

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202092964 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.03.30

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.06.17

(54) КОМБИНАЦИЯ ИНГИБИТОРОВ LIF И АНТИНЕОПЛАСТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ПЛАТИНЫ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЕЧЕНИИ РАКА

(31) 18382432.5

(32) 2018.06.18

(33) EP

(86) PCT/IB2019/000812

(87) WO 2019/243900 2019.12.26

(88) 2020.03.05

(71) Заявитель:

МЕДИММУН ЛИМИТЕД
(GB); ФУНДАСИО ПРИВАДА
ИНСТИТУТ Д'ИНВЕСТИГАСИО
ОНКОЛЬОХИКА ДЕ ВАЛЬ
ЭБРОН; ФУНДАСИО ПРИВАДА
ИНСТИТУСИО КАТАЛАНА ДЕ
РЕСЕРКА И ЭСТУДИС АВАНКАТС
(ES)

(72) Изобретатель:

Сеоане Суарез Жоан, Анидо
Фолгуэйра Джудит (ES), Халлетт
Робин Мэттью (CA), Гиблин Патрисия
Энн, Маграм Жанн, Пандья Наимиш,
Вассерман Роберт, Синклер Ангус
(US)

(74) Представитель:

Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)

(57) В изобретении описаны способы лечения рака с применением комбинаций полипептидов, связывающих лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), и антинеопластических средств на основе платины.

h5D8/комбинация с цисплатином/CT26 SC



A1

202092964

202092964

A1

КОМБИНАЦИЯ ИНГИБИТОРОВ LIF И АНТИНЕОПЛАСТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ПЛАТИНЫ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЕЧЕНИИ РАКА

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет согласно заявке на европейский патент с регистрационным номером 18382432.5, поданной 18 июня 2018 года, содержание которой включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Лейкоз-ингибирующий фактор (LIF) представляет собой цитокин типа интерлейкин-6 (IL-6), который участвует в различных видах биологической активности, включая ингибирование дифференцировки клеток. Человеческий LIF представляет собой полипептид из 202 аминокислот, который оказывает биологические эффекты посредством связывания с рецептором LIF на поверхности клетки (LIFR или CD118), который гетеродимеризуется с gp130. Это приводит к активации сигнальных путей, активирующих рост, таких как путь митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK) и путь янус-активируемой киназы (JAK/STAT). Было продемонстрировано, что высокие уровни экспрессии LIF и высокие уровни LIF в сыворотке крови ассоциированы с плохим прогнозом при многих типах рака.

[0003] Антинеопластические средства на основе платины, также известные как платины, представляют собой координационные комплексы платины, которые оказались полезными для лечения нескольких видов рака. Что касается механизма действия, антинеопластические средства на основе платины вызывают гибель клеток посредством перекрестного связывания ДНК или интеркаляции в ДНК. Это ингибирует репарацию и синтез ДНК в клетках. В конечном итоге эти клеточные процессы нарушаются, что приводит к инициации апоптоза. Обычные антинеопластические средства на основе платины могут включать цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, тетранитрат триплатина, фенантриплатин, пикоплатин, сатраплатин, лобаплатин или гептаплатин.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0004] В данном документе описаны способы лечения или предотвращения рака, опухолей или других новообразований у индивидуума. Способы и композиции включают комбинации LIF-связывающих полипептидов и антинеопластического средства на основе платины. В данных способах можно использовать антитела к LIF, которые оказывают антагонистическое действие на активность LIF или блокируют ее, и антинеопластическое

средство на основе платины. В частности, такие комбинации демонстрируют неожиданный синергизм по сравнению с антителами к LIF или антинеопластическим средством на основе платины в отдельности.

[0005] В одном аспекте данного документа описано применение полипептида, связывающего лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), в комбинации с антинеопластическим средством на основе платины для лечения рака у индивидуума. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины вводят индивидууму в отдельных составах. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины вводят индивидууму в одном и том же составе. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, вводят индивидууму до введения индивидууму антинеопластического средства на основе платины. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины вводят индивидууму до введения индивидууму полипептида, связывающего LIF. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины вводят индивидууму одновременно с введением индивидууму полипептида, связывающего LIF. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, содержит фрагмент вариабельной области иммуноглобулина или константной области тяжелой цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, предусматривает антитело, которое специфически связывается с LIF. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит по меньшей мере одну каркасную область, полученную из каркасной области человеческого антитела. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является гуманизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является деиммунизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой антитело IgG. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) или наноантитело. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-

CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3; (b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5; (c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8; (d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10; (e) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и (f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 41, 42, 44 или 66; и (b) последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 45-48. В определенных вариантах осуществления последовательность VH на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления последовательность VH идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под

любым из SEQ ID NO: 57-60 или 67; и (b) последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 61-64. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с K_D , составляющей менее приблизительно 200 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с K_D , составляющей менее приблизительно 100 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины включает цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, тетранитрат триплатина, фенантриплатин, пикоплатин, сатраплатин или их комбинации. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины представляет собой цисплатин. В определенных вариантах осуществления рак включает распространенную солидную опухоль, глиобластому, рак желудка, рак кожи, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак яичка, рак щитовидной железы, рак головы и шеи, рак печени, рак почки, рак пищевода, рак яичника, рак толстой кишки, рак легкого, лимфому или рак мягких тканей. В определенных вариантах осуществления рак включает немелкоклеточный рак легкого, эпителиальную карциному яичника или аденокарциному поджелудочной железы. В определенных вариантах осуществления рак является рефрактерным к лечению терапевтическим количеством полипептида, связывающего LIF, или антинеопластического средства на основе платины, вводимых в режиме монотерапии.

[0006] В другом аспекте данного документа описано применение антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), в комбинации с антинеопластическим средством на основе платины для лечения рака у индивидуума, где антитело, связывающее LIF, содержит: (a) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3; (b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5; (c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8; (d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность,

представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10; (е) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и (ф) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13.

[0007] В другом аспекте данного документа описан способ лечения индивидуума, страдающего от рака, предусматривающий введение индивидууму, страдающему от рака, эффективного количества: (а) полипептида, связывающего лейкоз-ингибирующий фактор (LIF); и (б) антинеопластического средства на основе платины. В определенных вариантах осуществления способ предусматривает введение эффективного количества полипептида, связывающего LIF, индивидууму, страдающему от рака. В определенных вариантах осуществления способ предусматривает введение эффективного количества антинеопластического средства на основе платины индивидууму, страдающему от рака. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, содержит фрагмент вариабельной области иммуноглобулина или константной области тяжелой цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, предусматривает антитело, которое специфически связывается с LIF. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит по меньшей мере одну каркасную область, полученную из каркасной области человеческого антитела. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является гуманизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является деиммунизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой антитело IgG. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) или наноантитело. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3; (б) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи

иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5; (с) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8; (d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10; (е) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и (f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (а) последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 41, 42, 44 или 66; и (b) последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 45-48. В определенных вариантах осуществления последовательность VH на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления последовательность VH идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (а) последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 57-60 или 67; и последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно

80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 61-64. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с К_D, составляющей менее приблизительно 200 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с К_D, составляющей менее приблизительно 100 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины включает цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, тетранитрат триплатина, фенантриплатин, пикоплатин, сатраплатин или их комбинации. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины представляет собой цисплатин. В определенных вариантах осуществления рак включает распространенную солидную опухоль, глиобластому, рак желудка, рак кожи, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак яичка, рак щитовидной железы, рак головы и шеи, рак печени, рак почки, рак пищевода, рак яичника, рак толстой кишки, рак легкого, лимфому или рак мягких тканей. В определенных вариантах осуществления рак включает немелкоклеточный рак легкого, эпителиальную карциному яичника или аденокарциному поджелудочной железы. В определенных вариантах осуществления рак является рефрактерным к лечению терапевтическим количеством ингибитора полипептида, связывающего LIF. В определенных вариантах осуществления рак является рефрактерным к лечению терапевтическим количеством антинеопластического средства на основе платины. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), и антинеопластическое средство на основе платины вводят по отдельности. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины вводят одновременно. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины вводят в одной композиции.

[0008] В другом аспекте данного документа описан способ лечения индивидуума, страдающего от рака, при этом способ предусматривает введение индивидууму, страдающему от рака, эффективного количества полипептида, связывающего лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), где индивидууму было введено терапевтическое количество антинеопластического средства на основе платины. В определенных вариантах осуществления способ обеспечивает ингибирование роста или метастазирования рака. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, содержит фрагмент вариабельной области иммуноглобулина или константной области тяжелой

цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, предусматривает антитело, которое специфически связывается с LIF. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, содержит по меньшей мере одну каркасную область, полученную из каркасной области человеческого иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является гуманизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является деиммунизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой антитело IgG. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3; (b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5; (c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8; (d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10; (e) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и (f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) последовательность переменной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 41, 42, 44 или 66; и (b)

последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 45-48. В определенных вариантах осуществления последовательность VH на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления последовательность VH идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 57-60 или 67; и (b) последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 61-64. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с K_D , составляющей менее приблизительно 200 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с K_D , составляющей менее приблизительно 100 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины включает цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, тетранитрат триплатина, фенантриплатин, пикоплатин, сатраплатин или их комбинации. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины представляет собой цисплатин. В определенных вариантах осуществления рак включает распространенную солидную опухоль, глиобластому, рак желудка, рак кожи, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак яичка, рак щитовидной железы, рак головы и шеи, рак печени, рак почки, рак пищевода, рак яичника, рак толстой кишки, рак легкого, лимфому или рак мягких тканей. В определенных вариантах осуществления рак включает немелкоклеточный рак легкого, эпителиальную карциному яичника или

аденокарциному поджелудочной железы. В определенных вариантах осуществления рак является рефрактерным к лечению терапевтическим количеством антинеопластического средства на основе платины.

[0009] В другом аспекте данного документа описан способ лечения индивидуума, страдающего от рака, при этом способ предусматривает введение индивидууму, страдающему от рака, эффективного количества антинеопластического средства на основе платины, где индивидууму было введено терапевтическое количество полипептида, связывающего лейкоз-ингибирующий фактор (LIF). В определенных вариантах осуществления способ обеспечивает ингибирование роста или метастазирования рака. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, содержит фрагмент вариабельной области иммуноглобулина или константной области тяжелой цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, предусматривает антитело, которое специфически связывается с LIF. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, содержит по меньшей мере одну каркасную область, полученную из каркасной области человеческого иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является гуманизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является деиммунизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой антитело IgG. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) или наноантитело. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3; (b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5; (c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8; (d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1),

содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10; (е) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и (ф) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (а) последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 41, 42, 44 или 66; и (б) последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 45-48. В определенных вариантах осуществления последовательность VH на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления последовательность VH идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (а) последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 57-60 или 67; и (б) последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 61-64. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с K_D , составляющей менее приблизительно 200 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с K_D ,

составляющей менее приблизительно 100 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины включает цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, тетранитрат триплатина, фенантриплатин, пикоплатин, сатраплатин или их комбинации. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины представляет собой цисплатин. В определенных вариантах осуществления рак включает распространенную солидную опухоль, глиобластому, рак желудка, рак кожи, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак яичка, рак щитовидной железы, рак головы и шеи, рак печени, рак почки, рак пищевода, рак яичника, рак толстой кишки, рак легкого, лимфому или рак мягких тканей. В определенных вариантах осуществления рак включает немелкоклеточный рак легкого, эпителиальную карциному яичника или аденокарциному поджелудочной железы. В определенных вариантах осуществления рак является рефрактерным к лечению терапевтическим количеством ингибитора полипептида, связывающего LIF.

[0010] В другом аспекте данного документа описан способ лечения индивидуума, страдающего от рака, предусматривающий введение индивидууму, страдающему от рака, эффективного количества: (a) антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащего: (i) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3; (ii) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5; (iii) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8; (iv) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10; (v) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и (vi) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13; и (b) антинеопластического средства на основе платины.

[0011] В другом аспекте данного документа описан набор, содержащий: (a) полипептид, связывающий лейкоз-ингибирующий фактор (LIF); и (b) антинеопластическое средство на

основе платины. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, содержит фрагмент варибельной области иммуноглобулина или константной области тяжелой цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, предусматривает антитело, которое специфически связывается с LIF. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, содержит по меньшей мере одну каркасную область, полученную из каркасной области человеческого иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является гуманизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является деиммунизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой антитело IgG. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный варибельный фрагмент (scFv) или наноантитело. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3; (b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5; (c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8; (d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10; (e) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и (f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) последовательность варибельной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере

приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 41, 42, 44 или 66; и (b) последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 45-48. В определенных вариантах осуществления последовательность VH на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления последовательность VH идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 57-60 или 67; и (b) последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 61-64. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с K_D , составляющей менее приблизительно 200 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с K_D , составляющей менее приблизительно 100 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины включает цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, тетранитрат триплатина, фенантриплатин, пикоплатин, сатраплатин или их комбинации. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины представляет собой цисплатин. В определенных вариантах осуществления набор дополнительно содержит фармацевтически приемлемые вспомогательное вещество, носитель или разбавитель.

[0012] В другом аспекте данного документа описана композиция, содержащая: (a) полипептид, связывающий лейкоз-ингибирующий фактор (LIF); и (b)

антинеопластическое средство на основе платины. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, содержит фрагмент вариабельной области иммуноглобулина или константной области тяжелой цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, предусматривает антитело, которое специфически связывается с LIF. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, содержит по меньшей мере одну каркасную область, полученную из каркасной области человеческого иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является гуманизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является деиммунизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой антитело IgG. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) или наноантитело. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3; (b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5; (c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8; (d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10; (e) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и (f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей

мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 41, 42, 44 или 66; и (b) последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 45-48. В определенных вариантах осуществления последовательность VH на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления последовательность VH идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 57-60 или 67; и (b) последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 61-64. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с К_D, составляющей менее приблизительно 200 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с К_D, составляющей менее приблизительно 100 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины включает цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, тетранитрат триплатина, фенантриплатин, пикоплатин, сатраплатин или их комбинации. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины представляет собой цисплатин. В определенных вариантах осуществления композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемые вспомогательное вещество, носитель или разбавитель.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0013] На **фиг. 1** представлены результаты вестерн-блоттинга, демонстрирующие ингибирование LIF-индуцированного фосфорилирования STAT3 различными гуманизированными антителами к LIF.

[0014] На **фиг. 2A и 2B** представлены результаты вестерн-блоттинга, демонстрирующие ингибирование LIF-индуцированного фосфорилирования STAT3 гуманизированным и исходным антителом 5D8.

[0015] На **фиг. 3A** показана IC_{50} для ингибирования LIF в клетках U-251 с использованием антитела h5D8.

[0016] На **фиг. 3B** показаны репрезентативные IC_{50} , определенные по кривой зависимости доза-эффект ингибирования pSTAT3 посредством r5D8 и h5D8 в условиях стимуляции эндогенным LIF. Показаны репрезентативные кривые (n=1 h5D8, n=2 r5D8).

[0017] На **фиг. 4** представлены результаты вестерн-блоттинга, демонстрирующие ингибирование LI-индуцированного фосфорилирования STAT3 различными моноклональными антителами, описанными в данном документе.

[0018] На **фиг. 5** представлены результаты иммуногистохимического окрашивания и количественная оценка экспрессии LIF при мультиформной глиобластоме (GBM), NSCLC (немелкоклеточной карциноме легкого), раке яичника, колоректальном раке и опухолях поджелудочной железы от пациентов-людей. Планки погрешностей представляют собой среднее значение +/- стандартная ошибка среднего значения (SEM).

[0019] На **фиг. 6A** представлен график, показывающий результаты эксперимента, проведенного на мышинной модели немелкоклеточного рака легкого с использованием гуманизированного антитела 5D8.

[0020] На **фиг. 6B** представлен график, показывающий результаты эксперимента, проведенного на мышинной модели немелкоклеточного рака легкого с использованием антитела r5D8.

[0021] На **фиг. 7A** показан эффект r5D8 в отношении ингибирования клеток U251 в ортотопической мышинной модели GBM. Результаты количественной оценки показаны для дня 26.

[0022] На **фиг. 7B** показаны данные по мышам, которых инокулировали человеческими клетками U251 GBM, экспрессирующими люциферазу, а затем обрабатывали с помощью 100, 200 или 300 мкг h5D8 или среды-носителя два раза в неделю. Размер опухоли определяли по биолюминесценции (Xenogen IVIS Spectrum) в день 7. На графике показаны отдельные значения измерения опухолей, при этом горизонтальные черты

показывают среднее значение $\pm$ SEM. Статистическую значимость рассчитывали с использованием непарного непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

[0023] На **фиг. 8А** показан эффект r5D8 в отношении ингибирования роста клеток рака яичника в сингенной мышинной модели.

[0024] На **фиг. 8В** показаны значения измерения отдельных опухолей в день 25.

[0025] На **фиг. 8С** демонстрируется, что h5D8 показывает значительное уменьшение роста опухоли при введении в дозе 200 мкг/мышь два раза в неделю ($p < 0,05$). Символы представляют собой среднее значение $\pm$ SEM, статистическая значимость сравнивается со средой-носителем (посредством непарного непараметрического U-критерия Манна-Уитни).

[0026] На **фиг. 9А** показан эффект r5D8 в отношении ингибирования роста клеток колоректального рака в сингенной мышинной модели.

[0027] На **фиг. 9В** показаны значения измерения отдельных опухолей в день 17.

[0028] На **фиг. 10А** показано уменьшение инфильтрации макрофагами участков локализации опухоли в ортотопической мышинной модели GBM с репрезентативным изображением и количественным определением клеток CCL22+.

[0029] На **фиг. 10В** показано уменьшение инфильтрации макрофагами в человеческой модели органотипической культуры тканевых срезов.

[0030] На **фиг. 10С** показано уменьшение инфильтрации макрофагами участков локализации опухоли в сингенной мышинной модели рака яичника с репрезентативным изображением и количественным определением клеток CCL22+.

[0031] На **фиг. 10D** показано уменьшение инфильтрации макрофагами участков локализации опухоли в сингенной мышинной модели колоректального рака с репрезентативным изображением и количественным определением клеток CCL22+.

[0032] На **фиг. 10Е** показан воспалительный фенотип ассоциированных с опухолью макрофагов (ТАМ), полученных из опухолей, обработанных с использованием h5D8 (15 мг/кг, 2QW), в день 25 (конечная точка). ТАМ в обработанных опухолях поляризованы в направлении провоспалительного фенотипа М1. Статистическую значимость определяли с помощью непарного t-критерия.

[0033] На **фиг. 10F** показаны данные экспрессии генов моноцитов, культивированных в кондиционированной среде клеток с нокдауном по LIF.

[0034] На **фиг. 11А** показано увеличение числа немиелоидных эффекторных клеток в сингенной мышинной модели рака яичника после обработки с использованием r5D8.

[0035] На **фиг. 11В** показано увеличение числа немиелоидных эффекторных клеток в

сингенной мышинной модели колоректального рака после обработки с использованием r5D8.

[0036] На **фиг. 11C** показано снижение процентного содержания CD4⁺ T_{REG}-клеток в мышинной модели рака NSCLC после обработки с использованием r5D8.

[0037] На **фиг. 12** показаны данные по мышам с опухолями CT26, которых два раза в неделю обрабатывали с использованием PBS (контроль) или r5D8, вводимых интраперитонеально в присутствии или в отсутствие истощающих антител к CD4 и CD8. График показывает отдельные значения измерения опухолей в день 13, выраженные в виде среднего объема опухоли + SEM. Статистические различия между группами определяли с использованием непарного непараметрического U-критерия Манна-Уитни. R5D8 ингибировало рост опухолей CT26 (*p<0,05). Ингибирование роста опухоли за счет r5D8 было значительно снижено в присутствии истощающих антител к CD4 и CD8 (****p<0,0001).

[0038] На **фиг. 13A** продемонстрирован обзор сокристаллической структуры h5D8 Fab в комплексе с LIF. Сайт взаимодействия gp130 картирован на поверхности LIF (заштрихован темным).

[0039] На **фиг. 13B** продемонстрированы подробные взаимодействия между LIF и h5D8 и показаны остатки, образующие солевые мостики, и остатки h5D8 со скрытой площадью поверхности более 100 Å².

[0040] На **фиг. 14A** продемонстрирована суперпозиция пяти кристаллических структур h5D8 Fab и указана высокая степень сходства, несмотря на то, что они кристаллизовались в разных химических условиях.

[0041] На **фиг. 14B** продемонстрирована обширная сеть ван-дер-ваальсовых взаимодействий, опосредованных непарным Cys100. Этот остаток высокоупорядочен, участвует в образовании конформаций HCDR1 и HCDR3 и не вовлечен в нежелательную перестановку дисульфидных связей. Расстояния между остатками показаны пунктирными линиями и отмечены.

[0042] На **фиг. 15A** посредством ELISA продемонстрировано связывание мутантов h5D8 C100 с LIF человека.

[0043] На **фиг. 15B** посредством ELISA продемонстрировано связывание мутантов h5D8 C100 с LIF мыши.

[0044] На **фиг. 16A** посредством Octet продемонстрировано, что h5D8 не блокирует связывание между LIF и LIFR. Последовательное связывание h5D8 с LIF с последующим связыванием с LIFR.

[0045] На **фиг. 16B** и **16C** продемонстрирован ELISA-анализ связывания комплексов LIF/mAb с иммобилизованным LIFR или gp130. Сигналы видоспецифических конъюгированных с пероксидазой антител к IgG (к человеческому для (-) и h5D8, к крысиному для r5d8 и B09), обеспечивающих обнаружение антительной части комплексов mAb/LIF, связавшихся с LIFR (**фиг. 16B**) или gp130 (**фиг. 16C**), иммобилизованными на планшетах.

[0046] На **фиг. 17A** и **17B** продемонстрирована экспрессия мРНК LIF (**фиг. 17A**) или LIFR (**фиг. 18B**) в 72 различных тканях человека.

[0047] На **фиг. 18** показаны данные по мышам с подкожно имплантированными опухолями CT26, которых обрабатывали с помощью h5D8 и цисплатина. На данной фигуре показана динамика роста опухоли, определенная по средним значениям объема опухоли для групп носителя, контрольного IgG1, h5D8 в отдельности, цисплатина в отдельности и комбинации h5D8 + цисплатин.

[0048] На **фиг. 19A** и **19B** показаны данные об объеме опухолей по мышам с подкожно имплантированными опухолями CT26, которые были обработаны с помощью h5D8 и доксорубина (**фиг. 19A**) или с помощью h5D8 и паклитаксела (**фиг. 19B**), с течением времени.

[0049] На **фиг. 20** показаны данные по мышам с внутрикожно имплантированными опухолями CT26, которых обрабатывали с помощью h5D8 и цисплатина. На данной фигуре показана динамика роста опухоли, определенная по средним значениям объема опухоли для групп носителя, контрольного IgG1, h5D8 в отдельности, цисплатина в отдельности и комбинации h5D8 + цисплатин.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0050] Если не определено иное, вся техническая терминология, используемая в данном документе, имеет такое же значение, которое обычно понятно специалисту в данной области техники, к которой относится настоящее изобретение. Используемая в настоящем описании и прилагаемой формуле изобретения форма единственного числа предусматривает определяемые объекты и во множественном числе, если из контекста явно не следует иное. Предполагается, что любое упоминание "или" в данном документе охватывает "и/или", если не указано иное.

[0051] В одном аспекте данного документа описано применение полипептида, связывающего лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), в комбинации с антинеопластическим средством на основе платины для лечения рака у индивидуума.

[0052] В другом аспекте данного документа описано применение антитела,

связывающего лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), в комбинации с антинеопластическим средством на основе платины для лечения рака у индивидуума, где антитело, связывающее LIF, содержит: (а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3; (b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5; (с) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8; (d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10; (е) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и (f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13.

[0053] В другом аспекте данного документа описан способ лечения индивидуума, страдающего от рака, предусматривающий введение индивидууму, страдающему от рака, эффективного количества: (а) полипептида, связывающего лейкоз-ингибирующий фактор (LIF); и (b) антинеопластического средства на основе платины.

[0054] В другом аспекте данного документа описан способ лечения индивидуума, страдающего от рака, при этом способ предусматривает введение индивидууму, страдающему от рака, эффективного количества полипептида, связывающего лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), где индивидууму было введено терапевтическое количество антинеопластического средства на основе платины.

[0055] В другом аспекте данного документа описан способ лечения индивидуума, страдающего от рака, при этом способ предусматривает введение индивидууму, страдающему от рака, эффективного количества антинеопластического средства на основе платины, где индивидууму было введено терапевтическое количество полипептида, связывающего лейкоз-ингибирующий фактор (LIF).

[0056] В другом аспекте данного документа описан способ лечения индивидуума, страдающего от рака, предусматривающий введение индивидууму, страдающему от рака, эффективного количества: (а) антитела, которое специфически связывает лейкоз-

ингибирующий фактор (LIF), содержащего: (i) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3; (ii) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5; (iii) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8; (iv) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10; (v) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и (vi) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13; и (b) антинеопластического средства на основе платины.

[0057] В другом аспекте данного документа описан набор, содержащий: (a) полипептид, связывающий лейкоз-ингибирующий фактор (LIF); и (b) антинеопластическое средство на основе платины.

[0058] В другом аспекте данного документа описана композиция, содержащая: (a) полипептид, связывающий лейкоз-ингибирующий фактор (LIF); и (b) антинеопластическое средство на основе платины.

[0059] Используемые в данном документе термины "индивидуум", "субъект" и "пациент" используются взаимозаменяемо и включают людей, у которых диагностированы опухоль, рак или другое новообразование или подозревается их наличие.

[0060] Термины "рак" и "опухоль" относятся к физиологическому состоянию млекопитающих, которое характеризуется нарушением клеточного роста. Рак представляет собой класс заболеваний, при которых группа клеток проявляет неконтролируемый или нежелательный рост. Раковые клетки также могут распространяться в другие места, что может приводить к образованию метастазов. Диссеминация раковых клеток в организме может происходить, например, посредством лимфы или крови. Неконтролируемый рост, инвазию и образование метастазов также называют злокачественными свойствами рака. Эти злокачественные свойства отличают рак от доброкачественных опухолей, которые, как правило, не инвазируют и не

метастазируют.

[0061] Используемый в данном документе термин "эффективное количество" относится к количеству терапевтического средства, которое вызывает биологический эффект при введении млекопитающему. Биологические эффекты включают без ограничения ингибирование или блокирование взаимодействия рецептор-лиганд (например, LIF-LIFR), ингибирование сигнального пути (например, фосфорилирования STAT3), замедление роста опухоли, снижение метастазирования опухоли или продление выживаемости животного, несущего опухоль. "Терапевтическое количество" означает концентрацию лекарства, которая, по расчетам, оказывает терапевтический эффект. Терапевтическое количество охватывает диапазон доз, способных индуцировать терапевтический ответ у популяции индивидуумов. Млекопитающее может быть индивидуумом-человеком. Индивидуум-человек может подозреваться на наличие опухоли или собственно иметь опухоль.

[0062] Используемый в данном документе термин "антитело", если не указано иное, включает антигенсвязывающие фрагменты антител, т.е. фрагменты антител, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном, который связывается с полноразмерным антителом, например фрагменты, которые сохраняют одну или несколько областей CDR. Примеры фрагментов антител включают без ограничения фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv; диатела; линейные антитела; антитела, состоящие только из тяжелых цепей, молекулы одноцепочечных антител, например, одноцепочечные переменные фрагменты (scFv), наноантитела и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител с разными специфичностями, такие как биспецифические антитела. В определенных вариантах осуществления антитела гуманизированы таким образом, чтобы снизить иммунный ответ индивидуума на антитело. Например, антитела могут быть химерными, например отличная от человеческой переменная область с человеческой константной областью, или антителами с привитыми CDR, например отличные от человеческих области CDR с константной областью и последовательностями человеческого каркасного участка переменной области. В определенных вариантах осуществления антитела подвергают деиммунизации после гуманизации. Деиммунизация включает удаление или мутацию одного или нескольких эпитопов Т-клеток в константной области антитела. В определенных вариантах осуществления описанные в данном документе антитела являются моноклональными. Используемый в данном документе термин "рекомбинантное антитело" представляет собой антитело, которое содержит аминокислотную

последовательность, полученную из двух разных видов или двух разных источников, и включает синтетические молекулы, например антитело, которое содержит отличную от человеческой область CDR и человеческую каркасную или константную область. В определенных вариантах осуществления рекомбинантные антитела по настоящему изобретению получают из молекулы рекомбинантной ДНК или синтезируют.

[0063] Процент (%) идентичности последовательностей относительно референтной полипептидной последовательности или последовательности антитела представляет собой процентную долю аминокислотных остатков в последовательности-кандидате, которые идентичны аминокислотным остаткам в референтной полипептидной последовательности или последовательности антитела после выравнивания последовательностей и введения гэпов при необходимости для достижения максимального процента идентичности последовательностей и без учета каких-либо консервативных замен как части идентичности последовательностей. Выравнивание с целью определения процента идентичности аминокислотных последовательностей может быть достигнуто различными известными способами, например с использованием общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Могут быть определены подходящие параметры для выравнивания последовательностей, в том числе алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей. Однако в данном документе значения % идентичности аминокислотных последовательностей получают с использованием компьютерной программы для сравнения последовательностей ALIGN-2. Компьютерная программа для сравнения последовательностей ALIGN-2 была разработана Genentech, Inc., а исходный код был подан вместе с пользовательской документацией в Бюро авторского права США, Вашингтон, округ Колумбия, 20559, где он зарегистрирован под регистрационным номером авторских прав США TXU510087. Программа ALIGN-2 находится в открытом доступе, и ее можно получить от Genentech, Inc., Южный Сан-Франциско, Калифорния, США, или же ее можно скомпилировать из исходного кода. Программа ALIGN-2 должна быть скомпилирована для использования в операционной системе UNIX, включая цифровую версию UNIX V4.0D. Все параметры сравнения последовательностей задаются программой ALIGN-2 и не изменяются.

[0064] В тех случаях, когда для сравнения аминокислотных последовательностей используется ALIGN-2, % идентичности аминокислотной последовательности, свойственный данной аминокислотной последовательности A, в отношении данной

аминокислотной последовательности В, с ней или в сравнении с ней (что в качестве альтернативы можно перефразировать как: данная аминокислотная последовательность А, которая характеризуется или обладает определенным % идентичности аминокислотной последовательности в отношении данной аминокислотной последовательности В, с ней или в сравнении с ней) рассчитывается следующим образом: частное X/Y умножить на 100, где X представляет собой число аминокислотных остатков, учитываемых в качестве идентичных совпадений программой для выравнивания последовательностей ALIGN-2 в выравнивании А и В данной программы, и где Y представляет собой общее число аминокислотных остатков в В. Следует принимать во внимание, что если длина аминокислотной последовательности А не равна длине аминокислотной последовательности В, то % идентичности аминокислотной последовательности А в отношении В не будет равен % идентичности аминокислотной последовательности В в отношении А. Если специально не указано иное, все значения % идентичности аминокислотной последовательности, используемые в данном документе, получены так, как это описано в предыдущем параграфе, с использованием компьютерной программы ALIGN-2.

[0065] Термин "эпитоп" включает любую детерминанту, способную связываться с антигенсвязывающим белком, таким как антитело. Эпитоп представляет собой область антигена, которая связывается антигенсвязывающим белком, который нацелен на этот антиген, и когда антиген представляет собой белок, включает специфические аминокислоты, которые непосредственно контактируют с антигенсвязывающим белком. Чаще всего эпитопы расположены на белках, но в некоторых случаях могут располагаться на других типах молекул, таких как сахараиды или липиды. Эпитопные детерминанты могут включать химически активные поверхностные группировки молекул, такие как аминокислоты, боковые цепи сахаров, фосфорильные или сульфонильные группы, и могут обладать специфическими характеристиками трехмерной структуры и/или специфическими характеристиками заряда. Обычно антитела, специфические к конкретному антигену-мишени, будут предпочтительно распознавать эпитоп на антигене-мишени среди сложного комплекса белков и/или макромолекул.

[0066] Термин "antineoplastическое средство" относится к средствам, способным действовать для предотвращения, ингибирования или остановки развития рака, опухоли или новообразования. Antineoplastические средства могут быть также известны как химиотерапевтические средства. Antineoplastическое средство способно нацеливаться на раковые клетки и уничтожать их. Antineoplastические средства могут включать без

ограничения антиметаболиты, модификаторы биологического ответа, блеомицины, средства, алкилирующие ДНК, средства, перекрестно связывающие ДНК, ферменты, гормоны, моноклональные антитела, комплексы платины, ингибиторы протеасом, таксаны, алкалоиды барвинка, ингибиторы топоизомераз, ингибиторы тирозинкиназ, аналоги нуклеозидов, антифолаты, антрациклины, подофиллотоксины, алкилирующие средства, ингибиторы mTOR, ретиноиды, ингибиторы гистондеацетилаз и иммуномодулирующие средства.

Структурные атрибуты описанных в данном документе антител

[0067] Определяющая комплементарность область ("CDR") является частью варибельной области иммуноглобулина (антитела), которая прежде всего отвечает за специфичность антигенного связывания антитела. Области CDR значительно варьируются в разных антителах, даже если антитела специфически связывают одни и те же мишень или эпитоп. Варибельная область тяжелой цепи содержит три области CDR, сокращенно именуемые VH-CDR1, VH-CDR2 и VH-CDR3; и варибельная область легкой цепи содержит три области CDR, сокращенно именуемые VL-CDR1, VL-CDR2 и VL-CDR3. Эти области CDR последовательно расположены в варибельной области, причем CDR1 расположена наиболее близко к N-концу, а CDR3 расположена наиболее близко к C-концу. Между CDR находятся каркасные области, которые вносят вклад в структуру и демонстрируют гораздо меньшую варибельность, чем области CDR. Варибельная область тяжелой цепи содержит четыре каркасных области, сокращенно именуемых VH-FR1, VH-FR2, VH-FR3 и VH-FR4; и варибельная область легкой цепи содержит четыре каркасных области, сокращенно именуемых VL-FR1, VL-FR2, VL-FR3 и VL-FR4. Полные полноразмерные двухвалентные антитела, содержащие две тяжелые и легкие цепи, будут содержать: 12 CDR, с тремя уникальными CDR тяжелой цепи и тремя уникальными CDR легкой цепи; 16 областей FR, с четырьмя уникальными областями FR тяжелой цепи и четырьмя уникальными областями FR легкой цепи. В определенных вариантах осуществления антитела, описанные в данном документе, содержат по меньшей мере три CDR тяжелой цепи. В определенных вариантах осуществления антитела, описанные в данном документе, содержат по меньшей мере три CDR легкой цепи. В определенных вариантах осуществления антитела, описанные в данном документе, содержат по меньшей мере три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи. Точные границы аминокислотной последовательности указанной CDR или FR можно легко определить с помощью любой из ряда хорошо известных схем, включая схемы, описанные в Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of

Health, Bethesda, MD (схема нумерации по Кабату); Al-Lazikani et al., (1997) *JMB* 273,927-948 (схема нумерации по Чотиа); MacCallum et al., *J. Mol. Biol.* 262:732-745 (1996), "Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography" (схема нумерации "Контакт"); Lefranc MP et al., "IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains," *Dev Comp Immunol*, 2003 Jan;27(1):55-77 (схема нумерации "IMGT"); и Honegger A and Plückthun A, "Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool," *J Mol Biol*, 2001 Jun 8;309(3):657-70, (схема нумерации "Aho"). CDR в данном документе идентифицируются среди представленных вариабельных последовательностей с использованием различных систем нумерации, с использованием системы нумерации по Кабату, IMGT, по Чотиа или любой их комбинации. Границы данной CDR или FR могут варьироваться в зависимости от схемы, используемой для идентификации. Например, схема по Кабату основана на структурном выравнивании, тогда как схема по Чотиа основана на структурной информации. Нумерация как для схем по Кабату, так и для схем по Чотиа основана на наиболее распространенных значениях длины последовательностей области антитела со вставками, обозначенными буквами, например "30a", и делециями, появляющимися в некоторых антителах. Две схемы помещают определенные вставки и делеции ("вставки/делеции") в разные положения, что дает разную нумерацию. Схема Контакт основана на анализе сложных кристаллических структур и во многих отношениях аналогична схеме нумерации по Чотиа.

