

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202193024** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.02.09

(22) Дата подачи заявки
2020.05.04

(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
A61P 35/04 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

**(54) АНТИ-CD19-ТЕРАПИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ОГРАНИЧЕННЫМ ЧИСЛОМ
ЕСТЕСТВЕННЫХ КЛЕТОК-КИЛЛЕРОВ**

(31) 19172495.4

(32) 2019.05.03

(33) EP

(86) PCT/EP2020/062289

(87) WO 2020/225196 2020.11.12

(71) Заявитель:
МОРФОСИС АГ (DE)

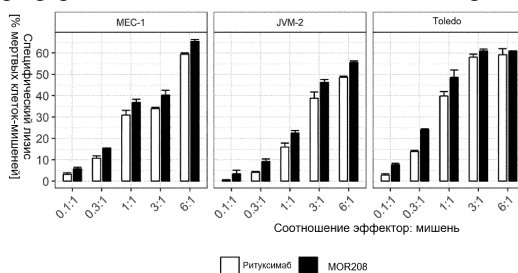
(72) Изобретатель:

**Куффер Кристиан, Фингерле-Роусон
Гюнтер, Виндерлих Марк, Энделль
Ян (DE)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Согласно настоящему изобретению предложены характеристики и биомаркеры у пациентов, получающих лечение анти-CD19 антителами (MOR00208, XmAb5574). Кроме того, настоящее изобретение относится к анти-CD19 антителам для лечения лейкемии или лимфомы у пациентов с исходным количеством периферических NK-клеток, меньшим или равным 100 NK-клеток/мкл.



202193024

A1

A1

202193024

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-571400ЕА/061

АНТИ-CD19-ТЕРАПИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ОГРАНИЧЕННЫМ ЧИСЛОМ ЕСТЕСТВЕННЫХ КЛЕТОК-КИЛЛЕРОВ

Область техники изобретения

Настоящее изобретение направлено на определение характеристик и биомаркеров у пациентов, получающих лечение анти-CD19 антителами. Кроме того, настоящее изобретение относится к анти-CD19 антителам для лечения лейкемии или лимфомы у пациентов с ограниченным числом естественных клеток-киллеров.

Уровень техники

CD19 представляет собой трансмембранный гликопротеин с молекулярной массой 95 кДа из надсемейства иммуноглобулинов, содержащий два внеклеточных иммуноглобулиноподобных домена и длинный цитоплазматический хвост. Белок представляет собой поверхностный рецептор, присутствующий на всех В-лимфоцитах и массово экспрессируемый, начиная с ранних стадий развития предшественника В-клеток и далее до снижения его количества в ходе конечной дифференцировки в плазматические клетки. Указанный рецептор является линейно-специфическим для В-лимфоцитов и не экспрессируется на гемопоэтических стволовых клетках и других иммунных клетках, за исключением некоторых фолликулярных дендритных клеток. CD19 действует как позитивный регулятор передачи сигналов В-клеточного рецептора (BCR) и играет важную роль в активации и пролиферации В-клеток, а также в развитии гуморальных иммунных ответов. Совместно с CD21 и CD81 он выступает в роли костимулирующей молекулы и имеет решающее значение для В-клеточных ответов на Т-зависимые антигены. Цитоплазматический хвост CD19 структурно связан с семейством тирозинкиназ, которые индуцируют нисходящие сигнальные пути с помощью Src-семейства белков тирозинкиназ. CD19 является привлекательной мишенью для опухолей лимфоидного происхождения из-за своей высокой экспрессии при всех хронических лимфоцитарных лейкозах (CLL) и неходжкинских лимфомах (NHL), а также при многих других различных видах лейкозов, включая острый лимфоцитарный лейкоз (ALL) и волосатоклеточный лейкоз (HCL).

MOR00208 (прежнее название: XmAb®5574) представляет собой гуманизированное моноклональное антитело, которое нацелено на антиген CD19, представляющий собой трансмембранный белок, участвующий в передаче сигнала через В-клеточный рецептор. Для усиления антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (ADCC) был сконструирован Fc-участок IgG MOR00208, тем самым улучшив ключевой механизм лизиса опухолевых клеток и обеспечив возможность повышенной эффективности по сравнению с обычными антителами, т. е. антителами без усиления. MOR00208 изучали или изучают в настоящее время в нескольких клинических исследованиях, таких как исследования CLL, ALL и NHL. В некоторых из тех исследований MOR00208 применяли в комбинации с иделалисибом, леналидомидом или

венетоклаксом.

В фазе II/III исследования, называемого B-MIND, изучали эффективность и безопасность MOR00208 в комбинации с бендамустином (BEN) среди взрослых пациентов с рецидивирующей или рефрактерной диффузной В-крупноклеточной лимфомой (r-r DLBCL). В этом исследовании комбинацию MOR00208 и BEN сравнивали с комбинацией ритуксимаба (RTX) и BEN. Химерное мышиное/человеческое антитело ритуксимаб изначально было одобрено в 1997 г. Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) для лечения пациентов с рецидивирующей или рефрактерной низкой степени злокачественности или фолликулярной CD20-положительной В-клеточной неходжкинской лимфомы (NHL). В Европе ритуксимаб был одобрен для лечения пациентов с NHL в 1998 г.

В последнее время увеличились возможности лечения пациентов с В-клеточными злокачественными новообразованиями, и на многочисленных случаях гемобластозов была продемонстрирована клиническая эффективность моноклональных антител (mAb) и моноклональной терапии, главным образом в комбинации с химиотерапевтическими препаратами. Однако в ответ на химиотерапию в комбинации с антителами значительное число пациентов с В-клеточными злокачественными новообразованиями оказываются резистентными или имеют рецидив после первоначальной ремиссии опухоли. В целом, наблюдается разнообразная частота ответов пациентов на терапию антителами, основанная на различных профилях пациентов. Для дальнейшей оптимизации успешной терапии требуются дополнительные способы для точного прогнозирования у пациентов вероятного ответа и/или наилучшего ответа на терапию указанными антителами. Могут быть обнаружены конкретные биомаркеры или характеристики пациента, в отношении которых конкретная концентрация или диапазон для каждого биомаркера коррелируют с чувствительностью к указанной терапии.

Таким образом, существует потребность в способе с использованием биомаркеров или специальных характеристик пациента в связи с лечением злокачественной опухоли методами терапии, включающими в себя анти-CD19 антитела.

Краткое изложение сущности изобретения

Влияние числа естественных клеток-киллеров (NK) (NKCC) на выживание пациентов с DLBCL, получавших в качестве лечения ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубицина гидрохлорид (гидроксидоаномицин), винкристина сульфат (онковин) и преднизон (применение их комбинации известно как «R-CHOP»), оценивалось в работе Kim et al. (Blood Research, 49:3, 162-169 (Сентябрь 2014 г.)). Ранее сообщалось о том, что число NK-клеток в периферической крови было ассоциировано с клиническим исходом у пациентов с DLBCL, имеющих aaPI (скорректированный по возрасту Международный прогностический индекс) 2-3 (Plonquet et al., Ann Oncol 2007; 18:1209-15).

На сегодняшний день появились данные, указывающие на прогностическую ценность показателей NKCC на исходном уровне для лечения В-клеточной лимфомы в режимах, содержащих анти-CD20 антитела (He et al., Blood Cancer J. 2016 Aug; 6(8); Kim

et al., Blood Res. 2014 Sep;49(3):162-9; Klanova et al., Blood 2017 130:727). В крупных исследованиях с вовлечением более чем 2 000 пациентов с ранее нелеченным FL и DLBCL (GALLIUM, GOYA) с помощью многовариационного анализа было показано, что показатель NKCC на исходном уровне является независимыми прогностическим параметром. У пациентов с высоким показателем NKCC на исходном уровне наблюдали лучшие прогнозы по сравнению с пациентами с низким показателем NKCC. В большинстве исследований пределы выбирали на основании самого высокого дифференциального эффекта между двумя подгруппами и постоянно составляли около 100 NK-клеток/мкл крови. В целом, положительный прогноз при терапии анти-CD19 антителами пациентов с высоким показателем NKCC (> 100 NK-клеток/мкл крови) был также описан в патенте WO2017/207574, а в исследовании MOR00208C201 предел по меньшей мере в 100 NK-клеток/мкл крови был применен в качестве прогностического показателя для результата лечения в виде монотерапии MOR00208 при DLBCL и FL.

Однако также имеется значительное число пациентов с низким показателем NKCC, страдающих гемобластозом. Следовательно, их рассматривают как пациентов с неблагоприятным прогнозом, основанным на низком показателе у них NKCC, что создает в медицине высокую нереализованную потребность для этой конкретной подгруппы пациентов.

Настоящее изобретение относится к улучшенным способам лечения пациентов с низким показателем NKCC, страдающих В-клеточными злокачественными новообразованиями, такими как неходжкинская лимфома (NHL), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL) и/или острый лимфобластный лейкоз (ALL). Настоящее изобретение, в частности, относится к антителу, специфичному к CD19, для лечения В-клеточных злокачественных новообразований, таких как неходжкинская лимфома, хронический лимфоцитарный лейкоз и/или острый лимфобластный лейкоз, у пациентов с низким показателем NKCC.

В настоящем изобретении ADCC-активность MOR00208 была сравнена с ADCC-активностью анти-CD20 антитела ритуксимаба в клеточных линиях В-клеточной опухоли при различных соотношениях эффектор-мишень (Е:Т). Ритуксимаб можно назвать золотым стандартом лечения указанных состояний. Линии клеток-мишеней были получены из DLBCL, MCL и CLL с уровнями экспрессии CD19 и CD20, находящимися в диапазоне уровней экспрессии в образцах пациентов с В-клеточной опухолью, как сообщалось в работах Boltežar et al. 2018 г., Ginaldi et al. 1998 г. и Olejniczak et al. 2006 г. Для установления возможной корреляции между преобладанием MOR00208 над ритуксимабом и NKCC применялись соответствующие соотношения Е:Т в анализах ADCC на некоторых клеточных линиях. Полученные данные показали увеличение относительной пользы MOR00208 с уменьшением соотношений Е:Т, тем самым обосновывая преимущество применения MOR00208 в подгруппе с низким показателем NKCC. На основании имеющихся данных об определении предела, под подгруппой с низким показателем NKCC понимают пациентов с числом NK-клеток на исходном

уровне, меньшим или равным 100 NK-клеток/мкл.

Таким образом, для пациентов с диагнозом В-клеточное злокачественное новообразование, такое как неходжкинская лимфома, хронический лимфоцитарный лейкоз и/или острый лимфобластный лейкоз, с числом NK-клеток в периферической крови на исходном уровне меньшим или равным 100 клеток/мкл, лечение с помощью MOR00208 с большей вероятностью является эффективным по сравнению с доступной терапией.

Согласно настоящему изобретению предложено анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число NK-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равно 100 клеток/мкл. В одном варианте осуществления указанный пациент является резистентным, без ответа или без адекватного ответа на лечение одной и не более трех предшествующих линий терапии, включая одну таргетную терапию анти-CD20 антителами (например, антителом ритуксимаб). В дополнительном варианте осуществления указанный пациент не подлежит высокодозной химиотерапии и аутотрансплантации стволовых клеток. В предпочтительном варианте осуществления указанный пациент является человеком.

В варианте осуществления анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом содержит участок HCDR1, включающий в себя последовательность SYVMH (SEQ ID NO: 1), участок HCDR2, включающий в себя последовательность NPYNDG (SEQ ID NO: 2), участок HCDR3, включающий в себя последовательность GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), участок LCDR1, включающий в себя последовательность RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), участок LCDR2, включающий в себя последовательность RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), и участок LCDR3, включающий в себя последовательность MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6).

В дополнительном варианте осуществления анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом содержит переменный участок тяжелой цепи с последовательностью

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINP
YNDGTTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYW
GQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 7)

и переменный участок легкой цепи с последовательностью

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ
ID NO: 8).

В другом варианте осуществления настоящего изобретения анти-CD19 антитело представляет собой человеческое, гуманизированное или химерное антитело. В другом варианте осуществления настоящего изобретения анти-CD19 антитело принадлежит к изотипу IgG. В другом варианте осуществления антитело представляет собой IgG1, IgG2 или химерное IgG1/IgG2. В другом варианте осуществления настоящего изобретения изотип анти-CD19 был сконструирован для усиления антителозависимой клеточно-

опосредованной цитотоксичности. В другом варианте осуществления константный участок тяжелой цепи анти-CD19 антитела содержит аминокислоты 239D и 332E, причем нумерация Fc соответствует EU-индексу, представленному у Kabat. В другом варианте осуществления антитело представляет собой IgG1, IgG2 или IgG1/IgG2, а константный участок химерной тяжелой цепи анти-CD19 антитела содержит аминокислоты 239D и 332E, причем нумерация Fc соответствует EU-индексу, представленному у Kabat.

В дополнительном варианте осуществления анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом содержит тяжелую цепь с последовательностью

EVQLVESGGGLVKGPGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINP
YNDGTTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYW
GQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDG
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 11)

и легкую цепь с последовательностью

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 12)

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1. Репрезентативные анализы ADCC MOR00208 и ритуксимаба при увеличивающихся соотношениях Е:Т. Результаты специфического лизиса, выраженные в % погибших клеток-мишеней, опосредованного MOR00208 (черный) или ритуксимабом (белый) и NK-клетками от здоровых доноров, изображены для трех линий клеток-мишеней MEC-1, JVM-2 и Toledo. Показаны примерные данные, полученные с NK-клетками от одного репрезентативного донора в единичном эксперименте. Планки и планки погрешности отображают среднее геометрическое значение и геометрическое стандартное отклонение специфического лизиса, измеренных в трех параллельных испытаниях отдельного эксперимента.

Фиг. 2. Репрезентативные анализы ADCC MOR00208 и ритуксимаба при увеличивающихся соотношениях Е:Т. Соответствующие соотношения специфического лизиса, нормированные к ритуксимабу, опосредованного MOR00208 (синий) или ритуксимабом (оранжевый) и NK-клетками от здоровых доноров, изображены для трех линий клеток-мишеней MEC-1, JVM-2 и Toledo. Корреляционные диаграммы иллюстрируют отдельные значения соотношения специфического лизиса при применении MOR00208 (треугольник) и ритуксимаба (кружок) по сравнению с медианным значением при применении ритуксимаба в репрезентативном эксперименте. Пунктирная линия отображает среднее геометрическое значение с 95% доверительным интервалом по

методу бутстрап.

Фиг. 3. Соотношения специфического лизиса при применении MOR00208 и ритуксимаба с NK-клетками, полученными от 33 здоровых доноров и клетками MEC-1, JVM-2 и Toledo в анализах ADCC при увеличивающихся соотношениях Е:Т. ADCC-активность MOR00208 (белый треугольник) и ритуксимаба (черный кружок) анализировали с клетками MEC-1 (8 доноров NK-клеток, 2 независимых эксперимента, 9 доноров NK-клеток в единичных экспериментах), JVM-2 (8 доноров NK-клеток, 2 независимых эксперимента на донора) и клетками Toledo (10 доноров NK-клеток, 2 независимых эксперимента). Соотношение специфического лизиса рассчитывали от % специфического лизиса, определенного для каждого антитела путем нормирования к медианному значению ритуксимаба. Соответствующие кружки и треугольники отображают среднее геометрическое значение одного или двух независимых экспериментов, проведенных в трех параллельных испытаниях с NK-клетками от одного отдельного донора крови.

