



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.03.06

(21) Номер заявки
201891428

(22) Дата подачи заявки
2016.12.21

(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

**(54) КОМБИНАЦИЯ АНТИТЕЛ К PD-1 И БИСПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ К CD20/CD3
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ОПУХОЛИ**

(31) 62/270,749

(32) 2015.12.22

(33) US

(43) 2018.12.28

(86) PCT/US2016/068030

(87) WO 2017/112775 2017.06.29

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**РИДЖЕНЕРОН
ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:
**Варгиз Бинду, Тёрстон Гевин, Лоуви
Израель, Браунштейн Кэрри (US)**

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

(56) US-A1-2015166661
Anonymous: "Study of REGN2810 and REGN1979 in Patients With Lymphoma or Acute Lymphoblastic Leukemia", 16 November 2016 (2016-11-16), XP055354986, Retrieved from the Internet: URL: <https://api.liveclinicaltrials.com/trials/alpage?dcn=10963&city=Baltimore&country=United States&start=20&state=Maryland&conditions=Lymphoma&id=207048402254> [retrieved on 2017-03-15] e.g. title; section 'Enrollment & Eligibility': recruiting since November 2015; this document provides evidence that clinical trials which use REGN1979 and REGN2810 to treat ALL were publicly known since November 2015; the whole document

Anonymous: "A Phase 1 Study to Assess Safety and Tolerability of REGN1979, an anti-

CD20 x anti-CD3 bispecific monoclonal antibody, and REGN2810, an anti-programmed death-1 (PD-1) monoclonal antibody", EU Clinical Trials Register, retrieved on 16-03-2017, 1 December 2015 (2015-12-01), XP055355652, Retrieved from the Internet: URL: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search?query=2015-001697-17> [retrieved on 2017-03-16] e.g. section 'Full Title' and 'Start Date: 2015-12-01', both on the second page, rows 1 and 2; the whole document

Anonymous: "Clinical Trials Register: A Phase 1 Study to Assess Safety and Tolerability of REGN1979, an anti-CD20 x anti-CD3 bispecific monoclonal antibody, and REGN2810, an anti-programmed death-1 (PD-1) monoclonal antibody, in Patients with B-cell Malignancies; retrieved on 14-03-2017", 15 October 2015 (2015-10-15), XP055354812, Retrieved from the Internet: URL: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2015-001697-17/ES> [retrieved on 2017-03-14] e.g. section E.2.1 on page 4, and database entry date: 2015-10-15 on first page, section 'Summary'; the whole document

Anonymous: "Study of REGN2810 and REGN1979 in Patients With Lymphoma or Acute Lymphoblastic Leukemia | Smart Patients; retrieved on 16-03-2017", 1 November 2015 (2015-11-01), XP055355625, Retrieved from the Internet: URL: <https://www.smartpatients.com/trials/NCT02651662> [retrieved on 2017-03-16] e.g. mentions as start date November 2015, page 2, section 'Overview'; the whole document

T Feuchtinger ET AL: "Leukemia Related Co-Stimulation / Co-Inhibition Predict T-Cell Attack of Acute Lymphoblastic Leukemia Mediated By Blinatumomab", Blood Journal, 3 December 2015 (2015-12-03), XP055355717, Retrieved from the Internet: URL: <http://www.bloodjournal.org/content/126/23/3764?sso-checked=true> [retrieved on 2017-03-16] the whole document

(57) Настоящее изобретение относится к способам лечения, уменьшения тяжести или ингибирования роста злокачественной опухоли (например, В-клеточной злокачественной опухоли, такой как лимфома Ходжкина или острый лимфобластный лейкоз). Способы по настоящему изобретению предусматривают введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с рецептором-1 запрограммированной гибели клеток (PD-1), в комбинации с терапевтически эффективным количеством биспецифического антитела, которое специфически связывается с CD20 и CD3.

Настоящая заявка подана 21 декабря 2016 года как международная заявка на патент согласно РСТ и испрашивает приоритет согласно предварительной заявке на патент США № 62/270749, поданной 22 декабря 2015 года, раскрытие которой включено в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Перечень последовательностей

Настоящая заявка включает перечень последовательностей в электронном формате в виде txt-файла с названием "Перечень последовательностей", который был создан 21 декабря 2016 года, и который имеет размер 13,7 килобайта (кБ). Содержание txt-файла "Перечень последовательностей" включено в настоящий документ посредством ссылки.

Область техники, к которой относится настоящее изобретение Настоящее изобретение относится к способам лечения злокачественной опухоли, предусматривающим введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества антитела, которое специфически связывается с рецептором-1 запрограммированной гибели клеток (PD-1), в комбинации с биспецифическим антителом, которое связывается с CD20 и CD3.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения В-клеточные формы злокачественной опухоли представляют собой группу гетерогенных форм злокачественной опухоли из лейкоцитов, известных как В-лимфоциты, и включают формы лейкоза (локализующегося в кроветворных органах) и формы лимфомы (локализующейся в лимфатических узлах). В-клеточные формы лимфомы включают без ограничения неходжкинскую лимфому (NHL) и лимфому Ходжкина (HL). Формы лимфомы делят на вялотекущие (медленно растущие) или агрессивные формы лимфомы. Распространенной вялотекущей лимфомой является фолликулярная лимфома, а наиболее распространенной агрессивной лимфомой является диффузная В-крупноклеточная лимфома. Формы В-клеточного лейкоза включают без ограничения острый лимфобластный лейкоз, волосатоклеточный лейкоз и В-клеточный хронический лимфоцитарный лейкоз.

В большинстве случаев В-клеточных форм злокачественной опухоли на клеточной поверхности зрелых В-клеток экспрессируется CD20. Способы лечения злокачественной опухоли посредством целенаправленного воздействия на CD20 известны в данной области. Например, химерное моноклональное антитело к CD20 ритуксимаб применяли или предлагали для применения при лечении форм злокачественной опухоли, таких как NHL, хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL) и мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (SLL), либо в качестве монотерапии, но чаще в комбинации с химиотерапией. Хотя стратегии целенаправленного воздействия на опухоль с применением антител к CD20 оказались весьма перспективными в клинических условиях, не у всех пациентов наблюдали ответ на терапию антителами к CD20, и у некоторых пациентов наблюдали развитие резистентности или неполные ответы на терапию антителами к CD20 (например, частичное сокращение числа периферических В-клеток), причины которых до конца не понятны (но которые, как правило, исключают утрату экспрессии CD20). У некоторых пациентов наблюдали рецидив с более агрессивным фенотипом или резистентным к химиотерапии заболеванием. У многих пациентов с агрессивными формами лимфомы имеет место неблагоприятный прогноз и менее чем 50% вероятность выживаемости без рецидива. Прогноз для пациентов, у которых наблюдают рецидив, или которые являются невосприимчивыми к терапии, остается неутешительным, причем медиана выживаемости после спасительной терапии составляет от 2 до 8 месяцев. Кроме того, химиотерапия высокими дозами приводит к развитию тяжелых нежелательных побочных эффектов. Таким образом, существует высокая неудовлетворенная потребность в терапевтических препаратах, которые являются эффективными, предупреждают рецидив и вызывают менее значительные побочные эффекты, для пациентов с В-клеточными формами злокачественной опухоли.

Передача сигнала с участием рецептора-1 запрограммированной гибели клеток (PD-1) в микроокружении опухоли играет центральную роль в обеспечении для опухолевых клеток возможности избежать иммунного надзора, опосредованного иммунной системой организма-хозяина. Для блокирования сигнального пути с участием PD-1 была продемонстрирована клиническая эффективность у пациентов с множеством типов опухолей, и терапевтические средства на основе антител, которые блокируют PD-1 (например, ниволумаб и пембролизумаб), были одобрены для лечения метастатической меланомы и метастатического плоскоклеточного немелкоклеточного рака легкого. Недавно полученные данные продемонстрировали клиническую эффективность блокирования PD-1 у пациентов с агрессивной NHL и лимфомой Ходжкина (Lesokhin, et al 2014, реферат 291, 56-е Ежегодное собрание и выставка американского общества гематологов (ASH Annual Meeting and Exposition), Сан-Франциско, Калифорния; Ansell et al 2015, N. Engl. J. Med. 372(4):311-9).

CD3 представляет собой гомодимерный или гетеродимерный антиген, экспрессируемый на поверхности Т-клеток совместно с комплексом, представляющим собой Т-клеточный рецептор (TCR), и является необходимым для активации Т-клеток. Было показано, что антитела к CD3 обеспечивают кластеризацию CD3 на поверхности Т-клеток, вызывая тем самым активацию Т-клеток способом, аналогичным вовлечению TCR нагруженными пептидом молекулами МНС. Биспецифические моноклональные антитела, сконструированные для целенаправленного воздействия как на CD20, так и на CD3, объединяют CD20-экспрессирующие клетки с цитотоксическими Т-клетками, что приводит в результате к CD20-направленному уничтожению поликлональных Т-клеток.

Ввиду высокой неудовлетворенной потребности в эффективных терапевтических препаратах для лечения злокачественных новообразований из В-клеток, может быть полезным, как продемонстрировано в настоящем документе, комбинировать лечение средством для усиления функции Т-клеток (например, ингибитором PD-1, таким как антитело к PD-1) вместе со средством, связывающимся с целевым антигеном (биспецифическим антителом к CD20/CD3).

Краткое раскрытие настоящего изобретения

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящее изобретение относится к способам лечения, облегчения по меньшей мере одного симптома или признака или ингибирования роста злокачественной опухоли у субъекта. Способы в соответствии с этим аспектом настоящего изобретения предусматривают введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с белком-1 запрограммированной гибели клеток (PD-1), в комбинации с терапевтически эффективным количеством биспецифического антитела, которое специфически связывается с CD20 и CD3.

Согласно определенным вариантам осуществления настоящего изобретения предусмотрены способы лечения, облегчения по меньшей мере одного симптома или признака или ингибирования роста злокачественной опухоли у субъекта. Согласно определенным вариантам осуществления настоящего изобретения предусмотрены способы замедления роста опухоли или предупреждения повторного появления опухоли. Способы в соответствии с этим аспектом настоящего изобретения предусматривают последовательное введение нуждающемуся в этом субъекту одной или нескольких доз терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с PD-1, в комбинации с одной или несколькими дозами терапевтически эффективного количества биспецифического антитела, которое специфически связывается с CD20 и CD3.

Согласно определенным вариантам осуществления злокачественная опухоль или опухоль представляет собой опухоль или злокачественное новообразование из клеток кроветворной ткани. Согласно определенным вариантам осуществления злокачественная опухоль или опухоль представляет собой В-клеточную опухоль. Согласно определенным вариантам осуществления В-клеточная опухоль выбрана из группы, состоящей из лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы, фолликулярной лимфомы, мелко-клеточной лимфоцитарной лимфомы, лимфоплазмочитарной лимфомы, лимфомы из клеток маргинальной зоны, лимфомы из клеток мантийной зоны, диффузной В-крупноклеточной лимфомы, В-клеточных форм лимфомы, лимфоматоидного гранулематоза, лимфомы Беркитта, острого лимфобластного лейкоза, волосатоклеточного лейкоза и В-клеточного хронического лимфоцитарного лейкоза.