[0068] Термин "вариабельная область" или "вариабельный домен" относится к домену тяжелой или легкой цепи антитела, который участвует в связывании антитела с антигеном. Вариабельные домены тяжелой цепи и легкой цепи (VH и VL соответственно) нативного антитела обычно имеют схожие структуры, причем каждый домен содержит четыре консервативных каркасных области (FR) и три CDR (см., например, Kindt et al. *Kuby Immunology, 6th ed.*, W.H. Freeman and Co., page 91(2007)). Одного домена VH или VL может быть достаточно для придания антигенсвязывающей специфичности. Кроме того, антитела, которые связывают конкретный антиген, могут быть выделены с использованием домена VH или VL антитела, которое связывает антиген, для скрининга библиотеки комплементарных доменов VL или VH соответственно (см., например, Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352:624-628 (1991)). В определенных вариантах осуществления описанные в данном документе антитела являются гуманизированными. В определенных вариантах осуществления описанные в данном документе антитела являются химерными. В определенных вариантах

осуществления описанные в данном документе антитела содержат переменные области крысиного происхождения. В определенных вариантах осуществления описанные в данном документе антитела содержат CDR крысиного происхождения. В определенных вариантах осуществления описанные в данном документе антитела содержат переменные области мышинового происхождения. В определенных вариантах осуществления описанные в данном документе антитела содержат CDR мышинового происхождения.

[0069] В CDR могут быть внесены изменения (например, замены), например, для повышения аффинности антитела. Такие изменения могут быть внесены в кодоны, кодирующие CDR, с высокой скоростью мутаций в ходе соматического созревания (см. например, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)), и полученный вариант может быть протестирован на аффинность связывания. Созревание аффинности (например, с использованием ПЦР с ошибающейся полимеразой, перестановки цепей, рандомизации CDR или олигонуклеотид-направленного мутагенеза) можно использовать для улучшения аффинности антитела (см., например, Hoogenboom et al. *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (2001)). Остатки CDR, вовлеченные в связывание антигена, могут быть специфически идентифицированы, например, с использованием аланин-сканирующего мутагенеза или моделирования (см., например, Cunningham and Wells *Science*, 244:1081-1085 (1989)). CDR-H3 и CDR-L3, в частности, часто становятся мишенью. Альтернативно или дополнительно кристаллическую структуру комплекса антиген-антитело анализируют для определения точек контакта между антителом и антигеном. Такие контактные остатки и соседние остатки могут быть мишенью или могут быть исключены как кандидаты на замену. Варианты могут быть проверены, чтобы определить, имеют ли они требуемые свойства.

[0070] В определенных вариантах осуществления описанные в данном документе антитела содержат константную область в дополнение к переменной области. Константная область тяжелой цепи (C_H) содержит четыре домена, сокращенно именуемые C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} и C_{H4} , расположенные на С-конце полипептида полной тяжелой цепи, со стороны С-конца переменной области. Константная область легкой цепи (C_L) существенно меньше, чем C_H , и расположена на С-конце полипептида полной легкой цепи, со стороны С-конца переменной области. Константная область является высококонсервативной и содержит разные изоформы, которые связаны с несколькими отличающимися функциями и свойствами. В определенных вариантах осуществления константная область не обязательна для связывания антитела с антигеном-мишенью. В

определенных вариантах осуществления константные области антитела, как тяжелой, так и легкой цепей, не обязательны для связывания антитела. В определенных вариантах осуществления в описанных в данном документе антителах отсутствуют одна или несколько константных областей легкой цепи, константных областей тяжелой цепи или обеих цепей. Большинство моноклональных антител относятся к изотипу IgG; который дополнительно подразделяют на четыре подкласса: IgG₁, IgG₂, IgG₃ и IgG₄. В определенных вариантах осуществления описанные в данном документе антитела предусматривают любой подкласс IgG. В определенных вариантах осуществления подкласс IgG предусматривает IgG₁. В определенных вариантах осуществления подкласс IgG предусматривает IgG₂. В определенных вариантах осуществления подкласс IgG предусматривает IgG₃. В определенных вариантах осуществления подкласс IgG предусматривает IgG₄.

[0071] Антитела содержат область кристаллизующегося фрагмента (область Fc), которая отвечает за связывание с комплементом и рецепторами Fc. Область Fc содержит области C_H2, C_H3 и C_H4 молекулы антитела. Область Fc антитела отвечает за активацию комплемента и за антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (ADCC). Область Fc также вносит вклад в период полужизни антитела в сыворотке крови. В определенных вариантах осуществления область Fc антител, описанных в данном документе, содержит одну или несколько аминокислотных замен, которые способствуют комплемент-опосредованному лизису клеток. В определенных вариантах осуществления область Fc антител, описанных в данном документе, содержит одну или несколько аминокислотных замен, которые способствуют ADCC. В определенных вариантах осуществления область Fc антител, описанных в данном документе, содержит одну или несколько аминокислотных замен, которые уменьшают комплемент-опосредованный лизис клеток. В определенных вариантах осуществления область Fc антител, описанных в данном документе, содержит одну или несколько аминокислотных замен, которые увеличивают связывание антитела с рецептором Fc. В определенных вариантах осуществления рецептор Fc включает FcγRI (CD64), FcγRIIA (CD32), FcγRIIA (CD16a), FcγRIIB (CD16b) или любую их комбинацию. В определенных вариантах осуществления область Fc антител, описанных в данном документе, содержит одну или несколько аминокислотных замен, которые увеличивают период полужизни антитела в сыворотке крови. В определенных вариантах осуществления одна или несколько аминокислотных замен, которые увеличивают время полужизни антитела в сыворотке крови, увеличивают аффинность антитела к неонатальному рецептору Fc (FcRn).

[0072] В определенных вариантах осуществления антитела в соответствии с настоящим изобретением представляют собой варианты, которые обладают некоторыми, но не всеми эффекторными функциями, что делает их желательным кандидатом для таких вариантов применения, в которых период полужизни антитела *in vivo* важен, но некоторые эффекторные функции (такие как активация комплемента и ADCC) не требуются или вредны. Анализы цитотоксичности *in vitro* и/или *in vivo* могут быть проведены для подтверждения снижения/истощения активности CDC и/или ADCC. Например, можно проводить анализы связывания рецептора Fc (FcR), чтобы убедиться в том, что антитело лишено способности связывания с FcγR (следовательно, вероятно, не обладает активностью ADCC), но сохраняет способность связывания с FcRn. Неограничивающие примеры анализов *in vitro* для оценки активности ADCC молекулы, представляющей интерес, описаны в патентах США №№ 5500362 и 5821337. В качестве альтернативы можно использовать нерадиоактивные аналитические методики (например, нерадиоактивные анализы цитотоксичности АСТП™ и CytoTox 96®). Эффекторные клетки, пригодные для таких анализов, включают моноклеарные клетки периферической крови (PBMC), моноциты, макрофаги и естественные клетки-киллеры (NK).

[0073] Антитела могут иметь увеличенный период полужизни и улучшенное связывание с неонатальным рецептором Fc (FcRn) (см., например, US 2005/0014934). Такие антитела могут содержать область Fc с одной или несколькими заменами в ней, которые улучшают связывание области Fc с FcRn, и включают антитела с заменами в одном или нескольких остатках области Fc: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 или 434 согласно системе нумерации ЕС (см., например, патент США № 7371826). Также рассматриваются другие примеры вариантов области Fc (см., например, Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988); патенты США №№ 5648260 и 5624821; и WO94/29351).

[0074] Антитела, применимые в клинических условиях, часто "гуманизируют" для снижения иммуногенности у индивидуумов-людей. Гуманизированные антитела повышают безопасность и эффективность терапии моноклональными антителами. Одним из распространенных способов гуманизации является получение моноклонального антитела у любого подходящего животного (например, мыши, крысы, хомяка) и замена константной области на человеческую константную область; сконструированные таким образом антитела называются "химерными". Другой распространенный способ представляет собой "прививание CDR", при котором отличные от человеческих V-FR

заменяют человеческими V-FR. В способе прививания CDR все остатки за исключением области CDR имеют человеческое происхождение. В определенных вариантах осуществления описанные в данном документе антитела являются гуманизированными. В определенных вариантах осуществления описанные в данном документе антитела являются химерными. В определенных вариантах осуществления описанным в данном документе антителам привиты CDR.

[0075] Гуманизация обычно снижает или оказывает незначительное влияние на общую аффинность антитела. В данном документе описаны антитела, которые неожиданно обладают большей аффинностью к своей мишени после гуманизации. В определенных вариантах осуществления гуманизация повышает аффинность антитела на 10%. В определенных вариантах осуществления гуманизация повышает аффинность антитела на 25%. В определенных вариантах осуществления гуманизация повышает аффинность антитела на 35%. В определенных вариантах осуществления гуманизация повышает аффинность антитела на 50%. В определенных вариантах осуществления гуманизация повышает аффинность антитела на 60%. В определенных вариантах осуществления гуманизация повышает аффинность антитела на 75%. В определенных вариантах осуществления гуманизация повышает аффинность антитела на 100%. Соответственно, аффинность измеряют с использованием поверхностного плазмонного резонанса (SPR). В определенных вариантах осуществления аффинность измеряют с использованием гликозилированного LIF человека. В определенных вариантах осуществления гликозилированный LIF человека иммобилизован на поверхности чипа сенсора SPR. В определенных вариантах осуществления антитело связывается с K_D , составляющей менее приблизительно 300 наномоль/л, 200 наномоль/л, 150 наномоль/л, 125 наномоль/л, 100 наномоль/л, 90 наномоль/л, 80 наномоль/л, 70 наномоль/л, 60 наномоль/л, 50 наномоль/л, 40 наномоль/л или меньше.

[0076] Композиции и способы, описанные в данном документе, включают комбинации полипептидов, связывающих LIF, с антинеопластическими средствами на основе платины. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, содержит фрагмент вариабельной области иммуноглобулина или константной области тяжелой цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, представляет собой антитело, которое специфически связывается с LIF. В определенных вариантах осуществления антитело, связывающее LIF, содержит по меньшей мере одну каркасную область, полученную из каркасной области человеческого иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления антитело, которое

специфически связывается с LIF, является гуманизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является деиммунизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой антитело IgG. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) или наноантитело. В определенных вариантах осуществления антитело представляет собой антитело h5D8, описанное в данном документе.

[0077] В определенных вариантах осуществления описанное в данном документе антитело, используемое или вводимое в комбинации с антинеопластическим средством на основе платины, представляет собой антитело h5D8. Антитело h5d8, которое специфически связывает LIF, содержит VH-CDR1, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3, VH-CDR2, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5, и VH-CDR3, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8. В определенных вариантах осуществления, описанных в данном документе, h5D8 специфически связывает LIF и содержит VL-CDR1, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10, VL-CDR2, представленную под SEQ ID NO: 11 или 12, и VL-CDR3, представленную под SEQ ID NO: 13. В определенных вариантах осуществления, описанных в данном документе, h5D8 специфически связывает LIF и содержит VH-CDR1, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3, VH-CDR2, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5, и VH-CDR3, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8, VL-CDR1, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10, VL-CDR2, представленную под SEQ ID NO: 11 или 12, и VL-CDR3, представленную под SEQ ID NO: 13. Области VH и VL из h5D8 представлены под SEQ ID NO: 42 и 46.

[0078] В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи, содержащих: аминокислотную последовательность VH-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 14-17, аминокислотную последовательность VH-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной

под любым из SEQ ID NO: 18 или 19, аминокислотную последовательность VH-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 20-22, или аминокислотную последовательность области VH-FR4, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 23-25. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 15, аминокислотную последовательность VH-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 19, аминокислотную последовательность VH-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 20, и аминокислотную последовательность VH-FR4, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 24. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи, содержащих: аминокислотную последовательность VL-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 26-29, аминокислотную последовательность VL-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 30-33, аминокислотную последовательность VL-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 34-37, или аминокислотную последовательность VL-FR4, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 38-40. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентична

аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 27, аминокислотную последовательность VL-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 31, аминокислотную последовательность VL-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 35, и аминокислотную последовательность VL-FR4, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 38. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи и одна или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 15, аминокислотную последовательность VH-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 19, аминокислотную последовательность VH-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 20, аминокислотную последовательность VH-FR4, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 24, аминокислотную последовательность VL-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 27, аминокислотную последовательность VL-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 31, аминокислотную последовательность VL-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 35, и аминокислотную последовательность VL-FR4, которая на по меньшей мере 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 38. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи, содержащих:

аминокислотную последовательность VH-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 14-17, аминокислотную последовательность VH-FR2, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 18 или 19, аминокислотную последовательность VH-FR3, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 20-22, или аминокислотную последовательность области VH-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 23-25. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 15, аминокислотную последовательность VH-FR2, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 19, аминокислотную последовательность VH-FR3, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 20, и аминокислотную последовательность VH-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 24. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи, содержащих: аминокислотную последовательность VL-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 26-29, аминокислотную последовательность VL-FR2, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 30-33, аминокислотную последовательность VL-FR3, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 34-37, или аминокислотную последовательность VL-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 38-40. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 27, аминокислотную последовательность VL-FR2, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 31, аминокислотную последовательность VL-FR3, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 35, и аминокислотную последовательность VL-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO:

38. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи и одна или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 15, аминокислотную последовательность VH-FR2, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 19, аминокислотную последовательность VH-FR3, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 20, аминокислотную последовательность VH-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 24, аминокислотную последовательность VL-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 27, аминокислотную последовательность VL-FR2, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 31, аминокислотную последовательность VL-FR3, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 35, и аминокислотную последовательность VL-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 38. В определенных вариантах осуществления антитело специфически связывает человеческий LIF.

[0079] Описанное в данном документе антитело r5D8 было получено от крыс, иммунизированных с использованием ДНК, кодирующей человеческий LIF. Антитело r5D8 было клонировано и секвенировано и содержит CDR (с использованием комбинации способов нумерации CDR по Кабату и IMGT) со следующими аминокислотными последовательностями: VH-CDR1, соответствующая SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), VH-CDR2, соответствующая SEQ ID NO: 4 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), VH-CDR3, соответствующая SEQ ID NO: 6 (TCWEWDLDF), VL-CDR1, соответствующая SEQ ID NO: 9 (RSSQSLLDSDGHTYLN), VL-CDR2, соответствующая SEQ ID NO: 11 (SVSNLES), и VL-CDR3, соответствующая SEQ ID NO: 13 (MQATHAPPYT). Данное антитело гуманизировали посредством прививания CDR, и его гуманизированный вариант обозначен как h5D8.

[0080] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее область VH-CDR1, которая на по меньшей мере 80% или 90% идентична последовательности, представленной под SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), VH-CDR2, которая на по меньшей мере 80%, 90% или 95% идентична последовательности, представленной под SEQ ID NO: 4 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), и VH-CDR3, которая на по меньшей мере 80% или 90%

идентична последовательности, представленной под SEQ ID NO: 6 (TCWEWDLDF). В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее область VL-CDR1, которая на по меньшей мере 80% или 90% идентична последовательности, представленной под SEQ ID NO: 9 (RSSQSLLDSDGHTYLN), VL-CDR2, которая на по меньшей мере 80% идентична последовательности, представленной под SEQ ID NO: 11 (SVSNLES), и VL-CDR3, которая на по меньшей мере 80% или 90% идентична последовательности, представленной под SEQ ID NO: 13 (MQATHAPPYT). В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее область VH-CDR1, представленную под SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), VH-CDR2, представленную под SEQ ID NO: 4 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), VH-CDR3, представленную под SEQ ID NO: 6 (TCWEWDLDF), VL-CDR1, представленную под SEQ ID NO: 9 (RSSQSLLDSDGHTYLN), VL-CDR2, представленную под SEQ ID NO: 11 (SVSNLES), и VL-CDR3, представленную под SEQ ID NO: 13 (MQATHAPPYT). Определенные консервативные аминокислотные замены предусмотрены в аминокислотных последовательностях CDR по настоящему изобретению. В определенных вариантах осуществления антитело содержит CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 1, 4, 6, 9, 11 и 13, по 1, 2, 3 или 4 аминокислотам. В определенных вариантах осуществления антитело содержит CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 1, 4, 6, 9, 11 и 13, по 1, 2, 3 или 4 аминокислотам и не влияют на аффинность связывания более чем на 10%, 20% или 30%. В определенных вариантах осуществления антитела, которые специфически связывают LIF, содержат одну или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи, содержащих: аминокислотную последовательность VH-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 14-17, аминокислотную последовательность VH-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 18 или 19, аминокислотную последовательность VH-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 90% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 20-22, или аминокислотную последовательность области VH-FR4, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99%

идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 23-25. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 15, аминокислотную последовательность VH-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 19, аминокислотную последовательность VH-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 20, и аминокислотную последовательность VH-FR4, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 24. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи, содержащих: аминокислотную последовательность VL-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 26-29, аминокислотную последовательность VL-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 30-33, аминокислотную последовательность VL-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 34-37, или аминокислотную последовательность VL-FR4, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 38-40. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 27, аминокислотную последовательность VL-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 31, аминокислотную последовательность VL-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной

последовательности, представленной под SEQ ID NO: 35, и аминокислотную последовательность VL-FR4, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 38. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи и одна или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи содержат все из аминокислотной последовательности VH-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 15, аминокислотной последовательности VH-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 19, аминокислотной последовательности VH-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 20, аминокислотной последовательности VH-FR4, которая на по меньшей мере приблизительно 90% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 24, аминокислотной последовательности VL-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 27, аминокислотной последовательности VL-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 31, аминокислотной последовательности VL-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 35, и аминокислотной последовательности VL-FR4, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 38. В определенных вариантах осуществления антитело специфически связывает человеческий LIF. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи, содержащих: аминокислотную последовательность VH-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 14-17, аминокислотную последовательность VH-FR2, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 18 или 19, аминокислотную последовательность VH-FR3, которая идентична аминокислотной

последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 20-22, или аминокислотную последовательность области VH-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 23-25. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 15, аминокислотную последовательность VH-FR2, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 19, аминокислотную последовательность VH-FR3, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 20, и аминокислотную последовательность VH-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 24. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи, содержащих: аминокислотную последовательность VL-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 26-29, аминокислотную последовательность VL-FR2, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 30-33, аминокислотную последовательность VL-FR3, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 34-37, или аминокислотную последовательность VL-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 38-40. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 27, аминокислотную последовательность VL-FR2, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 31, аминокислотную последовательность VL-FR3, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 35, и аминокислотную последовательность VL-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 38. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи и одна или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 15, аминокислотную последовательность VH-FR2, которая идентична аминокислотной

последовательности, представленной под SEQ ID NO: 19, аминокислотную последовательность VH-FR3, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 20, аминокислотную последовательность VH-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 24, аминокислотную последовательность VL-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 27, аминокислотную последовательность VL-FR2, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 31, аминокислотную последовательность VL-FR3, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 35, и аминокислотную последовательность VL-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 38. В определенных вариантах осуществления антитело специфически связывает человеческий LIF.

[0081] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность VH-CDR1, которая на по меньшей мере 80% или 90% идентична последовательности, представленной под SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), аминокислотную последовательность VH-CDR2, которая на по меньшей мере 80%, 90% или 95% идентична последовательности, представленной под SEQ ID NO: 4 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), и аминокислотную последовательность VH-CDR3, которая на по меньшей мере 80% или 90% идентична последовательности, представленной под SEQ ID NO: 8 (TSWEWDLDF). В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность VL-CDR1, которая на по меньшей мере 80% или 90% идентична последовательности, представленной под SEQ ID NO: 9 (RSSQSLLDSDGHTYLN), аминокислотную последовательность VL-CDR2, которая на по меньшей мере 80% идентична последовательности, представленной под SEQ ID NO: 11 (SVSNLES), и аминокислотную последовательность VL-CDR3, которая на по меньшей мере 80% или 90% идентична последовательности, представленной под SEQ ID NO: 13 (MQATHAPPYT). В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность VH-CDR1, представленную под SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), аминокислотную последовательность VH-CDR2, представленную под SEQ ID NO: 4 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), аминокислотную последовательность VH-CDR3, представленную под SEQ ID NO: 8 (TSWEWDLDF), аминокислотную последовательность

VL-CDR1, представленную под SEQ ID NO: 9 (RSSQSLLDSDGHTYLN), аминокислотную последовательность VL-CDR2, представленную под SEQ ID NO: 11 (SVSNLES), и аминокислотную последовательность VL-CDR3, представленную под SEQ ID NO: 13 (MQATHAPPYT). Определенные консервативные аминокислотные замены предусмотрены в аминокислотных последовательностях CDR по настоящему изобретению. В определенных вариантах осуществления антитело содержит CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 1, 4, 8, 9, 11 и 13, по 1, 2, 3 или 4 аминокислотам. В определенных вариантах осуществления антитело содержит CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 1, 4, 8, 9, 11 и 13, по 1, 2, 3 или 4 аминокислотам и не влияют на аффинность связывания более чем на 10%, 20% или 30%. В определенных вариантах осуществления антитела, которые специфически связывают LIF, содержат одну или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи, содержащих: аминокислотную последовательность VH-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 14-17, аминокислотную последовательность VH-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 18 или 19, аминокислотную последовательность VH-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 90% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 20-22, или аминокислотную последовательность области VH-FR4, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 23-25. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 15, аминокислотную последовательность VH-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 19, аминокислотную последовательность VH-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 20, и аминокислотную последовательность VH-FR4, которая на по

меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 24. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи, содержащих: аминокислотную последовательность VL-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 26-29, аминокислотную последовательность VL-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 30-33, аминокислотную последовательность VL-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 34-37, или аминокислотную последовательность VL-FR4, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 38-40. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 27, аминокислотную последовательность VL-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 31, аминокислотную последовательность VL-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 35, и аминокислотную последовательность VL-FR4, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 38. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи и одна или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи содержат все из аминокислотной последовательности VH-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 15, аминокислотной последовательности VH-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 19, аминокислотной

последовательности VH-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 20, аминокислотной последовательности VH-FR4, которая на по меньшей мере приблизительно 90% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 24, аминокислотной последовательности VL-FR1, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 27, аминокислотной последовательности VL-FR2, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 31, аминокислотной последовательности VL-FR3, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 35, и аминокислотной последовательности VL-FR4, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 38. В определенных вариантах осуществления антитело специфически связывает человеческий LIF. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи, содержащих: аминокислотную последовательность VH-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 14-17, аминокислотную последовательность VH-FR2, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 18 или 19, аминокислотную последовательность VH-FR3, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 20-22, или аминокислотную последовательность области VH-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 23-25. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 15, аминокислотную последовательность VH-FR2, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 19, аминокислотную последовательность VH-FR3, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 20, и аминокислотную последовательность VH-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO:

24. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи, содержащих: аминокислотную последовательность VL-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 26-29, аминокислотную последовательность VL-FR2, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 30-33, аминокислотную последовательность VL-FR3, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 34-37, или аминокислотную последовательность VL-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 38-40. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 27, аминокислотную последовательность VL-FR2, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 31, аминокислотную последовательность VL-FR3, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 35, и аминокислотную последовательность VL-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 38. В определенных вариантах осуществления одна или несколько человеческих каркасных областей тяжелой цепи и одна или несколько человеческих каркасных областей легкой цепи содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 15, аминокислотную последовательность VH-FR2, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 19, аминокислотную последовательность VH-FR3, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 20, аминокислотную последовательность VH-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 24, аминокислотную последовательность VL-FR1, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 27, аминокислотную последовательность VL-FR2, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 31, аминокислотную последовательность VL-FR3, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 35, и аминокислотную последовательность VL-FR4, которая идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 38. В определенных вариантах

осуществления антитело специфически связывает человеческий LIF.

[0082] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее переменную область гуманизированной тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 41, 42 и 44. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее переменную область гуманизированной тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 41, 42 и 44. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее переменную область гуманизированной легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 45-48. В определенных вариантах осуществления данного документа описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее переменную область гуманизированной легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 45-48. В определенных вариантах осуществления антитело специфически связывает человеческий LIF.

[0083] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее переменную область гуманизированной тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO:42; и переменную область гуманизированной легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее переменную

область гуманизированной тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 42; и переменную область гуманизированной тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 46.

[0084] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее переменную область гуманизированной тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 66; и переменную область гуманизированной легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее переменную область гуманизированной тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 66; и переменную область гуманизированной тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 46.

[0085] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизованную тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 57-60; и гуманизованную легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 61-64. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизованную тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 57-60; и гуманизованную легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность,

представленную под любым из SEQ ID NO: 61-64.

[0086] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизированную тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 58; и гуманизированную легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 62. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизированную тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 58; и гуманизированную тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 62. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизированную тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 67; и гуманизированную легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 62. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизированную тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 67; и гуманизированную тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 62.

[0087] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ

ID NO: 3; определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 4; определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 7; определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 9; и определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 11; и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13.

[0088] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2; определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 5; определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 6; определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10; и определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 12; и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13. Определенные консервативные аминокислотные замены предусмотрены в аминокислотных последовательностях CDR по настоящему изобретению. В определенных вариантах осуществления антитело содержит CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 2, 5, 6, 10, 12 и 13, по 1, 2, 3 или 4 аминокислотам. В определенных вариантах осуществления антитело содержит CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 2, 5, 6, 10, 12 и 13, по 1, 2, 3 или 4 аминокислотам и не влияют на аффинность связывания более чем на 10%, 20% или 30%.

[0089] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий

фактор (LIF), содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 3; определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 4; определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 7; определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 9; и определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 11; и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13. Определенные консервативные аминокислотные замены предусмотрены в аминокислотных последовательностях CDR по настоящему изобретению. В определенных вариантах осуществления антитело содержит CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 3, 4, 7, 9, 11 и 13, по 1, 2, 3 или 4 аминокислотам. В определенных вариантах осуществления антитело содержит CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 3, 4, 7, 9, 11 и 13, по 1, 2, 3 или 4 аминокислотам и не влияют на аффинность связывания более чем на 10%, 20% или 30%.

[0090] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизованную тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 49-52; и гуманизованную легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 53-56. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизованную тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 49-52; и гуманизованную легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность,

представленную под любым из SEQ ID NO: 53-56.

[0091] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизированную тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 50; и гуманизированную легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 54. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизированную тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 50; и гуманизированную легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 54.

Эпитопы, связываемые терапевтически применимыми антителами к LIF

[0092] В данном документе описан уникальный эпитоп человеческого LIF, который при его связывании подавляет биологическую активность LIF (например, фосфорилирование STAT3) и подавляет рост опухоли *in vivo*. Описанный в данном документе эпитоп состоит из двух прерывистых участков аминокислот (от остатка 13 до остатка 32 и от остатка 120 до остатка 138 LIF человека), которые присутствуют в двух различных топологических доменах (альфа-спирали А и С) человеческого белка LIF. Данное связывание представляет собой комбинацию слабого (ван-дер-ваальсовы силы), умеренного (водородные связи) и сильного (солевой мостик) взаимодействий. В определенных вариантах осуществления контактный остаток представляет собой остаток на LIF, который образует водородную связь с остатком на антителе к LIF. В определенных вариантах осуществления контактный остаток представляет собой остаток на LIF, который образует солевой мостик с остатком на антителе к LIF. В определенных вариантах осуществления контактный остаток представляет собой остаток на LIF, который взаимодействует посредством ван-дер-ваальсовых сил с остатком на антителе к LIF и находится на расстоянии в пределах по меньшей мере 5, 4 или 3 ангстрем от него.

[0093] В определенных вариантах осуществления способы и композиции, предусматривающие антитело, связывающее LIF, и цисплатин, описанные в данном

документе, включают выделенное антители, которое связывает любые один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать, семнадцать, восемнадцать, девятнадцать или двадцать из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, или H138 из SEQ ID NO: 68. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано выделенное антители, которое связывает все следующие остатки: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, или H138 последовательности под SEQ ID NO: 68. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано выделенное антители, которое связывает все следующие остатки: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, или H138 последовательности под SEQ ID NO: 68. В определенных вариантах осуществления антители связывает только те остатки, которые участвуют в сильных или умеренных взаимодействиях с антителом. В определенных вариантах осуществления антители связывает только те остатки, которые участвуют в сильных взаимодействиях с антителом. В определенном варианте осуществления антители взаимодействует со спиралью A и C в LIF. В определенном варианте осуществления антители блокирует взаимодействие LIF с gp130.

[0094] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антители, содержащее CDR с аминокислотной последовательностью, представленной под любым из SEQ ID NO: 1, 4, 6, 9, 11 и 13, которое связывает любые один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать, семнадцать, восемнадцать, девятнадцать или двадцать из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, или H138 последовательности под SEQ ID NO: 68. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антители, содержащее CDR с аминокислотной последовательностью, представленной под любым из SEQ ID NO: 1, 4, 6, 9, 11 и 13, которое связывается со всеми следующими остатками: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, или H138 последовательности под SEQ ID NO: 68. В определенных вариантах осуществления антители связывает только те остатки, которые участвуют в сильных или умеренных взаимодействиях с антителом. В определенных вариантах осуществления антители связывает только те остатки, которые участвуют в сильных взаимодействиях с антителом.

[0095] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, содержащее CDR с аминокислотной последовательностью, представленной под любым из SEQ ID NO: 1, 4, 8, 9, 11 и 13, которое связывает любой один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать, семнадцать, восемнадцать, девятнадцать или двадцать из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, или H138 последовательности под SEQ ID NO: 68. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, содержащее CDR с аминокислотной последовательностью, представленной под любым из SEQ ID NO: 1, 4, 8, 9, 11 и 13, которое связывается со всеми следующими остатками: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, или H138 последовательности под SEQ ID NO: 68. В определенных вариантах осуществления антитело связывает только те остатки, которые участвуют в сильных или умеренных взаимодействиях с антителом. В определенных вариантах осуществления антитело связывает только те остатки, которые участвуют в сильных взаимодействиях с антителом.

[0096] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, содержащее CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 1, 4, 6, 9, 11 и 13 по 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотам, и которое связывает любые один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать, семнадцать, восемнадцать, девятнадцать или двадцать из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, или H138 последовательности под SEQ ID NO: 68. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, содержащее CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 1, 4, 6, 9, 11 и 13 по 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотам, и которое связывается со всеми следующими остатками: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, или H138 последовательности под SEQ ID NO: 68. В определенных вариантах осуществления антитело связывает только те остатки, которые участвуют в сильных или умеренных взаимодействиях с антителом. В определенных вариантах осуществления антитело связывает только те остатки, которые участвуют в сильных взаимодействиях с антителом.

[0097] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, содержащее CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 1, 4, 8, 9, 11 и 13 по 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотам, и которое связывает любые один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать, семнадцать, восемнадцать, девятнадцать или двадцать из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, или H138 последовательности под SEQ ID NO: 68. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, содержащее CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 1, 4, 8, 9, 11 и 13 по 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотам, и связываются со всеми следующими остатками: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, или H138 последовательности под SEQ ID NO: 68. В определенных вариантах осуществления антитело связывает только те остатки, которые участвуют в сильных или умеренных взаимодействиях с антителом. В определенных вариантах осуществления антитело связывает только те остатки, которые участвуют в сильных взаимодействиях с антителом.

[0098] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность вариабельной области гуманизированной тяжелой цепи, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO:42; и аминокислотную последовательность вариабельной области гуманизированной легкой цепи, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46, и которое связывает любые один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать, семнадцать, восемнадцать, девятнадцать или двадцать из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, или H138 последовательности под SEQ ID NO: 68. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность вариабельной области

гуманизированной тяжелой цепи, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO:42; и аминокислотную последовательность вариабельной области гуманизированной легкой цепи, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46, и которое связывает все из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, или H138 последовательности под SEQ ID NO: 68. В определенных вариантах осуществления антитело связывает только те остатки, которые участвуют в сильных или умеренных взаимодействиях с антителом. В определенных вариантах осуществления антитело связывает только те остатки, которые участвуют в сильных взаимодействиях с антителом.

[0099] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность вариабельной области гуманизированной тяжелой цепи, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 66; и аминокислотную последовательность вариабельной области гуманизированной легкой цепи, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46, и которое связывает любые один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать, семнадцать, восемнадцать, девятнадцать или двадцать из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, или H138 последовательности под SEQ ID NO: 68. В определенных вариантах осуществления в данном документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность вариабельной области гуманизированной тяжелой цепи, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности,

представленной под SEQ ID NO: 66; и аминокислотную последовательность вариабельной области гуманизированной легкой цепи, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46, и которое связывает все из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, или H138 последовательности под SEQ ID NO: 68. В определенных вариантах осуществления антитело связывает только те остатки, которые участвуют в сильных или умеренных взаимодействиях с антителом. В определенных вариантах осуществления антитело связывает только те остатки, которые участвуют в сильных взаимодействиях с антителом.

[00100] В определенных вариантах осуществления описанные в данном документе антитела ингибируют передачу сигналов LIF в клетках. В определенных вариантах осуществления значение IC_{50} для биологического ингибирования антителом в условиях сывороточного голодания в клетках U-251 меньше или равно приблизительно 100, 75, 50, 40, 30, 20, 10, 5 или 1 наномоль/л. В определенных вариантах осуществления значение IC_{50} для биологического ингибирования антителом в условиях сывороточного голодания в клетках U-251 меньше или равно приблизительно 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200 или 100 наномоль/л.

[00101] В определенных вариантах осуществления раскрытые в данном документе антитела применимы для лечения опухолей и рака, которые экспрессируют LIF. В определенных вариантах осуществления индивидуум, получавший лечение с помощью антител по настоящему изобретению, был выбран для лечения как имеющий LIF-положительную опухоль/LIF-положительный рак. В определенных вариантах осуществления опухоль является LIF-положительной или продуцирует повышенные уровни LIF. В определенных вариантах осуществления LIF-позитивность определяют путем сравнения с референтным значением или набором патологических критериев. В определенных вариантах осуществления LIF-положительная опухоль экспрессирует LIF в количестве, которое в более чем 2 раза, 3 раза, 5 раз, 10 раз, 100 раз или больше превышает количество LIF, которое экспрессирует нетрансформированная клетка, из которой произошла опухоль. В определенных вариантах осуществления опухоль приобрела эктопическую экспрессию LIF. LIF-положительная опухоль может быть определена гистологически с использованием, например, иммуногистохимического анализа с применением антитела к LIF; посредством широко применяемых методик

молекулярной биологии, таких как, например, количественное определение мРНК посредством ПЦР в режиме реального времени или секвенирование РНК; или количественное определение белка, например, посредством вестерн-блоттинга, проточной цитометрии, ELISA или гомогенного количественного анализа белка (например, AlphaLISA®). В определенных вариантах осуществления антитела можно использовать для лечения пациентов, у которых диагностирован рак. В определенных вариантах осуществления рак включает одну или более раковых стволовых клеток или представляет собой одну или более раковых стволовых клеток.

[00102] В определенных вариантах осуществления раскрытые в данном документе антитела применимы для лечения опухолей при тех видах рака, которые экспрессируют рецептор LIF (CD118). Опухоль, положительная по рецептору LIF, может быть определена посредством гистопатологического анализа или проточной цитометрии и в определенных вариантах осуществления включает клетку, которая связывает антитело к рецептору LIF с более чем 2х, 3х, 3х, 4х, 5х, 10х или большей силой по сравнению с изотипическим контролем. В определенных вариантах осуществления опухоль приобрела эктопическую экспрессию рецептора LIF. В определенном варианте осуществления рак представляет собой раковую стволовую клетку. В определенном варианте осуществления LIF-положительная опухоль или рак могут быть определены иммуногистохимическим анализом с использованием антитела к LIF и антитела к LIF. В определенном варианте осуществления LIF-положительную опухоль определяют посредством иммуногистохимического (ИНС) анализа уровня экспрессии LIF в основных 10%, 20%, 30%, 40% или основных 50% опухолей.