Подробное описание изобретения

Неходжкинская лимфома (NHL) представляет собой гетерогенное злокачественное новообразование, возникающее из лимфоцитов. В Соединенных Штатах (США) заболеваемость исчисляется 65 000 случаев/год, со смертностью приблизительно 20 000 (Американское онкологическое общество (American Cancer Society), 2006 г.; и Обзор онкологической статистики (Cancer Statistics Review) SEER). Заболевание может развиваться в любом возрасте, с дебютом обычно у взрослых старше 40 лет и с увеличивающейся с возрастом заболеваемостью. NHL характеризуется клональной пролиферацией лимфоцитов, которые накапливаются в лимфатических узлах, крови, костном мозге и селезенке, притом что поражаться может любой крупный орган. Системой классификации, применяемой в настоящее время патологами и клиницистами, является классификация опухолей Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), которая относит NHL к неоплазмам из клеток-предшественников и зрелых В-клеток или Т-клеток. Для включения в клинические исследования в настоящее время PDQ подразделяет NHL на медленно растущую и агрессивную формы. Группа медленно растущих NHL состоит, в основном, из фолликулярных подтипов, мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы, MALT-лимфомы (лимфоидная ткань слизистых оболочек) и лимфомы маргинальной зоны, и включает в себя приблизительно 50% пациентов с впервые диагностированной В-клеточной NHL. Агрессивная форма NHL включает в себя пациентов с гистологическим диагнозом первичной диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBL, **DLBCL** или DLCL) (40% пациентов с впервые диагностированным NHL имеют диффузную крупноклеточную форму), лимфомы Беркитта и мантийноклеточной лимфомы (MCL). Клиническое течение NHL крайне вариабельно. Основной детерминантой клинического течения является гистологический подтип. Большинство медленно растущих вариантов NHL считаются неизлечимыми заболеваниями. Сначала пациенты отвечают на химиотерапию или терапию антителами, но у большинства возникает рецидив. До

настоящего времени в исследованиях не доказано увеличение выживаемости при раннем вмешательстве. В отношении бессимптомных пациентов допустимым является тактика «наблюдения и выжидания» до тех пор, пока у пациента не появятся симптомы или развитие заболевания не ускорится. Со временем заболевание может трансформироваться в более агрессивный гистологический подтип. Медиана выживаемости составляет от 8 до 10 лет, и пациенты с медленно растущей опухолью часто получают 3 или более курсов лечения в ходе фазы лечения их заболевания. Традиционно начальная стадия лечения симптомного пациента с медленно растущей NHL представляла собой комбинированную химиотерапию. Наиболее часто применяемые средства включают в себя: циклофосфамид, винкристин и преднизон (СVP), или циклофосфамид, адриамицин, винкристин, преднизон (CHOP). Приблизительно от 70% до 80% пациентов отвечают на стартовую химиотерапию, при этом длительность ремиссий составит около 2-3 лет. В конечном счете, у большинства пациентов наступает рецидив. Изобретение и клиническое применение анти-CD20 антитела, ритуксимаба, значительно повысили частоту ответа и показатель выживаемости. Современный стандарт лечения для большинства пациентов представляет собой ритуксимаб+CHOP (R-CHOP) или ритуксимаб+СVP (R-СVP). Как было доказано, терапия ритуксимабом является эффективной в отношении нескольких вариантов NHL, и в настоящее время утверждена в качестве терапии первой линии как при медленно растущей (фолликулярная лимфома), так и при агрессивной NHL (диффузная В-крупноклеточная лимфома). Однако, имеются существенные ограничения для применения анти-CD20 антитела (mAb), включающие первичную резистентность (50% ответ у пациентов с рецидивами медленно растущей опухоли), приобретенную резистентность (50% частота ответа после возобновления лечения), редкий полный ответ (2% частота полного ответа в популяции с рецидивами) и продолжительный характер рецидива. И, наконец, многие В-клетки не экспрессируют CD20, а значит многие нарушения В-клеточного звена не поддаются лечению с помощью терапии анти-CD20 антителами.

Помимо NHL, существует несколько типов лейкоза, которые являются следствием нарушения регуляции В-клеток. Хронический лимфоцитарный лейкоз (также известный как «хронический лимфолейкоз» или «CLL») представляет собой вид лейкоза взрослых, вызванного патологическим скоплением В-лимфоцитов. При CLL злокачественные лимфоциты могут выглядеть нормальным и зрелыми, но они не способны эффективно справиться с инфекцией. CLL является наиболее частой формой лейкоза у взрослых. Среди мужчин CLL развивается в два раза чаще, чем среди женщин. Несмотря на это, основным фактором риска является возраст. Свыше 75% новых случаев диагностируют среди пациентов старше 50 лет. Ежегодно диагностируют более 10 000 случаев, а смертность составляет почти 5 000 случаев в год (American Cancer Society, 2006 г.; и SEER Cancer Statistics Review). CLL является неизлечимым заболеванием, но в большинстве случаев прогрессирует медленно. Многие люди с CLL ведут нормальный и активный образ жизни на протяжении многих лет. Из-за медленного начала заболевания CLL на

ранней стадии обычно не лечат, так как предполагается, что вмешательство на ранней стадии CLL не увеличивает время выживания или не повышает качество жизни. Вместо этого наблюдают за состоянием в динамике. Стартовая терапия CLL варьируется в зависимости от точного диагноза и прогрессирования заболевания. Имеются десятки средств, применяемых для терапии CLL. Режимы комбинированной химиотерапии, такие как FCR (флударабин, циклофосфамид и ритуксимаб) и BR (ибрутиниб и ритуксимаб), эффективны как при впервые диагностированной, так и при рецидивирующей форме CLL. Из-за имеющегося риска аллогенная трансплантация костного мозга (стволовых клеток) редко применяется в качестве терапии первой линии CLL.

Другим видом лейкоза является мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (SLL), которая считается вариантом CLL без клонального лимфоцитоза, необходимого для диагноза CLL, но при этом имеет те же патологические и иммунофенотипические свойства (Campo et al., 2011 г.). Согласно определению, при SLL должны присутствовать лимфаденопатия и/или спленомегалия. Кроме того, число В-лимфоцитов в периферической крови не должно превышать $5 \times 10^9/\text{л}$. Диагноз SLL, по возможности, следует подтверждать с помощью патогистологического исследования биопсии лимфатического узла (Halleket al., 2008 г.). В США доля случаев с SLL составляет приблизительно 25% от всех случаев CLL (Dores et al., 2007 г.).

Другим видом лейкоза является острый лимфобластный лейкоз (ALL), также называемый острым лимфоцитарный лейкоз. ALL характеризуется гиперпродукцией и непрерывным размножением злокачественных и незрелых лейкоцитов (также известных как лимфобласты) в костном мозге. Термин «острый» указывает на недифференцированное, незрелое состояние циркулирующих лимфоцитов («бластные клетки»), а также на быстрое прогрессирование заболевания с продолжительностью жизни от недель до месяцев, если заболевание не лечат. ALL чаще всего встречается в детском возрасте с пиком частоты в 4-5 лет. Дети 12-16 лет умирают от него чаще, чем дети других возрастов. В настоящее время по меньшей мере 80% случаев ALL в детском возрасте считаются излечимыми. Ежегодно диагностируют до 4 000 случаев, а смертность составляет почти 1 500 случаев в год (American Cancer Society, 2006 г.; и SEER Cancer Statistics Review).

Применение антитела к CD19 при неспецифических В-клеточных лимфомах обсуждено в WO2007076950 (US2007154473), причем оба включены в данный документ посредством ссылки. Применение антитела к CD19 при CLL, NHL и ALL описано в работе Scheuermann et al. (CD19 Antigen in Leukemia and Lymphoma Diagnosis and Immunotherapy, Leukemia and Lymphoma, Vol. 18, 385-397 (1995)), которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

Дополнительные антитела, специфичные к CD19, описаны в WO2005012493 (US7109304), WO2010053716 (US12/266,999) (Immunomedics); WO2007002223 (US US8097703) (Medarex); WO2008022152 (12/377,251) и WO2008150494 (Xencor), WO2008031056 (US11/852,106) (Medimmune); WO 2007076950 (US 11/648,505) (Merck

Patent GmbH); WO 2009/052431 (US12/253,895) (Seattle Genetics); и WO2010095031 (12/710,442) (Glenmark Pharmaceuticals), WO2012010562 и WO2012010561 (International Drug Development), WO2011147834 (Roche Glycart), и WO 2012/156455 (Sanofi), все из которых включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

Фармацевтическая композиция включает в себя действующее вещество, например, антитело для терапевтического применения на человеке. Фармацевтическая композиция может дополнительно включать в себя фармацевтически приемлемые носители и эксципиенты.

Определения

Термин «**CD19**» обозначает белок, известный как CD19 и имеющий следующие синонимы: B4, B-лимфоцитарный антиген CD19, B-лимфоцитарный поверхностный антиген B4, CVID3, дифференцировочный антиген CD19, MGC12802 и T-клеточный поверхностный антиген Leu-12.

Человеческий CD19 имеет аминокислотную последовательность:

MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTWSRE
SPLKPFLKLSLGLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVN
VEGSGELFRWNVSDLGGLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPC
LPPRDSLNSLSQDLTMAPGSTLWLSCGVPPDSVSRGPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKD
DRPARDMWVMETGLLLPRATAQDAGKYCHRGNTMSFHLEITARPVLWHWLLRTG
GWKVS AVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRKRKRMTDPTRRFFKVTPPPGSGPQNQ
YGNVLSLPTPTSGLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSPPGVGPEEEEE
GEGYEEDSEEDSEFYENDSNLGQDQLSQDGSYENPEDEPLGPEDEDSFSNAESYENE
DEELTQPVARTMDFLSPHGS AWDP SREATSLGSQSYEDMRGILYAAPQLRSIRGQPGPN
HEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGGRMG TWSTR (SEQ ID NO: 13)

«**MOR00208**» представляет собой анти-CD19 антитело. Аминокислотные последовательности приведены в таблице 1. MOR00208 и XmAb 5574 применяются как синонимы для описания антитела, указанного в таблице 1. Антитело MOR00208 описано в заявке на патент США номер 12/377 251, которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки. В заявке на патент США номер 12/377 251 описывается антитело, именуемое 4G7 H1.52 гибрид S239D/I332E/4G7 L1.155 (позже названное MOR00208).

Термин «**антитело**» в контексте настоящего документа обозначает белок, содержащий по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные между собой дисульфидными связями, который взаимодействует с антигеном. Каждая тяжелая цепь состоит из переменного участка тяжелой цепи (в данном документе называется сокращенно VH) и константного участка тяжелой цепи. Константный участок тяжелой цепи состоит из трех доменов - CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь состоит из переменного участка легкой цепи (в данном документе называется сокращенно VL) и константного участка легкой цепи. Константный участок легкой цепи состоит из одного домена - CL. Участки VH и VL могут быть дополнительно подразделены на участки

гипервариабельности, называемые гипервариабельными участками (CDR), которые перемежаются с более стабильными участками, называемыми каркасными участками (FR). Каждый из участков VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных в направлении от аминокислотного конца к карбоксильному концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, и FR4. Вариабельные участки тяжелой и легкой цепей содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Термин «антитело» включает в себя, например, моноклональные антитела, человеческие антитела, гуманизированные антитела, верблюжьи антитела и химерные антитела. Антитела могут представлять собой любой изотип (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA и IgY), класс (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 and IgA2) или подкласс. Как легкие, так и тяжелые цепи разделены на участки структурной и функциональной гомологии.

Выражение «**фрагмент антитела**» в контексте настоящего документа обозначает один или более частей антитела, которые создают возможность специфически взаимодействовать с (например, посредством связывания, стерического затруднения, стабилизирующего пространственного распределения) антигеном. Примеры связывающих фрагментов включают в себя, помимо прочего, Fab-фрагмент, представляющий собой моновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, CL и CH1; F(ab)2-фрагмент, бивалентный фрагмент, содержащий два Fab-фрагмента, соединенных дисульфидным мостиком в шарнирном участке; Fd-фрагмент, состоящий из доменов VH и CH1; Fv-фрагмент, состоящий из доменов VL и VH одного плеча антитела; dAb-фрагмент (Ward et al., (1989 г.) *Nature* 341:544-546), который состоит из домена VH, и изолированный гипервариабельный участок (CDR). Кроме того, несмотря на то, что два домена Fv-фрагмента, VL и VH, кодируются отдельными генами, они могут быть объединены с помощью рекомбинантных методик с помощью синтетического линкера, который позволяет им приобрести форму одиночной белковой цепи, в которой участки VL и VH спариваются для образования моновалентных молекул (известны как одноцепочечные Fv (scFv); см., например, Bird et al., (1988 г.) *Science* 242:423-426; и Huston et al., (1988 г.) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85:5879-5883). Такие одноцепочечные антитела также включаются в сферу охвата термина «фрагмент антитела». Эти фрагменты антител получают с помощью традиционных методик, известных специалистам в данной области техники, при этом пригодность фрагментов проверяют таким же способом, каким проверяют интактные антитела. Фрагменты антител также могут быть включены в однодоменные антитела, макроантитела, миниантитела, интраантитела, диатела, триатела, тетратела, v-NAR и биспецифические scFv (см., например, Hollinger и Hudson, (2005 г.) *Nature Biotechnology* 23:1126-1136). Фрагменты антител могут быть привиты на каркасы на основе полипептидов, таких как фибронектин тип III (Fn3) (см. патент США № 6 703 199, в котором описаны моноклональные полипептиды фибронектина). Фрагменты антител могут быть включены в одноцепочечные молекулы, содержащие пару tandemных сегментов Fv (VH-CH1-VH-CH1), которые вместе с комплементарными легкими полипептидными цепями образуют пару антигенсвязывающих участков (Zapata et al., (1995 г.) *Protein Eng.* 8:1057-

1062; и патент США № 5 641 870).

Термин **«введенный»** или **«введение»** включает в себя, помимо прочего, доставку лекарственного средства инъекционным способом, таким как, например, внутривенный, внутримышечный, внутрикожный или подкожный путь, или через слизистую оболочку, например, в виде назального спрея или аэрозоля для ингаляции, или в виде раствора для приема внутрь, капсулы или таблетки. Предпочтительно введение представляет собой инъекционную форму.

Термин **«эффекторная функция»** относится к тем видам биологической активности, которые свойственны участку Fc антитела и варьируются в зависимости от изотипа антитела. Неограничивающие примеры эффекторных функций антитела включают в себя связывание C1q и комплементзависимую цитотоксичность (CDC); связывание Fc-рецептора и антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC) и/или антителозависимый клеточный фагоцитоз (ADCP); снижение экспрессии поверхностных рецепторов клетки (например, рецептора В-клетки); и активацию В-клеток.

«Антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность» или **ADCC** обозначает форму цитотоксичности, при которой антитела связываются с Fc-рецепторами (FcRs), присутствующими на некоторых цитотоксических клетках (например, NK-клетки, нейтрофилы и макрофаги), позволяя цитотоксическим эффекторным клеткам специфично связываться с клеткой-мишенью, несущей антиген, и в последующем уничтожать клетку-мишень с помощью цитотоксинов. Первичные клетки, опосредующие ADCC, NK-клетки, экспрессируют только FcγRIII, тогда как моноциты экспрессируют FcγRI, FcγRII и FcγRIII.

«Комплементзависимая цитотоксичность» или **CDC** обозначает лизис клетки-мишени в присутствии комплемента. Классический путь активации комплемента начинается со связывания первого компонента системы комплемента (C1q) с антителами (соответствующего подкласса) по настоящему изобретению, которые связаны с распознанным ими антигеном.

«Антителозависимый клеточный фагоцитоз» или **ADCP** обозначает механизм элиминации нагруженных антителами клеток-мишеней путем интернализации клетками-фагоцитами, такими как макрофаги или дендритные клетки.

Термин **«гемобластоз»** включает в себя опухоли и заболевания или расстройства системы крови, связанные с патологическим клеточным ростом и/или пролиферацией в тканях гематопоэтического происхождения, такие как лимфомы, лейкозы и миеломы.

«Субъект» или **«пациент»** в данном контексте обозначает любое млекопитающее, включая грызунов, таких как мышь или крыса, а также приматов, таких как яванский макак (*Macaca fascicularis*), макак-резус (*Macaca mulatta*) или люди (*Homo sapiens*). Предпочтительно субъект или пациент является приматом, наиболее предпочтительно человеком.

Термины **«сконструированный»** или **«модифицированный»** в контексте

настоящего документа включают в себя манипуляцию с нуклеиновыми кислотами или полипептидами с помощью средств для синтеза (например, с помощью рекомбинантных технологий, синтеза пептидов *in vitro*, ферментативного или химического образования пептидной связи, или комбинации этих методик). Предпочтительно антитела или фрагменты антител в соответствии с настоящим изобретением сконструированы или модифицированы для улучшения одного или более свойств, таких как связывание антигена, стабильность, период полужизни, эффекторная функция, иммуногенность, безопасность и т. п. Предпочтительно антитела и фрагменты антител в соответствии с настоящим изобретением сконструированы или модифицированы для улучшения эффекторной функции, такой как ADCC.

«**Вариант**» в контексте настоящего документа обозначает полипептид, который отличается от эталонного полипептида одной или большим числом модификаций, например, заменами аминокислот, вставками или делециями.

Термин «**антагонистическое**» антитело в контексте настоящего документа обозначает антитело или фрагмент антитела, который взаимодействует с антигеном и частично или полностью ингибирует или нейтрализует биологическую активность или функцию, или любую другую фенотипическую характеристику антигена-мишени.

Термин «**Fc-участок**» применяется для определения С-концевого участка тяжелой цепи иммуноглобулина. Fc-участок иммуноглобулина обычно содержит два константных домена, CH2-домен и CH3-домен. Если настоящим документом не установлено иное, нумерация аминокислотных остатков в Fc-участке проводится в соответствии с системой нумерации EU, также называемой EU-индекс, как описано в работе Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

Антитело, вводимое в соответствии с настоящим изобретением, вводят пациенту в терапевтически эффективном количестве. «**Терапевтически эффективное количество**» обозначает количество, достаточное для обеспечения улучшения клинических проявлений конкретного заболевания или расстройства. Количество, эффективное для конкретной терапевтической цели, будет зависеть от тяжести заболевания или повреждения, а также от массы и общего состояния субъекта. Понятно, что соответствующую дозу можно установить с помощью постановки стандартного эксперимента, при котором создают матрицу значений и испытывают различные значения в матрице, все этапы из которых находятся в пределах обычных навыков обученного врача или клинического исследователя.

