанное с повышением экспрессии MAdCAM, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 5 мг до около 150 мг антитела-антагониста MAdCAM после получения одной или более доз тофацитиниба.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Фигура 1. Доля пациентов с клинической ремиссией, основанная на суммарном балле по шкале Мейо на 12 неделе (подход терапевтической неудачи).

Фигура 2. Доля пациентов с клинической ремиссией, основанная на наивной и опытной популяции на 12 неделе (подход терапевтической неудачи).

Фигура 3. Доля пациентов с клиническим ответом и заживлением слизистой оболочки на 12 неделе (подход терапевтической неудачи).

Фигура 4. Результаты анализа доли пациентов, скорректированной по плацебо, с клинической ремиссией, клиническим ответом и заживлением слизистой оболочки, основанной на суммарном балле по шкале Мейо на 12 неделе (метод Кохрана-Мантеля-Хензеля (cmh), центральное чтение, модифицированная популяция "intent-to-treat" (англ. mitt population)).

Фигура 5. Результаты анализа доли пациентов, скорректированной по плацебо, с клинической ремиссией, клиническим ответом и заживлением слизистой оболочки, основанной на суммарном балле по шкале Мейо на 12 неделе (метод Кохрана-Мантеля-Хензеля, локальное чтение, модифицированная популяция "intent-to-treat").

Фигура 6. Результаты анализа доли пациентов с понижением относительно исходного уровня при частичном балле по шкале Мейо ≤ 2 при отсутствии индивидуального внутреннего балла > 1 на 4, 8, 12 неделях (метод Кохрана-Мантеля-Хензеля, модифицированная популяция "intent-to-treat").

Фигура 7. Пропорции (и 90 % доверительный интервал) пациентов с клинической ремиссией (которых определяли как общий балл по шкале SCCAI (Simple Clinical Colitis Activity Index, простой клинический индекс активности колита) < 2 балла) на 4, 8 и 12 неделях. *Доверительные интервалы вычисляются с использованием точного метода.

Фигура 8. Среднее геометрическое значение (и 90 % доверительный интервал) процентного изменения фекального кальпротектина (мкг/ г) относительно исходного уровня (модифицированный "intent-to-treat", наблюдаемые случаи).

Фигура 9. Среднее геометрическое значение (и 90 % доверительный интервал) процентного изменения растворимого MAdCAM (пмоль/ л) леченной группы относительно исходного уровня на 12 неделе (модифицированный "intent-to-treat", наблюдаемые случаи).

Фигура 10. Среднее геометрическое значение (и 90 % доверительный интервал) процентного изменения hsCRP (мг/ дл) относительно исходного уровня (модифицированный "intent-to-treat", неделя 0-12, наблюдаемые случаи).

Фигура 11. Наблюдаемая (красный) концентрация сывороточного мАт 7.16.6 по сравнению с модельными прогнозами (чёрный, медиана и 95 %-ный интервал предсказания) у леченной группы.

Фигура 12. Таблица эффективности: частота стула по оценке Мейо при лечении и посещении.

Фигура 13. Таблица эффективности: ректальное кровотечение по оценке Мейо при лечении и посещении.

Фигура 14. Таблица эффективности: гибкая сигмоидоскопия по оценке Мейо при лечении и посещении.

Фигура 15. Таблица эффективности: PGA (англ. Pituitary, Gonad and Adrenal, гипофиз, гонады и надпочечники) по оценке Мейо при лечении и посещении.

Фигура 16: Наиболее распространённые побочные явления в леченной группе.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к способу лечения пациента, который включает введение пациенту, подверженного язвенному колиту (ЯК), или у которого диагностировали язвенный колит, начальной дозы в пределах от около 5 мг до около 75 мг антитела-антагониста MAdCAM.

Настоящее изобретение относится к способу лечения пациента, подверженного повышению экспрессии MAdCAM, или у которого диагностировали патологическое состояние, связанное с повышением экспрессии MAdCAM, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 5 мг до около 150 мг антитела-антагониста MAdCAM. В некоторых аспектах изобретения повышение экспрессии MAdCAM сравнивают с MAdCAM у здоровых людей.

Во II фазе рандомизированного, многоцентрового с двойной анонимностью и контролем по плацебо исследования безопасности и эффективности мАт 7.16.6 у пациентов с язвенным колитом от умеренной до тяжёлой степени выделение и заживление слизистой оболочки были значительно выше в группах, которые получали дозы 22,5 мг и 75 мг, относительно группы, которая получала плацебо, тогда как ответ был значительно сильнее в группах, которые получали 22,5 мг и 225 мг, относительно группы, которая получала плацебо.

Доза антитела-антагониста MAdCAM может быть 25 мг (начальная и/или последующая доза (дозы)). Доза антитела-антагониста MAdCAM может быть 50 мг (начальная и/или последующая доза (дозы)). Доза антитела-антагониста MAdCAM может быть 75 мг. Доза антитела-антагониста MAdCAM может быть 25 мг (начальная и/или последующая доза (дозы)).

мАт 7.16.6 соответствовал первичной конечной точке эффективности в исследовании. Доли пациентов с клинической ремиссией, основанной на суммарном балле по шкале Мейо, были статистически значимыми в трёх из четырёх леченных группах (7,5 мг, 22,5 мг и 75 мг). Доли пациентов (опытных или наивных) с клинической ремиссией по страте анти-ФНО воздействия была выше среди наивных пациентов. Принципиальные результаты по вторичной конечной точке для клинического ответа, заживления слизистой оболочки и частичного балла по шкале Мейо, как правило, подтверждают результаты анализа по первичной конечной точке. мАт 7.16.6 представляется безопасным и хорошо переносимым в этой популяции пациентов.

В некоторых аспектах изобретения пациент не принимает антагонист ФНО или ингибитор ФНО. В некоторых аспектах изобретения пациент не принимал антагонист ФНО или ингибитор ФНО в течение по крайней мере около 1 недели до введения начальной дозы. В некоторых аспектах изобретения пациент не принимал антагонист ФНО или ингибитор ФНО в течение по крайней мере около 2 недель до введения начальной дозы. В некоторых аспектах изобретения пациент не принимал антагонист ФНО или ингибитор ФНО в течение по крайней мере около 3 недель до введения начальной дозы. В некоторых аспектах изобретения пациент не принимал антагонист ФНО или ингибитор ФНО в течение по крайней мере около 4 недель до введения начальной дозы. В некоторых аспектах изобретения пациент не принимал антагонист ФНО или ингибитор ФНО в течение по крайней мере около 5 недель до введения начальной дозы. В некоторых аспектах изобретения пациент не принимал антагонист ФНО или ингибитор ФНО в течение по крайней мере около 6 недель до введения начальной дозы. В некоторых аспектах изобретения пациент не принимал антагонист ФНО или ингибитор ФНО в течение по крайней мере около 7 недель до введения начальной дозы. В некоторых аспектах изобретения пациент не принимал антагонист ФНО или ингибитор ФНО в течение по крайней мере около 8 недель до введения начальной дозы. В некоторых аспектах изобретения пациент никогда не принимал антагонист ФНО или ингибитор ФНО до введения начальной дозы.

Используя центрально считываемые эндоскопические показатели из расчёта суммарного балла по шкале Мейо (в дальнейшем именуемые *"центральное чтение"*) на 12 неделе, вычислили, что, наблюдаемая доля пациентов с клинической ремиссией (модифицированная популяция *"intent-to-treat"*) при приёме плацебо, 7,5 мг, 22,5 мг, 75 мг и 225 мг мАт 7.16.6 составила 2,7 %, 11,3 %, 16,7 %, 15,5 % и 5,7 %, соответственно; а различие между группой, принимавшей плацебо, и соответствующими 90 % двухсторонними доверительными интервалами (ДИ) с использованием теста Кокрана-Мантеля-Хензеля составило 8,0 % (1,9 %, 14 %), 12,8 % (5,6 %, 19,9 %), 11,8% (4,8 %, 18,8 %) и 2,6 % (-1,2 %, 6,4 %), соответственно.

Используя локально считываемые эндоскопические показатели из расчёта суммарного балла по шкале Мейо (в дальнейшем именуемые *"локальное чтение"*), вычислили, что, наблюдаемая доля пациентов с клинической ремиссией (модифицированная популяция *"intent-to-treat"*) при приёме плацебо, 7,5 мг, 22,5 мг, 75 мг и 225 мг мАт 7.16.6 составила 5,5 %, 14,1 %, 23,6 %, 18,3 % и 12,9 %, соответственно; а различие между группой, принимавшей плацебо, и соответствующими 90 % ДИ с использованием теста Кокрана-Мантеля-Хензеля составило 8,0 % (0,2 %, 15,9 %), 17,8 % (8,3 %, 27,2 %), 12,2 % (3,6 %, 20,8 %) и 6,6 % (-0,9 %, 14,2 %), соответственно.

Соответственно, в некоторых аспектах изобретения наблюдаемая доля пациентов с клинической ремиссией приблизительно через 12 недель после введения начальной

дозы, как определено с использованием шкалы Мейо, может быть выбрана из группы, которая состоит по крайней мере из около 3 %, по крайней мере из около 5 %, по крайней мере из около 10 %, по крайней мере из около 11 %, по крайней мере из около 12 %, по крайней мере из около 13 %, по крайней мере из около 14 %, по крайней мере из около 15 %, по крайней мере из около 16 %, по крайней мере из около 17 %, по крайней мере из около 18 %, по крайней мере из около 19 %, по крайней мере из около 20 %, по крайней мере из около 21 %, по крайней мере из около 21 %, по крайней мере из около 22 % и по крайней мере из около 23 %.

Используя показатели центрального чтения на 12 неделе, вычислили, что наблюдаемая доля пациентов с ответом на приём плацебо, 7,5 мг, 22,5 мг, 75 мг и 225 мг составила 28,8 %, 38,0 %, 54,2 %, 45,1 % и 50,0 %, соответственно; а соответствующая доля пациентов с заживлением слизистой оболочки была 8,2 %, 15,5 %, 27,8 %, 25,4 % и 14,3 %, соответственно. При использовании показателей локального чтения, вычислили, что наблюдаемая доля пациентов была выше, чем при центральном чтении; для групп, принимавших плацебо, 7,5 мг, 22,5 мг, 75 мг и 225 мг, доля пациентов с клиническим ответом составила 32,9 %, 38,6 %, 54,2 %, 48,6 % и 51,4 %, соответственно, а доля пациентов с заживления слизистой оболочки составила 21,9 %, 22,5 %, 37,5 %, 35,2 % и 28,6 %, соответственно. Доля пациентов с клиническим ответом в леченных группах, принимавших 22,5 мг и 225 мг, по сравнению с группой, принимавшей плацебо, значительно отличалась от группы, принимавшей плацебо, независимо от источника эндоскопического показателя. Доля пациентов с заживлением слизистой оболочки при использовании центрального чтения в целом была ниже, чем при локальном чтении, а тенденция согласуется с другими конечными точками.

Соответственно, в некоторых аспектах изобретения наблюдаемая доля пациентов с клиническим ответом приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы, как определено с использованием шкалы Мейо, может быть выбрана из группы, которая состоит по крайней мере из около 25 %, по крайней мере из около 27 %, по крайней мере из около 28 %, по крайней мере из около 30 %, по крайней мере из около 32 %, по крайней мере из около 33 %, по крайней мере из около 35 %, по крайней мере из около 37 %, по крайней мере из около 38 %, по крайней мере из около 40 %, по крайней мере из около 42 %, по крайней мере из около 43 %, по крайней мере из около 45 %, по крайней мере из около 47 %, по крайней мере из около 48 % и по крайней мере из около 50 %.

Соответственно, в некоторых аспектах изобретения наблюдаемая доля пациентов с заживления слизистой оболочки приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы, как определено с использованием шкалы Мейо, может быть выбрана из группы, которая состоит по крайней мере из около 10 %, по крайней мере из около 14 %, по крайней мере из около 15 %, по крайней мере из около 20 %, по крайней мере из около 25

%, по крайней мере из около 27 %, по крайней мере из около 30 %, по крайней мере из около 35 % и по крайней мере из около 37 %.

мАт 7.16.6 представляется безопасным и хорошо переносимым в этой популяции пациентов. Наиболее распространённые побочные явления были связаны с основным заболеванием и происходили в течение первого месяца лечения в группах лечения плацебо и 7,5 мг.

Воздействие мАт 7.16.6 в сыворотке соответствовало такому, которое наблюдали в ходе I фазы исследования ЯК (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00928681), и было адекватно предсказано с помощью предварительной популяционной фармакокинетической (ФК) модели, которая описывает мишень-опосредованное распределение препарата. Такие ФК уровни соответствовали супрессированию растворимого MAdCAM (на 12 неделе) в пределах от 68 % до 98 %, что согласуется с модельными прогнозами во время планирования исследования. Общий подтверждающий положительный показатель антитела против исследуемого вещества (АПИВ) составил приблизительно 6,4 %. Признаки стимулирования ответа АПИВ посредством лечения отсутствовали. Предварительная оценка пациентов с подтвержденными положительными АПИВ после исходного уровня указывала на отсутствие заметного влияния АПИВ на воздействие, безопасность или эффективность.

Биомаркеры

Изобретение дополнительно относится к молекулярным биомаркерам, таким как генетические мутации, транскриптомная экспрессия РНК, маркеры клеточных белков и различные показатели ответов на лечение пациентов с помощью анти-MAdCAM, в особенности, тех, которые страдают язвенным колитом (ЯК). Например, биомаркеры могут быть использованы для выяснения механизма действия, лежащего в основе наблюдаемого немонотонного дозового ответа, который наблюдали у пациентов с язвенным колитом после лечения мАт 7.16.6. Лечение с помощью мАт 7.16.6 приводит к предпочтительному ингибированию иммунного эффектора над регуляторными клетками при пониженных клинически эффективных дозах, которые нормализуются при помощи повышенных клинически менее эффективных доз. Соответственно, биомаркеры, которые связаны с регуляторными клетками, могут быть использованы для оптимизации выбора будущей дозы. Дополнительно, биомаркеры также могут быть использованы для выбора субпопуляций пациентов с ЯК, в частности, тех, которые чувствительны к лечению анти-MAdCAM антителом.

Например, пациенту с ЯК можно вводить по крайней мере начальную дозу антитела-антагониста MAdCAM и, необязательно, одну или более последующих доз с фиксированным интервалом (в данных примерах пациентам вводили дозы один раз в 4 недели). Необязательно, через или по крайней мере приблизительно через 4 недели, через

или по крайней мере приблизительно через 8 недель, через или по крайней мере приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы, у указанного пациента можно оценить один или более биомаркеров с целью прогнозирования вероятности будущего благоприятного терапевтического ответа. При положительном результате анализа биомаркеров можно предположить, что пациент получит пользу от продолжения лечения с помощью анти-MAdCAM. Биомаркеры могут быть оценены перед лечением с помощью анти-MAdCAM для выбора субпопуляции пациентов, которые, вероятно, получают пользу от лечения с помощью анти-MAdCAM. Также биомаркеры могут постоянно контролироваться в ходе лечения, например, либо с целью корректировки дозы, либо для определения необходимости в продолжении лечения.

В данном документе предложены четыре типа биомаркеров: генетические биомаркеры (такие как SNP rs11171739), маркеры РНК-транскриптов (такие как транскрипт гена CCR9), белковые биомаркеры (такие как фекальный кальпротектин, sMAdCAM и hsCRP) и клеточные биомаркеры (такие как клетки $\alpha 4\beta 7^+$). Любой из этих биомаркеров может использоваться обособленно или в любой комбинации для оценки терапевтического эффекта и/или субпопуляции пациентов.

В одном аспекте данное изобретение относится к способу оценки наличия или отсутствия благоприятного ответа у пациента после введения антитела-антагониста MAdCAM, который включает: а) измерение уровня биомаркера в биологическом образце от указанного пациента; б) сравнение упомянутого уровня с контролем; причём изменение уровня биомаркера по сравнению с контролем прогнозирует благоприятный ответ у указанного пациента. В другом аспекте данное изобретение относится к способу оценки наличия или отсутствия благоприятного ответа у пациента после введения антитела-антагониста MAdCAM, который включает: а) взятие или получение биологического образца от указанного пациента; б) измерение уровня биомаркера в указанном биологическом образце; в) сравнение упомянутого уровня с контролем; причём изменение уровня биомаркера по сравнению с контролем прогнозирует благоприятный ответ у указанного пациента. Такой пациент может продолжать лечение антителом-антагонистом MAdCAM. Дальнейшее дозирование может корректироваться в соответствии с изменениями уровня биомаркера для достижения желаемого терапевтического эффекта. Например, доза может быть увеличена, если изменения уровней биомаркера у пациента не достигли минимальной пороговой величины.

Специалист в данной области техники сможет определить, что такое соответствующий контроль. В некоторых вариантах реализации изобретения контроль представляет собой уровень указанного биомаркера до лечения анти-MAdCAM. В некоторых вариантах реализации изобретения контроль представляет собой уровень указанного биомаркера в определённые моменты времени на протяжении лечения (например, через 1 неделю после введения начальной дозы, через 2 недели после

введения начальной дозы). В некоторых вариантах реализации изобретения контроль представляет собой заданное значение (например, пороговое значение или средний уровень в популяции пациентов).

В некоторых вариантах реализации изобретения упомянутый биомаркер представляет собой любой из или любую комбинацию белковых биомаркеров из таблицы 12, а также фекальный кальпротектин, sMAdCAM и hsCRP. В некоторых вариантах реализации изобретения упомянутый биомаркер представляет собой любой из или любую комбинацию белковых биомаркеров из таблицы 13, а также фекальный кальпротектин, sMAdCAM и hsCRP. В некоторых вариантах реализации изобретения упомянутый биомаркер представляет собой любой из или любую комбинацию биомаркеров РНК-транскриптов из таблицы 15, таких как CCR9. В некоторых вариантах реализации изобретения упомянутый биомаркер представляет собой циркулирующие клетки $\alpha 4\beta 7+$. Также может быть использована любая комбинация белковых, РНКовых и клеточных биомаркеров, описанных в данном документе.

В некоторых вариантах реализации изобретения биомаркер представляет собой: (i) любой из биомаркеров или их комбинацию, выбранный из группы, которая состоит из: фекального кальпротектина, sMAdCAM, hsCRP, AR, CHI3L1, CXCL1, CXCL11, CXCL13, CXCL9, Dkk-1, EGF, EN-RAGE, EPO, FGF-21, GH, ИЛ-17C, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, MIP-1 альфа, MMP-1, MMP-10, MMP-12, MMP-3, NT-pro-BNP, OSM, PTPN22, PTX3, REG-4, RETN, TNFRSF4, TRANCE и VEGF-A; (ii) CCR9; (iii) циркулирующие клетки $\alpha 4\beta 7+$; или (iv) любую комбинацию вышеизложенного.

В одном аспекте данное изобретение относится к способу идентификации пациента, который получит пользу от лечения антителом-антагонистом MAdCAM, который включает: а) получение биологического образца от указанного пациента; б) обнаружение наличия аллеля риска rs11171739 в указанном образце; причём наличие аллеля риска rs11171739 прогнозирует благоприятный ответ у указанного пациента на лечение антителом-антагонистом MAdCAM. rs11171739 представляет собой SNP (англ. "single nucleotide polymorphism", однонуклеотидный полиморфизм) в локусе 12q13.2 (в позиции 56076841) и, по имеющимся данным, связан с экспрессией гена MAdCAM1 и с некоторыми аутоиммунными заболеваниями. Нормальный аллель (согласно записи базы данных SNP) представляет собой (Т) (частота аллеля 55,5 %), а аллель риска представляет собой (С) (частота аллеля 44,5 %). Частоты генотипов составляют: (Т; Т) – 40,9 %, (С; Т) – 32,8 % и (С; С) – 26,3 %.

Можно использовать вариации комбинаций геномных, РНКовых, белковых и клеточных биомаркеров, раскрытых в данном изобретении. Например, субпопуляцию пациентов можно идентифицировать путём комбинации транскрипта CCR9 и sMAdCAM, или комбинации аллеля риска rs11171739, CCR9 и sMAdCAM.

В некоторых аспектах данное изобретение относится к способу оценки соответствия пациента условиям лечения патологического состояния, который включает:

- измерение уровней экспрессии одного или более генов, выбранных из группы, которая состоит из фекального кальпротектина, sMAdCAM и hsCRP, перед лечением;
- измерение уровней экспрессии генов, измеренных на стадии (i), после того, как пациента лечили антителам-антагонистом MAdCAM, согласно данному изобретению,
- сравнение уровней экспрессии генов на этапах (i) и (ii) и определение повышения или понижения экспрессии;
- продолжение лечения пациента на основании изменения экспрессии одного или более генов.

В некоторых аспектах изобретения ген представляет собой фекальный кальпротектин. В некоторых аспектах изобретения ген представляет собой растворимый MAdCAM (sMAdCAM). В некоторых аспектах изобретения ген представляет собой hsCRP.

В другом аспекте в изобретении предложен набор для оценки наличия или отсутствия благоприятного ответа у пациента после введения антитела-антагониста MAdCAM, который содержит: а) детектирующий агент для обнаружения присутствия биомаркера, описанного в данном документе, или для измерения уровня биомаркера, описанного в данном документе; б) инструкции к применению указанного детектирующего агента. Детектирующий агент может содержать зонд, который специфически связывается с биомаркером.

Как описано в данном документе, биомаркером может быть любой из биомаркеров, представленных в таблицах 12, 13, 15; фекальный кальпротектин, sMAdCAM, hsCRP; клетки $\alpha 4\beta 7+$, rs11171739; или любая их комбинация.

Зонд может быть олигонуклеотидом (например, для связывания с ДНК биомаркером или РНК биомаркером), антителом (например, для связывания с белковым биомаркером), или лигандом, аптамером или малой молекулой, которая специфически связывается с указанным биомаркером. Зонд может быть помечен детектируемым маркером (например, флуоресцентным тегом) для определения присутствия или отсутствия указанного биомаркера или для количественного определения уровня, указанного биомаркера.

В другом аспекте изобретение относится к способу лечения пациента, подверженного повышению экспрессии MAdCAM, или у которого диагностировали патологическое состояние, связанное с повышением экспрессии MAdCAM, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 5 мг до около 150 мг антитела-антагониста MAdCAM, причём указанного пациента идентифицируют по: а) введению указанному пациенту начальной дозы антитела-антагониста MAdCAM; б) анализу биологического образца от указанного пациента приблизительно через 4 недели или более (например, приблизительно через 8 недель, приблизительно через 12 недель, приблизительно через 16 недель или приблизительно через 20 недель) после начального

введения, который включает следующие этапы: (i) измерение уровня биомаркера в указанном биологическом образце; (ii) сравнение упомянутого уровня с контролем; причём изменение уровня биомаркера по сравнению с контролем прогнозирует благоприятный ответ у указанного пациента. В другом аспекте изобретение относится к способу лечения пациента, подверженного повышению экспрессии MAdCAM, или у которого диагностировали патологическое состояние, связанное с повышением экспрессии MAdCAM, который включает введение пациенту начальной дозы в пределах от около 5 мг до около 150 мг антитела-антагониста MAdCAM, причём указанного пациента идентифицируют по: а) введению указанному пациенту начальной дозы антитела-антагониста MAdCAM; б) взятие или получение биологического образца от указанного пациента приблизительно через 4 недели или более (например, приблизительно через 8 недель, приблизительно через 12 недель, приблизительно через 16 недель или приблизительно через 20 недель) после начального введения; в) измерение уровня биомаркера в указанном биологическом образце; г) сравнение упомянутого уровня с контролем; причём изменение уровня биомаркера по сравнению с контролем прогнозирует благоприятный ответ у указанного пациента. Такой пациент может продолжать лечение антителом-антагонистом MAdCAM. Дальнейшее дозирование может корректироваться в соответствии с изменениями уровня биомаркера для достижения желаемого терапевтического эффекта. Например, доза может быть увеличена, если изменения уровней биомаркера у пациента не достигли минимальной пороговой величины. Кроме того, можно использовать различные контроли, такие как уровень упомянутого биомаркера перед лечением анти-MAdCAM, или определённые моменты времени на протяжении лечения, или заданное значение.

Последующие дозы также можно вводить во время оценки биомаркера. Например, анти-MAdCAM антитело-антагонист можно вводить один раз в 4 недели, а биологические образцы можно брать на 4 неделю, 8 неделю и 12 неделю после введения начальной дозы. В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к понижению фекального кальпротектина приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы по крайней мере на около 20 %. В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к понижению фекального кальпротектина приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы по крайней мере на около 25 %. В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к понижению фекального кальпротектина приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы по крайней мере на около 30 %. В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к понижению фекального кальпротектина приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы по крайней мере на около 35 %. В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к понижению фекального кальпротектина приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы по крайней мере на

значения можно сравнить с контролем (таким как уровень sMAdCAM после предварительного лечения). В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к понижению sMAdCAM приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы по крайней мере на около 95 % по сравнению с контролем (таким как уровень sMAdCAM после предварительного лечения).

В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к понижению hsCRP приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы. В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к понижению hsCRP приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы по крайней мере на около 5 %. В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к понижению hsCRP приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы по крайней мере на около 10 %. В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к понижению hsCRP приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы по крайней мере на около 15 %. В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к понижению hsCRP приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы по крайней мере на около 65 %. В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к понижению hsCRP приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы по крайней мере на около 16 %. В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к понижению hsCRP приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы по крайней мере на около 20 %. Вышеуказанные процентные значения можно сравнить с контролем, таким как уровень hsCRP после предварительного лечения. В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к понижению hsCRP приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы по крайней мере на около 25 %, по крайней мере на около 30 %, по крайней мере на около 35 %, по крайней мере на около 40 %, по крайней мере на около 45 %, по крайней мере на около 50 %, по крайней мере на около 55 %, по крайней мере на около 60 %, по крайней мере на около 65 %, по крайней мере на около 70 %, по крайней мере на около 75 %, по крайней мере на около 80 %, по крайней мере на около 85 %, по крайней мере на около 90 % или по крайней мере на около 95 % по сравнению с контролем (таким как уровень hsCRP после предварительного лечения).

В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к увеличению РНК-транскриптов гена CCR9 приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы. В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к увеличению РНК-транскриптов гена CCR9 приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы по крайней мере в около 1,1 раза, по крайней мере в около 1,2 раза, по крайней мере в около 1,3 раза, по крайней мере в около 1,4 раза, по крайней мере в около 1,5 раза, по крайней мере в около 1,6 раза, по крайней мере в около 1,7 раза, по крайней мере в около 1,8 раза, по крайней мере в около 1,9 раза, по крайней мере в около 2,0 раза, по крайней

мере в около 2,1 раза, по крайней мере в около 2,2 раза, по крайней мере в около 2,3 раза, по крайней мере в около 2,4 раза, по крайней мере в около 2,5 раза, по крайней мере в около 3,0 раза, по крайней мере в около 3,5 раза, по крайней мере в около 4 раза, по крайней мере в около 4,5 раза, по крайней мере в около 5,0 раз, по крайней мере в около 5,5 раз, по крайней мере в около 6,0 раз, по крайней мере в около 6,5 раз, по крайней мере в около 7,0 раз, по крайней мере в около 7,5 раз, по крайней мере в около 8,0 раз, по крайней мере в около 8,5 раз, по крайней мере в около 9,0 раз, по крайней мере в около 9,5 раз или по крайней мере в около 10,0 раз по сравнению с контролем (таким как уровень CCR9 после предварительного лечения).

В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к увеличению циркуляции клеток $\alpha 4\beta 7+$ приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы. В некоторых аспектах способы по данному изобретению относятся к увеличению циркулирующих клеток $\alpha 4\beta 7+$ приблизительно через 12 недель после введения начальной дозы по крайней мере в около 1,1 раза, по крайней мере в около 1,2 раза, по крайней мере в около 1,3 раза, по крайней мере в около 1,4 раза, по крайней мере в около 1,5 раза, по крайней мере в около 1,6 раза, по крайней мере в около 1,7 раза, по крайней мере в около 1,8 раза, по крайней мере в около 1,9 раза, по крайней мере в около 2,0 раза, по крайней мере в около 2,1 раза, по крайней мере в около 2,2 раза, по крайней мере в около 2,3 раза, по крайней мере в около 2,4 раза, по крайней мере в около 2,5 раза, по крайней мере в около 3,0 раза, по крайней мере в около 3,5 раза, по крайней мере в около 4 раза, по крайней мере в около 4,5 раза, по крайней мере в около 5,0 раз, по крайней мере в около 5,5 раз, по крайней мере в около 6,0 раз, по крайней мере в около 6,5 раз, по крайней мере в около 7,0 раз, по крайней мере в около 7,5 раз, по крайней мере в около 8,0 раз, по крайней мере в около 8,5 раз, по крайней мере в около 9,0 раз, по крайней мере в около 9,5 раз или по крайней мере в около 10,0 раз по сравнению с контролем (таким как уровень циркулирующих клеток $\alpha 4\beta 7+$ после предварительного лечения).