Согласно определенным вариантам осуществления каждая доза антитела к PD-1 составляет 0,1-20 мг/кг веса тела субъекта. Согласно определенным вариантам осуществления каждая доза антитела к PD-1 составляет 0,3, 1 или 3 мг/кг веса тела субъекта. Согласно определенным вариантам осуществления каждая доза антитела к PD-1 составляет 50-600 мг.

Согласно определенным вариантам осуществления каждая доза биспецифического антитела к CD20 и CD3 составляет 0,1-10 мг/кг веса тела субъекта. Согласно определенным вариантам осуществления каждая доза биспецифического антитела составляет 10-8000 микрограмм.

Согласно определенным вариантам осуществления каждая доза антитела к PD-1 составляет 0,3, 1, 3 или 10 мг/кг веса тела субъекта, и каждая доза биспецифического антитела составляет 10-3000 микрограмм. Согласно определенным вариантам осуществления каждая доза антитела к PD-1 составляет 1, 3 или 10 мг/кг веса тела субъекта, и каждая доза биспецифического антитела составляет 100, 300, 1000 или 3000 микрограмм. Согласно определенным вариантам осуществления каждая доза антитела к PD-1 составляет 50-300 мг, и каждая доза биспецифического антитела составляет 100, 300, 1000 или 3000 микрограмм.

Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают введение терапевтически эффективного количества антитела к PD-1 до введения биспецифического антитела, которое специфически связывается с CD20 и CD3, одновременно с ним или после него. Согласно одному варианту осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают введение антитела к PD-1 до введения биспецифического антитела к CD20/CD3.

Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают введение 0-50 терапевтических доз каждого из антитела к PD-1 и биспецифического антитела к CD20 и CD3, где каждую дозу вводят через 0,5-12 недель после ближайшей предшествующей дозы. Согласно определенным вариантам осуществления каждую дозу антитела к PD-1 вводят один раз в неделю, один раз в 2 недели или один раз в 4 недели, и каждую дозу биспецифического антитела вводят один раз в неделю, один раз в 2 недели или один раз в 4 недели. Согласно одному варианту осуществления каждую дозу антитела к PD-1 вводят один раз в 2 недели, а каждую дозу биспецифического антитела вводят один раз в неделю.

Согласно определенным вариантам осуществления каждую дозу биспецифического антитела вводят (в качестве дробной дозы) в виде более чем 1 части, например, в виде 2 или более частей, в течение определенного периода дозирования.

Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 и биспецифическое антитело применяют в комбинации с третьим терапевтическим средством или терапией.

В соответствии с определенными вариантами осуществления антитело к PD-1 или антигенсвязывающий белок содержат определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) варибельной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и CDR легкой цепи варибельной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. Один такой тип антигенсвязывающего белка, который можно применять в контексте способов по настоящему изобретению, представляет собой антитело к PD-1, такое как REGN2810.

В соответствии с определенными вариантами осуществления биспецифическое антитело, которое связывается с CD20 и CD3, содержит: (i) первое антигенсвязывающее плечо, содержащее CDR тяжелой цепи (A-HCDR1, A-HCDR2 и A-HCDR3) HCVR (A-HCVR) SEQ ID NO: 11 и CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) LCVR SEQ ID NO: 12; и (ii) второе антигенсвязывающее плечо, содержащее CDR тяжелой цепи (B-HCDR1, B-HCDR2 и B-HCDR3) HCVR (B-HCVR) SEQ ID NO: 13 и CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) LCVR SEQ ID NO: 12.

Согласно определенным вариантам осуществления настоящее изобретение относится к применению антитела к PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента отдельно или в комбинации с биспецифическим антителом к CD20 и CD3 в изготовлении лекарственного препарата для лечения или ингибирования роста злокачественной опухоли у субъекта, включая людей. Согласно определенным вариантам осуществления злокачественная опухоль представляет собой В-клеточную злокачественную опухоль. Согласно одному варианту осуществления злокачественная опухоль представляет собой неходжкинскую лимфому. Согласно одному варианту осуществления злокачественная опухоль представляет собой лимфому Ходжкина. Согласно одному варианту осуществления злокачественная опухоль представляет собой острый лимфобластный лейкоз.

Другие варианты осуществления настоящего изобретения будут очевидны из обзора нижеследующего подробного описания.

Краткое описание чертежей.

На фиг. 1 приведены результаты по *in vivo* эффективности антитела к PD-1 мыши отдельно и в комбинации с биспецифическим антителом к CD20/CD3 в отношении развившихся опухолей B16_CD20+ (описано в примере 1 в настоящем документе).

На фиг. 2 представлены результаты для мышей, рандомизированных на когорты исходя из размера опухоли (как описано в примере 2 в настоящем документе).

На фиг. 3 приведены результаты по *in vivo* эффективности антитела к PD-1 мыши отдельно и в комбинации с биспецифическим антителом к CD20/CD3 в отношении развившихся опухолей B16_CD20+ (описано в примере 2 в настоящем документе).

На фиг. 4 показано схематическое представление групп лечения и когорт для определения дозы для пациентов с лимфомой (В-клеточной неходжкинской лимфомой и лимфомой Ходжкина) (описано в примере 3 в настоящем документе).

На фиг. 5 показано схематическое представление групп лечения и когорт для определения дозы для пациентов с острым лимфобластным лейкозом (описано в примере 3 в настоящем документе).

На фиг. 6 представлена схема последовательности проведения исследования для схемы лечения антителом к PD-1 (REGN2810) в качестве отдельного средства для пациентов с лимфомой (В-клеточной неходжкинской лимфомой и лимфомой Ходжкина) (описано в примере 3 в настоящем документе).

На фиг. 7 представлена схема последовательности проведения исследования для схемы лечения биспецифическим антителом к CD20/CD3 (bsAb1) в качестве отдельного средства для пациентов с острым лимфобластным лейкозом (описано в примере 3 в настоящем документе).

На фиг. 8 представлена схема последовательности проведения исследования для схемы лечения комбинацией bsAb1+REGN2810 для пациентов с В-клеточной неходжкинской лимфомой (описано в примере 3 в настоящем документе).

На фиг. 9 представлена схема последовательности проведения исследования для схемы лечения комбинацией bsAb1+REGN2810 для пациентов с острым лимфобластным лейкозом (описано в примере 3 в настоящем документе).

Подробное раскрытие настоящего изобретения.

Перед тем, как будет описано настоящее изобретение, следует понимать, что настоящее изобретение не ограничено конкретными описанными способами и условиями проведения экспериментов, поскольку такие способы и условия могут различаться. Также следует понимать, что применяемая в настоящем документе терминология предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления, и не предназначена для ограничения, поскольку объем настоящего изобретения будет ограничиваться только прилагаемой формулой изобретения.

Если не указано иное, все применяемые в настоящем документе технические и научные термины имеют то же значение, которые обычно понятны рядовому специалисту в данной области, к которой относится настоящее изобретение. В контексте настоящего документа термин "приблизительно" при применении в отношении конкретного указанного числового значения означает, что значение может отличаться от указанного значения не более чем на 1%. Например, в контексте настоящего документа выражение "приблизительно 100" включает 99 и 101 и все промежуточные значения (например, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4 и т.д.).

Хотя для практической реализации настоящего изобретения можно применять любые способы и материалы, подобные или эквивалентные таковым, описанным в настоящем документе, предпочтительными являются способы и материалы, описанные в настоящем документе. Все упоминаемые в настоящем документе публикации включены в настоящий документ для описания посредством ссылки во всей своей полноте.

Способы лечения или ингибирования роста В-клеточных форм злокачественной опухоли.

Настоящее изобретение включает способы лечения, облегчения или уменьшения тяжести по меньшей мере одного симптома или признака или ингибирования роста злокачественной опухоли у субъекта. Способы в соответствии с этим аспектом настоящего изобретения предусматривают введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают PD-1, в комбинации с терапевтически эффективным количеством биспецифического антитела к с CD20 и CD3. В контексте настоящего документа термины "лечить", "лечение" и т.д. означают ослабление симптомов, устранение причин возникновения симптомов либо на временной, либо на постоянной основе, задержку или ингибирование роста опухоли, уменьшение числа опухолевых клеток или опухолевой массы, содействие регрессии опухоли, обеспечение уменьшения размеров, некроза и/или исчезновения опухоли, предупреждение повторного появления опухоли и/или увеличение продолжительности выживания субъекта.

В контексте настоящего документа выражение "нуждающийся в этом субъект" означает человека или отличного от человека млекопитающего, у которых наблюдают один или несколько симптомов или признаков злокачественной опухоли, и/или у которых была диагностирована злокачественная опухоль, включая В-клеточную злокачественную опухоль, и которые нуждаются в ее лечении. Согласно множеству вариантов осуществления термин "субъект" можно применять взаимозаменяемо с термином "пациент". Например, у субъекта-человека может быть диагностирована первичная или метастатическая опухоль и/или один или несколько симптомов или признаков, включая без ограничения увеличенный(увеличенные) лимфатический(лимфатические) узел(узлы), увеличенный размер живота, боль/давление в груди, потерю веса неизвестной этиологии, лихорадку, ночную потливость, постоянную усталость, потерю аппетита, увеличение селезенки, зуд. Выражение включает субъектов с первичными или развившимися В-клеточными опухолями. Согласно конкретным вариантам осуществления выражение включает субъектов-людей, у которых наблюдают злокачественное новообразование из В-клеток, например, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, фолликулярную лимфому, мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому, лимфоцитомную лимфому, лимфоплазмочитарную лимфому, лимфому из клеток маргинальной зоны, лимфому из клеток мантийной зоны, диффузную В-крупноклеточную лимфому, В-клеточные формы лимфомы, лимфоматозидный гранулематоз, лимфому Беркитта, острый лимфобластный лейкоз, волосатоклеточный лейкоз, и В-клеточный хронический лимфоцитарный лейкоз, и которые нуждаются в их лечении. Согласно дополнительному варианту осуществления выражение включает индивидуумов с патологическим подтипом В-клеточной злокачественной опухоли, как представлено в табл. 3-5 в настоящем документе. Согласно другим конкретным вариантам осуществления выражение включает субъектов с CD20+ опухолями (например, опухолью, в которой экспрессируется CD20, как определено с помощью проточной цитометрии по >20% содержанию лейкозных лимфобластов). Согласно определенным вариантам осуществления выражение "нуждающийся в этом субъект" включает пациентов с В-клеточной злокачественной опухолью, резистентной или рефрактерной к предшествующей терапии (например, лечение традиционным противоопухолевым средством), или не достигшей удовлетворительного контроля с ее применением. Например, выражение включает субъектов, которые прошли лечение с применением ингибитора CD20 (например, ритуксимаба), химиотерапии или иммуномодулирующего средства, такого как блокатор CTLA, IBV, LAG3 или OX-40. Выражение также включает субъектов со злокачественным новообразованием из В-клеток, для которых традиционная противоопухолевая терапия является нецелесообразной, например, из-за побочных эффектов в виде токсичности. Например, выражение включает пациентов, которые получали один или несколько курсов химиотерапии с побочными эффектами в виде токсичности. Согласно определенным вариантам осуществления выражение "нуждающийся в этом субъект" включает пациентов со злокачественным новообразованием из В-клеток, которые проходили лечение, но у которых впоследствии наблюдали рецидив или метастазирование. Например, пациентов со злокачественным новообразованием из В-клеток, которые могли получать лечение одним или несколькими противоопухолевыми средствами, обеспечивающими регрессию опухоли, однако у которых впоследствии наблюдали рецидив злокачественной опухоли, резистентной к одному или нескольким противоопухолевым средствам (например, при резистентной к химиотерапии злокачественной опухоли), лечат с применением способов по настоящему изобретению.