[00103] Описанные в данном документе антитела влияют на множество результатов. В определенном варианте осуществления описанные в данном документе антитела могут уменьшать присутствие макрофагов M2 в опухолях на по меньшей мере 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60 %, 70%, 80%, 90% или больше в опухолевой модели по сравнению с контрольным антителом (например, изотипическим контролем). Макрофаги M2 могут быть идентифицированы путем окрашивания на CCL22 и CD206 в иммуногистохимическом (ИНС) анализе срезов или посредством проточной цитометрии опухоль-инфильтрирующих иммунных или миелоидных клеток. В определенном варианте осуществления описанные в данном документе антитела могут уменьшать связывание LIF с gp130 в опухолях на по меньшей мере 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60 %, 70%, 80%, 90% или больше по сравнению с контрольным антителом (например, изотипическим контролем). В определенном варианте осуществления описанные в данном документе

антитела могут уменьшать передачу сигналов LIF на по меньшей мере 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60 %, 70%, 80%, 90% или больше в LIF-чувствительной клеточной линии по сравнению с контрольным антителом (например, изотипическим контролем). С помощью вестерн-блоттинга передача сигналов LIF может быть измерена, например, по фосфорилированию STAT3 (нисходящей мишени в сигнальном пути LIF). Антитела в данном документе также являются высокоспецифичными к LIF по сравнению с другими цитокинами, являющимися представителями семейства IL-6. В определенных вариантах осуществления антитела связывают человеческий LIF с аффинностью, которая в приблизительно 10х, приблизительно 50х или приблизительно 100х превышает этот показатель у любого другого цитокина семейства IL-6. В определенных вариантах осуществления антитела к LIF не связываются с другими цитокинами семейства IL-6, которые продуцируются в системе млекопитающего. В определенных вариантах осуществления антитела не связываются с онкостатином М, который продуцируется в системе млекопитающего.

[00104] В определенных вариантах осуществления полипептиды, связывающие LIF, и антитела можно вводить любым путем, подходящим для введения фармацевтических композиций, содержащих антитела, таким как, например, подкожный, интраперитонеальный, внутривенный, внутримышечный, интратуморальный или интрацеребральный и т. д. В определенных вариантах осуществления антитела вводят внутривенно. В определенных вариантах осуществления антитела вводят согласно подходящей схеме введения, например, раз в неделю, два раза в неделю, раз в месяц, два раза в месяц и т. д. В определенных вариантах осуществления антитела вводят один раз в три недели. Антитела можно вводить в любом терапевтически эффективном количестве. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество составляет от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество составляет от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 40 мг/кг. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество составляет от приблизительно 5 мг/кг до приблизительно 30 мг/кг. Полипептид, связывающий LIF, или антитело можно вводить в/в в течение периода времени по меньшей мере приблизительно 60 минут; однако этот период может несколько варьироваться в зависимости от условий, относящихся к каждому отдельному введению.

Антинеопластическое средство на основе платины

[00105] Антинеопластические средства на основе платины, также известные как платины,

представляют собой координационные комплексы платины, которые применяют для лечения рака. Полипептиды, связывающие LIF, и антитела, описанные в данном документе, можно комбинировать с антинеопластическим средством на основе платины и применять в способе лечения опухоли, рака или другого новообразования. В определенных вариантах осуществления полипептиды, связывающие LIF, и антитела, описанные в данном документе, можно комбинировать с антинеопластическим средством на основе платины в фармацевтической композиции, применимой для лечения рака, опухоли или другого новообразования. Антитело h5D8, описанное в данном документе, можно комбинировать с антинеопластическим средством на основе платины и применять в способе лечения опухоли, рака или другого новообразования. В определенных вариантах осуществления антитело h5D8, описанное в данном документе, можно комбинировать с антинеопластическим средством на основе платины в фармацевтической композиции, применимой для лечения рака, опухоли или другого новообразования.

[00106] Антинеопластические средства на основе платины, используемые в композициях и способах в данном документе, способны вызывать перекрестное связывание ДНК или связывание с ДНК. Перекрестное связывание может ингибировать репарацию или синтез ДНК в раковых клетках. Перекрестное связывание может препятствовать клеточному процессу и приводить к апоптозу. В некоторых вариантах осуществления антинеопластические средства на основе платины включают цисплатин (Platinol®, *цис*-диамминдихлоридплатина(II) (CDDP), дихлорид *цис*-диамминплатины(II), [SP-4-2]-диамминдихлорплатина); карбоплатин (Paraplatin®, *цис*-диаммин(1,1-циклобутандикарбоксилат)платина); оксалиплатин (Eloxatin®, [SP-4-2]-(1*R*-*транс*)-(1,2-циклогександиамин-*N,N'*)[этандиоат(2-)-*O,O'*]платина); недаплатин (Aqupla®, *цис*-диаммин(гликолят-*O,O'*)платина, [SP-4-3]-диаммин(гидроксиацетат(2-)-*O',O''*)платина); тетранитрат триплатина (BBR3464, тетранитрат гексаамминдихлор-бис[μ-(1,6-гександиамин-κ*N:κN'*)]триплатины(4⁺)); фенантриплатин (нитрат [SP-4-3]-диамминхлор(фенантридин)платины(1⁺)), пикоплатин ([SP-4-3]-амминдихлор(2-метилпиридин)платина), сатраплатин (JM216, [OC-6-43]-бис(ацетат-*O*)-амминдихлор(циклогексанамины)платина); лобаплатин ([SP-4-3]-(*S*),(*транс*)]-(1,2-циклобутандиметанамины-*N,N'*)[2-гидроксипропаноат(2-)-*O',O''*]-платина); гептаплатин (Eptaplatin, [SP-4-2-[4*R*-(2α,4α,5β)]]-[2-(1-метилэтил)-1,3-диоксолан-4,5-диметанамины-*N,N'*][пропандиоат(2-)-*O,O'*]-платина); их фармацевтически приемлемые соли или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины представляет собой цисплатин.

[00107] В определенных вариантах осуществления антинеопластические средства на основе платины можно вводить любым путем, подходящим для введения фармацевтической композиции, содержащей небольшие молекулы, таким как, например, подкожный, интраперитонеальный, внутривенный, внутримышечный, интратуморальный, интрацеребральный или пероральный. В определенных вариантах осуществления антинеопластические средства на основе платины вводят внутривенно. В определенных вариантах осуществления антинеопластические средства на основе платины вводят согласно подходящей схеме введения, например, один раз в день, один раз в два дня, один раз в три дня, один раз в четыре дня, один раз в пять дней, один раз в шесть дней, один раз в неделю, два раза в неделю, один раз в месяц, два раза в месяц, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре недели. Антинеопластические средства на основе платины можно вводить в любом терапевтически эффективном количестве. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество составляет от приблизительно 1 мг/м^2 до приблизительно 1000 мг/м^2 площади поверхности тела. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество составляет от приблизительно 50 мг/м^2 до приблизительно 70 мг/м^2 . В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество составляет от приблизительно 50 мг/м^2 до приблизительно 100 мг/м^2 , от приблизительно 50 мг/м^2 до приблизительно 150 мг/м^2 или от приблизительно 50 мг/м^2 до приблизительно 200 мг/м^2 площади поверхности тела. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество составляет от приблизительно 10 мг/м^2 до приблизительно 50 мг/м^2 , от приблизительно 10 мг/м^2 до приблизительно 70 мг/м^2 или от 10 мг/м^2 до приблизительно 100 мг/м^2 площади поверхности тела. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество составляет от приблизительно 1 мг/м^2 до приблизительно 50 мг/м^2 , от приблизительно 1 мг/м^2 до приблизительно 70 мг/м^2 или от приблизительно 1 мг/м^2 до приблизительно 100 мг/м^2 площади поверхности тела. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество составляет от приблизительно 100 мг/м^2 до приблизительно 200 мг/м^2 , от приблизительно 200 мг/м^2 до приблизительно 500 мг/м^2 или от приблизительно 300 мг/м^2 до приблизительно 600 мг/м^2 площади поверхности тела. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество составляет приблизительно 1 мг/м^2 , 2 мг/м^2 , 3 мг/м^2 , 4 мг/м^2 , 5 мг/м^2 , 6 мг/м^2 , 7 мг/м^2 , 8 мг/м^2 , 9 мг/м^2 , 10 мг/м^2 , 20 мг/м^2 , 30 мг/м^2 , 40 мг/м^2 , 50 мг/м^2 , 60 мг/м^2 , 70 мг/м^2 , 80 мг/м^2 , 90 мг/м^2 , 100 мг/м^2 , 110 мг/м^2 , 120 мг/м^2 , 130 мг/м^2 , 140 мг/м^2 , 150 мг/м^2 , 160 мг/м^2 , 170 мг/м^2 , 180

мг/м², 190 мг/м², 200 мг/м², 300 мг/м², 400 мг/м², 500 мг/м², 600 мг/м², 700 мг/м², 800 мг/м², 900 мг/м², или 1000 мг/м² площади поверхности тела.

[00108] В определенных вариантах осуществления цисплатин можно вводить в любом терапевтически эффективном количестве. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество цисплатина составляет от приблизительно 50 мг/м² до приблизительно 70 мг/м² площади поверхности тела. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество цисплатина составляет от приблизительно 50 мг/м² до приблизительно 100 мг/м² площади поверхности тела. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество цисплатина составляет от приблизительно 10 мг/м² до приблизительно 70 мг/м² площади поверхности тела. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество цисплатина составляет от приблизительно 10 мг/м² до приблизительно 100 мг/м² площади поверхности тела. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество цисплатина составляет от приблизительно 1 мг/м² до приблизительно 50 мг/м² площади поверхности тела. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество цисплатина составляет от приблизительно 1 мг/м² до приблизительно 70 мг/м² площади поверхности тела. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество цисплатина составляет от приблизительно 1 мг/м² до приблизительно 100 мг/м² площади поверхности тела. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество цисплатина составляет приблизительно 1 мг/м², 2 мг/м², 3 мг/м², 4 мг/м², 5 мг/м², 6 мг/м², 7 мг/м², 8 мг/м², 9 мг/м², 10 мг/м², 20 мг/м², 30 мг/м², 40 мг/м², 50 мг/м², 60 мг/м², 70 мг/м², 80 мг/м², 90 мг/м², или 100 мг/м² площади поверхности тела.

[00109] В определенных вариантах осуществления индивидууму можно вводить антинеопластические средства на основе платины при фиксированном уровне дозы, составляющем от приблизительно 10 миллиграммов до приблизительно 1500 миллиграммов. В определенных вариантах осуществления индивидууму можно вводить антинеопластические средства на основе платины при фиксированном уровне дозы, составляющем от приблизительно 50 миллиграммов до приблизительно 1000 миллиграммов, от приблизительно 50 миллиграммов до приблизительно 800 миллиграммов, от приблизительно 50 миллиграммов до приблизительно 600 миллиграммов, от приблизительно 50 миллиграммов до приблизительно 500 миллиграммов, от приблизительно 100 миллиграммов до приблизительно 500 миллиграммов. В определенных вариантах осуществления индивидууму можно вводить

antineoplastic средства на основе платины при фиксированном уровне дозы, составляющем приблизительно 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, или 1500 миллиграммов. В определенных вариантах осуществления индивидууму можно вводить antineoplastic средства на основе платины на уровне, подходящем для монотерапии.

[00110] В определенных вариантах осуществления индивидууму можно вводить цисплатин при фиксированном уровне дозы, составляющем от приблизительно 10 миллиграммов до приблизительно 500 миллиграммов. В определенных вариантах осуществления индивидууму можно вводить цисплатин при фиксированном уровне дозы, составляющем от приблизительно 50 миллиграммов до приблизительно 500 миллиграммов, от приблизительно 50 миллиграммов до приблизительно 400 миллиграммов, от приблизительно 100 миллиграммов до приблизительно 400 миллиграммов, от приблизительно 100 миллиграммов до приблизительно 300 миллиграммов или от приблизительно 100 миллиграммов до приблизительно 200 миллиграммов. В определенных вариантах осуществления индивидууму можно вводить цисплатин при фиксированном уровне дозы, составляющем приблизительно 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, или 500 миллиграммов. В определенных вариантах осуществления индивидууму можно вводить цисплатин на уровне, подходящем для монотерапии.

Дозировки H5D8

[00111] В определенных вариантах осуществления антитела можно вводить любым путем, подходящим для введения фармацевтических композиций, содержащих антитела, таким как, например, подкожный, интраперитонеальный, внутривенный, внутримышечный, внутриопухолевый или интрацеребральный и т. д. В определенных вариантах осуществления антитела вводят внутривенно. В определенных вариантах осуществления антитела вводят согласно подходящей схеме введения, например, раз в неделю, два раза в неделю, раз в месяц, два раза в месяц и т. д. В определенных вариантах осуществления антитела вводят один раз в три недели. Антитела можно вводить в любом терапевтически эффективном количестве. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество составляет от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество составляет от приблизительно 0,05 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество

составляет от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество составляет от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 40 мг/кг. В определенных вариантах осуществления терапевтически приемлемое количество составляет от приблизительно 5 мг/кг до приблизительно 30 мг/кг. Антитело h5D8 можно вводить в фиксированной дозе независимо от веса или массы индивидуума, которому вводят антитело h5D8. Антитело h5D8 можно вводить в фиксированной дозе независимо от веса или массы индивидуума, которому вводят антитело h5D8, при условии, что масса индивидуума составляет по меньшей мере приблизительно 37,5 килограмма. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 1 миллиграмма до приблизительно 2000 миллиграммов. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 10 до приблизительно 2000 миллиграммов. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 25 до приблизительно 2000 миллиграммов. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 50 до приблизительно 2000 миллиграммов. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 75 до приблизительно 2000 миллиграммов. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 225 до приблизительно 2000 миллиграммов, от приблизительно 750 до приблизительно 2000 миллиграммов, от приблизительно 1125 до приблизительно 2000 миллиграммов или от приблизительно 1500 до приблизительно 2000 миллиграммов. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 1 миллиграмм. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 10 миллиграммов. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 25 миллиграммов. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 50 миллиграммов. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 75 миллиграммов. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 225 миллиграммов. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 750 миллиграммов. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 1125 миллиграммов. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 1500 миллиграммов. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 2000 миллиграммов.

[00112] Предполагаются и другие дозировки h5D8. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 1, 10, 25, 50, 100, 150, 175, 200, 250, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 725, 775, 800, 825,

850, 875, 900, 925, 950, 975, 1000, 1025, 1050, 1075, 1100, 1150, 1175, 1200, 1225, 1250, 1275, 1300, 1325, 1350, 1375, 1400, 1425, 1450, 1475, 1525, 1550, 1575, 1600, 1625, 1650, 1675, 1700, 1725, 1750, 1775, 1800, 1825, 1850, 1875, 1900, 1925, 1950, 1975, 2025, 2050, 2075, или 2100 миллиграммов. Любую из этих доз можно вводить один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре недели.

[00113] Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 1 миллиграмма до приблизительно 2000 миллиграммов один раз в неделю. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 10 миллиграммов до приблизительно 2000 миллиграммов один раз в неделю. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 25 миллиграммов до приблизительно 2000 миллиграммов один раз в неделю. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 50 миллиграммов до приблизительно 2000 миллиграммов один раз в неделю. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 75 миллиграммов до приблизительно 2000 миллиграммов один раз в неделю. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 75 миллиграммов до приблизительно 1500 миллиграммов один раз в неделю. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 225 миллиграммов до приблизительно 1500 миллиграммов, от приблизительно 750 миллиграммов до приблизительно 1500 миллиграммов, от приблизительно 1125 миллиграммов до приблизительно 1500 миллиграммов один раз в неделю. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 1 миллиграмм один раз в неделю. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 10 миллиграммов один раз в неделю. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 25 миллиграммов один раз в неделю. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 50 миллиграммов один раз в неделю. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 75 миллиграммов один раз в неделю. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 225 миллиграммов один раз в неделю. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 750 миллиграммов один раз в неделю. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 1125 миллиграммов один раз в неделю. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 1500 миллиграммов один раз в неделю. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 2000 миллиграммов один раз в неделю.

[illegible]

[00115] Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 1 миллиграмма до приблизительно 2000 миллиграммов один раз в три недели. Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 10 миллиграммов до приблизительно 2000 миллиграммов один раз в три недели.

[illegible]

[001116] Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 1 миллиграмма до приблизительно 2000 миллиграммов один раз в четыре недели.

Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 10 миллиграммов до приблизительно 2000 миллиграммов один раз в четыре недели.

Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 25 миллиграммов до приблизительно 2000 миллиграммов один раз в четыре недели.

Фиксированная доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 50 миллиграммов до приблизительно 2000 миллиграммов один раз в четыре недели.

[illegible]

[00117] Антитело h5D8 можно вводить в дозе исходя из веса или массы тела индивидуума, которому вводят антитело h5D8. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 0,05 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг, от приблизительно 10 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг, от приблизительно 15 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг или от

приблизительно 20 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 1 мг/кг. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 3 мг/кг. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 10 мг/кг. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 15 мг/кг. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 20 мг/кг. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 25 мг/кг.

[00118] Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг один раз в три недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 0,05 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг один раз в три недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг один раз в три недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг один раз в три недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг один раз в три недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг, от приблизительно 10 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг, от приблизительно 15 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг или от приблизительно 20 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг один раз в неделю, один раз в две, три или четыре недели.

[00119] Также предусматриваются и другие скорректированные по весу тела дозы h5D8. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 0,01 мг/кг, 0,05 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,5 мг/кг, 1 мг/кг, 2 мг/кг, 4 мг/кг, 5 мг/кг, 6 мг/кг, 7 мг/кг, 8 мг/кг, 9 мг/кг, 11 мг/кг, 12 мг/кг, 13 мг/кг, 14 мг/кг, 16 мг/кг, 17 мг/кг, 18 мг/кг, 19 мг/кг, 21 мг/кг, 22 мг/кг, 23 мг/кг, 24 мг/кг, 26 мг/кг, 27 мг/кг, 28 мг/кг, 29 мг/кг, или 30 мг/кг. Любую из этих доз можно вводить один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре недели.

[00120] Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 0,01 мг/кг один раз в неделю. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 0,05 мг/кг один раз в неделю. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять

для введения может составлять приблизительно 3 мг/кг один раз в три недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 10 мг/кг один раз в три недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 15 мг/кг один раз в три недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 20 мг/кг один раз в три недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 25 мг/кг один раз в три недели.

[00123] Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 0,01 мг/кг один раз в четыре недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 0,05 мг/кг один раз в четыре недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 0,1 мг/кг один раз в четыре недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 0,5 мг/кг один раз в четыре недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 1 мг/кг один раз в четыре недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 3 мг/кг один раз в четыре недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 10 мг/кг один раз в четыре недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 15 мг/кг один раз в четыре недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 20 мг/кг один раз в четыре недели. Скорректированная по весу тела доза h5D8 для введения может составлять приблизительно 25 мг/кг один раз в четыре недели.

[00124] Любую из доз, подробно описанных в данном документе, можно вводить в/в в течение периода времени, составляющего по меньшей мере приблизительно 60 минут; однако этот период может несколько варьироваться в зависимости от условий, относящихся к каждому отдельному введению.

Схемы введения комбинированных средств терапии

[00125] Комбинированное лечение, предусматривающее полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины, можно осуществлять различными способами. Полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины можно вводить одновременно по одной и той же схеме или в разное время и по разным схемам. В случае введения в одно и то же время введение может осуществляться посредством отдельных составов или одного состава, содержащего как полипептид, связывающий LIF, так и антинеопластическое средство на основе платины. Способы

введения можно комбинировать, например, полипептид, связывающий LIF, можно вводить внутривенно, тогда как антинеопластическое средство на основе платины можно вводить перорально или путем парентеральной инъекции. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, вводят внутривенно, парентерально, подкожно, интратуморально или перорально. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины вводят внутривенно, парентерально, подкожно, интратуморально или перорально.

[00126] Если комбинированное лечение назначается индивидууму по одной и той же схеме, полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины можно вводить один раз в неделю, один раз в две недели или один раз в четыре недели. Полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины можно вводить по отдельности или в одном составе.

[00127] Если комбинированное лечение назначается индивидууму по разным схемам, введение полипептида, связывающего LIF, и антинеопластического средства на основе платины можно чередовать. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины можно вводить индивидууму один или несколько раз до введения полипептида, связывающего LIF. Полипептид, связывающий LIF, можно вводить в течение 1 дня, 2 дней, 3 дней, 4 дней, 5 дней или 6 дней после введения антинеопластического средства на основе платины. Полипептид, связывающий LIF, можно вводить в течение 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель после введения антинеопластического средства на основе платины. Антитело h5D8 можно вводить в течение 1 дня, 2 дней, 3 дней, 4 дней, 5 дней или 6 дней после введения антинеопластического средства на основе платины. Антитело h5D8 можно вводить в течение 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель после введения антинеопластического средства на основе платины.

[00128] Полипептид, связывающий LIF, можно вводить индивидууму один или несколько раз до введения антинеопластического средства на основе платины. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины можно вводить в течение 1 дня, 2 дней, 3 дней, 4 дней, 5 дней или 6 дней после введения полипептида, связывающего LIF. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины можно вводить в течение 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель после введения полипептида, связывающего LIF. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины можно вводить в течение 1 дня, 2 дней, 3 дней, 4 дней, 5 дней или 6 дней после

введения антитела h5D8. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины можно вводить в течение 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель после введения антитела h5D8.

[illegible]

осуществления h5D8 можно вводить индивидууму один раз в неделю, а антинеопластическое средство на основе платины можно вводить индивидууму один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре недели. В определенных вариантах осуществления h5D8 можно вводить индивидууму один раз в две недели, а антинеопластическое средство на основе платины можно вводить индивидууму один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре недели. В определенных вариантах осуществления h5D8 можно вводить индивидууму один раз в три недели, а антинеопластическое средство на основе платины можно вводить индивидууму один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре недели. В определенных вариантах осуществления h5D8 можно вводить индивидууму один раз в четыре недели, а антинеопластическое средство на основе платины можно вводить индивидууму один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре недели.

[00130] Комбинированное лечение согласно настоящему изобретению может предусматривать комбинации, где один или оба активных ингредиента (например, полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины) не эффективны по отдельности в качестве монотерапии, но эффективны при введении в качестве части комбинированного лечения. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины вводят на уровне, не эффективном в режиме монотерапии, но эффективном в комбинации с полипептидом, связывающим LIF. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины вводят на уровне, не эффективном в режиме монотерапии, но эффективном в комбинации с антителом h5D8. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, вводят на уровне, не эффективном в режиме монотерапии, но эффективном в комбинации с антинеопластическим средством на основе платины. В определенных вариантах осуществления h5D8 вводят на уровне, не эффективном в режиме монотерапии, но эффективном в комбинации с антинеопластическим средством на основе платины. В определенных вариантах осуществления и полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины вводят на уровне, не эффективном в режиме монотерапии, но эффективном в комбинации. В определенных вариантах осуществления как h5D8, так и антинеопластическое средство на основе платины вводят на уровне, не эффективном в режиме монотерапии, но эффективном в комбинации.

Показания к применению

[00131] В определенных вариантах осуществления, раскрытых в данном документе, представлены способы и композиции, применимые для лечения рака или опухоли. В определенных вариантах осуществления рак включает опухоли молочной железы, сердца, легкого, тонкой кишки, толстой кишки, селезенки, почки, мочевого пузыря, головы, шеи, яичника, предстательной железы, мозга, поджелудочной железы, кожи, кости, костного мозга, крови, тимуса, матки, яичка и печени. В определенных вариантах осуществления опухоли, которые можно лечить с помощью антител по настоящему изобретению, включают аденому, аденокарциному, ангиосаркому, астроцитому, эпителиальную карциному, герминому, глиобластому, глиому, гемангиоэндотелиому, гемангиосаркому, гематому, гепатобластому, лейкоз, лимфому, медуллобластому, меланому, нейробластому, остеосаркому, ретинобластому, рабдомиосаркому, саркому и/или тератому. В определенных вариантах осуществления опухоль/рак выбраны из группы, состоящей из акральной лентигинозной меланомы, актинического кератоза, аденокарциномы, аденоидно-кистозной карциномы, аденом, аденосаркомы, аденосквамозной карциномы, астроцитарных опухолей, карциномы бартолиновой железы, базальноклеточной карциномы, карциномы бронхиальной железы, капиллярного карциноида, карциномы, карциносаркомы, холангиокарциномы, хондросаркомы, цистаденомы, опухоли эндодермального синуса, гиперплазии эндометрия, саркомы стромы эндометрия, эндометриоидной аденокарциномы, эпендимальной саркомы, саркомы Юинга, очаговой узловой гиперплазии, гастриномы, опухолей из клеток зародышевой линии, глиобластомы, глюкагономы, гемангиобластомы, гемангиоэндотелиомы, гемангиомы, аденомы печени, аденоматоза печени, гепатоцеллюлярной карциномы, инсулинита, интраэпителиального новообразования, интраэпителиального плоскоклеточного новообразования, инвазивной плоскоклеточной карциномы, крупноклеточной карциномы, липосаркомы, карциномы легкого, лимфобластного лейкоза, лимфоцитарного лейкоза, лейомиосаркомы, меланомы, злокачественной меланомы, злокачественной мезотелиальной опухоли, шванномы, медуллобластомы, медуллоэпителиомы, мезотелиомы, мукоэпидермоидной карциномы, миелоидного лейкоза, нейробластомы, нейроэпителиальной аденокарциномы, узловой меланомы, остеосаркомы, карциномы яичника, папиллярной серозной аденокарциномы, опухолей гипофиза, плазмацитомы, псевдосаркомы, карциномы предстательной железы, легочной бластомы, почечно-клеточной карциномы, ретинобластомы, рабдомиосаркомы, саркомы, серозной карциномы, плоскоклеточной карциномы, мелкоклеточной карциномы,

карциномы мягких тканей, соматостатин-секретирующей опухоли, плоскоклеточной карциномы, недифференцированной карциномы, увеальной меланомы, веррукозной карциномы, карциномы влагалища/вульвы, опухоли, секретирующей вазоактивный интестинальный полипептид (ВИПомы), и опухоли Вильмса. В определенных вариантах осуществления опухоль/рак, подлежащие лечению с помощью одного или нескольких антител по настоящему изобретению, включают рак головного мозга, рак головы и шеи, колоректальную карциному, острый миелоидный лейкоз, пре-B-клеточный острый лимфобластный лейкоз, рак мочевого пузыря, астроцитому, предпочтительно астроцитому II, III или IV степени, глиобластому, мультиформную глиобластому, мелкоклеточный рак и немелкоклеточный рак, предпочтительно немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого, метастатическую меланому, андроген-независимый метастатический рак предстательной железы, андроген-зависимый метастатический рак предстательной железы, аденокарциному предстательной железы и рак молочной железы, предпочтительно протоковый рак молочной железы и/или карциному молочной железы. В определенных вариантах осуществления рак, подлежащий лечению с помощью антител по настоящему изобретению, включает глиобластому. В определенных вариантах осуществления рак, подлежащий лечению с помощью одного или нескольких антител по настоящему изобретению, включает рак поджелудочной железы. В определенных вариантах осуществления рак, подлежащий лечению с помощью одного или нескольких антител по настоящему изобретению, включает рак яичника. В определенных вариантах осуществления рак, подлежащий лечению с помощью одного или нескольких антител по настоящему изобретению, включает рак легкого. В определенных вариантах осуществления рак, подлежащий лечению с помощью одного или нескольких антител по настоящему изобретению, включает рак предстательной железы. В определенных вариантах осуществления рак, подлежащий лечению с помощью одного или нескольких антител по настоящему изобретению, включает рак толстой кишки. В определенных вариантах осуществления рак, подлежащий лечению, включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого. В определенном варианте осуществления рак является рефрактерным к другому лечению. В определенном варианте осуществления рак, который лечат, является рецидивирующим. В определенном варианте осуществления рак представляет собой рецидивирующие/рефрактерные глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого. В определенных вариантах осуществления рак включает распространенную солидную опухоль,

глиобластома, рак желудка, рак кожи, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак яичка, рак щитовидной железы, рак головы и шеи, рак печени, рак почки, рак пищевода, рак яичника, рак толстой кишки, рак легкого, лимфому или рак мягких тканей. В определенных вариантах осуществления рак включает немелкоклеточный рак легкого, эпителиальную карциному яичника или аденокарциному поджелудочной железы. В определенных вариантах осуществления рак включает распространенную солидную опухоль. В определенных вариантах осуществления индивидиум является рефрактерным к предыдущему лечению с помощью антитела, связывающего LIF, в режиме монотерапии. В определенных вариантах осуществления индивидиум является рефрактерным к предыдущему лечению с помощью антинеопластического средства на основе платины в режиме монотерапии.

Фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, носители и разбавители

[00132] В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины и полипептиды, связывающие LIF, по настоящему изобретению являются компонентами фармацевтической композиции. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины и полипептиды, связывающие LIF, по настоящему изобретению являются компонентами одной фармацевтической композиции. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит физиологически приемлемую концентрацию соли (например, NaCl). В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,6% до 1,2% NaCl. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,7% до 1,1% NaCl. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,8% до 1,0% NaCl. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит один или несколько из следующих компонентов: буферы, например, ацетатный, цитратный, гистидиновый, сукцинатный, фосфатный, бикарбонатный и гидроксиметиламинометановый (Tris); поверхностно-активные вещества, например полисорбат 80 (Tween 80), полисорбат 20 (Tween 20), полисорбат и полуксамер 188; полиолы/дисахариды/полисахариды, например глюкозу, декстрозу, маннозу, маннит, сорбит, сахарозу, трегалозу и декстран 40; аминокислоты, например гистидин, глицин или аргинин; антиоксиданты, например аскорбиновую кислоту, метионин; и хелатирующие средства, например EGTA или EGTA.

[00133] В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины, полипептиды, связывающие LIF, или как антинеопластическое средство

на основе платины, так и полипептиды, связывающие LIF, по настоящему изобретению вводят в виде суспензии в стерильном растворе. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины и полипептиды, связывающие LIF, вводят в одном растворе. В определенных вариантах осуществления раствор содержит физиологически приемлемую концентрацию соли (например, NaCl). В определенных вариантах осуществления раствор содержит от приблизительно 0,6% до 1,2% NaCl. В определенных вариантах осуществления раствор содержит от приблизительно 0,7% до 1,1% NaCl. В определенных вариантах осуществления раствор содержит от приблизительно 0,8% до 1,0% NaCl. В определенных вариантах осуществления высококонцентрированный исходный раствор антитела можно разбавить в приблизительно 0,9% NaCl. В определенных вариантах осуществления раствор содержит приблизительно 0,9% NaCl. В определенных вариантах осуществления раствор дополнительно содержит один или несколько из следующих компонентов: буферы, например, ацетатный, цитратный, гистидиновый, сукцинатный, фосфатный, бикарбонатный и гидроксиметиламинометановый (Tris); поверхностно-активные вещества, например полисорбат 80 (Tween 80), полисорбат 20 (Tween 20), полисорбат и полуксамер 188; полиолы/дисахариды/полисахариды, например глюкозу, декстрозу, маннозу, маннит, сорбит, сахарозу, трегалозу и декстран 40; аминокислоты, например гистидин, глицин или аргинин; антиоксиданты, например аскорбиновую кислоту, метионин; и хелатирующие средства, например EGTA или EDTA. В определенных вариантах осуществления антинеопластические средства на основе платины и полипептиды, связывающие LIF, по настоящему изобретению транспортируют/хранят в лиофилизированном виде и восстанавливают перед введением. В определенных вариантах осуществления лиофилизированные составы на основе антител содержат объемообразующее средство, такое как маннит, сорбит, сахароза, трегалоза и декстран 40. В определенном варианте осуществления антитела к LIF по настоящему изобретению можно транспортировать и хранить в виде концентрированного исходного раствора, подлежащего разбавлению в месте использования. В определенных вариантах осуществления исходный раствор содержит приблизительно 25 мМ гистидина, приблизительно 6% сахарозы, приблизительно 0,01% полисорбата и приблизительно 20 мг/мл антитела к LIF. В определенных вариантах осуществления показатель pH раствора составляет приблизительно 6,0. В определенных вариантах осуществления состав, вводимый индивидууму, представляет собой водный раствор, содержащий приблизительно 25 мМ гистидина, приблизительно 6% сахарозы, приблизительно 0,01%

полисорбата 80 и приблизительно 20 мг/мл антитела h5D8. В определенных вариантах осуществления показатель pH раствора составляет приблизительно 6,0.

[00134] В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины и полипептиды, связывающие LIF, по настоящему изобретению вводят в виде суспензии в стерильном растворе. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины и полипептиды, связывающие LIF, вводят в одном растворе. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины и полипептиды, связывающие LIF, вводят в отдельных растворах. В определенных вариантах осуществления раствор содержит физиологически приемлемую концентрацию соли (например, NaCl). В определенных вариантах осуществления раствор содержит от приблизительно 0,6% до 1,2% NaCl. В определенных вариантах осуществления раствор содержит от приблизительно 0,7% до 1,1% NaCl. В определенных вариантах осуществления раствор содержит от приблизительно 0,8% до 1,0% NaCl. В определенных вариантах осуществления высококонцентрированный исходный раствор антитела можно разбавить в приблизительно 0,9% NaCl. В определенных вариантах осуществления раствор содержит приблизительно 0,9% NaCl. В определенных вариантах осуществления раствор дополнительно содержит один или несколько из следующих компонентов: буферы, например, ацетатный, цитратный, гистидиновый, сукцинатный, фосфатный, бикарбонатный и гидроксиметиламинометановый (Tris); поверхностно-активные вещества, например полисорбат 80 (Tween 80), полисорбат 20 (Tween 20), полисорбат и полоксамер 188; полиолы/дисахариды/полисахариды, например глюкозу, декстрозу, маннозу, маннит, сорбит, сахарозу, трегалозу и декстран 40; аминокислоты, например гистидин, глицин или аргинин; антиоксиданты, например аскорбиновую кислоту, метионин; и хелатирующие средства, например EGTA или EDTA. В определенных вариантах осуществления антинеопластические средства на основе платины и полипептиды, связывающие LIF, по настоящему изобретению транспортируют/хранят в лиофилизированном виде и восстанавливают перед введением. В определенных вариантах осуществления лиофилизированные составы на основе антител содержат объемообразующее средство, такое как маннит, сорбит, сахароза, трегалоза и декстран 40. В определенном варианте осуществления антитела к LIF по настоящему изобретению можно транспортировать и хранить в виде концентрированного исходного раствора, подлежащего разбавлению в месте использования. В определенных вариантах осуществления исходный раствор содержит приблизительно 25 мМ гистидина, приблизительно 6% сахарозы,

приблизительно 0,01% полисорбата и приблизительно 20 мг/мл антитела к LIF. В определенных вариантах осуществления показатель pH раствора составляет приблизительно 6,0. В определенных вариантах осуществления состав, вводимый индивидууму, представляет собой водный раствор, содержащий приблизительно 25 мМ гистидина, приблизительно 6% сахарозы, приблизительно 0,01% полисорбата 80 и приблизительно 20 мг/мл антитела h5D8. В определенных вариантах осуществления показатель pH раствора составляет приблизительно 6,0.

[00135] Также в данном документе описаны наборы, предназначенные для проведения описанных в данном документе видов комбинированной терапии. В определенных вариантах осуществления набор содержит полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины. В определенных вариантах осуществления набор содержит h5D8 и антинеопластическое средство на основе платины. Один или оба компонента могут находиться во флаконе из стекла или другом подходящем материале или в лиофилизированной, или в жидкой форме.