В конкретном аспекте изобретения пациент, который получает лечение антителом-антагонистом MAdCAM, несёт аллель риска rs11171739 в гетерозиготном состоянии (C; T). В конкретном аспекте изобретения пациент, который получает лечение антителом-антагонистом MAdCAM, несёт аллель риска rs11171739 в гомозиготном состоянии (C; C).

Любая комбинация описанных выше изменений также охватывается данным изобретением. Например, для оценки наличия благоприятного ответа на лечение с помощью анти-MAdCAM или для выбора субпопуляции пациентов в качестве критерия можно сочетать 50 %-ное уменьшение sMAdCAM и 2-кратное увеличение транскрипов CCR9.

Изделия промышленного производства

Изобретение дополнительно относится к изделию промышленного производства, которое включает контейнер, композицию внутри контейнера, которая содержит антитело-антагонист MAdCAM, и вкладыш в упаковку, который содержит инструкции касательно дозирования антитела, согласно способам и применениям, которые описаны в данном документе.

Изобретение также рассматривает антитело-антагонист MAdCAM или его антигенсвязывающую часть для использования в качестве лекарственного средства.

Изобретение также относится к антителу-антагонисту MAdCAM или к его антигенсвязывающей части для использования в качестве лекарственного средства.

Интервалы дозирования

В некоторых аспектах способы по данному изобретению дополнительно предусматривают введение последующих доз антитела в количестве, которое приблизительно равно или меньше начальной дозы.

В некоторых аспектах изобретения первая последующая доза предоставляется приблизительно между 2 и 12 неделями после введения первой дозы. В некоторых аспектах изобретения первая последующая доза предоставляется приблизительно через 4 недели после введения первой дозы.

В некоторых аспектах изобретения последующие дозы дают отдельно приблизительно между 4 и 12 неделями. В некоторых аспектах изобретения последующие дозы дают отдельно приблизительно между 2 и 8 неделями. В некоторых аспектах изобретения последующие дозы дают отдельно приблизительно между 2 и 10 неделями. В некоторых аспектах изобретения последующие дозы дают отдельно приблизительно между 4 и 10 неделями. В некоторых аспектах изобретения последующие дозы дают отдельно приблизительно через 4 недели.

В некоторых аспектах изобретения последующие дозы дают отдельно приблизительно между 1 и 3 месяцами. В некоторых аспектах изобретения последующие дозы дают отдельно приблизительно через 1 месяц. В некоторых аспектах изобретения последующие дозы дают отдельно приблизительно через 2 месяца.

В некоторых аспектах способы по данному изобретению дополнительно предусматривают введение поддерживающей дозы антитела в количестве, которое приблизительно равно или меньше начальной дозы, которая предоставляется в промежутке между первой и первой последующей(ими) дозой (дозами).

Антитело можно вводить один раз, или его можно вводить несколько раз.

В некоторых аспектах изобретение относится к способу использования антитела-антагониста MAdCAM, фармацевтической композиции, которая содержит антитело-антагонист MAdCAM для лечения пациента, причём доза антитела-антагониста MAdCAM, предоставляемая пациенту, является достаточной для устойчивого понижения уровней

MAdCAM на период по крайней мере около 1, по крайней мере около 2, по крайней мере около 3, по крайней мере около 4, по крайней мере около 5, по крайней мере около 6, по крайней мере около 7, по крайней мере около 8 недель, по крайней мере около 9, по крайней мере около 10, по крайней мере около 11, по крайней мере около 12 недель после введения вместе с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом или носителем.

В некоторых аспектах изобретения начальная доза находится между нижним пределом, выбранным из группы, которая состоит из около 5 мг, 6 мг, около 7 мг, около 7,5 мг, около 8 мг, около 9 мг, около 10 мг, около 12 мг, около 15 мг, около 20 мг, около 22,5 мг, около 25 мг, около 30 мг, около 35 мг, около 45 мг, около 50 мг, и верхним пределом, выбранным из группы, которая состоит из около 50 мг, около 55 мг, около 60 мг, около 65 мг, около 70 мг, менее чем около 75 мг и около 75 мг, а последующая доза доставляется в количестве, которое приблизительно равно или меньше начальной дозы, и последующую дозу вводят примерно между 2 и 6 неделями после введения начальной дозы. В некоторых аспектах изобретения последующую дозу вводят приблизительно через 4 недели после введения начальной дозы.

В некоторых аспектах изобретения начальная доза находится между нижним пределом, выбранным из группы, которая состоит из около 50 мг, около 55 мг, около 60 мг, около 65 мг, около 70 мг, около 75 мг, около 80 мг, около 85 мг, около 90 мг, около 95 мг и около 100 мг, и верхним пределом, выбранным из группы, которая состоит из около 75 мг, около 80 мг, около 85 мг, около 90 мг, около 95 мг, около 100 мг, около 105 мг, около 110 мг, около 115 мг, около 120 мг, 125 мг, около 130 мг, около 135 мг, около 140 мг, около 145 мг, менее чем около 150 мг и около 150 мг, а последующая доза доставляется в количестве, которое приблизительно равно или меньше начальной дозы, и последующую дозу вводят примерно между 6 и 10 неделями после введения начальной дозы. В некоторых аспектах изобретения последующую дозу вводят приблизительно через 8 недель после введения начальной дозы.

Способ введения препарата

Соответственно, настоящее изобретение относится к способу лечения пациента, подверженного сверхэкспрессии MAdCAM или у которого диагностировали нарушение, которое характеризуется сверхэкспрессией MAdCAM, который включает введение начальной дозы терапевтически эффективного количества антитела-антагониста MAdCAM подкожно.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения пациента, подверженного сверхэкспрессии MAdCAM или у которого диагностировали нарушение, которое характеризуется сверхэкспрессией MAdCAM, который включает

введение начальной дозы терапевтически эффективного количества антитела-антагониста MAdCAM внутривенно.

В некоторых аспектах изобретения по крайней мере одну последующую дозу вводят путём подкожной инъекции. В некоторых аспектах изобретения по крайней мере одну последующую дозу вводят путём внутривенной инъекции.

Также антитело можно вводить непрерывно через мини-насос. Антитело можно вводить через слизистую оболочку, буккальным, интраназальным, ингаляционным, внутривенным, подкожным, внутримышечным, парентеральным или внутриопухолевым способом. Антитело можно вводить один раз, по крайней мере два раза, или по крайней мере в течение периода времени до тех пор, пока патологическое состояние лечат, временно облегчают или пока не вылечат. Как правило, антитело будут вводить до тех пор, пока присутствует патологическое состояние.

Антитела к MAdCAM по данному изобретению

Данное изобретение относится к антителам к MAdCAM в целом и к их применению. В некоторых аспектах изобретения антитело представляет собой мАт 7.16.6 или его вариант. В некоторых аспектах изобретения антитело-антагонист MAdCAM содержит CDR из SEQ ID № 1 и SEQ ID № 2. В некоторых аспектах изобретения антитело-антагонист MAdCAM содержит CDR из SEQ ID № 3 и SEQ ID № 4. В некоторых аспектах изобретения антитело-антагонист MAdCAM содержит вариабельные домены из SEQ ID № 3 и SEQ ID № 4. В некоторых аспектах изобретения антитело-антагонист MAdCAM включает SEQ ID № 1 и SEQ ID № 2. В некоторых аспектах изобретения могут быть использованы альтернативные антитела-антагонисты MAdCAM для использования в способах и композициях по данному изобретению. Типовые антитела-антагонисты MAdCAM перечислены в таблицах 1 и 2. Примеры в WO2005067620 (включённые в данный документ посредством ссылки) полностью описывают антитела из таблиц 1 и 2 и содержат детали информации о характеристиках, таких как аффинность связывания, константа скорости ассоциации (K_{on}), константа скорости диссоциации (K_{off}), константа диссоциации (K_d) и т. д.

В некоторых аспектах изобретения антитело может быть антителом-антагонистом MAdCAM, которое перекрёстно конкурирует с мАт 7.16.6 (SEQ ID №№ 1 и 2).

В некоторых аспектах антитела по данному изобретению имеют одно или более из следующих свойств:

- время полужизни у пациентов-людей в пределах от 20 до 60 дней;
- подкожная (ПК) биодоступность по крайней мере 50 %; и/или
- $K_D \leq 10$ нМ.

В некоторых аспектах изобретения антитело может иметь период полужизни у пациентов-людей по крайней мере 30 дней. В некоторых аспектах изобретения антитело может иметь период полужизни у пациентов-людей по крайней мере 35 дней. В некоторых

аспектах изобретения антитело может иметь период полужизни у пациентов-людей по крайней мере 40 дней. В некоторых аспектах изобретения антитело может иметь период полужизни у пациентов-людей по крайней мере 45 дней. В некоторых аспектах изобретения антитело может иметь период полужизни у пациентов-людей по крайней мере 50 дней.

В некоторых аспектах изобретения ПК биодоступность антитела может составлять по крайней мере 60 %. В некоторых аспектах изобретения ПК биодоступность антитела может составлять по крайней мере 65 %. В некоторых аспектах изобретения ПК биодоступность антитела может составлять по крайней мере 70 %. В некоторых аспектах изобретения ПК биодоступность антитела может составлять по крайней мере 75 %. В некоторых аспектах изобретения ПК биодоступность антитела может составлять по крайней мере 80 %. В некоторых аспектах изобретения ПК биодоступность антитела может составлять по крайней мере 85 %. В некоторых аспектах изобретения ПК биодоступность антитела может составлять по крайней мере 90 %. В некоторых аспектах изобретения ПК биодоступность антитела может составлять по крайней мере 95 %. В некоторых аспектах изобретения ПК биодоступность антитела может составлять по крайней мере 90 %. В некоторых аспектах изобретения ПК биодоступность антитела может составлять по крайней мере 99 %.

В некоторых аспектах изобретения KD измеряется поверхностным плазмонным резонансом (ППР). В некоторых аспектах изобретения поверхностный плазмонный резонанс можно измерить с использованием Biocore. В некоторых аспектах изобретения ППР можно измерить с использованием Biacore с захваченным антителом и жидкой фазой MAdCAM.

В некоторых аспектах изобретения антитело имеет $KD \leq 10$ нМ. В некоторых аспектах изобретения антитело имеет $KD \leq 1$ нМ. В некоторых аспектах изобретения антитело имеет $KD \leq 500$ пМ. В некоторых аспектах изобретения антитело имеет $KD \leq 200$ пМ. В некоторых аспектах изобретения антитело имеет $KD \leq 100$ пМ. В некоторых аспектах изобретения антитело имеет $KD \leq 50$ пМ. В некоторых аспектах изобретения антитело имеет $KD \leq 20$ пМ. В некоторых аспектах изобретения антитело имеет $KD \leq 10$ пМ. В некоторых аспектах изобретения антитело имеет $KD \leq 5$ пМ.

Информация о депонировании

Гибридомы депонировали на условиях согласно с Будапештским договором в Европейской коллекции клеточных культур (ECACC) агентства по защите здоровья (H.P.A.) Центра прикладной биологии и исследований (CAMR), Портон Даун, Солсбери, Уилтшир SP4 0JG, 9 сентября 2003 года со следующими номерами для депонирования.

Антитело	Лёгкая цепь, SEQ ID №	Тяжёлая цепь, SEQ ID №	Обозначение гибридомы в ECACC
1.7.2	17	18	03090901

1.8.2	19	20	3090902
6.14.2	21	22	03090903
6.22.2	23	24	03090904
6.34.2	25	26	03090905
6.67.1	27	28	03090906
6.73.2	29	30	03090907
6.77.1	31	32	03090908
7.16.6	1	2	03090909
7.20.5	33	34	03090910
7.26.4	35	36	03090911
9.8.2	37	38	03090912

Таблица 1. Депонирование антител-антагонистов MAdCAM.

Депонирование было сделано в соответствии с условиями Будапештского договора о Международном признании депонирования микроорганизмов в целях патентной процедуры и положениями по этому договору (Будапештский договор). Оно обеспечивает поддержание жизнеспособной культуры при депонировании в течение 30 лет с момента депонирования. Депонирование будет предоставляться ECACC согласно условиям Будапештского договора и в соответствии с договором между Pfizer Inc. и ECACC, которая гарантирует постоянную и неограниченную доступность потомства культуры депозита для общественности после выпуска соответствующего патента США, или с момента публикации любой американской или иностранной патентной заявки, в зависимости от того, что наступит раньше, и гарантирует доступность потомства тому, кого определит комиссар по патентам и товарным знакам США, имеющий полномочия для этого, согласно 35 U.S.C. раздел 122 и правилам комиссара, согласно с этим (в том числе 37 C.F.R. раздел 1.14 с особым акцентом на 886 OG 638).

Патентообладатель настоящей заявки соглашается с тем, что, если культура материалов, которая находится на депонировании, погибнет или будет утрачена, или разрушиться при культивировании в подходящих условиях, материалы будут незамедлительно заменены после уведомления на такие же другие. Доступность депонированного материала не должна истолковываться как лицензия на осуществление изобретения с нарушением прав, которые предоставляются согласно с полномочиями любого правительства в соответствии с его патентным законодательством.

Терапевтические способы по данному изобретению

Данное изобретение относится к терапевтическим способам. Терапевтический способ включает введение вещества или композиции по данному изобретению пациенту, который в этом нуждается.

Используемый в данном документе термин «эффективная доза» или «эффективное количество» лекарственного средства, соединения или фармацевтической композиции представляет собой количество, достаточное для влияния на один любой или более благоприятных, или желаемых результатов. Для профилактического использования благоприятные или желаемые результаты включают устранение или снижение риска,

уменьшение степени тяжести или задержку начала заболевания, включая биохимические, гистологические и/ или поведенческие симптомы заболевания, его осложнения и промежуточные патологические фенотипы, которые возникают при развитии болезни. Для терапевтического использования благоприятные или желаемые результаты включают клинические результаты, такие как уменьшение дозы других лекарственных препаратов, необходимых для лечения болезни, повышение эффективности другого лекарственного препарата и/ или замедление прогрессирования заболевания у пациентов. Эффективную дозу можно вводить за одно или более введений. Для целей данного изобретения эффективная доза лекарственного средства, соединения или фармацевтической композиции представляет собой количество, достаточное для проведения профилактического или терапевтического лечения непосредственно или косвенно. Как это понятно из клинического контекста, эффективная доза лекарственного средства, соединения или фармацевтической композиции может быть или не быть достигнута в сочетании с другим лекарственным средством, соединением или фармацевтической композицией. Таким образом, «эффективная доза» может быть рассмотрена в контексте введения одного или более терапевтических агентов, и можно считать, что единичный агент предоставлен в эффективном количестве, если в сочетании с одним или более другими агентами желательный результат может быть достигнут или уже достигнут.

«Терапевтически эффективное количество» относится к такому количеству вводимого терапевтического агента, которое в какой-то степени облегчит один или более симптомов нарушения, которое лечат.

«Лечить» и «лечение» относятся к способу облегчения или подавления биологического нарушения и/ или сопутствующих ему симптомов.

«Индивидуум» или «субъект/ пациент» представляет собой млекопитающее, более предпочтительно человека. Млекопитающие также включают, но не ограничиваются этими, сельскохозяйственных животных, спортивных животных, домашних животных, приматов и лошадей. В некоторых аспектах изобретения больной представляет собой пациента-человека.

Также предлагаются способы ингибирования активности MAdCAM путём введения антитела-антагониста MAdCAM пациенту, который в этом нуждается. Любое из антител или антигенсвязывающих участков, описанных в данном изобретении, может быть использовано терапевтически. В предпочтительном варианте реализации изобретения антитело-антагонист MAdCAM представляет собой человеческое, химерное или гуманизированное антитело. В другом предпочтительном варианте реализации изобретения MAdCAM представляет собой человеческий молекулу, а больной представляет собой пациента. В альтернативном варианте, больным может быть млекопитающее, которое экспрессирует MAdCAM, которая перекрёстно реагирует с антителом-антагонистом MAdCAM. Антитело можно вводить млекопитающему

нечеловеческого происхождения, которое экспрессирует MAdCAM согласно замыслам, или модельному животному с заболеванием человека. Таких модельных животных можно использовать для демонстрации терапевтической эффективности антител.

В некоторых аспектах изобретения антитело-антагонист MAdCAM или часть этого антитела можно вводить пациенту, который экспрессирует аномально высокие уровни MAdCAM.

Антитела к MAdCAM или их антигенсвязывающие участки могут использоваться для лечения заболеваний, в которых задействован MAdCAM. Примеры заболеваний, которые можно лечить с использованием антител к MAdCAM или их антигенсвязывающих участков, включают язвенный колит (ЯК), болезнь Крона (БК), синдром раздражённого кишечника (СРК), болезнь раздражённого кишечника (БРК), глютеную болезнь, первичный склерозирующий холангит, болезнь билиарной системы, ревматоидный артрит, реактивный артрит, остеоартрит, инфекционный артрит, псориатический артрит, полиартрит, ювенильный артрит, ювенильный ревматоидный артрит, ювенильный реактивный артрит, ювенильный псориатический артрит, боль, фиброз, синдрома фибромиалгию, анкилозирующий спондилоартрит, недифференцированную спондилоартропатию, ювенильного спондилоартрит, псориаз, подагру, болезнь Кастлемана, синдром Стилла у взрослых, сепсис, диабет I типа, диабет II типа, множественную миелому и почечно-клеточную карциному. Антитела к MAdCAM или их антигенсвязывающие участки могут использоваться для лечения ЯК.

Антитела к MAdCAM или их антигенсвязывающие участки могут использоваться в комбинации с одним или более другими терапевтическими агентами. Например, антитело или его антигенсвязывающие участки могут быть использованы с ингибитором COX-2, таким как целекоксиб, для лечения таких заболеваний, как ревматоидный артрит, остеоартрит и боль. Антитела к MAdCAM или их антигенсвязывающие участки и другие терапевтические агенты можно вводить пациенту в одинаковой дозированной форме или в различных дозированных формах. Более того, их можно вводить одновременно или в разное время. Ниже приведены некоторые примеры заболеваний и их терапевтических агентов, которые могут использоваться в комбинации с анти-MAdCAM антителами или их антигенсвязывающими участками.

Язвенный колит

В некоторых аспектах данное изобретение относится к композициям и способам лечения язвенного колита. В некоторых аспектах изобретения композиции и способы по данному изобретению относятся к использованию антитела-антагониста MAdCAM в комбинации с одним или более другими дополнительными терапевтическими агентами.

В некоторых аспектах изобретения один или более дополнительных терапевтических агентов могут быть выбраны из группы, которая состоит из

ацетаминофена, напроксена натрия, ибупрофена, трамадола, аспирина, целекоксиба, валдекоксиба, индометацина и других нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП). В некоторых аспектах изобретения один или более дополнительных терапевтических агентов могут быть выбраны из группы, которая состоит из беклометазона, гидрокортизона, бетаметазона, метилпреднизолона, будесонида, преднизолона, кортизона, преднизона, дексаметазона и триамцинолона и других глюкокортикоидов. В некоторых аспектах изобретения один или более дополнительных терапевтических агентов могут быть выбраны из группы, которая состоит из 6-меркаптопурина, такролимуса, азатиоприна, талидомида, циклоспорина, тофацитиниба, метотрексата и других иммунодепрессантов/ иммуномодуляторов. В некоторых аспектах изобретения один или более дополнительных терапевтических агентов могут быть выбраны из группы, которая состоит из абатацепта, этролизумаба, адалимумаба, голимумаба, AMG-181, инфликсимаба, анти- α -10 антитела, интерлейкина-2, AVX 470, ведолизумаба, цертолизумаба пегола и других биологических препаратов. В некоторых аспектах изобретения один или более дополнительных терапевтических агентов могут быть выбраны из группы, которая состоит из AEB-071, мелатонина, alicaforsam, мезаламина, бензотиазинона, никотина, каннабиса, фосфатидилхолина, куркумина, стволовых клеток, hmpl-004, сульфасалазина, иберогаста, Trichuris suis, kappaproct, krp-203, сульфасалазина, мезаламина, балсалазида, олсалазина и лоперамида.

Соответственно, в некоторых аспектах изобретения композиции и способы по данному изобретению специально предназначены для использования в комбинации с этими агентами, продуктами и классами.

Болезнь Крона

В некоторых аспектах данное изобретение относится к композициям и способам лечения болезни Крона.

Продукты: анальгетики, такие как ацетаминофен, напроксен натрия, ибупрофен, трамадол, аспирин, целекоксиб, валдекоксиб, индометацин и другие НПВП; противовоспалительные препараты: сульфасалазин, мезаламин, балсалазид и олсалазин; а также кортикостероиды, такие как преднизон и будесонид; иммунодепрессанты, такие как азатиоприн, меркаптопурин, блокаторы ФНО, такие как инфликсимаб и адалимумаб, метотрексат и циклоспорин; антибиотики, такие как метронидазол и ципрофлоксацин; противодиарейные средства, такие как лоперамид; и слабительные средства. Классы: анальгетики, НПВП, ингибиторы COX-2, противовоспалительные препараты, блокаторы ФНО, антибиотики, противодиарейные средства и слабительные средства.

Соответственно, в некоторых аспектах изобретения композиции и способы по данному изобретению специально предназначены для использования в комбинации с этими продуктами и классами.

Другие показания к применению

В некоторых аспектах данное изобретение относится к композициям и способам лечения ревматоидного артрита (РА), синдрома Рейтера (реактивного артрита), остеоартрита, инфекционного артрита, псориатического артрита, полиартрита, ювенильного артрита, ювенильного ревматоидного артрита, ювенильного реактивного артрита, ювенильного псориатического артрита, боли, фиброза, синдрома фибромиалгии, анкилозирующего спондилоартрита, недифференцированной спондилоартропатии (НСпА), ювенильного спондилоартрита (ЮСпА), псориаза, подагры или синдрома раздражённого кишечника (СРК).

С помощью способов и соединений по данному изобретению также можно лечить и другие заболевания, которые связаны с высокими уровнями MAdCAM, такие как устойчивая к лечению депрессия, раковая кахексия, диабет II типа, артериит Такаясу, офтальмопатия Грейвса и истощение мышц у пожилых людей.

Фармацевтические композиции и введение препарата

Также предлагаются фармацевтические композиции для лечения патологического состояния (такого как язвенный колит, болезнь Крона), связанного с повышением экспрессии MAdCAM у млекопитающего, включая человека, которые включают такое количество антитела-антагониста MAdCAM или его антигенсвязывающего участка, описанных в данном документе, которое является эффективным при лечении аномальной клеточной инфильтрации, и фармацевтически приемлемый носитель. Композиции обеспечивают терапевтическую пользу пациентам с одним из множества различных воспалительных и аутоиммунных заболеваний, таких как ревматоидный артрит, атеросклероз, гранулематозные заболевания, рассеянный склероз, астма и рак.

Антитела к MAdCAM и их антигенсвязывающие участки могут быть включены в фармацевтические композиции, подходящие для введения пациенту. Как правило, фармацевтическая композиция содержит антитело-антагонист MAdCAM или его антигенсвязывающий участок и фармацевтически приемлемый носитель. Используемый в данном документе термин «фармацевтически приемлемый носитель» означает любой и все растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические и замедляющие абсорбцию агенты и тому подобное, которые являются физиологически совместимыми. Некоторые примеры фармацевтически приемлемых носителей представляют собой воду, физиологический раствор, физиологический раствор с фосфатным буфером, декстрозу, глицерин, этанол и тому подобное, а также их комбинации. Во многих случаях будет предпочтительным включение в композиции изотонических агентов, например, сахаров, полиспиртов, таких как маннитол, сорбитол или хлорид натрия. Дополнительные примеры фармацевтически приемлемых веществ представляют собой смачивающие агенты или незначительные количества вспомогательных веществ, таких как смачивающие или эмульгирующие агенты,

консерванты или буферы, которые увеличивают срок годности или эффективность антитела.

Композиции по данному изобретению могут быть в различных формах, например, в жидких, полутвёрдых и твёрдых лекарственных формах, таких как жидкие растворы (например, инъекционные и инфузионные растворы), дисперсии или суспензии, таблетки, пилюли, порошки, липосомы и суппозитории. Форма зависит от предполагаемого способа введения и терапевтического применения. Типичные композиции представлены в виде инъекционных или инфузионных растворов, таких как композиции, аналогичные таковым, которые используются для пассивной иммунизации людей. В одном случае способ введения представляет собой парентеральный (например, внутривенный, подкожный, внутрибрюшинный, внутримышечный). В другом случае антитело вводят путём внутривенной инфузии или инъекции. В другом случае антитело вводят путём внутримышечной или подкожной инъекции. Препараты для инъекций могут быть представлены в лекарственной форме с однократной дозировкой, например, в ампулах или в контейнерах с несколькими дозами, с добавлением или без добавления консерванта. Композиции могут принимать такие формы, как суспензии, растворы или эмульсии в масляных или водных наполнителях, и могут содержать формообразующие агенты, такие как суспендирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие агенты. В альтернативном варианте активный ингредиент может быть в форме порошка для разбавления перед использованием подходящим наполнителем, например, стерильной апиrogenной водой. Стерильные растворы для инъекций могут быть получены путём включения необходимого количества антитела-антагониста MAdCAM в подходящий растворитель, при необходимости с одним из или комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, с последующей стерилизацией посредством фильтрования.

Значения дозировок могут варьировать в зависимости от типа и тяжести патологического состояния, которое необходимо облегчить. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных растворов для инъекций, подходящие способы получения включают вакуумную сушку и сублимационную сушку, которая образует порошок с активным ингредиентом плюс любым дополнительным желаемым ингредиентом из раствора, предварительно стерилизованного посредством фильтрования. Надлежащую текучесть раствора можно поддерживать, например, с помощью использования покрытия, такого как лецитин, с помощью поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и с помощью использования поверхностно-активных веществ. Пролонгированное всасывание инъекционных композиций можно осуществлять путём включения в композицию агента, который задерживает всасывание, например, моностеаратных солей и желатина.

В некоторых случаях композиции с антителом-антагонистом MAdCAM могут быть получены с носителем, который будет защищать антитело от быстрого высвобождения,

такие как композиция с контролируемым высвобождением, включая имплантаты, трансдермальные пластыри и микрокапсулированные системы доставки. Можно использовать биodeградируемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, полиортоэфир и полимолочная кислота. Можно использовать многие способы получения таких композиций. См., например, *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, J. R. Robinson, ред., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978, которая включена в данный документ посредством ссылки.

В композиции также могут быть включены дополнительные активные соединения (включая один любой или более из ранее описанных дополнительных терапевтических агентов). В некоторых случаях ингибирующее антитело-антагонист MAdCAM комбинируется с и/или вводится совместно с одним или более дополнительными терапевтическими агентами. Эти агенты включают, без ограничения, антитела, которые связываются с другими мишенями, противоопухолевые агенты, антиангиогенезные агенты, ингибиторы передачи сигналов, антипролиферативные агенты, химиотерапевтические агенты или пептидные аналоги, которые ингибируют MAdCAM. Такие комбинированные терапии могут предусматривать понижение доз ингибирующего антитела-антагониста MAdCAM, а также совместно вводимых агентов, что позволяет избежать возможных токсических эффектов или осложнений, которые связаны с различными монотерапиями.

Композиции могут включать «терапевтически эффективное количество» или «профилактически эффективное количество» антитела или антигенсвязывающего участка. «Терапевтически эффективное количество» относится к количеству, эффективному по дозировкам и для периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего участка может варьироваться в зависимости от таких факторов, как состояние болезни, возраст, пол и вес индивидуума, а также способность антитела или части антитела вызывать желаемый ответ у индивидуума. Также терапевтически эффективное количество представляет собой такое, в котором любые токсические или вредные эффекты антитела или антигенсвязывающего участка перевешиваются терапевтически благоприятными эффектами. «Профилактически эффективное количество» относится к количеству, эффективному по дозировкам и для периодов времени, необходимых для достижения желаемого профилактического результата. Как правило, поскольку профилактическая доза используется для пациентов до заболевания или на более ранней стадии заболевания, профилактически эффективное количество может быть меньше, чем терапевтически эффективное количество.