Выражение "нуждающийся в этом субъект" также включает субъектов с риском развития В-клеточной злокачественной опухоли, например, индивидуумов со случаями лимфомы в семье, индивидуумов с вызванными вирусом Эпштейна-Барр инфекциями в анамнезе, такими как инфекционный мононуклеоз, или индивидуумов с ослабленной иммунной системой вследствие ВИЧ-инфекции или применения иммуносупрессорных лекарственных препаратов.

Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению можно

применять для лечения пациентов, у которых наблюдают повышенные уровни одного или нескольких ассоциированных со злокачественной опухолью биомаркеров (например, лиганда белка-1 запрограммированной гибели клеток (PD-L1), CD20, бета-2-микроглобулина, лактатдегидрогеназы, слитого гена BCR-ABL, перестройки гена ALK). Например, способы по настоящему изобретению предусматривают введение пациенту с повышенным уровнем PD-L1 и/или CD20 терапевтически эффективного количества антитела к PD-1 в комбинации с биспецифическим антителом к CD20/CD3.

Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению применяют у субъекта с В-клеточной злокачественной опухолью. Термины "опухоль", "злокачественная опухоль" и "злокачественное новообразование" применяют взаимозаменяемо в настоящем документе. Термин "В-клеточная злокачественная опухоль" в контексте настоящего документа относится к опухолям из лейкоцитов, известных как В-лимфоциты, и включает формы лейкоза (локализующегося в кроветворных органах) и формы лимфомы (локализующейся в лимфатических узлах). Настоящее изобретение включает способы лечения как форм лейкоза, так и форм лимфомы. Согласно определенным вариантам осуществления В-клеточная злокачественная опухоль включает без ограничения лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, фолликулярную лимфому, мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому, лимфоплазматическую лимфому, лимфому из клеток маргинальной зоны, лимфому из клеток мантийной зоны, диффузную В-крупноклеточную лимфому, В-клеточные формы лимфомы, лимфоматоидный гранулематоз, лимфому Беркитта, острый лимфобластный лейкоз, волосатоклеточный лейкоз, В-клеточный хронический лимфоцитарный лейкоз, а также патологические подтипы, представленные в табл. 3-5 в настоящем документе. В-клеточные формы лимфомы, как правило, делят на высокодифференцированные и низкодифференцированные, как правило, относящиеся к вялотекущим (медленно растущим) формам лимфомы и агрессивным формам лимфомы соответственно. Настоящее изобретение включает способы лечения как вялотекущих, так и агрессивных форм лимфомы.

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящее изобретение включает способы лечения или задержки или ингибирования роста опухоли. Согласно определенным вариантам осуществления настоящее изобретение включает способы содействия регрессии опухоли. Согласно определенным вариантам осуществления настоящее изобретение включает способы уменьшения числа опухолевых клеток или уменьшения опухолевой массы. Согласно определенным вариантам осуществления настоящее изобретение включает способы предупреждения повторного появления опухоли. Способы в соответствии с этим аспектом настоящего изобретения предусматривают последовательное введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества антитела к PD-1 в комбинации с биспецифическим антителом к CD20/CD3, где каждое антитело вводят субъекту в виде множества доз, например, как часть конкретного режима дозирования в рамках терапии. Например, режим дозирования в рамках терапии может предусматривать введение субъекту одной или нескольких доз антитела к PD-1 с частотой приблизительно один раз в день, один раз в два дня, один раз в три дня, один раз в четыре дня, один раз в пять дней, один раз в шесть дней, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в четыре недели, один раз в месяц, один раз в два месяца, один раз в три месяца, один раз в четыре месяца или реже. Согласно определенным вариантам осуществления одну или несколько доз антитела к PD-1 вводят в комбинации с одной или несколькими дозами терапевтически эффективного количества биспецифического антитела к CD20/CD3, где одну или несколько доз биспецифического антитела вводят субъекту с частотой приблизительно один раз в день, один раз в два дня, один раз в три дня, один раз в четыре дня, один раз в пять дней, один раз в шесть дней, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в четыре недели, один раз в месяц, один раз в два месяца, один раз в три месяца, один раз в четыре месяца или реже. Согласно определенным вариантам осуществления каждую дозу антитела к CD20/CD3 вводят в виде более чем 1 части, например, в виде 2-5 частей ("дробное дозирование") в течение определенного периода дозирования. Биспецифическое антитело к CD20/CD3 можно вводить в виде дробных доз с целью уменьшения или устранения резких "скачков" количества цитокинов в ответ на введение антитела. Резкие "скачки" количества цитокинов относятся к клиническим симптомам синдрома высвобождения цитокинов ("цитокиновый шторм") и связанным с инфузией реакциям, наблюдаемым у пациентов, которым вводят антитела к CD20. Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают введение нуждающемуся в этом субъекту одной или нескольких доз антитела к PD-1 в комбинации с одной или несколькими дозами биспецифического антитела к CD20/CD3, где дозу биспецифического антитела вводят в виде дробных доз или в виде более чем 1 части, например, в виде 2 частей, в виде 3 частей, в виде 4 частей или в виде 5 частей, в течение определенного периода дозирования. Согласно определенным вариантам осуществления дозу биспецифического антитела разделяют на 2 или более частей, где каждая часть содержит количество антитела, равное количеству других частей. Например, дозу антитела к CD20/CD3, содержащую 1000 микрограмм, можно вводить один раз в неделю, причем дозу вводят в виде 2 частей в пределах недели, при этом каждая часть содержит 500 микрограмм. Согласно определенным вариантам осуществления дозу биспецифического антитела вводят с разделением на 2 или более частей, причем указанные части содержат неравные количества антитела, например, больше или меньше, чем в первой части. Например, дозу антитела к CD20/CD3, содержащую 1000 микрограмм, можно вводить

один раз в неделю, причем дозу вводят в виде 2 частей в пределах недели, при этом первая часть содержит 700 микрограмм, а вторая часть содержит 300 микрограмм. В качестве другого примера, дозу антитела к CD20/CD3, содержащую 1000 микрограмм, можно вводить один раз в 2 недели, причем дозу вводят в виде 3 частей в пределах 2-недельного периода, при этом первая часть содержит 400 микрограмм, вторая часть содержит 300 микрограмм, и третья часть содержит 300 микрограмм.

Согласно определенным вариантам осуществления настоящее изобретение включает способы ингибирования, замедления или остановки метастазирования опухоли или инфильтрации опухоли в периферические органы. Способы в соответствии с этим аспектом предусматривают введение терапевтически эффективного количества антитела к PD-1 нуждающемуся в этом субъекту. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PD-1 вводят в комбинации с биспецифическим антителом к CD20/CD3.

Согласно конкретным вариантам осуществления настоящее изобретение относится к способам повышения противоопухолевой эффективности или повышения степени ингибирования опухоли. Способы в соответствии с этим аспектом настоящего изобретения предусматривают введение субъекту с В-клеточной злокачественной опухолью терапевтически эффективного количества антитела к PD-1 до введения терапевтически эффективного количества биспецифического антитела к CD20/CD3, где антитело к PD-1 можно вводить приблизительно за 1 день, более чем за 1 день, более чем за 2 дня, более чем за 3 дня, более чем за 4 дня, более чем за 5 дней, более чем за 6 дней, более чем за 7 дней или более чем за 8 дней до введения биспецифического антитела. Согласно определенным вариантам осуществления способы предусматривают повышение степени ингибирования опухоли, например, приблизительно на 20%, более чем на 20%, более чем на 30%, более чем на 40%, более чем на 50%, более чем на 60%, более чем на 70% или более чем на 80%, по сравнению с субъектом, которому вводили биспецифическое антитело до введения антитела к PD-1.

Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают введение терапевтически эффективного количества антитела к PD-1 субъекту с В-клеточной злокачественной опухолью. Согласно конкретным вариантам осуществления В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой лимфому Ходжкина или неходжкинскую лимфому. Согласно дополнительным вариантам осуществления В-клеточная злокачественная опухоль является вялотекущей или агрессивной. Согласно определенным вариантам осуществления у субъекта не наблюдали ответ на предшествующую терапию или наблюдали рецидив после предшествующей терапии. Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению дополнительно предусматривают введение биспецифического антитела к CD20/CD3 субъекту с CD20+ В-клеточной злокачественной опухолью.

Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают введение терапевтически эффективного количества биспецифического антитела к CD20/CD3 субъекту с CD20+ В-клеточной злокачественной опухолью. Согласно конкретным вариантам осуществления В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой острый лимфобластный лейкоз или хронический лимфоцитарный лейкоз. Согласно дополнительным вариантам осуществления В-клеточная злокачественная опухоль является вялотекущей или агрессивной. Согласно определенным вариантам осуществления у субъекта не наблюдали ответ на предшествующую терапию или наблюдали рецидив после предшествующей терапии (например, с применением ингибитора CD20, такого как ритуксимаб). Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению дополнительно предусматривают введение антитела к PD-1 субъекту с В-клеточной злокачественной опухолью.

Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают введение нуждающемуся в этом субъекту антитела к PD-1 в комбинации с биспецифическим антителом к CD20/CD3 в качестве лечения "первой линии" (например, начальной стадии лечения). Согласно другим вариантам осуществления антитело к PD-1 в комбинации с биспецифическим антителом к CD20/CD3 вводят в качестве лечения "второй линии" (например, после предшествующей терапии). Например, антитело к PD-1 в комбинации с биспецифическим антителом к CD20/CD3 вводят в качестве лечения "второй линии" субъекту, у которого наблюдают рецидив после предшествующей терапии с применением, например, химиотерапии или ритуксимаба.

Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению применяют для лечения пациента с MRD-положительным заболеванием. Минимальное остаточное заболевание (MRD) относится к небольшому числу опухолевых клеток, которые остаются у пациента в процессе или после лечения, причем у пациента могут наблюдать или могут не наблюдать симптомы или признаки заболевания. Такие остаточные опухолевые клетки, если их не устранили, зачастую являются причиной рецидива заболевания. Настоящее изобретение включает способы ингибирования и/или устранения остаточных опухолевых клеток у пациента после тестирования в отношении MRD. MRD можно оценивать в соответствии с известными в данной области способами (например, проточной цитометрией для выявления MRD). Способы в соответствии с этим аспектом настоящего изобретения предусматривают введение антитела к PD-1 в комбинации с биспецифическим антителом к CD20/CD3 нуждающемуся в этом субъекту.

Способы по настоящему изобретению в соответствии с определенными вариантами осуществления предусматривают введение субъекту терапевтически эффективного количества каждого из антитела к PD-1 и биспецифического антитела к CD20/CD3 в комбинации с третьим терапевтическим средством. Третье терапевтическое средство может представлять собой средство, выбранное из группы, состоящей, например, из облучения, химиотерапии, хирургического вмешательства, противоопухолевой вакцины, ингибитора PD-L1 (например, антитела к PD-L1), ингибитора LAG3 (например, антитела к LAG3), ингибитора CTLA-4, ингибитора TIM3, ингибитора BTLA, ингибитора TIGIT, ингибитора CD47, ингибитора индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO), антагониста фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), ингибитора Ang2, ингибитора трансформирующего ростового фактора бета (TGF β), ингибитора рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), антитела к опухолеспецифическому антигену (например, CA9, CA125, ассоциированному с меланомой антигену 3 (MAGE3), эмбриональному опухолевому антигену (CEA), виментину, опухолевой M2-PK, простат-специфическому антигену (PSA), муцину-1, MART-1 и CA19-9), вакцины (например, бациллы Кальмета-Герена), гранулоцитарно-моноцитарного колониестимулирующего фактора, цитотоксина, химиотерапевтического средства, ингибитора IL-6R, ингибитора IL-4R, ингибитора IL-10, цитокина, такого как IL-2, IL-7, IL-21 и IL-15, противовоспалительного лекарственного средства, такого как кортикостероиды, и нестероидных противовоспалительных лекарственных средств и диетической добавки, такой как антиоксиданты. Согласно определенным вариантам осуществления антитела можно вводить в комбинации с терапией, включая химиотерапевтическое средство, облучение и хирургическое вмешательство. В контексте настоящего документа фраза "в комбинации с" означает, что антитела вводят субъекту одновременно с введением третьего терапевтического средства, непосредственно перед ним или сразу после него. Согласно определенным вариантам осуществления третье терапевтическое средство вводят в виде комбинированного состава с антителами. Согласно сходному варианту осуществления настоящее изобретение включает способы, предусматривающие введение терапевтически эффективного количества антитела к PD-1 в комбинации с биспецифическим антителом к CD20/CD3 субъекту, который проходит программу фоновой противоопухолевой терапии. Программа фоновой противоопухолевой терапии может предусматривать курс приема, например, химиотерапевтического средства или проведение облучения. Антитело к PD-1 в комбинации с биспецифическим антителом к CD20/CD3 можно добавлять к программе фоновой противоопухолевой терапии. Согласно некоторым вариантам осуществления антитела добавляют в качестве части схемы со "ступенчатым сокращением применения фоновой терапии", где фоновую противоопухолевую терапию у субъекта постепенно отменяют на протяжении определенного периода времени (например, ступенчатым образом), тогда как антитела субъекту вводят при постоянной дозе, или с возрастанием дозы, или со снижением дозы, на протяжении определенного периода времени.

Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества антитела к PD-1 в комбинации с терапевтически эффективным количеством биспецифического антитела к CD20/CD3, где введение антител приводит к повышению степени ингибирования роста опухоли. Согласно определенным вариантам осуществления происходит ингибирование роста опухоли по меньшей мере на приблизительно 10%, приблизительно 20%, приблизительно 30%, приблизительно 40%, приблизительно 50%, приблизительно 60%, приблизительно 70% или приблизительно 80% по сравнению с субъектом, не подлежащим лечению, или субъектом, которому вводили любое из антител в качестве монотерапии. Согласно определенным вариантам осуществления введение антитела к PD-1 и/или биспецифического антитела к CD20/CD3 приводит к повышению степени регрессии опухоли, уменьшению размеров и/или исчезновению опухоли. Согласно определенным вариантам осуществления введение антитела к PD-1 и/или биспецифического антитела к CD20/CD3 приводит к задержке роста и развития опухоли, например, рост опухоли может задерживаться на приблизительно 3 дня, более чем на 3 дня, на приблизительно 7 дней, более чем на 7 дней, более чем на 15 дней, более чем на 1 месяц, более чем на 3 месяца, более чем на 6 месяцев, более чем на 1 год, более чем на 2 года или более чем на 3 года по сравнению с субъектом, не подлежащим лечению, или субъектом, которого лечили любым из антител в качестве монотерапии. Согласно определенным вариантам осуществления введение антитела к PD-1 в комбинации с биспецифическим антителом к CD20/CD3 обеспечивает предупреждение повторного появления опухоли и/или увеличение продолжительности выживания субъекта, например, обеспечивает увеличение продолжительности выживания более чем на 15 дней, более чем на 1 месяц, более чем на 3 месяца, более чем на 6 месяцев, более чем на 12 месяцев, более чем на 18 месяцев, более чем на 24 месяца, более чем на 36 месяцев или более чем на 48 месяцев по сравнению с субъектом, не подлежащим лечению, или субъектом, которому вводят любое из антител в качестве монотерапии. Согласно определенным вариантам осуществления введение антител в комбинации обеспечивает повышение выживаемости без прогрессирования или общей выживаемости. Согласно определенным вариантам осуществления введение антитела к PD-1 в комбинации с биспецифическим антителом к CD20/CD3 обеспечивает усиление ответа и увеличение продолжительности ответа у субъекта, например, более чем на 2%, более чем на 3%, более чем на 4%, более чем на 5%, более чем на 6%, более чем на 7%, более чем на 8%, более чем на 9%, более чем на 10%, более чем на 20%, более чем на 30%, более чем на 40% или более чем на 50% по сравнению

с субъектом, не подлежащим лечению, или субъектом, который получает любое из антител в качестве монотерапии. Согласно определенным вариантам осуществления введение антитела к PD-1 и/или биспецифического антитела к CD20/CD3 субъекту с В-клеточной злокачественной опухолью приводит к полному исчезновению всех признаков наличия опухолевых клеток ("полный ответ"). Согласно определенным вариантам осуществления введение антитела к PD-1 и/или биспецифического антитела к CD20/CD3 субъекту с В-клеточной злокачественной опухолью приводит по меньшей мере к 30% или большему уменьшению числа опухолевых клеток или размера опухоли ("частичный ответ"). Согласно определенным вариантам осуществления введение антитела к PD-1 и/или биспецифического антитела к CD20/CD3 субъекту с В-клеточной злокачественной опухолью приводит к полному или частичному исчезновению опухолевых клеток/очагов, включая новые поддающиеся измерению очаги. Подавление опухоли можно измерять с помощью любого из известных в данной области способов, например, рентгенологических исследований, позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), компьютерной томографии (КТ), магнитно-резонансной томографии (МРТ), цитологического исследования, гистологического исследования или молекулярно-генетических анализов.

Согласно определенным вариантам осуществления комбинация вводимых антител является безопасной и хорошо переносится пациентом, причем повышение в отношении нежелательного побочного эффекта отсутствует (например, повышенная степень высвобождения цитокинов ("цитокиновый шторм") или повышенная активация Т-клеток), по сравнению с пациентом, которому вводят биспецифическое антитело в качестве монотерапии.

Антитела к PD-1 и их антигенсвязывающие фрагменты.

В соответствии с определенными иллюстративными вариантами осуществления настоящего изобретения способы предусматривают введение терапевтически эффективного количества антитела к PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента. Термин "антитело" в контексте настоящего документа включает молекулы иммуноглобулинов, содержащие четыре полипептидные цепи, две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные друг с другом дисульфидными связями, а также их мультимеры (например, IgM). В составе типичного антитела каждая тяжелая цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи (в настоящем документе сокращено как HCVR или V_H) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три домена, C_H1, C_H2 и C_H3. Каждая легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи (в настоящем документе сокращено как LCVR или V_L) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один домен (C_L1). V_H- и V_L-области дополнительно могут быть разделены на гипервариабельные области, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), перемежающиеся с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных, от amino-конца к карбокси-концу, в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Согласно отличным вариантам осуществления настоящего изобретения FR антитела к IL-4R (или его антигенсвязывающей части) могут быть идентичными последовательностям зародышевой линии человека или могут быть естественным или искусственным образом модифицированы. Аминокислотную консенсусную последовательность можно определять на основе сравнительного анализа двух или более CDR.

Термин "антитело" в контексте настоящего документа также включает антигенсвязывающие фрагменты молекул полных антител. Термины "антигенсвязывающая часть" антитела, "антигенсвязывающий фрагмент" антитела и т.д. в контексте настоящего документа включают любой встречающийся в природе, получаемый ферментативным путем, синтетический или полученный с помощью методов геной инженерии полипептид или гликопротеин, который специфически связывает антиген с образованием комплекса. Антигенсвязывающие фрагменты антитела могут быть получены, например, из молекул полных антител с применением любых подходящих стандартных методик, таких как методики на основе протеолитического расщепления или методы генетической инженерии рекомбинантных ДНК, предусматривающие осуществление манипуляций и экспрессии ДНК, кодирующей вариабельные и необязательно константные домены антител. Такая ДНК известна и/или легко доступна, например, из коммерческих источников, ДНК-библиотек (включая, например, фаговые библиотеки антител), или она может быть синтезирована. ДНК можно подвергать секвенированию и химическим манипуляциям с применением методов молекулярной биологии, например, чтобы разместить один или несколько вариабельных и/или константных доменов в подходящей конфигурации, или для включения кодонов, внесения цистеиновых остатков, модификации, добавления или удаления аминокислот и т.д.

Неограничивающие примеры антигенсвязывающих фрагментов включают: (i) Fab-фрагменты; (ii) F(ab')₂-фрагменты; (iii) Fd-фрагменты; (iv) Fv-фрагменты; (v) молекулы одноцепочечных Fv (scFv); (vi) dAb-фрагменты и (vii) минимальные распознающие единицы, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариабельную область антитела (например, выделенная определяющая комплементарность область (CDR), как, например, CDR3-пептид), или пространственно ограниченный пептид FR3-CDR3-FR4. Другие сконструированные молекулы, такие как домен-специфические антитела, ододоменные антитела, антитела с удаленными доменами, химерные антитела, антитела с привитыми CDR, диатела, триатела, тетраатела, миниантитела, наноантитела (например, одновалентные наноантите-

ла, двухвалентные наноантитела и т.д.), иммунофармацевтические средства на основе модульного белка малого размера (SMIP) и переменные домены IgNAR акулы, в контексте настоящего документа также охвачены выражением "антигенсвязывающий фрагмент".