[00136] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано применение полипептида, связывающего LIF, в комбинации с антинеопластическим средством на основе платины для лечения немелкоклеточного рака легкого, эпителиальной карциномы яичника или аденокарциномы поджелудочной железы у индивидуума. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины вводят индивидууму в отдельных составах. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины вводят индивидууму в одном и том же составе. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, вводят индивидууму до введения индивидууму антинеопластического средства на основе платины. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины вводят индивидууму до введения индивидууму полипептида, связывающего LIF. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины вводят индивидууму одновременно с введением индивидууму полипептида, связывающего LIF. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, содержит фрагмент вариабельной области иммуноглобулина или константной области тяжелой цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, предусматривает антитело, которое специфически связывается с LIF. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит по меньшей мере одну каркасную

область, полученную из каркасной области человеческого антитела. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является гуманизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является деиммунизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой антитело IgG. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) или наноантитело. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3; (b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5; (c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8; (d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10; (e) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и (f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 41, 42, 44 или 66; и (b) последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 45-48. В определенных

вариантах осуществления последовательность VH на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления последовательность VH идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (а) последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 57-60 или 67; и (b) последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 61-64. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с К_D, составляющей менее приблизительно 200 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с К_D, составляющей менее приблизительно 100 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины включает цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, тетранитрат триплатина, фенантриплатин, пикоплатин, сатраплатин или их комбинации. В определенных вариантах осуществления рак является рефрактерным к лечению терапевтическим количеством полипептида, связывающего LIF, или антинеопластического средства на основе платины, вводимых в режиме монотерапии.

[00137] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано применение полипептида, связывающего LIF, в комбинации с антинеопластическим средством на основе платины для лечения колоректального рака у индивидуума. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины вводят индивидууму в отдельных составах. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины вводят индивидууму в одном и том же составе. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, вводят

индивидууму до введения индивидууму антинеопластического средства на основе платины. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины вводят индивидууму до введения индивидууму полипептида, связывающего LIF. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины вводят индивидууму одновременно с введением индивидууму полипептида, связывающего LIF. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, содержит фрагмент вариабельной области иммуноглобулина или константной области тяжелой цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, предусматривает антитело, которое специфически связывается с LIF. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит по меньшей мере одну каркасную область, полученную из каркасной области человеческого антитела. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является гуманизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является деиммунизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой антитело IgG. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) или наноантитело. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3; (b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5; (c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8; (d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10; (e) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или

12; и (f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 41, 42, 44 или 66; и (b) последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 45-48. В определенных вариантах осуществления последовательность VH на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления последовательность VH идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 57-60 или 67; и (b) последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 61-64. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с K_D , составляющей менее приблизительно 200 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с K_D , составляющей менее приблизительно 100 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины включает цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, тетранитрат триплатина, фенантриплатин, пикоплатин, сатраплатин или их комбинации. В определенных вариантах осуществления

рак является рефрактерным к лечению терапевтическим количеством полипептида, связывающего LIF, или антинеопластического средства на основе платины, вводимых в режиме монотерапии.

[00138] В определенных вариантах осуществления в данном документе описано применение полипептида, связывающего LIF, в комбинации с антинеопластическим средством на основе платины для лечения мультiformной глиобластомы у индивидуума. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины вводят индивидууму в отдельных составах. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины вводят индивидууму в одном и том же составе. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, вводят индивидууму до введения индивидууму антинеопластического средства на основе платины. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины вводят индивидууму до введения индивидууму полипептида, связывающего LIF. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины вводят индивидууму одновременно с введением индивидууму полипептида, связывающего LIF. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, содержит фрагмент вариабельной области иммуноглобулина или константной области тяжелой цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления полипептид, связывающий LIF, предусматривает антитело, которое специфически связывается с LIF. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит по меньшей мере одну каркасную область, полученную из каркасной области человеческого антитела. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является гуманизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, является деиммунизированным. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой антитело IgG. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) или наноантитело. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой

цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3; (b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5; (c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8; (d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10; (e) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и (f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 41, 42, 44 или 66; и (b) последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 45-48. В определенных вариантах осуществления последовательность VH на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления последовательность VH идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: (a) последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под

любым из SEQ ID NO: 57-60 или 67; и (b) последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 61-64. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с K_D , составляющей менее приблизительно 200 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с K_D , составляющей менее приблизительно 100 пикомоль/л. В определенных вариантах осуществления антинеопластическое средство на основе платины включает цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, тетранитрат триплатина, фенантриплатин, пикоплатин, сатраплатин или их комбинации. В определенных вариантах осуществления рак является рефрактерным к лечению терапевтическим количеством полипептида, связывающего LIF, или антинеопластического средства на основе платины, вводимых в режиме монотерапии.

[00139] Используемые в данном документе термины "осуществление лечения" или "лечение" относятся к вмешательству в болезненное состояние, предназначенному для достижения одного или нескольких благоприятных эффектов. Лечение рака/опухоли включает способы, предназначенные для того, чтобы вызвать, или действительно вызывающие стабилизацию заболевания, частичный ответ, полный ответ, продление выживаемости без прогрессирования, продление общей выживаемости, уменьшение опухоли, замедление роста опухоли, остановку роста опухоли или предотвращение или снижение метастазирования. В определенных случаях терапевтические способы, описанные в данном документе, можно применять в качестве поддерживающего лечения после успешного лечения или для предотвращения рецидива или метастазирования конкретной опухоли или рака. Следует понимать, что не все индивидуумы будут отвечать в одинаковой степени или вообще будут отвечать на данное введение терапевтического антитела, однако, даже если ответ не выявлен, такие индивидуумы тем не менее считаются прошедшими лечение.

Типичные варианты осуществления

[00140] К числу типичных вариантов осуществления относятся: 1. Применение полипептида, связывающего лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), в комбинации с антинеопластическим средством на основе платины для лечения рака у индивидуума. 2. Применение согласно варианту осуществления 1, где полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины вводятся индивидууму в отдельных

составах. 3. Применение согласно варианту осуществления 1, где полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины вводятся индивидууму в одном и том же составе. 4. Применение согласно вариантам осуществления 1 или 2, где полипептид, связывающий LIF, вводится индивидууму до введения индивидууму антинеопластического средства на основе платины. 5. Применение согласно вариантам осуществления 1 или 2, где антинеопластическое средство на основе платины вводится индивидууму до введения индивидууму полипептида, связывающего LIF. 6. Применение согласно любому из вариантов осуществления 1-3, где антинеопластическое средство на основе платины вводится индивидууму одновременно с введением индивидууму полипептида, связывающего LIF. 7. Применение согласно любому из вариантов осуществления 1-6, где полипептид, связывающий LIF, содержит фрагмент вариабельной области иммуноглобулина или константной области тяжелой цепи иммуноглобулина. 8. Применение согласно варианту осуществления 7, где полипептид, связывающий LIF, предусматривает антитело, которое специфически связывается с LIF. 9. Применение согласно варианту осуществления 8, где антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит по меньшей мере одну каркасную область, полученную из каркасной области человеческого антитела. 10. Применение согласно варианту осуществления 8, где антитело, которое специфически связывается с LIF, является гуманизированным. 11. Применение согласно варианту осуществления 8, где антитело, которое специфически связывается с LIF, является деиммунизированным. 12. Применение согласно варианту осуществления 8, где антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. 13. Применение согласно варианту осуществления 8, где антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой антитело IgG. 14. Применение согласно варианту осуществления 8, где антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) или наноантитело. 15. Применение согласно любому из вариантов осуществления 8-14, где антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3; б) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5; с) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-

CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8; d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10; e) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13. 16. Применение согласно любому из вариантов осуществления 8-15, где антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: а) последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 41, 42, 44 или 66; и b) последовательность вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина (VL) с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 45-48. 17. Применение согласно варианту осуществления 16, где последовательность VH на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. 18. Применение согласно варианту осуществления 17, где последовательность VH идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. 19. Применение согласно любому из вариантов осуществления 8-18, где антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: а) последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 57-60 или 67; и (b) последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 61-64. 20. Применение согласно любому из вариантов

осуществления 8-19, где антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с KD, составляющей менее приблизительно 200 пикомоль/л. 21. Применение согласно любому из вариантов осуществления 8-19, где антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с K_D, составляющей менее приблизительно 100 пикомоль/л. 22. Применение согласно любому из вариантов осуществления 10-21, где антинеопластическое средство на основе платины включает цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, тетранитрат триплатина, фенантриплатин, пикоплатин, сатраплатин или их комбинации. 23. Применение согласно варианту осуществления 22, где антинеопластическое средство на основе платины представляет собой цисплатин. 24. Применение согласно любому из вариантов осуществления 1-23, где рак включает распространенную солидную опухоль, глиобластома, рак желудка, рак кожи, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак яичка, рак щитовидной железы, рак головы и шеи, рак печени, рак почки, рак пищевода, рак яичника, рак толстой кишки, рак легкого, лимфому или рак мягких тканей. 25. Применение согласно варианту осуществления 24, где рак включает немелкоклеточный рак легкого, эпителиальную карциному яичника или аденокарциному поджелудочной железы. 26. Применение согласно любому из вариантов осуществления 1-25, где рак является рефрактерным к лечению терапевтическим количеством полипептида, связывающего LIF, или антинеопластического средства на основе платины, вводимых в режиме монотерапии. 27. Способ лечения индивидуума, страдающего от рака, предусматривающий введение индивидууму, страдающему от рака, эффективного количества комбинации: а) полипептида, связывающего лейкоз-ингибирующий фактор (LIF); и б) антинеопластического средства на основе платины. 28. Способ согласно варианту осуществления 27, предусматривающий введение эффективного количества полипептида, связывающего LIF, индивидууму, страдающему от рака. 29. Способ согласно варианту осуществления 27, предусматривающий введение эффективного количества антинеопластического средства на основе платины индивидууму, страдающему от рака. 30. Способ согласно любому из вариантов осуществления 27-29, где полипептид, связывающий LIF, предусматривает фрагмент вариабельной области иммуноглобулина или константной области тяжелой цепи иммуноглобулина. 31. Способ согласно любому из вариантов осуществления 27-29, где полипептид, связывающий LIF, предусматривает антитело, которое специфически связывается с LIF. 32. Способ согласно варианту осуществления 31, где антитело, которое специфически связывается с LIF, предусматривает по меньшей мере одну каркасную область, полученную из каркасной

области человеческого антитела. 33. Способ согласно варианту осуществления 31, где антитело, которое специфически связывается с LIF, является гуманизированным. 34. Способ согласно варианту осуществления 31, где антитело, которое специфически связывается с LIF, является деиммунизированным. 35. Способ согласно варианту осуществления 31, где антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. 36. Способ согласно варианту осуществления 31, где антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой антитело IgG. 37. Способ согласно варианту осуществления 31, где антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) или наноантитело. 38. Способ согласно любому из вариантов осуществления 31-37, где антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3; b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5; c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8; d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10; e) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13. 39. Способ согласно любому из вариантов осуществления 31-37, где антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: а) последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 41, 42, 44 или 66; и b) последовательность вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина (VL) с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под

любым из SEQ ID NO: 45-48. 40. Способ согласно варианту осуществления 39, где последовательность VH на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. 41. Способ согласно варианту осуществления 40, где последовательность VH идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46. 42. Способ согласно любому из вариантов осуществления 31-37, где антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит: а) последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 57-60 или 67; и (b) последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 61-64. 43. Способ согласно любому из вариантов осуществления 31-42, где антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с KD, составляющей менее приблизительно 200 пикомоль/л. 44. Способ согласно любому из вариантов осуществления 31-42, где антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с KD, составляющей менее приблизительно 100 пикомоль/л. 45. Способ согласно любому из вариантов осуществления 27-44, где антинеопластическое средство на основе платины включает цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, тетранитрат триплатина, фенантриплатин, пикоплатин, сатраплатин или их комбинации. 46. Способ согласно варианту осуществления 45, где антинеопластическое средство на основе платины представляет собой цисплатин. 47. Способ согласно любому из вариантов осуществления 27-46, где рак включает распространенную солидную опухоль, глиобластома, рак желудка, рак кожи, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак яичка, рак щитовидной железы, рак головы и шеи, рак печени, рак почки, рак пищевода, рак яичника, рак толстой кишки, рак легкого, лимфому или рак мягких тканей. 48. Способ согласно варианту осуществления 47, где рак включает немелкоклеточный рак легкого, эпителиальную карциному яичника или аденокарциному поджелудочной железы. 49. Способ согласно любому из вариантов осуществления 27-48, где рак является

рефрактерным к лечению терапевтическим количеством ингибитора полипептида, связывающего LIF. 50. Способ согласно любому из вариантов осуществления 27-48, где рак является рефрактерным к лечению терапевтическим количеством антинеопластического средства на основе платины. 51. Способ согласно любому из вариантов осуществления 27-50, где полипептид, связывающий лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), и антинеопластическое средство на основе платины вводят по отдельности. 52. Способ согласно любому из вариантов осуществления 27-50, где полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины вводят одновременно. 53. Способ согласно любому из вариантов осуществления 27-50, где полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины вводят в одной композиции. 54. Применение антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), в комбинации с антинеопластическим средством на основе платины для лечения рака у индивидуума, где антитело, связывающее LIF, содержит: а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3; b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5; c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8; d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10; e) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13. 55. Способ лечения индивидуума, страдающего от рака, предусматривающий введение индивидууму, страдающему от рака, эффективного количества комбинации: а) антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащего: i. определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3; ii. определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную

последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5; iii. определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8; iv. определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10; v. определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и vi. определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13; и b) антинеопластического средства на основе платины. 56. Способ согласно варианту осуществления 55, предусматривающий введение эффективного количества полипептида, связывающего LIF, индивидууму, страдающему от рака. 57. Способ согласно варианту осуществления 55, предусматривающий введение эффективного количества антинеопластического средства на основе платины индивидууму, страдающему от рака.

ПРИМЕРЫ

[00141] Следующие иллюстративные примеры представляют варианты осуществления композиций и способов, описанных в данном документе, и никоим образом не предназначены для ограничения.

Пример 1. Получение крысиных антител, специфических к LIF.

[00142] КДНК, кодирующую аминокислоты 23-202 человеческого LIF, клонировали в экспрессионные плазмиды (Aldevron GmbH, Фрайбург, Германия). Группы лабораторных крыс (Wistar) иммунизировали путем внутрикожного введения частиц золота, покрытых ДНК, с использованием ручного устройства для бомбардировки частицами ("генной пушки"). Экспрессию на клеточной поверхности временно трансфицированных клеток НЕК подтверждали с использованием антител к метке, распознающих метку, присоединенную к N-концу белка LIF. Образцы сыворотки крови собирали после серий иммунизаций и тестировали посредством проточной цитометрии на клетках НЕК, временно трансфицированных вышеупомянутыми экспрессионными плазмидами. Антителопродуцирующие клетки выделяли и подвергали слиянию с клетками миеломы мыши (Ag8) в соответствии со стандартными процедурами. Гибридомы, продуцирующие антитела, специфические к LIF, идентифицировали путем скрининга с помощью

проточной цитометрии, как это описано выше. Осадки положительных клеток гибридомы получали с использованием средства для стабилизации и защиты клеточной РНК (RNAlater, № по кат. AM7020, ThermoFisher Scientific) и дополнительно обрабатывали для секвенирования переменных доменов антител.

Пример 2. Получение мышинных антител, специфических к LIF

[00143] КДНК, кодирующую аминокислоты 23-202 человеческого LIF, клонировали в экспрессионные плазмиды (Aldevron GmbH, Фрайбург, Германия). Группы лабораторных мышей (NMRI) иммунизировали путем внутрикожного введения частиц золота, покрытых ДНК, с использованием ручного устройства для бомбардировки частицами ("генной пушки"). Экспрессию на клеточной поверхности временно трансфицированных клеток НЕК подтверждали с использованием антител к метке, распознающих метку, присоединенную к N-концу белка LIF. Образцы сыворотки крови собирали после серий иммунизаций и тестировали посредством проточной цитометрии на клетках НЕК, временно трансфицированных вышеупомянутыми экспрессионными плазмидами. Антителопродуцирующие клетки выделяли и подвергали слиянию с клетками миеломы мыши (Ag8) в соответствии со стандартными процедурами. Гибридомы, продуцирующие антитела, специфические к LIF, идентифицировали путем скрининга с помощью проточной цитометрии, как это описано выше. Осадки положительных клеток гибридомы получали с использованием средства для стабилизации и защиты клеточной РНК (RNAlater, № по кат. AM7020, ThermoFisher Scientific) и дополнительно обрабатывали для секвенирования переменных доменов антител.

Пример 3. Гуманизация крысиных антител, специфических к LIF

[00144] Один клон (5D8), полученный в результате иммунизации крыс, выбрали для последующей гуманизации. Гуманизацию проводили с использованием стандартных методов прививания CDR. Области тяжелой цепи и легкой цепи клонировали из гибридомы 5D8 с использованием стандартных методик молекулярного клонирования и секвенировали по методу Сэнгера. Затем проводили поиск BLAST переменных последовательностей тяжелой цепи и легкой цепи человека, и 4 последовательности из каждой выбрали в качестве акцепторных каркасов для гуманизации. Эти акцепторные каркасы подвергали деиммунизации для удаления эпитопов Т-клеточного ответа. CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и легкой цепи 5D8 клонировали в 4 разных акцепторных каркаса тяжелой цепи (H1 - H4) и в 4 разных акцепторных каркаса легкой цепи (L1 - L4). Затем все 16 разных антител тестировали на: экспрессию в клетках CHO-S (Selexis); ингибирование LIF-индуцированного фосфорилирования STAT3; и аффинность

связывания посредством поверхностного плазмонного резонанса (SPR). Данные по этим экспериментам обобщены в

Таблице 1.

Таблица 1. Сводные данные по гуманизации 5D8			
Комбинация тяжелой цепи и легкой цепи	Ингибирование LIF-индуцированного pSTAT3 согласно фиг. 1	Аффинность по SPR, K_{D1} (пМ)	Экспрессия (мкг/мл)
H0L0	+++	133±46	393
H1L1	-	н. п.	627
H1L2	+++	55±23	260
H1L3	+++	54±31	70
H1L4	-	н. п.	560
H2L1	-	н. п.	369
H2L2	+++	52±22	392
H2L3	++	136±19	185
H2L4	-	н. п.	78
H3L1	н. п.	н. п.	Экспрессия отсутствует
H3L2	н. п.	н. п.	Экспрессия отсутствует
H3L3	н. п.	н. п.	Экспрессия отсутствует
H3L4	н. п.	н. п.	Экспрессия отсутствует
H4L1	-	н. п.	259
H4L2	++	913±308	308
H4L3	+		252
H4L4	-	н. п.	186
н. п. = не проверяли; H0L0 = химерное антитело с полными вариабельными областями тяжелой и легкой цепей крысы			

[00145] Характеристики экспрессии трансфицированных клеток сравнивали в колбах Эрленмейера (посев 3×10^5 клеток/мл, объем культуры 200 мл) в ходе культивирования с

подпиткой после 10 дней культивирования клеток. На данном этапе клетки собирали и секретируемое антитело очищали с использованием колонки с белком А, а затем определяли количественно. Наблюдали экспрессию всех гуманизированных антител за исключением тех, которые содержали тяжелую цепь H3 (SEQ ID NO: 43).

[00146] Ингибирование LIF-индуцированного фосфорилирования STAT3 по тирозину 705 определяли посредством вестерн-блоттинга. Клетки глиомы U251 высевали в 6-луночные планшеты при плотности 100000 клеток/лунка. Клетки культивировали в полной среде в течение 24 часов перед любой обработкой, а после этого клетки подвергали сывороточному голоданию в течение 8 часов. После этого клетки инкубировали в течение ночи с указанными антителами в концентрации 10 мкг/мл. После обработки белки выделяли с использованием буфера для лизиса для анализа радиоиммунопреципитации (RIPA), содержащего ингибиторы фосфатаз и протеаз, количественно определяли (BCA-protein assay, Thermo Fisher Scientific) и использовали в вестерн-блоттинге. Для вестерн-блоттинга мембраны блокировали в течение 1 часа в 5% обезжиренном сухом молоке - TBST и инкубировали с первичным антителом в течение ночи (p-STAT3, № по каталогу 9145, Cell Signaling или STAT3, № по каталогу 9132, Cell Signaling) или 30 минут (β -актин-пероксидаза, № по каталогу A3854, Sigma-Aldrich). Затем мембраны промывали в TBST, инкубировали со вторичным антителом и снова промывали. Белки детектировали по хемилюминесценции (SuperSignal Substrate, № по каталогу 34076, Thermo Fisher Scientific). Данные результаты показаны на **фиг. 1**. Чем темнее полоса pSTAT3, тем меньше ингибирование. Ингибирование было высоким в дорожках, обозначенных 5D8 (негуманизированное крысиное антитело), А (H0L0), С (H1L2), D (H1L3) и G (H2L2); ингибирование было умеренным в H (H2L3), O (H4L2) и P (H4L3); ингибирование отсутствовало в B (H1L1), E (H1L4), F (H2L1), I (H2L4), N (H4L1) и Q (H4L4).

[00147] Затем антитела, которые показали ингибирование LIF-индуцированного фосфорилирования STAT3, анализировали посредством SPR для определения аффинности связывания. Вкратце, связывание гуманизированных антител А (H0L0), С (H1L2), D (H1L3) и G (H2L2), H (H2L3) и O (H4L2) со связанным по аминокруппе hLIF выявляли в анализе с использованием прибора Biacore™ 2002. Кинетические константы и показатели аффинности определяли путем математической аппроксимации сенсограмм (модель взаимодействия Ленгмюра [$A + B = AB$]) среди всех сенсограмм, полученных на всех поверхностях сенсорного чипа при шести концентрациях лиганда. Для расчета кинетических констант и показателей аффинности использовали кривые наилучшей

аппроксимации (минимальное значение χ^2) для каждой концентрации. См. **таблицу 1**.

[00148] Поскольку в экспериментальной модели в качестве аналитов использовали двухвалентные антитела, сенсограммы с наилучшей аппроксимацией также анализировали на основе модели аппроксимации двухвалентного аналита [$A + B = AB$; $AB + B = AB_2$], чтобы получить более подробное представление о механизме связывания мишени гуманизированными антителами. Анализ кинетических сенсограмм с использованием модели аппроксимации двухвалентного аналита [$A + B = AB$; $AB + B = AB_2$] подтвердил ранжирование образцов mAb по относительной аффинности.

[00149] Гуманизированное 5D8, содержащее H2 и L2, выбрали для более детального анализа из-за его высокой аффинности связывания и высокого выхода из периодической культуры.

Пример 4. Гуманизация клона 5D8 улучшает связывание с LIF

[00150] Клон H2L2 (h5D8) выбрали для дальнейшего анализа и посредством SPR сравнивали связывание с исходным крысиным 5D8 (r5D8) и мышинным клоном 1B2. Антитело 1B2 представляет собой ранее описанное мышинное антитело к LIF, депонированное в Deutsche Sammlung von Mikroorganismen and Zellkulturen GmbH (DSMZ ACC3054) и включенное в целях сравнения. Рекомбинантный человеческий LIF, выделенный из клеток *E. coli* и HEK-293 соответственно, использовали в качестве лигандов. LIF от человека или из *E. coli* ковалентно связывали с поверхностью оптических сенсорных чипов Biacore с использованием химии иммобилизации по аминокислоте, и показатели аффинности связывания рассчитывали на основе кинетических констант.

Материалы и способы

[00151] Человеческий LIF из *E. coli* получили от Millipore, ссылка в каталоге LIF 1010; человеческий LIF из клеток HEK-293 получили от ACRO Biosystems, ссылка в каталоге LIF-H521b. LIF иммобилизовали на сенсорных чипах с использованием набора Biacore Amine Coupling Kit (BR-1000-50; GE-Healthcare, Уппсала, Швеция). Образцы анализировали на приборе Biacore™ 2002 с использованием оптических сенсорных чипов CM5 (BR-1000-12; GE-Healthcare, Уппсала, Швеция). Буфер Biacore HBS-EP использовали в ходе выполнения циклов (BR-1001-88; GE-Healthcare, Уппсала, Швеция). Кинетический анализ сенсограмм связывания проводили с использованием программы BIAevaluation 4.1. Кинетические константы и показатели аффинности определяли путем математической аппроксимации сенсограмм (модель взаимодействия Ленгмюра [$A + B = AB$]) среди всех сенсограмм, полученных на всех поверхностях сенсорного чипа при возрастающих концентрациях аналита. Сенсограммы также анализировали на основе модели

аппроксимации сенсограммы двухвалентного анализата $[A + B = AB; AB + B = AB_2]$, включая компонентный анализ, чтобы произвести оценку вклада двухвалентного анализата в определенные аффинности антитела к мишени по Ленгмюру (например, вклад в авидность). Для расчета кинетических констант и показателей аффинности использовали кривые наилучшей аппроксимации (минимальное значение χ^2) для каждой концентрации. Краткое изложение данных экспериментов аффинности показано в **таблице 2** (человеческий LIF, полученный в *E. coli*) и **таблице 3** (человеческий LIF, полученный в клетках HEK 293).

Таблица 2. Улучшенное связывание 5D8 после гуманизации	K _D [пМ]	
	Аппроксимация сенсограммы по Ленгмюру 1:1	Аппроксимация двухвалентного анализата
hLIF (<i>E. coli</i>)		
Мышиное антитело 1B2	400±210	1500±200
r5D8 (крысиное)	130±30	780±130
h5D8 (гуманизированное)	26±14	82±25

Таблица 3. Улучшенное связывание 5D8 после гуманизации	K _D [пМ]	
	Аппроксимация сенсограммы по Ленгмюру 1:1	Аппроксимация двухвалентного анализата
hLIF (HEK 293)		
Мышиное антитело 1B2	320±150	3900±900
r5D8 (крысиное)	135±100	410±360
h5D8 (гуманизированное)	13±6	63±30

[00152] Модель аппроксимации сенсограммы Ленгмюра 1:1 из этой серии экспериментов показывает, что гуманизированное антитело 5D8 (h5D8) связывалось с LIF человека с аффинностью, которая в ~10-25 раз больше, чем аффинность у мышиного 1B2 и r5D8.

[00153] Затем антитело h5D8 тестировали с LIF нескольких видов с использованием SPR. Кинетику связывания h5D8 по SPR проверяли для рекомбинантных анализатов LIF, полученных от разных видов и систем экспрессии: человеческий LIF (*E. coli*, клетки HEK293); мышиный LIF (клетки *E. coli*, CHO); крысиный LIF (*E. coli*); LIF макака-

крабоведа (дрожжи, клетки HEK293).

Материалы и способы

[00154] Антитело h5D8 иммобилизовали на поверхности сенсорного чипа нековалентным Fc-специфическим захватом. Рекомбинантный Ig(Fc)-специфический белок A/G *S. aureus* использовали в качестве захватывающего средства, обеспечивающего стерически однородную и гибкую презентацию антитела к LIF анализам LIF. Источники анализов LIF следующие: человеческий LIF (из *E. coli*; ссылка в каталоге Millipore LIF 1050); человеческий LIF (из клеток HEK, ACRO Biosystems LIF-H521); мышинный LIF (*E. coli*; Millipore № по кат. NF-LIF2010); мышинный LIF (из клеток CHO; ReproKine № по каталогу RCP09056); LIF обезьяны (дрожжи Kingfisher Biotech № по каталогу RP1074Y); LIF обезьяны, продуцируемый в клетках HEK-293. В целом h5D8 проявлял связывание с LIF нескольких видов. Краткое изложение данных по эксперименту аффинности показано в **таблице 4.**

Таблица 4. Широкая видовая реактивность гуманизированного 5D8	Аппроксимация сенсограммы по Ленгмюру 1:1		
Аналит	Среднее значение K _a (1/М с) [10 ⁻⁵]	Среднее значение K _d (1/с) [10 ⁻⁵]	Среднее значение K _D [пМ]
Человеческий LIF (<i>E. coli</i>)	8,5 ± 0,7	7,2 ± 0,7	86 ± 9
Человеческий LIF (HEK-293)	5,5 ± 0,02	3,1 ± 0,7	56 ± 13
Мышиный LIF (<i>E. coli</i>)	21,4 ± 3,7	5,7 ± 1,0	27 ± 6
Мышиный LIF (клетки CHO)	6,5 ± 0,7	1,1 ± 0,3	17 ± 4
LIF макака-крабоеда (дрожжи)	6,3 ± 0,8	5,4± 0,7	89 ± 10
LIF макака-крабоеда (HEK- 293)	2,4 ± 0,2	3,3± 0,3	134 ± 6

Пример 5. Гуманизированный клон 5D8 ингибирует LIF-индуцированное фосфорилирование STAT3 in vitro

[00155] Чтобы определить биологическую активность h5D8, гуманизированные и исходные версии тестировали на модели клеточной культуры активации LIF. На **фиг. 2А** показано, что гуманизированный клон демонстрировал повышенное ингибирование

фосфорилирования STAT3 (Туг 705), когда клеточную линию глиомы инкубировали с LIF человека. На **фиг. 2В** показан эксперимент с той же моделью, что и на **фиг. 2А**, повторенный с разными разведениями антитела h5D8.

Способы

[00156] Клетки глиомы U251 высевали в 6-луночные планшеты при плотности 150000 клеток/луночка. Клетки культивировали в полной среде в течение 24 часов перед любой обработкой. После этого клетки обрабатывали в течение ночи путем инкубации с антителом r5D8 к LIF или антителом h5D8 к LIF в концентрации 10 мкг/мл или не обрабатывали (контрольные клетки).

[00157] После обработки белки выделяли с использованием буфера для лизиса для анализа радиоиммунопреципитации (RIPA), содержащего ингибиторы фосфатаз и протеаз, количественно определяли (BCA-protein assay, Thermo Fisher Scientific) и использовали в вестерн-блоттинге. Для вестерн-блоттинга мембраны блокировали в течение 1 часа в 5% обезжиренном молоке - TBST и инкубировали с первичным антителом в течение ночи (p-STAT3, № по каталогу 9145, Cell Signaling или STAT3, № по каталогу 9132, Cell Signaling) или 30 минут (β-актин-пероксидаза, № по каталогу A3854, Sigma-Aldrich). Затем мембраны промывали в TBST, при необходимости инкубировали со вторичным антителом и снова промывали. Белки детектировали по хемилюминесценции (SuperSignal Substrate, № по каталогу 34076, Thermo Fisher Scientific).

Пример 6. Значение IC_{50} при обработке антителом h5D8 на эндогенные уровни LIF в клетках U-251

[00158] Также определили, что IC_{50} составляет всего 490 пикомоль/л (**фиг. 3А**) для биологического ингибирования h5D8 в условиях сывороточного голодания в клетках U-251. См. репрезентативные результаты на **фиг. 3А** и **3В** и в **таблице 5**.

Таблица 5.								
Ткань клеточной линии	Название клеточной линии	Обработка	IC_{50} (нМ)				IC_{90} (нМ)	Ингибирование JAK (%)
Условие эндогенного LIF			n=1	n=2	Среднее значение	SD	Среднее значение	Среднее значение
GBM	U251	h5D8	0,78	0,54	0,66	0,12	4,1	84%
		r5D8	1,6	1,5	1,4	0,15	8,5	86%
			1,2	1,4				

Способы

[00159] Клетки U-251 высевали из расчета 600000 клеток на 6-сантиметровую чашку (на одно условие). Клетки обрабатывали с использованием h5D8 в соответствующей концентрации (титре) в течение ночи при температуре 37°C в условиях сывороточного голодания (0,1% FBS). В качестве положительного контроля для pSTAT3 использовали рекомбинантный LIF (R&D №7734-LF/CF) для стимуляции клеток при 1,79 нМ в течение 10 минут при 37°C. В качестве отрицательного контроля для pSTAT3 использовали ингибитор JAK I (Calbiochem №420099) при 1 мкМ в течение 30 мин при 37°C. Затем клетки собирали на льду для получения лизатов в соответствии с протоколами наборов Meso Scale Discovery Multi-Spot Assay System Total STAT3 (№ по кат. K150SND-2) и Phospho-STAT3 (Tyr705) (№ по кат. K150SVD-2) для измерения уровней белка, определяемых с помощью MSD Meso Sector S600.

Пример 7. Дополнительные антитела, которые специфически связываются с человеческим LIF человека.

[00160] Идентифицировали другие клоны крысиного антитела (10G7 и 6B5), которые специфически связывают человеческий LIF, и краткое изложение их характеристик связывания приведено ниже в **таблице 6**, клон 1B2 служит для сравнения.

Способы

[00161] Кинетический анализ связывания в режиме реального времени выполняли для mAb 1B2, 10G7 и 6B5 к LIF, иммобилизованных на поверхности оптических сенсорных чипов CM5, с применением рекомбинантных белков-мишеней LIF [человеческий LIF (*E. coli*); Millipore № по кат. LIF 1010 и человеческий LIF (клетки HEK293); ACRO Biosystems № по кат. LIF-H521b] в качестве аналитов.

[00162] Кинетические константы и показатели аффинности получали путем математической аппроксимации сенсограммы с использованием модели связывания Ленгмюра 1:1 с применением глобальных алгоритмов (одновременная аппроксимация наборов сенсограмм), а также алгоритмов аппроксимации одной кривой. Достоверность глобальных аппроксимаций оценивали с помощью анализа k_{obs} .

Таблица 6. Измерение аффинности дополнительных антител к LIF		Аппроксимация сенсограммы по Ленгмюру 1:1		
Аналит	Клон	Среднее значение K_a (1/M c)	Среднее значение K_d (1/c)	Среднее значение K_D [нМ]
Человеческий LIF (<i>E. coli</i>)	1B2	$1,1 \pm 0,4E5$	$1,1 \pm 0,3E-3$	$9,7 \pm 1,4$
Человеческий LIF (HEK-293)	1B2	$2,0 \pm 0,04E6$	$1,4 \pm 0,2E-3$	$0,7 \pm 0,03$
Человеческий LIF (<i>E. coli</i>)	10G7	$7,9 \pm 5,8E4$	$6,0 \pm 2,3E-4$	$12,6 \pm 9,5$
Человеческий LIF (HEK-293)	10G7	$3,6 \pm 1,75E5$	$3,1 \pm 0,5E-4$	$1,1 \pm 0,6$
Человеческий LIF (<i>E. coli</i>)	6B5	н. п.	н. п.	н. п.
Человеческий LIF (HEK-293)	6B5	$3,6 \pm 1,7E5$	$3,1 \pm 0,5E-4$	62 ± 6

Пример 8. Дополнительные антитела к LIF ингибируют LIF-индуцированное фосфорилирование STAT3 in vitro

[00163] Дополнительные клоны тестировали на их способность ингибировать LIF-индуцированное фосфорилирование STAT3 в культуре клеток. Как показано на **фиг. 4**, клоны 10G7 и ранее подробно описанный r5D8 проявляли высокое ингибирование LIF-индуцированного фосфорилирования STAT3 по сравнению с клоном 1B2. Поликлональные антисыворотки к LIF (поз.) включили в качестве положительного контроля. Хотя 6B5 не показывал ингибирования, это можно объяснить возможным отсутствием связывания 6B5 с негликозилированным LIF, который использовали в данном эксперименте.

Способы

[00164] Полученные от пациента клетки глиомы высевали в 6-луночные планшеты при плотности 150000 клеток/лунка. Клетки культивировали в среде GBM, которая состояла из среды Neurobasal (Life Technologies), дополненной B27 (Life Technologies), пенициллином/стрептомицином и факторами роста (20 нг/мл EGF и 20 нг/мл FGF-2 [PeproTech]) в течение 24 часов перед любой обработкой. На следующий день клетки обрабатывали с использованием рекомбинантного LIF, продуцируемого в *E. coli*, или с использованием смеси рекомбинантного LIF с указанными антителами в течение 15 минут (конечная концентрация 10 мкг/мл для антител и 20 нг/мл рекомбинантного LIF), или не

обрабатывали. После обработки белки выделяли с использованием буфера для лизиса для анализа радиоиммунопреципитации (RIPA), содержащего ингибиторы фосфатаз и протеаз, количественно определяли (BCA-protein assay, Thermo Fisher Scientific) и использовали в вестерн-блоттинге. Для вестерн-блоттинга мембраны блокировали в течение 1 часа в 5% обезжиренном молоке - TBST и инкубировали с первичным антителом в течение ночи (p-STAT3, № по каталогу 9145, Cell Signaling) или 30 минут (β -актин-пероксидаза, № по каталогу A3854, Sigma-Aldrich). Затем мембраны промывали в TBST, при необходимости инкубировали со вторичным антителом и снова промывали. Белки детектировали по хемилюминесценции (SuperSignal Substrate, № по каталогу 34076, Thermo Fisher Scientific).