В одном случае антитело вводят в композицию в виде стерильного водного раствора, который имеет pH в диапазоне от около 5,0 до около 6,5 и содержит от около 1 мг/мл до около 200 мг/мл антитела, от около 1 mM до около 100 mM гистидинового буфера,

от около 0,01 мг/ мл до около 10 мг/ мл полисорбата 80 или полисорбата 20, от около 100 мМ до около 400 мМ невосстанавливающего сахара, выбранного из, но не ограничиваясь этими, трегалозы или сахарозы, от около 0,01 мМ до около 1,0 мМ ЭДТУ (англ. EDTA) динатрия дигидрата и необязательно включают фармацевтически приемлемый антиоксидант в дополнение к хелатообразующему агенту. Подходящие антиоксиданты включают, но не ограничиваются этими, метионин, тиосульфат натрия, каталазу и платину. Например, композиция может содержать метионин в диапазоне концентраций от 1 мМ до около 100 мМ и, в частности, составляет около 27 мМ. В некоторых случаях композиция содержит 5 мг/ мл антитела в 20 мМ натрий-цитратном буфере, pH 5,5, 140 мМ NaCl и 0,2 мл/ мл полисорбата 80.

В некоторых аспектах изобретения композиция изложена в WO2006/096490, содержание которого включено в данный документ. В некоторых аспектах изобретения композиция содержит 75 мг/ мл антитела, 10 мМ гистидин, pH 5,5, 90 мг/ мл дигидрата трегалозы, 0,1 мг/ мл ЭДТУ динатрия дигидрата и 0,4 мг/ мл полисорбата 80.

В другом аспекте композиция содержит 20 мМ гистидин, 7 % трегалозу, 0,4 мг/ мл полисорбата 80, 0,1 мг/ мл ЭДТУ, pH 5,5 и 25 мг/ мл и 75 мг/ мл анти-MAdCAM антитела.

Наборы

Другой аспект изобретения, предложенный в данном документе, представляет собой наборы, которые содержат антитело-антагонист MAdCAM или антигенсвязывающий участок, или композицию, которая содержит такое антитело или антигенсвязывающий участок. Набор может включать, помимо антитела или композиции, либо один или более дополнительных терапевтических агентов, и либо один или более дополнительных диагностических агентов. Также набор может включать инструкции к применению для диагностического или терапевтического способа. В одном случае набор включает антитело или композицию, которая содержит антитело, и диагностический агент, который может быть использован для способа, описанного в данном документе. В другом случае набор включает антитело или композицию, которая его содержит, и один или более терапевтических агентов, которые могут быть использованы для способа, описанного в данном документе.

В некоторых аспектах изобретение относится изделию промышленного производства, которое содержит контейнер, композицию внутри контейнера, которая содержит антитело-антагонист MAdCAM, и вкладыш в упаковку, который содержит инструкции согласно способу по данному изобретению. Другой аспект изобретения, предложенный в данном документе, представляет собой наборы, которые содержат зонд для обнаружения или количественного определения биомаркера, описанного в данном документе. Указанные наборы могут быть использованы для оценки присутствия или отсутствия благоприятного ответа на анти-MAdCAM лечение. Наборы применимы для определения необходимости продолжения анти-MAdCAM лечения пациента, для

идентификации субпопуляции пациентов, которые вероятно получают пользу от анти-MAdCAM лечения, или для корректировки дозы анти-MAdCAM антитела-антагониста.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Антитела

«Антитело» представляет собой молекулу иммуноглобулина, которая способна специфически связываться с мишенью или антигеном, таким как углевод, полинуклеотид, липид, полипептид и т. д., посредством по крайней мере одного антигенсвязывающего сайта, который расположен в варибельной области молекулы иммуноглобулина.

Как используется в данном документе, если не указано иное в контексте, термин охватывает не только интактные поликлональные или моноклональные антитела, которые включают два идентичных полноразмерных полипептида тяжелой цепи и два идентичных полипептида легкой цепи, но также их фрагменты (такие как Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), одноцепочечный варибельный домен (scFv) и доменные антитела (dAb), включая антитела акул и семейства верблюдовых, а также слитые белки, которые содержат часть антитела, мультивалентные антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела, если они проявляют желаемую биологическую активность) и фрагменты антител, как описано в данном документе, и любую другую модифицированную конфигурацию молекулы иммуноглобулина, которая включает сайт распознавания антигена, например, без ограничения, минитела, макситела, монотела, пептитела, интратела, диатела, триатела, тетратела, v-NAR и bis-scFv.

Антигенсвязывающие части могут быть получены методами рекомбинантной ДНК или путём ферментативного, или химического расщепления интактных антител. Антигенсвязывающие части включают, *среди прочих*, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, dAb и фрагменты участка, определяющего комплементарность, (CDR), одноцепочечные антитела (scFv), химерные антитела, диатела и полипептиды, которые содержат по крайней мере часть Ig, которая является достаточной для обеспечения связывания специфического антигена с полипептидом.

Иммуноглобулин (Ig) представляет собой гетеромультимерную молекулу. В Ig, встречающемся в природе, каждый мультимер состоит преимущественно из идентичных пар полипептидных цепей, причём каждая пара имеет одну «легкую» (около 25 кДа) и одну «тяжелую» цепь (около 50-70 кДа).

Аминотерминальная часть каждой цепи включает варибельный участок, который содержит от около 100 до 110 или более аминокислот, преимущественно ответственных за распознавание антигена. Карбокситерминальная часть каждой цепи определяет константную область, преимущественно ответственную за эффекторную функцию. Легкие цепи человека классифицируются как κ и λ легкие цепи. Тяжелые цепи классифицируются

как α , δ , ϵ , γ и μ и определяют изотип антитела как IgA, IgD, IgE, IgG, IgM, соответственно. Некоторые из этих классов можно дополнительно подразделить на изотипы: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2.

Варибельная и константная области легкой и тяжелой цепей соединяются «J» областью, которая содержит около 12 или более аминокислот, причём тяжелая цепь также включает «D» область, которая содержит около 10 аминокислот (в контексте полной последовательности антитела, D и J области иногда рассматривают как части переменной области после их присоединения). Переменные области каждой пары легкая/тяжелая цепь образуют сайт связывания антитела, таким образом, что интактный Ig имеет 2 сайта связывания.

Переменные домены имеют одинаковую общую структуру касательно консервативных каркасных областей (FR), которые соединены тремя гиперпеременными областями, которые также называют областями, определяющими комплементарность, или CDR. CDR двух цепей каждой пары выровнены каркасными областями, что позволяет их связывание с специфическим эпитопом. Как легкие, так и тяжелые цепи содержат домены (от N-конца к C-концу): FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4.

Идентификация аминокислотных остатков в конкретном антителе, которые формируют CDR, может быть определена с использованием способов, хорошо известных в данной области техники. Например, CDR антител можно идентифицировать как гиперпеременные области, которые первоначально определены по Kabat *et al.* (Kabat *et al.*, 1991, Sequences of Proteins Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, NIH, Washington DC, NIH Publication No. 91-3242). Позиции CDR также могут быть идентифицированы как структурные петлевые структуры, которые описаны Chothia и другими (Chothia *et al.*, 1989, Nature 342: 877-883). Другие подходы к идентификации CDR включают «определение на основе модели антитела (AbM)», которое представляет собой компромисс между Kabat и Chothia и которое получают с помощью программы Absis (www.abysis.org), или «контактное определение» CDR на основе наблюдаемых контактов с антигенами, излагается в MacCallum *et al.*, 1996, J. Mol. Biol., 262: 732-745. North определил канонические конформации CDR, используя другой предпочтительный набор определений CDR (North *et al.*, 2011, J. Mol. Biol, 406: 228-256). В другом подходе, в дальнейшем именуемом как «конформационное определение» CDR, позиции CDR могут быть идентифицированы как остатки, которые делают энталпические вклады в связывание антигена (Makabe *et al.*, 2008, Journal of Biological Chemistry, 283: 1156 -1166). Другие определения границ CDR не могут строго следовать одному из вышеуказанных подходов, но, тем не менее, они будут перекрываться по крайней мере с частью CDR по Kabat, хотя они могут быть сокращены или удлинены в свете предсказаний или экспериментальных данных о том, что определённые остатки, или группы остатков, или даже целые CDR не оказывают существенного влияния на связывание антигена. Как используется в данном

документе, CDR может касаться CDR, которые определены любым из способов, известных в данной области техники, включая комбинации способов. Используемые в данном документе способы могут задействовать CDR, которые определены в соответствии с любым из этих способов. Для любого данного варианта реализации изобретения, который содержит более одного CDR, CDR (или другой остаток антитела) могут быть определены в соответствии с любыми определениями по Kabat, Chothia, North, расширенными, на основе модели антитела, контактными и/или конформационными.

Легкие цепи млекопитающих имеют два типа: κ и λ , и в любой данной молекуле антитела, встречающейся в природе, находится только один тип. У людей образуется приблизительно в два раза больше κ молекул, чем λ , но у других млекопитающих это соотношение может варьировать. Каждая свободная молекула легкой цепи содержит приблизительно 220 аминокислот в одной полипептидной цепи, которая укладывается с образованием доменов с константной и вариабельной областью.

Константные области каппа типа (CL κ) кодируются одним геном, тогда как константные области лямбда типа (CL λ) кодируются несколькими генами и подвергаются сплайсингу. Известно несколько маркеров, которые ассоциированы с отдельными полиморфными видами CL λ , например, IgCL λ 1 (маркер Mcg); IgLC2-IgCL λ 2 (маркер Kern-Oz); IgCL λ 3 (маркер Kern-Oz+) и IgCL λ 7. Квалифицированный специалист может легко установить все полиморфизмы, которые были идентифицированы в CL λ цепях человека до настоящего времени. Последовательности по данному изобретению охватывают другие известные полиморфизмы CL κ и CL λ и антитела в целом. В CL κ были идентифицированы два полиморфных локуса: CL κ -V/ A¹⁵³ и CL κ -L/ V¹⁹¹. До настоящего времени идентифицированы три полиморфизма: Km(1) – CL κ -V¹⁵³/ L¹⁹¹; Km(1,2) – CL κ -A¹⁵³/ L¹⁹¹ и Km(3) – CL κ -A¹⁵³/ V¹⁹¹.

Используемый в данном документе термин «Fc область», как правило, относится к димерному комплексу, который включает C-концевые полипептидные последовательности тяжелой цепи иммуноглобулина, причём C-концевая полипептидная последовательность представляет собой ту часть, которую можно получить в результате гидролиза интактного антитела с помощью папаина. Область Fc может включать нативные или варианты последовательности Fc. Fc последовательность иммуноглобулина, как правило, содержит два константных домена: домен C_H2 и домен C_H3, и необязательно содержит домен C_H4. Используемый в данном документе термин «Fc полипептид» относится к одному из полипептидов, который образует Fc область. В некоторых вариантах реализации изобретения Fc полипептид может быть получен или может происходить от любого подходящего иммуноглобулина, такого как по крайней мере один из различных подтипов IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, или IgA, IgE, IgD или IgM. В некоторых вариантах реализации изобретения Fc полипептид содержит часть или всю шарнирную последовательность дикого типа (как правило, на своём N конце). В некоторых вариантах реализации

изобретения Fc полипептид не содержит шарнирную последовательность дикого типа. Fc полипептид может включать нативные или варианты Fc последовательности.

Используемый в данном документе термин «иммуноглобулиноподобная шарнирная область», «иммуноглобулиноподобная шарнирная последовательность» и его вариации относится к шарнирной области и шарнирной последовательности иммуноглобулиноподобной или антителоподобной молекулы (например, иммуноадгезинов). В некоторых вариантах реализации изобретения иммуноглобулиноподобная шарнирная область может быть получена или происходить от любого из подтипов IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, или от IgA, IgE, IgD или IgM, включая их химерные формы, например, химерную IgG1/2 шарнирную область.

«Фрагменты антитела» содержат только часть интактного антитела, причём эта часть предпочтительно сохраняет по крайней мере одну, но предпочтительно большую часть или все функции, которые обычно связаны с этой частью, когда она присутствует в интактном антителе.

«Двухвалентное антитело» включает два сайта связывания антигена на одну молекулу (например, IgG). В некоторых случаях два сайта связывания имеют одинаковую антигенную специфичность. Однако, двухвалентные антитела могут быть биспецифическими (см. ниже).

«Моновалентное антитело» включает один сайт связывания антигена на одну молекулу (например, IgG). В некоторых случаях моновалентное антитело может иметь более одного сайта связывания антигена, но сайты связывания предназначены для разных антигенов.

«Мультиспецифическое антитело» представляет собой такое, которое нацелено на более чем один антиген или эпитоп. «Биспецифическое», «с двойной специфичностью» или «бифункциональное» антитело представляет собой гибридное антитело, которое имеет два различных сайта связывания антигена. Биспецифические антитела представляют собой разновидности мультиспецифического антитела и могут быть получены различными способами, включая такие как слияние гибридом или связывание Fab' фрагментов. См., например, Songsivilai и Lachmann (1990), *Clin. Exp. Immunol.* 79:315-321, а также Kostelny et al. (1992), *J. Immunol.* 148:1547-1553. Два сайта связывания биспецифического антитела будут связываться с двумя различными эпитопами, которые могут локализоваться на одних и тех же или разных белковых мишенях.

Используемая в данном документе фраза «антигенсвязывающее плечо», «плечо, связывающее молекулу-мишень» и её вариации относится к составной части антитела по данному изобретению, которая обладает способностью специфически связываться с целевой молекулой-мишенью. Как правило и предпочтительно, антигенсвязывающее плечо представляет собой комплекс полипептидных последовательностей

иммуноглобулина, например, CDR и/или последовательностей переменных доменов легкой и тяжелой цепи иммуноглобулина.

Используемый в данном документе термин «моноклональное антитело» относится к антителу, которое получено из популяции по существу гомогенных антител, то есть отдельные антитела, которые входят в популяцию, являются идентичными, за исключением возможных естественных мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела представляют собой высокоспецифичные, направленные против одного антигена. Дополнительно, в противоположность препаратам поликлональных антител, которые, как правило, включают различные антитела, направленные против различных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против одной детерминанты на антигене.

Fab фрагмент представляет собой моновалентный фрагмент, который состоит из доменов V_L , V_H , C_L и C_{H1} ; $F(ab')_2$ фрагмент представляет собой двухвалентный фрагмент, который включает два Fab фрагмента, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области; F_d фрагмент состоит из доменов V_H и C_{H1} ; F_v фрагмент состоит из доменов V_L и V_H из одного плеча антитела; и dAb фрагмент состоит из домена V_H или домена V_L (например, человека, семейства верблюдовых или акулы).

Одноцепочечное антитело (scFv) представляет собой антитело, в котором V_L и V_H области расположены в паре с образованием моновалентной молекулы посредством синтетического линкера, который позволяет превратить их в одну белковую цепь. Диатела представляют собой двухвалентные биспецифические антитела, в которых V_H и V_L домены экспрессируются на одной полипептидной цепи, но с использованием линкера, который является слишком коротким для того, чтобы позволить расположению в паре двум доменами одной и той же цепи, тем самым заставляя домены располагаться в паре с комплементарными доменами другой цепи и создавая 2 сайта связывания антигена. В молекулу могут быть включены либо ковалентно, либо нековалентно один или более CDR, с целью превращения её в иммуноадгезин. Иммуноадгезин может включать CDR (несколько CDR) как часть большей полипептидной цепи, может ковалентно соединять CDR (несколько CDR) с другой полипептидной цепью или может включать CDR (несколько CDR) нековалентно. CDR позволяют иммуноадгезину специфически связываться с конкретным целевым антигеном.

Антитело может иметь один или более сайтов связывания. Если имеется более одного сайта связывания, сайты связывания могут быть идентичными друг другу или могут быть различными. Например, антитело, которое встречается в природе, имеет 2 идентичных сайта связывания, одноцепочечное антитело или Fab фрагмент имеет один сайт связывания, тогда как «биспецифическое» или «бифункциональное» антитело имеет 2 различных сайта связывания.

«Изолированное антитело» представляет собой антитело, которое: 1) не связано с компонентами, с которыми оно связано по природе, включая другие антитела, с которыми оно связано по природе, которые его сопровождают в его естественном состоянии; 2) не содержит других белков от того же вида животного; 3) экспрессируется в клетке, которая не экспрессирует данное антитело по природе, или экспрессируется в клетке из другого вида животного; или 4) не встречается в природе.

Термин «человеческое антитело» включает все антитела, которые включают одну или более переменных и константных областей, которые получены из последовательностей Ig человека. В некоторых вариантах реализации по данному изобретению все переменные и константные домены антитела получены из последовательностей Ig человека (полностью человеческое антитело).

Гуманизированное антитело представляет собой антитело, которое получено от видов животных нечеловеческого происхождения, в котором некоторые аминокислоты были мутированы с целью избегания или подавления иммунного ответа у людей. В альтернативном варианте, гуманизированное антитело может быть получено путём слияния константных доменов из антитела человека с переменными доменами от видов животных нечеловеческого происхождения.

Термин «химерное антитело» относится к антителу, которое содержит одну или более областей из одного антитела и одну или более областей из одного или более других антител. Каждое антитело может происходить от отдельных видов (таких как человек и мышь).

Термин «эпитоп» включает любую молекулярную детерминанту, которая способна специфически связываться с Ig или рецептором Т-клеток. Эпитопные детерминанты обычно состоят из поверхностных группировок атомов, таких как аминокислоты или боковые цепи сахаров, и обычно имеют специфические трехмерные структурные свойства, а также специфические зарядные свойства. Антитело «специфически» связывается с антигеном, когда константа диссоциации составляет < 1 мкМ, предпочтительно < 100 нМ или < 10 нМ.

Ожидается, что полностью человеческие антитела минимизируют иммуногенные и аллергические реакции, которые присущи мышинным моноклональным антителам или моноклональным антителам, полученным из мыши (Mab), и, таким образом, повышают эффективность и безопасность вводимых антител. Можно ожидать, что использование полностью человеческих антител предоставит существенное преимущество в лечении хронических и рецидивирующих заболеваний человека, таких как воспаление и рак, которые могут нуждаться в повторных введениях антител.

Кроме того, могут быть созданы слитые антитела, в которых два (или более) одноцепочечных антитела связаны друг с другом. Это имеет смысл, если требуется

создать двухвалентное или поливалентное антитело на одной полипептидной цепи, или если требуется создать биспецифическое антитело.

Один тип производного антитела получают путём перекрёстного сшивания двух или более антител (одного и того же типа или различных типов, например, с целью создания биспецифических антител). Подходящие агенты для перекрёстного сшивания включают те, которые представляют собой гетеробифункциональные, с двумя чётко реагирующими группами, которые разделены подходящим спейсером (например, *m*-малеимидобензоил-N-гидроксисукцинимид эфир) или гомобифункциональные (например, дисукцинимидил суберат).

Другой тип производного антитела представляет собой меченое антитело. Подходящими детектирующими агентами, с которыми может быть конъюгировано антитело или часть антитела по данному изобретению, включают флуоресцентные соединения, включая флуоресцеин, изотиоцианат флуоресцеина, родамин, 5-диметиламин-1-нафталинсульфонил хлорид, фикоэритрин, люминофоры на основе комплексов лантанидов и тому подобное. Также антитело может быть помечено ферментами, которые подходят для обнаружения, такими как пероксидаза хрена, галактозидаза, люцифераза, щелочная фосфатаза, глюкозооксидаза и тому подобное. Также антитело может быть помечено биотином и обнаружено посредством косвенного измерения связывания авидина или стрептавидина. Антитело может быть помечено магнитным агентом, таким как гадолиний. Также антитело может быть помечено заданным полипептидным эпитопом, который распознается вторичным репортером (например, парами последовательностей типа лейциновых застёжек-молний, сайтами связывания для вторичных антител, металлосвязывающими доменами, эпитопными тэгами). В некоторых вариантах реализации изобретения метки прикрепляются с помощью спейсерных групп различной длины для уменьшения потенциальных стерических помех.

Используемый в данном документе термин «полный антагонист» представляет собой антагонист, который при эффективной концентрации, по существу, полностью блокирует измеримый эффект MAdCAM. Под частичным антагонистом подразумевается антагонист, который способен частично блокировать измеримый эффект, но который даже при самой высокой концентрации не является полным антагонистом. Под фразой «по существу полностью» подразумевается, что по крайней мере около 80 %, предпочтительно по крайней мере около 90 %, более предпочтительно по крайней мере около 95 % и наиболее предпочтительно по крайней мере около 98 % или 99 % измеряемого эффекта блокируется.

Используемый в данном документе термин «анти-MAdCAM антитело-антагонист» или «антитело-антагонист MAdCAM» относится к антителу-антагонисту MAdCAM, которое способно ингибировать биологическую активность MAdCAM и/или нижележащего сигнального пути (путей), опосредованного MAdCAM сигналингом. Антитело-антагонист

MAdCAM включает антитела, которые блокируют, антагонизируют, супрессируют или уменьшают (в какой-либо степени, в том числе значительной) биологическую активность MAdCAM, включая нижележащие сигнальные пути, опосредованные MAdCAM сигналингом, или вызывают клеточный ответ на MAdCAM. Для целей настоящего изобретения будет однозначно понятно, что термин «антитело-антагонист MAdCAM» охватывает все ранее идентифицированные термины, названия и функциональные состояния и свойства, при которых MAdCAM сам по себе, биологическая активность MAdCAM или последствия биологической активности, по существу, ликвидированы, уменьшены или нейтрализованы в какой-либо значимой степени. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело-антагонист MAdCAM связывается с MAdCAM. Примеры антител-антагонистов MAdCAM представлены, например, в WO2005067620, который включён в данный документ в полном объёме посредством ссылки.

Общие термины

Используемый в данном документе термин «биологическая активность» относится к активности соединений, композиций или смесей *in vivo*, или к физиологическим реакциям, которые возникают при введении соединения, композиции или другой смеси *in vivo*. Биологическая активность охватывает терапевтические эффекты, диагностические эффекты и фармацевтическую активность таких соединений, композиций и смесей.

Используемый в данном документе термин «биологически совместимый» означает что-либо биологически инертное или нереакционноспособное с внутриклеточными и внеклеточными биологическими молекулами, а также нетоксичное.

«Около» или «приблизительно», при использовании применительно к измеримой числовой переменной, относится к указанному значению переменной и ко всем значениям переменной, которые находятся в пределах экспериментальной ошибки указанного значения (например, в пределах 95 %-ного доверительного интервала для среднего значения) или в пределах 10 процентов от указанного значения, в зависимости от того, что больше. Числовые диапазоны включают числа, которые определяют диапазон. Если термин «около» используется в контексте периода времени (годы, месяцы, недели, дни и т. д.), то термин «около» означает период времени плюс или минус одно значение следующего нижележащего периода времени (например, около 1 года означает 11-13 месяцев, около 6 месяцев означает 6 месяцев плюс или минус 1 неделя, около 1 недели означает 6-8 дней и т. д.), или в пределах 10 процентов от указанного значения, в зависимости от того, что больше.

Термин «конкурировать» означает, что первое антитело, или его антигенсвязывающая часть, конкурирует за связывание со вторым антителом, или его антигенсвязывающей частью, когда связывание первого антитела со своим соответствующим эпитопом заметно снижается в присутствии второго антитела по

сравнению со связыванием первого антитела в отсутствие второго антитела. В альтернативном варианте может случаться, но не обязательно, что связывание второго антитела с его эпитопом также заметно снижается в присутствии первого антитела. Иначе говоря, первое антитело может ингибировать связывание второго антитела с его эпитопом без того, чтобы второе антитело ингибировало связывание первого антитела с его соответствующим эпитопом. Однако, когда каждое антитело заметно ингибирует связывания другого антитела с его соответствующим эпитопом или лигандом, будь то в равной, большей или меньшей степени, говорят, что антитела «перекрёстно конкурируют» друг с другом за связывание со своим соответствующим эпитопом(ами). Независимо от механизма, по которому происходит такая конкуренция или перекрёстная конкуренция (например, стерическое затруднение, конформационное изменение или связывание с общим эпитопом или его частью), специалист в данной области техники оценит, на основании изложенных в данном документе принципов, что такие конкурирующие и/или перекрёстно конкурирующие антитела могут подходить для описанных в данном документе способов.

Термин «идентичность», известный в данной области техники, относится к взаимосвязи между последовательностями двух или более молекул полипептидов или двух или более молекул нуклеиновых кислот, как определено с помощью сравнения последовательностей. В данной области техники «идентичность» также означает степень родства последовательностей: последовательностей молекул полипептидов или нуклеиновых кислот, в зависимости от ситуации, как определено путём совпадения между нитями нуклеотидных или аминокислотных последовательностей. «Идентичность» измеряет процент идентичных совпадений между двумя или более последовательностями с выравниваниями гэпов, вычисленных по определённой математической модели компьютерных программ (то есть «алгоритмами»).

Термин «сходство» представляет собой близкое понятие, но в противоположность «идентичности» относится к измерению сходства, которое включает как идентичные совпадения, так и консервативные замещения. Поскольку консервативные замещения применяются к полипептидам, а не к молекулам нуклеиновых кислот, сходство касается только сравнений полипептидной последовательности. Если две полипептидные последовательности имеют, например, 10 идентичных из 20 аминокислот, а все остальные представляют собой неконсервативные замещения, то процент идентичности и сходства будет равен 50 %. Если в этом же примере имеются еще 5 позиций, где имеются консервативные замещения, то процент идентичности остается 50 %, а процентное сходство будет составлять 75 % (15 из 20). Следовательно, в тех случаях, когда имеются консервативные замещения, степень сходства между двумя полипептидными последовательностями будет выше, чем процентная идентичность между этими двумя последовательностями.

Термин «консервативное замещение аминокислоты» относится к замещению природного аминокислотного остатка на несвойственный остаток, такому, что оно практически или совсем не влияет на полярность, заряд и приблизительный объём аминокислотного остатка в этом положении. Например, консервативное замещение в результате замены неполярного остатка в полипептиде любым другим неполярным остатком. Этот термин также может относиться к замещению, которое идентифицировано как часто встречающееся между высоко сходными белками, как в матрице BLOSUM62 или похожих матрицах (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89(22), 10915-9, 1992).

Используемая в данном документе ссылка на нуклеотидную последовательность охватывает и ее дополнение, если не указано иное. Таким образом, ссылку на нуклеиновую кислоту, которая имеет конкретную последовательность, следует понимать как такую, которая охватывает ее комплементарную цепь со своей комплементарной последовательностью, если иное не определено контекстом.

Термин «чистота» и его грамматические вариации используют для обозначения полного или частичного удаления по крайней мере одной примеси из смеси, которая содержит полипептид, и одну или более примесей, что, таким образом, повышает уровень чистоты полипептида в композиции (т. е. путём уменьшения количества (частиц на миллион) примеси (ей) в композиции).

Термин « K_D » относится к константе равновесия связывания (аффинности) при конкретном взаимодействии антитело-антиген. Говорят, что антитело специфически связывается антигеном, когда K_D составляет ≤ 1 мМ, предпочтительно ≤ 100 нМ и наиболее предпочтительно ≤ 10 нМ. Константу связывания (аффинности) K_D можно измерить с помощью поверхностного плазмонного резонанса (ППР), например, с использованием системы BIACORE™. В некоторых аспектах изобретения для ППР использовали удерживаемое антитело и целевую растворимую фазу. В некоторых аспектах изобретения для ППР использовали удерживаемую мишень и растворимую фазу с антителом.

Термин « k_{off} » относится к константе скорости диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. Константу скорости диссоциации k_{off} можно измерить с помощью поверхностного плазмонного резонанса, например, с использованием системы BIACORE™.

Термин «поверхностный плазмонный резонанс» относится к оптическому явлению, которое позволяет анализировать в реальном времени биоспецифические взаимодействия с помощью обнаружения изменений концентрации белка на матрице биосенсора, например, с использованием системы BIACORE™ (Pharmacia Biosensor AB, Уппсала, Швеция и Пискатауэй, Нью-Джерси). Дополнительные описания см. в Jonsson U. et al., Ann. Biol. Clin. 51: 19-26 (1993); Jonsson U. et al., Biotechniques 11: 620-627 (1991); Jonsson B. et al., J. Mol. Recognit. 8: 125-131 (1995); и Johnsson B. et al., Anal. Biochem. 198: 268-277 (1991).