Антигенсвязывающий фрагмент антитела, как правило, будет содержать по меньшей мере один переменный домен. Переменный домен может иметь любой размер или аминокислотный состав, и обычно будет содержать по меньшей мере одну CDR, которая примыкает к одной или нескольким каркасным последовательностям или находится с ними в одной рамке считывания. В антигенсвязывающих фрагментах с V_H -доменом, ассоциированным с V_L -доменом, V_H - и V_L -домены могут быть расположены относительно друг друга в любой подходящей конфигурации. Например, переменная область может быть димерной и содержать димеры V_H - V_H , V_H - V_L или V_L - V_L . В качестве альтернативы, антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать мономерный V_H - или V_L -домен.

Согласно определенным вариантам осуществления антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать по меньшей мере один переменный домен, ковалентно связанный по меньшей мере с одним константным доменом. Неограничивающие иллюстративные конфигурации переменных и константных доменов, которые можно найти в пределах антигенсвязывающего фрагмента антитела по настоящему изобретению, включают: (i) V_H - C_H1 ; (ii) V_H - C_H2 ; (iii) V_H - C_H3 ; (iv) V_H - C_H1 - C_H2 ; (v) V_H - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (vi) V_H - C_H2 - C_H3 ; (vii) V_H - C_L ; (viii) V_L - C_H1 ; (ix) V_L - C_H2 ; (x) V_L - C_H3 ; (xi) V_L - C_H1 - C_H2 ; (xii) V_L - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (xiii) V_L - C_H2 - C_H3 и (xiv) V_L - C_L . В любой конфигурации переменных и константных доменов, включая любую из приведенных выше иллюстративных конфигураций, переменные и константные домены могут быть либо непосредственно соединены друг с другом, либо могут быть соединены посредством полной или частичной шарнирной области или линкерной области. Шарнирная область может состоять по меньшей мере из 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или больше) аминокислот, которые обеспечивают гибкое или полугибкое соединение расположенных рядом переменных и/или константных доменов в пределах одной молекулы полипептида. Более того, антигенсвязывающий фрагмент антитела по настоящему изобретению может предусматривать гомодимер или гетеродимер (или другой мультимер) любой из приведенных выше конфигураций переменных и константных доменов, нековалентно связанные друг с другом и/или с одним или несколькими мономерными V_H - или V_L -доменами (например, посредством дисульфидной(дисульфидных) связи(связей)).

Термин "антитело" в контексте настоящего документа также включает полиспецифические (например, биспецифические) антитела. Полиспецифическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, как правило, будут содержать по меньшей мере два разных переменных домена, где каждый переменный домен способен специфически связываться с отдельным антигеном или другим эпитопом на одном и том же антигене. Любой формат полиспецифического антитела можно адаптировать для применения в контексте антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела по настоящему изобретению с применением обычных методик, известных в данной области. Например, настоящее изобретение включает способы, предусматривающие применение биспецифических антител, где одно плечо иммуноглобулина является специфическим в отношении PD-1 или его фрагмента, а другое плечо иммуноглобулина является специфическим в отношении второй мишени для терапевтического воздействия или конъюгирован с терапевтическим соединением. Иллюстративные биспецифические форматы, которые можно применять в контексте настоящего изобретения, включают без ограничения, например, биспецифические форматы на основе scFv или в виде диатела, биспецифические форматы в виде слияний IgG-scFv, Ig с двойными переменными доменами (DVD), Quadroma, антитела со структурой "выступ во впадину", антитела с общей легкой цепью (например, антитела с общей легкой цепью со структурой "выступ во впадину" и т.д.), CrossMab, CrossFab, полученного на основе технологии SEED антитела ((SEED)body), антитела, полученного путем опосредованной лейциновой застежкой димеризации, Duo-body, IgG1/IgG2, IgG с Fab двойного действия (DAF) и биспецифические форматы Mab² (см., например, Klein et al. 2012, mAbs 4:6, 1-11 и цитируемые в ней ссылки, для обзора перечисленных выше форматов). Биспецифические антитела также могут быть сконструированы с применением конъюгирования пептид/нуклеиновая кислота, например, где применяют аминокислоты не природного происхождения с перекрестной химической активностью для получения сайт-специфических конъюгатов антитело-олигонуклеотид, которые затем самособираются в мультимерные комплексы с определенным составом, валентностью и геометрией. (См., например, Kazane et al., J. Am. Chem. Soc. [Epub: Dec. 4, 2012]).

Применяемые в способах по настоящему изобретению антитела могут представлять собой антитела человека. Подразумевается, что в контексте настоящего документа термин "антитело человека" включает антитела с переменными и константными областями, происходящими из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. Антитела человека по настоящему изобретению тем не менее могут содержать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулинов зародышевой линии человека (например, вследствие мутаций, введенных посредством случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или вследствие соматической мутации *in vivo*), например, в CDR и, в частности, CDR3. Однако подразумевается, что в контексте настоящего документа термин "антитело человека" не включает антитела, в которых последовательности CDR, происходящие из зародышевой линии другого вида млекопитающих, например мыши, были привиты на каркасные последовательности человека.

Применяемые в способах по настоящему изобретению антитела могут представлять собой рекомбинантные антитела человека. Подразумевается, что термин "рекомбинантное антитело человека" в контексте настоящего документа включает все антитела человека, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные с помощью рекомбинантных способов, как, например, антитела, экспрессированные с применением рекомбинантного вектора экспрессии, трансфицированного в клетку-хозяина (дополнительно описано ниже), антитела, выделенные из рекомбинантной комбинаторной библиотеки антител человека (дополнительно описано ниже), антитела, полученные у животного (например, мыши), которое является трансгенным по генам иммуноглобулинов человека (см., например, Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295), или антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные с помощью других способов, которые включают объединение последовательностей генов иммуноглобулинов человека с другими последовательностями ДНК. Такие рекомбинантные антитела человека содержат переменные и константные области, происходящие из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. Однако согласно определенным вариантам осуществления такие рекомбинантные антитела человека подвергают *in vitro* мутагенезу (или, в случае если применяют животное, трансгенное по последовательностям Ig человека, *in vivo* соматическому мутагенезу), и, следовательно, аминокислотные последовательности V_H- и V_L-областей рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые, хотя и происходят из последовательностей V_H и V_L зародышевой линии человека, или являются родственными им, могут не существовать в природе в рамках зародышевого набора антител человека *in vivo*.

В соответствии с определенными вариантами осуществления применяемые в способах по настоящему изобретению антитела специфически связывают PD-1. Термин "специфически связывает" и т.д. означает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент образуют с антигеном комплекс, который является относительно стабильным в физиологических условиях. Способы определения того, связывается ли специфически антитело с антигеном, хорошо известны в данной области, и они включают, например, равновесный диализ, метод поверхностного плазмонного резонанса и т.д. Например, антитело, которое "специфически связывает" PD-1 в контексте настоящего изобретения включает антитела, которые связывают PD-1 или его часть с K_D менее чем приблизительно 500 нМ, менее чем приблизительно 300 нМ, менее чем приблизительно 200 нМ, менее чем приблизительно 100 нМ, менее чем приблизительно 90 нМ, менее чем приблизительно 80 нМ, менее чем приблизительно 70 нМ, менее чем приблизительно 60 нМ, менее чем приблизительно 50 нМ, менее чем приблизительно 40 нМ, менее чем приблизительно 30 нМ, менее чем приблизительно 20 нМ, менее чем приблизительно 10 нМ, менее чем приблизительно 5 нМ, менее чем приблизительно 4 нМ, менее чем приблизительно 3 нМ, менее чем приблизительно 2 нМ, менее чем приблизительно 1 нМ или менее чем приблизительно 0,5 нМ, как измерено в анализе на основе явления поверхностного плазмонного резонанса. Выделенное антитело, которое специфически связывает PD-1 человека, может, однако, характеризоваться перекрестной реактивностью с другими антигенами, такими как молекулы PD-1 других видов (отличных от человека).

В соответствии с определенными иллюстративными вариантами осуществления настоящего изобретения антитело к PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область тяжелой цепи (HCVR), переменную область легкой цепи (LCVR) и/или определяющие комплементарность области (CDR), содержащие любые из аминокислотных последовательностей антител к PD-1, изложенных в публикации заявки на патент США № 20150203579. Согласно определенным иллюстративным вариантам осуществления антитело к PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент, которые можно применять в контексте способов по настоящему изобретению, содержат определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) переменной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и определяющие комплементарность области (LCDR) легкой цепи переменной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. В соответствии с определенными вариантами осуществления антитело к PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат три HCDR (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) и три LCDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), где HCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; HCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; LCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8. Согласно еще одним вариантам осуществления антитело к PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR, содержащую SEQ ID NO: 1, и LCVR, содержащую SEQ ID NO: 2. Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают применение антитела к PD-1, где антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10. Иллюстративное антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, является полностью человеческим антителом к PD-1, известным как REGN2810. В соответствии с определенными иллюстративными вариантами осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают

применение REGN2810 или его биоэквивалента. Термин "биоэквивалент" в контексте настоящего документа относится к антителам к PD-1 или PD-1-связывающим белкам или их фрагментам, которые являются фармацевтическими эквивалентами или фармацевтическими вариантами, скорость и/или степень абсорбции которых не характеризуется значимым различием с таковыми у REGN2810 при введении в одинаковой молярной дозе в аналогичных условиях проведения эксперимента, как в виде однократной дозы, так и в виде многократной дозы. В контексте настоящего изобретения термин относится к антиген-связывающим белкам, связывающимся с PD-1, которые не характеризуются клинически значимыми различиями с REGN2810 в отношении их безопасности, чистоты и/или активности.

Другие антитела к PD-1, которые можно применять в контексте способов по настоящему изобретению, включают, например, антитела, упоминаемые и известные в данной области как ниволумаб (US 8008449), пембролизумаб (US 8354509), MEDI0608 (US 8609089), пидилизумаб (US 8686119), или любые другие из антител к PD-1, изложенных в патентах США № 6808710, 7488802, 8168757, 8354509, 8779105 или 8900587.

Антитела к PD-1, применяемые в контексте способов по настоящему изобретению, могут иметь зависящие от pH характеристики связывания. Например, антитело к PD-1 для применения в способах по настоящему изобретению может характеризоваться сниженной способностью к связыванию с PD-1 при кислом pH, в сравнении с нейтральным pH. В качестве альтернативы, антитело к PD-1 по настоящему изобретению может характеризоваться повышенной способностью к связыванию с его антигеном при кислом pH, в сравнении с нейтральным pH. Выражение "кислый pH" включает значения pH, составляющие менее чем приблизительно 6,2, например, приблизительно 6,0, 5,95, 5,9, 5,85, 5,8, 5,75, 5,7, 5,65, 5,6, 5,55, 5,5, 5,45, 5,4, 5,35, 5,3, 5,25, 5,2, 5,15, 5,1, 5,05, 5,0 или меньше. В контексте настоящего документа выражение "нейтральный pH" означает pH, составляющий от приблизительно 7,0 до приблизительно 7,4. Выражение "нейтральный pH" включает значения pH, составляющие приблизительно 7,0, 7,05, 7,1, 7,15, 7,2, 7,25, 7,3, 7,35 и 7,4.