«**Исходный уровень**» или «**на исходном уровне**» означает перед применением требуемой терапии. Например, перед применением требуемого анти-CD19 антитела.

Для изучения прогностичности, чувствительности, специфичности с целью установления пределов для возможных биомаркеров, таких как число NK-клеток, может быть применен анализ графика зависимости чувствительности от частоты ложноположительных заключений (ROC). Для оценки оптимального предела существуют

следующие дополнительные способы: а) Max.Accuracy - предел, повышающий точность до максимума; б) Max.DOR - предел, максимально увеличивающий отношение шансов диагностического теста; в) Error.rate - предел, снижающий вероятность ошибки до минимума; г) Max.Accuracy.area - предел, максимально увеличивающий область точности; д) Max.Sens+Spec - предел, максимально увеличивающий сумму чувствительности и специфичности; е) Max.Youden - предел, максимально увеличивающий индекс Юдена; ж) Se=Sp - предел, при котором чувствительность равна специфичности; з) Min.ROC.Dist - предел, до минимума уменьшающий расстояние между кривой и верхним левым углом графика; и) Max.Efficiency - предел, максимально повышающий эффективность; и) j) Min.MCT - предел, снижающий до минимума параметр цены ошибочной классификации. See Lopez-Raton, M., Rodriguez-Alvarez, M.X, Cadarso-Suarez, C. and Gude-Sampedro, F. (2014 г.). Optimal Cutpoints: An R Package for Selecting Optimal Cutpoints in Diagnostic Tests. Journal of Statistical Software 61(8), 1-36.

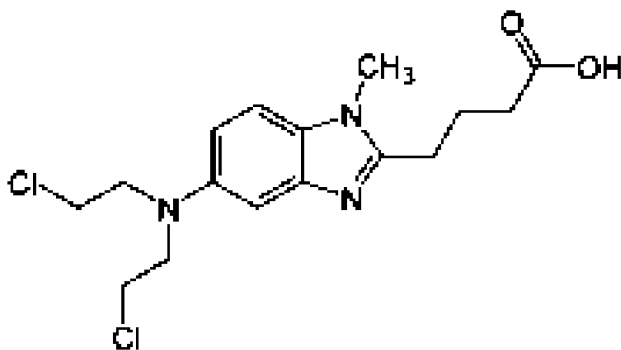
Антитела, специфичные к CD19, также испытывали на доклиническом этапе в комбинации с другими лекарственными средствами. Например, MOR00208 испытывали в комбинации с азотистыми ипритами, аналогами пурина, аналогами талидомида, ингибитором фосфоинозитид-3-киназы, ингибиторами BCL-2 и ингибиторами тирозинкиназы (ВТК).

«**В комбинации**» означает применение одной терапии в дополнение к другой терапии. Как таковое, выражение «**в комбинации с**» включает в себя одновременное (например, сопутствующее) и последовательное применение в любом порядке. В виде неограничивающего примера, первую терапию (например, средство, такое как анти-CD19 антитело) можно применять на пациенте до начала (например, за 1 минуту, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 5 часов, 6 часов, 7 часов, 8 часов, 12 часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель, 10 недель, 11 недель или 12 недель), одновременно или после (например, через 1 минуту, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 5 часов, 6 часов, 7 часов, 8 часов, 12 часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель, 10 недель, 11 недель или 12 недель, или более продолжительное время) применения второй терапии (например, фармацевтический агент или его фармацевтически приемлемая соль). В некоторых вариантах осуществления термин «**комбинация**» означает, что анти-CD19 антитело и фармацевтический агент или его фармацевтически приемлемую соль вводят одновременно или последовательно. В некоторых вариантах осуществления анти-CD19 антитело и фармацевтический агент или его фармацевтически приемлемую соль вводят в составе различных композиций, т. е. при этом анти-CD19 антитело и фармацевтический агент или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде отдельных стандартных лекарственных форм. Предполагается, что анти-CD19 антитело и фармацевтический агент или его фармацевтически приемлемую соль вводят в один и тот же день или в различные дни и в различной последовательности в соответствии с надлежащим протоколом

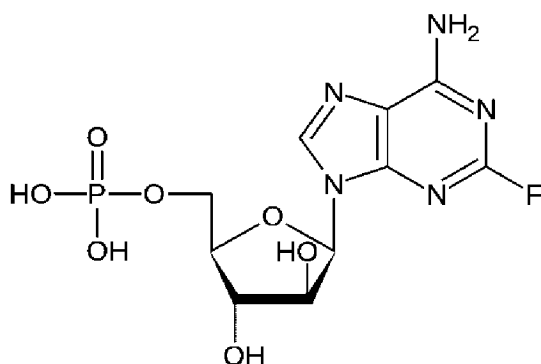
дозирования.

«Азотистый иприт» представляет собой неспецифический ДНК-алкилирующий агент, который применяют в качестве химиотерапевтического средства. Алкилирующие агенты добавляют алкильную группу (C_nH_{2n+1}) к основаниям нуклеиновой кислоты, например, добавляя алкильную группу к гуаниновому основанию ДНК, у 7 атома азота имидазольного кольца. Реакции алкилирования приводят к созданию межнитевых поперечных сшивок (ICL). Эти ICL обладают высокой цитотоксичностью, поскольку они блокируют фундаментальные метаболические процессы, такие как репликация и транскрипция. Азотистые иприты включают в себя циклофосфамид, хлорамбуцил, урамустин, ифосфамид, мелфалан и бендамустин.

Бендамустин представлен на рынке под названием Рибомустин® и Треанда®, а также известен как SDX-105. Бендамустин предназначен для лечения хронических лимфоцитарных лейкозов (CLL), медленно растущей В-клеточной неходжкинской лимфомы (NHL) и других лимфом. **Бендамустин** имеет следующую структуру:

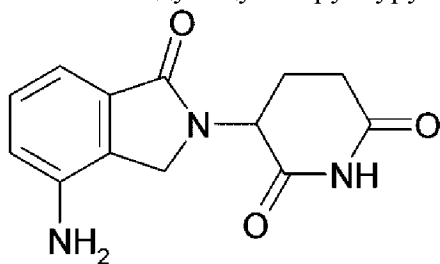


Аналог пурина является антиметаболитом, который имитирует структуру пуриновых метаболитов, тем самым препятствуя синтезу нуклеиновых кислот. Флударабин, например, можно включать в РНК и ДНК путем замены пуринового нуклеотида, аденина и гуанина. Аналоги пурина ингибируют рост быстро пролиферирующих клеток у человека, например, злокачественных клеток, клеток костного мозга, или клеток желудочно-кишечного тракта. Аналоги пурина включают в себя меркаптопурин, азатиоприн, тиогуанин и флударабин. Флударабин или флударабина фосфат (Флудара®) является химиотерапевтическим средством, применяемым в лечении хронического лимфоцитарного лейкоза и медленно растущих неходжкинских лимфом. Флударабин представляет собой аналог пурина. Флударабин ингибирует синтез ДНК, воздействуя на рибонуклеотидредуктазу и ДНК-полимеразу, и является специфичным для S-фазы (поскольку эти ферменты высокоактивны в процессе репликации ДНК). **Флударабин** имеет следующую структуру:



«Аналог талидомида» включает в себя, помимо прочего, собственно талидомид, леналидомид (CC-5013, Ревлимид™), помалидомид (CC4047, Актимид™) и соединения, описанные в патентах WO2002068414 и WO2005016326, которые включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки. Термин обозначает синтетическое химическое соединение, в котором структура талидомида применяется в качестве скелета молекулы (например, в исходную структуру добавлены или удалены боковые группы). Аналог отличается по структуре от талидомида и соединений с его метаболитами, в частности по длине алкильной цепи, фрагменту молекулы, по одной или более функциональным группам, или по изменению 4w5wwwwa при ионизации. Термин «аналог талидомида» также включает в себя метаболиты талидомида. Аналоги талидомида включают в себя рацемическую смесь S- и R-энантиомеров соответствующего соединения и отдельно S-энантиомер или R-энантиомер. Рацемическая смесь является предпочтительной.

Аналоги талидомида включают в себя соединения, такие как **леналидомид**, который имеет следующую структуру:



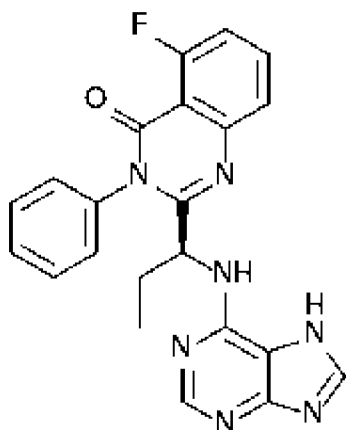
«Ингибитор фосфоинозитид-3-киназы» представляет собой класс лекарственных средств, которые ингибируют один или более ферментов фосфоинозитид-3-киназ, участвующих в метаболическом пути PI3K/АКТ/mTOR, важном пути передачи сигнала активации многих клеточных функций, таких как контроль роста, инициация метаболизма и трансляции.

Существует целый ряд различных классов и изоформ PI3K. У PI3K класса 1 имеется каталитическая субъединица, известная как p110, представленная четырьмя типами (изоформами) - p110-альфа, p110-бета, p110-гамма и p110-дельта. Исследуемые ингибиторы ингибируют одну или более изоформ PI3K класса I.

Ингибиторы фосфоинозитид-3-киназы включают в себя по меньшей мере иделалисиб, дувелисиб и копанлисиб. Иделалисиб поставляет на рынок Gilead Sciences, Inc.

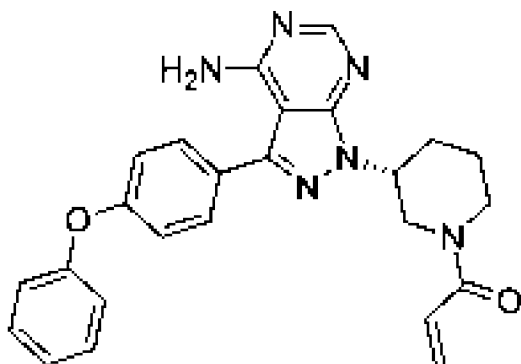
(торговое название Зиделиг, также называемый GS-1101 или CAL-101). В настоящее время иделалисиб маркирован как средство для лечения рецидивирующего хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL) в комбинации с ритуксимабом у пациентов, для которых применение только ритуксимаба может считаться надлежащей терапией в связи с сопутствующими заболеваниями; рецидивирующей фолликулярной В-клеточной неходжкинской лимфомы (FL) у пациентов, получивших ранее по меньшей мере два курса системной терапии; рецидивирующей мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы (SLL) у пациентов, получивших ранее по меньшей мере два курса системной терапии. Вещество действует как ингибитор фосфоинозитид-3-киназы, в частности, оно блокирует P110 δ , дельта-изоформу фермента фосфоинозитид-3-киназы.

Формула **иделалисиба** представляет собой следующее:



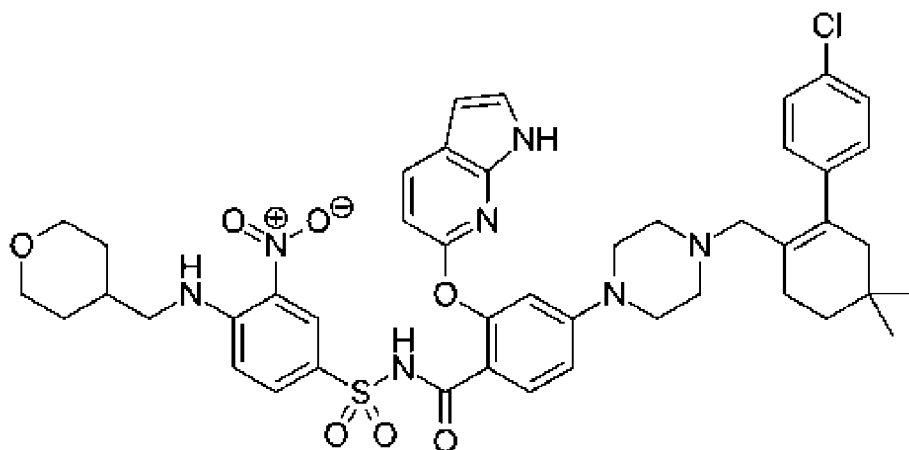
«**Ингибитор тирозинкиназы Брутона (ВТК)**» представляет собой класс лекарственных средств, ингибирующих фермент тирозин-протеинкиназу ВТК, который играет важную роль в развитии В-клеток. В частности, ВТК содержит РН-домен, который связывает фосфатидилинозитол-3,4,5-трисфосфат (PIP₃). Связывание PIP₃ влияет на Btk, который индуцирует фосфорилирование фосфолипазы C, которая, в свою очередь, гидролизует PIP₂, фосфатидилинозитол, с образованием двух вторичных мессенджеров, инозитолтрифосфата (IP₃) и диацилглицерина (DAG), которые далее регулируют активность последующих белков в ходе передачи сигналов В-клетками.

Ингибитор тирозинкиназы Брутона (ВТК) включает в себя ибрутиниб. Ибрутиниб поставляется на рынок Pharmacyclics, Inc и Johnson & Johnson's Janssen Pharmaceutical (торговое название Имбрувика, также называемый PCI-32765). В настоящее время ибрутиниб маркирован как средство для лечения пациентов с мантийноклеточной лимфомой (MCL), получивших ранее по меньшей мере один курс терапии, хроническим лимфоцитарным лейкозом (CLL), получивших ранее по меньшей мере один курс терапии, хроническим лимфоцитарным лейкозом и делецией 17p, и пациентов с макроглобулинемией Вальденстрема. Ибрутиниб имеет **формулу** 1-[(3R)-3-[4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил]-1-пиперидинил]-2-пропен-1-он и следующую структуру:



«Ингибитор BCL-2» представляет собой класс лекарственных средств, ингибирующих антиапоптозный белок при В-клеточной лимфоме-2 (Bcl-2) и ведущих к программированной клеточной гибели клеток. Ингибитор BCL-2 включает в себя венетоклак. Венетоклак поставляется на рынок Abbvie и Genentech (торговое название ВЕНКЛЕКСТА™, также известный как GDC-0199, ABT-199 и RG7601). В настоящее время венетоклак маркирован как средство для лечения пациентов с хроническим лимфоцитарным лейкозом (CLL) и делецией 17p, обнаруженной с помощью утвержденного FDA теста, получивших ранее по меньшей мере один курс терапии. «Венетоклак» описан в патентах США № 8,546,399 и № 9,174,982, оба из которых включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки. Формула венетоклакса представляет собой

4-(4-{[2-(4-хлорофенил)-4,4-диметил-1-циклогексен-1-ил]метил}-1-пиперазинил)-N-({3-нитро-4-[(тетрагидро-2Н-пиран-4-илметил)амино]фенил}сульфонил)-2-(1Н-пирроло[2,3-*b*]пиридин-5-илокси)бензамид и имеет следующую структуру:



Варианты осуществления

В других вариантах осуществления настоящее изобретение относится к анти-CD19 антителу для применения в лечении пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число NK-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равно 100 клеток/мкл, меньше или равно 90 клеток/мкл, меньше или равно 80 клеток/мкл, меньше или равно 70 клеток/мкл, меньше или равно 60 клеток/мкл, или меньше или равно 50 клеток/мкл.

В других вариантах осуществления настоящее изобретение относится к анти-CD19 антителу для применения в лечении пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число NK-клеток в периферической крови на исходном уровне составляет менее 100 клеток/мкл, менее 90 клеток/мкл, менее 80 клеток/мкл, менее 70 клеток/мкл, менее 60 клеток/мкл или менее 50 клеток/мкл.

В других вариантах осуществления настоящее изобретение относится к анти-CD19 антителу для применения в лечении пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число NK-клеток в периферической крови на исходном уровне составляет от 1 до максимум 100 клеток/мкл, от 10 до максимум 100 клеток/мкл, от 20 до максимум 100 клеток/мкл, от 30 до максимум 100 клеток/мкл, от 40 до максимум 100 клеток/мкл, от 50 до максимум 100 клеток/мкл, от 60 до максимум 100 клеток/мкл, от 70 до максимум 100 клеток/мкл, или от 80 до максимум 100 клеток/мкл.

В других вариантах осуществления настоящее изобретение относится к применению анти-CD19 антитела для лечения пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число NK-клеток в периферической крови на исходном уровне составляет менее 100 клеток/мкл, менее 90 клеток/мкл, менее 80 клеток/мкл, менее 70 клеток/мкл, менее 60 клеток/мкл или менее 50 клеток/мкл.

В других вариантах осуществления настоящее изобретение относится к применению анти-CD19 антитела для лечения пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число NK-клеток в периферической крови на исходном уровне составляет максимум 100 клеток/мкл, максимум 90 клеток/мкл, максимум 80 клеток/мкл, максимум 70 клеток/мкл, максимум 60 клеток/мкл, максимум 50 клеток/мкл.