Аффинность связывания и скорость диссоциации антитела-антагониста MAdCAM и MAdCAM могут быть определены любым подходящим способом. Аффинность связывания можно измерить с помощью ИФА (иммуноферментного анализа), РИА (радиоиммунного анализа), проточной цитометрии и поверхностного плазмонного резонанса, такого как BIACORE™. Скорость диссоциации можно измерить поверхностным плазмонным резонансом. С использованием любого подходящего способа можно определить имеет ли антитело, по существу, такую же K_D как и антитело-антагонист MAdCAM. Пример 7 из US8188235 (включенного в данный документ посредством ссылки) иллюстрирует способ определения констант аффинности анти-MAdCAM моноклональных антител.

С использованием любого подходящего способа можно определить связывается ли антитело с тем же эпитопом или перекрёстно конкурирует за связывание с антителом-антагонистом MAdCAM. В одном примере антителу-антагонисту MAdCAM дают возможность связаться с MAdCAM при условиях насыщения, а затем измеряют способность тестируемого антитела связываться с MAdCAM. Если тестируемое антитело может связываться с MAdCAM в то же самое время, что и антитело-антагонист MAdCAM, тогда тестируемое антитело связывается с другим эпитопом, чем антитело-антагонист MAdCAM. Однако, если тестируемое антитело не может одновременно связываться с MAdCAM, тогда тестируемое антитело связывается с тем же самым эпитопом, с перекрывающимся эпитопом или с эпитопом, который находится в непосредственной близости от эпитопа, с которым связано человеческое антитело-антагонист MAdCAM. Этот эксперимент может быть выполнен с использованием ИФА, РИА, BIACORE™ или проточной цитометрии (сортировки клеток с активированной флуоресценцией, СКАФ).

Для проверки перекрёстной конкуренции антитела-антагониста MAdCAM с другим антителом-антагонистом MAdCAM можно использовать конкурентный способ, который описан в данном документе, в двух направлениях, то есть определить, блокирует ли контрольное антитело тестируемое антитело, и наоборот. В одном примере эксперимент выполняется с использованием ИФА.

MAdCAM антитела или их антигенсвязывающие части могут быть получены различными способами, включая общепринятую методологию моноклональных антител, например, стандартную методику гибридизации соматических клеток Кёлера и Мильштейна (1975) Nature 256: 495. Также можно использовать другие способы получения моноклональных антител, такие как вирусная или онкогенная трансформация В-лимфоцитов.

MAdCAM антитела или их антигенсвязывающие участки могут быть получены с помощью рекомбинантной экспрессии генов лёгкой и тяжёлой цепей иммуноглобулина в клетке-хозяине. Например, чтобы рекомбинантно экспрессировать антитело, клетку-хозяина трансфицируют одним или более рекомбинантными экспрессионными векторами, которые несут фрагменты ДНК, кодирующие иммуноглобулиновые лёгкие и тяжёлые цепи

антитела, таким образом, что лёгкая и тяжёлая цепи экспрессируются в клетке-хозяине и, предпочтительно, секретируются в среду, на которой культивируют клетки-хозяева, и из этой среды антитела можно выделить. Для получения генов тяжёлой и лёгкой цепей антитела используют различные методы рекомбинантной ДНК, для того, чтобы включить эти гены в рекомбинантные экспрессионные векторы и ввести векторы в клетки-хозяева, такие как описанные в Sambrook, Fritsch и Maniatis (ред.), *Molecular Cloning; A Laboratory Manual*, второе издание, Cold Spring Harbor, NY, (1989), Ausubel, F. M. et al. (ред.) *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates, (1989) и в патенте США № 4816397, описание которых включено в данный документ посредством ссылки.

Для экспрессии антител MAdCAM и их антигенсвязывающих участков, ДНК, которые кодируют неполные или полноразмерные лёгкие и тяжёлые цепи, полученные, как описано в данном документе, встраивают в экспрессионные векторы таким образом, что гены функционально связаны с последовательностями, контролирующими транскрипцию и трансляцию. В таком контексте термин «функционально связанный» подразумевает, что ген антитела лигирован в вектор таким образом, что последовательности, контролирующие транскрипцию и трансляцию, внутри вектора служат для их предполагаемой функции регулирования транскрипции и трансляции гена антитела. Экспрессионный вектор и последовательности, контролирующие экспрессию, выбирают такие, чтобы они были совместимыми с используемой для экспрессии клеткой-хозяином. Экспрессионные векторы включают, например, плазмиды, ретровирусы, аденовирусы, аденоассоциированные вирусы (AAB), вирусы растений, такие как вирус мозаики цветной капусты, вирус табачной мозаики, космиды, дрожжевые искусственные хромосомы и производные эписомы вируса Эпштейна-Барр. Ген антитела лигирован в вектор таким образом, что последовательности, контролирующие транскрипцию и трансляцию, внутри вектора служат для их предполагаемой функции регулирования транскрипции и трансляции гена антитела. Экспрессионный вектор и последовательности, контролирующие экспрессию, выбирают такие, чтобы они были совместимыми с используемой для экспрессии клеткой-хозяином. Ген лёгкой цепи антитела и ген тяжёлой цепи антитела могут быть встроены в отдельные векторы или оба гена встраивают в один и тот же экспрессионный вектор. Гены антитела встраивают в экспрессионный вектор различными способами (например, путём лигирования комплементарных рестрикционных сайтов на фрагменте гена антитела и векторе, или лигирования по тупым концам, если нет сайтов рестрикции).

В другом аспекте изобретения антитела MAdCAM или их антигенсвязывающие участки могут быть деиммунизированы с целью снижения их иммуногенности с использованием способов, описанных, например, в публикациях Договора о международной патентной кооперации (PCT) №№: WO 98/52976 и WO00/34317 (включенные в данный документ посредством ссылки).

Если не указано иное, «*клиническая ремиссия*» определяется как суммарный балл по шкале Мейо ≤ 2 при отсутствии индивидуального внутреннего балла > 1 и при внутреннем балле ректального кровотечения 0 или 1. Там, где это указано, клиническая ремиссия может основываться на SCCAI, и в этом случае клиническая ремиссия определяется как общий балл по шкале SCCAI < 2 .

«*Доля пациентов с клиническим ответом*» определяется как снижение относительно исходного уровня по крайней мере на 3 балла от суммарного балла по шкале Мейо по крайней мере с 30 %-ным изменением, которое сопровождается снижением по крайней мере на 1 балл, или абсолютным баллом 0 или 1 для внутреннего балла ректального кровотечения.

«*Заживление слизистой оболочки*» определяется как абсолютный внутренний балл 0 или 1 по шкале Мейо для эндоскопии.

Структурные выравнивания

Структурные выравнивания, которые обычно специфичны для белковых последовательностей и иногда для последовательностей РНК, используют информацию о вторичной и третичной структуре молекулы белка или РНК для выравнивания последовательностей. Структурные выравнивания используются как «золотой стандарт», потому что они конкретно выравнивают области последовательности белка, которые структурно схожи, а не полагаются исключительно на информацию о последовательности. Часто используемый алгоритм для структурных выравниваний представляет собой TMALIGN (Zhang and Skolnick, *Nucleic Acids Research*, 33: 2302-2309 (2005)), который приписывает повышенное значение наиболее сходным областям структуры во время суперпозиции.

Выравнивание последовательностей

Если структурное выравнивание белковых последовательностей по данному изобретению невозможно, например, из-за отсутствия данных ЯМР о целевой последовательности или данных о кристаллической структуре, можно использовать выравнивание последовательностей. Специалист в данной области техники хорошо знаком с инструментами выравнивания последовательностей (такими как BLAST, CLUSTAL и другими, известными специалисту в данной области техники, такими, которые описаны в данном документе) и способен выравнивать последовательности, в частности, последовательности константного домена антител, в соответствии с известными структурными мотивами, в особенности потому, что уже существует большое число типовых структурных исследований для доменов иммуноглобулинов, антител и константных доменов антител, в частности, по подтипу и видам.

Для специфических семейств белков с консервативной структурой доступны другие алгоритмы выравнивания. В случае антител доступны различные алгоритмы назначения нумерации согласно Kabat. Алгоритм, реализованный в Abysis (www.abysis.org), 2012 года выпуска, используется в данном документе для назначения нумерации согласно Kabat переменным областям, если не указано иное.

Термин «процент идентичности последовательности» в контексте последовательностей нуклеиновых кислот означает одинаковые остатки у двух последовательностей, когда последовательности выровнены для максимального соответствия. Длина последовательности для сравнения идентичности может составлять по крайней мере около 9 нуклеотидов, большей частью по крайней мере около 18 нуклеотидов, ещё большей частью по крайней мере около 24 нуклеотидов, как правило, по крайней мере около 28 нуклеотидов, более типично по крайней мере около 32 нуклеотидов, и предпочтительно по крайней мере около 36, 48 или более нуклеотидов. Существует множество различных алгоритмов, известных в данной области техники, которые могут быть использованы для измерения идентичности нуклеотидной последовательности. Например, полинуклеотидные последовательности можно сравнить с использованием FASTA, Gap или Bestfit, которые представляют собой программы в Wisconsin Package, версия 10.0, Genetics Computer Group (GCG), Мэдисон, Висконсин. FASTA, которая включает, например, программы FASTA2 и FASTA3, обеспечивает выравнивание и процент идентичности последовательностей по областям наилучшего перекрытия между запрашиваемыми и поисковыми последовательностями (Pearson, *Methods Enzymol.* 183:63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.* 132:185-219 (2000); Pearson, *Methods Enzymol.* 266:227-258 (1996); Pearson, *J. Mol. Biol.* 276:71-84 (1998), включённые в данный документ посредством ссылки). Если не указано иное, используются параметры по умолчанию для конкретной программы или алгоритма. Например, процент идентичности последовательности между последовательностями нуклеиновых кислот может быть определён с использованием FASTA с её параметрами по умолчанию (длина сегмента – 6 и фактор NOPAM для оценки матрицы), или с использованием Gap с её параметрами по умолчанию, которые предусмотрены в версии 6.1 GCG, включённые в данный документ посредством ссылки.

Таблица 2: VH, VL и CDR последовательности МАТ 7.16.6

SEQ ID	Описание	Последовательность
3	VL МАТ 7.16.6 CDR подчеркнут SEQ ID 11, 12, 13	DIVMTQTPLS LSVTPGQPAS ISC <u>KSSQSL</u> L HTDGT TT YLY W YLQKPGQPPQ LLIY <u>EVS</u> NRF <u>S</u> GVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGI YYC <u>MQNIQLP</u> WT FGQGTKVE IK

4	VH мАт 7.16.6 CDR подчеркнут SEQ ID 14, 15, 16	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYGIN WVRQA PGQGLEWMG W ISVYSGNTNY AOKVQG RVTM TADTSTSTAY MDLRSLRSDD TAVYYCAR EG SSSSGDYYYG MDV WGQGT TVSS
---	---	---

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Планирование исследования

Исследование находилось на 2В фазе (доказательство правильности концепции (РОС)), рандомизированное, с двойной анонимностью, контролем по плацебо, параллельное, с диапазоном доз исследование проводили для оценки эффективности, безопасности и ФК мАт 7.16.6. Пациенты с язвенными колитами от умеренного и тяжелого были рандомизированы в соотношении 1:1:1:1 для подкожных (ПК) дозовых уровней (7,5, 22,5, 75 и 225 мг) мАт 7.16.6 или плацебо. Участие в этом исследовании составило приблизительно 38 месяцев, которые включали период скрининга до шести недель, 12-недельный период лечения и последующий 24-месячный период наблюдения (6 ежемесячных посещений, за которыми следовал 18-месячный расширенный контакт (каждые 6 месяцев телефонные контакты)).

Для того, чтобы наблюдать по крайней мере 300 пациентов с 12-недельными данными, 357 пациентов были рандомизированы и проходили лечение в 105 исследовательских центров в 21 стране.

Пациенты были случайным образом назначены в одну из следующих групп: 1) 7,5 мг ПК (n = 60); 2) 22,5 мг ПК (n = 60); 3) 75 мг ПК (n = 60); 4) 225 мг ПК (n = 60); и плацебо (n = 60). Пациенты получали начальную дозу на нулевой неделе (после 6-недельного периода скрининга) и получали последующие дозы на 4-й и 8-й неделе.

Пример 2. Конечные точки исследования

Первостепенная задача данного исследования состояла в том, чтобы охарактеризовать дозозависимость и эффективность мАт 7.16.6 в индуцировании клинической ремиссии на основании суммарного балла по шкале Мейо у пациентов с умеренным и тяжёлым язвенным колитом.

Суммарный балл по шкале Мейо состоит из 4-х компонентов, каждый из которых оценивают 0-3, при этом 3 – наихудший показатель. Два компонента: количество стула и ректальное кровотечение были получены из ежедневных дневников, которые вели пациенты, в системе интерактивного голосового ответа (СИГО). Третий компонент балла по шкале Мейо представляет собой общую оценку врача. Конечный компонент представляет собой эндоскопическую оценку (см. оценку по шкале Мейо ниже). Все эндоскопические оценки были оценены исследователем (местным рецензентом), а также анонимным центральным рецензентом. Исторически, клинические исследования

пациентов с язвенным колитом рассчитывали исходя из суммарного балла по шкале Мейо с помощью эндоскопии с локальным чтением.

Оценка по шкале Мейо

Частота стула †: 0 = Нормальное число стулов для этого пациента
 1 = на 1-2 стулов больше, чем в норме
 2 = на 3-4 стулов больше, чем в норме
 3 = на 5 или более стулов больше, чем в норме
 Внутренний балл от 0 до 3

Ректальное кровотечение ‡: 0 = Кровь не наблюдалась
 1 = Прожилки крови со стулом в течение менее половины времени
 2 = Заметная кровь со стулом в течение большей части времени
 3 = Шла только кровь
 Внутренний балл от 0 до 3

Результаты эндоскопии: 0 = Нормальное или неактивное заболевание
 1 = Лёгкое заболевание (эритема, снижение сосудистого рисунка, лёгкая хрупкость)
 2 = Умеренное заболевание (выраженная эритема, отсутствие сосудистого рисунка, хрупкость, эрозия)
 3 = Тяжёлое заболевание (спонтанное кровотечение, образование язвы)
 Внутренний балл от 0 до 3

Общая оценка врача §: 0 = Нормальная
 1 = Лёгкое заболевание
 2 = Умеренное заболевание
 3 = Тяжёлое заболевание
 Внутренний балл от 0 до 3

* Балл по шкале Мейо варьируется от 0 до 12, более высокие показатели, указывают на более тяжелое заболевание. Данные взяты из Schroeder et al.

† Каждый пациент служит себе своим собственным контролем для того, чтобы установить степень аномалии частоты стула.

‡ Ежедневный балл кровотечения представляет собой наиболее сильное кровотечение за день.

§ Общая оценка врача подтверждает три других критерия: ежедневное воспоминание пациента об брюшном дискомфорте и общем благополучном самочувствии, и другие наблюдения, такие как физические результаты и общее состояние пациента.

Конечные точки эффективности

Первичная конечная точка эффективности:

- Доля пациентов с клинической ремиссией на 12 неделе (определяемая как суммарный балл по шкале Мейо ≤ 2 при отсутствии индивидуального внутреннего балла > 1 и при внутреннем балле ректального кровотечения 0 или 1).

Ключевые вторичные конечные точки эффективности:

- Доля пациентов с клиническим ответом на 12 неделе (определённая как снижение относительно исходного уровня по крайней мере на 3 балла от суммарного балла по шкале Мейо с по крайней мере 30 %-ным изменением, которое сопровождается снижением по

крайней мере на 1 балл, или абсолютным баллом 0 или 1 для внутреннего балла ректального кровотечения).

- Доля пациентов с заживлением слизистой оболочки на 12 неделе (определённая как абсолютный внутренний балл 0 или 1 по шкале Мейо для эндоскопии).
- Доля пациентов со снижением относительно исходного уровня в частичном балле по шкале Мейо ≤ 2 при отсутствии индивидуального внутреннего балла > 1 на 4-й, 8-й, 12-й неделях.
- Изменение относительно исходного уровня (ИОИУ) по суммарному баллу по шкале Мейо на 12-й неделе и ИОИУ в индивидуальных внутренних баллах по шкале Мейо на 4-й, 8-й, 12-й неделях.
- ИОИУ фекального кальпротектина и hsCRP на 4-й, 8-й, 12-й неделях.

Безопасность и ФК, и конечные точки ФК/ ФД (фармакодинамика):

- Безопасность и переносимость оцениваются по частоте НС (неблагоприятных событий), СНС (серьёзных неблагоприятных событий), НС (неблагоприятных событий), которые ведут к прекращению исследовательского лечения
- Профиль зависимости концентрации от времени мАт 7.16.6
- Суммарные данные о фармакокинетике и об антителе против действующего вещества, включая предварительную популяционную ФК.

Исследуемые конечные точки:

- Доля пациентов с клинической ремиссией (определяемая как общий балл по шкале SCCAI < 2 балла) на 4-й, 8-й, 12-й неделях
- Растворимый MAdCAM в крови на исходном уровне, и на 12-й неделе, и ИОИУ.

Пример 3. Способы анализа

Анализ первичной конечной точки

Предварительно заданный анализ первичной конечной точки основывался на: 1) модели Emax; 2) линейной дозовой модели; или 3) методе Кохрана-Мантеля-Хензеля с использованием минимальных весовых коэффициентов риска (Mehrotra and Railkar, 2000). Поскольку наблюдаемые данные не подтверждали монотонную возрастающую дозозависимую тенденцию для модели Emax и линейной дозовой модели, для анализа первичной конечной точки использовали метод Кохрана-Мантеля-Хензеля, стратифицированный по предыдущему опыту анти-ФНО терапии. Односторонние скорректированные р-значения с использованием метода повышения Хохберга, хотя и не заданы предварительно, представлены в этом отчёте для поддержания корректирования для нескольких сравнений.

Анализ вторичных конечных точек

Ключевые вторичные и исследуемые конечные точки, использующие двоичные данные на 4-й, 8-й или 12-й неделе, были проанализированы с использованием метода Кохрана-Мантеля-Хензеля. Непрерывные конечные точки на 4-й, 8-й или 12-й неделе были

проанализированы с использованием модели ковариационного анализа (ANCOVA) и/или смешанной линейной модели (СЛМ).

Подстановка недостающих значений в бинарных показателях конечных точек

Подход терапевтической неудачи использовали для подстановки недостающих значений для исключенных пациентов при анализе бинарных показателей конечных точек в первичных, вторичных и исследуемых конечных точках, где использовался метод Кохрана-Мантеля-Хензеля. Для моделей ANCOVA и СЛМ использовали только наблюдаемые данные; никакой подстановки не делали. Для продольного анализа, поскольку обобщенная смешанная линейная модель действительна при условии случайных пропусков, не применяли никакой подстановки, а использовали наблюдаемые данные.

Анализ групп популяций

Основываясь на планировании исследования, первоначальную рандомизацию сохраняли с 0 по 12-ю недели, но не после 12-й недели. Серия анализов с 0 по 12-ю недели была выполнена со следующими популяциями:

- Модифицированная популяция "intent-to-treat" (mITT): полная серия анализов, которая включает всех рандомизированных пациентов, которые получили по крайней мере одну дозу исследуемого продукта.
- Популяция анализа безопасности: включает всех включённых в исследование пациентов, которые получили по крайней мере одну дозу исследуемого препарата. Эта популяция включает пациентов, которых лечили, но по разным причинам не получали случайным образом назначенный исследовательский продукт.
- Популяция согласно протоколу (СП): подкласс популяции mITT анализов, за исключением всех тех пациентов, для которых выявлены нарушения основного протокола.
- ФК популяция: включает всех пациентов, которые получили 1 дозу исследуемого продукта, и для них имеются данные по крайней мере для одной временной точки ФК концентрации.

Пример 4. Распределение пациентов и демография

В общей сложности скринингу были подвергнуты 587 пациентов, с целью получения 357 рандомизированных пациентов, каждый из которых получил по крайней мере 1 дозу исследуемого препарата. Эти 357 пациентов формируют популяцию mITT анализов и популяцию анализа безопасности. Имелось 2 пациента, которые получали лечение, отличающееся от такового, назначенного для всех 3 доз. Эти два пациента были случайным образом определены в группу 22,5 мг, и оба получили дозу из группы 75 мг, что отражено в таблице 3 ниже.

Для подтверждения анализов первичных и вторичных конечных точек, проводились анализы чувствительности с использованием популяции СП, которая включала 320

пациентов. В общей сложности 37 пациентов были исключены из группы анализа СП из-за выявления принципиальных отклонений от протокола. Двенадцать из этих пациентов получили одну или более неправильную(ых) дозу (доз).

Таблица 3: Распределение пациентов и оценка групп лечения

	Плацебо	мАт 7.16.6, 7,5 мг	мАт 7.16.6, 22,5 мг	мАт 7.16.6, 75 мг	мАт 7.16.6, 225 мг
Скринированные пациенты (n = 587)					
Назначено для изучения лечения	73	71	72	71	70
Группа mITT	73	71	72	71	70
Группа СП	67	56	66	65	66
Группа безопасности	73	71	70*	73*	70
Завершённый 12-недельный период лечения	68	63	69	70	66
Продолжающееся лечение во время фиксирования результатов	0	0	0	0	0
Причины досрочного завершения терапии (N):	5	8	1	3	4
Недостаточный клинический ответ	1	1	0	0	0
Не желают дальше принимать участие	2	0	0	0	2
НС	2	6	0	3	1
Другое	0	1	1	0	1

* Два пациента были определены в группу лечения с 22,5 мг, но оба получили лечение из группы лечения 75 мг для всех 3 доз.

Таблица 4: Демографические и исходные характеристики

	Плацебо	мАт 7.16.6, 7,5 мг	мАт 7.16.6, 22,5 мг	мАт 7.16.6, 75 мг	мАт 7.16.6, 225 мг
N	73	71	70	73	70
Возраст (года): среднее значение (среднеквадратическое отклонение, СКО)	38,6 (12,7)	41,3 (12,5)	42,1 (14,7)	37,7 (12,4)	41,3 (13,3)
Пол (женский, мужской)	(29, 44)	(32, 39)	(25, 45)	(35, 38)	(28, 42)
Раса: n (%)					
Европеоидная	65 (89,0 %)	64 (90,1 %)	64 (91,4 %)	64 (87,7 %)	57 (81,4 %)
Негроидная	3 (4,1 %)	1 (1,4 %)	0	0	2 (2,9 %)
Монголоидная	3 (4,1 %)	5 (7,0 %)	5 (7,1 %)	7 (9,6 %)	8 (11,4 %)
Другая	2 (2,7 %)	1 (1,4 %)	1 (1,4 %)	2 (2,7 %)	3 (4,3 %)
Вес (кг) (СКО)	76,9 (21,2)	70,7 (16,3)	72,4 (16,9)	74,2 (18,7)	75,5 (17,5)
Индекс массы тела (ИМТ) (кг/ м²) (СКО)	25,5 (6,0)	24,3 (4,2)	24,3 (4,5)	25,4 (6,0)	25,4 (5,8)
Рост (см) (СКО)	173,2 (9,3)	169,8 (9,7)	172,3 (10,1)	170,8 (8,7)	172,5 (9,9)
Опыт с анти-ФНО					

Наивный	31 (42,5 %)	30 (42,3 %)	30 (42,9 %)	31 (42,5 %)	30 (42,9 %)
Опытный	42 (57,5 %)	41 (57,7 %)	40 (57,1 %)	42 (57,5 %)	40 (57,1 %)
Текущее использование иммуносупрессивной (ИС) терапии: n (%)					
Азатиоприн (АЗА)	12 (16,4 %)	18 (25,4 %)	15 (21,4 %)	17 (23,3 %)	17 (24,3 %)
6-меркаптопурин (6-МП)	1 (1,4 %)	4 (5,6 %)	4 (5,7 %)	4 (5,5 %)	2 (2,9 %)
Метотрексат (МТТ)	2 (2,7 %)	1 (1,4 %)	4 (5,7 %)	0	1 (1,4 %)
Отсутствие иммунодепрессантов	58 (79,5 %)	48 (67,6 %)	47 (67,1 %)	52 (71,2 %)	50 (71,4 %)
Текущее использование кортикостероидов: n (%)					
Используют кортикостероиды	31 (42,5 %)	38 (53,5 %)	37 (52,9 %)	37 (50,7 %)	36 (51,4 %)
Не используют кортикостероиды	42 (57,5 %)	33 (46,5 %)	33 (47,1 %)	36 (49,3 %)	34 (48,6 %)
Текущее использование 5-АСК (аминосалициловой кислоты)/ месалазин					
5-АСК/ месалазин	47 (64,4 %)	37 (52,1 %)	35 (50 %)	45 (61,6 %)	35 (50,0 %)
Не используют 5-АСК/ месалазин	26 (35,6 %)	34 (47,9 %)	35 (50 %)	28 (38,4 %)	35 (50,0 %)
Статус курения					
Никогда не курил	47	40	46	48	45
Курильщик	4	4	2	5	5
Бывший курильщик	22	27	22	20	20
Исходный уровень по суммарному баллу по шкале Мейо (СКО)					
	8,4 (1,71)	8,7 (1,65)	8,1 (1,63)	8,4 (1,94)	8,7 (1,60)
Исходный уровень по шкале SCCAI (СКО)					
	7,4 (2,91)	7,9 (2,79)	7,4 (2,79)	7,2 (2,55)	7,4 (2,36)

Пример 5. Эффективность

Ключевые первичные конечные точки эффективности –клиническая ремиссия на 12-й неделе.Ключевые вторичные конечные точки эффективности – клинический ответ и заживление слизистой оболочки на 12-й неделе.

На фигуре 1 показана наблюдаемая доля пациентов с клинической ремиссией на 12-й неделе для каждой группы лечения, которая получена из центрального и локального чтения для популяций mITT и СП. В целом, доли пациентов с ремиссией при использовании локального чтения выше, чем при использовании центрального чтения. Доли пациентов с ремиссией в популяции mITT, рассчитанные с использованием центрального чтения для плацебо, 7,5 мг, 22,5 мг, 75 мг и 225 мг МАт 7.16.6, составили 2,7 %, 11,3 %, 16,7 %, 15,5 % и 5,7 %, соответственно; тогда как доли пациентов с ремиссией, рассчитанные с использованием локального чтения, составили 5,5 %, 14,1 %, 23,6 %, 18,3 % и 12,9 %, соответственно. В популяции СП соответствующие показатели были несколько выше, но

сохраняли ту же тенденцию, где группа с 22,5 мг демонстрировала самое высокое число среди четырёх групп лечения, за которой следовал показатель из группы с 75 мг.

Наблюдаемые доли пациентов (опытных или наивных) с клинической ремиссией по страте анти-ФНО воздействия на 12-й неделе были проанализированы и представлены на фигуре 2. В целом, наблюдаемые доли пациентов с клинической ремиссией в популяции mITT демонстрировали аналогичную тенденцию, и демонстрировали более высокие показатели среди наивных пациентов, чем среди опытных пациентов. Результаты анализа СП подтвердили результаты, полученные для популяции mITT, но показали больший размер эффекта между группами лечения и плацебо.

Анализ для первичной конечной точки (клиническая ремиссия) и для принципиальных вторичных конечных точек (клинический ответ и заживление слизистой оболочки), основанные на центральном чтении, показаны на фигуре 4. Для первичной конечной точки клинической ремиссии три из четырёх групп лечения (7,5 мг, 22,5 мг и 75 мг) показали статистически значимый благоприятный эффект по сравнению с группой плацебо. Доли пациентов с клинической ремиссией в группах с 7,5 мг, 22,5 мг и 75 мг превышали такие показатели в группе с плацебо на 12-й неделе на 8,0 % ($p = 0,043$), 12,8 % ($p = 0,010$) и 11,8 % ($p = 0,012$), соответственно. Касательно клинического ответа три из четырёх групп лечения (22,5 мг, 75 и 225 мг) показали статистическую эффективность по сравнению с группой плацебо с эффективными размерами (PP = разница рисков) 25,4 % ($p = 0,004$), 16,3 % ($p = 0,048$) и 21,3 % ($p = 0,016$), соответственно. Доли пациентов с заживлением слизистой оболочки для групп с 22,5 мг и 75 мг, превышающие группу плацебо, значительно отличаются от группы плацебо с эффективными размерами 18,7 % ($p = 0,004$) и 15,9 % ($p = 0,008$), соответственно. Доли пациентов с клинической ремиссией и заживлением слизистой оболочки для группы с самой высокой дозой, 225 мг, по сравнению с группой плацебо являются самыми низкими среди всех групп доз. В противоположность этому, клинический ответ у группы с дозой 225 мг является вторым по величине и значительно отличается от группы плацебо.