В определенных случаях "сниженная способность к связыванию с PD-1 при кислом pH, в сравнении с нейтральным pH" выражается в виде отношения значения K_D антитела, связывающегося с PD-1 при кислом pH, к значению K_D антитела, связывающегося с PD-1 при нейтральном pH (или наоборот). Например, для целей настоящего изобретения антитело или его антигенсвязывающий фрагмент могут рассматриваться как характеризующиеся "сниженной способностью к связыванию с PD-1 при кислом pH, в сравнении с нейтральным pH", если антитело или его антигенсвязывающий фрагмент характеризуются отношением K_D при кислом pH/нейтральном pH, составляющим приблизительно 3,0 или больше. Согласно определенным иллюстративным вариантам осуществления отношение K_D при кислом pH/нейтральном pH для антитела или антигенсвязывающего фрагмента по настоящему изобретению может составлять приблизительно 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5, 9,0, 9,5, 10,0, 10,5, 11,0, 11,5, 12,0, 12,5, 13,0, 13,5, 14,0, 14,5, 15,0, 20,0, 25,0, 30,0, 40,0, 50,0, 60,0, 70,0, 100,0 или больше.

Антитела с зависящими от pH характеристиками связывания можно получать, например, с использованием скрининга популяции антител в отношении сниженной (или повышенной) способности к связыванию с конкретным антигеном при кислом pH, в сравнении с нейтральным pH. Кроме того, образование антител с зависящими от pH характеристиками могут обеспечивать модификации антигенсвязывающего домена на уровне аминокислот. Например, посредством замены одной или нескольких аминокислот антигенсвязывающего домена (например, в пределах CDR) гистидиновым остатком можно получать антитело со сниженной способностью к связыванию антигена при кислом pH, в сравнении с нейтральным pH. В контексте настоящего документа выражение "кислый pH" означает pH, составляющий 6,0 или меньше.

Биспецифические антитела к CD20/CD3.

В соответствии с определенными иллюстративными вариантами осуществления настоящего изобретения способы предусматривают введение терапевтически эффективного количества биспецифического антитела, которое специфически связывает CD3 и CD20. Такие антитела в настоящем документе могут называть, например, биспецифическими антителами "к CD20/CD3", или "к CD20×CD3", или "CD20×CD3", или с применением подобной терминологии.

В контексте настоящего документа выражение "биспецифическое антитело" относится к белку-иммуноглобулину, содержащему, по меньшей мере, первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен. В контексте настоящего изобретения первый антигенсвязывающий домен специфически связывает первый антиген (например, CD20), а второй антигенсвязывающий домен специфически связывает второй, отличающийся антиген (например, CD3). Каждый антигенсвязывающий домен биспецифического антитела содержит вариабельный домен тяжелой цепи (HCVR) и вариабельный домен легкой цепи (LCVR), причем каждый содержит три CDR. В контексте биспецифического антитела CDR первого антигенсвязывающего домена могут быть обозначены префиксом "A", а CDR второго антигенсвязывающего домена могут быть обозначены префиксом "B". Таким образом, CDR первого антигенсвязывающего домена в настоящем документе могут быть названы A-HCDR1, A-HCDR2 и A-HCDR3; а CDR второго антигенсвязывающего домена в настоящем документе могут быть названы B-HCDR1, B-HCDR2 и B-HCDR3.

Каждый из первого антигенсвязывающего домена и второго антигенсвязывающего домена присоединены к отдельному домену, способному к образованию мультимеров. В контексте настоящего документа "домен, способный к образованию мультимеров" представляет собой макромолекулу, белок, полипептид, пептид или аминокислоту, которые обладают способностью к ассоциации со вторым доменом, способным к образованию мультимеров, с такими же или подобными структурой или составом. В контексте настоящего изобретения компонент, способный к образованию мультимеров, представляет собой Fc-часть иммуноглобулина (содержащую C_H2-C_H3-домен), например, Fc-домен IgG, выбранного из изотипов IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, а также любого аллотипа в пределах каждой изотипической группы.

Биспецифические антитела по настоящему изобретению, как правило, содержат два домена, способных к образованию мультимеров, например, два Fc-домена, каждый из которых является независимой частью отдельной тяжелой цепи антитела. Первый и второй домены, способные к образованию мультимеров, могут относиться к одному и тому же изотипу IgG, как, например, IgG1/IgG1, IgG2/IgG2, IgG4/IgG4. В качестве альтернативы, первый и второй домены, способные к образованию мультимеров, могут относиться к разным изотипам IgG, как, например, IgG1/IgG2, IgG1/IgG4, IgG2/IgG4 и т.д.

Для получения биспецифических антигенсвязывающих молекул по настоящему изобретению можно применять любой формат биспецифического антитела или технологию. Например, антитело или его фрагмент с первой специфичностью в отношении связывания антигена могут быть функционально связаны (например, посредством химического соединения, слияния генов, нековалентного связывания или другим образом) с одним или несколькими другими соединениями, такими как другое антитело или фрагмент антитела со второй специфичностью в отношении связывания антигена, с образованием биспецифической антигенсвязывающей молекулы. Конкретные иллюстративные биспецифические форматы, которые можно применять в контексте настоящего изобретения, включают без ограничения, например, биспецифические форматы на основе scFv или в виде диатела, биспецифические форматы в виде слияний IgG-scFv, Ig с двойными вариабельными доменами (DVD), Quadroma, антитела со структурой "выступ во впадину", антитела с общей легкой цепью (например, антитела с общей легкой цепью со структурой "выступ во впадину" и т.д.), CrossMab, CrossFab, полученного на основе технологии SEED антитела ((SEED)body), антитела, полученного путем опосредованной лейциновой застежкой димеризации, Duobody, IgG1/IgG2, IgG с Fab двойного действия (DAF) и биспецифические форматы Mab² (см., например, Klein et al. 2012, mAbs 4:6, 1-11 и цитируемые в ней ссылки, для обзора перечисленных выше форматов).

В контексте биспецифических антител по настоящему изобретению Fc-домены могут предусматривать одно или несколько изменений по аминокислоте (например, вставок, делеций или замен) по сравнению с встречающейся в природе версией Fc-домена. Например, настоящее изобретение относится к биспецифическим антигенсвязывающим молекулам, предусматривающим одну или несколько модификаций в Fc-домене, которые обеспечивают образование модифицированного Fc-домена, характеризующегося модифицированным связывающим взаимодействием (например, усиленным или ослабленным) между Fc и FcRn. Согласно одному варианту осуществления биспецифическая антигенсвязывающая молекула предусматривает модификацию в C_H2- или C_H3-области, где модификация обеспечивает повышение аффинности Fc-домена к FcRn в кислой среде (например, в эндосоме, где pH находится в диапазоне от приблизительно 5,5 до приблизительно 6,0). Неограничивающие примеры таких модификаций Fc раскрыты в публикации заявки на патент США № 20150266966, включенной в настоящий документ во всей своей полноте.

Настоящее изобретение также относится к биспецифическим антителам, содержащим первый C_H3-домен и второй C_H3-домен Ig, где первый и второй C_H3-домены Ig отличаются друг от друга по меньшей мере на одну аминокислоту, и где по меньшей мере одно отличие по аминокислоте обеспечивает снижение способности биспецифического антитела к связыванию с белком А по сравнению с биспецифическим антителом, не характеризующимся таким отличием по аминокислоте. Согласно одному варианту осуществления первый C_H3-домен Ig связывает белок А, а второй C_H3-домен Ig предусматривает мутацию, которая обуславливает снижение или устранение способности к связыванию с белком А, как, например, модификация H95R (согласно IMGT-нумерации мутаций в экзонах; H435R согласно EU-нумерации). Второй C_H3 может дополнительно предусматривать модификацию Y96F (согласно IMGT; Y436F согласно EU). Дополнительные модификации, которые можно найти в пределах второго C_H3, включают: D16E, L18M, N44S, K52N, V57M и V82I (согласно IMGT; D356E, L358M, N384S, K392N, V397M и V422I согласно EU) в случае IgG1-антител; N44S, K52N и V82I (IMGT; N384S, K392N и V422I согласно EU) в случае IgG2 антител; и Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q и V82I (согласно IMGT; Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q и V422I согласно EU) в случае IgG4-антител.

Согласно определенным вариантам осуществления Fc-домен может быть химерным, сочетающим в себе последовательности Fc, происходящие из иммуноглобулинов более чем одного изотипа. Например, химерный Fc-домен может содержать часть или всю последовательность C_H2, происходящую из C_H2-области IgG1 человека, IgG2 человека или IgG4 человека, и часть или всю последовательность C_H3, происходящую из IgG1 человека, IgG2 человека или IgG4 человека. Химерный Fc-домен также может содержать химерную шарнирную область. Например, химерный шарнир может содержать последова-

тельность "верхнего шарнира", происходящую из шарнирной области IgG1 человека, IgG2 человека или IgG4 человека, в сочетании с последовательностью "нижнего шарнира", происходящей из шарнирной области IgG1 человека, IgG2 человека или IgG4 человека. Конкретный пример химерного Fc-домена, который может быть включен в любую из изложенных в настоящем документе антигенсвязывающих молекул, предусматривает, от N- к C-концу: [C_H1 IgG4] - [верхний шарнир IgG4] - [нижний шарнир IgG2] - [C_H2 IgG4] - [C_H3 IgG4]. Другой пример химерного Fc-домена, который может быть включен в любую из изложенных в настоящем документе антигенсвязывающих молекул, предусматривает, от N- к C-концу: [C_H1 IgG1] - [верхний шарнир IgG1] - [нижний шарнир IgG2] - [C_H2 IgG4] - [C_H3 IgG1]. Эти и другие примеры химерных Fc-доменов, которые могут быть включены в любую из антигенсвязывающих молекул по настоящему изобретению, описаны в публикации заявки на патент США № 20140243504, которая включена в настоящий документ во всей своей полноте. Химерные Fc-домены с такой общей структурной организацией, и их варианты, могут характеризоваться измененной способностью к связыванию Fc-рецептора, что в свою очередь оказывает влияние на эффекторную функцию Fc.