В других вариантах осуществления настоящее изобретение относится к применению анти-CD19 антитела для лечения пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число NK-клеток в периферической крови на исходном уровне составляет от 1 до максимум 100 клеток/мкл, от 10 до максимум 100 клеток/мкл, от 20 до максимум 100 клеток/мкл, от 30 до максимум 100 клеток/мкл, от 40 до максимум 100 клеток/мкл, от 50 до максимум 100 клеток/мкл, от 60 до максимум 100 клеток/мкл, от 70 до максимум 100 клеток/мкл, или от 80 до максимум 100 клеток/мкл.

В варианте осуществления анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом содержит вариабельный участок тяжелой цепи с последовательностью

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINP
YNDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYW
GQGTLTVSS (SEQ ID NO: 7)

и вариабельный участок легкой цепи с последовательностью

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTISLLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ
ID NO: 8)

или вариабельный участок тяжелой цепи и вариабельный участок легкой цепи,

которые по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны вариабельному участку тяжелой цепи с последовательностью SEQ ID NO: 7 и вариабельному участку легкой цепи с последовательностью SEQ ID NO: 8.

В варианте осуществления анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом содержит вариабельный участок тяжелой цепи с последовательностью

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINP
YNDGTTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYW
GQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 7)

и вариабельный участок легкой цепи с последовательностью

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTISLSEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ
ID NO: 8)

или вариабельный участок тяжелой цепи и вариабельный участок легкой цепи, которые по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны вариабельному участку тяжелой цепи SEQ ID NO: 7 и вариабельному участку легкой цепи SEQ ID NO: 8, при этом анти-CD19 антитело содержит участок HCDR1, содержащий последовательность SYVMH (SEQ ID NO: 1), участок HCDR2, содержащий последовательность NPYNDG (SEQ ID NO: 2), участок HCDR3, содержащий последовательность GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), участок LCDR1, содержащий последовательность RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), участок LCDR2, содержащий последовательность RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), и участок LCDR3, содержащий последовательность MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6). В другом варианте осуществления участок тяжелой цепи анти-CD19 антитела содержит аминокислоты 239D и 332E, причем нумерация Fc соответствует EU-индексу, представленному у Kabat.

В дополнительном варианте осуществления анти-CD19 антитело для лечения пациентов с гемобластозом содержит тяжелую цепь с последовательностью

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINP
YNDGTTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYW
GQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAAKEEKTISKTKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDG
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 11)

и легкую цепь с последовательностью

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 12)

или тяжелую цепь и легкую цепь, которые по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны тяжелой цепи с последовательностью SEQ ID NO: 7 и легкой цепи с последовательностью SEQ ID NO: 8.

В дополнительном варианте осуществления анти-CD19 антитело для лечения пациентов с гемобластозом содержит тяжелую цепь с последовательностью

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINP
YNDGTTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYW
GQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDG
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 11)

и легкую цепь с последовательностью

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 12)

или тяжелую цепь и легкую цепь, которые по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны тяжелой цепи с последовательностью SEQ ID NO: 7 и легкой цепи с последовательностью SEQ ID NO: 8, при этом анти-CD19 антитело содержит участок HCDR1, содержащий последовательность SYVMH (SEQ ID NO: 1), участок HCDR2, содержащий последовательность NPYNDG (SEQ ID NO: 2), участок HCDR3, содержащий последовательность GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), участок LCDR1, содержащий последовательность RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), участок LCDR2, содержащий последовательность RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), и участок LCDR3, содержащий последовательность MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6). В другом варианте осуществления участок тяжелой цепи анти-CD19 антитела содержит аминокислоты 239D и 332E, причем нумерация Fc соответствует EU-индексу, представленному у Kabat.

В других вариантах осуществления настоящее изобретение относится к анти-CD19 антителу для лечения пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число NK-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равно 100 клеток/мкл, меньше или равно 90 клеток/мкл, меньше или равно 80 клеток/мкл, меньше

или равно 70 клеток/мкл, меньше или равно 60 клеток/мкл, или меньше или равно 50 клеток/мкл. В одном варианте осуществления настоящего изобретения у указанных пациентов с гемобластозом после указанного лечения

выживаемость без прогрессирования (PFS) составляет по меньшей мере 8 месяцев, по меньшей мере 9 месяцев, по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 11 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 13 месяцев, по меньшей мере 14 месяцев, по меньшей мере 15 месяцев, по меньшей мере 16 месяцев, по меньшей мере 17 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 19 месяцев, по меньшей мере 20 месяцев, по меньшей мере 24 месяца, по меньшей мере 30 месяцев, по меньшей мере 36 месяцев, по меньшей мере 42 месяца, по меньшей мере 48 месяцев или по меньшей мере 54 месяца;

частота объективных ответов (ORR) составляет по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80% или по меньшей мере 80%;

продолжительность ответа (DoR) составляет свыше по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 14 месяцев, по меньшей мере 16 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 20 месяцев, по меньшей мере 24 месяца, по меньшей мере 30 месяцев, по меньшей мере 36 месяцев, по меньшей мере 42 месяца, по меньшей мере 48 месяцев или по меньшей мере 54 месяца;

общая выживаемость (OS) составляет по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 14 месяцев, по меньшей мере 16 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 20 месяцев, по меньшей мере 24 месяцев, по меньшей мере 30 месяцев, по меньшей мере 36 месяцев, по меньшей мере 42 месяцев, по меньшей мере 48 месяцев или по меньшей мере 54 месяца; или

имеется комбинация одного или более из указанного выше. В другом варианте осуществления настоящего изобретения указанное анти-CD19 антитело применяют в комбинации с фармацевтическим агентом, как описано в данном документе.

В других вариантах осуществления настоящее изобретение относится к анти-CD19 антителу для лечения пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число NK-клеток в периферической крови на исходном уровне составляет менее 100 клеток/мкл, менее 90 клеток/мкл, менее 80 клеток/мкл, менее 70 клеток/мкл, менее 60 клеток/мкл или менее 50 клеток/мкл. В одном варианте осуществления настоящего изобретения у указанных пациентов с гемобластозом после указанного лечения

выживаемость без прогрессирования (PFS) составляет по меньшей мере 8 месяцев, по меньшей мере 9 месяцев, по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 11 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 13 месяцев, по меньшей мере 14 месяцев, по меньшей мере 15 месяцев, по меньшей мере 16 месяцев, по меньшей мере 17 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 19 месяцев, по меньшей мере 20 месяцев, по меньшей мере 24 месяца, по меньшей мере 30 месяцев, по меньшей мере 36 месяцев, по меньшей мере 42 месяца, по меньшей мере 48 месяцев или по меньшей мере 54 месяца;

частота объективных ответов (ORR) составляет по меньшей мере 30%, по меньшей мере

мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80% или по меньшей мере 80%;

продолжительность ответа (DoR) составляет свыше по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 14 месяцев, по меньшей мере 16 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 20 месяцев, по меньшей мере 24 месяца, по меньшей мере 30 месяцев, по меньшей мере 36 месяцев, по меньшей мере 42 месяца, по меньшей мере 48 месяцев или по меньшей мере 54 месяца;

общая выживаемость (OS) составляет по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 14 месяцев, по меньшей мере 16 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 20 месяцев, по меньшей мере 24 месяцев, по меньшей мере 30 месяцев, по меньшей мере 36 месяцев, по меньшей мере 42 месяцев, по меньшей мере 48 месяцев или по меньшей мере 54 месяца; или

имеется комбинация одного или более из указанного выше. В другом варианте осуществления настоящего изобретения указанное анти-CD19 антитело применяют в комбинации с фармацевтическим агентом, как описано в данном документе.

В других вариантах осуществления настоящее изобретение относится к анти-CD19 антителу для лечения пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число НК-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равно 100 клеток/мкл, меньше или равно 90 клеток/мкл, меньше или равно 80 клеток/мкл, меньше или равно 70 клеток/мкл, меньше или равно 60 клеток/мкл, или меньше или равно 50 клеток/мкл, и при этом указанное анти-CD19 антитело улучшает одну или более из следующих характеристик:

выживаемость без прогрессирования (PFS),
частота объективных ответов (ORR),
продолжительность ответа (DoR),
общая выживаемость (OS),
время до прогрессирования (TTP).

В других вариантах осуществления одна или более из указанных характеристик от (i) до (v) улучшены в сравнении с лечением, включающим в себя анти-CD20 антитело. В дополнительном варианте осуществления одна или более из указанных характеристик от (i) до (v) улучшены по сравнению с лечением, включающим в себя анти-CD20 антитело и химиотерапевтическое средство. В дополнительном варианте осуществления указанное анти-CD20 антитело представляет собой ритуксимаб или его биоаналог. В дополнительных вариантах осуществления одна или более из указанных характеристик от (i) до (v) улучшены по сравнению с лечением, включающим в себя анти-CD20 антитело и одно или более из циклофосфида, адриамина, винкристина или преднизона. В дополнительном варианте осуществления одна или более из указанных характеристик от (i) до (v) улучшены по сравнению с лечением, включающим в себя R-CHOP.

В других вариантах осуществления настоящее изобретение относится к анти-CD19 антителу для лечения пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число

НК-клеток в периферической крови на исходном уровне составляет менее 100 клеток/мкл, менее 90 клеток/мкл, менее 80 клеток/мкл, менее 70 клеток/мкл, менее 60 клеток/мкл или менее 50 клеток/мкл, и при этом введение указанного анти-CD19 антитела приводит к повышению выживаемости без прогрессирования (PFS), повышению частоты объективных ответов (ORR), увеличению продолжительности ответа (DoR), повышению общей выживаемости (OS) или увеличению времени до прогрессирования (TTP).

В других вариантах осуществления настоящее изобретение относится к анти-CD19 антителу для лечения пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число НК-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равно 100 клеток/мкл, меньше или равно 90 клеток/мкл, меньше или равно 80 клеток/мкл, меньше или равно 70 клеток/мкл, меньше или равно 60 клеток/мкл, или меньше или равно 50 клеток/мкл, и при этом введение указанного анти-CD19 антитела приводит к повышению выживаемости без прогрессирования (PFS) в сравнении с введением анти-CD20 антитела, повышению частоты объективных ответов (ORR) в сравнении с введением анти-CD20 антитела, увеличению продолжительности ответа (DoR) в сравнении с введением анти-CD20 антитела, повышению общей выживаемости (OS) в сравнении с введением анти-CD20 антитела или увеличению времени до прогрессирования (TTP) в сравнении с введением анти-CD20 антитела.

В других вариантах осуществления настоящее изобретение относится к анти-CD19 антителу для лечения пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число НК-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равно 100 клеток/мкл, меньше или равно 90 клеток/мкл, меньше или равно 80 клеток/мкл, меньше или равно 70 клеток/мкл, меньше или равно 60 клеток/мкл, или меньше или равно 50 клеток/мкл, и при этом введение указанного анти-CD19 антитела приводит к повышению выживаемости без прогрессирования (PFS) в сравнении с введением анти-CD20 антитела и химиотерапевтического средства, повышению частоты объективных ответов (ORR) в сравнении с введением анти-CD20 антитела и химиотерапевтического средства, увеличению продолжительности ответа (DoR) в сравнении с введением анти-CD20 антитела и химиотерапевтического средства, повышению общей выживаемости (OS) в сравнении с введением анти-CD20 антитела и химиотерапевтического средства или увеличению времени до прогрессирования (TTP) в сравнении с введением анти-CD20 антитела и химиотерапевтического средства. В дополнительном варианте осуществления указанное анти-CD20 антитело представляет собой ритуксимаб или его биоаналог. В дополнительных вариантах осуществления указанное химиотерапевтическое средство содержит одно или более из циклофосфида, адриамицина, винкристина или преднизона.

В других вариантах осуществления настоящее изобретение относится к анти-CD19 антителу для лечения пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число НК-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равно 100 клеток/мкл, меньше или равно 90 клеток/мкл, меньше или равно 80 клеток/мкл, меньше или равно 70 клеток/мкл, меньше или равно 60 клеток/мкл, или меньше или равно 50

клеток/мкл, и при этом введение указанного анти-CD19 антитела приводит к повышению выживаемости без прогрессирования (PFS) в сравнении с введением R-CHOP, повышению частоты объективных ответов (ORR) в сравнении с введением R-CHOP, увеличению продолжительности ответа (DoR) в сравнении с введением R-CHOP, повышению общей выживаемости (OS) в сравнении с введением R-CHOP или увеличению времени до прогрессирования (TTP) в сравнении с введением R-CHOP.

В одном варианте осуществления согласно настоящему изобретению предложено анти-CD19 антитело, причем указанное анти-CD19 антитело вводят в концентрации 12 мг/кг.

В дополнительном варианте осуществления анти-CD19 антитело вводят один раз в неделю, один раз в две недели или один раз в месяц. В дополнительном варианте осуществления анти-CD19 антитело вводят один раз в неделю в течение первых 3 месяцев и один раз в две недели в течение по меньшей мере следующих 3 месяцев. В дополнительном варианте осуществления анти-CD19 антитело вводят один раз в неделю в течение первых 3 месяцев. В дополнительном варианте осуществления анти-CD19 антитело вводят один раз в неделю в течение первых 3 месяцев и один раз в две недели в течение по меньшей мере следующих 3 месяцев. В другом варианте осуществления анти-CD19 антитело вводят один раз в неделю в течение первых 3 месяцев, один раз в две недели в течение следующих 3 месяцев и один раз в месяц в последующем. В еще одном варианте осуществления анти-CD19 антитело вводят один раз в неделю в течение первых 3 месяцев, один раз в две недели в течение следующих 3 месяцев и один раз в месяц в последующем.

Комбинации

Согласно настоящему изобретению предложено анти-CD19 антитело для лечения пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число НК-клеток в периферической крови на исходном уровне составляет менее 100 клеток/мкл, причем указанное анти-CD19 антитело применяется в комбинации с одним или более фармацевтическими агентами. В одном варианте осуществления настоящего изобретения указанное анти-CD19 антитело применяют в комбинации с фармацевтическим агентом. В другом варианте осуществления настоящего изобретения указанное анти-CD19 антитело применяют в комбинации с одним или более дополнительными фармацевтическими агентами или дополнительным фармацевтическим агентом. В одном аспекте указанный фармацевтический агент представляет собой дополнительный фармацевтический агент.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения указанный фармацевтический агент представляет собой биологическое или химиотерапевтическое средство. В другом варианте осуществления настоящего изобретения указанный фармацевтический агент представляет собой терапевтическое антитело или фрагмент антитела, азотистый иприт, аналог пурина, аналог талидомида, ингибитор фосфоинозитид-3-киназы, ингибитор BCL-2 или ингибитор тирозинкиназы Брутона (BTK). В другом варианте осуществления указанный фармацевтический агент

представляет собой ритуксимаб, R-CHOP, циклофосфамид, хлорамбуцил, урамустин, ифосфамид, мелфалан, бендамустин, меркаптопурин, азатиоприн, тиогуанин, флударабин, талидомид, леналидомид, помалидомид, иделалисиб, дувелисиб, копанлисиб, ибрутиниб или венетоклакс.

В другом варианте осуществления согласно настоящему изобретению предложено анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число NK-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равно 100 клеток/мкл, и при этом указанной анти-CD19 антитело применяется в комбинации с ритуксимабом, R-CHOP, циклофосфамидом, хлорамбуцилом, урамустином, ифосфамидом, мелфаланом, бендамустином, меркаптопурин, азатиоприном, тиогуанином, флударабином, талидомидом, леналидомидом, помалидомидом, иделалисибом, дувелисибом, копанлисибом, ибрутинибом или венетоклаксом. В дополнительном варианте осуществления согласно настоящему изобретению предложено анти-CD19 антитело для лечения пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число NK-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равно 100 клеток/мкл, и при этом указанное анти-CD19 антитело применяется в комбинации с бендамустином.

Показания и пациенты

Согласно настоящему изобретению предложено анти-CD19 антитело для лечения пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число NK-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равно 100 клеток/мкл, и при этом у указанного пациента с гемобластозом имеется хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), неходжкинская лимфома (NHL), мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (SLL) или острый лимфобластный лейкоз (ALL). В другом варианте осуществления у указанного пациента с гемобластозом имеется неходжкинская лимфома. В других вариантах осуществления неходжкинская лимфома выбрана из группы, состоящей из фолликулярной лимфомы, мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы, лимфомы из лимфоидной ткани слизистых оболочек, лимфомы маргинальной зоны, диффузной В-крупноклеточной лимфомы, лимфомы Беркитта и мантийноклеточной лимфомы. В других вариантах осуществления неходжкинская лимфома представляет собой рецидивирующую или рефрактерную диффузную В-крупноклеточную лимфому (r-r DLBCL). В другом варианте осуществления у указанного пациента с гемобластозом имеется диффузная В-крупноклеточная лимфома и он не подлежит высокодозной химиотерапии (HDC) и/или аутотрансплантации стволовых клеток (ASCT). В другом варианте осуществления у указанного пациента с гемобластозом рецидивирующая или рефрактерная диффузная В-крупноклеточная лимфома (r-r DLBCL) и он не подлежит высокодозной химиотерапии (HDC) и/или аутотрансплантации стволовых клеток (ASCT).