Результаты, которые соответствуют локальному чтению, следуют аналогичной тенденции (Фигура 5). Эффективные размеры, как правило, выше, чем такие, которые используют показатели центрального чтения. Доли пациентов с клинической ремиссией для групп с 22,5 мг и 75 мг статистически значимы с эффективным размером 17,8 % ($p = 0,006$) и 12,2 % ($p = 0,038$), соответственно. Клинический ответ для групп с 22,5 мг и 225 мг также был статистически значимым с эффективным размером 21,2 % ($p = 0,023$) и 18,5 % ($p = 0,044$). Клинический ответ для группы с 75 мг немного незначительный ($p = 0,065$). Ни одна из дозовых групп не отличалась статистически от группы плацебо в отношении заживления слизистой оболочки, вероятно, из-за высокого показателя в группе плацебо (21,9 %). Аналогичные результаты наблюдаются и в популяции СП для этих двух анализов.

Ключевые вторичные конечные точки эффективности – частичный балл по шкале Мейо

На фигуре 6 суммируется доля пациентов с понижением относительно исходного уровня при частичном балле по шкале Мейо ≤ 2 при отсутствии индивидуального внутреннего балла > 1 на 4-й, 8-й, 12-й неделях. Эти данные были проанализированы с использованием того же метода Кохрана-Мантеля-Хензеля, который использовали для анализа первичной конечной точки. Результаты изменения относительно исходного уровня при частичном балле по шкале Мейо на 12-й неделе согласуются с результатами анализа первичных конечных точек: группа с 22,5 мг, отличалась от группы плацебо ($p = 0,004$), а группа с 75 мг, хотя и статистически недостоверно, была следующей ближайшей по эффективному размеру. На 4-й неделе все четыре дозовые группы показали почти аналогичные эффективные размеры, однако, начиная с 8-й недели они начали отличаться от группы плацебо. Результаты анализа с популяцией СП демонстрировали такую же тенденцию с немного более высоким РР в каждой временной точке.

Во всех анализах, представленных выше для первичных и принципиальных вторичных конечных точек, использовали бинарные показатели конечных точек. Для подкрепления приведенных выше результатов клинической эффективности, изменение по сравнению с исходным уровнем, с использованием суммарного балла по шкале Мейо на 12-й неделе, анализировали, выравнивая по модели ANCOVA. Результаты ANCOVA с использованием данных центрального чтения представлены в таблице 5. Отличие между группой *плацебо* и группой с 22,5 мг оказалось самым высоким, далее следует группа с 225 мг, и все четыре группы лечения статистически отличались от группы плацебо. Эти результаты аналогичны анализу клинического ответа, поскольку ответ определяется на основе изменения относительно исходного уровня по шкале Мейо. Анализы с использованием локального чтения также согласуются с этими результатами.

На фигуре 12 показано, что рандомизация привела к хорошо сбалансированным показателям частоты стула на исходном уровне. Все группы лечения показали лучшие результаты, чем группа плацебо, на 4-ю неделю, а максимальный эффект на 12-й неделе наблюдали в группе лечения с 22,5 мг. Частота стула является составной частью как суммарного балла по шкале Мейо, так и частичного балла по шкале Мейо. Информация сообщается ежедневно, и нормализуется по предклиническим значениям, и оценивается по шкале от 0 до 3. Балл 0 указывает, что частота стула такая же, как и предклиническое значение; балл 1 указывает на то, что стулов за день на 1-2 больше, чем в норме; балл 2 указывает на то, что стулов за день на 3-4 больше, чем в норме; а балл 3 указывает на то, что стулов на > 4 больше, чем в норме каждый день. Данные для каждого пациента представляют собой среднее значение по 3 значениям до даты оценивания. Каждая точка на графике представляет собой среднее значение (стандартную ошибку среднего значения, СОСЗ) для лечения в день оценивания. В таблице данных значение в скобках,

смежное со средним значением, представляет собой скорректированное по плацебо среднее значение, то есть среднее значение минус соответствующее значение плацебо.

На фигуре 13 показано, что рандомизация привела к хорошо сбалансированным показателям ректального кровотечения на исходном уровне. Все группы лечения показали лучшие результаты, чем группа плацебо, на 4-ю неделю, и этот эффект сохранялся до 12-й недели, с наибольшим эффектом при этом посещении, наблюдаемом в группе с 22,5 мг. Ректальное кровотечение является составной частью как суммарного балла по шкале Мейо, так и частичного балла по шкале Мейо. Информация сообщается ежедневно и оценивается по шкале от 0 до 3. Балл 0 указывает на отсутствие кровотечения; балл 1 указывает на то, что была видимая кровь с стулом < 50 % времени; балл 2 указывает на то, что была видимая кровь с стулом $\geq$ 50 % времени; и балл 3 указывает на прохождение только крови, без стула. Данные для каждого пациента представляют собой среднее значение по 3 значениям до даты оценивания. Каждая точка на графике представляет собой среднее значение (COC3) по лечению в день оценивания. В таблице данных значение в скобках, смежное со средним значением, представляет собой скорректированное по плацебо среднее значение, то есть среднее значение минус соответствующее значение плацебо.

На фигуре 14 показано, что рандомизация привела к хорошо сбалансированным показателям гибкой сигмоидоскопии на исходном уровне. Все группы лечения показали лучшие результаты, чем группа плацебо, на 12-й неделе, а наибольший эффект при этом визите, наблюдали в группе с 22,5 мг. Гибкая сигмоидоскопия является составной частью суммарного балла по шкале Мейо. Её проводили перед начальным посещением и непосредственно перед посещением на 12-й неделе. Она оценивается по шкале от 0 до 3. Балл 0 указывает на нормальную слизистую оболочку толстой кишки или неактивное заболевание; балл 1 указывает на лёгкое заболевание, которое характеризуется эритемой, снижением сосудистого рисунка и/или лёгкой хрупкостью; балл 2 указывает на умеренное заболевание, которое характеризуется выраженной эритемой, отсутствием сосудистого рисунка, хрупкостью и/или эрозией; балл 3 указывает на тяжёлое заболевание с образованием язвы и спонтанным кровотечением. Каждая точка на графике представляет собой среднее значение (COC3) по лечению в день оценивания. В таблице данных значение в скобках, смежное со средним значением, представляет собой скорректированное по плацебо среднее значение, то есть среднее значение минус соответствующее значение плацебо.

На фигуре 15 показано, что рандомизация привела к хорошо сбалансированным показателям PGA на исходном уровне. Как ожидалось из протокола, заболевание пациентов рассматривалось от умеренного до тяжёлого на исходном уровне. Все группы лечения показали лучшие результаты, чем группа плацебо, на 12-й неделе, а наибольший эффект при этом визите, наблюдали в группе с 22,5 мг. Общая оценка врача является

составной частью как суммарного балла по шкале Мейо, так и частичного балла по шкале Мейо. Он отражает субъективную оценку лечащего врача с учётом всех аспектов язвенного колита пациента. Он оценивается по шкале от 0 до 3. Балл 0 указывает на то, что пациент находится в нормальном состоянии; балл 1 указывает на лёгкую болезнь; балл 2 указывает на умеренную болезнь; балл 3 указывает на тяжёлую болезнь. Каждая точка на графике представляет собой среднее значение (COC3) по лечению в день оценивания. В таблице даны значения в скобках, смежные со средним значением, представляют собой скорректированное по плацебо среднее значение, то есть среднее значение минус соответствующее значение плацебо.

Таблица 5: Изменение по сравнению с исходным уровнем по суммарному баллу по шкале Мейо на 12-й неделе (ANCOVA, центральное чтение)

Лечение	На основании модели ANCOVA*		
	Расчётное значение	Отличие от плацебо	90 % ДИ
Плацебо	-1,53		
7,5 мг	-2,41	-0,88	(-1,623, -0,145)
22,5 мг	-3,06	-1,53	(-2,254, -0,809)
75 мг	-2,65	-1,12	(-1,845, -0,390)
225 мг	-2,80	-1,27	(-2,016, -0,533)

*: Модель включает лечение, исходный уровень по суммарному баллу по шкале Мейо и статус анти-ФНО как фиксированные эффекты.

Пример 6. Исследуемая конечная точка – SCCAI

Клиническую ремиссию, основанную на другой предварительно заданной системе оценивания, простом клиническом индексе активности колита (SCCAI), определяли с целью проверки согласованности клинического эффекта (таблица 6). SCCAI не включает эндоскопию. Клиническая ремиссия, основанная на SCCAI, в определённый момент времени определяется как общий балл по шкале SCCAI < 2. Наблюдаемые показатели ремиссии (при подходе терапевтической неудачи) и соответствующие 90 % доверительные интервалы на 4-й, 8-й и 12-й неделе представлены на фигуре 7. Во всех контрольных моментах времени показатели ремиссии, которые соответствовали дозам 22,5 мг и 75 мг, были выше, чем при двух других дозах, и со временем эти две дозы отделяются сильнее. Результаты SCCAI на 12-й неделе соответствуют результатам клинической ремиссии, полученным на основе шкалы Мейо.

Таблица 6: Простой клинический индекс активности колита (SCCAI)

Баллы					
0		1	2	3	4
Частота опорожнения кишечника (день)	1-3	4-6	7-9	> 9	
Частота опорожнения кишечника (ночь)	1-3	4-6			

Неотложный позыв к дефекации	-	спешный	немедленный	недержание	
Кровь в стуле	-	следовые количества	время от времени выраженная	обычно выраженная	
Общее самочувствие	очень хорошее	немного плохое	плохое	очень плохое	ужасное
Артрит, гангренозная приодермия, узловатая эритема, увеит		1 на проявление болезни			

Пример 7. Безопасность

В этом исследовании не было очевидных подтверждающих данных, говорящих о проблемах безопасности. Популяция для оценки безопасности состояла из 357 пациентов, которые были рандомизированы и получали по крайней мере одну дозу исследуемого препарата. Пациентов анализировали согласно полученному лечению. Распределение пациентов представлено в таблице 7. Имелось 2 пациента, которые получали отличающееся от назначенного лечение для всех 3 доз. Оба были определены в группу с дозой 22,5 мг, а получали дозу 75 мг. Неблагоприятные события встречались несколько чаще у пациентов, которых лечили лекарственным препаратом ($162/284 = 57\%$), чем у пациентов, которые получали плацебо ($39/73 = 53\%$), хотя не было очевидных подтверждающих данных зависимости от дозы (таблица 7).

Таблица 7: Распределение пациентов по безопасности (недели 0-12)

	Плацебо	МАТ 7.16.6 7,5 мг	МАТ 7.16.6 22,5 мг	МАТ 7.16.6 75 мг	МАТ 7.16.6 225 мг
Пациент, оцененный по неблагоприятным событиям	73	71	70	73	70
Количество НС	83	120	79	85	117
Пациенты с НС	39 (53,4)	40 (56,3)	36 (51,4)	43 (58,9)	43 (61,4)
Пациенты, досрочно выбывшие из исследования из-за НС	2 (2,7)	5 (7,0)	0	3 (4,1)	1 (1,4)
Пациенты с СНС	4 (5,5)	10 (14,1)	1 (1,4)	3 (4,1)	3 (4,3)
Смерти	0	1 (1,4)	0	0	0

Досрочное завершение терапии

На этапе лечения было 21 досрочное завершение терапии, в том числе 12 исключены из-за неблагоприятных событий (Таблица 8). Большая часть среди 12 исключений из-за неблагоприятных событий была связана с прогрессированием язвенного колита (7) и других желудочно-кишечных (ЖК) событий (3). Большинство из этих событий произошло в группе с 7,5 мг ($n = 6$) в течение первых 30 дней исследования. Не было очевидных подтверждающих данных ответа на лекарственный препарат или дозу препарата.

Таблица 8: Прекращение из-за неблагоприятных событий

	Плацебо	мАт 7.16.6, 7,5 мг	мАт 7.16.6, 22,5 мг	мАт 7.16.6, 75 мг	мАт 7.16.6, 225 мг
N	73	71	70	73	70
Язвенный колит	1	4	0	2	0
Другие ЖК	1	2	0	0	0
Другое	0	0	0	1	1

Смерти

В течение данного исследования зафиксировали одну смерть. У 30-летней женщины, которая получила 7,5 мг, диагностировали аденокарциному толстой кишки через 30 дней после первой дозы исследуемого препарата. Перед вступлением в исследование пациентка испытывала заметную потерю веса в течение короткого периода времени с ИМТ при скрининге 15,8 кг/м². Предварительная колоноскопия была аномальной со стенотической зоной в прямой кишке, но биопсия не выявила дисплазию. У пациентки наблюдали дополнительную потерю веса на 10 % в течение первых четырёх недель на исследуемом препарате. Повторная сигмоидоскопия выявила более значительный стеноз, а биопсия стенотического поражения в тот момент времени показала аденокарциному. Она была исключена из исследования препарата и умерла от метастатического рака толстой кишки через 3 месяца. Полагается, что рак присутствовал до начала исследования, несмотря на отрицательную биопсию, и что маловероятно, чтобы это фатальное неблагоприятное событие было связано с использованием исследуемого препарата. E-DMC (независимый комитет по мониторингу данных, НКМД) также согласился с этой обусловленностью.

Серьезные неблагоприятные события

Частота серьёзных неблагоприятных событий была самой высокой в группе лечения с 7,5 мг (n = 10), но все другие группы, включая группу плацебо, имели аналогичные частоты описанных СНС (n = 1-4). У 22 пациентов было обнаружено 26 серьёзных неблагоприятных событий. Самым распространенным СНС был язвенный колит, о котором сообщили 9 пациентов, за которым следовала мигрень, о которой сообщили 2 пациента. Другие желудочно-кишечные СНС (по одному случаю каждого) включали боль в животе, аденокарциному толстой кишки, анальный абсцесс, трещину заднего прохода, аппендицит, диарею, запор, инфекцию *C. difficile* и рвоту. Другие нежелудочно-кишечные СНС (по одному случаю каждого) включали сложную мигрень, мигрень, эпилепсию, боль в конечности, эмболию артерии сетчатки, вазовагальный обморок, легочную эмболию и тензионную головную боль.

Важные с медицинской точки зрения события, связанные с протоколом

В ходе исследования была проведена очень активная программа надзора для оценки риска ПМЛ (прогрессирующей многоочаговой лейкоэнцефалопатии) и миокардита. Ни одно из этих событий не наблюдалось.

Неблагоприятные события

В целом, мАт 7.16.6 оказалось хорошо переносимым. Частота неблагоприятных событий, хотя и была несколько выше у пациентов, которых лечили лекарственным препаратом (57 %), чем у пациентов, которые получали плацебо (53 %), но не увеличивалась с дозой. Наиболее частыми неблагоприятными событиями по классу системы органов (КСО) были инфекционные и паразитарные заболевания, желудочно-кишечные расстройства, нарушения нервной системы, скелетно-мышечные нарушения и общие нарушения и патологические состояния в месте введения (Таблица 9).

Таблица 9: Наиболее распространенные неблагоприятные события по классу системы органов

	Плацебо	мАт 7.16.6, 7,5 мг	мАт 7.16.6, 22,5 мг	мАт 7.16.6, 75 мг	мАт 7.16.6, 225 мг
N	73	71	70	73	70
Любое НС	39 (53 %)	40 (56 %)	36 (51 %)	43 (59 %)	43 (61 %)
Инфекционные и паразитарные заболевания	13 (18 %)	13 (18 %)	12 (17 %)	17 (23 %)	17 (24 %)
Желудочно-кишечные расстройства	14 (19 %)	21 (30 %)	9 (13 %)	9 (12 %)	12 (17 %)
Нарушения нервной системы	8 (11 %)	8 (11 %)	8 (11 %)	6 (8 %)	15 (21 %)
Скелетно-мышечные нарушения	7 (10 %)	10 (14 %)	11 (16 %)	8 (11 %)	7 (10 %)
Общее и в месте введения	5 (7 %)	7 (10 %)	7 (10 %)	11 (15 %)	8 (11 %)

За пределами желудочно-кишечного тракта и родственных тканей MAdCAM конститутивно обнаруживается в молочной железе, носовой ткани и селезенке. Отсутствуют данные о неблагоприятных событиях для молочной железы или селезенки. Заболеваемость нозофарингитом и инфекциями верхних дыхательных путей не отличалась среди групп лечения (табл. 10).

Таблица 10: Нозофарингит и инфекции верхних дыхательных путей

	Плацебо	мАт 7.16.6 7,5 мг	мАт 7.16.6 22,5 мг	мАт 7.16.6 75 мг	мАт 7.16.6 225 мг
N	73	71	70	73	70
Нозофарингит	3 (4,1 %)	0	3 (4,3 %)	5 (6,8 %)	4 (5,7 %)
Инфекция верхних дыхательных путей	1 (1,4 %)	2 (2,8 %)	2 (2,9 %)	1 (1,4 %)	2 (2,9 %)

Частыми неблагоприятными событиями (те, которые наблюдались по крайней мере у 4 пациентов в одной группе лечения) были боль в животе, язвенный колит, тошнота,

рвота, головная боль, кашель и анемия. Наиболее распространенным НС была головная боль, о которой сообщали до 10 % пациентов, за которой следовали боль в животе и язвенный колит. Не было очевидных подтверждающих данных о влиянии дозы для любого из этих событий (таблица 11 и фигура 16).

Реакции в месте инъекции, описанные как эритема, боль, отёк и ощущение жжения, были редкими, и чаще наблюдались в группе лечения с 225 мг (10 %), но были равномерно распределены среди всех других групп (3-4 %), включая группу плацебо. мАт 7.16.6 производит впечатление безопасного и хорошо переносимого в этой популяции пациентов.

Таблица 11: Неблагоприятные события, которые имели место у 4 или более пациентов по крайней мере в одной группе лечения

	Плацебо	мАт 7.16.6, 7,5 мг	мАт 7.16.6, 22,5 мг	мАт 7.16.6, 75 мг	мАт 7.16.6, 225 мг
N	73	71	70	73	70
Желудочно-кишечные расстройства					
Боль в животе	1 (1,4 %)	6 (8,5 %)	3 (4,3 %)	2 (2,7 %)	2 (2,9 %)
Язвенный колит	3 (4,1 %)	6 (8,5 %)	0	2 (2,7 %)	1 (1,4 %)
Тошнота	2 (2,7 %)	4 (5,6 %)	1 (1,4 %)	1 (1,4 %)	4 (5,7 %)
Рвота	2 (2,7 %)	1 (1,4 %)	4 (5,7 %)	0	2 (2,9 %)
Нарушения нервной системы					
Головная боль	5 (6,8 %)	5 (7,0 %)	7 (10 %)	4 (5,5 %)	8 (11,4 %)
Нарушения со стороны органов дыхания, грудной клетки и средостения					
Кашель	4 (5,5 %)	1 (1,4 %)	0	1 (1,4 %)	0
Болезни крови и лимфатической системы					
Анемия	0	0	2 (2,9 %)	4 (5,5 %)	2 (2,9 %)

Пример 8. Биомаркеры

8.1. Белковые биомаркеры, которые идентифицированы путём профилирования сывороточных белков

Общие сведения. Образцы крови и тканей собирали у всех дозовых групп в различные моменты времени и использовали для измерения панели белков с использованием высоко мультиплексной платформы для анализа белков Olink Biosciences.

Концентрации 202 белков измеряли с использованием этой чувствительной и точной аналитической платформы и сравнивали между образцами, отобранными до начала лечения, и образцами, отобранными через 4 недели и 12 недель после начальной дозировки. Биомаркеры, которые прогнозируют ответ на лечение, анализируют путём сравнения с начальной концентрацией одного или нескольких белков в образцах, отобранных до начала лечения, а также посредством изменения концентрации белка относительно исходного уровня к 4-й неделе или к 12-й неделе. Эти данные о белках анализируются совместно с данными по РНК, генотипированию и данными популяции клеток. Результаты белковых анализов, которые показывают отклонение от их соответствующего контрольного значения, показаны в таблицах 12 и 13. Анти-MAdCAM антитело вводили каждые 4 недели.

Способы. Сывороточные белки пациентов, которые участвовали в исследовании MAdCAM ЯК РОС, измеряли в образцах, которые были отобраны до лечения, а также через 4 недели и через 12 недель во время периода лечения с применением дозировок, с использованием аналитической платформы расширения близости Olink Biosciences. В целом, белки измеряли в 937 образцах сыворотки, которые были собраны у 331 пациента в 3-х временных точках в течение 12-недельного периода лечения. Для измерения 202 уникальных белков в образцах исследуемой сыворотки с помощью Olink были использованы три коммерческих теста: Proseek Multiplex CVD I^{96x96}, Proseek Multiplex INF I^{96x96} и Proseek Multiplex ONC v2 I^{96x96}.

Результаты. Многие белки имеют различную концентрацию через 4 недели и через 12 недель во время периода лечения с помощью анти-MAdCAM с применением дозировок по сравнению с начальными значениями концентрации. Белки с наибольшей разницей медиан между периодом перед лечением и после 4 недель лечения с помощью анти-MAdCAM по сравнению периодом перед лечением и после 4 недель лечения группы плацебо суммированы в таблице 12. Показания представляют собой медианные изменения и значения квартиля 1 (Q1), квартиля 3 (Q3) для каждой группы для каждого маркера. Данные анализируются для биомаркеров ответа с использованием статистического моделирования.

Таблица 12. Медиана (Q3, Q1). Изменение относительно исходного уровня на 4-й неделе					
Исследуемое вещество	Плацебо	7,5	22,5	75	225
CH3L1	-1,95 (25,00, - 31,63)	-20,16 (25,61, - 35,70)	-17,63 (4,94, - 33,63)	-15,71 (21,89, - 28,50)	-8,58 (20,06, - 24,93)
CXCL1	-3,89 (9,54, - 20,13)	-4,58 (11,83, - 16,65)	-10,34 (5,17, - 20,30)	-14,85 (-1,84, - 28,03)	-9,54 (3,23, - 26,99)
CXCL13	1,26 (24,31, - 14,67)	-9,51 (9,07, - 29,01)	-9,48 (10,59, - 23,04)	-4,99 (11,96, - 25,70)	4,13 (28,10, - 27,03)
CXCL9	-7,81 (14,51, - 35,12)	-18,71 (22,18, - 42,01)	-22,56 (8,61, - 41,31)	-23,96 (4,64, - 40,60)	-22,27 (1,39, - 37,93)
Dkk-1	-3,99 (15,49, - 19,28)	0,06 (16,80, - 16,76)	-13,74 (18,74, - 25,17)	-8,77 (13,07, - 21,21)	-3,15 (25,81, - 16,84)
EGF	-3,46 (45,02, - 43,18)	4,93 (43,71, - 32,74)	-8,14 (25,60, - 26,39)	-15,08 (40,81, - 49,55)	-1,71 (38,78, - 45,73)

EN-RAGE	7,33 (56,57, - 31,02)	-14,25 (13,78, - 41,29)	-10,59 (30,17, - 43,61)	-7,25 (41,81, - 34,19)	-5,37 (35,54, - 44,62)
EPO	0,00 (9,72, - 23,19)	0,00 (7,50, - 22,81)	-10,30 (3,66, - 33,64)	-4,08 (10,74, - 43,33)	0,00 (22,11, - 15,80)
ИЛ-17C	-2,96 (10,42, - 17,44)	6,00 (26,52, - 10,94)	-11,47 (15,50, - 27,53)	-15,17 (18,03, - 41,43)	-6,57 (33,21, - 25,05)
ИЛ-6	-3,36 (40,05, - 44,00)	-19,69 (21,54, - 48,43)	-20,72 (10,36, - 48,96)	-23,66 (1,80, - 42,36)	-5,86 (28,05, - 33,00)
ИЛ-7	1,47 (29,44, - 26,21)	-1,10 (33,39, - 19,12)	-9,97 (8,82, - 25,80)	-14,29 (15,05, - 29,43)	-1,54 (22,17, - 24,30)
MIP-1 альфа	-2,68 (21,97, - 26,94)	0,00 (30,66, - 18,09)	-14,38 (7,56, - 34,21)	-8,00 (34,94, - 23,88)	-6,28 (29,78, - 34,02)
MMP-1	-4,86 (14,27, - 20,04)	-2,93 (17,33, - 14,56)	-9,59 (1,03, - 19,42)	-16,51 (2,07, - 39,61)	-4,02 (10,87, - 19,54)
MMP-10	-1,60 (13,90, - 29,34)	-6,51 (21,19, - 25,74)	-17,39 (0,55, - 37,26)	-16,67 (0,78, - 35,66)	-17,58 (8,30, - 33,66)
MMP-12	-5,75 (12,24, - 33,84)	-8,73 (9,44, - 26,97)	-22,98 (14,41, - 44,81)	-25,63 (-4,39, - 53,48)	-24,65 (11,48, - 42,62)
MMP-3	1,48 (22,10, - 19,63)	-2,68 (5,85, - 16,76)	-11,35 (4,22, - 30,34)	-7,80 (7,63, - 25,55)	-8,58 (4,87, - 27,97)
NT-pro-BNP	-1,02 (39,78, - 27,99)	-0,58 (48,20, - 36,15)	2,36 (39,48, - 31,01)	16,67 (57,75, - 31,37)	-3,57 (29,03, - 28,57)
PTPN22	0,75 (50,09, - 35,11)	-20,18 (10,04, - 45,65)	-13,75 (23,70, - 39,95)	-14,14 (17,69, - 35,54)	-9,44 (28,16, - 41,54)
PTX3	-0,48 (25,88, - 25,77)	-8,06 (23,09, - 25,26)	-12,52 (17,08, - 30,33)	-3,91 (13,89, - 27,81)	-14,36 (14,01, - 28,72)
RETN	-0,39 (32,85, - 30,26)	-10,61 (5,99, - 28,49)	-14,82 (7,65, - 39,54)	-20,16 (14,81, - 35,87)	-15,09 (11,87, - 24,74)
TNFRSF4	-3,65 (15,07, - 20,77)	-7,54 (7,86, - 23,17)	-9,27 (11,71, - 20,94)	-9,03 (5,54, - 22,90)	-7,54 (8,36, - 23,13)
TRANCE	0,28 (23,61, - 20,51)	5,77 (28,54, - 14,57)	-9,03 (28,00, - 22,67)	-4,15 (19,94, - 30,71)	-3,39 (25,50, - 13,05)

Белки с наибольшей разницей медиан между периодом перед лечением и после 12 недель лечения с помощью анти-MAdCAM по сравнению периодом перед лечением и после 12 недель лечения группы плацебо суммированы в таблице 13. Показания представляют собой медианные изменения и значения квартиля 1, квартиля 3 для каждой группы. Данные анализируются для биомаркеров ответа с использованием статистического моделирования.

Кроме того, в сотрудничестве с центром по БРК дополнительное значение может быть получено путём извлечения данных в сравнении с другими наборами данных по БРК, для дальнейшего нашего понимания этого заболевания предлагаются известные или новые анализы терапевтических белков в этих образцах.

В частности, три белковых биомаркера – фекальный кальпротектин, sMAdCAM и hsCRP, в особенности прогнозируют ответы пациентов на лечение. Изменение уровней белка в ответ на лечение и изменения концентрации белка от исходного уровня к 4-й неделе или от исходного уровня к 12-й неделе коррелируют с клиническими конечными точками (например, клиническим ответом на 12-й неделе), и могут быть использованы для прогнозирования клинического ответа или для определения субпопуляций пациентов, в частности тех, которые подходят для такого лечения.