Пример 9. LIF высоко сверхэкспрессируется при нескольких типах опухолей

[00165] Проводили иммуногистохимический анализ нескольких типах опухолей человека для определения степени экспрессии LIF. На **фиг. 5** показано, что LIF высоко экспрессируется при мультиформной глиобластоме (GBM), немелкоклеточном раке легкого (NSCLC), раке яичника, колоректальном раке (CRC) и раке поджелудочной железы.

Пример 10. Гуманизированный клон h5D8 ингибирует рост опухоли в мышинной модели немелкоклеточной карциномы легкого

[00166] Для определения способности гуманизированного клона 5D8 ингибировать LIF-положительный рак *in vivo* данное антитело тестировали в мышинной модели немелкоклеточной карциномы легкого (NSCLC). На **фиг. 6A** показано уменьшение роста опухоли у мышей, обработанных данным антителом, по сравнению с отрицательным контролем в виде среды-носителя. На **фиг. 6B** показаны данные, полученные с использованием версии g5D8.

Способы

[00167] Клеточную линию немелкоклеточного рака легкого (NSCLC) KLN205 мыши с высокими уровнями LIF инфицировали лентивирусом для стабильной экспрессии гена люциферазы светлячка с целью мониторинга биолуминесценции *in vivo*. Для создания мышинной модели 5×10^5 клеток немелкоклеточного рака легкого (NSCLC) KLN205 ортотопически имплантировали в левое легкое иммунокомпетентным сингенным мышам DBA/2 в возрасте 8 недель посредством межреберной пункции. Мышей обрабатывали контролем в виде среды-носителя или с использованием 15 или 30 мг/кг антитела h5D8 интраперитонеально два раза в неделю, и рост опухоли контролировали посредством

биолюминесценции. Для визуализации биолюминесценции мышам интраперитонеально вводили 0,2 мл 15 мг/мл D-люциферина под 1-2% ингаляционным наркозом изофлураном. Сигналы биолюминесценции контролировали с использованием системы IVIS серии 2000 (Xenogen Corp., Аламеда, Калифорния, США), состоящей из высокочувствительной охлаждаемой CCD-камеры. Программное обеспечение Living Image (Xenogen Corp.) использовали для сопоставления данных визуализации и интеграции общих сигналов биолюминесценции в каждой области, отмеченной рамкой. Данные анализировали с использованием общего потока фотонов (фотоны/секунда) в представляющих интерес областях (ROI). Результаты демонстрируют, что лечение с использованием антитела h5D8 способствует регрессии опухоли. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ SEM.

Пример 11. h5D8 ингибирует рост опухоли в мышинной модели мультиформной глиобластомы

[00168] В ортотопической модели опухоли GBM с использованием линии клеток U251 человека, экспрессирующих люциферазу, r5D8 значительно уменьшал объемы опухоли у мышей, которым вводили 300 мкг r5D8 и h5D8 путем интраперитонеальной инъекции два раза в неделю. Результаты данного исследования показаны на **фиг. 7А** (количественное определение на 26 день после обработки). Данный эксперимент также проводили с использованием мышей, которых обрабатывали с использованием 200 мкг или 300 мкг гуманизированного h5D8, и результаты показали статистически значимое уменьшение опухоли через 7 дней обработки. На **фиг. 7В** показаны данные по мышам, которых инокулировали человеческими клетками U251 GBM, экспрессирующими люциферазу, а затем обрабатывали с помощью 100, 200 или 300 мкг h5D8 или среды-носителя два раза в неделю. Размер опухоли определяли по биолюминесценции (Xenogen IVIS Spectrum) в день 7. На графике показаны отдельные значения измерения опухолей, при этом горизонтальные черты показывают среднее значение $\pm$ SEM. Статистическую значимость рассчитывали с использованием непарного непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

Способы

[00169] Клетки U251, стабильно экспрессирующие люциферазу, собирали, промывали в PBS, центрифугировали при 400g в течение 5 мин, ресуспендировали в PBS и подсчитывали с использованием автоматического цитометра (Countess, Invitrogen). Клетки хранили на льду для поддержания оптимальной жизнеспособности. Мышей анестезировали путем интраперитонеального введения кетамина (Ketalar50®)/ксилацина (Rompun®) (75 мг/кг и 10 мг/кг соответственно). Каждую мышь осторожно помещали в

стереотаксическое устройство и иммобилизовали. Волосы с головы удаляли кремом для депиляции, а кожу головы рассекали скальпелем, чтобы обнажить череп. С помощью сверла осторожно сделали небольшой разрез в координатах 1,8 мм латеральнее и 1 мм впереди от места соединения ламбдовидного и стреловидного швов. 5 мкл клеток инокулировали с использованием шприца Hamilton 30G в правое полосатое тело на глубине 2,5 мм. Разрез на голове закрывали тканевым клеем Hystoacryl (Braun) и мышам вводили подкожный анальгетик мелоксикам (Metacam®) (1 мг/кг). Конечное количество клеток, имплантированных каждой мыши, составляло 3×10^5 .

[00170] Мышам два раза в неделю интраперитонеально вводили h5D8. Обработку начинали в день 0 сразу после инокуляции опухолевых клеток. Мыши получили в общей сложности 2 дозы h5D8 или контроля в виде среды-носителя.

[00171] Вес тела и объем опухоли: Вес тела измеряли 2 раза в неделю, а рост опухоли количественно определяли по биолюминесценции в день 7 (Xenogen IVIS Spectrum). Для количественной оценки активности биолюминесценции *in vivo* мышей вводили в наркоз изофлуораном и интраперитонеально вводили субстрат, представляющий собой люциферин (PerkinElmer) (167 мкг/кг).

[00172] Размер опухоли, определяемый по биолюминесценции (Xenogen IVIS Spectrum), оценивали в день 7. Рассчитывали отдельные показатели по опухолям и среднее значение $\pm$ SEM для каждой группы обработки. Статистическую значимость определяли с использованием непарного непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

Пример 12. h5D8 ингибирует рост опухоли в мышинной модели рака яичника

[00173] Эффективность r5D8 оценивали в двух других сингенных моделях опухоли. В ортотопической модели опухоли яичника ID8 антитело r5D8 при и/п введении 300 мкг два раза в неделю значительно ингибировало рост опухоли, что измеряли по объему брюшной полости (**фиг. 8А** и **8В**). Результаты на **фиг. 8С** показывают, что антитело h5D8 также уменьшало объем опухоли в дозе 200 мкг и выше.

Способы

[00174] Клетки ID8 культивировали в модифицированной Дульбекко среде Игла (DMEM) (Gibco, Invitrogen), дополненной 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS) (Gibco, Invitrogen), 40 ед./мл пенициллина и 40 мкг/мл стрептомицина (PenStrep) (Gibco, Invitrogen) и 0,25 мкг/мл плазмодина (Invivogen).

[00175] Клетки ID8 собирали, промывали в PBS, центрифугировали при 400g в течение 5 мин и ресуспендировали в PBS. Клетки хранили на льду для поддержания оптимальной жизнеспособности, и 200 мкл клеточной суспензии вводили интраперитонеально с

помощью иглы 27G. Конечное количество клеток, имплантированных мышам, составляло 5×10^6 .

[00176] Мышам два раза в неделю и/п вводили h5D8 в разных дозах, как указано. Вес тела измеряли 2 раза в неделю, а прогрессирование опухоли контролировали путем измерения обхвата живота с использованием штангенциркуля (Fisher Scientific).

Пример 13. r5D8 ингибирует рост опухоли в мышинной модели колоректального рака

[00177] У мышей с подкожными опухолями толстой кишки CT26 антитело r5D8 (вводимое при 300 мкг и/п два раза в неделю) значительно ингибировало рост опухоли (**фиг. 9А и 9В**).

Способы

[00178] Клетки CT26 культивировали в среде Мемориального института Розуэлла Парка (RPMI [Gibco, Invitrogen]), дополненной 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS), 40 ед/мл пенициллина и 40 мкг/мл стрептомицина (PenStrep) и 0,25 мкг/мл плазмодина.

[00179] Клетки CT26 (8×10^5) трипсинизировали, промывали PBS, центрифугировали при 400g в течение 5 минут и ресуспендировали в 100 мкл PBS. Клетки хранили на льду для избежания гибели клеток. Клетки CT26 вводили мышам путем подкожной инъекции с использованием иглы 27G.

[00180] 300 мкг r5D8 или контроль в виде среды-носителя вводили мышам посредством интраперитонеальной инъекции два раза в неделю, начиная с дня 3 после имплантации клеток CT26.

[00181] Вес тела и объем опухолей измеряли три раза в неделю. Объем опухоли измеряли штангенциркулем (Fisher Scientific).

Пример 14. r5D8 уменьшает воспалительную инфильтрацию в моделях опухолей

[00182] В ортотопической модели GBM U251 экспрессия CCL22, маркера M2-поляризованных макрофагов, была значительно снижена в опухолях, обработанных r5D8, что показано на **фиг. 10А**. Данный результат также подтвердили на физиологически релевантной модели органотипической культуры тканевых срезов с применением h5D8, в которой три образца от пациентов продемонстрировали значительное снижение экспрессии CCL22 и CD206 (MRC1) (также маркера макрофагов M2) после обработки, что показано на **фиг. 10В** (сравните MRC1 и CCL22 в верхнем ряду слева — контроле и в нижнем ряду справа — с обработкой). Кроме того, r5D8 также уменьшает количество CCL22⁺ макрофагов M2 в сингенных опухолях ID8 (**фиг. 10С**) и CT26 (**фиг. 10D**) у иммунокомпетентных мышей. Обработка с использованием h5D8 также программировала макрофаги в направлении иммуностимулирующего фенотипа в сингенной модели

опухоли CT26 (**фиг. 10E**). Обработка с использованием h5D8 повышала количество макрофагов с фенотипом M1, на что указывало повышение фракции CD206 отрицательные/МНСII положительные, и уменьшала количество макрофагов с фенотипом M2, на что указывало уменьшение фракции CD206 положительные/МНСII отрицательные. На **фиг. 10F** показаны данные по экспрессии генов моноцитов, культивированных в кондиционированной среде клеток U251 с нокдауном по LIF. MRC1, CCL2, CCL1 и CTSK (обозначены треугольниками) – все показали значительное снижение экспрессии.

Пример 15. r5D8 увеличивает количество немиелоидных эффекторных клеток

[00183] Чтобы исследовать дополнительные иммунные механизмы, оценивали влияние r5D8 на Т-клетки и другие немиелоидные эффекторные иммунные клетки в микроокружении опухоли. В сингенной модели ортотопической опухоли ID8 яичника обработка с использованием r5D8 приводила к увеличению количества внутриопухолевых НК-клеток и увеличению общего количества и количества активированных CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, что показано на **фиг. 11A**. Аналогично в сингенной модели опухоли CT26 толстой кишки антитело r5D8 увеличивало количество внутриопухолевых НК-клеток, увеличивало количество CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток и имело тенденцию к снижению количества CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ Т-регуляторных клеток, что показано на **фиг. 11B**. Тенденцию к уменьшению количества CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ Т-регуляторных клеток также наблюдали в сингенной модели ортотопической опухоли KLN205 после обработки с использованием r5D8, что показано на **фиг. 11C**. В соответствии с требованием наличия Т-клеток для опосредования эффективности истощение CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток в модели CT26 ингибировало противоопухолевую эффективность r5D8, что показано на **фиг. 12**.

Способы истощения Т-клеток

[00184] Клетки CT26 культивировали в культуральной среде RPMI (Gibco, Invitrogen), дополненной 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS [Gibco, Invitrogen]), 40 ед/мл пенициллина и 40 мкг/мл стрептомицина (PenStrep [Gibco, Invitrogen]) и 0,25 мкг/мл плазмодина (Invivogen). Клетки CT26 (5×10^5) собирали, промывали PBS, центрифугировали при 400g в течение 5 минут и ресуспендировали в 100 мкл PBS. Клетки хранили на льду для избежания гибели клеток. Клетки CT26 вводили мышам в оба бока путем подкожной инъекции с использованием шприца 27G. Мышам два раза в неделю вводили r5D8 интраперитонеально, как указано в дизайне исследования. Контроль в виде среды-носителя (PBS), крысиное r5D8 и/или антитело к CD4 и антитело к CD8 вводили мышам посредством интраперитонеальной инъекции два раза в неделю, как указано в

дизайне исследования. Все виды обработок антителами использовали одновременно.

Пример 16. Кристаллическая структура h5D8 в комплексе с человеческим LIF

[00185] Кристаллическую структуру h5D8 расшифровали с разрешением 3,1 ангстрем, чтобы определить эпитоп на LIF, с которым связывалось h5D8, и определить остатки h5D8, которые участвуют в связывании. Структура сокристалла показала, что N-концевая петля LIF расположена в центре между переменными областями легкой и тяжелой цепей h5D8 (**фиг. 13А**). Кроме того, h5D8 взаимодействует с остатками спирали А и С LIF, образуя прерывистый конформационный эпитоп. Связывание обусловлено несколькими солевыми мостиками, Н-связями и ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями (**таблица 7, фиг. 13В**). Эпитоп h5D8 на LIF охватывает область взаимодействия с gp130. См. Boulanger, M.J., Bankovich, A.J., Kortemme, T., Baker, D. & Garcia, K.C. Convergent mechanisms for recognition of divergent cytokines by the shared signaling receptor gp130. *Molecular cell* 12, 577-589 (2003). Результаты обобщены ниже в **таблице 7** и изображены на **фиг. 13**.

Таблица 7. Краткие сведения о рентгеновской кристаллической структуре h5D8 в комплексе с человеческим LIF		
Остаток LIF (эпитоп)	Тип взаимодействия	Остаток h5D8 (паратоп, нумерация согласно Кабату)
Ala13	VDW	L-Tyr49, L-Asn53
Ile14-O	HB	L-Ser50-OG
Ile	VDW	L-His30, L-Tyr32, L-Tyr49, L-Ser50
		H-Trp97
Arg15-NE	SB	L-Glu55-OE1, L-Glu55-OE2
Arg15-NH1	SB	L-Glu55-OE1, L-Glu55-OE2
Arg15-NH2	SB	L-Glu55-OE1, L-Glu55-OE2
Arg15-O	HB	L-Asn34-ND2
Arg15	VDW	L-Asn34, L-Leu46, L-Tyr49, L-Glu55, L-Ser56
		H-Glu96, H-Trp97, H-Asp98, H-Leu99, H-Asp101
His16-NE2	SB	H-Asp101-OD2
His16	VDW	L-Tyr32, L-Asn34, L-Met89
		H-Trp95, H-Glu96, H-Trp97, H-Asp101
Pro17	VDW	L-Tyr32, L-Ala91
		H-Trp97

Cys18	VDW	L-Tyr32
		H-Trp33, H-Trp97
His19-NE2	SB	H-Glu96-OE1, H-Glu96-OE2
His19	VDW	H-His31, H-Trp33, H-Glu96
Asn20-OD1	HB	H-Lys52-NZ
Asn20-ND2	HB	H-Asp53-OD1
Asn20	VDW	H-Trp33, H-Lys52, H-Asp53
Gln25-NE2	HB	H-Asp53-OD2
Gln25	VDW	H-His31, H-Ser52C, H-Asp53
Gln29	VDW	H-His31
Gln32	VDW	H-Lys52B
Asp120-OD2	HB	H-Ser30-OG
Asp120	VDW	H-Thr28, H-Ser30
Arg123-NE	HB	H-Thr28-OG
Arg123	VDW	H-Thr28
Gly124	VDW	H-His31
Leu125	VDW	H-His31
Ser127-OG	HB	H-Asp98-OD2
Ser127-O	HB	H-Trp97-NE1
Ser127	VDW	H-His31, H-Trp97, H-Asp98
Asn128-OD1	HB	H-His31-NE2
Asn128	VDW	H-His31
Leu130	VDW	H-Trp97
Cys131	VDW	H-Trp97
Cys134	VDW	H-Trp97
Ser135-O	HB	L-His30-NE2
Ser135	VDW	L-His30
His138	VDW	L-His30
VDW , ван-дер-ваальсовы силы, низкоэнергетическая связь; HB , водородная связь (средняя энергетическая связь); SB , солевой мостик (высокоэнергетическая связь)		

Способы

[00186] LIF временно экспрессировали в клетках HEK 293S (Gnt I^{-/-}), и его очищали с

использованием аффинной хроматографии Ni-NTA с последующей гель-фильтрационной хроматографией в 20 mM трис, pH 8,0 и 150 mM NaCl. Рекомбинантный Fab h5D8 временно экспрессировали в клетках НЕК 293F, и его очищали с использованием аффинной хроматографии KappaSelect с последующей катионообменной хроматографией. Очищенные Fab h5D8 и LIF смешивали при молярном соотношении 1:2,5 и инкубировали при комнатной температуре в течение 30 мин перед дегликозилированием с использованием EndoH. Затем для очистки комплекса использовали гель-фильтрационную хроматографию. Комплекс концентрировали до 20 мг/мл и подготавливали для испытаний по кристаллизации с использованием скрининговых тестов с разреженными матрицами. Кристаллы образовались при 4°C в условиях, предусматривающих 19% (объем/объем) изопропанола, 19% (вес/объем) PEG 4000, 5% (объем/объем) глицерина, 0,095 M цитрата натрия, pH 5,6. Кристалл дифрагировал с разрешением 3,1 Å на канале излучения 08ID-1 синхротрона Canadian Light Source (CLS). Данные собирали, обрабатывали и масштабировали с помощью XDS согласно Kabsch et al. Xds. *Acta crystallographica. Section D, Biological crystallography* 66, 125-132 (2010). Структуры определяли путем молекулярного замещения с применением Phaser согласно McCoy et al. Phaser crystallographic software. *J Appl Crystallogr* 40, 658-674 (2007). Выполнили несколько итераций построения и уточнения модели с использованием Coot и phenix.refine до тех пор, пока структуры не приблизились к приемлемым R_{work} и R_{free} . См. Emsley et al. Features and development of Coot. *Acta crystallographica. Section D, Biological crystallography* 66, 486-501 (2010) и Adams et al. PHENIX: a comprehensive Python-based system for macromolecular structure solution. *Acta crystallographica. Section D, Biological crystallography* 66, 213-221 (2010) соответственно. Фигуры строили в PyMOL (система молекулярной графики PyMOL, версия 2.0, Schrödinger, LLC).

Пример 17. h5D8 характеризуется высокой специфичностью к LIF

[00187] Связывание h5D8 с другими представителями семейства LIF тестировали для определения специфичности связывания. При использовании анализа Octet96 связывание h5D8 с человеческим LIF примерно в 100 раз больше, чем связывание с LIF, представителем семейства IL-6 с наивысшей гомологией, онкостатином М (OSM), когда оба белка продуцируются в *E. coli*. Если оба белка продуцируются в системе млекопитающего, h5D8 не проявляет связывание с OSM. Данные обобщены в **таблице 8**.

Таблица 8. Сводные данные по показателям аффинности h5D8 к цитокинам, определенным с использованием анализа Octet			
	KD [M]	kon [1/M c]	kdis [1/c]
h5D8 + huLIF (E. coli)	4,3E-10+/- 2,0E-11	3,1E+05+/- 3,1E+03	1,3E-04+/- 5,8E-06
h5D8 + huLIF (из системы млекопитающего)	1,3E-09 +/- 7,2E-11	1,2E+05 +/- 1,3E+03	1,5E-04 +/- 8,5E-06
h5D8 + huOSM (E. coli)	3,6E-08 +/- 1,4E-09	8,5E+04 +/- 3,1E+03	3,1E-03+/- 4,1E-05
h5D8 + huOSM (из системы млекопитающего)	С. о.	С. о.	С. о.
h5D8 + huIL-6 (E. coli)	С. о.	С. о.	С. о.
С. о. = связывание отсутствует			

Способы

[00188] Эксперименты по связыванию с использованием Octet: реагенты использовали и готовили в соответствии с инструкциями производителя. Эксперимент по определению базовых кинетических параметров проводили с использованием программного обеспечения Octet Data Acquisition версии 9.0.0.26 следующим образом: Настройка сенсоров/программы: i) уравнивание (60 секунд); ii) загрузка (15 секунд); iii) исходный уровень (60 секунд); iv) связывание (180 секунд) и v) диссоциация (600 секунд)

[00189] Аффинность h5D8 к цитокинам согласно Octet: эксперимент по определению базовых кинетических параметров проводили с использованием программного обеспечения Octet Data Acquisition версии 9.0.0.26 следующим образом: биосенсоры Amine Reactive 2ndGeneration Biosensors (AR2G) гидратировали в воде в течение не менее 15 минут. Конъюгацию по аминокгруппе h5D8 с биосенсорами проводили в соответствии с техническим примечанием ForteBio Technical Note 26 (см. ссылки) с использованием набора Amine Coupling Second Generation Kit. Стадии погружения выполняли при 30°C, 1000 об/мин следующим образом: i) 60 секунд уравнивания в воде; ii) 300 секунд активации в 20 mM ECD, 10 mM сульфo-NHS в воде; iii) 600 секунд иммобилизации 10 мкг/мл h5D8 в 10 mM ацетате натрия, pH 6,0; iv) 300 секунд гашения в 1 М этанолаmine,

pH 8,5; v) 120 секунд на исходном уровне в воде. Затем проводили эксперименты по определению кинетических параметров со следующими стадиями погружения и считывания при 30°C, 1000 об/мин: vi) 60 секунд на исходном уровне в 1X кинетическом буфере; vii) 180 секунд связывания соответствующих серийных разведений цитокина в 1X кинетическом буфере; viii) 300 секунд диссоциации в 1X кинетическом буфере; ix) три цикла регенерации/нейтрализации с чередованием 10 mM глицина, pH 2,0 и 1X кинетического буфера соответственно (5 секунд в каждом для 3 циклов). После регенерации биосенсоры повторно использовали для последующих анализов связывания.

[00190] Рекомбинантный человеческий LIF, продуцируемый в клетках млекопитающих, получили от ACROBiosystems (LIF-H521b); рекомбинантный человеческий OSM, продуцируемый в клетках млекопитающих, получили от R & D (8475-OM/CF); и рекомбинантный человеческий OSM, продуцируемый в клетках *E. coli*, получили от R & D (295-OM-050/CF).

Пример 18. Кристаллическая структура fab h5D8

[00191] Определили пять кристаллических структур Fab h5D8 в широком спектре химических условий. Высокие разрешения данных структур указывают на то, что конформации остатков CDR связаны с незначительной гибкостью и очень похожи в различных химических средах. Уникальной особенностью данного антитела является присутствие неканонического цистеина в положении 100 вариабельной области тяжелой цепи. Структурный анализ показывает, что цистеин является непарным и в значительной степени недоступен для растворителя.

[00192] Fab H5D8 получали посредством расщепления его IgG папаином с последующей очисткой с использованием стандартных методик аффинной, ионообменной и эксклюзионной хроматографии. Кристаллы получали с использованием методов диффузии из паровой фазы, и они позволили определить пять кристаллических структур с разрешением от 1,65 до 2,0 Å. Все структуры расшифровали и отнесли к одной и той же кристаллографической пространственной группе и с аналогичными размерами элементарной ячейки (P212121, a~53,8 Å, b~66,5 Å, c~143,3 Å) несмотря на условия кристаллизации в диапазоне пяти различных уровней pH: 5,6, 6,0, 6,5, 7,5 и 8,5. Таким образом, эти кристаллические структуры позволяют сравнивать трехмерное расположение Fab h5D8 без препятствий из-за артефактов упаковки кристаллов и в широком спектре химических условий.

[00193] Электронную плотность выявляли для всех остатков определяющей комплементарности области (CDR), которые впоследствии моделировали. Следует

отметить, что LCDR1 и HCDR2 приняли удлиненные конформации, которые вместе с неглубокими областями LCDR3 и HCDR3 образовывали полость связывания в центре паратопа (**фиг. 14А**). Эти пять структур были очень похожи по всем остаткам, со среднеквадратичным отклонением всех атомов в диапазоне от 0,197 до 0,327 Å (**фиг. 14А**). Эти результаты указывают на то, что конформации остатков CDR поддерживаются в различных химических средах, включающих уровни pH от 5,6 до 8,5 и ионную силу от 150 мМ до 1 М. Анализ электростатической поверхности паратопа h5D8 показал, что положительно и отрицательно заряженные области в равной степени способствовали гидрофильным свойствам без преобладающих гидрофобных участков. h5D8 имеет необычную особенность в виде неканонического цистеина в основании HCDR3 (Cys100). Во всех пяти структурах этот свободный цистеин упорядочен и не вызывает перестановку дисульфидных связей. Кроме того, он не модифицируется добавлением Cys (цистеинилированием) или глутатиона (глутатиолированием) и взаимодействует за счет ван-дер-ваальсовых сил (расстояния 3,5-4,3 Å) с атомами основной и боковой цепей Leu4, Phe27, Trp33, Met34, Glu102 и Leu105 тяжелой цепи (**фиг. 14В**). И наконец, Cys100 представляет собой преимущественно скрытый структурный остаток, который, по-видимому, участвует в обеспечении конформации CDR1 и HCDR3. Таким образом, маловероятно, что он будет характеризоваться реактивностью по отношению к другим цистеинам, как это наблюдается по гомогенному расположению этой области в наших пяти кристаллических структурах.

Способы

[00194] H5D8-1 IgG получили от Catalent Biologics и составили в 25 мМ гистидина, 6% сахарозы, 0,01% полисорбата 80 при pH 6,0. Производили активную замену буфера составленного IgG на буфер PBS с использованием концентратора MWCO 10K (Millipore) перед расщеплением с использованием 1:100 мкг папаина (Sigma) в течение 1 часа при 37°C в PBS, 1,25 мМ EDTA, 10 мМ цистеина. Расщепленный папином IgG пропускали через колонку с белком А (GE Healthcare) с использованием хроматографической системы АКТА Start (GE Healthcare). Элюат из колонки с белком А, который содержал Fab h5D8, извлекали и осуществляли замену буфера на 20 мМ ацетат натрия, pH 5,6, используя концентратор MWCO 10K (Millipore). Полученный образец загружали в катионообменную колонку Mono S (GE Healthcare) с использованием хроматографической системы АКТА Pure (GE Healthcare). Элюирование градиентом 1 М хлорида калия привело к преобладающему пику Fab h5D8, который извлекли, концентрировали и очищали до однородности по размеру с использованием колонки для гель-фильтрации

Superdex 200 Increase (GE Healthcare) в 20 mM трис-HCl, 150 mM хлориде натрия при pH 8,0. Высокую чистоту Fab h5D8 подтвердили с помощью SDS-PAGE в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях.

[00195] Очищенный Fab h5D8 концентрировали до 25 мг/мл, используя концентратор 10K MWCO (Millipore). Дозатор Oryx 4 (Douglas Instruments) использовали для модели экспериментов по кристаллизации с диффузией в паровой фазе с коммерческими скрининговыми тестами с разреженными матрицами с 96 условиями JCSG TOP96 (реагенты Rigaku) и MCSG-1 (Anatrace) при температуре 20°C. Кристаллы получали и собирали через четыре дня в следующих пяти условиях кристаллизации: 1) 0,085 М цитрата натрия, 25,5% (вес/объем) PEG 4000, 0,17 М ацетата аммония, 15% (объем/объем) глицерина, pH 5,6; 2) 0,1 М MES, 20% (вес/объем) PEG 6000, 1 М хлорида лития, pH 6,0; 3) 0,1 М MES, 20% (вес/объем) PEG 4000, 0,6 М хлорида натрия, pH 6,5; 4) 0,085 М HEPES натрия, 17% (вес/объем) PEG 4000, 8,5% (объем/объем) 2-пропанола, 15% (объем/объем) глицерина, pH 7,5; и 5) 0,08 М трис, 24% (вес/объем) PEG 4000, 0,16 М хлорида магния, 20% (объем/объем) глицерина, pH 8,5. Перед мгновенным замораживанием в жидком азоте к маточным растворам, содержащим кристаллы, добавляли 5-15% (объем/объем) глицерина или 10% (объем/объем) этиленгликоля при необходимости. Кристаллы подвергались рентгеновскому синхротронному излучению на канале 23-ID-D синхротрона Advanced Photon Source (Чикаго, Иллинойс, США) и дифрактограммы регистрировали на детекторе Pilatus3 6М. Данные обрабатывали с использованием XDS, а структуры определяли путем молекулярного замещения с использованием Phaser. Уточнение проводили в PHENIX с итеративным построением модели в Coot. Фигуры строили в PyMOL. Все программное обеспечение было доступно в SGrid.

Пример 19. Мутации цистеина 100 в h5D8 сохраняют связывание

[00196] Анализ h5D8 выявил свободный остаток цистеина в положении 100 (C100) в варибельной области тяжелой цепи. Варианты H5D8 получали путем замены C100 каждой природной аминокислотой для определения характеристик связывания с и аффинности к человеческим и мышинным LIF. Связывание характеризовали посредством ELISA и анализа Octet. Результаты обобщены в **таблице 9**. Кривые EC₅₀ для ELISA показаны на **фиг. 15** (**фиг. 15A**, человеческий LIF, и **фиг. 15B**, мышинный LIF).

Таблица 9. Сводные данные по показателям аффинности, определенным посредством анализа Octet, и показателям EC50, определенным посредством ELISA				
Мутация	Аффинность/ k_D (М)		EC50 связывания (нМ)	
	Человеческий LIF	Мышиный LIF	Человеческий LIF	Мышиный LIF
C100	$<1,0E-12 \pm 2,252E-11$	$9,946E-11 \pm 8,272E-12$	0,09878	0,1605
C100S	$8,311E-10 \pm 5,886E-11$	$2,793E-09 \pm 5,925E-11$	н.д.	н.д.
C100Q	$3,87E-09 \pm 1,55E-10$	$2,84E-09 \pm 4,85E-11$	10,18	26,33
C100N	$5,59E-09 \pm 1,01E-10$	$6,68E-09 \pm 9,8E-11$	13,18	45,87
C100E	$2,67E-09 \pm 4,64E-11$	$4,1E-09 \pm 7,56E-11$	7,179	25,3
C100D	$2,02E-09 \pm 8,08E-11$	$6,49E-09 \pm 7,16E-11$	11,89	22,88
C100T	$4,36E-10 \pm 2,1E-11$	$1,02E-09 \pm 1,77E-11$	5,575	8,753
C100G	$2,49E-09 \pm 4,2E-11$	$3,33E-09 \pm 5,42E-11$	21,94	40,17
C100P	$2,74E-10 \pm 2,97E-10$	$<1,0E-12 \pm 7,64E-10$	34,44	101,9
C100A	$<1,0E-12 \pm 2,713E-11$	$<1,0E-12 \pm 1,512E-11$	0,6705	0,9532
C100V	$<1,0E-12 \pm 1,805E-11$	$<1,0E-12 \pm 8,086E-12$	0,2785	0,3647
C100L	$<1,0E-12 \pm 1,963E-11$	$1,998E-10 \pm 1,055E-11$	0,454	0,547
C100I	$<1,0E-12 \pm 1,424E-11$	$3,361E-11 \pm 7,545E-12$	0,299	0,3916
C100M	$1,155E-09 \pm 3,400E-11$	$2,676E-09 \pm 2,449E-11$	0,7852	1,563
C100F	$4,376E-09 \pm 1,127E-10$	$1,147E-08 \pm 9,099E-11$	8,932	21,53
C100Y	$1,444E-08 \pm 1,159E-09$	$2,514E-08 \pm 2,047E-09$	н.д.	н.д.
C100W	$2,508E-08 \pm 7,036E-09$	$4,819E-08 \pm 4,388E-09$	н.д.	н.д.
C100H	$1,304E-10 \pm 1,416E-10$	$4,284E-09 \pm 1,231E-10$	8,254	н.д.
C100K	$7,477E-08 \pm 1,581E-09$	$6,053E-08 \pm 2,589E-09$	н.д.	н.д.
C100R	$1,455E-07 \pm 6,964E-09$	$5,142E-08 \pm 3,247E-09$	н.д.	н.д.

Способы

ELISA: связывание вариантов C100 h5D8 с человеческим и мышиным LIF определяли посредством ELISA. Рекомбинантный человеческий или мышиный белок LIF вносили в 384-луночные планшеты Maxisorp в концентрации 1 мкг/мл и оставляли на ночь при 4°C. Планшеты блокировали с использованием 1х блокирующего буфера в течение 2 часов при комнатной температуре. Добавляли титры каждого варианта h5D8 C100 и давали возможность связаться в течение 1 часа при комнатной температуре. Планшеты трижды

промывали с использованием PBS+0,05% Tween-20. Добавляли конъюгированные с HRP антитела к IgG человека и давали возможность связываться в течение 30 минут при комнатной температуре. Планшеты трижды промывали с использованием PBS+0,05% Tween-20 и проявляли с использованием 1х субстрата TMB. Реакцию останавливали с помощью 1 М HCl и измеряли оптическую плотность при 450 нм. Построение фигур и нелинейный регрессионный анализ выполняли с помощью Graphpad Prism.

[00197] Octet RED96: аффинность вариантов C100 h5D8 к человеческому и мышинному LIF определяли по BLI с использованием системы Octet RED96. Варианты C100 h5D8 загружали на биосенсоры с антителами к Fc человека в концентрации 7,5 мкг/мл после 30-секундного выдерживания на исходном уровне в 1х кинетическом буфере. Титры человеческого или мышинного белка LIF связывали с загруженными биосенсорами в течение 90 секунд и давали им возможность диссоциировать в 1х кинетическом буфере в течение 300 секунд. KD рассчитывали с помощью программного обеспечения для анализа данных с использованием глобальной модели аппроксимации 1:1.

Пример 20. h5D8 блокирует связывание LIF с gp130 in vitro

[00198] Чтобы определить, предотвращает ли h5D8 связывание LIF с LIFR, провели анализ молекулярного связывания с использованием платформы Octet RED 96. H5D8 загружали на биосенсоры АНС путем захвата антителом к Fc человека. Затем биосенсоры погружали в LIF и, как и предполагали, наблюдали связывание (**фиг. 16А**, средняя треть). Впоследствии биосенсоры погружали в различные концентрации LIFR. Наблюдали дозозависимое связывание (**фиг. 16А**, правая треть). Контрольный эксперимент продемонстрировал, что данное связывание было LIF-специфичным (не показано) и не было следствием неспецифического взаимодействия LIFR с h5D8 или с биосенсорами.

[00199] Чтобы дополнительно охарактеризовать связывание h5D8 и LIF, провели серию экспериментов по связыванию с помощью ELISA. H5D8 и LIF предварительно инкубировали и затем вносили в планшеты, покрытые либо рекомбинантным человеческим LIFR (hLIFR), либо gp130. Отсутствие связывания между комплексом h5D8/LIF и покрывающим субстратом может указывать на то, что h5D8 каким-то образом нарушает связывание LIF с рецептором. Кроме того, также использовали контрольные антитела, которые либо не связывают LIF (изотипический контроль, обозначен (-)), либо связывают LIF в известных сайтах связывания (B09 не конкурирует ни с gp130, ни с LIFR за связывание LIF; r5D8 является крысиной исходной версией h5D8). Результаты ELISA продемонстрировали, что комплекс h5D8/LIF был способен связывать hLIFR (как и комплекс r5D8/LIF), указывая на то, что эти антитела не препятствовали связыванию

LIF/LIFR (**фиг. 16А**). И наоборот, комплекс h5D8/LIF (и комплекс r5D8/LIF) не был способен связывать рекомбинантный gp130 человека (**фиг. 16В**). Это указывает на то, что сайт связывания gp130 на LIF затрагивается, если LIF связан с h5D8.