В соответствии с определенными иллюстративными вариантами осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело к CD20/CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельные области тяжелой цепи (A-HCVR и B-HCVR), вариабельную область легкой цепи (LCVR) и/или определяющие комплементарность области (CDR), содержащие любые из аминокислотных последовательностей биспецифических антител к CD20/CD3, изложенных в публикации заявки на патент США

№ 20150266966. Согласно определенным иллюстративным вариантам осуществления биспецифическое антитело к CD20/CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, которые можно применять в контексте способов по настоящему изобретению, содержат: (a) первое антигенсвязывающее плечо, содержащее определяющие комплементарность области тяжелой цепи (A-HCDR1, A-HCDR2 и A-HCDR3) вариабельной области тяжелой цепи (A-HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и определяющие комплементарность области (LCDR) легкой цепи вариабельной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12; и (b) второе антигенсвязывающее плечо, содержащее CDR тяжелой цепи (B-HCDR1, B-HCDR2 и B-HCDR3) HCVR (B-HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и CDR легкой цепи LCVR, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12. В соответствии с определенными вариантами осуществления A-HCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14; A-HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; A-HCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; LCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17; LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19; B-HCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20; B-HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21; и B-HCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22. Согласно еще одним вариантам осуществления биспецифическое антитело к CD20/CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат: (a) первое антигенсвязывающее плечо, содержащее HCVR (A-HCVR), содержащую SEQ ID NO: 11, и LCVR, содержащую SEQ ID NO: 12; и (b) второе антигенсвязывающее плечо, содержащее HCVR (B-HCVR), содержащую SEQ ID NO: 13, и LCVR, содержащую SEQ ID NO: 12.

Другие биспецифические антитела к CD20/CD3, которые можно применять в контексте способов по настоящему изобретению, включают, например, любые из антител, изложенных в публикациях на патент США № 20140088295 и 20150166661.

Комбинированные виды терапии.

Способы по настоящему изобретению в соответствии с определенными вариантами осуществления предусматривают введение субъекту биспецифического антитела к CD20/CD3 в комбинации антителом к PD-1. Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают введение антител для обеспечения аддитивной или синергической активности для лечения злокачественной опухоли, предпочтительно злокачественной опухоли кроветворной ткани, более предпочтительно В-клеточной злокачественной опухоли (например, неходжкинской лимфомы или острого лимфобластного лейкоза). В контексте настоящего документа выражение "в комбинации с" означает, что биспецифическое антитело к CD20/CD3 вводят до введения антитела к PD-1, одновременно с ним или после него. Выражение "в комбинации с" также включает последовательное или параллельное введение антитела к PD-1 и биспецифического антитела к CD20/CD3. Например, в случае введения "до" биспецифического антитела к CD20/CD3 антитело к PD-1 можно вводить более чем за 150 часов, приблизительно 150 часов, приблизительно 100 часов, приблизительно 72 часа, приблизительно 60 часов, приблизительно 48 часов, приблизительно 36 часов, приблизительно 24 часа, приблизительно 12 часов, приблизительно 10 часов, приблизительно 8 часов, приблизительно 6 часов, приблизительно 4 часа, приблизительно 2 часа, приблизительно 1 час, приблизительно 30 минут, приблизительно 15 минут или приблизительно 10 минут до введения биспецифического антитела к CD20/CD3. В случае введения "после" биспецифического антитела к CD20/CD3 антитело к PD-1 можно вводить через приблизительно 10 минут, приблизительно 15 минут, приблизительно 30 минут, приблизительно 1 час, приблизительно 2 часа,

приблизительно 4 часа, приблизительно 6 часов, приблизительно 8 часов, приблизительно 10 часов, приблизительно 12 часов, приблизительно 24 часа, приблизительно 36 часов, приблизительно 48 часов, приблизительно 60 часов, приблизительно 72 часа или более чем 72 часа после введения биспецифического антитела к CD20/CD3. Введение "одновременно" с биспецифическим антителом к CD20/CD3 означает, что антитело к PD-1 вводят субъекту в отдельной лекарственной форме в пределах менее 5 минут (до, после или одновременно) от введения биспецифического антитела к CD20/CD3 или вводят субъекту в виде единого комбинированного дозированного состава, содержащего как антитело к PD-1, так и биспецифическое антитело к CD20/CD3.

Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают введение третьего терапевтического средства, где третье терапевтическое средство представляет собой противоопухолевое лекарственное средство. В контексте настоящего документа "противоопухолевое лекарственное средство" означает любое средство, пригодное для лечения злокачественной опухоли, включая без ограничения цитотоксины и такие средства, как антиметаболиты, алкилирующие средства, антрациклины, антибиотики, антимитотические средства, прокарбазин, гидроксимочевина, аспарагиназа, кортикостероиды, митотан (O_6P^1 -(DDD)), биологические препараты (например, антитела и интерфероны) и радиоактивные вещества. В контексте настоящего документа "цитотоксин или цитотоксическое средство" также относится к химиотерапевтическому средству, и означает любое средство, которое является губительным для клеток. Примеры включают Taxol® (паклитаксел), темозоломид, цитохалазин В, грамицидин D, бромистый этидий, эметин, цисплатин, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, доксорубицин, даунорубицин, дигидроксиантрациндон, митоксантрон, митрамицин, актиномицин D, 1-дигидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол и пурамицин и их аналоги или гомологи.

Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают введение третьего терапевтического средства, выбранного из группы, состоящей из облучения, хирургического вмешательства, противоопухолевой вакцины, ингибитора PD-L1 (например, антитела к PD-L1), ингибитора LAG-3, ингибитора CTLA-4 (например, ипилимумаба), ингибитора TIM3, ингибитора BTLA, ингибитора TIGIT, ингибитора CD47, антагониста другого коингибитора Т-клеток или лиганда (например, антитела к CD-28, 2B4, LY108, LAIR1, ICOS, CD160 или VISTA), ингибитора индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO), антагониста фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) (например, "белка-ловушки для VEGF", такого как афлиберцепт, или другого ингибирующего VEGF слитого белка, как описано в US 7087411, или антитела к VEGF или его антигенсвязывающего фрагмента (например, бевацизумаба или ранибизумаба) или низкомолекулярного ингибитора киназы VEGF-рецептора (например, сунитиниба, сорафениба или пазопаниба)), ингибитора Ang2 (например, несвакумаба), ингибитора трансформирующего ростового фактора бета (TGF β), ингибитора рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) (например, эрлотиниба, цетуксимаба), агониста костимулирующего рецептора (например, агониста глюкокортикоид-индуцированного TNFR-родственного белка), антитела к опухолеспецифическому антигену (например, CA9, CA125, ассоциированному с меланомой антигену 3 (MAGE3), эмбриональному опухолевому антигену (CEA), виментину, опухолевой M2-PK, простат-специфическому антигену (PSA), муцину-1, MART-1 и CA19-9), вакцины (например, бациллы Кальмета-Герена, противоопухолевой вакцины), адъюванта для усиления представления антигена (например, гранулоцитарно-моноцитарного колониестимулирующего фактора), цитотоксина, химиотерапевтического средства (например, дакарбазина, темозоломида, циклофосфида, доцетаксела, доксорубицина, даунорубицина, цисплатина, карбоплатина, гемцитабина, метотрексата, митоксантрона, оксалиплатина, паклитаксела и винкристина), лучевой терапии, ингибитора IL-6R (например, сарилумаба), ингибитора IL-4R (например, дупилумаба), ингибитора IL-10, цитокина, такого как IL-2, IL-7, IL-21 и IL-15, конъюгата антитела и лекарственного средства (ADC) (например, ADC антитело к CD19-DM4 и ADC антитело к DS6-DM4), Т-клеток с химерными антигенными рецепторами (например, нацеленных на CD19 Т-клеток), противовоспалительного лекарственного средства (например, кортикостероидов и нестероидных противовоспалительных лекарственных средств) и диетической добавки, такой как антиоксиданты.

Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают применение антитела к PD-1 и биспецифического антитела к CD20/CD3 в комбинации с лучевой терапией с обеспечением долговременных противоопухолевых ответов и/или повышения выживаемости пациентов со злокачественной опухолью. Согласно некоторым вариантам осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают применение лучевой терапии до, параллельно или после введения антитела к PD-1 и биспецифического антитела к CD20/CD3 у пациента со злокачественной опухолью. Например, лучевую терапию можно применять в одной или нескольких дозах по отношению к очагам опухоли после введения одной или нескольких доз антител. Согласно некоторым вариантам осуществления лучевую терапию можно применять локально по отношению к очагу опухоли для повышения локальной иммуногенности опухоли пациента (облучение, выполняющее функцию адъюванта) и/или для уничтожения опухолевых клеток (абляционная лучевая терапия) после системного введения антитела к PD-1 и/или биспецифического антитела к CD20/CD3. Согласно определенным вариантам

осуществления антитела можно применять в комбинации с лучевой терапией и химиотерапевтическим средством (например, темозоломидом или циклофосфамидом) или антагонистом VEGF (например, афлиберцептом).

Фармацевтические композиции и введение.

Настоящее изобретение включает способы, которые предусматривают введение субъекту антитела к PD-1 в комбинации с биспецифическим антителом к CD20/CD3, где антитела содержатся в отдельной или комбинированной (единой) фармацевтической композиции. Фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут быть составлены с подходящими носителями, вспомогательными веществами и другими средствами, которые обеспечивают подходящий перенос, доставку, переносимость и т.д. Множество подходящих составов можно найти в справочнике, известном всем химикам-фармацевтам: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Истон, Пенсильвания. Такие составы включают, например, порошки, пасты, мази, желе, воски, масла, липиды, содержащие липид (катионный или анионный) везикулы (например, LIPOFECTIN™), ДНК-конъюгаты, безводные абсорбирующие пасты, эмульсии типа "масло в воде" и "вода в масле", Carbowax в виде эмульсий (полиэтиленгликоли с различными молекулярными массами), полутвердые гели и полутвердые смеси, содержащие Carbowax. См. также Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

Известны различные системы доставки, и их можно применять для введения фармацевтической композиции по настоящему изобретению, например, включение в липосомы, микрочастицы, микрокапсулы, рекомбинантные клетки, способные экспрессировать мутантные вирусы, опосредованный рецепторами эндоцитоз (см., например, Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Способы введения включают без ограничения внутрикожный, внутримышечный, внутрибрюшинный, внутривенный, подкожный, интраназальный, эпидуральный и пероральный пути введения. Композиция может быть введена любым подходящим путем, например, посредством инфузии или болюсной инъекции, за счет абсорбции через эпителиальные или кожно-слизистые выстилки (например, слизистую оболочку полости рта, слизистую оболочку прямой кишки и тонкой кишки и т.д.), и может быть введена вместе с другими биологически активными средствами.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может быть доставлена подкожно или внутривенно с помощью стандартных иглы и шприца. Кроме того, что касается подкожной доставки, для доставки фармацевтической композиции по настоящему изобретению без труда можно применять устройство для доставки в виде шприц-ручки. Такое устройство для доставки в виде шприц-ручки может быть многоразовым или одноразовым. В многоразовом устройстве для доставки в виде шприц-ручки обычно используется заменяемый картридж, который содержит фармацевтическую композицию. После того как вся фармацевтическая композиция из картриджа была введена, и картридж оказался пустым, пустой картридж без труда можно выбросить и заменить на новый картридж, который содержит фармацевтическую композицию. После этого устройстве для доставки в виде шприц-ручки можно применять повторно. В одноразовом устройстве для доставки в виде шприц-ручки нет заменяемого картриджа. Вместо этого одноразовое устройство для доставки в виде шприц-ручки выпускается предварительно заполненным фармацевтической композицией, содержащейся в резервуаре внутри устройства. После того как в резервуаре истощается фармацевтическая композиция, устройство полностью выбрасывают.