Таблица 13. Медиана (Q3, Q1). Изменение относительно исходного уровня на 12-й неделе

Аналит	Плацебо	7,5	22,5	75	225
AR	-3,90 (38,05, - 27,26)	-0,81 (29,75, - 27,97)	-11,52 (6,65, - 30,90)	-11,28 (9,34, - 37,48)	-6,36 (25,97, - 32,12)
CXCL11	-4,02 (44,22, - 29,39)	-13,82 (24,79, - 45,53)	-11,49 (15,95, - 31,02)	-17,59 (5,45, - 50,02)	-8,28 (33,53, - 39,93)
CXCL13	4,04 (34,29, - 20,35)	-9,17 (33,74, - 36,63)	-14,92 (11,17, - 35,17)	-19,13 (16,65, - 39,70)	0,09 (36,23, - 24,46)
EPO	0,00 (29,87, - 18,57)	-8,33 (16,67, - 32,10)	-8,67 (4,28, - 39,22)	-12,24 (7,63, - 50,34)	0,00 (19,43, - 29,97)
FGF-21	3,14 (104,21, - 42,53)	-14,94 (56,76, - 59,23)	-10,87 (50,72, - 46,12)	-28,47 (38,39, - 53,07)	-12,94 (40,77, - 44,02)
GH	-2,72 (90,77, - 60,85)	-3,49 (148,16, - 52,25)	-28,80 (47,88, - 65,95)	-17,44 (70,68, - 72,99)	2,00 (289,50, - 46,32)
ИЛ-6	2,70 (65,41, - 29,83)	-7,58 (37,48, - 37,93)	-8,34 (40,83, - 41,95)	-10,81 (41,33, - 38,34)	8,46 (47,52, - 26,48)
ИЛ-7	7,82 (25,16, - 21,08)	-6,07 (27,92, - 22,81)	-12,46 (15,57, - 25,44)	-7,68 (10,89, - 34,13)	-4,96 (27,23, - 25,69)
ИЛ-8	-5,99 (32,25, - 42,53)	-12,47 (36,70, - 34,79)	-3,98 (23,66, - 30,93)	-26,05 (10,03, - 38,57)	-10,72 (35,40, - 26,76)
MMP-1	8,32 (25,24, - 20,78)	-13,94 (0,56, - 30,32)	-16,99 (-0,46, - 35,64)	-19,10 (-0,42, - 40,72)	-5,85 (9,26, - 24,47)
MMP-10	-5,51 (15,56, - 27,01)	-4,35 (56,89, - 26,81)	-15,44 (0,22, - 36,73)	-17,44 (13,49, - 41,79)	-15,96 (18,43, - 35,37)
MMP-3	-1,44 (21,54, - 22,11)	-5,13 (27,04, - 20,34)	-15,41 (8,21, - 28,68)	-9,29 (13,38, - 31,32)	-9,87 (13,78, - 27,95)
OSM	-7,91 (21,34, - 34,03)	-14,16 (46,45, - 40,66)	-25,57 (8,70, - 48,30)	-17,47 (27,55, - 47,53)	-18,97 (11,26, - 42,30)
PTPN22	-3,41 (47,62, - 35,30)	-5,30 (40,20, - 37,23)	-8,91 (25,42, - 44,02)	-16,54 (27,03, - 45,28)	-12,12 (48,40, - 42,82)
REG-4	5,52 (17,65, - 15,43)	-0,12 (22,29, - 14,69)	-9,80 (8,67, - 20,02)	-9,53 (17,44, - 27,27)	1,29 (20,69, - 16,90)
RETN	1,98 (28,28, - 35,97)	-3,32 (31,14, - 25,40)	-13,08 (11,71, - 32,64)	-10,31 (24,38, - 36,80)	-9,73 (16,54, - 28,48)
VEGF-A	2,35 (24,11, - 23,81)	-7,21 (17,15, - 23,86)	-8,57 (8,32, - 26,15)	-10,22 (17,22, - 32,92)	-2,14 (22,37, - 17,17)

Фекальный кальпротектин. Расчёты (и 90 % ДИ) изменения данных по фекальному кальпротектину относительно исходного уровня суммированы на фигуре 8. Наблюдалось устойчивое снижение показателей фекального кальпротектина относительно исходного уровня для активных групп на 4-й неделе, которые продолжали снижаться на 8-й и 12-й неделе. Как видно из фигуры 8, группа плацебо показала меньшее снижение по сравнению с активными группами. На 12-й неделе геометрические средние значения процентного изменения относительно исходного уровня составляли -19 % (понижение), -60 % (понижение), -59 % (понижение), -55 % (понижение) и -60% (понижение) для групп с плацебо, 7,5 мг, 22,5 мг, 75 мг и 225 мг, соответственно.

Растворимый MAdCAM (sMAdCAM). Расчёты (и 90 % ДИ) изменения данных по sMAdCAM относительно исходного уровня суммированы на фигуре 9. В соответствии с прогнозами в ходе планирования исследования, sMAdCAM продемонстрировал очень устойчивое и монотонное снижение во всём диапазоне доз, с выравниванием при дозах >=

22,5 мг. На 12-й неделе геометрические средние значения процентного изменения относительно исходного уровня составляли 4 % (повышение), -68 % (понижение), -90 % (понижение), -94 % (понижение) и -98 % (понижение) для групп с плацебо, 7,5 мг, 22,5 мг, 75 мг и 225 мг, соответственно.

hsCRP. Расчёты (и 90 % ДИ) изменения данных по hsCRP относительно исходного уровня суммированы на фигуре 10. Наблюдалось некоторое снижение показателей hsCRP относительно исходного уровня для активных групп на 4-й неделе, которое продолжало снижаться до 8-й недели, за исключением группы с дозой 7,5 мг, которая не показала значительных изменений. Активные группы лечения продемонстрировали тенденцию к возвращению по направлению к исходному уровню к 12-й неделе, хотя в соответствии с клиническими данными наибольшее и наиболее стойкое снижение наблюдалось в группах с 22,5 мг и 75 мг. Как видно из фигуры 2, группа плацебо не проявляла значительных изменений со временем. На 12-й неделе геометрические средние значения процентного изменения относительно исходного уровня составляли 15 % (повышение), 5 % (повышение), -20 % (понижение), -16 % (понижение) и 2 % (повышение) для групп с плацебо, 7,5 мг, 22,5 мг, 75 мг и 225 мг, соответственно.

8.2. РНКовые биомаркеры, идентифицированные путём профилирования экспрессии генов для MAdCAM ЯК.

Общие сведения. Образцы крови и биопсии ткани собирали у всех дозовых групп в различные моменты времени и использовали для измерения общего транскриптома с использованием технологической платформы RNA-seq. RNA-seq представляет собой технологию объективного определения профилей экспрессии генов, которая позволяет одновременно и объективно измерять уровни транскрипции практически всех транскриптов, которые присутствуют в данном типе клеток или тканей. Транскриптомы были секвенированы с глубиной прочтения ~ 40 миллионов спаренных концов прочтений на образец, что позволяет провести подробный анализ транскрипции > 15000 генов, включая соответствующие изоформы. Образцы, которые отобрали перед лечением, сравнивали с образцами, которые отобрали через 4 недели и через 12 недель после лечения, и провели статистический анализ для определения изменения транскрипции в образцах в эти моменты времени с учётом разных уровней доз. Биомаркеры, которые прогнозируют ответ на лечение, анализируют путём сравнения с начальной концентрацией одного или нескольких транскриптов в образцах, отобранных до начала лечения, а также посредством изменения уровня экспрессии транскрипта относительно исходного уровня к 4-й неделе или к 12-й неделе. Эти данные об экспрессии генов также анализируются совместно с данными по белкам и популяции клеток.

Способы. РНК из крови и ткани пациентов, которые участвовали в исследовании MAdCAM ЯК, измеряли в образцах, которые были отобраны до лечения, а также через 4

недели и через 12 недель во время периода лечения с применением дозировок, с использованием технологической платформы Illumina RNA-seq, которая состоит из библиотеки мРНК последовательностей поколения TruSeq mRNA stranded, с последующим анализом этой библиотеки с использованием секвенатора Illumina HiSeq серии 2000 или 4000. В крови была измерена экспрессия транскриптов на исходном уровне и на 12-й неделе в общей сложности для 320 пациентов. Для 256 пациентов из этой группы также были проведены анализы транскрипции, выполненные на 4-й неделе. Для анализа образцов биопсии ткани анализировали 126 пациентов с воспаленными тканями для биопсий при скрининговом посещении и на 12-й неделе.

Результаты. Многие транскрипты демонстрируют различный уровень экспрессии генов на 4-й неделе и на 12-й неделе во время периода лечения с помощью анти-MAdCAM с применением дозировок по сравнению с начальными значениями экспрессии генов на исходном уровне (или при скрининговом посещении). См. таблицу 15. В частности, считается, что изменение экспрессии CCR9 (например, изменение экспрессии на 12-й неделе относительно исходного уровня) коррелирует с клинической эффективностью.

Таблица 15

ID гена	ID гена согласно HUGO	ID гена	ID гена согласно HUGO	ID гена	ID гена согласно HUGO	ID гена	ID гена согласно HUGO
ENSG00000173585	CCR9	ENSG00000139514	SLC7A1	ENSG00000214105	CTD-2116F7	ENSG00000205502	C2CD4B
ENSG00000122882	ECD	ENSG00000072134	EPN2	ENSG00000179348	GATA2	ENSG00000269290	RP11-869B15
ENSG00000228061	Z83001	ENSG00000186469	GNG2	ENSG00000242611	AC093627	ENSG00000134709	HOOK1
ENSG00000211793	TRAV9-2	ENSG00000261087	KB-1460A1	ENSG00000231748	RP11-227H15	ENSG00000158715	SLC45A3
ENSG00000096070	BRPF3	ENSG00000128833	MYO5C	ENSG00000202314	SNORD6	ENSG00000239305	RNF103
ENSG00000241484	ARHGAP8	ENSG00000140743	CDR2	ENSG00000151136	BTBD11	ENSG00000006210	CX3CL1
ENSG00000199933	Y_RNA	ENSG00000214797	RP11-1036E20	ENSG00000242444	RP11-320N7	ENSG00000155016	CYP2U1
ENSG00000237361	RP11-269C23	ENSG00000130950	NUTM2F	ENSG00000176928	GCNT4	ENSG00000153064	BANK1
ENSG00000116212	LRR42	ENSG00000143554	SLC27A3	ENSG00000252071	snoU13	ENSG00000173208	ABCD2
ENSG00000042980	ADAM28	ENSG00000178055	PRSS42	ENSG00000110719	TCIRG1	ENSG00000235652	RP11-545I5
ENSG00000132888	MAN2B2	ENSG00000088035	ALG6	ENSG00000254287	RP11-44K6	ENSG00000155719	OTOA
ENSG00000152894	PTPRK	ENSG00000163751	CPA3	ENSG00000180771	SRSF8	ENSG00000172575	RASGRP1
ENSG00000135318	NT5E	ENSG00000069188	SDK2	ENSG00000085788	DDHD2	ENSG00000101134	DOK5
ENSG00000258742	RP11-862G15	ENSG00000107771	CCSER2	ENSG00000073146	MOV10L1	ENSG00000169762	TAPT1
ENSG00000173114	LRRN3	ENSG00000153902	LGI4	ENSG00000170989	S1PR1	ENSG00000025800	KPNA6
ENSG00000199032	MIR425	ENSG00000258096	RP11-474P2	ENSG00000198919	DZIP3	ENSG00000164466	SFXN1
ENSG00000211717	TRBV10-1	ENSG00000204632	HLA-G	ENSG00000148468	FAM171A1	ENSG00000166707	ZCCHC18
ENSG00000225760	RP11-365P13	ENSG00000265263	RP11-135L13	ENSG00000268950	AC114494	ENSG00000156515	HK1
ENSG00000237990	CNTN4-AS1	ENSG00000104472	CHRA1	ENSG00000181029	TRAPPC5	ENSG00000136504	KAT7
ENSG00000272379	RP1-257A7	ENSG00000185339	TCN2	ENSG00000253773	KB-1047C11	ENSG00000140009	ESR2
ENSG00000253293	HOXA10	ENSG00000163082	SGPP2	ENSG00000132388	UBE2G1	ENSG00000232274	RP11-782C8

ENSG00000235304	RP11-265P11	ENSG00000249459	ZNF286B	ENSG00000247796	CTD-2366F13	ENSG00000268313	AC119673
ENSG0000022556	nlrp2	ENSG00000104918	RETN	ENSG00000125826	RBCK1	ENSG00000082014	SMARCD3
ENSG00000198668	CALM1	ENSG00000259363	CTD-2054N24	ENSG00000133816	MICAL2	ENSG00000203401	AC009061
ENSG00000270457	RP11-467C18	ENSG00000115998	C2orf42	ENSG00000112782	CLIC5	ENSG00000174469	CNTNAP2
ENSG00000066405	CLDN18	ENSG00000227042	RP6-1O2	ENSG00000211788	TRAV13-1	ENSG00000171298	GAA
ENSG00000261186	RP11-341N2	ENSG00000268205	CTC-444N24	ENSG00000142910	TINAGL1	ENSG00000168646	Axin2
ENSG00000127152	BCL11B	ENSG00000270674	RP11-216F19	ENSG00000114120	SLC25A36	ENSG00000119414	PPP6C
ENSG00000070404	FSTL3	ENSG00000130489	SCO2	ENSG00000169228	RAB24	ENSG00000173918	C1QTNF1
ENSG00000159423	ALDH4A1	ENSG00000143457	GOLPH3L	ENSG00000237505	RP11-76N22	ENSG00000106537	TSPAN13
ENSG00000140092	FBLN5	ENSG00000184307	ZDHHC23	ENSG00000132704	FCRL2	ENSG00000086189	DIMT1
ENSG00000229776	C4B-AS1	ENSG00000251606	CTD-2215E18	ENSG00000260093	RP11-1E4	ENSG00000171914	TLN2
ENSG00000271954	RP11-427H3	ENSG00000225407	CTD-2384B11	ENSG00000030582	GRN	ENSG00000079691	LRRCL16A
ENSG00000169436	COL22A1	ENSG00000164543	STK17A	ENSG00000238121	LINC00426	ENSG00000104660	LEPROTL1
ENSG00000151623	NR3C2	ENSG00000213853	etp2	ENSG00000105270	clip3	ENSG00000134954	ETS1
ENSG00000174791	RIN1	ENSG00000145687	SSBP2	ENSG00000198954	KIAA1279	ENSG00000250548	RP11-47I22
ENSG00000186265	BTLA	ENSG00000052126	PLEKHA5	ENSG00000235488	JARID2-AS1	ENSG00000076984	MAP2K7
ENSG00000177459	C8orf47	ENSG00000182511	FES	ENSG00000158079	PTPDC1	ENSG00000188818	ZDHHC11
ENSG00000187416	LHFPL3	ENSG00000154479	CCDC173	ENSG00000198963	RORB	ENSG00000129270	MMP28
ENSG00000101892	ATP1B4	ENSG00000155093	PTPRN2	ENSG00000030419	IKZF2	ENSG00000100065	CARD10
ENSG00000138617	PARP16	ENSG00000149308	NPAT	ENSG00000068354	TBC1D25	ENSG00000158195	WASF2
ENSG00000261211	RP11-80N2	ENSG00000162129	ClpB	ENSG00000211797	TRAV17	ENSG00000233125	ACTBP12
ENSG00000019995	ZRANB1	ENSG00000133639	BTG1	ENSG00000197111	PCBP2	ENSG00000119508	NR4A3
ENSG00000227215	RP11-445L13_B	ENSG00000137502	RAB30	ENSG00000112182	BACH2	ENSG00000186591	UBE2H
ENSG00000099204	ABLIM1	ENSG00000271783	RP11-533E19	ENSG00000006432	MAP3K9	ENSG00000200227	RNA5SP197
ENSG00000242861	RP11-285F7	ENSG00000230928	RP11-34A14	ENSG00000203364	RP11-370F5	ENSG00000103343	ZNF174
ENSG00000211879	TRAJ10	ENSG00000105472	CLEC11A	ENSG00000233225	AC004987	ENSG00000259728	LINC00933
ENSG00000269018	AP001362	ENSG00000154511	FAM69A	ENSG00000100979	PLTP	ENSG00000122741	DCAF10
ENSG00000177425	PAWR	ENSG00000196323	ZBTB44	ENSG00000012983	MAP4K5	ENSG00000185736	ADARB2
ENSG00000207585	MIR181D	ENSG00000211880	TRAJ9	ENSG00000125868	DSTN	ENSG00000113263	ITK

8.3. Биомаркеры клеток, идентифицированные по СКАФ.

СКАФ анализ интегрин В7. Частоту и экспрессию поверхностного маркера В7 в субпопуляции лимфоцитов оценивают с помощью СКАФ анализа цельной крови. Аликвоты (100 мкл) крови с гепарином натрия инкубируют с 30 мкл коктейля с антителами (CD45RO-FITC, интегрин В7 или крысиные IgG2a для контроля изотипа, конъюгированные с фикоэритрином (ФЭ, PE), CD4-PerCPCy5.5, CD27-APC и CD3-APC-H7; все от BD) при комнатной температуре в течение 30 минут. В каждую пробирку добавляют по 1 мл 1X раствора BD PharmLyse, встряхивают в руках и инкубируют в течение 30 минут при комнатной температуре, при этом защищая от света в течение 30 минут. Лизированную кровь анализируют с помощью FACSCanto II в течение 2 часов после приготовления. Цитометр настроен для внесения в пробирку большей части пробы. Экспрессия

поверхностного белка B7 в субпопуляции количественно определяется как стандартная единица МЭРФ (молекулы эквивалентного растворимого флуорохрома, MESF) при помощи BD QuantiBrite-PE в качестве калибратора.

MAdCAM экспрессируется на эндотелиальных клетках кишечника и на связанной с кишечником лимфоидной ткани. Anti-MAdCAM блокирует взаимодействие между клетками, экспрессирующими $\beta 7+$, и лигандом MAdCAM, тем самым блокируя экстравазацию клеток, которые экспрессируют $\beta 7+$, из кровотока в кишечник. Следовательно, лечение с помощью анти-MAdCAM приводит к увеличению циркулирующих $\alpha 4\beta 7+$ клеток. Образцы крови берутся на исходном уровне, 8-й и 12-й неделях, и $\alpha 4\beta 7+$ Т-клетки центральной памяти измеряют с помощью сортировки клеток с активированной флуоресценцией (СКАФ). Процентные данные по $\beta 7+$ представлены в виде процента клеток, которые экспрессируют CD4+, и также экспрессируют b7, а также измеряют абсолютное число (клетки/ мкл) и МЭРФ (молекулы эквивалентного растворимого флуорохрома), который представляет собой единицу измерения экспрессии белка $\beta 7$ на Т-клетках центральной памяти. Параметры СКАФ анализируют с использованием смешанной линейной модели по изменению относительно исходного уровня в качестве ответа, а также по лечению, статусу использования анти-ФНО, сопутствующей ИС терапии, исходному уровню, посещению и взаимодействию с эффектом фактора лечения в зависимости от визита в качестве фиксированных воздействий, и пациентов в качестве случайного воздействия. Как полагают, циркулирующие $b7+$ CD4+ Т-лимфоциты центральной памяти увеличиваются дозозависимым образом к 8-й и к 12-й неделям у пациентов, которые проходили анти-MAdCAM лечение. Ожидается, что кратность изменений процента $\beta 7+$ Т-клеток центральной памяти будет статистически достоверной для всех доз на 8-й и 12-й неделях. Ожидается, что увеличение абсолютного числа $\beta 7+$ Т-клеток центральной памяти и МЭРФ также будет достоверно выше для всех групп с анти-MAdCAM дозами по сравнению с группой плацебо на 8-й и 12-й неделях.

8.4. Генетические биомаркеры, идентифицированные путём генотипирования.

Общегеномные данные по генотипам были получены для всех пациентов с использованием набора Illumina, сделанного на заказ Pfizer. Этот, сделанный на заказ, чип во многом основан на дизайне чипа Illumina OmniExpressExome, который призван охватить самые экзотические вариации, которые существуют в геноме. Дополнительный компонент, выходящий за рамки чипов OmniExpressExome, направлен на охватывание дополнительных вариантов, которые, как известно на основании предыдущих исследований, связаны с болезнью во мультиэтнических когортах. Контроль качества на уровне образца и уровне генотипа будет проводиться на основании следующих критериев:

Уровень образца

- Проверка уровня определения образца – образцы с уровнем определения $< 95\%$ удаляются.
- Проверка образца на половую принадлежность – образцы с половой принадлежностью, противоречащей самостоятельному заявлению о поле, удаляются. Пол определяется по показателю гомозиготности по X-хромосоме. Для мужчин показатель гомозиготности должен быть $\geq 0,8$, а для женщин он должен быть $\leq 0,2$. Как правило, менее $0,5\%$ образцов имеют половое несоответствие.
- Показатель гетерозиготности образца – образцы с частотой гетерозиготности > 3 стандартных отклонения выше среднего значения удаляются.
- Проверка сходства образца. – Для пар с оценкой $PI_HAT > 0,1875$, образец с более низким уровнем определения удаляется.

Уровень генотипа

- Проверка уровня определения SNP: SNP с уровнем определения $< 95\%$ будут удалены.
- Проверка дублирования SNP маркера: SNP, которые дублируются на чипе, удаляются. SNP с более высоким уровнем определения сохраняется.

Анализ генотипических данных. Проводятся два генетических анализа. Во-первых, кандидатные SNP анализируются для оценки связи с клинической эффективностью на 12-й неделе. В частности, анализируется rs11171739, поскольку rs11171739 представляет собой SNP, который был предложен как потенциально связанный с уровнями экспрессии гена MADCAM1. Во-вторых, оценка гена строится на основании комбинации лучших генетических вариантов, которые, как известно, связаны с язвенным колитом, на основании общедоступных данных, с целью проверки связи этой оценки гена с клиническим ответом на MadCAM. Оценка гена рассчитывается на основании взвешенной суммы аллелей риска для ЯК. Значения будут основываться на известном эффективном размере каждого аллеля риска. Оценка гена рассчитывается для каждого отдельного пациента, а затем тестируется касательно связи с различными показателями клинической эффективности в модели линейной регрессии.

Все анализы включают родословную как ковариацию, во избежание обнаружения сигналов, которые связаны с родословной, а не с реакцией на лекарственные средства. Родословная представлена количественным вектором для каждого пациента, представляющим их значения наряду с многими основными компонентами, и включена в вышеуказанную модель регрессии в качестве замены для расы в виде независимых переменных.

Пример 9. Фармакокинетика, целевой спектр действия и антитело против исследуемого вещества

Воздействие соответствовало таковому, которое наблюдалось в FIIH исследовании (A7281001, язвенный колит) и адекватно предсказывалось предварительной

фармакокинетической моделью популяции, описывающей распределение лекарственного средства, опосредованного мишенью. (**Ошибка! Источник ссылки не найден.**)

Средние наблюдаемые значения минимальной концентрации (C trough) на 12-й неделе составляли 435 нг/ мл, 1334 нг/ мл, 5567 нг/ мл и 19860 нг/ мл при дозах 7,5 мг, 22,5 мг, 75 мг и 225 мг, соответственно. Эти концентрации в сыворотке соответствовали супрессии растворимого MAdCAM (геометрическое среднее процентное изменение от исходного уровня на 12-й неделе) на 68, 90, 94 и 98, соответственно, как показано в **Ошибка! Источник ссылки не найден.**, что согласуется с модельными предсказаниями во время планирования исследования.

Как правило, ФК уровни концентрации в сыворотке в настоящем исследовании были аналогичны тем, которые наблюдали при обособленном исследовании болезни Крона, используя те же терапевтические антитела в соответствующих дозах.

Из 758 образцов АПИВ от 282 пациентов, проходивших активное лечение, которые анализировали до 12-й недели, 709 были зафиксированы как отрицательные. Сорок девять образцов АПИВ от 29 пациентов были подтверждены как положительные; у 7 пациентов на дозу 7,5 мг, у 6 пациентов на дозу 22,5 мг, у 9 пациентов на дозу 75 мг и у 7 пациентов на дозу 225 мг. У 12 пациентов были подтвержденные положительные АПИВ на исходном уровне. Девять пациентов из 12 пациентов с подтвержденными положительными АПИВ на исходном уровне были положительными после исходного уровня (у 3 пациентов на дозу 7,5 мг, у 1 пациента на дозу 22,5 мг, у 4 пациентов на дозу 75 мг и у 1 пациента на дозу 225 мг), при этом ничто не указывало на стимулирование АПИВ ответа лечением (т. е. повышенный АПИВ титр после курса лечения по сравнению с исходным уровнем). Из 709 образцов, зафиксированных как отрицательные, 396 (~ 56 %) считались неубедительными, а 313 (~ 44 %) были подтверждены отрицательными на основании измеренных концентраций сыворотки, которые были > LLOQ (нижний лимит подсчета, англ. lower limit of quantification) (> 10 нг/ мл) и BLQ (ниже лимита подсчета, англ. below the limit of quantification) (< 10 нг/ мл), соответственно. Примечание: из 313 BLOQ значений, в 245 были предварительно дозированные измерения.

Общий подтверждающий положительный показатель составлял примерно 6,4 %, при этом титры, как правило, были низкими и близкими к обрезанию (4,64), причем ни один из них не превышал 11,86.

Предварительная оценка данных ФК у пациентов с подтвержденными положительными АПИВ после исходного уровня указывает на отсутствие заметного влияния положительных АПИВ на воздействие, безопасность или эффективность. Эта оценка проводилась на основании всех имеющихся данных от пациентов с подтвержденными положительными АПИВ после исходного уровня (n = 26).

Пример 10. Болезнь Крона

Общие сведения. Ингибирование транслокации белых кровяных клеток (БКК) из кровотока в кишечник представляет собой перспективный новый подход к управлению воспалительным заболеванием кишечника. OPERA была рандомизированным, многоцентровым с двойной анонимностью и контролем по плацебо исследованием безопасности и эффективности мАТ 7.16.6 у пациентов с болезнью Крона (БК).

Способы. Взрослые в возрасте 18-75 лет с активной БК от умеренной и тяжелой (индекс активности БК, англ. Crohn's Disease Activity Index, ИАБК 220-450) и с историей отсутствия результата или непереносимости анти-ФНО и/ или иммунодепрессантов подходили для исследования, если они имели hsCRP > 3,0 мг/ л и язвы при колоноскопии. Пациенты были рандомизированы для групп плацебо, 22,5 мг, 75 мг или 225 мг. Первичной конечной точкой был ответ ИАБК-70 на 8-й или 12-й неделе. Вторичными конечными точками были ремиссия и ответ ИАБК-100 и безопасность. Изучаемыми биомаркерами болезни были уровни $\beta 7^+$ CD4⁺ Т-клеток центральной памяти (частота и экспрессия $\beta 7$) в крови по СКАФ, CRP и растворимому MAdCAM.

Результаты. В исследование были включены 267 пациентов. Хотя ответ ИАБК-70 статистически значимо не отличался между группой плацебо и любой группой лечения, по-видимому, ремиссия была выше среди пациентов с более высоким исходным уровнем CRP (CRP > 18). Медиана CRP на исходном уровне составляла 18 мг/ л во всех группах. Растворимый MAdCAM у леченных, но не у контрольных пациентов, значительно снизился дозозависимым образом на 2-й неделе по сравнению с исходным уровнем и оставался низким в течение исследования. Циркулирующие $\beta 7^+$ CD4⁺ Т-лимфоциты центральной памяти увеличивались дозозависимым образом к 8-й и 12-й неделям у пациентов, получавших PF антитело. Исходные характеристики и субпопуляции результатов эффективности приведены в таблице 14.

Таблица 14: Характеристики пациентов и субпопуляции результатов эффективности на 12-й неделе

Значение	Плацебо	22,5 мг	75 мг	225 мг
N	63	67	64	68
Возраст, года (значение СКО)	34,4 (11,1)	37,0 (13,1)	34,7 (10,6)	35,9 (1,0)
Продолжительность БК в годах (медиана, диапазон)	10,5 (0,8-51,8)	11,5 (1,9-38,1)	8,2 (0-36,5)	12,4 (0-30,5)
Исходный уровень ИАБК (значение СКО)	313 (61)	308 (71)	324 (65)	316 (64)
* Ответ 70, 12-я неделя (стандартная ошибка среднего, СОС)	59 % (9,0 %)	62 % (9,0 %)	65 % (9,0 %)	58 % (8,9 %)
* Ремиссия, 12-я неделя (СОС)	23 % (8,3 %)	27 % (9,1 %)	28 % (9,7 %)	29 % (9,3 %)
# Ремиссия, 12-я неделя, для исходного уровня CRP > 18 (СОС)	14 % (7,6 %)	37 % (11 %)	24 % (9,2 %)	39 % (10,2 %)

* Анализ с использованием обобщённой смешанной линейной модели; # представление в процентных долях для анализа субпопуляций.