В другом варианте осуществления у указанного пациента с гемобластозом имеется диффузная В-крупноклеточная лимфома, причем пациент выбран на основании одного или более из следующих критериев:

1. Возраст ≥ 18 лет

2. Гистологически подтвержденный диагноз согласно классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ, 2008 г.): DLBCL NOS, THRLBCL, EBV-положительная DLBCL, сложная лимфома с DLBCL компонентом и рецидивом DLBCL после лечения DLBCL, заболевание трансформированное из ранее поставленного диагноза лимфомы низкой степени злокачественности (т. е. медленно развивающееся заболевание, такое как фолликулярная лимфома, лимфома маргинальной зоны) в DLBCL с рецидивом DLBCL после лечения DLBCL.

3. Необходимо предоставить свежую ткань опухоли для подтверждения гистопатологического заключения центральной лабораторией в качестве придатка для участия в исследовании. При невозможности получения образца свежей ткани опухоли для этой цели предоставляют архивный образец ткани опухоли, залитой в парафин, полученный ≤ 3 лет до скрининга для данного протокола.

4. Пациенты должны иметь:

1. рецидивирующую или рефрактерную DLBCL;

2. по меньшей мере один очаг заболевания с возможностью двухмерного измерения. У очага поражения на исходном уровне наибольший поперечный диаметр должен составлять $\geq 1,5$ см, а наибольший перпендикулярный диаметр - $\geq 1,0$ см. Очаг поражения должен быть PET-положительным при сканировании;

3. ранее получали по меньшей мере один, но не более трех линий системной терапии для лечения DLBCL. По меньшей мере одна предыдущая линия терапии должна включать в себя CD20-таргетную терапию.

4. ECOG от 0 до 2.

5. Пациенты после неудачной ASCT или пациенты, по мнению исследователя, в настоящее время не подлежащие HDC с последующей ASCT.

6. При скрининге пациенты должны соответствовать следующим лабораторным критериям:

$AЧН \geq 1,5 \times 10^9/л$ (а исключением случаев поражения костного мозга вследствие DLBCL);

тромбоциты $\geq 90 \times 10^9/л$ (за исключением случаев поражения костного мозга вследствие DLBCL) и отсутствие продолжающегося кровотечения;

общий билирубин сыворотки $\leq 2,5 \times ВГН$ за исключением случаев, обусловленных синдромом Жильбера (или картины, указывающей на синдром Жильбера) или документированного поражения печени лимфомой. Пациенты с синдромом Жильбера или документированным поражением печени при лимфомой могут быть включены, если содержание общего билирубина у них составляет $\leq 5 \times ВГН$;

$АЛТ, АСТ \text{ и } ЩФ \leq 3 \times ВГН$ или $< 5 \times ВГН$ в случаях документированного поражения печени лимфомой;

содержание креатинина сыворотки $\leq 2,0 \times ВГН$ или клиренс креатинина, рассчитанный с помощью стандартной формулы Кокрофта-Голта (Cockcroft & Gault, 1976

г.), должен составлять ≥ 40 мл/мин.

7. Перед включением женщин с детородным потенциалом (FCBP) им необходимо подтвердить отрицательный тест на беременность. FCBP необходимо начать прием высокоэффективного контрацептивного средства без перерыва в течение исследования и 3, 6 или 12 месяцев после последней дозы MOR00208, BEN или RTX, соответственно, в зависимости от того, что позже. FCBP должна воздержаться от кормления грудью и донорства крови или ооцитов в течение исследования и 3, 6 или 12 месяцев после последней дозы MOR00208, BEN или RTX, соответственно, в зависимости от того, что было отменено позже. Ограничения, связанные с донорством крови, также применяются в отношении женщин без детородного потенциала.

8. Мужчины, ведущие половую жизнь с FCBP, должны применять высокоэффективное средство барьерной контрацепции без перерыва в течение исследования и 3, 6 или 12 месяцев после последней дозы MOR00208, BEN или RTX, соответственно, в зависимости от того, что было отменено позже. Мужчины должны воздержаться от донорства крови или спермы в течение исследования и 3, 6 или 12 месяцев после последней дозы MOR00208, BEN или RTX, соответственно, в зависимости от того, что было отменено позже.

9. По мнению исследователя, пациенты:

должны быть в состоянии соблюдать все процедуры исследования, прием лекарства и обследования;

должны быть в состоянии понимать и давать информированное согласие;

не должны считаться возможно ненадежными и/или несклонными к сотрудничеству.

В другом варианте осуществления изобретения у указанного пациента с гемобластозом имеется диффузная В-крупноклеточная лимфома, причем пациент исключен на основании одного или более из следующих критериев:

1. Пациенты, имеющие: любой другой гистологический тип лимфомы, включая, например, первичную медиастинальную (тимическую) В-крупноклеточную лимфому (PMBL) или лимфому Беркитта, первичную рефрактерную DLBCL, пациенты с установленной генетикой DLBCL «двойного/тройного удара», поражение ЦНС лимфомой в настоящее время или в анамнезе.

2. Пациенты, перенесшие обширное оперативное вмешательство менее чем за 30 дней до 1-го дня введения дозы.

3. Пациенты, которые за 14 дней до 1-го дня введения дозы:

не прекратили получать CD20-таргетную терапию, химиотерапию, лучевую терапию, противоопухолевую терапию в рамках исследования или другую терапию, направленную против лимфомы;

прививались живыми вакцинами;

нуждались в парентеральной антибиотикотерапии в связи с активными сопутствующими системными инфекциями.

4. Пациенты, которые:

по мнению исследователя, не восстановились полностью от побочных токсических эффектов предыдущих курсов терапии, обширных хирургических вмешательств или значительных травматических повреждений;

ранее лечились с помощью CD19-таргетной терапии или BEN;

имеют в анамнезе случаи тяжелых аллергических реакций на соединения, схожие по биологическому или химическому составу с MOR00208, RTX, мышинными белками или BEN, или с эксципиентами, содержащимися в исследуемых лекарственных формах;

перенесли ASCT в течение периода времени ≤ 3 месяцев до подписания бланка информированного согласия. У пациентов с более длительным анамнезом применения ASCT перед включением в исследование должны быть полностью восстановлены гематологические показатели;

ранее перенесли аллотрансплантацию стволовых клеток;

одновременно получают другие виды противоопухолевого или экспериментального лечения.

5. Злокачественные новообразования помимо DLBCL в анамнезе, за исключением случаев, когда пациент не болел в течение ≥ 3 лет до скрининга. Исключения по ограничению по времени ≥ 3 лет включают в себя анамнез по следующим заболеваниям:

базально-клеточная карцинома кожи;

плоскоклеточная карцинома кожи;

карцинома in situ шейки матки, молочной железы и мочевого пузыря;

случайная гистологическая находка рака предстательной железы (Tumour/Node/Metastasis [TNM] стадия T1a или T1b).

6. Пациенты с:

положительным анализом крови на гепатит В и/или С;

установленной положительной серологической реакцией на ВИЧ или активной вирусной инфекцией ВИЧ в анамнезе;

признаками активных, тяжелых неконтролируемых системных инфекций или сепсиса;

признаками тяжелого иммунодефицитного состояния или таковыми в анамнезе;

признаками тяжелой печеночной недостаточности (содержание общего билирубина сыворотки > 3 мг/дл), желтухи, за исключением случаев, вызванных синдромом Жильбера или документированным поражением печени лимфомой, или таковыми в анамнезе;

признаками клинически значимого заболевания сердечно-сосудистой системы, нарушения мозгового кровообращения, заболевания ЦНС и/или другого заболевания, которое, по мнению исследователя, исключает возможность участия пациента в исследовании или снижает вероятность предоставления им информированного согласия, или таковыми в анамнезе.

Способ лечения

Согласно настоящему изобретению предложен способ лечения пациентов с

гемобластозом путем введения анти-CD19 антитела, причем у указанных пациентов число NK-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равно 100 клеток/мкл, меньше или равно 90 клеток/мкл, меньше или равно 80 клеток/мкл, меньше или равно 70 клеток/мкл, меньше или равно 60 клеток/мкл, или меньше или равно 50 клеток/мкл.

Согласно настоящему изобретению предложен способ лечения пациентов с гемобластозом путем введения анти-CD19 антитела, причем у указанных пациентов число NK-клеток в периферической крови на исходном уровне составляет менее 100 клеток/мкл, менее 90 клеток/мкл, менее 80 клеток/мкл, менее 70 клеток/мкл, менее 60 клеток/мкл или менее 50 клеток/мкл.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим анти-CD19 антитело, как описано в данном документе, для применения в лечении гемобластоза. В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению указанных фармацевтических композиций, содержащих анти-CD19 антитело, как описано в данном документе, для приготовления медицинского препарата для лечения гемобластоза. В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению указанной фармацевтической композиции, содержащей анти-CD19 антитело, как описано в данном документе, для лечения гемобластоза. В другом варианте осуществления указанный гемобластоз представляет собой хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), неходжкинскую лимфому (NHL), мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому (SLL) или острый лимфобластный лейкоз (ALL). В другом варианте осуществления указанный гемобластоз представляет собой неходжкинскую лимфому. В других вариантах осуществления неходжкинская лимфома выбрана из группы, состоящей из фолликулярной лимфомы, мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы, лимфомы из лимфоидной ткани слизистых оболочек, лимфомы маргинальной зоны, диффузной В-крупноклеточной лимфомы, лимфомы Беркитта и мантийноклеточной лимфомы. В других вариантах осуществления неходжкинская лимфома представляет собой рецидивирующую или рефрактерную диффузную В-крупноклеточную лимфому (r-r DLBCL). В другом варианте осуществления у указанного пациента с гемобластозом имеется диффузная В-крупноклеточная лимфома и он не подлежит высокодозной химиотерапии (HDC) и/или аутотрансплантации стволовых клеток (ASCT).

В другом аспекте в данном документе предложен способ лечения гемобластоза у пациента, причем у указанного пациента число NK-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равно 100 клеток/мкл, меньше или равно 90 клеток/мкл, меньше или равно 80 клеток/мкл, меньше или равно 70 клеток/мкл, меньше или равно 60 клеток/мкл, или меньше или равно 50 клеток/мкл, причем способ, включает введение фармацевтической композиции, содержащей терапевтически эффективное количество анти-CD19 антитела, как описано в данном документе. В одном варианте осуществления указанный пациент является резистентным, без ответа или без адекватного ответа на

лечение одной и не более трех предшествующих линий терапии, включая одну таргетную терапию анти-CD20 антителами (например, антителом ритуксимаб). В дополнительном варианте осуществления указанный пациент не подлежит высокодозной химиотерапии и аутотрансплантации стволовых клеток. В предпочтительном варианте осуществления указанный пациент является человеком. В альтернативных аспектах указанный пациент представляет собой грызуна, такого как крыса или мышь. В другом варианте осуществления указанный пациент страдает от гемобластоза, такого как неходжкинская лимфома. В других вариантах осуществления неходжкинская лимфома выбрана из группы, состоящей из фолликулярной лимфомы, мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы, лимфомы из лимфоидной ткани слизистых оболочек, лимфомы маргинальной зоны, диффузной В-крупноклеточной лимфомы, лимфомы Беркитта и мантийноклеточной лимфомы. В других вариантах осуществления неходжкинская лимфома представляет собой рецидивирующую или рефрактерную диффузную В-крупноклеточную лимфому (r-r DLBCL).

В другом аспекте согласно настоящему изобретению предложено применение анти-CD19 антитела в производстве медицинского препарата для применения в лечении пациента с гемобластозом, причем у указанного пациента число НК-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равно 100 клеток/мкл, меньше или равно 90 клеток/мкл, меньше или равно 80 клеток/мкл, меньше или равно 70 клеток/мкл, меньше или равно 60 клеток/мкл, или меньше или равно 50 клеток/мкл.

В другом аспекте согласно настоящему изобретению предложено применение анти-CD19 антитела в производстве медицинского препарата для применения в лечении гемобластоза. В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению указанного анти-CD19 антитела, как описано в данном документе, для приготовления медицинского препарата для лечения гемобластоза. В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению указанной фармацевтической композиции, содержащей анти-CD19 антитело, как описано в данном документе, для лечения гемобластоза. В другом варианте осуществления указанный гемобластоз представляет собой хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), неходжкинскую лимфому (NHL), мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому (SLL) или острый лимфобластный лейкоз (ALL). В другом варианте осуществления указанный гемобластоз представляет собой неходжкинскую лимфому. В других вариантах осуществления неходжкинская лимфома выбрана из группы, состоящей из фолликулярной лимфомы, мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы, лимфомы из лимфоидной ткани слизистых оболочек, лимфомы маргинальной зоны, диффузной В-крупноклеточной лимфомы, лимфомы Беркитта и мантийноклеточной лимфомы. В других вариантах осуществления неходжкинская лимфома представляет собой рецидивирующую или рефрактерную диффузную В-крупноклеточную лимфому (r-r DLBCL). В другом варианте осуществления у указанного пациента с гемобластозом имеется диффузная В-крупноклеточная лимфома и он не подлежит высокодозной химиотерапии (HDC) и/или

аутотрансплантации стволовых клеток (ASCT).

В некоторых вариантах осуществления анти-CD19 антитело, как описано в данном документе, вводят внутривенно. В других аспектах анти-CD19 антитело, как описано в данном документе, вводят подкожно, внутрь сустава или в спинномозговой канал.

Способ

Согласно настоящему изобретению предложен способ выбора пациента с гемобластозом с ожидаемой пользой от терапевтического введения анти-CD19 антитела, причем указанный способ включает в себя следующие этапы:

обеспечение образца крови, полученной от указанного пациента, до лечения с помощью указанного анти-CD19 антитела,

определение числа NK-клеток в периферической крови, и

выбор пациента в зависимости от числа NK-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равного 100 клеток/мкл.

В варианте осуществления настоящего изобретения способ дополнительно включает в себя следующий этап:

лечение выбранного пациента с помощью анти-CD19 антитела.

Согласно настоящему изобретению предложен способ выбора пациента с гемобластозом с ожидаемой пользой от терапевтического введения анти-CD19 антитела в комбинации с фармацевтическим агентом, причем указанный способ включает в себя следующие этапы:

обеспечение образца крови, полученной от указанного пациента, до лечения с помощью указанного анти-CD19 антитела,

определение числа NK-клеток в периферической крови, и

выбор пациента в зависимости от числа NK-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равного 100 клеток/мкл.

В варианте осуществления настоящего изобретения способ дополнительно включает в себя следующий этап:

лечение выбранного пациента с помощью анти-CD19 антитела.

Согласно настоящему изобретению предложен способ выбора пациента с гемобластозом с ожидаемой пользой от терапевтического введения анти-CD19 антитела, причем указанный способ включает в себя следующие этапы:

обеспечение образца крови, полученной от указанного пациента, до лечения с помощью указанного анти-CD19 антитела,

определение числа NK-клеток в периферической крови, и

выбор пациента в зависимости от числа NK-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равного 100 клеток/мкл.

В варианте осуществления настоящего изобретения способ дополнительно включает в себя следующий этап:

лечение выбранного пациента с помощью анти-CD19 антитела.

Согласно настоящему изобретению предложен способ выбора пациента с

гемобластозом с ожидаемой пользой от терапевтического введения анти-CD19 антитела в комбинации с фармацевтическим агентом, причем указанный способ включает в себя следующие этапы:

обеспечение образца крови, полученной от указанного пациента, до лечения с помощью указанного анти-CD19 антитела,

определение числа NK-клеток в периферической крови, и

выбор пациента в зависимости от числа NK-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равного 100 клеток/мкл.

В варианте осуществления настоящего изобретения способ дополнительно включает в себя следующий этап:

лечение выбранного пациента с помощью анти-CD19 антитела.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения указанный фармацевтический агент, введенный в комбинации с указанным анти-CD19 антителом, представляют собой биологическое или химиотерапевтическое средство. В другом варианте осуществления настоящего изобретения указанный фармацевтический агент представляет собой терапевтическое антитело или фрагмент антитела, азотистый иприт, аналог пурина, аналог талидомида, ингибитор фосфоинозитид-3-киназы, ингибитор BCL-2 или ингибитор тирозинкиназы Брутона (ВТК). В другом варианте осуществления указанный фармацевтический агент представляет собой ритуксимаб, R-CHOP, циклофосфамид, хлорамбуцил, урамустин, ифосфамид, мелфалан, бендамустин, меркаптопурин, азатиоприн, тиогуанин, флударабин, талидомид, леналидомид, помалидомид, иделалисиб, дувелисиб, копанлисиб, ибрутиниб или венетоклакс.

Согласно настоящему изобретению предложен способ определения пациента с гемобластозом с ожидаемой пользой от терапевтического введения анти-CD19 антитела, причем указанный способ включает в себя следующие этапы:

обеспечение образца крови, полученной от указанного пациента, до лечения с помощью указанного анти-CD19 антитела,

определение числа NK-клеток в периферической крови, и

выбор пациента в зависимости от числа NK-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равного 100 клеток/мкл.