Пример 21. Экспрессия LIF и LIFR в тканях человека

[00200] Проводили количественную ПЦР в режиме реального времени со множеством разных типов тканей человека, чтобы определить уровни экспрессии LIF и LIFR. Средние уровни экспрессии, показанные на **фиг. 17А** и **17В**, представлены в виде числа копий на 100 нг общего количества РНК. Большинство тканей экспрессировали не менее 100 копий на 100 нг общего количества РНК. Экспрессия мРНК LIF являлась наиболее высокой в жировой ткани человека (брыжейке подвздошной кишки [1]), ткани кровеносных сосудов (хороидном сплетении [6] и брыжеечных сосудах [8]) и ткани пуповины [68]; и наиболее низкой в тканях головного мозга (коре [20] и черной субстанции [28]). Экспрессия мРНК LIFR являлась наиболее высокой в жировой ткани человека (брыжейке подвздошной кишки [1]), ткани кровеносных сосудов (легочных сосудах [9]), ткани мозга [11-28] и ткани щитовидной железы [66]; и наиболее низкой в РВМС [31]. Уровни экспрессии мРНК LIF и LIFR в тканях макака-крабоеда были подобны уровням, наблюдаемым в тканях человека, где экспрессия LIF была высокой в жировой ткани, и экспрессия LIFR была высокой в жировой ткани и низкой в РВМС (данные не показаны).

[00201] Нумерация тканей на **фиг. 17А** и **фиг. 17В** следующая: 1 – жировая ткань (брыжейка подвздошной кишки); 2 – надпочечник; 3 – мочевого пузыря; 4 – мочевого пузыря (треугольник); 5 – кровеносный сосуд (мозговой: средняя мозговая артерия); 6 – кровеносный сосуд (хориоидное сплетение); 7 – кровеносный сосуд (коронарная артерия); 8 – кровеносный сосуд (брыжеечный (толстая кишка)); 9 – кровеносный сосуд (легочный); 10 – кровеносный сосуд (почечный); 11 – головной мозг (миндалины); 12 – головной мозг (хвостатое ядро); 13 – головной мозг (мозжечок); 14 головной мозг – (кора: передняя поясная извилина); 15 – головной мозг (кора: задняя поясная извилина); 16 – головной мозг (кора: латеральная лобная область); 17 — головной мозг (кора: медиальная лобная область); 18 – головной мозг (кора: затылочная область); 19 – головной мозг (кора: теменная область); 20 – головной мозг (кора: височная область); 21 – головной мозг (дорсальное ядро шва); 22 – головной мозг (гиппокамп); 23 – головной мозг (гипоталамус: передний); 24 – головной мозг (гипоталамус: задний); 25 – головной мозг (голубое пятно); 26 – головной мозг (продолговатый мозг); 27 – головной мозг (прилежащее ядро); 28 – головной мозг (черная субстанция); 29 – молочная железа; 30 – слепая кишка; 31 – мононуклеарные клетки периферической крови (РВМС); 32 – ободочная кишка; 33 –

ганглии задних корешков (DRG); 34 – двенадцатиперстная кишка; 35 – фаллопиева труба; 36 – желчный пузырь; 37 – сердце (левое предсердие); 38 – сердце (левый желудочек); 39 – подвздошная кишка; 40 – тощая кишка; 41 – почка (кора); 42 – почка (мозговое вещество); 43 – почка (лоханка); 44 – печень (паренхима); 45 – печень (бронх: первичный); 46 – печень (бронх: третичный); 47 – легкое (паренхима); 48 – лимфатический узел (миндалина); 49 – мышца (скелетная); 50 – пищевод; 51 – яичник; 52 – поджелудочная железа; 53 – шишковидная железа; 54 – гипофиз; 55 – плацента; 56 – предстательная железа; 57 – прямая кишка; 58 – кожа (крайняя плоть); 59 – спинной мозг; 60 – селезенка (паренхима); 61 – желудок (антральный отдел); 62 – желудок (тело); 63 – желудок (дно); 64 – желудок (пилорический канал); 65 – яичко; 66 – щитовидная железа; 67 – трахея; 68 – пуповина; 69 – мочеточник; 70 – матка (шейка); 71 – матка (миометрий); 72 – семявыводящий проток.

Пример 22. h5D8 в комбинации с цисплатином, доксорубицином или паклитакселом в модели имплантированной подкожной опухоли

[00202] Эффективность h5D8 оценивали в комбинации с цисплатином, доксорубицином или паклитакселом в модели имплантированной подкожной опухоли СТ26. Клетки СТ26 культивировали в среде RPMI-1640, дополненной 10% фетальной бычьей сывороткой и пенициллином/стрептомицином (оба при 100 мкг/мл). 10000 клеток/мышь имплантировали подкожно мышам BALB/c, и мышей обрабатывали с помощью h5D8 (15 мг/кг) два раза в неделю и/или одним из цисплатина (10 мг/кг) один раз в неделю, паклитаксела (15 мг/кг) два раза в неделю, доксорубицина (4 мг/кг) один раз в неделю. В каждой когорте обработки было 12 мышей. Значения объема опухолей и веса мышей измеряли с помощью штангенциркулей два раза в неделю.

[00203] Мыши, обработанные комбинацией цисплатина и h5D8, характеризовались снижением роста опухоли СТ26 по сравнению с мышами, обработанными цисплатином или h5D8 в отдельности, как показано на **фиг. 18**. Мыши, обработанные комбинацией доксорубицина и h5D8, не демонстрировали снижение роста опухоли СТ26 по сравнению с мышами, обработанными доксорубицином или h5D8 в отдельности, как показано на **фиг. 19А**. Мыши, обработанные комбинацией паклитаксела и h5D8, не демонстрировали снижение роста опухоли СТ26 по сравнению с мышами, обработанными паклитакселом или h5D8 в отдельности, как показано на **фиг. 19В**. Значения объемов опухоли для всех животных во всех группах обработки, измеренные в конечной точке дня 21, показаны в **таблице 10**.

Таблица 10. Объем опухоли, измеренный в конечной точке (день 21)								
Значения объемов опухолей в конечной точке (день 21) [в мм ³ или кубических мм]								
Среданоситель*	Контрольный IgG1 [^]	h5D8	Доксорубин	Цисплатин	Паклитаксел	h5D8 + доксорубин	h5D8 + цисплатин** [^]	h5D8 + паклитаксел
821,2	771,7	253,6	463,9	1313,6	762,1	205,3	588,9	1822,1
290,1	559,3	1408,5	588,8	676,0	1236,2	305,5	306,7	0,0
2455,3	1092,9	508,3	230,3	953,8	112,9	470,4	701,1	1488,2
724,5	695,5	656,8	408,7	328,5	651,8	303,1	258,7	261,8
1238,2	501,6	1354,4	1207,4	1279,7	214,0	481,7	855,2	751,6
551,1	336,0	1190,7	94,2	689,4	461,5	56,9	84,3	643,5
391,5	986,0	1109,1	109,1	512,3	698,3	633,1	328,3	691,6
791,7	509,0	906,6	294,9	193,9	457,7	333,0	117,8	658,0
1315,2	1092,5	640,3	780,2	997,5	256,2	389,2	742,9	533,9
1557,1	1415,4	0,0	351,2	257,9	592,2	387,5	482,6	737,1
814,5		956,9	735,2	924,4	435,9	91,7	130,5	1001,5
		318,7	48,9	744,2		1394,3		1712,8
*p = 0,0083, среданоситель по сравнению с h5D8 + цисплатин								
[^] p = 0,037, контрольный IgG по сравнению с h5D8 + цисплатин								

Пример 23. Комбинация h5D8 и цисплатина в модели имплантированной внутрикожной опухоли

[00204] Эффективность h5D8 оценивали в комбинации с цисплатином, доксорубицином или паклитакселом в модели имплантированной внутрикожной опухоли СТ26. Клетки СТ26 культивировали в среде RPMI-1640, дополненной 10% фетальной бычьей сывороткой и пенициллином/стрептомицином (оба при 100 мкг/мл). 50000 клеток/мышь имплантировали внутрикожно мышам BALB/c, и мышей обрабатывали с помощью h5D8 (15 мг/кг) два раза в неделю и/или цисплатином (10 мг/кг) один раз в неделю. В каждой когорте обработки было 12 мышей. Значения объема опухолей и веса мышей измеряли с помощью штангенциркулей два раза в неделю.

[00205] Мыши, обработанные комбинацией цисплатина и h5D8, характеризовались снижением роста опухоли СТ26 по сравнению с мышами, обработанными цисплатином или h5D8 в отдельности, как показано на **фиг. 20**. Значения объемов опухоли для всех животных во всех группах обработки, измеренные в конечной точке дня 21, показаны в

таблице 11.

Таблица 11. Объем опухоли, измеренный в конечной точке (день 21)				
Значения объемов опухолей в конечной точке (день 21) [в мм ³ или кубических мм]				
Контроль, представляющий собой среду-носитель	Контрольный IgG*	h5D8	Цисплатин [^]	h5D8 + цисплатин* [^]
513,2	349,9	233,8	408,2	344,5
454,2	798,5	137,3	333,3	425,0
1047,7	547,4	668,5	369,9	276,5
262,8	811,5	252,3	393,5	282,7
273,7	502,2	267,4	332,9	84,6
628,4	255,5	630,7	332,7	272,7
174,4	636,5	527,5	390,7	311,6
216,4	1165,2	182,7	574,5	215,6
1166,7	348,5	198,5	177,5	171,6
	946,1	1006,6	331,6	369,5
	557,3	471,5	335,3	287,4
	99,1		445,5	296,2
*p = 0,0045, контрольный IgG по сравнению с h5D8 + цисплатин				
[^] p = 0,012, цисплатин по сравнению с h5D8 + цисплатин				

[00206] Хотя в данном документе были показаны и описаны предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения, специалистам в данной области техники будет очевидно, что такие варианты осуществления приведены лишь в качестве примера. Многочисленные варианты, изменения и замены будут очевидны специалистам в данной области техники без отклонения от настоящего изобретения. Следует понимать, что различные альтернативы вариантам осуществления настоящего изобретения, описанные в данном документе, можно использовать при практической реализации настоящего изобретения.

[00207] Все публикации, заявки на патенты, выданные патенты и другие документы, упоминаемые в настоящем описании, включены в данный документ посредством ссылки в том же объеме, как если бы каждая отдельная публикация, заявка на патент, выданный

патент или другой документ были конкретно и отдельно указаны как включенные в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Определения, которые содержатся в тексте, включенном посредством ссылки, исключаются в том же объеме, в котором они противоречат определениям в настоящем изобретении.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

SEQ ID NO	Последовательность
1	GFTFSHAWMH
2	GFTFSHAW
3	HAWMH
4	QIKAKSDDYATYYAESVKG
5	IKAKSDDYAT
6	TCWEWDLDF
7	WEWDLDF
8	TSWEWDLDF
9	RSSQSLLDSDGHTYLN
10	QSLLDSDGHTY
11	SVSNLES
12	SVS
13	MQATHAPPYT
14	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAAS
15	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSAAS
16	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSAAS
17	EVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATS
18	WVRQAPGKGLEWVA
19	WVRQAPGKGLEWVG
20	RFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYC
21	RFSISRDNAKNSLYLQMNSLRVEDTVVYYC
22	RFTISRDDSKSTLFLQMNNLKTEDTAVYYC
23	WGQGTLVTVSS
24	WGQGTMTVTVSS
25	WGQGTTVTVSS

26	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISC
27	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISC
28	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISC
29	DVVMTQSPLSQPVTLGQPASISC
30	WFQQRPGQSPRRLIY
31	WLQQRPGQPPRLLIY
32	WLLQKPGQPPQLLIY
33	WLQQRPGQSPRRLIY
34	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYC
35	GVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC
36	GVPNRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYC
37	GVPDRFNFGSGSGTDFTLSISRVEAEDVGVYYC
38	FGQGTKLEIK
39	FGGGTKVEIK
40	FGQGTKVEIK
41	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVAQ IKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTCW EWDLDFWGQGTLVTVSS
42	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVG QIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTC WEWDLDFWGQGTMTVTVSS
43	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVAQ IKAKSDDYATYYAESVKGRFSISRDNANKNSLYLQMNSLRVEDTVVYYCTCW EWDLDFWGQGTTVTVSS
44	EVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATSGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVGQ IKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKSTLFLQMNNLKTEDTAVYYCTCW EWDLDFWGQGTLVTVSS
45	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLDSDGHTYLNWFQQRPGQSPRRLI YSVSNLESGVPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGQGTKLEIK
46	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLDSDGHTYLNWLQQRPGQPPRLLIY SVSNLESGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFGQ GTKLEIK

47	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWLLQKPGQPPQLLIY SVSNLESGVPNRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGG GTKVEIK
48	DVVMTQSPLSQPVTLGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWLQQRPGQSPRRLI YSVSNLESGVPDRFNGSGSGTDFTLSISRVEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFG QGTKVEIK
49	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSHA WMHWVRQAPGKGLEWVAQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
50	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSQVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHA WMHWVRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLY LQMNSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTMTTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
51	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSHA WMHWVRQAPGKGLEWVAQIKAKSDDYATYYAESVKGRFSISRDNANKNSLY LQMNSLRVEDTVVYYCTCWEWDLDFWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA

	KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
52	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATSGFTFSHA WMHWVRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKSTLF LQMNNLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
53	MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLLDSD GHTYLNWFQQRPGQSPRRLIYSVSNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE DVGLYYCMQATHAPPYTFGQG TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
54	MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIVMTQTPLSSPVT LGQPASISCRSSQSLLDSDG HTYLNWLQQRPGQPPRLIYSVSNLESGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAED VGVYYCMQATHAPPYTFGQG TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
55	MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLLDSDG HTYLNWLLQKPGQPPQLLIYSVSNLESGVPNRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED VGLYYCMQATHAPPYTFGGG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
56	MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDVVM TQSPLSQPVT LGQPASISCRSSQSLLDSD GHTYLNWLQQRPGQSPRRLIYSVSNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLSISRVEAE DVG VYYCMQATHAPPYTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

57	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVAQ IKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTCW EWDLDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
58	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVG QIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTC WEWDLDFWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
59	EVQLVESGGGVVQPGRLSLSCAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVAQ IKAKSDDYATYYAESVKGRFSISRDNANKNSLYLQMNSLRVEDTVVYYCTCW EWDLDFWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
60	EVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATSGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEWVGQ IKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKSTLFLQMNNLKTEDTAVYYCTCW EWDLDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV

	LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSSFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
61	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLLDSGDHTYLNWLFQQRPGQSPRRLI YSVSNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFG QGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
62	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLLDSGDHTYLNWLQQRPGQPPRLIY SVSNLESGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFGQ GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
63	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLLDSGDHTYLNWLLQKPGQPPQLLIY SVSNLESGVPNRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
64	DVVMTQSPLSQPVTLGQPASISCRSSQSLLDSGDHTYLNWLQQRPGQSPRRLI YSVSNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLSISRVEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFG QGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
65	Blank
66	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVG QIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCT <u>S</u> WEWDLDFWGQGTMTVSS
67	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEWVG QIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCT <u>S</u> WEWDLDFWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL

	TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
68	SPLPITPVNATCAIRHPCHNNLMNQIRSQLAQLNGSANALFILYYTAQGEPFP NNLDKLCGPNVTDFPPFHANGTEKAKLVELYRIVVYLGTS LGNITRDQKILNP SALSLH SKLNATADILRGLLSNVLCRLCSKYHVGHV DVTYGPDTSGKDV FQ KKKLGCQLLGKYKQIIAVLAQAF

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения индивидуума, страдающего от рака, предусматривающий введение индивидууму, страдающему от рака, эффективного количества:

- а) полипептида, связывающего лейкоз-ингибирующий фактор (LIF); и
- б) антинеопластического средства на основе платины.

2. Способ по п. 1, предусматривающий введение эффективного количества полипептида, связывающего LIF, индивидууму, страдающему от рака.

3. Способ по п. 1, дополнительно предусматривающий введение эффективного количества антинеопластического средства на основе платины индивидууму, страдающему от рака.

4. Способ по п. 1, где полипептид, связывающий LIF, содержит фрагмент варибельной области иммуноглобулина или константной области тяжелой цепи иммуноглобулина.

5. Способ по п. 1, где полипептид, связывающий LIF, предусматривает антитело, которое специфически связывается с LIF.

6. Способ по п. 5, где антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит по меньшей мере одну каркасную область, полученную из каркасной области человеческого антитела.

7. Способ по п. 5, где антитело, которое специфически связывается с LIF, является гуманизированным.

8. Способ по п. 5, где антитело, которое специфически связывается с LIF, является деиммунизированным.

9. Способ по п. 5, где антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина.

10. Способ по п. 5, где антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой антитело IgG.

11. Способ по п. 5, где антитело, которое специфически связывается с LIF, представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный варибельный фрагмент (scFv) или наноантитело.

12. Способ по п. 5, где антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит:

- а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3;

- b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5;
- c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8;
- d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10;
- e) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и
- f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13.

13. Способ по п. 5, где антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит:

- a) последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 41, 42, 44 или 66; и
- b) последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 45-48.

14. Способ по п. 13, где последовательность VH на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46.

15. Способ по п. 14, где последовательность VH идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 42; и последовательность VL идентична аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 46.

16. Способ по п. 5, где антитело, которое специфически связывается с LIF, содержит:

- а) последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 57-60 или 67; и
- б) последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентична аминокислотной последовательности, представленной под любым из SEQ ID NO: 61-64.

17. Способ по п. 5, где антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с KD, составляющей менее приблизительно 200 пикомоль/л.

18. Способ по п. 5, где антитело, которое специфически связывается с LIF, связывается с KD, составляющей менее приблизительно 100 пикомоль/л.

19. Способ по п. 1, где антинеопластическое средство на основе платины включает цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, тетранитрат триплатина, фенантриплатин, пикоплатин, сатраплатин или их комбинации.

20. Способ по п. 19, где антинеопластическое средство на основе платины представляет собой цисплатин.

21. Способ по п. 1, где рак включает распространенную солидную опухоль, глиобластому, рак желудка, рак кожи, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак яичка, рак щитовидной железы, рак головы и шеи, рак печени, рак почки, рак пищевода, рак яичника, рак толстой кишки, рак легкого, лимфому или рак мягких тканей.

22. Способ по п. 21, где рак включает немелкоклеточный рак легкого, эпителиальную карциному яичника или аденокарциному поджелудочной железы.

23. Способ по п. 1, где рак является рефрактерным к лечению терапевтическим количеством ингибитора полипептида, связывающего LIF.

24. Способ по п. 1, где рак является рефрактерным к лечению терапевтическим количеством антинеопластического средства на основе платины.

25. Способ по п. 1, где полипептид, связывающий лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), и антинеопластическое средство на основе платины вводят по отдельности.

26. Способ по п. 1, где полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины вводят по разным схемам.

27. Способ по п. 1, где полипептид, связывающий LIF, и антинеопластическое средство на основе платины вводят в одной композиции.

28. Способ лечения индивидуума, страдающего от рака, предусматривающий введение индивидууму, страдающему от рака, эффективного количества комбинации:

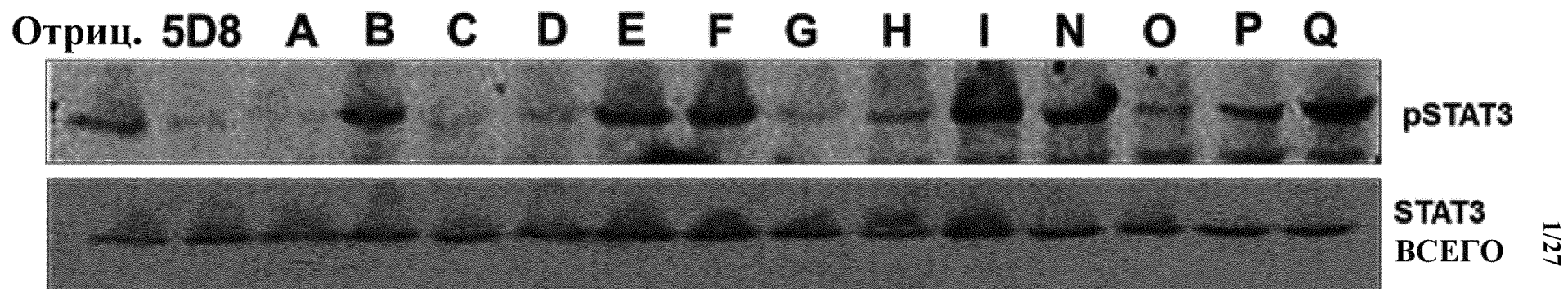
а) антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащего:

- i. определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 1-3;
- ii. определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 4 или 5;
- iii. определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 6-8;
- iv. определяющую комплементарность область 1 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 9 или 10;
- v. определяющую комплементарность область 2 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 11 или 12; и
- vi. определяющую комплементарность область 3 легкой цепи иммуноглобулина (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 13; и

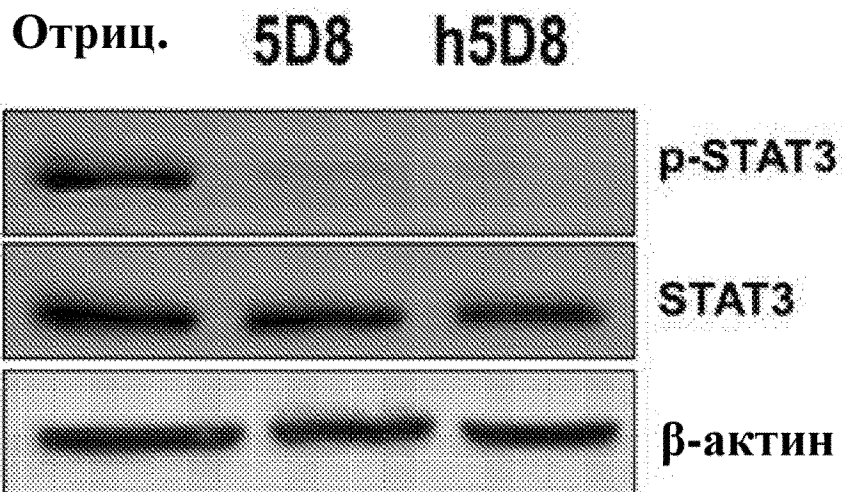
б) антинеопластического средства на основе платины.

29. Способ по п. 28, дополнительно предусматривающий введение эффективного количества полипептида, связывающего LIF, индивидууму, страдающему от рака.

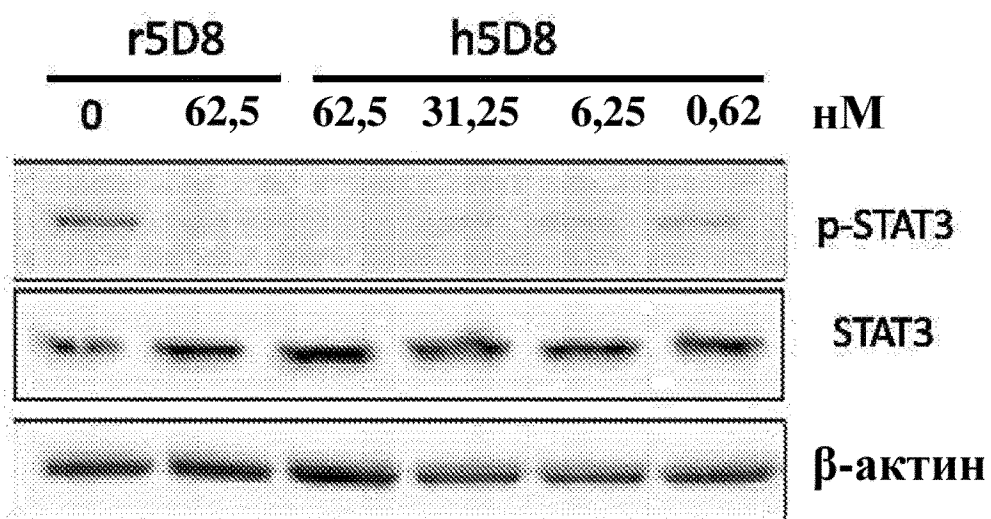
30. Способ по п. 28, дополнительно предусматривающий введение эффективного количества антинеопластического средства на основе платины индивидууму, страдающему от рака.



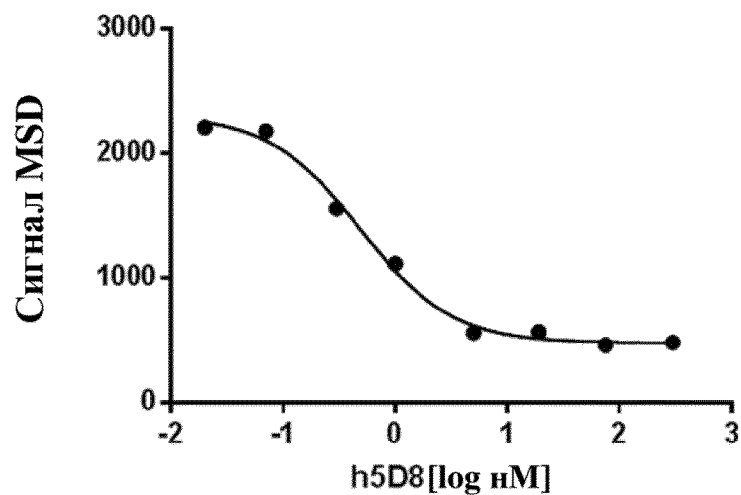
Фиг. 1



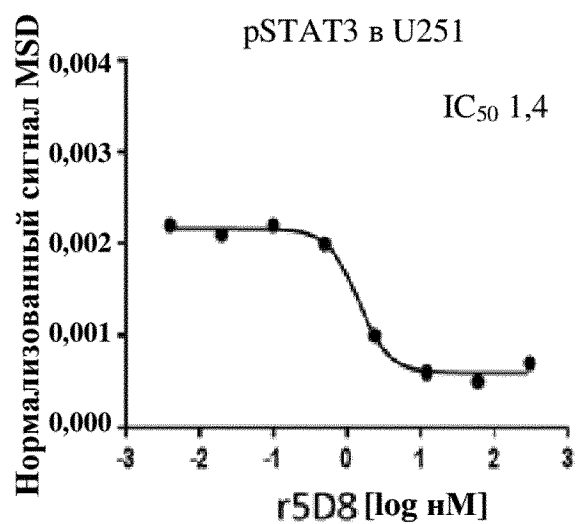
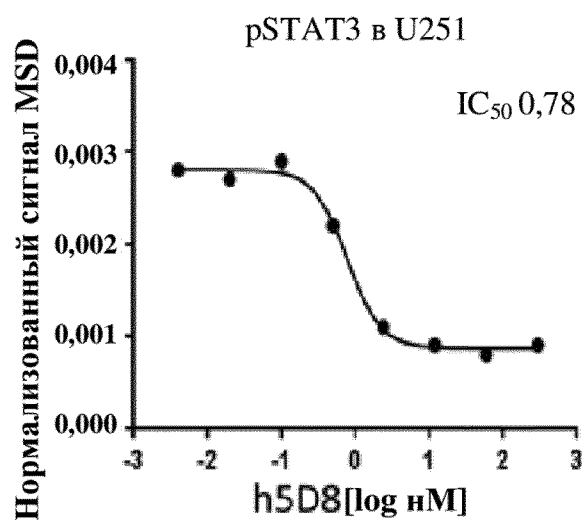
Фиг. 2А



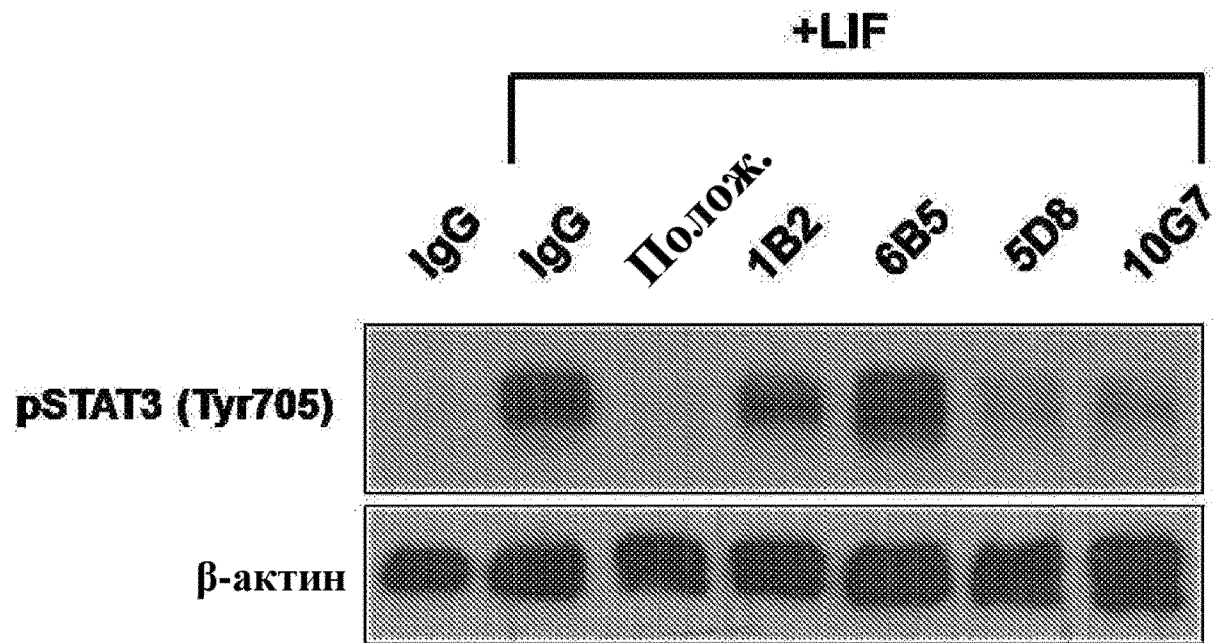
Фиг. 2В



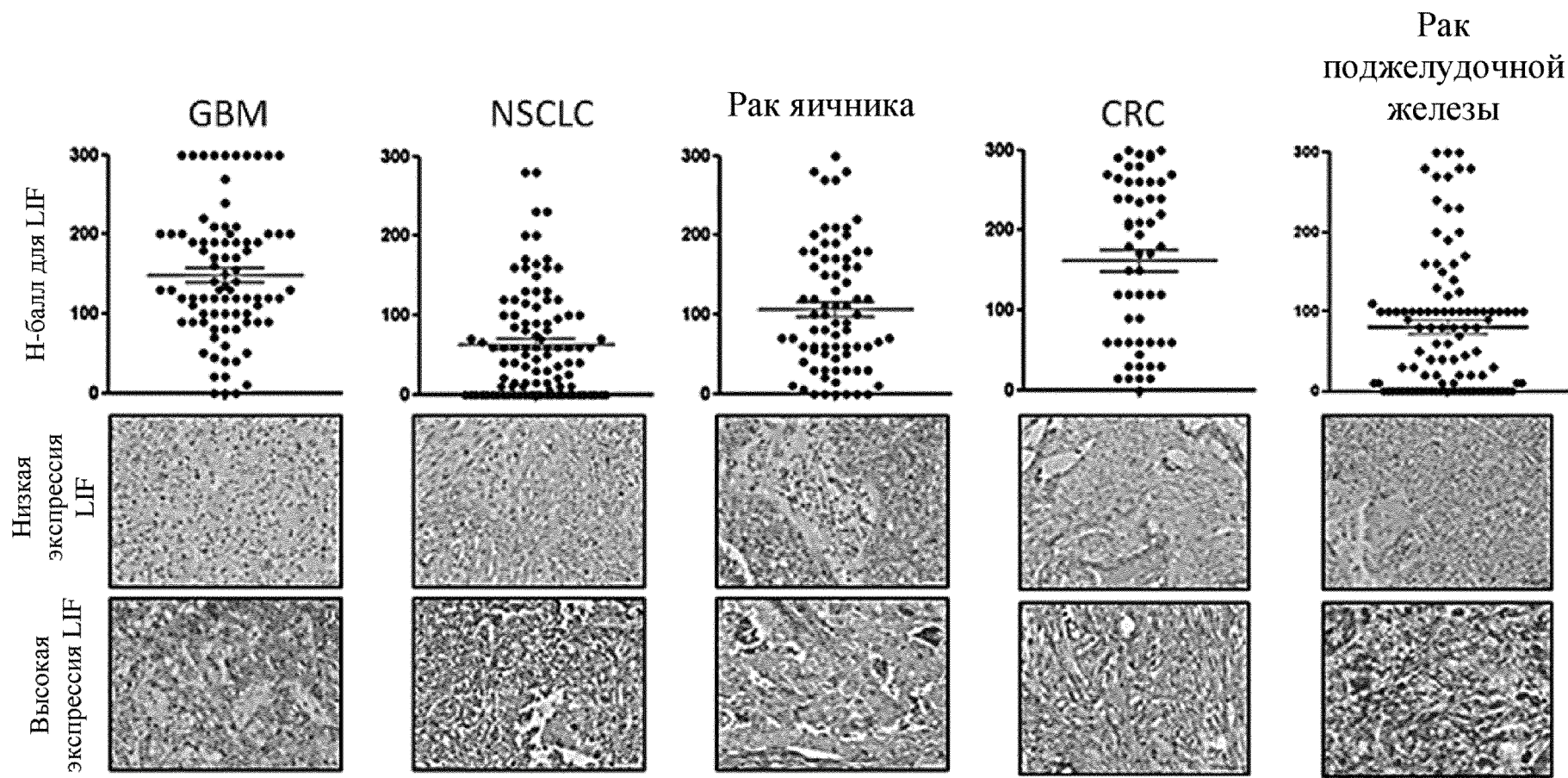
Фиг. 3А



Фиг. 3В

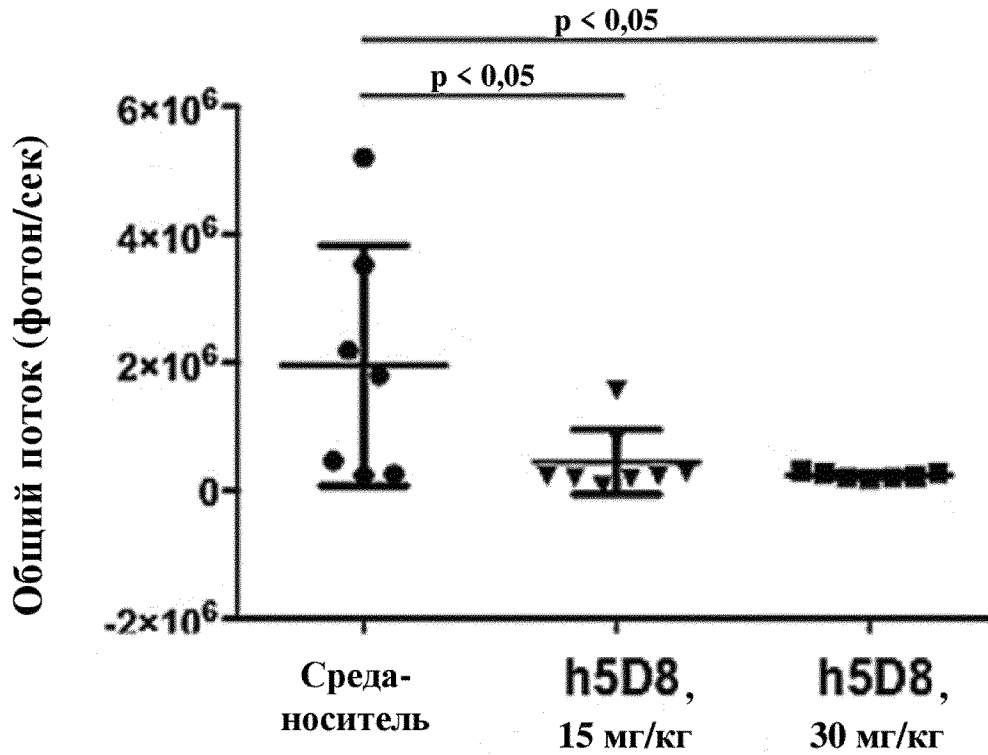


Фиг. 4

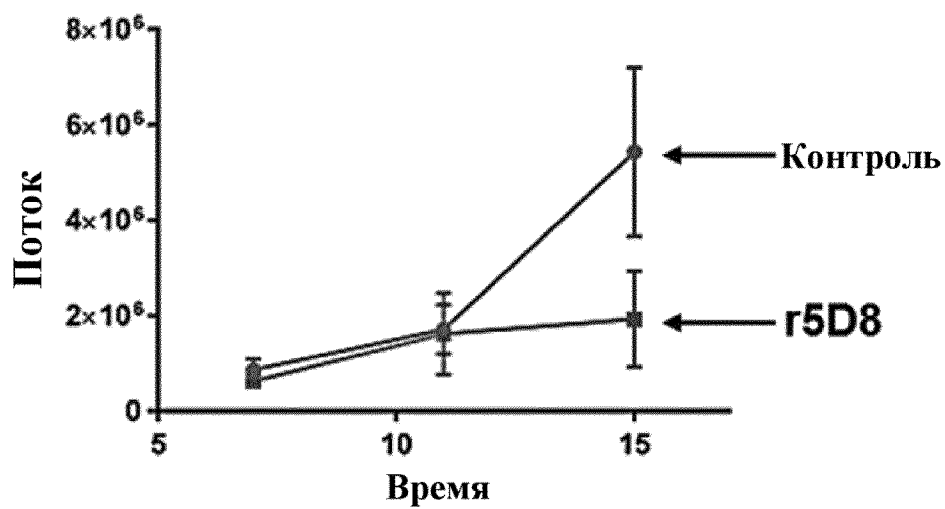


Фиг. 5

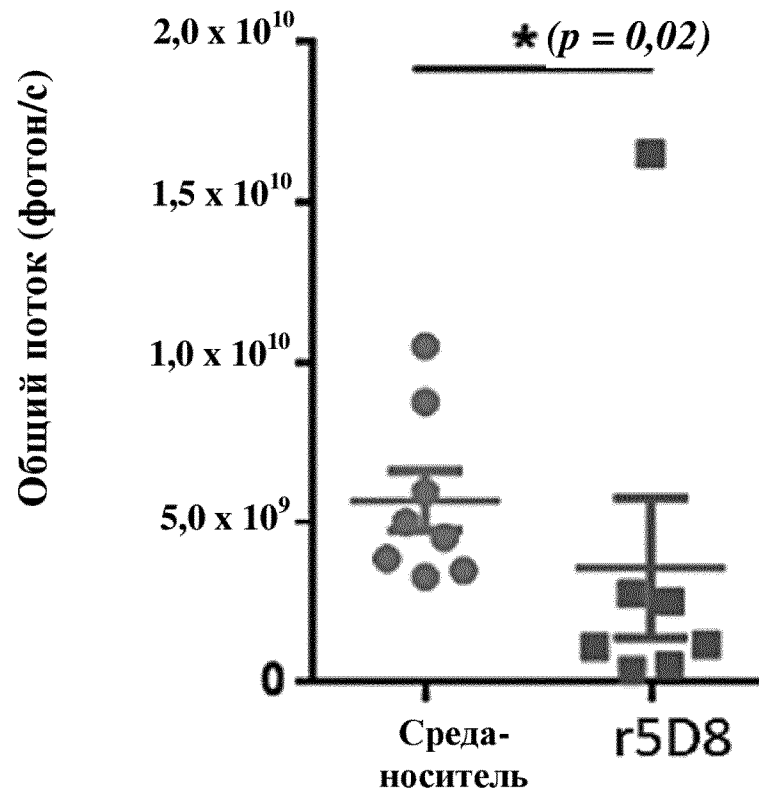
**Объем опухоли
(30 дней после хирургического
вмешательства)**