мАт 7.16.6 представляется безопасным и хорошо переносимым в этой популяции пациентов. Наиболее частые неблагоприятные события были связаны с основным заболеванием, при этом не было очевидных подтверждающих данных дозового ответа в какой-либо из группе НС.

Выводы. Первичная конечная точка не была удовлетворительной из-за высокого ответа группы плацебо, мАт 7.16.6 было фармакологически активное, что показано путём дозозависимого увеличения циркулирующих $\beta 7+$ Т-лимфоцитов и подтверждено дозозависимым снижением MAdCAM. Пациенты с более высоким исходным уровнем CRP имели наилучший ответ на мАт 7.16.6. В этом исследовании не было очевидных подтверждающих данных, говорящих о проблемах безопасности.

Пример 11. РНКовые биомаркеры для болезни Крона

РНК, полученную из крови пациентов, которые участвовали в исследовании MAdCAM БК, измеряли в образцах, которые были отобраны до лечения, а также через 12 недель во время периода лечения с применением дозировок, с использованием технологической платформы Illumina RNA-seq, которая состоит из библиотеки мРНК последовательностей поколения TruSeq mRNA stranded, с последующим анализом этой библиотеки с использованием секвенатора Illumina HiSeq серии 2000 или 4000. В крови была измерена экспрессия транскриптов на исходном уровне и на 12-й неделе в общей сложности для 91 пациента.

Многие транскрипты демонстрируют различный уровень экспрессии генов на 12-й неделе во время периода лечения с помощью анти-MAdCAM с применением дозировок по сравнению с начальными значениями экспрессии генов на исходном уровне. Транскрипты с 200 наиболее статистически значимыми изменениями между исходным уровнем и 12-й неделей после анти-MAdCAM лечения при разных уровнях дозы суммированы в таблице 16. Показана средняя кратность изменения (СрКИ) для каждой величины дозы, за которыми следует значимость изменений среди доз лечения (РзнЛ). В первых двух столбцах показаны ID генов согласно Ensemble и комитета по номенклатуре генов HUGO (HGNC), соответственно.

Таблица 16

ID гена	ID гена согласно HUGO	Ср КИплац	Ср КИ 22,5 мг	Ср КИ 75 мг	Ср КИ 225 мг	РзнЛ
ENSG00000173585	CCR9	1,03	2,78	2,8	3,72	1,09E-06
ENSG00000122882	ECD	1,01	1,15	1,17	1,26	0,000246618
ENSG00000228061	Z83001	0,89	0,76	1,03	2,21	0,000486282
ENSG00000211793	TRAV9-2	0,96	1,23	1,25	1,54	0,000523789
ENSG00000096070	BRPF3	0,94	1,11	1,09	1,12	0,000685442
ENSG00000241484	ARHGAP8	1,07	0,71	2,33	0,94	0,000696011

ENSG00000199933	Y_RNA	1,2	0,4	1,11	0,99	0,000756798
ENSG00000237361	RP11-269C23	1,36	0,4	1,52	0,81	0,000774542
ENSG00000116212	LRRC42	0,94	1,02	1,1	1,06	0,000859972
ENSG00000042980	ADAM28	0,99	1,49	1,18	1,32	0,001007256
ENSG00000013288	MAN2B2	0,95	1,08	1,08	1,06	0,001067193
ENSG00000152894	PTPRK	0,89	1,58	1,64	1,67	0,001260717
ENSG00000135318	NT5E	0,95	1,48	1,36	1,46	0,001263122
ENSG00000258742	RP11-862G15	0,73	1,54	2,14	1,5	0,001420644
ENSG00000173114	LRRN3	0,99	1,47	1,65	1,96	0,001531031
ENSG00000199032	MIR425	0,79	1,7	1,99	1,27	0,001780671
ENSG00000211717	TRBV10-1	0,64	1,66	1,15	1,79	0,001916056
ENSG00000225760	RP11-365P13	0,75	1,32	1,52	2,12	0,001961883
ENSG00000237990	CNTN4-AS1	0,43	1,97	0,78	1,28	0,002022301
ENSG00000272379	RP1-257A7	0,85	1,19	1,04	1,15	0,002148923
ENSG00000253293	HOXA10	1,24	0,57	1,78	1,74	0,002166659
ENSG00000235304	RP11-265P11	0,85	3,08	0,99	1,6	0,00222768
ENSG00000022556	nlrp2	0,85	1,1	1,19	1,2	0,002261611
ENSG00000198668	CALM1	1,01	1,07	1,08	1,17	0,002273075
ENSG00000270457	RP11-467C18	0,77	0,73	1,78	1,04	0,002373273
ENSG00000066405	CLDN18	1,29	1,14	0,64	0,41	0,002517879
ENSG00000261186	RP11-341N2	0,62	1,52	1,52	1,68	0,002548039
ENSG00000127152	BCL11B	1,04	1,27	1,43	1,55	0,002616038
ENSG00000070404	FSTL3	1,22	0,86	0,9	0,91	0,002644189
ENSG00000159423	ALDH4A1	1,23	0,98	1,11	0,99	0,002683581
ENSG00000140092	FBLN5	0,96	1,37	1,15	1,51	0,002690708
ENSG00000229776	C4B-AS1	0,67	0,95	1,99	1,05	0,002797063
ENSG00000271954	RP11-427H3	1,01	1,14	1,21	1,27	0,002805773
ENSG00000169436	COL22A1	0,99	1,16	0,46	1,73	0,002848158
ENSG00000151623	NR3C2	1,06	1,38	1,45	1,61	0,002849267
ENSG00000174791	RIN1	1,28	0,92	0,95	1,04	0,002881754
ENSG00000186265	BTLA	0,89	1,37	1,3	1,41	0,003047031
ENSG00000177459	C8orf47	0,7	1,81	1,79	2,06	0,003056796
ENSG00000187416	LHFPL3	0,95	0,7	2,15	1,26	0,003155561
ENSG00000101892	ATP1B4	0,84	0,81	0,96	1,86	0,003204539
ENSG00000138617	PARP16	0,93	1,1	1,07	1,11	0,003212319
ENSG00000261211	RP1-80N2	1,1	0,56	0,62	0,88	0,003213729
ENSG00000019995	ZRANB1	0,93	1,04	1,24	1,09	0,003471657
ENSG00000227215	RP11-445L13_B	0,83	0,72	1,19	1,83	0,003762178
ENSG00000099204	ABLIM1	0,99	1,23	1,33	1,44	0,003812623
ENSG00000242861	RP11-285F7	0,92	1,2	1,18	1,27	0,00385391
ENSG00000211879	TRAJ10	0,9	1,22	1,15	1,55	0,004114539
ENSG00000269018	AP001362	1,12	0,88	0,98	0,93	0,004126107
ENSG00000177425	PAWR	0,8	1,55	1,49	1,52	0,004267517
ENSG00000207585	MIR181D	0,97	0,88	1,18	2,14	0,004293059
ENSG00000139514	SLC7A1	1,12	1,23	1,51	1,4	0,004341246

ENSG00000072134	EPN2	0,95	1,28	1,16	1,29	0,004347329
ENSG00000186469	GNG2	0,95	1,04	1,15	1,12	0,004518505
ENSG00000261087	KB-1460A1	0,97	1,29	1,11	1,36	0,004556475
ENSG00000128833	MYO5C	0,69	1,41	1,5	1,36	0,004857374
ENSG00000140743	CDR2	1,02	1,25	1,33	1,43	0,004860557
ENSG00000214797	RP11-1036E20	0,73	1,78	0,91	1,83	0,004897444
ENSG00000130950	NUTM2F	1,18	0,99	2,26	0,78	0,004936165
ENSG00000143554	SLC27A3	1,19	0,95	1	1,02	0,004956338
ENSG00000178055	PRSS42	1,76	0,99	0,78	1,93	0,005050187
ENSG00000088035	ALG6	0,98	1,23	1,11	1,21	0,005140574
ENSG00000163751	CPA3	0,8	0,89	1,24	1,72	0,005162833
ENSG00000069188	SDK2	0,96	1,72	1,25	1,42	0,005304357
ENSG00000107771	CCSER2	0,99	1,15	1,18	1,33	0,005436005
ENSG00000153902	LGI4	1,26	0,59	1,48	1,77	0,005443687
ENSG00000258096	RP11-474P2	0,97	0,55	0,63	1,1	0,00548777
ENSG00000204632	HLA-G	1,09	0,86	0,96	0,95	0,005641668
ENSG00000265263	RP11-135L13	0,92	1,29	1,18	1,27	0,00567792
ENSG00000104472	CHRA1	1	1,1	1,03	1,18	0,005716345
ENSG00000185339	TCN2	1,25	0,81	0,98	0,94	0,005884412
ENSG00000163082	SGPP2	0,71	1,29	1,09	1,43	0,005962901
ENSG00000249459	ZNF286B	0,86	1,45	1,5	1,7	0,006009146
ENSG00000104918	RETN	1,15	0,74	0,84	0,68	0,006052469
ENSG00000259363	CTD-2054N24	0,9	1,96	1,02	1,56	0,006136195
ENSG00000115998	C2orf42	1,01	1,13	1,07	1,23	0,006174157
ENSG00000227042	RP6-1O2	1,19	0,77	2,13	1,09	0,006216609
ENSG00000268205	CTC-444N24	1,02	1,16	1,32	1,32	0,006365583
ENSG00000270674	RP11-216F19	0,75	1,35	1,34	1,4	0,006366766
ENSG00000130489	SCO2	1,19	0,86	0,91	0,96	0,006414512
ENSG00000143457	GOLPH3L	0,97	1,21	1,09	1,2	0,006589479
ENSG00000184307	ZDHHC23	0,85	1,37	1,12	1,41	0,0065945
ENSG00000251606	CTD-2215E18	0,82	1,58	1,37	1,52	0,006612818
ENSG00000225407	CTD-2384B11	0,99	0,66	1,48	1,66	0,006715329
ENSG00000164543	STK17A	0,94	1,06	1,1	1,1	0,006754285
ENSG00000213853	erp2	1,81	1,15	0,56	0,89	0,006767302
ENSG00000145687	SSBP2	1,04	1,16	0,98	1,26	0,00694826
ENSG00000052126	PLEKHA5	0,93	1,2	1,41	1,34	0,007069869
ENSG00000182511	FES	1,03	0,9	0,92	0,85	0,007179669
ENSG00000154479	CCDC173	1,84	0,9	2,97	1,57	0,007230053
ENSG00000155093	PTPRN2	0,82	1,1	0,9	0,92	0,007338188
ENSG00000149308	NPAT	1,02	1,29	1,27	1,42	0,007393232
ENSG00000162129	ClpB	1,2	1,02	1,14	1	0,00742556
ENSG00000133639	BTG1	0,96	1,1	0,99	1,12	0,007454085
ENSG00000137502	RAB30	1,01	1,22	1,29	1,51	0,007471691
ENSG00000271783	RP11-533E19	1,07	0,91	0,89	0,95	0,00751623
ENSG00000230928	RP11-34A14	0,69	0,66	0,84	1,7	0,007516599

ENSG00000105472	CLEC11A	1,25	0,8	1,07	1,06	0,007564351
ENSG00000154511	FAM69A	1,01	1,25	1,17	1,44	0,007640476
ENSG00000196323	ZBTB44	1,01	1,04	1,21	1,14	0,007807758
ENSG00000211880	TRAJ9	0,85	1,43	1,27	1,57	0,008095052
ENSG00000214105	CTD-2116F7	0,82	0,81	0,81	2,09	0,0081448
ENSG00000179348	GATA2	0,87	0,98	1,29	1,75	0,008166472
ENSG00000242611	AC093627	1,58	0,49	0,72	1,18	0,008176059
ENSG00000231748	RP11-227H15	0,82	1,62	0,97	1,75	0,008202576
ENSG00000202314	SNORD6	0,69	1,14	0,97	1,58	0,008220147
ENSG00000151136	BTBD11	1,02	1,17	1,29	1,3	0,008257908
ENSG00000242444	RP11-320N7	1,35	0,65	1,25	0,73	0,008328594
ENSG00000176928	GCNT4	0,73	1,47	1,41	1,83	0,008453853
ENSG00000252071	snoU13	1,17	0,9	2,53	1,68	0,008528728
ENSG00000110719	TCIRG1	1,05	0,91	0,97	0,9	0,008571047
ENSG00000254287	RP11-44K6	1,21	1,52	0,62	2,01	0,008794321
ENSG00000180771	SRSF8	1,04	1,15	1,29	1,34	0,008816577
ENSG00000085788	DDHD2	1,02	1,22	1,31	1,43	0,008825236
ENSG00000073146	MOV10L1	1,75	0,69	1,05	0,68	0,00893606
ENSG00000170989	S1PR1	0,99	1,22	1,3	1,45	0,009048333
ENSG00000198919	DZIP3	1,11	1,41	1,36	1,58	0,009078348
ENSG00000148468	FAM171A1	0,97	1,43	1,34	1,5	0,009100937
ENSG00000268950	AC114494	1,15	1,04	1,03	0,62	0,009334148
ENSG00000181029	TRAPPC5	1,07	0,72	1,01	0,77	0,009362384
ENSG00000253773	KB-1047C11	1,48	0,53	1,47	1,22	0,009369507
ENSG00000132388	UBE2G1	0,99	1,06	1,07	1,13	0,00937239
ENSG00000247796	CTD-2366F13	0,71	1,61	1,33	1,38	0,009405218
ENSG00000125826	RBCK1	1,03	0,91	0,92	0,91	0,009480962
ENSG00000133816	MICAL2	0,94	1,07	1,24	0,99	0,009674292
ENSG00000112782	CLIC5	0,87	1,82	1,44	1,39	0,009736685
ENSG00000211788	TRAV13-1	0,97	1,13	1,32	1,47	0,009896104
ENSG00000142910	TINAGL1	1,14	0,62	0,6	1,5	0,009900654
ENSG00000114120	SLC25A36	1,02	1,28	1,25	1,45	0,009933956
ENSG00000169228	RAB24	1,04	0,87	0,87	0,88	0,009950867
ENSG00000237505	RP11-76N22	1	0,75	1,8	0,54	0,009970281
ENSG00000132704	FCRL2	0,87	1,34	1,21	1,26	0,009982893
ENSG00000260093	RP11-1E4	1,55	1,15	0,85	0,71	0,009990035
ENSG00000030582	GRN	1,1	0,85	0,97	0,9	0,0099985
ENSG00000238121	LINC00426	0,96	1,25	1,2	1,4	0,010001848
ENSG00000105270	clip3	0,69	1,43	1,34	1,13	0,010011938
ENSG00000198954	KIAA1279	1,04	1,23	1,2	1,36	0,010042834
ENSG00000235488	JARID2-AS1	1,06	1,45	1,76	0,85	0,010088905
ENSG00000158079	PTPDC1	0,83	1,61	1,15	1,43	0,010189169
ENSG00000198963	RORB	1,65	0,65	1,04	2,09	0,010227448
ENSG00000030419	IKZF2	1,05	1,25	1,34	1,7	0,010258183
ENSG00000068354	TBC1D25	0,96	1,04	1,11	1,01	0,010284888

ENSG00000211797	TRAV17	1,02	1,08	1,27	1,49	0,01029392
ENSG00000197111	PCBP2	0,97	1,03	1,09	1,03	0,01029625
ENSG00000112182	BACH2	1	1,28	1,27	1,56	0,010410668
ENSG00000006432	MAP3K9	0,77	1,4	1,36	1,41	0,010424898
ENSG00000203364	RP11-370F5	0,85	0,77	1,25	1,61	0,010456719
ENSG00000233225	AC004987	1	1	1,59	0,99	0,010486902
ENSG00000100979	PLTP	1,18	0,97	0,95	0,95	0,010538665
ENSG00000012983	MAP4K5	1,07	1,17	1,34	1,37	0,010567962
ENSG00000125868	DSTN	1	1,1	1,12	1,23	0,010582106
ENSG00000205502	C2CD4B	0,66	1,05	0,85	0,32	0,010612365
ENSG00000269290	RP11-869B15	0,91	1,36	1,13	1,25	0,010657968
ENSG00000134709	HOOK1	0,98	1,4	1,54	1,63	0,010785391
ENSG00000158715	SLC45A3	0,91	1,12	1,2	1,53	0,010938046
ENSG00000239305	RNF103	0,97	1,15	1,08	1,16	0,011105681
ENSG00000006210	CX3CL1	1,49	0,78	0,78	0,76	0,011150528
ENSG00000155016	CYP2U1	0,99	1,33	1,16	1,38	0,011171069
ENSG00000153064	BANK1	1,06	1,41	1,31	1,51	0,01121044
ENSG00000173208	ABCD2	0,98	1,29	1,43	1,61	0,011362037
ENSG00000235652	RP11-545I5	1,01	1,3	1,26	1,45	0,011369509
ENSG00000155719	OTOA	1,17	0,55	1,65	1,11	0,011426115
ENSG00000172575	RASGRP1	1,03	1,33	1,38	1,53	0,0114595
ENSG00000101134	DOK5	0,77	1,69	1,45	0,84	0,01146101
ENSG00000169762	TAPT1	0,97	1,15	1,1	1,2	0,011533654
ENSG00000025800	KPNA6	0,99	1,07	1,11	1,13	0,011638238
ENSG00000164466	SFXN1	0,93	1,16	1,13	1,28	0,011641835
ENSG00000166707	ZCCHC18	0,66	1,74	0,93	1,31	0,011648599
ENSG00000156515	HK1	1,06	0,99	1,18	1,01	0,011657858
ENSG00000136504	KAT7	1,02	1,08	1,1	1,18	0,011689978
ENSG00000140009	ESR2	0,92	1,22	1,11	1,28	0,011693601
ENSG00000232274	RP11-782C8	0,89	2,84	0,97	1,04	0,011738618
ENSG00000268313	AC119673	1,1	1,15	1,3	1,39	0,011855655
ENSG00000082014	SMARCD3	1,02	0,82	0,87	0,78	0,0120148
ENSG00000203401	AC009061	0,91	1,38	0,43	0,66	0,012041957
ENSG00000174469	CNTNAP2	0,69	1,23	1,59	1,48	0,012122994
ENSG00000171298	GAA	1,1	0,92	1,08	0,94	0,012274983
ENSG00000168646	Axin2	0,97	1,37	1,38	1,47	0,012358987
ENSG00000119414	PPP6C	0,99	1,02	1,04	1,08	0,012395358
ENSG00000173918	C1QTNF1	0,49	0,82	0,92	1,47	0,012444802
ENSG00000106537	TSPAN13	0,95	1,29	1,09	1,32	0,012574375
ENSG00000086189	DIMT1	1,01	1,18	1,17	1,33	0,012589631
ENSG00000171914	TLN2	1,21	1,03	1,47	0,86	0,012608958
ENSG00000079691	LRRC16A	1,02	1,38	1,27	1,4	0,012651996
ENSG00000104660	LEPROTL1	0,99	1,15	1,06	1,22	0,012660081
ENSG00000134954	ETS1	1,09	1,22	1,36	1,61	0,012713575
ENSG00000250548	RP11-47I22	1,38	1,1	0,84	1,02	0,012727916

ENSG00000076984	MAP2K7	1	1,03	1,11	1,01	0,012759171
ENSG00000188818	ZDHHC11	1,09	1,32	0,69	1,24	0,012770316
ENSG00000129270	MMP28	0,7	1,44	1	1,67	0,012863978
ENSG00000100065	CARD10	0,8	1,72	1,36	2,44	0,012893298
ENSG00000158195	WASF2	0,98	1,03	1,1	1,01	0,012909471
ENSG00000233125	ACTBP12	0,81	1,61	0,99	1,67	0,013056053
ENSG00000119508	NR4A3	0,76	0,65	1,1	1,93	0,013057846
ENSG00000186591	UBE2H	0,94	1,01	1,08	1,01	0,013131542
ENSG00000200227	RNA5SP197	1,11	0,51	1,24	1,25	0,013222414
ENSG00000103343	ZNF174	1,01	1,08	1,05	1,18	0,013301434
ENSG00000259728	LINC00933	1,61	0,55	1,61	1,34	0,013323112
ENSG00000122741	DCAF10	0,94	1	1,1	1,06	0,013326578
ENSG00000185736	ADARB2	0,48	1,38	1,5	0,92	0,013331051
ENSG00000113263	ITK	1,02	1,27	1,29	1,51	0,013341612

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

(дополнительно откорректированная от 03.03.2021 г.)

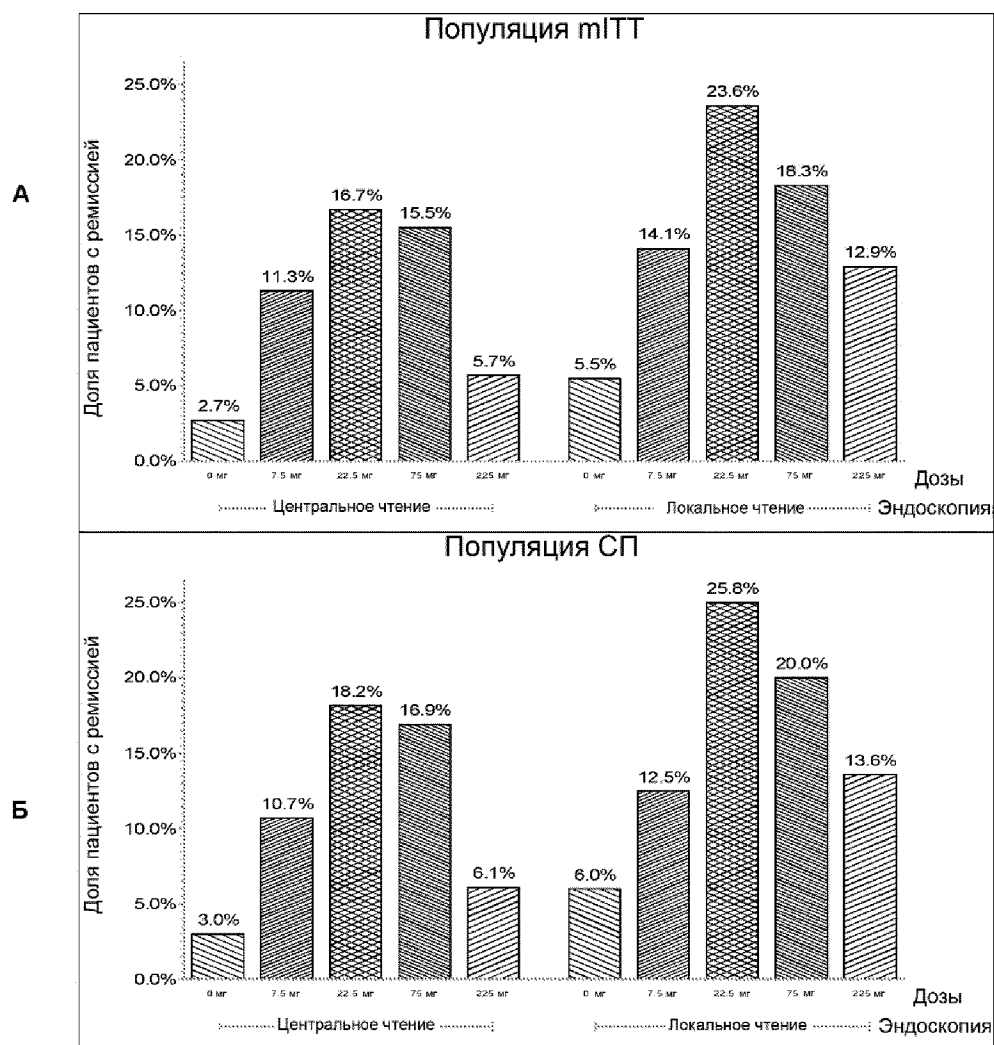
1. Способ лечения язвенного колита у пациента, включающий подкожное введение указанному пациенту начальной дозы, составляющей 22,5 мг или 75 мг антитела-антагониста MAdCAM, содержащего легкую цепь, которая имеет по меньшей мере приблизительно 80% идентичности с SEQ ID NO: 1, и тяжелую цепь, которая имеет по меньшей мере приблизительно 80% идентичности с SEQ ID NO: 2, однократно каждые 4 недели в течение по меньшей мере 12 недель для достижения доли пациентов с клинической ремиссией по меньшей мере 10% по сравнению с исходным уровнем.
2. Способ по п.1, отличающийся тем, что последующую дозу вводят в количестве, которое примерно равно или меньше указанной начальной дозы, причем указанную последующую дозу вводят в пределах от приблизительно 1 недели до приблизительно 12 недель после введения начальной дозы.
3. Способ по п. 1 или 2, включающий введение указанному пациенту начальной дозы и одной или более последующих доз, составляющих 22,5 или 75 мг антитела-антагониста MAdCAM.
4. Способ по любому из пп. 2-3, отличающийся тем, что последующую дозу вводят приблизительно через 4 недели после начальной дозы.
5. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что долю пациентов с клинической ремиссией определяют с применением шкалы MAYO.
6. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что указанный пациент не принимает антагонист ФНО или ингибитор ФНО.
7. Способ по п.1, отличающийся тем, что долю пациентов с клинической ремиссией определяют с применением шкалы SCCAI.

8. Способ по любому из пп. 1-7, отличающийся тем, что антитело-антагонист MAdCAM, содержащее CDR1 легкой цепи SEQ ID NO: 11; CDR2 легкой цепи SEQ ID NO: 12; и CDR3 легкой цепи SEQ ID NO: 13; и

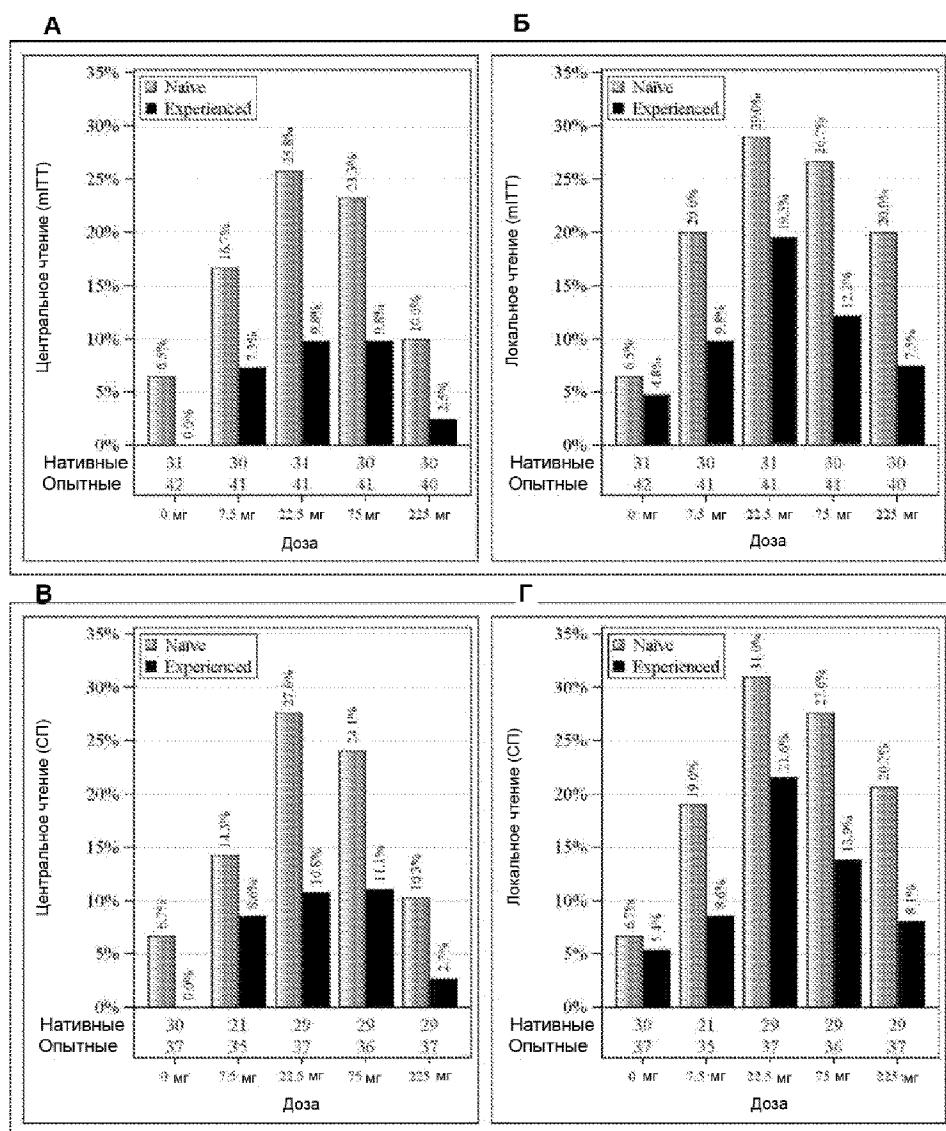
CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 14; CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 15; и CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 16, вводят однократно каждые 4 недели в течение по меньшей мере 12 недель для достижения доли пациентов с клинической ремиссией по меньшей мере приблизительно 10% по сравнению с исходным уровнем.