В варианте осуществления настоящего изобретения способ дополнительно включает в себя следующий этап:

лечение выбранного пациента с помощью анти-CD19 антитела.

Согласно настоящему изобретению предложен способ лечения гемобластоza путем введения анти-CD19 антитела пациенту с гемобластозом, причем указанный пациент был выбран согласно способу, включающему в себя следующие этапы:

обеспечение образца крови, полученной от указанного пациента, до лечения с помощью указанного анти-CD19 антитела,

определение числа NK-клеток в периферической крови, и

выбор пациента в зависимости от числа NK-клеток в периферической крови на

исходном уровне меньше или равного 100 клеток/мкл.

В варианте осуществления настоящего изобретения способ дополнительно включает в себя следующий этап:

лечение выбранного пациента с помощью анти-CD19 антитела.

Согласно настоящему изобретению предложен способ выбора пациента с гемобластозом с ожидаемой пользой от терапевтического введения анти-CD19 антитела, причем указанный способ включает в себя следующие этапы:

обеспечение образца крови, полученной от указанного пациента, до лечения с помощью указанного анти-CD19 антитела,

определение числа NK-клеток в периферической крови, и

выбор пациента в зависимости от числа NK-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равного 100 клеток/мкл.

В варианте осуществления настоящего изобретения способ дополнительно включает в себя следующий этап:

лечение выбранного пациента с помощью анти-CD19 антитела.

В другом варианте настоящего изобретения ожидаемая польза от терапевтического введения анти-CD19 антитела представляет собой повышение выживаемости без прогрессирования (PFS), повышение частоты объективных ответов (ORR), увеличение продолжительности ответа (DoR), повышение общей выживаемости (OS) или увеличение времени до прогрессирования (TTP), или их комбинацию.

В другом варианте осуществления изобретения ожидаемая польза от терапевтического введения анти-CD19 антитела представляет собой повышение выживаемости без прогрессирования (PFS) в сравнении с введением анти-CD20 антитела, повышение частоты объективных ответов (ORR) в сравнении с введением анти-CD20 антитела, увеличение продолжительности ответа (DoR) в сравнении с введением анти-CD20 антитела, повышение общей выживаемости (OS) в сравнении с введением анти-CD20 антитела или увеличение времени до прогрессирования (TTP) в сравнении с введением анти-CD20 антитела, или их комбинацию.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения ожидаемая польза от терапевтического введения анти-CD19 антитела представляет собой

общую выживаемость (PFS) продолжительностью по меньшей мере 8 месяцев, по меньшей мере 9 месяцев, по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 11 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 13 месяцев, по меньшей мере 14 месяцев, по меньшей мере 15 месяцев, по меньшей мере 16 месяцев, по меньшей мере 17 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 19 месяцев или по меньшей мере 20 месяцев;

частота объективных ответов (ORR) составляет по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80% или по меньшей мере 80%;

продолжительность ответа (DoR) составляет свыше по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 14 месяцев, по меньшей мере 16 месяцев,

по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 20 месяцев, по меньшей мере 24 месяца, по меньшей мере 30 месяцев, по меньшей мере 36 месяцев, по меньшей мере 42 месяца, по меньшей мере 48 месяцев или по меньшей мере 54 месяца;

общая выживаемость (OS) составляет по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 14 месяцев, по меньшей мере 16 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 20 месяцев, по меньшей мере 24 месяцев, по меньшей мере 30 месяцев, по меньшей мере 36 месяца, по меньшей мере 42 месяцев, по меньшей мере 48 месяцев или по меньшей мере 54 месяца; или

имеется комбинация одного или более из указанного выше. В другом варианте осуществления настоящего изобретения указанное анти-CD19 антитело применяют в комбинации с фармацевтическим агентом, как описано в данном документе.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения ожидаемая польза от терапевтического введения анти-CD19 антитела представляет собой повышение выживаемости без прогрессирования (PFS) в сравнении с введением анти-CD20 антитела и химиотерапевтического средства, повышение частоты объективных ответов (ORR) в сравнении с введением анти-CD20 антитела и химиотерапевтического средства, увеличение продолжительности ответа (DoR) в сравнении с введением анти-CD20 антитела и химиотерапевтического средства, повышение общей выживаемости (OS) в сравнении с введением анти-CD20 антитела и химиотерапевтического средства или увеличение времени до прогрессирования (TTP) в сравнении с введением анти-CD20 антитела и химиотерапевтического средства. В дополнительном варианте осуществления указанное анти-CD20 антитело представляет собой ритуксимаб или его биоаналог. В дополнительных вариантах осуществления указанное химиотерапевтическое средство содержит одно или более из циклофосфида, адриамина, винкристина или преднизона.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения ожидаемая польза от терапевтического введения анти-CD19 антитела представляет собой повышение выживаемости без прогрессирования (PFS) в сравнении с введением R-CHOP, повышение частоты объективных ответов (ORR) в сравнении с введением R-CHOP, увеличение продолжительности ответа (DoR) в сравнении с введением R-CHOP, повышение общей выживаемости (OS) в сравнении с введением R-CHOP или увеличение времени до прогрессирования (TTP) в сравнении с введением R-CHOP.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения указанная ожидаемая польза от терапевтического введения анти-CD19 антитела представляет собой улучшение одной или более из следующих характеристик:

- выживаемость без прогрессирования (PFS),
- частота объективных ответов (ORR),
- продолжительность ответа (DoR),
- общая выживаемость (OS),
- время до прогрессирования (TTP).

В другом варианте осуществления указанное улучшение одной или более из

характеристик от (i) до (v) представлены в сравнении с лечением, включающим в себя анти-CD20 антитело. В дополнительном варианте осуществления указанное улучшение одной или более из характеристик от (i) до (v) представлены в сравнении с лечением, включающим в себя анти-CD20 антитело и химиотерапевтическое средство. В дополнительном варианте осуществления указанное анти-CD20 антитело представляет собой ритуксимаб или его биоаналог. В дополнительном варианте осуществления изобретения указанное улучшение одной или более из характеристик от (i) до (v) представлены в сравнении с лечением, включающим в себя анти-CD20 антитело и одно или более из циклофосфида, адриамицина, винкристина или преднизона. В дополнительном варианте осуществления указанное улучшение одной или более из характеристик от (i) до (v) представлены в сравнении с лечением, включающим в себя R-SNOR.

В варианте осуществления настоящего изобретения у указанного пациента с гемобластозом согласно указанному способу выбора пациента с гемобластозом с ожидаемой пользой от терапевтического введения анти-CD19 антитела имеется хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), неходжкинская лимфома (NHL), мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (SLL) или острый лимфобластный лейкоз (ALL). В дополнительном варианте осуществления у указанного пациента с гемобластозом имеется неходжкинская лимфома. В дополнительном варианте осуществления у указанного пациента с гемобластозом имеется неходжкинская лимфома, которая выбрана из группы, состоящей из фолликулярной лимфомы, мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы, лимфомы из лимфоидной ткани слизистых оболочек, лимфомы маргинальной зоны, диффузной В-крупноклеточной лимфомы, лимфомы Беркитта и мантийноклеточной лимфомы. В дополнительном варианте осуществления у указанного пациента с гемобластозом имеется рецидивирующая или рефрактерная диффузная В-крупноклеточная лимфома (г-г DLBCL).

В дополнительном варианте осуществления настоящего изобретения анти-CD19 антитело согласно способу выбора пациента с гемобластозом с ожидаемой пользой от терапевтического введения анти-CD19 антитела содержит участок HCDR1, включающий в себя последовательность SYVMH (SEQ ID NO: 1), участок HCDR2, включающий в себя последовательность NPYNDG (SEQ ID NO: 2), участок HCDR3, включающий в себя последовательность GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), участок LCDR1, включающий в себя последовательность RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), участок LCDR2, включающий в себя последовательность RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), и участок LCDR3, включающий в себя последовательность MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6). В другом варианте осуществления указанное анти-CD19 антитело

содержит переменный участок тяжелой цепи с последовательностью

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINP
YNDGTTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYW
GQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 7)

и вариабельный участок легкой цепи с последовательностью

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ
ID NO: 8).

В дополнительном варианте осуществления указанное анти-CD19 антитело содержит тяжелую цепь с последовательностью

EVQLVESGGGLVKGPGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINP
YNDGTTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYW
GQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGD
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 11)

и легкую цепь с последовательностью

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 12)

В другом варианте осуществления анти-CD19 антитело для лечения пациентов с гемобластозом содержит вариабельный участок тяжелой цепи и вариабельный участок легкой цепи, которые по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны вариабельному участку тяжелой цепи с последовательностью SEQ ID NO: 7 и вариабельному участку легкой цепи с последовательностью SEQ ID NO: 8.

В варианте осуществления анти-CD19 антитело для лечения пациентов с гемобластозом содержит вариабельный участок тяжелой цепи и вариабельный участок легкой цепи, которые по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны вариабельному участку тяжелой цепи SEQ ID NO: 7 и вариабельному участку легкой цепи SEQ ID NO: 8, при этом анти-CD19 антитело содержит участок HCDR1, содержащий последовательность SYVMH (SEQ ID NO: 1), участок HCDR2, содержащий последовательность NPYNDG (SEQ ID NO: 2), участок HCDR3, содержащий последовательность GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), участок LCDR1, содержащий последовательность RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), участок LCDR2, содержащий последовательность RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), и участок LCDR3, содержащий последовательность MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6). В другом варианте осуществления участок тяжелой цепи анти-CD19 антитела содержит аминокислоты 239D и 332E, причем нумерация Fc соответствует EU-индексу,

представленному у Kabat.

В дополнительном варианте осуществления анти-CD19 антитело для лечения пациентов с гемобластозом содержит тяжелую цепь и легкую цепь, которые по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны тяжелой цепи с последовательностью SEQ ID NO: 7 и легкой цепи с последовательностью SEQ ID NO: 8.

В дополнительном варианте осуществления анти-CD19 антитело для лечения пациентов с гемобластозом содержит тяжелую цепь и легкую цепь, которые по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны тяжелой цепи SEQ ID NO: 7 и легкой цепи SEQ ID NO: 8, при этом анти-CD19 антитело содержит участок HCDR1, содержащий последовательность SYVMH (SEQ ID NO: 1), участок HCDR2, содержащий последовательность NPYNDG (SEQ ID NO: 2), участок HCDR3, содержащий последовательность GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), участок LCDR1, содержащий последовательность RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), участок LCDR2, содержащий последовательность RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), и участок LCDR3, содержащий последовательность MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6). В другом варианте осуществления участок тяжелой цепи анти-CD19 антитела содержит аминокислоты 239D и 332E, причем нумерация Fc соответствует EU-индексу, представленному у Kabat.

В дополнительном варианте осуществления согласно настоящему изобретению предложен набор, включающий в себя средства для определения числа НК-клеток в периферической крови пациента с гемобластозом, который должен получать терапию с анти-CD19 антителом.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению числа НК-клеток в периферической крови в качестве биомаркера для прогнозирования чувствительности пациента с гемобластозом к лечению с помощью анти-CD19 антитела. В других вариантах осуществления число НК-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равно 100 клеток/мкл, меньше или равно 90 клеток/мкл, меньше или равно 80 клеток/мкл, меньше или равно 70 клеток/мкл, меньше или равно 60 клеток/мкл, или меньше или равно 50 клеток/мкл. В других вариантах осуществления число НК-клеток в периферической крови на исходном уровне составляет от 1 до максимум 100 клеток/мкл, от 10 до максимум 100 клеток/мкл, от 20 до максимум 100 клеток/мкл, от 30 до максимум 100 клеток/мкл, от 40 до максимум 100 клеток/мкл, от 50 до максимум 100 клеток/мкл, от 60 до максимум 100 клеток/мкл, от 70 до максимум 100 клеток/мкл, или от 80 до максимум 100 клеток/мкл.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению числа НК-клеток в периферической крови в качестве биомаркера для прогнозирования чувствительности пациента с гемобластозом к лечению с помощью

анти-CD19 антитела. В других вариантах осуществления число НК-клеток в периферической крови на исходном уровне составляет менее 100 клеток/мкл, менее 90 клеток/мкл, менее 80 клеток/мкл, менее 70 клеток/мкл, менее 60 клеток/мкл, или менее 50 клеток/мкл. В других вариантах осуществления число НК-клеток в периферической крови на исходном уровне составляет от 1 до максимум 100 клеток/мкл, от 10 до максимум 100 клеток/мкл, от 20 до максимум 100 клеток/мкл, от 30 до максимум 100 клеток/мкл, от 40 до максимум 100 клеток/мкл, от 50 до максимум 100 клеток/мкл, от 60 до максимум 100 клеток/мкл, от 70 до максимум 100 клеток/мкл, или от 80 до максимум 100 клеток/мкл.

Последовательности антитела

Таблица 1.

	SEQ ID NO:	Аминокислоты
HCDR1	SEQ ID NO: 1	SYVMH
HCDR2	SEQ ID NO: 2	NPYNDG
HCDR3	SEQ ID NO: 3	GTYYYYGTRVFDY
LCDR1	SEQ ID NO: 4	RSSKSLQNVNGNTYLY
LCDR2	SEQ ID NO: 5	RMSNLNS
LCDR3	SEQ ID NO: 6	MQHLEYPIT
VH	SEQ ID NO: 7	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMH WVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTIS SDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYYGTRV FDYWG QGTLVTVSS
VL	SEQ ID NO: 8	DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTY LYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSG TEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEI K
Константный домен тяжелой цепи	SEQ ID NO: 9	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV

		DVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
Константный домен легкой цепи	SEQ ID NO: 10	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
Тяжелая цепь	SEQ ID NO: 11	EVQLVESGGGLVPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMH WVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTIS SDKSISTAYMELSSLRSEDAMYWCARGTYYYGTRV FDYWGGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
Легкая цепь	SEQ ID NO: 12	DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTY LYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSG TEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Демонстрационные примеры

ADCC-активность MOR00208 и ритуксимаба клеточных линиях DLBCL, MCL и CLL при различных соотношениях Е:Т.

Пример 1. Характеристика экспрессии CD19 и CD20 на исследуемых клеточных линиях.

Способы и анализ данных

В настоящем исследовании для подсчета числа меченных фикоэритрином (PE) анти-CD19 и анти-CD20 антител, связанных с одной клеткой, применяли систему QuantiBRITE™ в соответствии с инструкциями производителя. Система QuantiBRITE™ основана на применении четырех наборов гранул, покрытых молекулами PE с различными уровнями предварительной калибровки, которые применяли для корреляции значений средней интенсивности флуоресценции (MFI) с числом молекул PE на одну гранулу. По каждому отдельному виду клетки показатель MFI, измеренный после окрашивания мечеными PE антителами, подставляли в формулу линейной регрессии для подсчета соответствующих значений числа связанных антител на одну клетку (ABC). Значения ABC напрямую коррелируют с числом молекул CD19 и CD20 на каждой клетке, поскольку биолиганды с антителами CD19-PE (биолиганд № 302208; клон H1B19) и CD20-PE (биолиганд № 302306; клон 2H7) несут на себе только одну молекулу PE на каждое антитело. При соотношении маркировки флуорохром/белок (F/P) 1:1 значения MESF (молекулы эквивалентного растворимого флуорохрома) соответствуют значениям ABC согласно уравнению $MESF/ABC = \text{эффективные F/P}$. Для конвертирования значений MFI в значения ABC применяли программное обеспечение GraphPad PRISM™.

Результаты

Были проанализированы уровни экспрессии CD19 и CD20 на клетках Toledo (DLBCL), MEC-1 (CLL) и JVM-2 (MCL). Для определения уровней экспрессии CD19 и CD20 на исследуемых клеточных линиях В-клеточной опухоли применяли систему QuantiBRITE™ в комбинации с мечеными PE анти-CD19 и анти-CD20 антителами. Для DLBCL на клеточной линии Toledo уровни экспрессии CD19 и CD20 составляли 35 721 и 28 008 связанных антител на клетку (ABC) (таблица 1). Экспрессия CD19 и CD20 на клетках MEC-1 (CLL) определена в количестве 60 925 и 71 320 ABC, тогда как клетки JVM-2 (MCL) показали уровни экспрессии CD19 в количестве 26 157, а уровни экспрессии CD20 - в количестве 15 540 ABC.

Таблица 1. Значения ABC CD19 и CD20 для клеток JVM-2 (MCL), Toledo (DLBCL) и MEC-1 (CLL).

Клеточная линия	CD19 ABC	CD20 ABC
Toledo	35 721	28 008
MEC-1	60 925	71 320
JVM-2	26 157	15 540

Пример 2. Анализы ADCC-активности при различных соотношениях Е:Т.