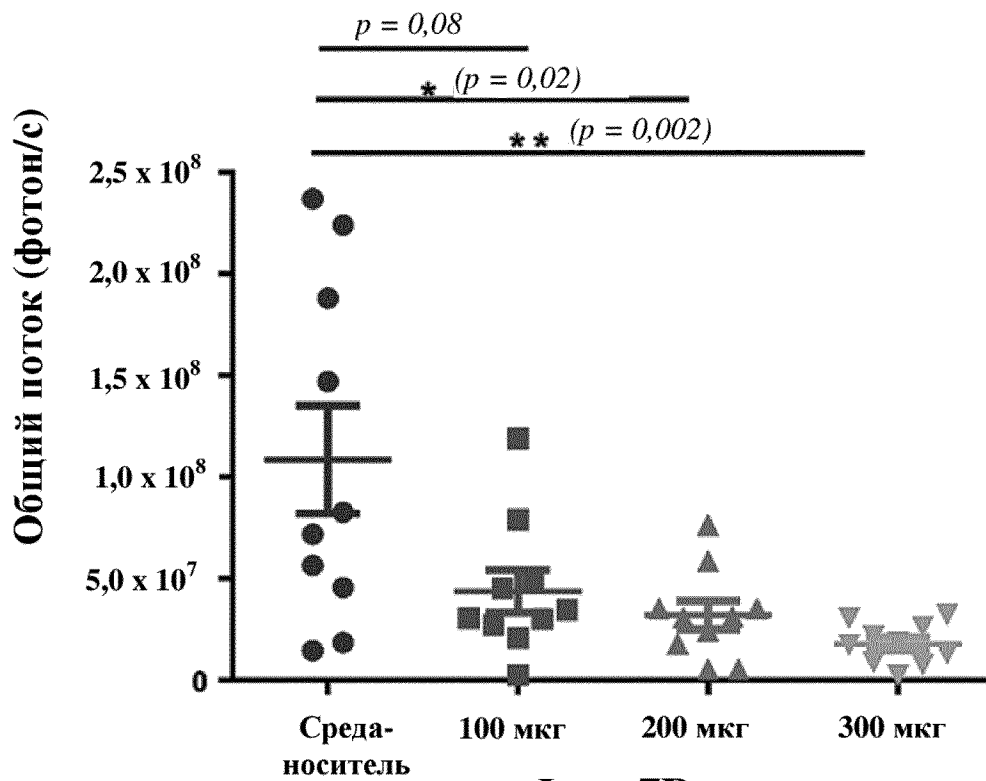
Фиг. 6А



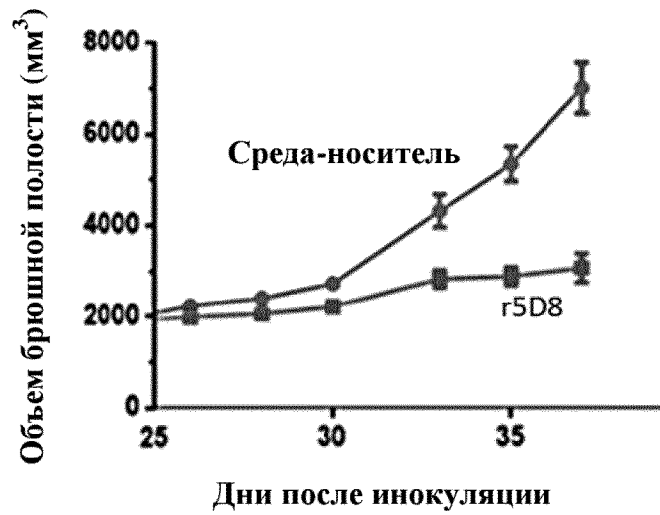
Фиг. 6В



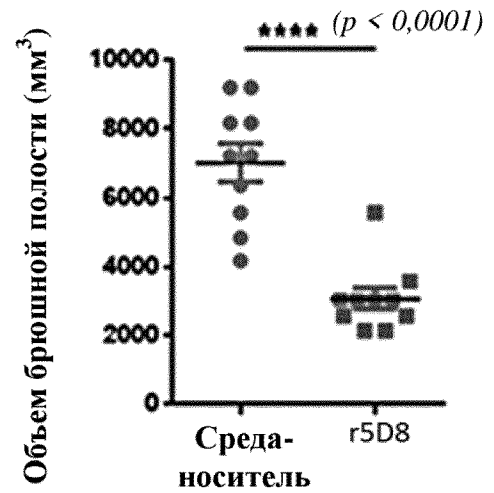
Фиг. 7А



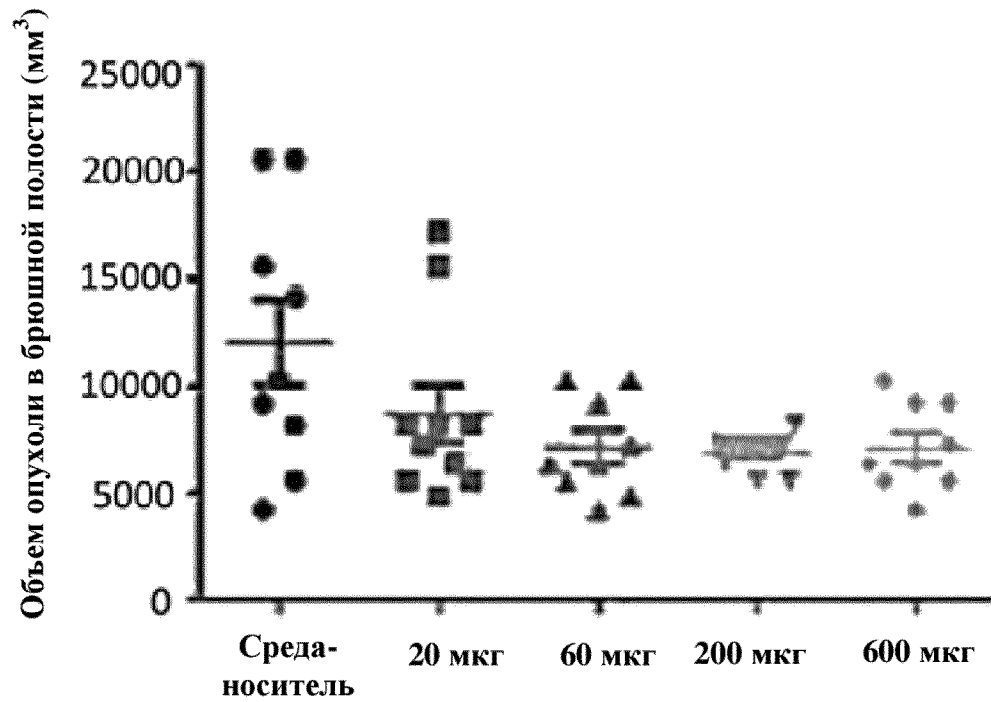
Фиг. 7В



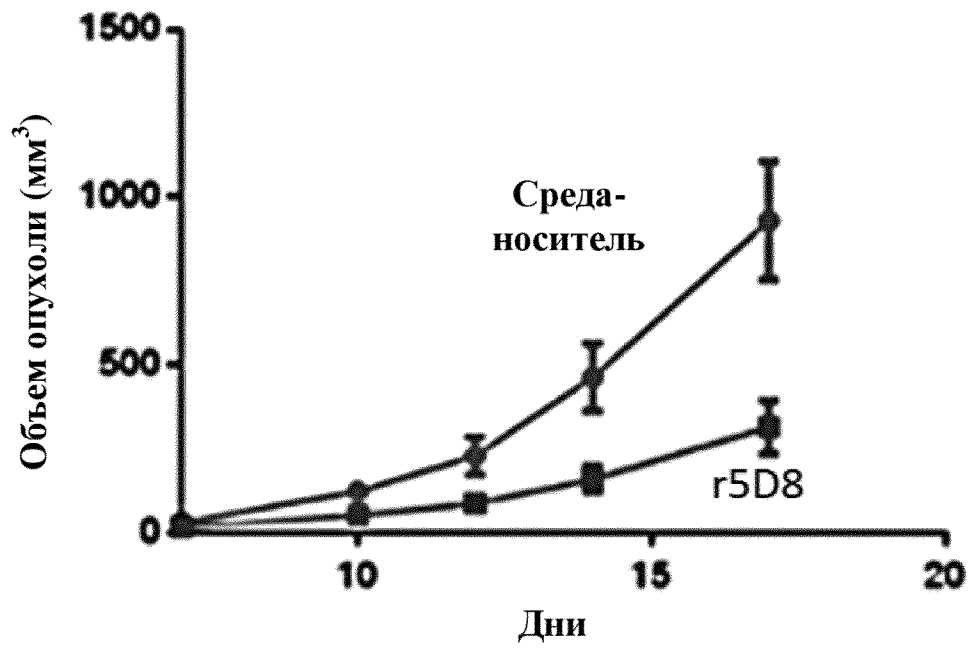
Фиг. 8А



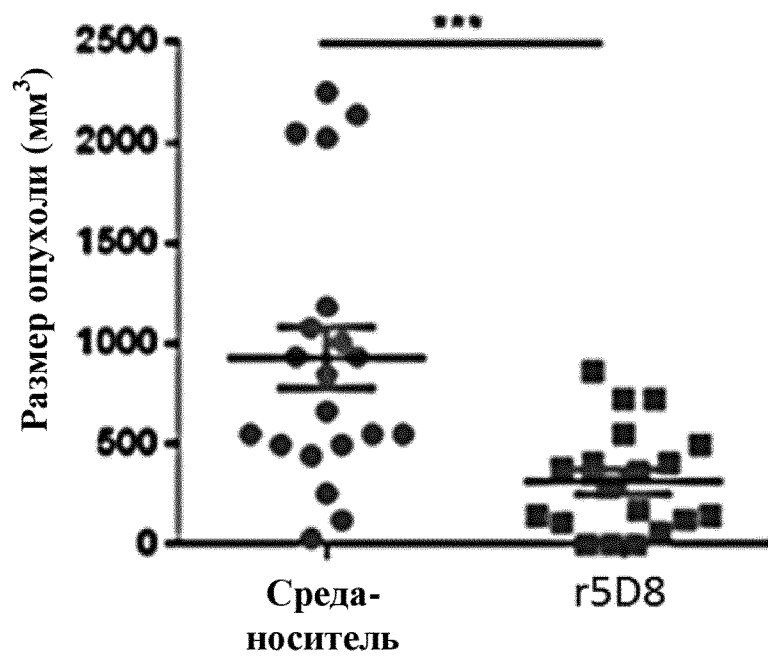
Фиг. 8В



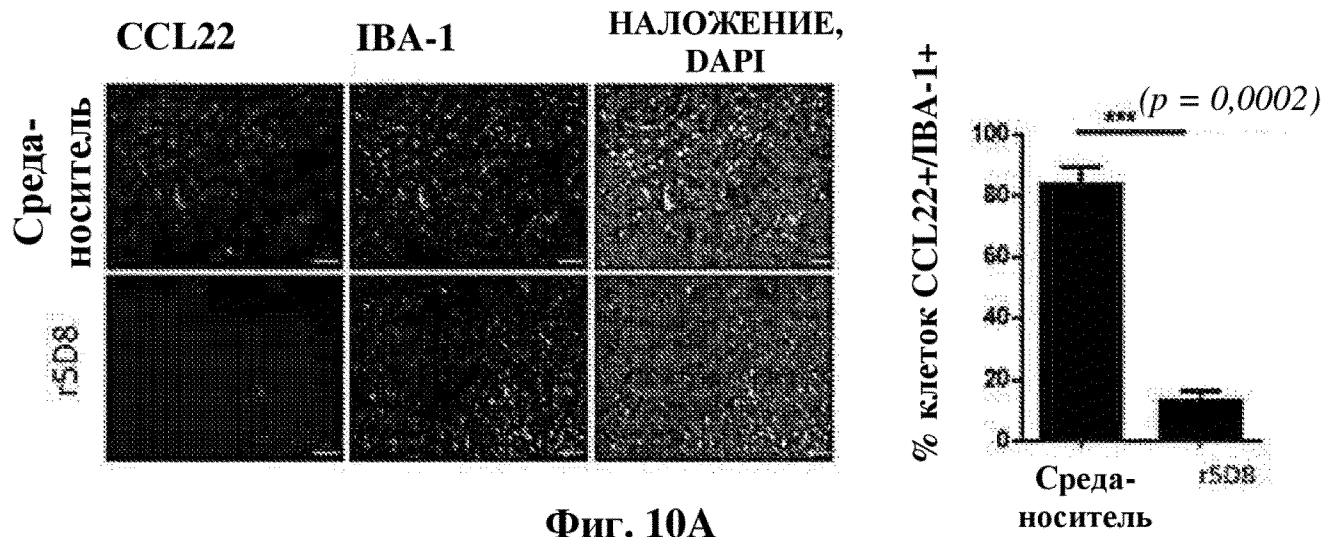
Фиг. 8С

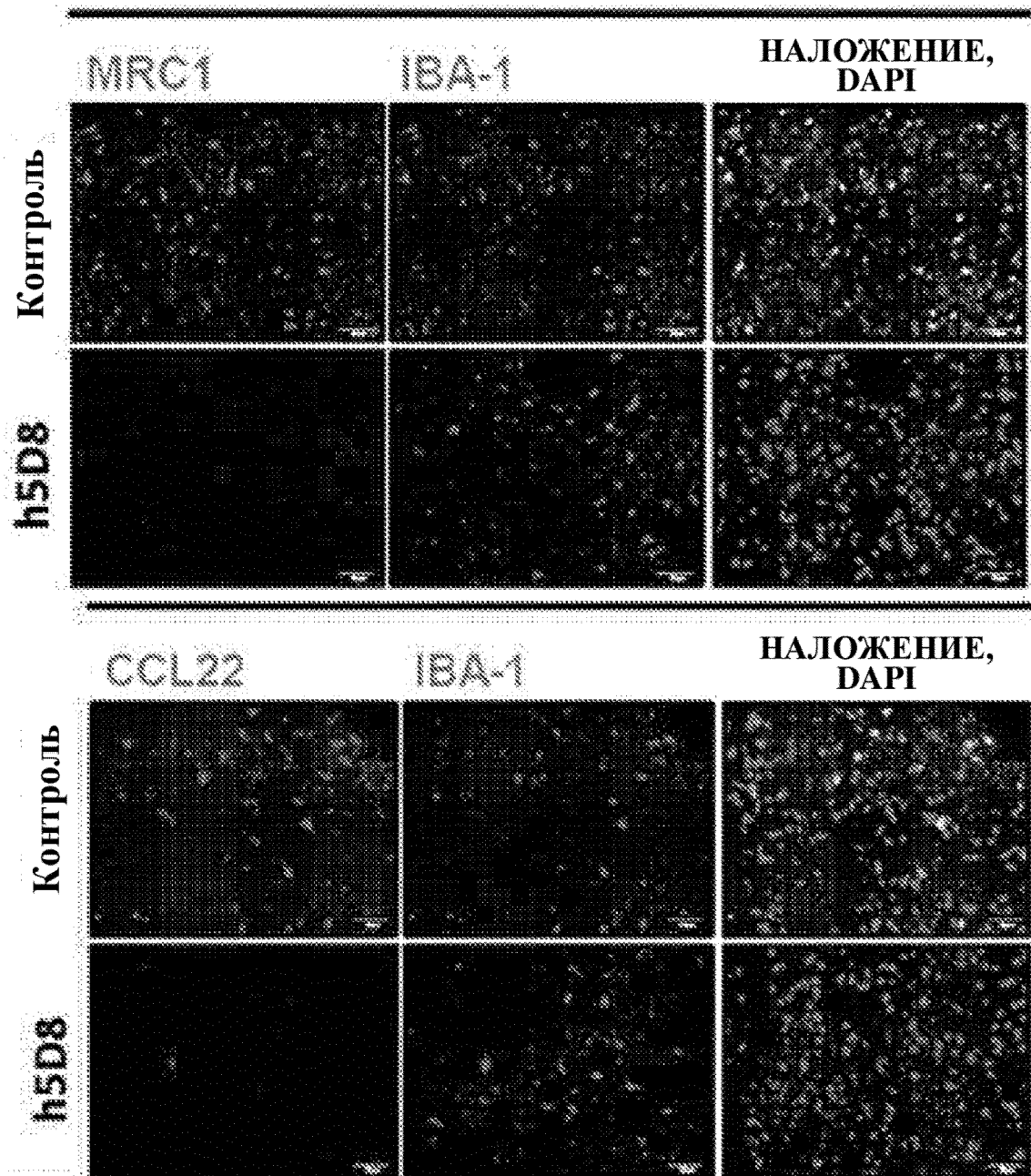


Фиг. 9А

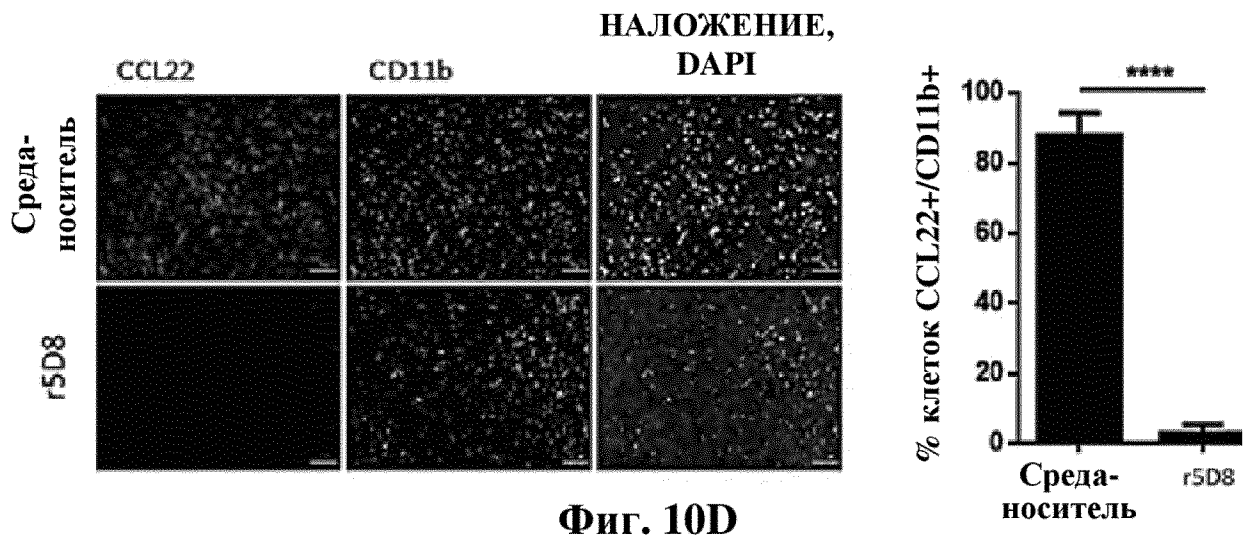
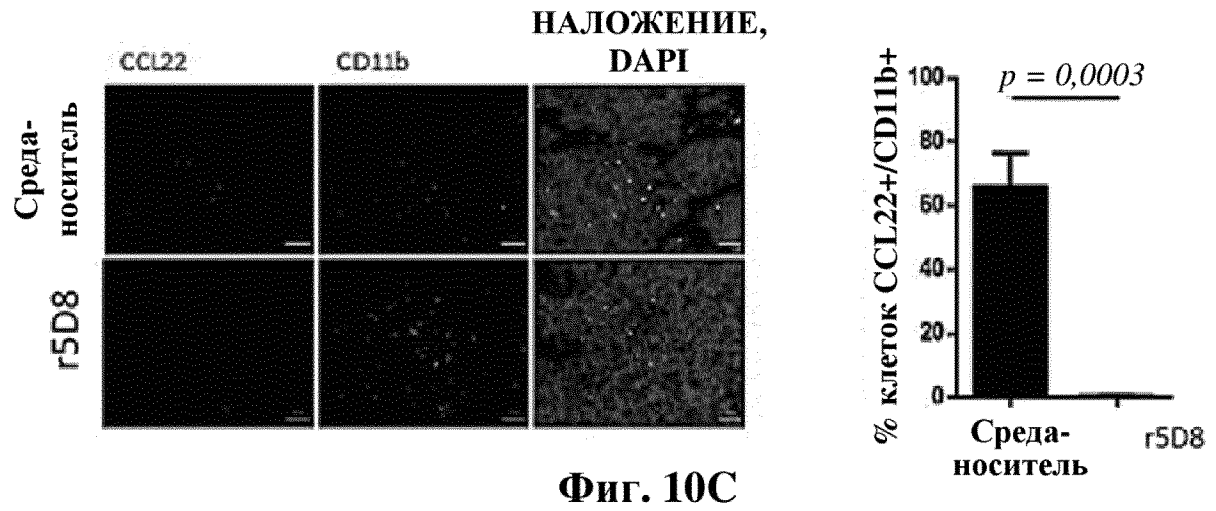