9. Способ по п. 8, отличающийся тем, что долю пациентов с клинической ремиссией определяют с применением шкалы MAYO.

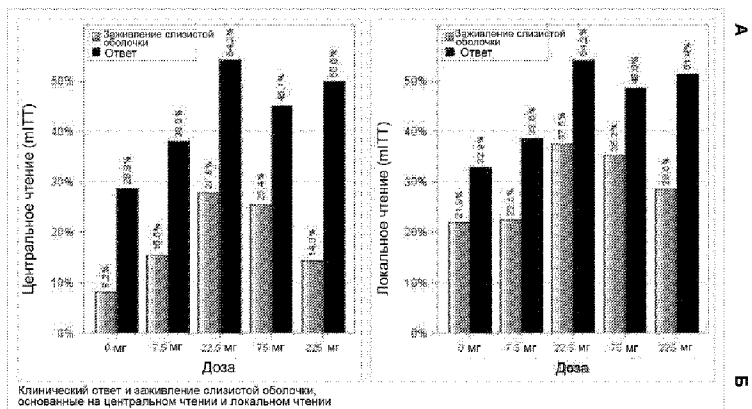
10. Способ по п.8, отличающийся тем, что долю пациентов с клинической ремиссией определяют с применением шкалы SCCAI.



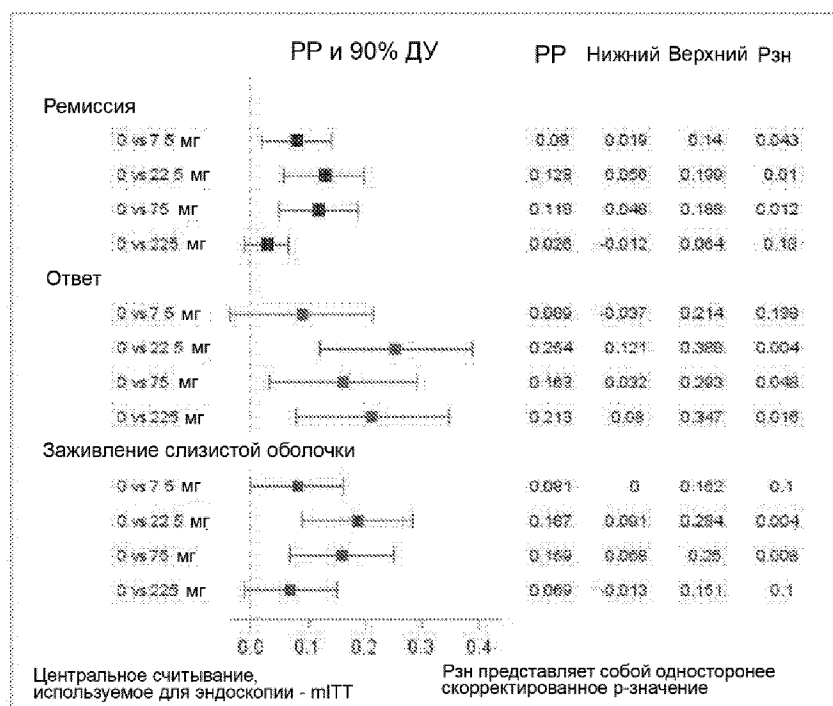
Фигура 1



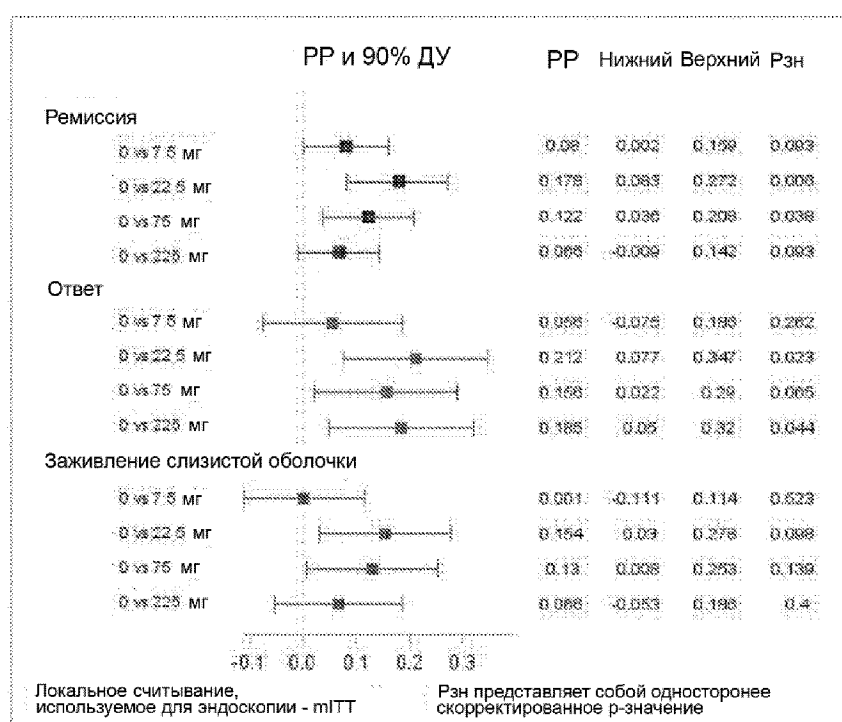
Фигура 2



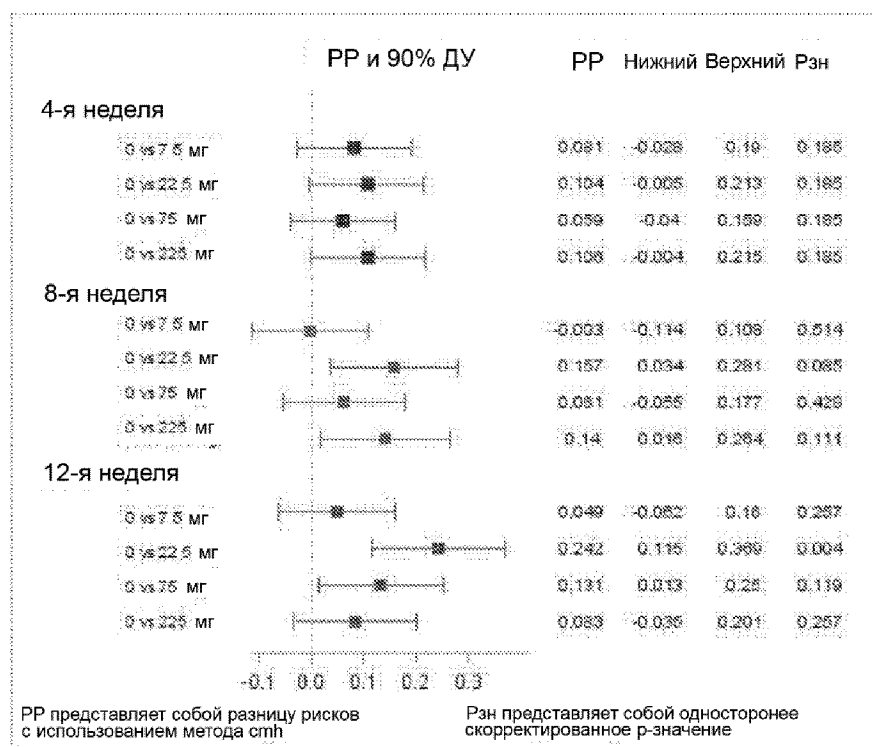
Фигура 3



Фигура 4



Фигура 5

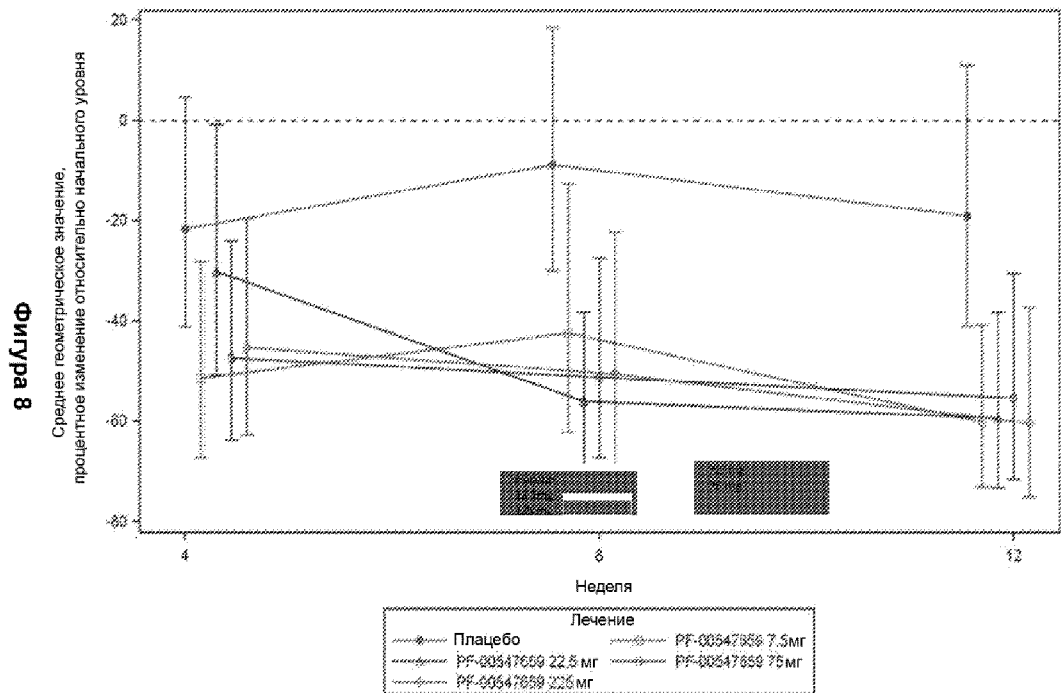


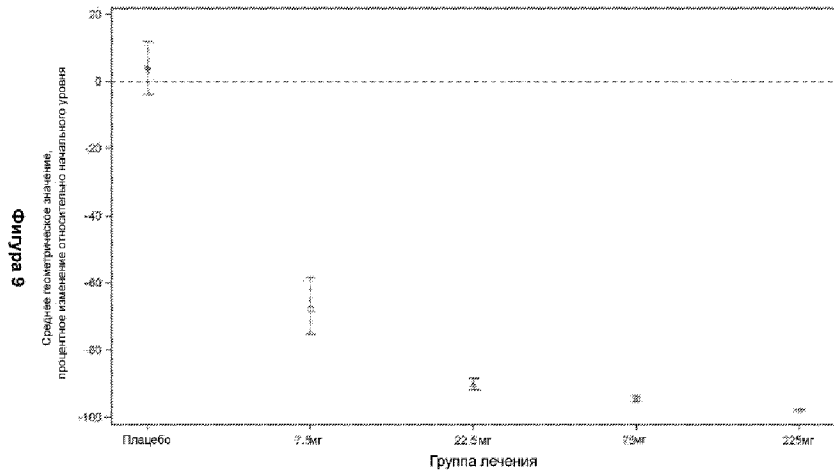
Фигура 6

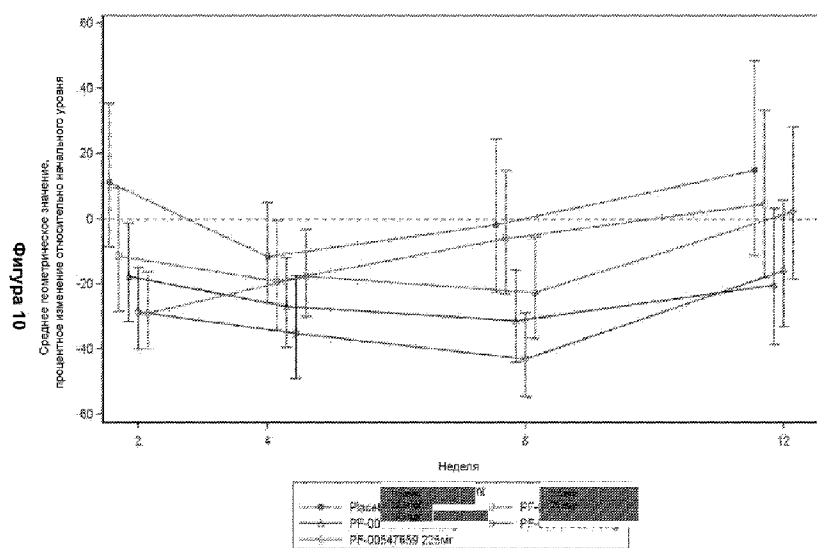
7/17



Фигура 7

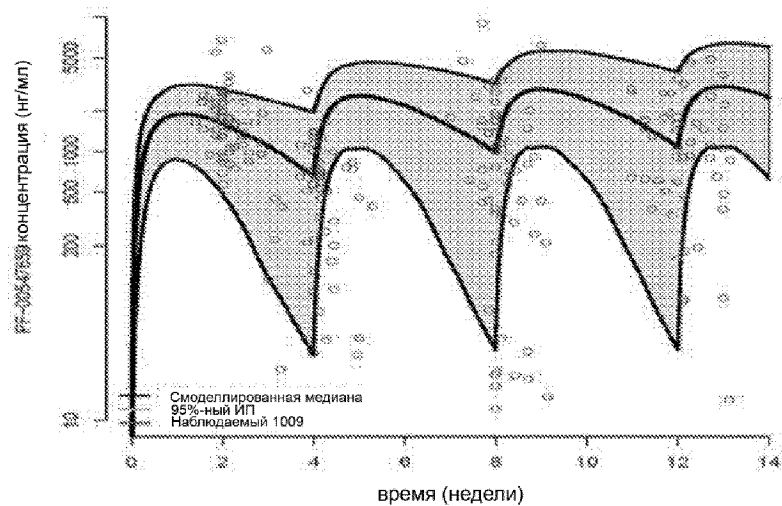






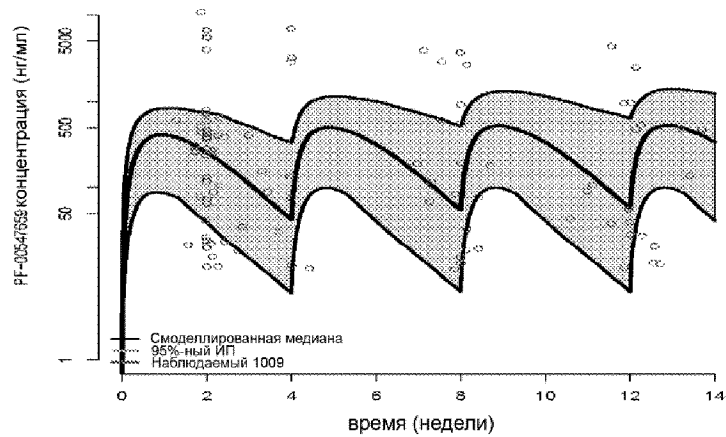
11/17

22,5 мг ПК каждые 4 недели



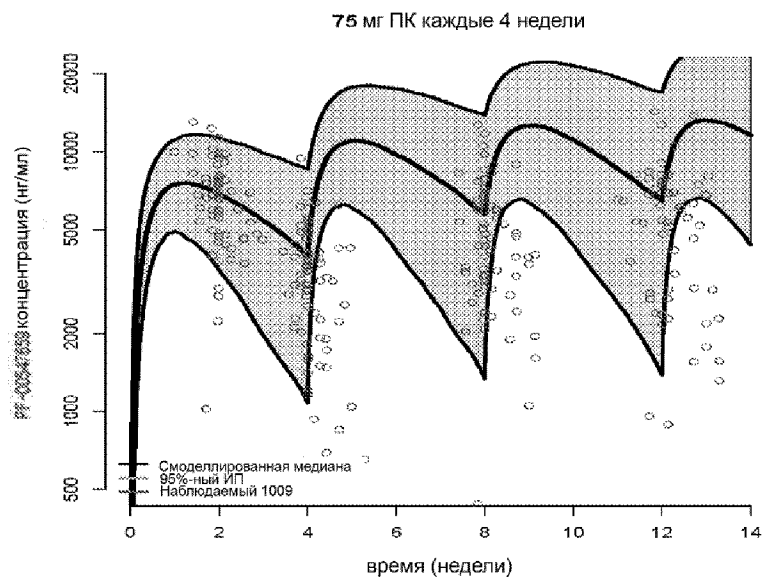
Фигура 11А

7,5 мг ПК каждые 4 недели

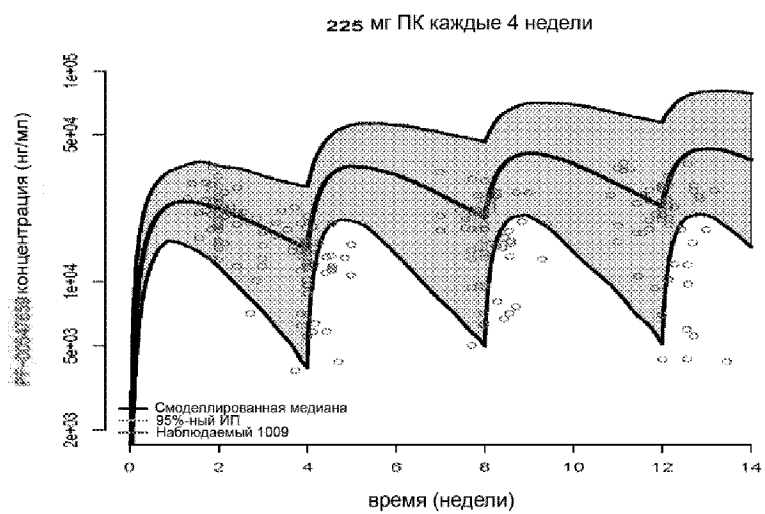


Фигура 11Б

12/17

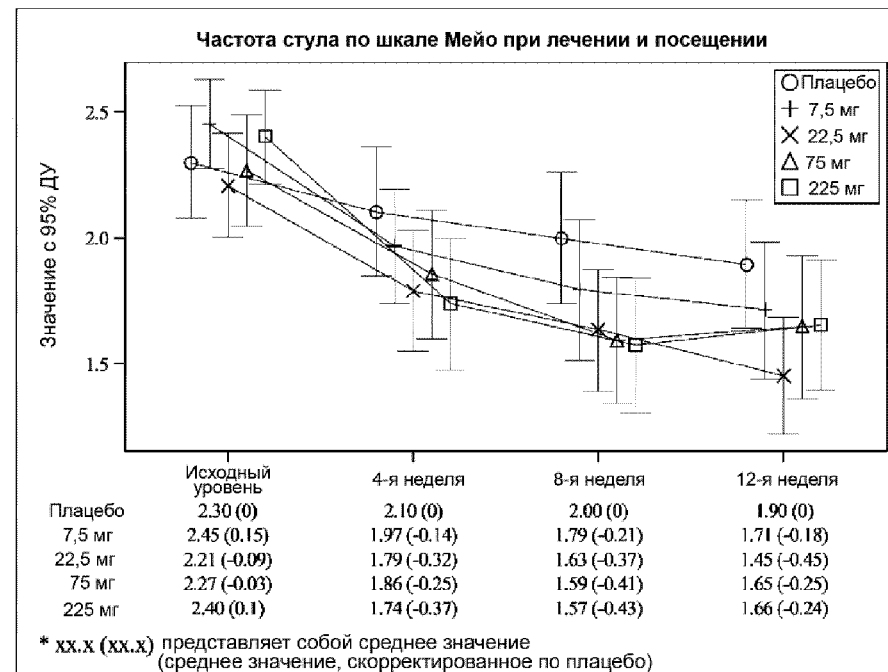


Фигура 11В

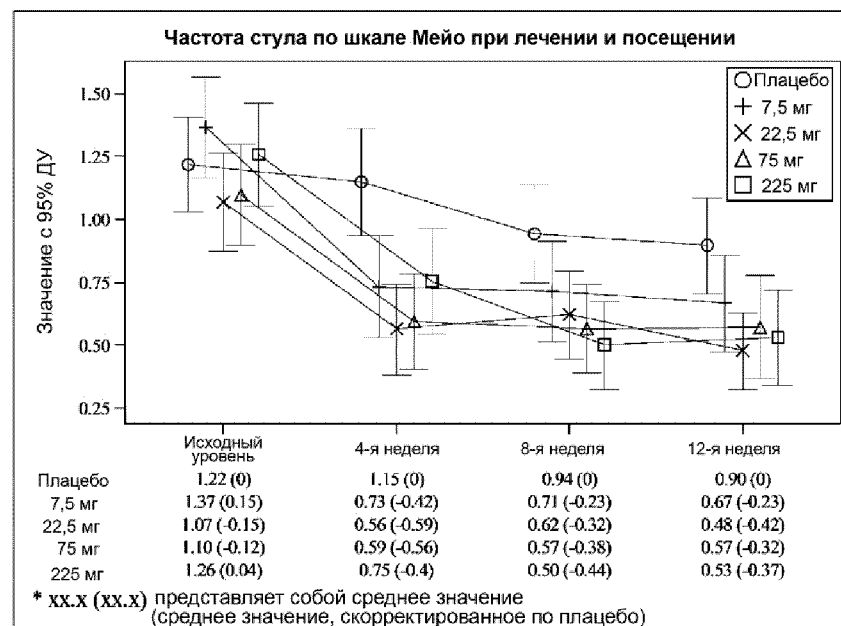


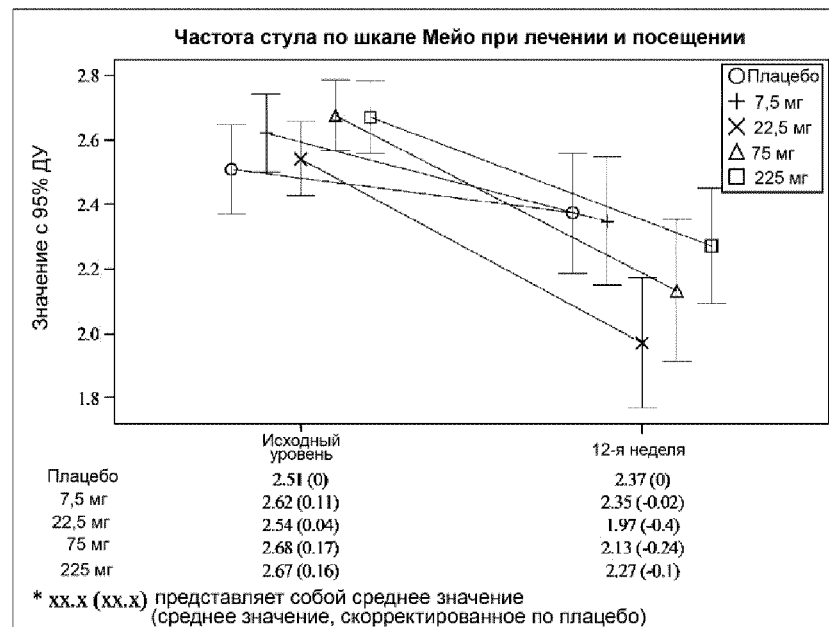
Фигура 11Г

Фигура 12



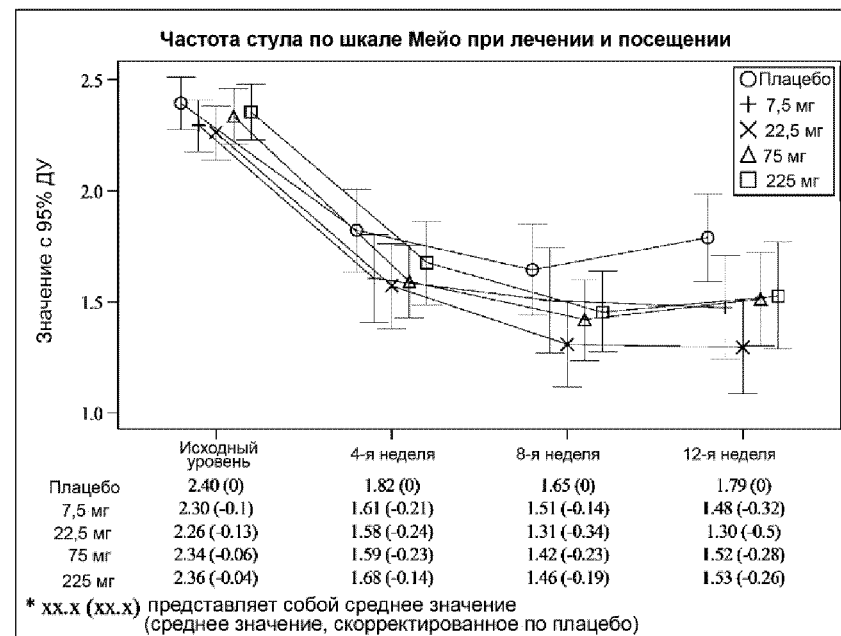
Фигура 13



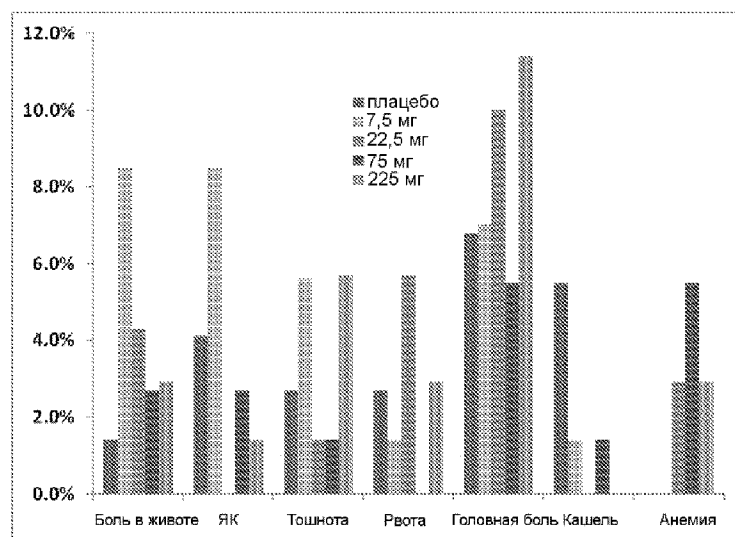


Фигура 14

Фигура 15



17/17



Фигура 16

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ
(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

202092853

А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

A61K39/395 (2006.01)

A61P1/00 (2006.01)

C07K16/28 (2006.01)

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)

A61K39/395; A61P1/00; C07K16/28

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)
EAPATIS, Espacenet, Patenscope, USPTO, NCBI, J-PlatPat, K-PION, KIPRIS, SIPO, elibrary.ru, Embase, Reaxys, PubMed, Google, Яндекс

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
Y	HA C. et al. «Vedolizumab as a Treatment for Crohn's Disease and Ulcerative Colitis» GAS-TROENTEROL HEPATOL (N Y). 2014; v.10, №12, p.793-800. PMID: 27524947 PMCID: PMC4980813 Раздел «реферат», «ведолизумаб», «клиническое применение»	1-10
Y	US 6551593 B1 (MILLENNIUM PHARM INC.), 2003-04-22 Реферат, описание колонка 1-9, формула 1-22	1-10
Y	WO 2004081049 A1 (AUCKLAND UNISERVICIS LTD et al.), 2004-09-23 Реферат, описание стр.3-7, 19-23, формула п.п.1-31	1-10
Y	US 2009238820 A1 (ALLAN COREY M et al.), 2009-09-24 Реферат, описание [0006]-[0014], [0081], [0109]- [0137], [0186]- [0191], [0220] формула 1-24	1-10

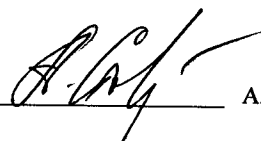
☒ последующие документы указаны в продолжении

* Особые категории ссылочных документов:
«А» - документ, определяющий общий уровень техники
«D» - документ, приведенный в евразийской заявке
«Е» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее
«О» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.
"P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения
«Х» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности
«У» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории
«&» - документ, являющийся патентом-аналогом
«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: **16/08/2021**

Уполномоченное лицо:
Заместитель начальника Управления экспертизы
Начальник отдела химии и медицины



А.В. Чебан