Способы и анализ данных

Антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность (ADCC) представляет собой иммунологический цитотоксический эффекторный механизм, который, главным образом, зависит от взаимодействия антител с Fc-рецепторами на NK-клетках. ADCC запускается, когда антитело связывается со специфическим антигеном на

поверхности клеток-мишеней, например CD19 или CD20 на опухолевых клетках, и Fc-фрагмент антитела взаимодействует с Fc-рецепторами на эффекторных клетках, таких как NK-клетки. Это взаимодействие активирует эффекторные клетки, и вследствие высвобождения перфорины и гранзимов индуцируется лизис клеток-мишеней.

Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) для приготовления эффекторных клеток получали из цельной крови здоровых добровольцев путем ее центрифугирования в градиенте плотности с разделяющим раствором Biocoll и пробирками SepMate. Далее получают NK-клетки из PBMC с помощью набора MACS в соответствии с протоколом производителя. До инкубирования с антителами и эффекторными NK-клетками одну клеточную линию CLL (MEC-1), одну клеточную линию MCL (JVM-2) и одну клеточную линию DLBCL (Toledo) окрашивали с помощью 1 мкмоли сукцинимидилового сложного эфира карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение 3 минут при комнатной температуре.

В экспериментах ADCC, 2×10^4 клеток-мишеней DLBCL, MCL или CLL на лунку инкубировали с NK-клетками в качестве эффекторных клеток при различных соотношениях эффектор-мишень (E:T) и с MOR00208 или ритуксимабом при концентрации 10 мкг/мл в течение 2 часов при температуре 37°C и 5% насыщении CO₂. Неспецифический NK-клеточно-опосредованный лизис опухолевых клеток определяли инкубированием NK-клеток с клетками-мишенями в отсутствии антител.

Для измерения лизиса клеток-мишеней использовали анализ на основе проточной цитометрии, подсчитывая мертвые и живые клетки с помощью 4',6-диамидин-2-фенилиндола (DAPI), интеркалирующего красителя ДНК, который не проникает через мембрану и встраивается в ДНК только мертвых клеток с поврежденными клеточными мембранами, тогда как интактные мембраны живых клеток не пропускают его внутрь клетки. Перед измерением FACS клетки окрашивали DAPI при конечной концентрации 1 мкг/мл и инкубировали в течение 10 минут во льду.

Исходные данные собирали с помощью инструмента FACS Verse и анализировали с помощью программного обеспечения FlowJo. Клеточные популяции были отсортированы на живые (DAPI-отрицательные) и мертвые клетки-мишени (DAPI-положительные). Данные были экспортированы в Microsoft Excel[®] для подсчета процента мертвых клеток и процента специфического лизиса с помощью следующих уравнений:

$\% \text{ мертвых клеток} = \text{мертвые клетки-мишени} / (\text{мертвые клетки-мишени} + \text{живые клетки-мишени}) \times 100 \text{ (образец)}$

$\% \text{ специфического лизиса} = \% \text{ мертвых клеток} - \% \text{ мертвых клеток, обнаруживаемых при контроле влияния NK-клеток на клетки-мишени (массовая доля антитела)}$.

Анализ данных проводили с помощью пакета программ для статистической обработки данных R and R Studio (версия 1.0.153 RStudio, Inc). Для каждого отдельного эксперимента были обобщены % показатели специфического лизиса, измеренного трижды, с вычислением среднего геометрического значения и его стандартного

отклонения. Кроме того, соотношение специфического лизиса рассчитывали от % значений специфического лизиса путем нормирования к медианному значению ритуксимаба. Для визуализации рассчитывали среднее геометрическое значение и его 95% доверительный интервал. Доверительный интервал среднего геометрического значения рассчитывали по методике бутстрап-повторной выборки с 1000 повторами.

Для обобщения данных всех экспериментов по клеточной линии соотношения специфического лизиса у каждого донора комбинировали в ходе двухступенчатого процесса. Во-первых, из значений, полученных при трех параллельных измерениях в ходе отдельных экспериментов, было выведено среднее геометрическое значение. Далее средние геометрические значения отдельных экспериментов комбинировали с одним средним геометрическим значением при соответствующем соотношении Е:Т, полученном у отдельного донора. При каждом соотношении Е:Т медиану и ее доверительный интервал рассчитывали с помощью методики бутстрап-повторной выборки с 10 000 повторами на основе обобщенных средних геометрических значений отдельных доноров (R Core Team 2017; Davison and Hinkley 1997; Wickham 2017).

Результаты

ADCC-активность анти-CD19 антитела с усиленным Fc-участком MOR00208 и анти-CD20 антитела ритуксимаба в отношении клеток Toledo (DLBCL), MEC-1 (CLL) и JVM-2 (MCL) определяли после 2-часового инкубирования с NK-клетками, полученными от здоровых людей-доноров.

Противоопухолевую активность MOR00208 и ритуксимаба оценивали при соотношениях Е:Т 0,1:1, 0,3:1, 1:1, 3:1 и 6:1 при концентрации антитела 10 мкг/мл. Соотношения Е:Т в пределах от 0,1:1 до 6:1 были выбраны как низкое и высокое соотношения в анализе. Самое низкое соотношение (1 NK-клетка на 10 опухолевых клеток; соотношение 0,1:1) было установлено минимально различимым сигналом ADCC в таком *in vitro* анализе. Верхний предел (6 NK-клеток на 1 опухолевую клетку; 6:1) был выбран при соотношении, при котором достигался максимальный лизис в условиях такого *in vitro* анализа.

На фиг. 1 показаны репрезентативные результаты, полученные в отдельном эксперименте для каждой линии клеток-мишеней, представленные в виде % специфического лизиса, а на **фиг. 2** показано соотношение специфического лизиса MOR00208, нормированного к ритуксимабу.

На фиг. 1 показан результат одного репрезентативного анализа специфического клеточного лизиса в клетках MEC-1, опосредованного MOR00208 (черный) или ритуксимабом (белый) в присутствии NK-клеток в ходе 2-часового анализа при температуре 37 °C. При соотношениях Е:Т 3:1 и 6:1 средние уровни специфического лизиса в клетках MEC-1 составляли от 40 до 65% при опосредовании MOR00208, и 34-60% при опосредовании ритуксимабом. В иллюстрированном анализе ADCC специфический лизис клеток JVM-2, опосредованный MOR00208, по сравнению с ритуксимабом также был увеличен при соотношениях Е:Т 3:1 и 6:1 в пределах между 46 и

56% против 39 и 48%. Специфический лизис клеток Toledo оказался схожим для MOR00208 и ритуксимаба при более высоких соотношениях Е:Т со значениями приблизительно 60%. Специфический лизис клеток МЕС-1, опосредованный ритуксимабом, при низком соотношении Е:Т 0,1:1 составлял 3%, тогда как MOR00208 продемонстрировал специфический лизис 6%. Похожие данные были обнаружены в клетках JVM-2 с увеличенным специфическим лизисом клеток при MOR00208 (3,4%) по сравнению с ритуксимабом (0,5%), и в клетках Toledo с увеличенным лизисом клеток при MOR00208 (8%) по сравнению с ритуксимабом (3%) при соотношении Е:Т 0,1:1.

Соотношение специфического лизиса при применении MOR00208 (черный треугольник) и ритуксимаба (кружок) с медианным значением ритуксимаба оказалось увеличенным от 1,9 до 6,9 раза для всех репрезентативных экспериментов с отдельным изучением ADCC с клеточными линиями DLBCL, MCL и CLL при соотношениях Е:Т 0,1:1 (**фиг. 2**). При более высоких соотношениях Е:Т 3:1 и 6:1 специфический лизис достиг уровня насыщения (см. **фиг. 1**), при этом отмечалось лишь минимальное различие в соотношении специфического лизиса MOR00208 в сравнении с ритуксимабом (**фиг. 2**). Все экспериментальные значения оценивали с помощью трех параллельных измерений. В общем, подбор соотношений Е:Т был проведен в анализах ADCC с тремя клеточными линиями В-клеточной опухоли и NK-клеток от 61 образца крови, полученного от 33 здоровых доноров крови. ADCC-активность MOR00208 и ритуксимаба оценивали на клетках JVM-2 от 8 доноров и на клетках Toledo от 10 доноров в двух независимых экспериментах на каждый донорский материал. Клетки МЕС-1 от 8 доноров испытывали в двух независимых экспериментах, а еще от 9 доноров - в единичных экспериментах.

На **фиг. 3** показано соотношение специфического лизиса, нормированного к ритуксимабу, для всех экспериментов, проведенных с каждой клеточной линией. Здесь каждый кружок или треугольник отображает среднее геометрическое значение двух независимых экспериментов, проведенных в трех параллельных испытаниях с NK-клетками от одного отдельного донора крови. Соотношение специфического лизиса, в 5,3 или 2,5 раза превышающее таковое для MOR00208, нормированного к ритуксимабу, обнаружено в клетках JVM-2 или Toledo при соотношении Е:Т 0,1:1, что показано как медиана многих доноров (**фиг. 3**). NK-клетки отдельных доноров продемонстрировали 20- или 30-кратное увеличение соотношения специфического лизиса MOR00208 по сравнению с ритуксимабом при самом низком соотношении Е:Т, например, у донора 296 с клетками-мишенями JVM-2 или у донора 299 с клетками-мишенями Toledo (данные не приведены). В клетках МЕС-1 данный эффект оказался слабее со средним увеличением соотношения специфического лизиса MOR00208, в 1,6 раза превышающим таковое ритуксимаба при соотношении Е:Т 0,1:1 в результате многочисленных анализов ADCC с NK-клетками, полученными от 17 различных доноров. При высоких соотношениях Е:Т увеличение соотношения специфического лизиса MOR00208 по сравнению с ритуксимабом оказалось менее выраженным для всех испытанных клеточных линий В-клеточной опухоли, хотя при более низких соотношениях Е:Т MOR00208 явно

превосходил ритуксимаб. Необходимо отметить, что доверительные интервалы MOR00208, как показано на **фиг. 3**, не перекрывались доверительными интервалами ритуксимаба, за исключением случаев с клетками Toledo при соотношении Е:Т 6:1, что, в целом, свидетельствует о правильности наблюдений о превосходстве MOR00208 над ритуксимабом. В заключение следует отметить, что соотношение специфического лизиса увеличивалось в направлении низких соотношений Е:Т и оказалось наиболее выраженным для клеток JVM-2 и Toledo, хотя сопоставимый эффект наблюдался для клеток MEC-1.

Моноклональное антитело MOR00208 нацелено на антиген CD19 на поверхности В-клеток и имеет две мутации (S239D и I332E) на Fc-участке для усиления антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности. ADCC является основным механизмом уничтожения злокачественных клеток, преимущественно опосредованного инфильтрацией опухоли NK-клетками. Bhat и Watzl в 2007 г. показали, что в присутствии ритуксимаба происходит увеличение серийного уничтожения NK-клеток с максимальным эффектом при низких соотношениях Е:Т 0,05:1, 0,1:1 и 0,2:1. Кроме того, сообщалось о том, усиление Fc-участка антител приводит к увеличению серийного уничтожения NK-клеток по сравнению с неусиленной версией CD33-специфичного антитела (Romain et al. 2014 г.). Здесь продемонстрировано увеличенное соотношение специфического лизиса MOR00208, нормированного к ритуксимабу, при низком соотношении Е:Т 0,1:1 с одной клеточной линией, полученной от DLBCL, одной от MCL и одной от CLL, опосредованного NK-клетками, от 1,6 до 5,3 раза превосходящее широкий диапазон здоровых доноров. Соотношение специфического лизиса увеличивалось в направлении низких соотношений Е:Т и оказалось наиболее выраженным для клеток JVM-2 и Toledo, хотя сопоставимая тенденция наблюдалась для клеток MEC-1. При более высоких соотношениях Е:Т 3:1 и 6:1 опосредованный MOR00208 специфический лизис оказался схожим с таковым ритуксимаба при насыщенных концентрациях антитела в 10 мкг/мл.

Увеличенный специфический лизис MOR00208 по сравнению с ритуксимабом при низких соотношениях Е:Т был подтвержден на свежих NK-клетках, полученных от 33 здоровых доноров, в 61 независимом эксперименте с клетками Toledo, JVM-2 и MEC-1. Эти результаты указывают на увеличенное серийное уничтожение NK-клеток при низких соотношениях Е:Т и доказывают, что MOR00208 увеличил противоопухолевую активность у пациентов с DLBCL, MCL и CLL с низким числом NK-клеток. В заключение отметим, что ADCC-активность MOR00208 продемонстрировала наиболее выраженное превосходство по отношению к ритуксимабу в условиях, когда число NK-клеток ограничено. Виды терапии, включающие в себя применение MOR00208, являются, таким образом, более предпочтительными для пациентов с низким NKCC на исходном уровне по сравнению со стандартом лечения (например, ритуксимабом).

Пример 3. Подсчет Т-клеток и NK-клеток.

В качестве примера подсчет Т-клеток и NK-клеток в периферической крови может быть произведен согласно следующей процедуре:

Т-клетки представляют собой вид лимфоцитов (подвид белых кровяных клеток), которые играют центральную роль в клеточно-опосредованном иммунитете. Их можно отличить от других лимфоцитов, таких как В-клетки и NK-клетки, по присутствию на их поверхности Т-клеточных рецепторов.

Естественные клетки-киллеры или NK-клетки представляют собой вид цитотоксических лимфоцитов, крайне важных для врожденной иммунной системы. NK-клетки быстро реагируют на клетки, зараженные вирусом, действуя около 3 дней после инфицирования, а также реагируют на формирование опухоли. Как правило, иммунные клетки находят главный комплекс гистосовместимости (МНС), представленный на поверхности инфицированных клеток, стимулируя высвобождение цитокина, вызывая лизис или апоптоз. Однако NK-клетки уникальны, поскольку они способны распознавать пораженные клетки в отсутствие антител и МНС, значительно ускоряя иммунную реакцию.

Материалы и способы

TriTest CD3 FITC/CD16+CD56 PE/CD45 PerCP (с пробирками TruCOUNT), BD Biosciences, Кат: 340403 (США); 342442 (Европа). Пипетторы и наконечники для пипеток для доставки 20 мкл, 50 мкл и 450 мкл, Gilson Inc. Лизирующие растворы FACS, BD Biosciences, Кат: 349202.

Инструменты: проточный цитометр, вортекс-миксер

Сведения о проточной цитометрии:

Цельную кровь окрашивают антителами, меченными флуорохромом (TriTEST), которые специфично связываются с поверхностными антигенами лейкоцитов. Клетки пересекают лазерный луч и рассеивают свет лазера. Окрашенные клетки флуоресцируют. Эти сигналы рассеяния и флуоресценции, зарегистрированные с помощью инструмента, дают информацию о размере клеток, сложности их внутренней структуры и относительной интенсивности флуоресценции. Реагенты TriTEST испускают флуоресценцию, что позволяет осуществить прямой флуоресцентный гейтинг популяции NK-клеток и Т-лимфоцитов для снижения контаминации нелизировавшими или ядродержащими красными кровяными клетками в воротах.

Окрашивание

Пробирку TruCOUNT для каждого образца пациента маркируют идентификационным номером образца. На дно пробирки пипеткой отмеряют 20 мкл реагента TriTEST CD3/CD16+CD56/CD45. На дно пробирки отмеряют пипеткой 50 мкл хорошо перемешанной антикоагулированной цельной крови. Антикоагулированную кровь (ЭДТК), которую хранили при комнатной температуре (20-25°C), необходимо окрасить в течение 24 часов после изъятия и провести ее анализ в течение 6 часов после окрашивания (хранить при комнатной температуре и в защищенном от света месте). Пробирку аккуратно встряхивают на вортексе для перемешивания ее содержимого. Пробирку в течение 15 минут инкубируют в темном месте при комнатной температуре (20-25 °C). В пробирку добавляют 450 мкл 1X FACS лизирующего раствора. Пробирку снова

встряхивают на вортексе и инкубируют в течение 15 минут в темном месте при комнатной температуре (20-25 °C).

При применении пробирок TruCOUNT определенный объем образца окрашивается непосредственно в пробирке TruCOUNT. Лиофилизированный осадок в пробирке растворяется, высвобождая определенное число флуоресцентных гранул. Во время анализа абсолютное число (клеток/мкл) положительных клеток в образце может быть установлено путем сравнения клеточных объектов с гранулярными объектами.

Проточная цитометрия

Клетки хорошо встряхивают на вортексе (при низкой скорости) для уменьшения агрегации перед проведением их через проточный цитометр.

Анализы данных

На точечной диаграмме проводят визуальную сравнительную оценку CD45 и SSC. Лимфоциты представлены в виде яркой компактной популяции клеток с SSC от низкой до средней степени. Моноциты (M) и гранулоциты (G) представлены отдельными популяциями. Анализ завершают после того, как клеточные популяции моноцитов и лимфоцитов демонстрируют четкое разделение.

Лимфоциты сначала «формируют ворота» как CD45-положительная клеточная популяция с низким SSC. Предварительно выделяют CD16/CD56 и CD3. Т-клетки (T) должны выглядеть в виде компактного яркого CD3-положительного кластера. NK-клетки (NK) должны выглядеть в виде компактного яркого CD16/CD56-положительного кластера. После окончания гейтинга можно подсчитать Т- и NK-клетки.