Фиг. 9В

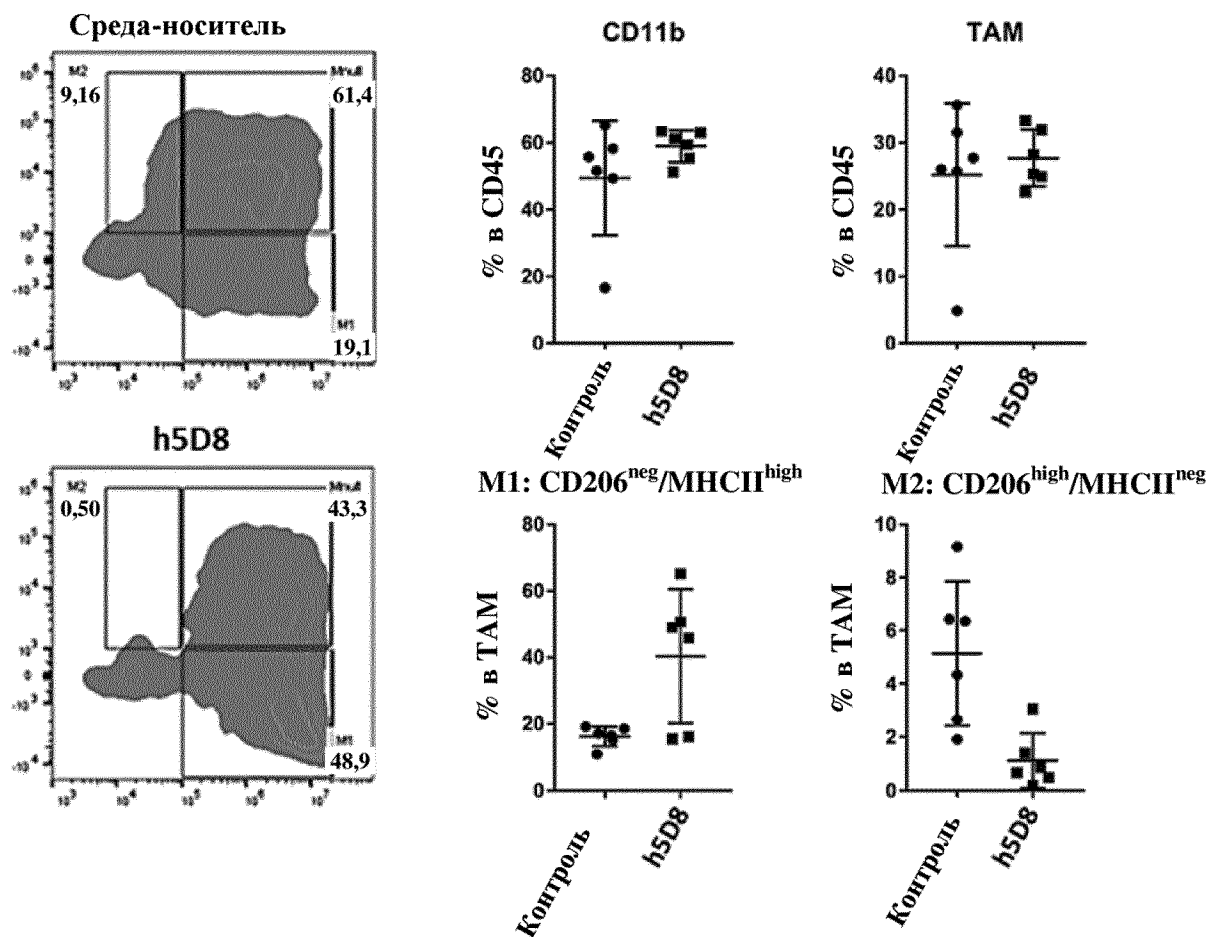




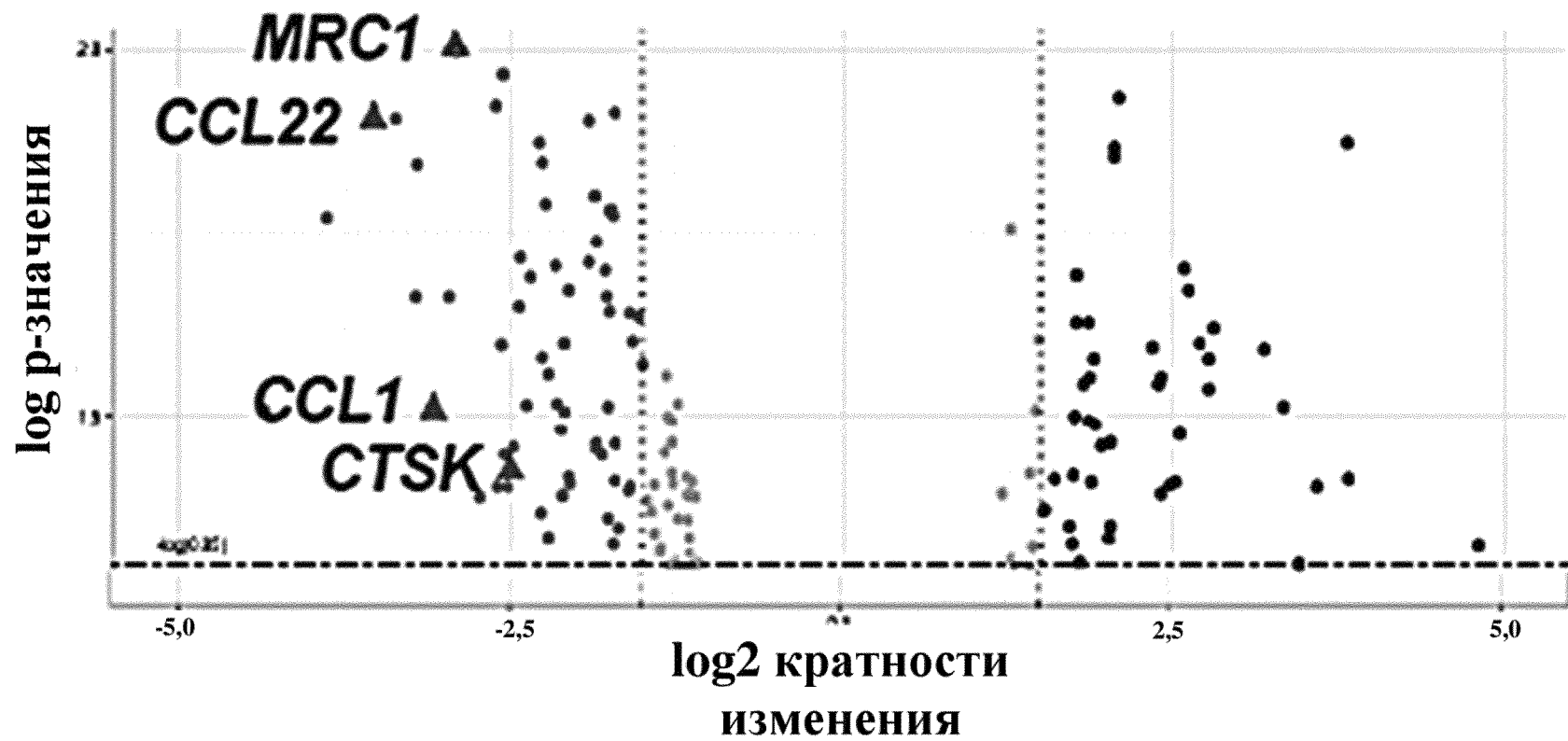
Фиг. 10В



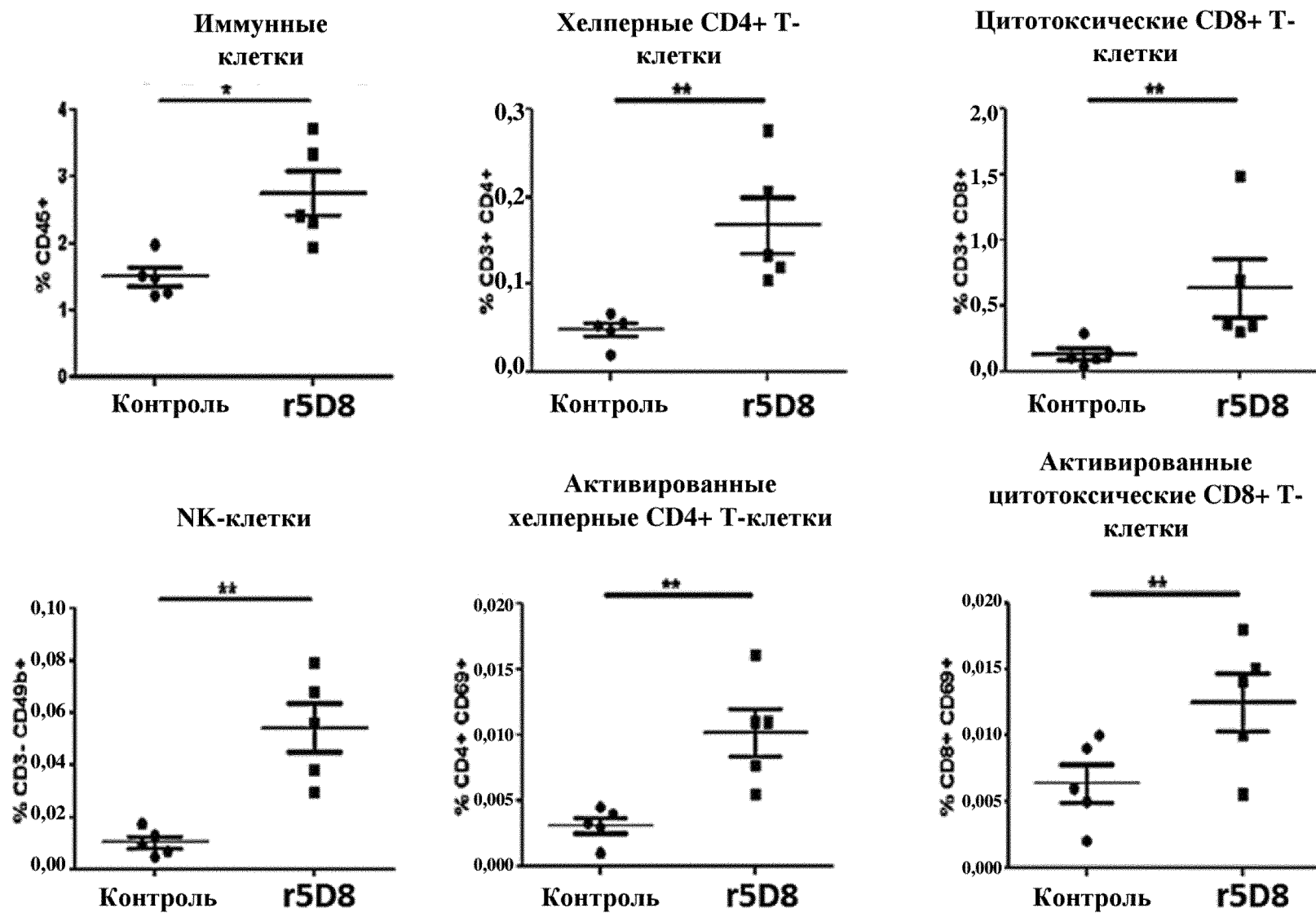
13/27



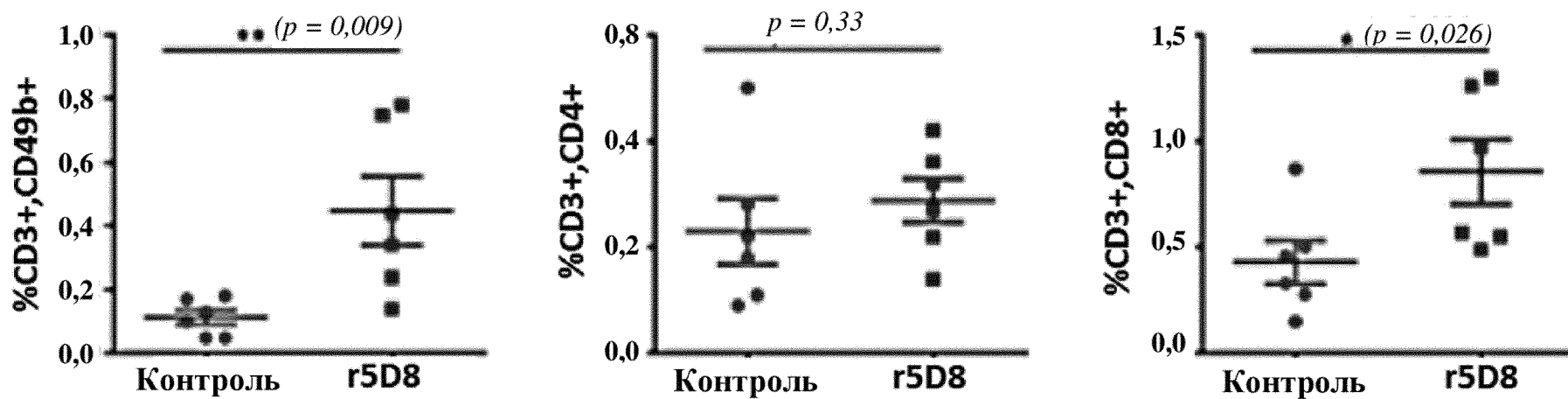
Фиг. 10Е



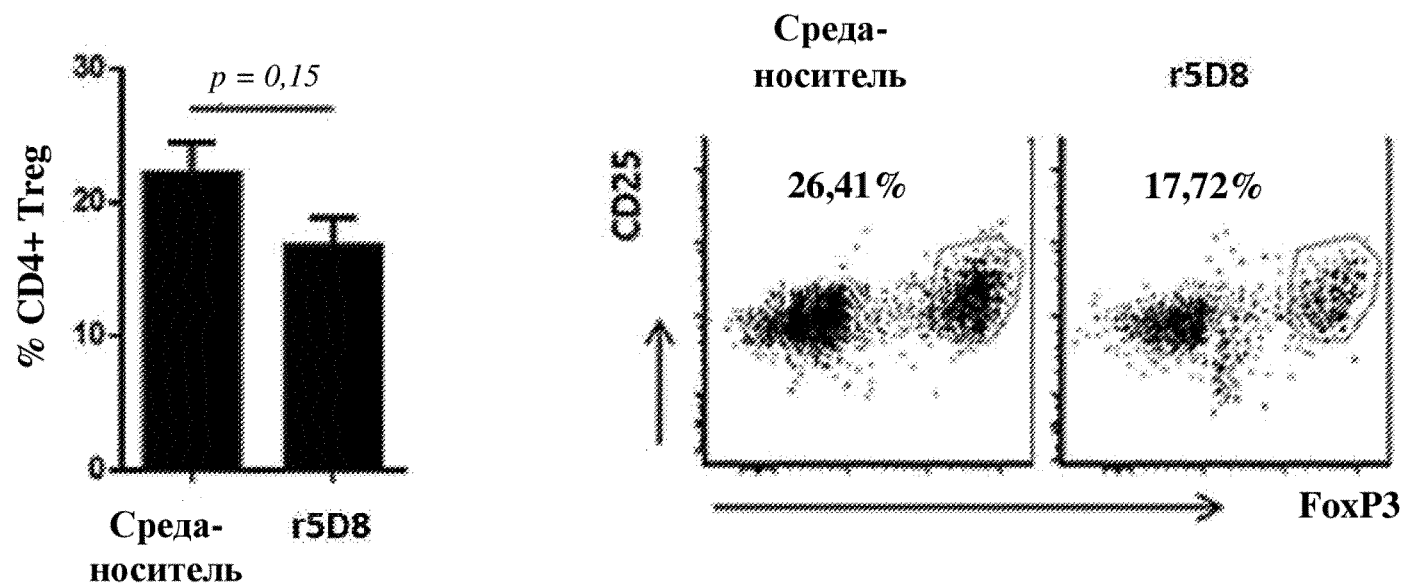
Фиг. 10F



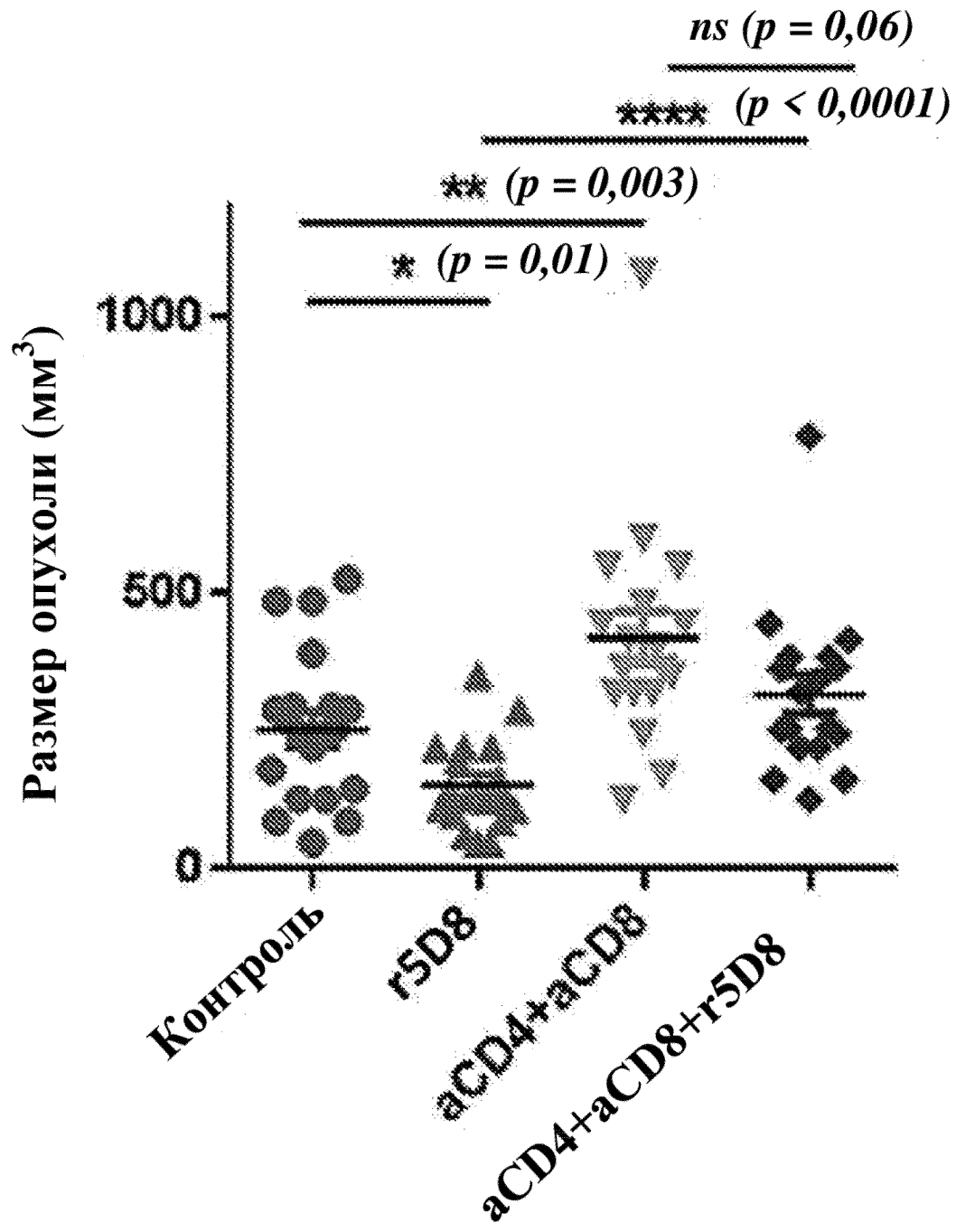
Фиг. 11А



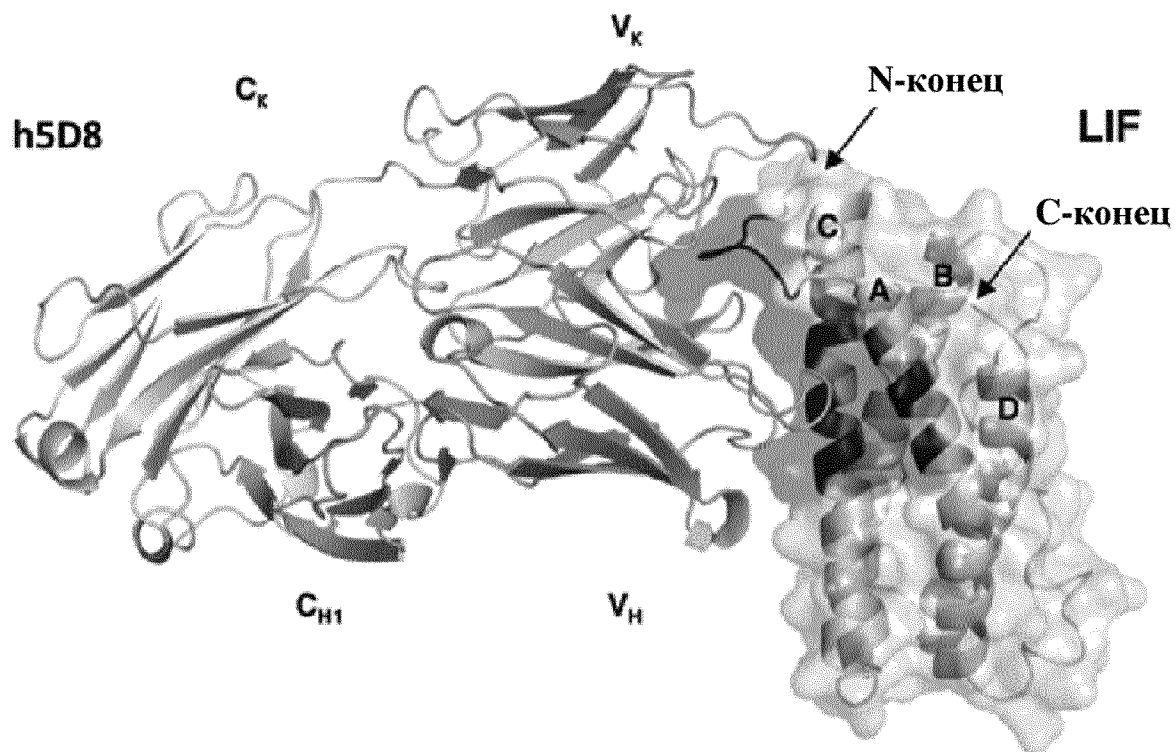
Фиг. 11В



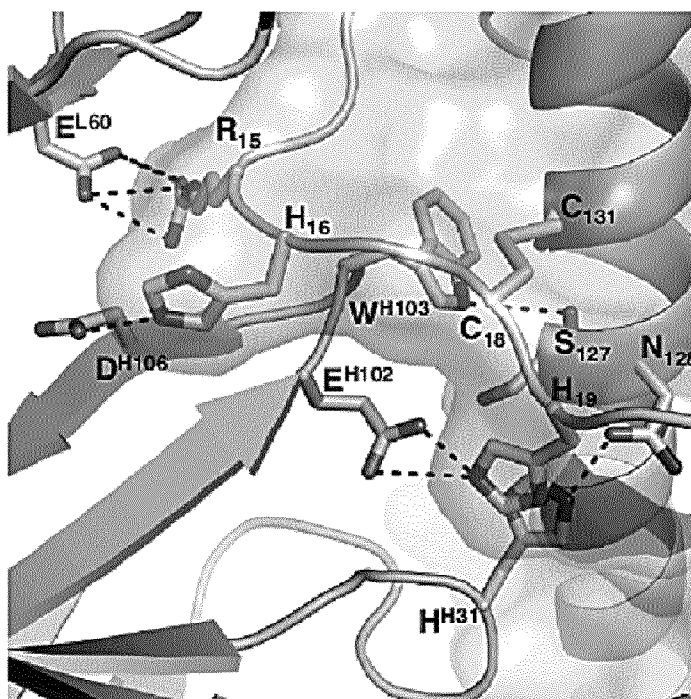
Фиг. 11С



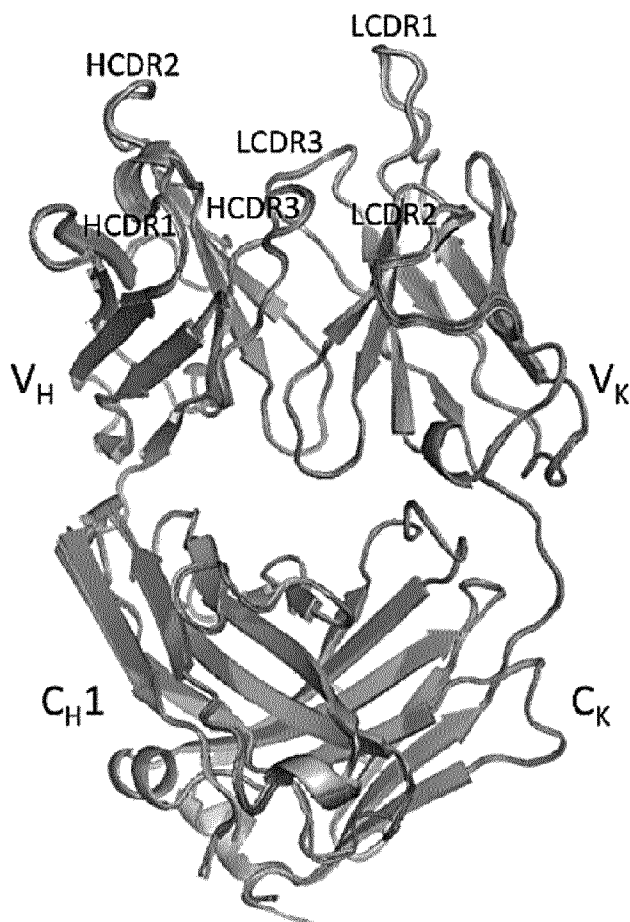
Фиг. 12



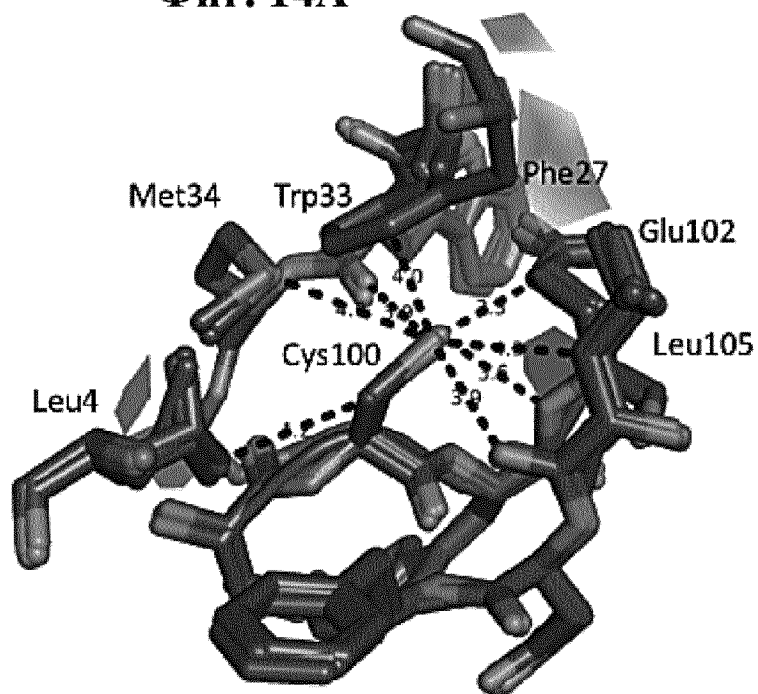
Фиг. 13А



Фиг. 13В

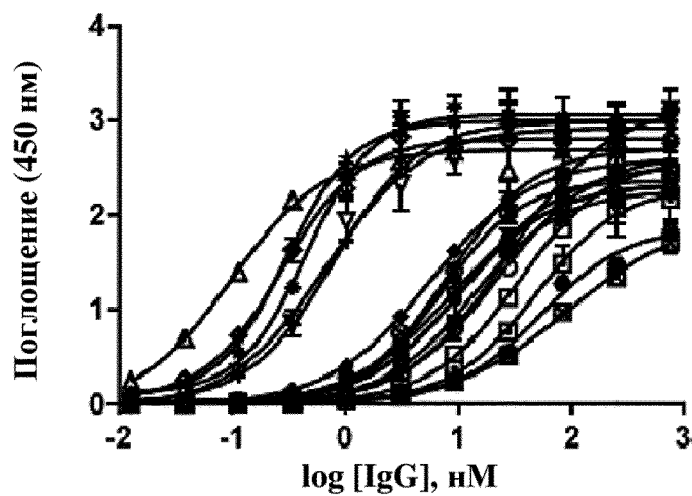


Фиг. 14А



Фиг. 14В

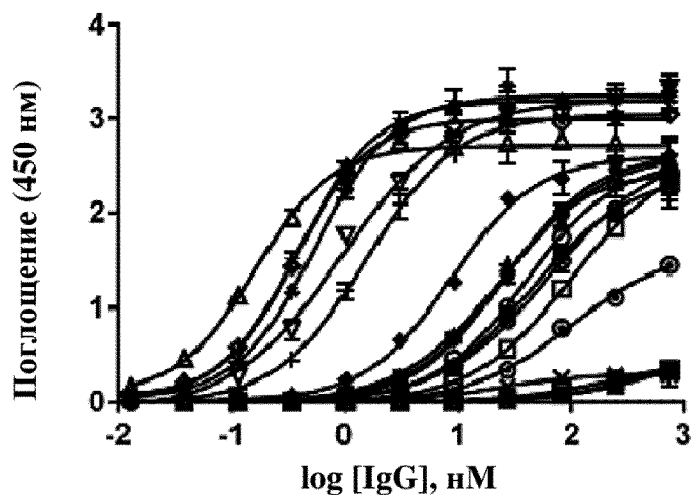
Человеческий LIF



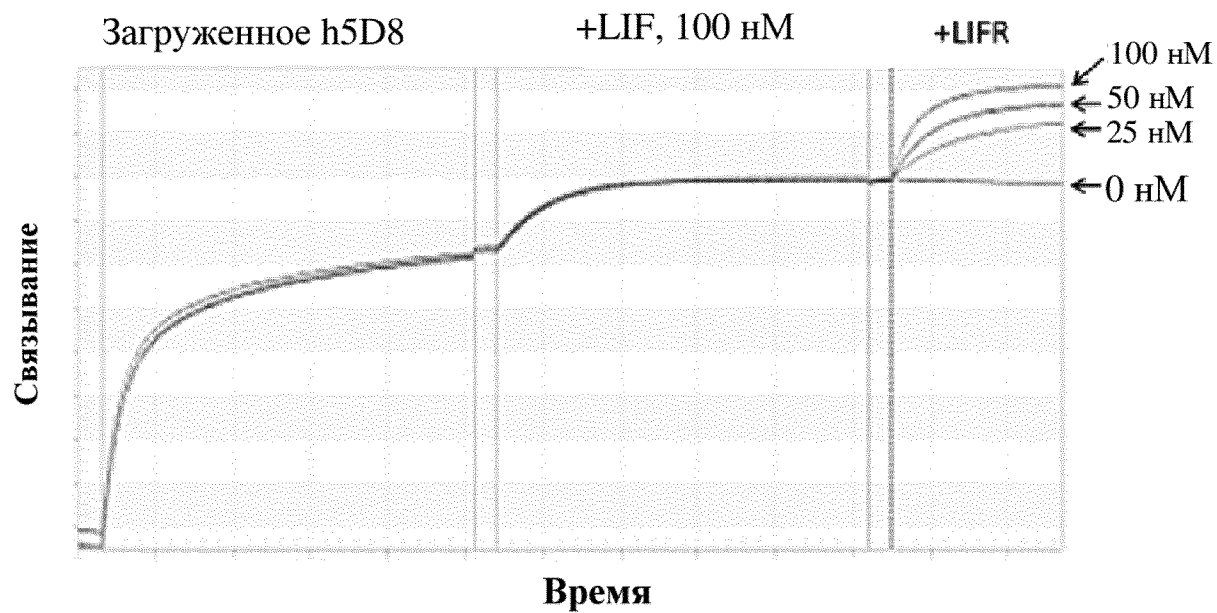
- △ C100
- C100Q
- C100N
- ▲ C100E
- ▼ C100D
- ◆ C100T
- ⊙ C100G
- ⊠ C100P
- ▽ C100A
- ◇ C100V
- ◆ C100L
- ★ C100I
- ⊕ C100M
- ✕ C100F
- ⊗ C100Y
- ⊡ C100W
- ⊙ C100H
- ⊠ C100K
- C100R

Фиг. 15А

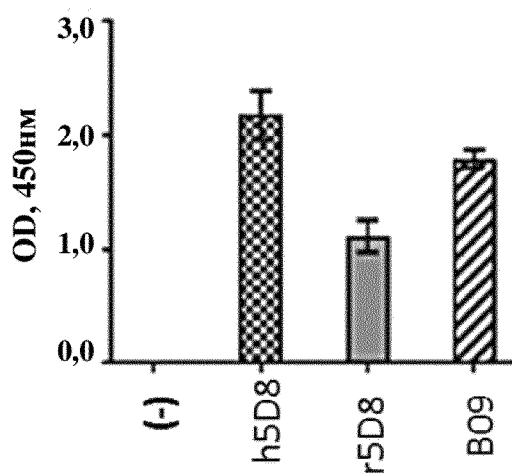
Мышиный LIF



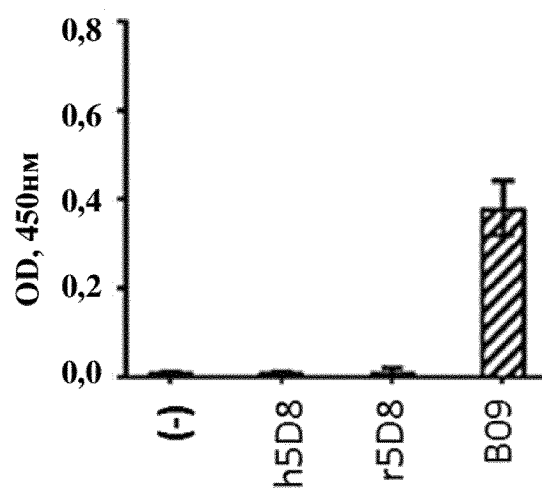
Фиг. 15В



Фиг. 16А



Фиг. 16В



Фиг. 16С

Жировая ткань-брыжейка подвздошной кишки

Кровеносные сосуды - хориондное сплетение (головной мозг)

Кровеносные сосуды - брыжейка (толстая кишка)

Головной мозг: кора (височная доля)

Головной мозг: черная субстанция

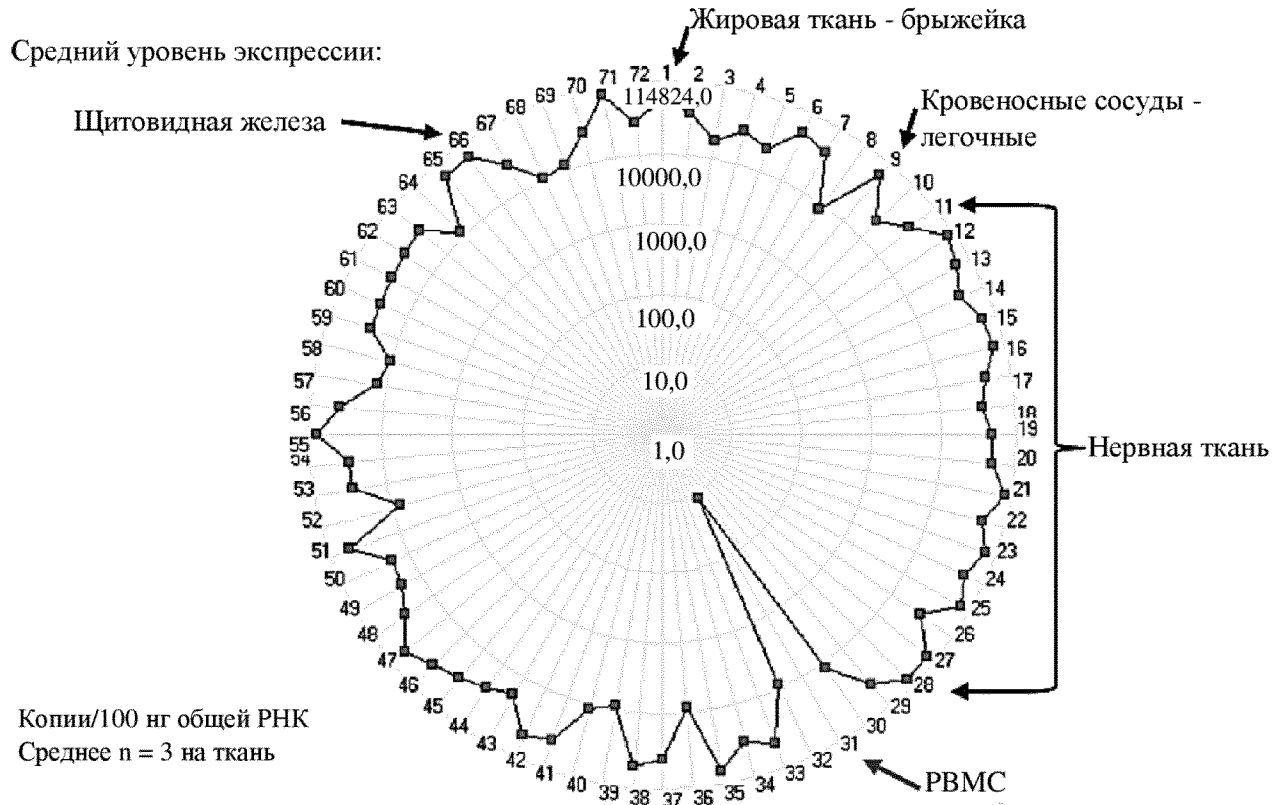
Ткани пуповины

Общей РНК а ткань

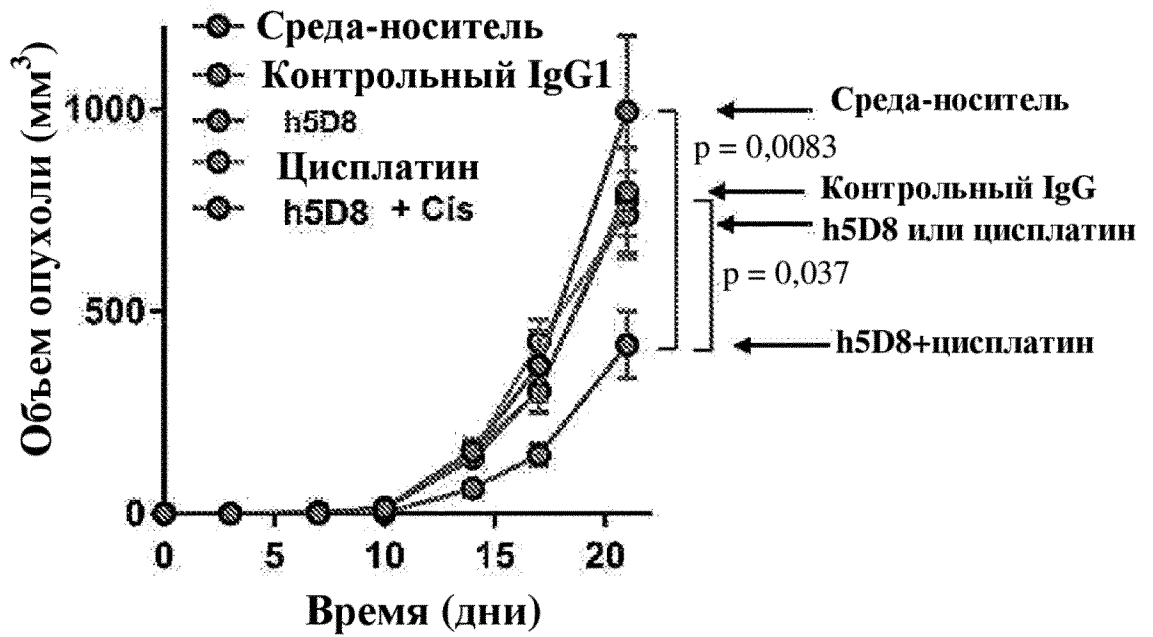
1,0
10,0
100,0
1000,0

28 types of tissues/organs numbered around the perimeter.

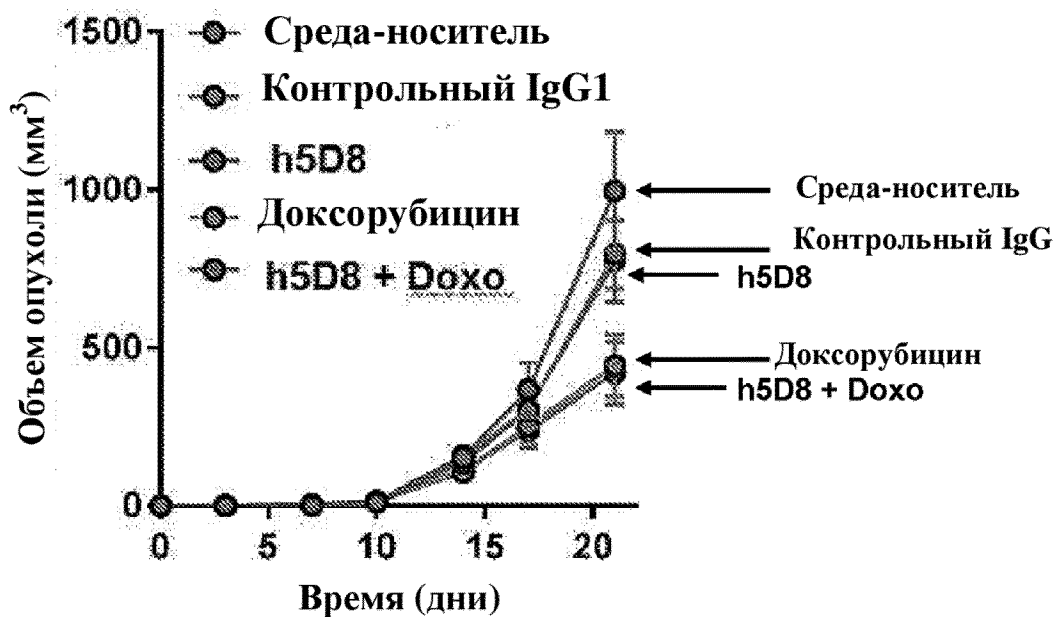
Фиг. 17А



Фиг. 17В

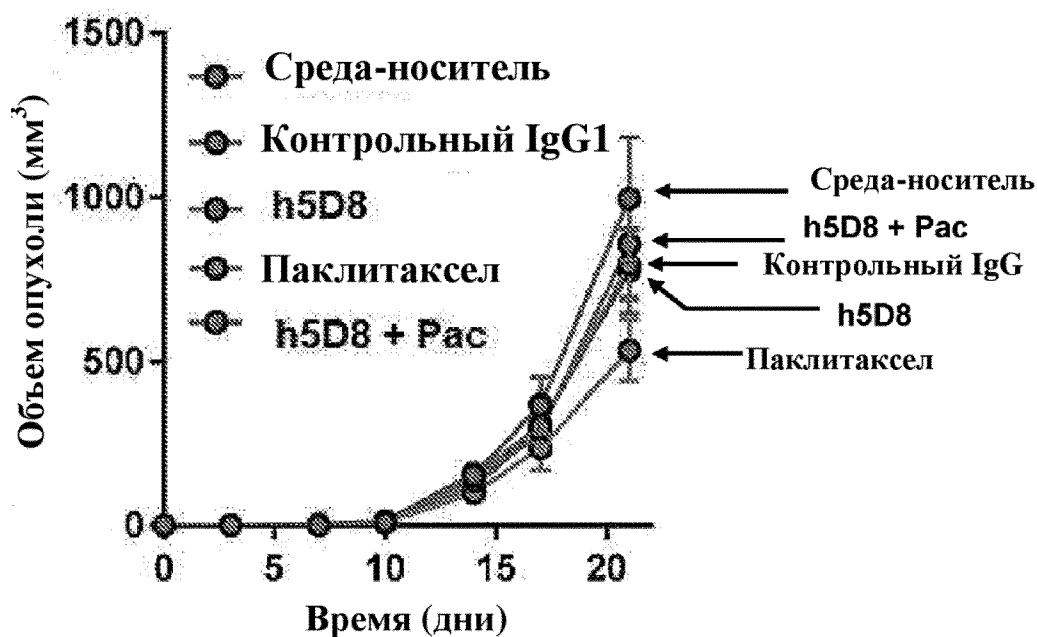
h5D8/комбинация с цисплатином/CT26 SC**Фиг. 18**

Комбинация с доксорубицином

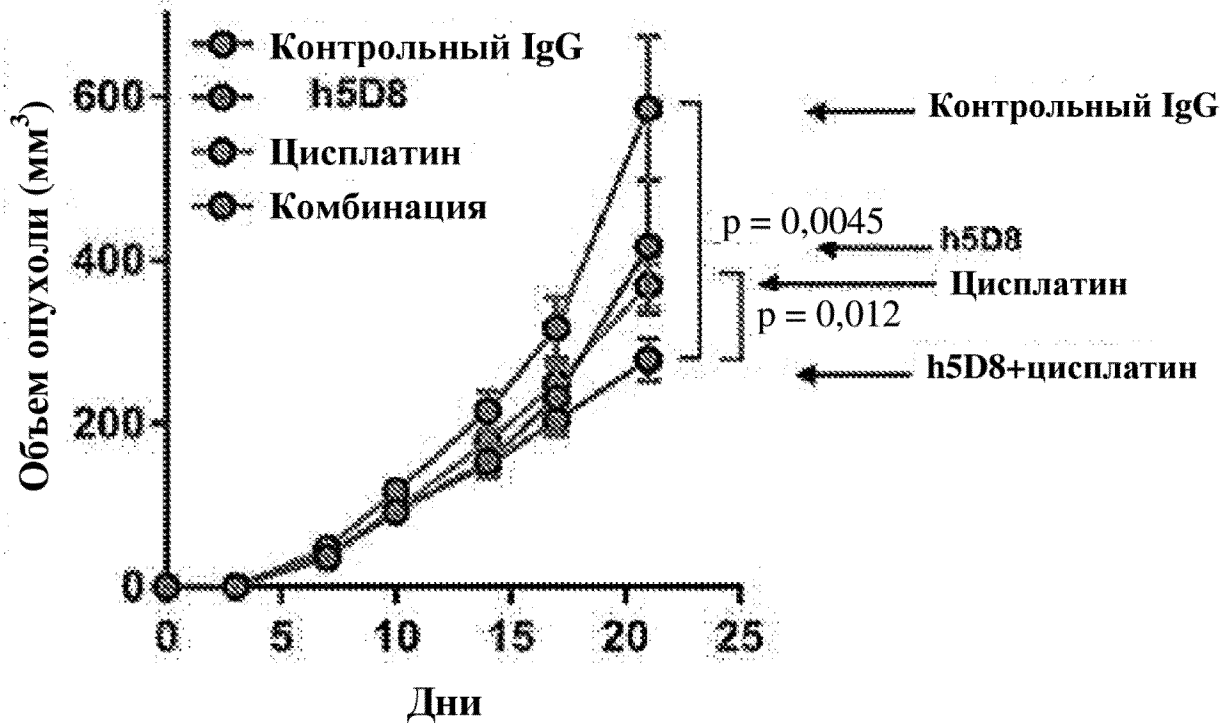


Фиг. 19А

Комбинация с паклитакселом



Фиг. 19В

h5D8/комбинация с цисплатином/CT26 ID**Фиг. 20**