Подсчеты гранулярных объектов производят с помощью графика CD16/CD56 в сравнении с CD3 без предварительного выделения какого-либо ограниченного участка. Гранулы должны быть представлены в виде PE/FITC дважды положительного кластера.

Подсчет абсолютных количеств

Абсолютное число (клеток/мкл крови) Т-клеток или NK-клеток в образце устанавливается путем сравнения клеточных объектов с гранулярными объектами. Анализ данных можно проводить с помощью программного обеспечения Either MultiSET или вручную (с помощью CellQuest или другого программного обеспечения). Для подсчета вручную число (#) полученных положительных клеточных объектов делят на число (#) полученных гранулярных объектов, после чего умножают на (общее число объектов TruCOUNT (зависит от партии), деленное на объем образца цельной крови 50 мкл). Результат представляет собой абсолютное число клеток на микролитр.

Уравнение:

$$\frac{\begin{array}{c} \text{число объектов в ограниченном окне} \\ \text{содержащем клеточную популяцию} \\ (T \text{ или } NK) \end{array}}{\begin{array}{c} \text{число объектов в ограниченном окне 2} \\ \text{содержащем популяцию гранул} \end{array}} \times \frac{\begin{array}{c} \# \text{ всех гранул } TruCOUNT \\ 50 \text{ мкл цельной крови} \end{array}}{1} = \# \text{ клеток /мкл крови}$$

Пример:

$$\frac{2\,709 \text{ полученных } T\text{-клеток}}{10\,000 \text{ полученных гранул}} \times \frac{51\,667 \text{ общего числа гранул в пробирке}}{50 \text{ мкл}} = 280 \text{ } T\text{-клеток /мкл крови}$$

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом, причем у указанных пациентов число НК-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равно 100 клеток/мкл.

2. Анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом по п. 1, причем анти-CD19 антитело содержит участок HCDR1, включающий в себя последовательность SYVMH (SEQ ID NO: 1), участок HCDR2, включающий в себя последовательность NPYNDG (SEQ ID NO: 2), участок HCDR3, включающий в себя последовательность GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), участок LCDR1, включающий в себя последовательность RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), участок LCDR2, включающий в себя последовательность RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), и участок LCDR3, включающий в себя последовательность MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6).

3. Анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом по любому из предыдущих пунктов, причем анти-CD19 антитело содержит вариабельный участок тяжелой цепи с последовательностью

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINP
YNDGTTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYW
GQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 7)

и вариабельный участок легкой цепи с последовательностью

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ
ID NO: 8).

4. Анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом по любому из предыдущих пунктов, причем анти-CD19 антитело содержит тяжелую цепь с последовательностью

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINP
YNDGTTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYW
GQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYCKVSNKALPAPEEKTISKTKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDG
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 11)

и легкую цепь с последовательностью

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR
MSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 12)

5. Анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом по любому из предыдущих пунктов, причем анти-CD19 антитело вводят в комбинации с

одним или более дополнительными фармацевтическими агентами.

6. Анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом по п. 5, причем указанный фармацевтический агент представляет собой биологическое или химиотерапевтическое средство или их фармацевтически приемлемую соль.

7. Анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом по п. 6, причем указанный один или более фармацевтических агентов представляют собой терапевтическое антитело или фрагмент антитела, азотистый иприт, аналог пурина, аналог талидомида, ингибитор фосфоинозитид-3-киназы, ингибитор BCL-2, ингибитор тирозинкиназы Брутона (ВТК) или их фармацевтически приемлемую соль.

8. Анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом по п. 7, причем указанный один или более фармацевтических агентов представляет собой ритуксимаб, R-CHOP, циклофосфамид, хлорамбуцил, урамустин, ифосфамид, мелфалан, бендамустин, меркаптопурин, азатиоприн, тиогуанин, флударабин, талидомид, леналидомид, помалидомид, иделагалисиб, дувелисиб, копангалисиб, ибрутиниб, венетоклакс или их фармацевтически приемлемую соль.

9. Анти-CD19 антитело для лечения пациентов с гемобластозом по любому из предыдущих пунктов, причем у указанного пациента с гемобластозом имеется хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), неходжкинская лимфома (NHL), мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (SLL) или острый лимфобластный лейкоз (ALL).

10. Анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом по п. 9, причем у указанного пациента с гемобластоом имеется неходжкинская лимфома.

11. Анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом по п. 10, причем неходжкинская лимфома выбрана из группы, состоящей из фолликулярной лимфомы, мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы, лимфомы из лимфоидной ткани слизистых оболочек, лимфомы маргинальной зоны, диффузной В-крупноклеточной лимфомы, лимфомы Беркитта и мантийноклеточной лимфомы.

12. Анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом по п. 11, причем неходжкинская лимфома представляет собой рецидивирующую или рефрактерную диффузную В-крупноклеточную лимфому (r-r DLBCL).

13. Анти-CD19 антитело для применения в лечении пациентов с гемобластозом по любому из предыдущих пунктов, причем анти-CD19 антитело улучшает одну или более из следующих характеристик:

- выживаемость без прогрессирования (PFS),
- частота объективных ответов (ORR),
- продолжительность ответа (DoR),
- общая выживаемость (OS),
- время до прогрессирования (TTP).

14. Способ выбора пациента с гемобластозом с ожидаемой пользой от терапевтического введения анти-CD19 антитела, причем указанный способ включает в себя следующие этапы:

обеспечение образца крови, полученной от указанного пациента, до лечения с помощью указанного анти-CD19 антитела,

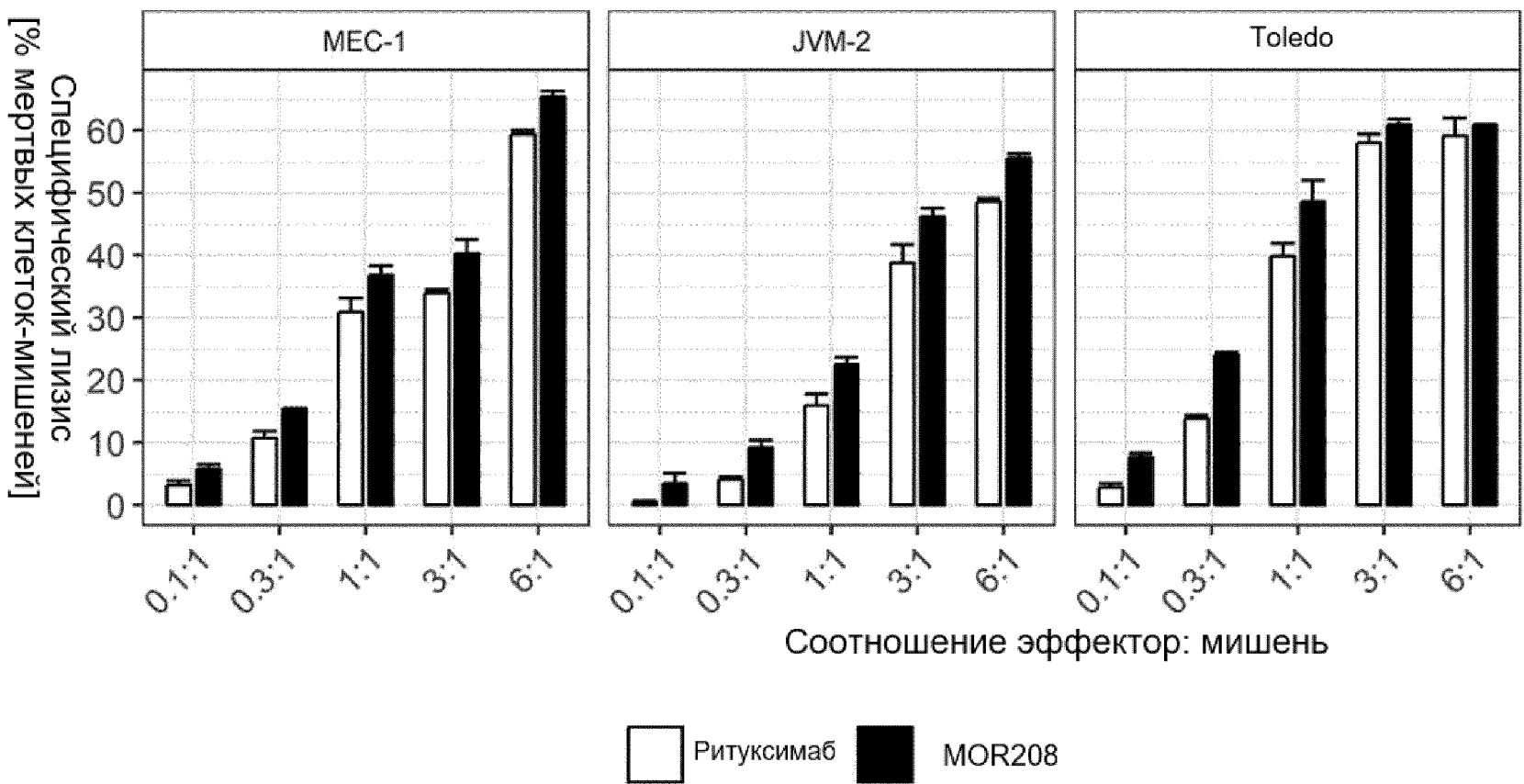
определение числа NK-клеток в периферической крови, и

выбор пациента в зависимости от числа NK-клеток в периферической крови на исходном уровне меньше или равного 100 клеток/мкл.

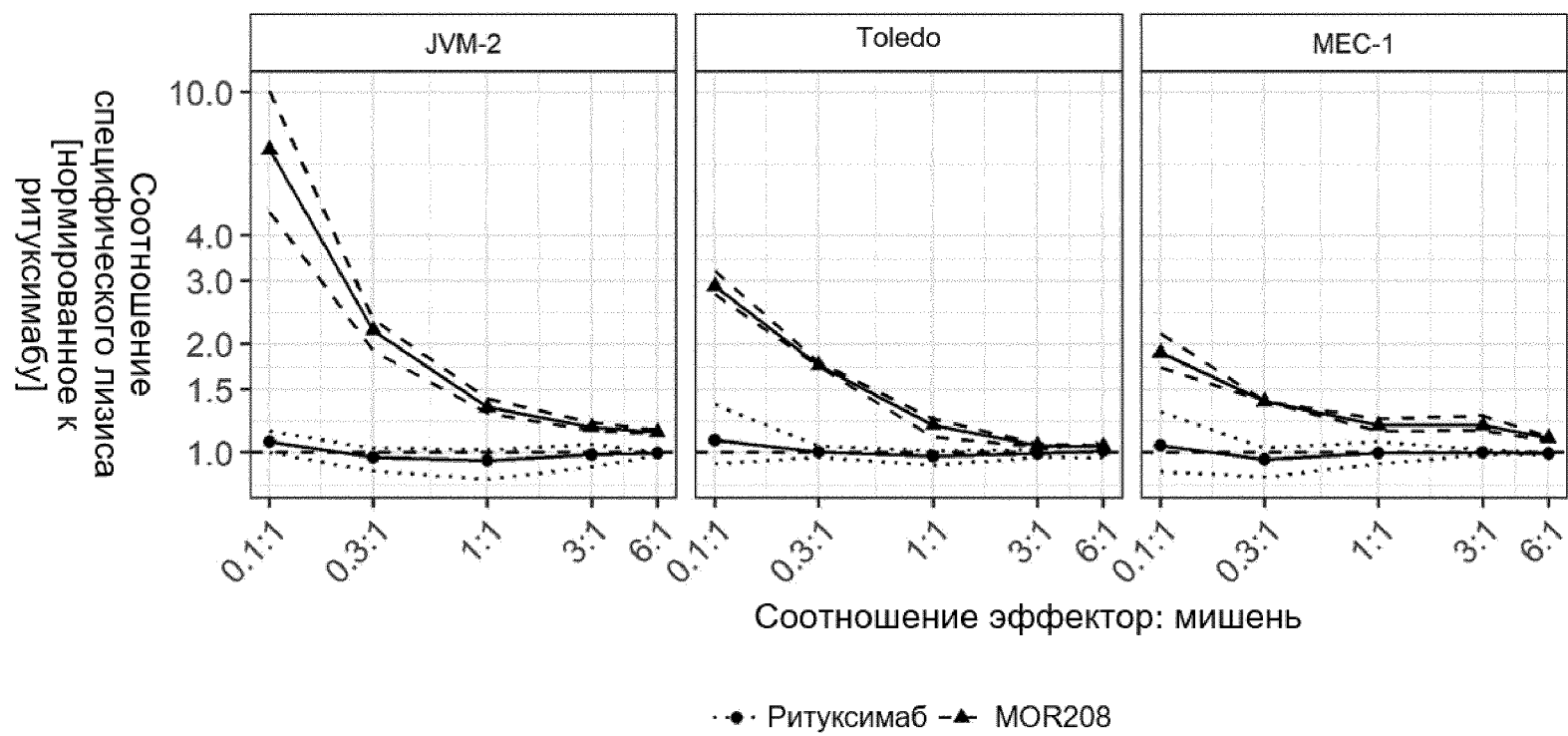
15. Способ по п. 14, дополнительно включающий в себя следующие этапы:

лечение выбранного пациента с помощью анти-CD19 антитела.

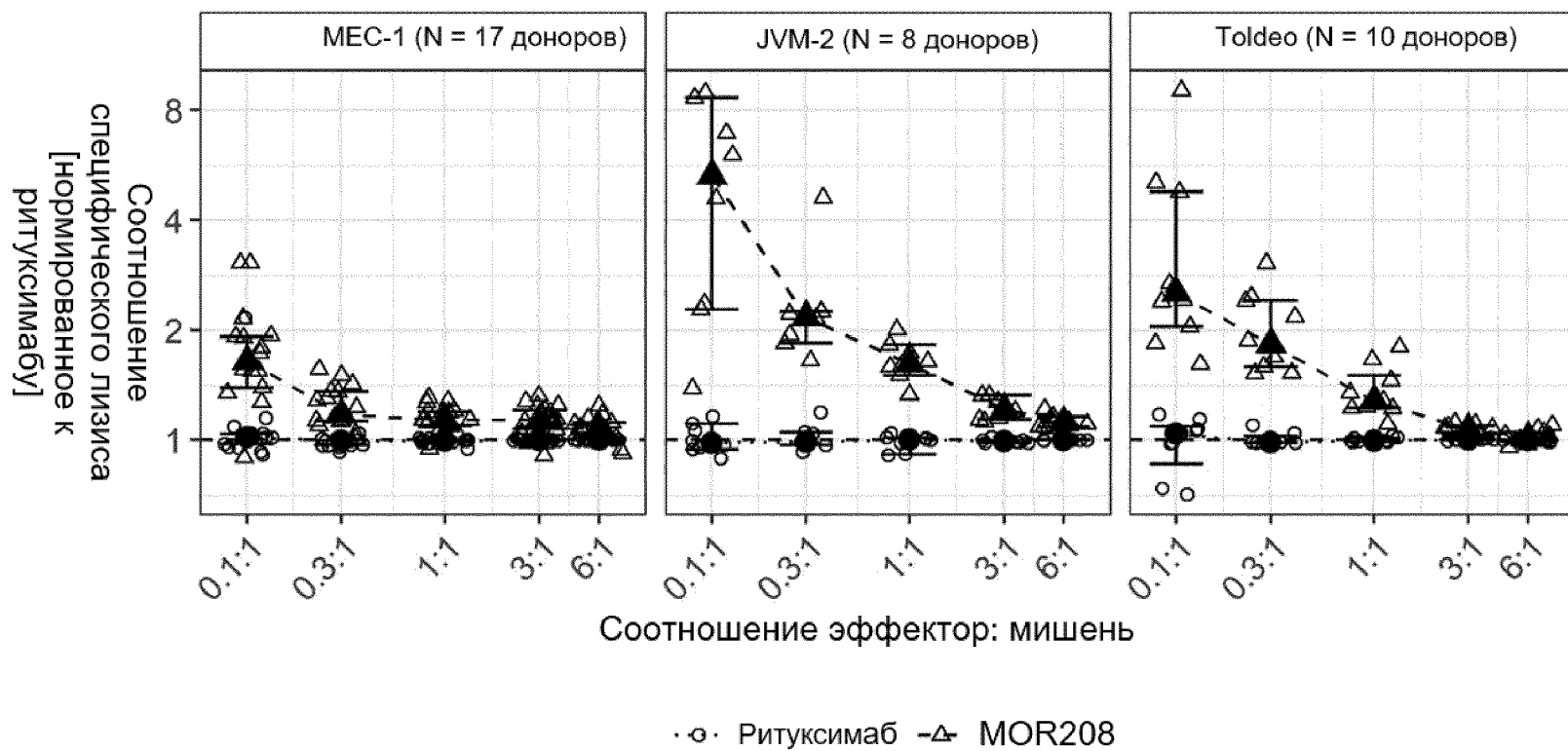
По доверенности



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3