В определенных случаях фармацевтическая композиция может быть доставлена с помощью системы контролируемого высвобождения. Согласно одному варианту осуществления можно применять насос. Согласно другому варианту осуществления можно применять полимерные вещества; см. Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Бока-Ратон, Флорида. Согласно еще одному варианту осуществления система контролируемого высвобождения может быть помещена вблизи мишени композиции, благодаря чему требуется лишь часть системной дозы (см., например, Goodson, 1984, в Medical Applications of Controlled Release, выше, том 2, 115-138 с). Другие системы контролируемого высвобождения обсуждаются в обзоре Langer, 1990, Science 249:1527-1533.

Инъекционные препараты могут предусматривать лекарственные формы для внутривенных, подкожных, внутрикожных и внутримышечных инъекций, капельных инфузий и т.д. Такие инъекционные препараты можно получать с помощью способов. К примеру, инъекционные препараты можно получать, например, путем растворения, суспендирования или эмульгирования описанного выше антитела или его соли в стерильной водной среде или масляной среде, обычно применяемых для инъекций. В качестве водной среды для инъекций существуют, например, физиологический солевой раствор, изотоничный раствор, содержащий глюкозу и другие вспомогательные средства и т.д., которые можно применять в сочетании с соответствующим солюбилизующим средством, таким как спирт (например, этанол), многоатомный спирт (например, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль), неионогенное поверхностно-активное вещество (например, полисорбат 80, HCO-50 (полиоксиэтиленовый (50 моль) аддукт гидрогенизированного касторового масла)] и т.д. В качестве масляной среды используют, например, кунжутное масло, соевое масло и т.д., которые можно применять в сочетании с солюбилизующим средством, таким как бензилбензоат, бензиловый спирт и т.д. Полученным таким образом инъекционным раствором

предпочтительно заполняют соответствующую ампулу.

Преимущественно описанные выше фармацевтические композиции для перорального или парентерального применения составляют в лекарственные формы с разовой дозой, подходящей для коррекции дозы активных ингредиентов. Такие лекарственные формы с разовой дозой включают, например, таблетки, пилюли, капсулы, инъекционные растворы (ампулы), суппозитории и т.д.

Схемы введения.

Настоящее изобретение включает способы, предусматривающие введение субъекту антитела к PD-1 с частотой дозирования приблизительно четыре раза в неделю, два раза в неделю, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в четыре недели, один раз в пять недель, один раз в шесть недель, один раз в восемь недель, один раз в двенадцать недель или реже, при условии, что при этом достигается терапевтический ответ. Согласно определенным вариантам осуществления настоящее изобретение включает способы, предусматривающие введение субъекту биспецифического антитела к CD20/CD3 с частотой дозирования приблизительно четыре раза в неделю, два раза в неделю, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в четыре недели, один раз в пять недель, один раз в шесть недель, один раз в восемь недель, один раз в двенадцать недель или реже, при условии, что при этом достигается терапевтический ответ. Согласно определенным вариантам осуществления способы предусматривают введение антитела к PD-1 в комбинации с биспецифическим антителом к CD20/CD3 с частотой дозирования приблизительно четыре раза в неделю, два раза в неделю, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в четыре недели, один раз в пять недель, один раз в шесть недель, один раз в восемь недель, один раз в девять недель, один раз в двенадцать недель или реже, при условии, что при этом достигается терапевтический ответ.

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения многократные дозы антитела к PD-1 в комбинации с биспецифическим антителом к CD20/CD3 можно вводить субъекту в течение определенного промежутка времени. Способы в соответствии с этим аспектом настоящего изобретения предусматривают последовательное введение субъекту одной или нескольких доз антитела к PD-1 в комбинации с одной или несколькими дозами биспецифического антитела к CD20/CD3. В контексте настоящего документа "последовательное введение" означает, что каждую дозу антитела субъекту вводят в разные моменты времени, например, в разные дни, разделенные заданным интервалом (например, в часы, дни, недели или месяцы). Настоящее изобретение включает способы, которые предусматривают последовательное введение пациенту единичной начальной дозы антитела к PD-1, с последующим введением одной или нескольких доз второй очереди антитела к PD-1, и необязательно с последующим введением одной или нескольких доз третьей очереди антитела к PD-1. Согласно определенным вариантам осуществления способы дополнительно предусматривают последовательное введение пациенту единичной начальной дозы биспецифического антитела к CD20/CD3, с последующим введением одной или нескольких доз второй очереди биспецифического антитела, и необязательно с последующим введением одной или нескольких доз третьей очереди биспецифического антитела.

В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения многократные дозы антитела к PD-1 и биспецифического антитела к CD20/CD3 можно вводить субъекту в течение определенного промежутка времени. Способы в соответствии с этим аспектом настоящего изобретения предусматривают последовательное введение субъекту многократных доз антитела к PD-1 и биспецифического антитела к CD20/CD3. В контексте настоящего документа "последовательное введение" означает, что каждую дозу антитела к PD-1 в комбинации с биспецифическим антителом субъекту вводят в разные моменты времени, например в разные дни, разделенные заданным интервалом (например, в часы, дни, недели или месяцы).

Термины "начальная доза", "дозы второй очереди" и "дозы третьей очереди" относятся к временной последовательности введения. Таким образом, "начальная доза" представляет собой дозу, которую вводят вначале курса лечения (также называется "исходной дозой"); "дозы второй очереди" представляют собой дозы, которые вводят после начальной дозы; и "дозы третьей очереди" представляют собой дозы, которые вводят после доз второй очереди. Все из начальной дозы, доз второй и третьей очереди могут содержать одинаковое количество антитела (антитела к PD-1 или биспецифического антитела). Однако согласно определенным вариантам осуществления количество, содержащееся в начальной дозе, дозах второй и третьей очереди, отличаются друг от друга (например, по мере необходимости скорректированы по возрастающей или по убывающей) в ходе курса лечения. Согласно определенным вариантам осуществления одну или несколько (например, 1, 2, 3, 4 или 5) доз вводят вначале курса лечения в качестве "нагрузочных доз", с последующими дозами, которые вводят реже (например, "поддерживающие дозы"). Например, антитело к PD-1 можно вводить пациенту с В-клеточной злокачественной опухолью при нагрузочной дозе, составляющей приблизительно 1-3 мг/кг, с последующим введением одной или нескольких поддерживающих доз, составляющих от приблизительно 0,1 до приблизительно 20 мг/кг веса тела субъекта.

Согласно одному иллюстративному варианту осуществления настоящего изобретения каждую дозу второй и/или третьей очереди вводят через $1/2$ -14 (например, $1/2$, 1, $1\frac{1}{2}$, 2, $2\frac{1}{2}$, 3, $3\frac{1}{2}$, 4, $4\frac{1}{2}$, 5, $5\frac{1}{2}$, 6, $6\frac{1}{2}$, 7, $7\frac{1}{2}$, 8, $8\frac{1}{2}$, 9, $9\frac{1}{2}$, 10, $10\frac{1}{2}$, 11, $11\frac{1}{2}$, 12, $12\frac{1}{2}$, 13, $13\frac{1}{2}$, 14, $14\frac{1}{2}$ или более) недель после ближайшей

предшествующей дозы. Фраза "ближайшая предшествующая доза" в контексте настоящего документа означает, в случае последовательности многократных введений, дозу антитела к PD-1 (и/или биспецифического антитела к CD20/CD3), которую вводят пациенту до введения следующей дозы, в случае последовательности без промежуточных доз.

Способы в соответствии с этим аспектом настоящего изобретения могут предусматривать введение пациенту любого числа доз второй и/или третьей очереди антитела к PD-1 (и/или биспецифического антитела к CD20/CD3). Например, согласно определенным вариантам осуществления пациенту вводят только одну дозу второй очереди. Согласно другим вариантам осуществления пациенту вводят две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) доз второй очереди. Аналогично, согласно определенным вариантам осуществления пациенту вводят только одну дозу третьей очереди. Согласно другим вариантам осуществления пациенту вводят две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) доз третьей очереди.

Согласно вариантам осуществления, предусматривающим многократные дозы второй очереди, каждую дозу второй очереди можно вводить с той же частотой, что и другие дозы второй очереди. Например, каждую дозу второй очереди можно вводить пациенту через 1-2 недели после ближайшей предшествующей дозы. Аналогичным образом, согласно вариантам осуществления, предусматривающим многократные дозы третьей очереди, каждую дозу третьей очереди можно вводить с той же частотой, что и другие дозы третьей очереди. Например, каждую дозу третьей очереди можно вводить пациенту через 2-4 недели после ближайшей предшествующей дозы. В качестве альтернативы, частота, с которой дозы второй и/или третьей очереди вводят пациенту, может варьироваться в течение курса лечения. Частота введения также может быть скорректирована врачом в ходе курса лечения в зависимости от потребностей отдельного пациента, участвующего в клиническом исследовании.

Согласно определенным вариантам осуществления одну или несколько доз антитела к PD-1 и/или биспецифического антитела к CD20/CD3 вводят в начале курса лечения в качестве "начальных доз" чаще (два раза в неделю, один раз в неделю или один раз в 2 недели), с последующими дозами ("закрепляющие дозы" или "поддерживающие дозы"), которые вводят реже (например, один раз в 4-12 недель).

Настоящее изобретение включает способы, предусматривающие последовательное введение пациенту антитела к PD-1 в комбинации с биспецифическим антителом к CD20/CD3 для лечения В-клеточной злокачественной опухоли (например, неходжкинской лимфомы, острого лимфобластного лейкоза). Согласно некоторым вариантам осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают введение одной или нескольких доз антитела к PD-1 с последующим введением одной или нескольких доз биспецифического антитела к CD20/CD3. Согласно определенным вариантам осуществления способы по настоящему изобретению предусматривают введение одной дозы антитела к PD-1 с последующим введением одной или нескольких доз биспецифического антитела к CD20/CD3. Согласно некоторым вариантам осуществления одну или несколько доз антитела к PD-1, составляющих от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг, можно вводить с последующим введением одной или нескольких доз биспецифического антитела, составляющих от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, с целью ингибирования роста опухоли и/или предупреждения повторного появления опухоли у субъекта с В-клеточной злокачественной опухолью. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 вводят в одной или нескольких дозах с последующим введением одной или нескольких доз биспецифического антитела, что обеспечивает в результате повышенную противоопухолевую эффективность (например, более высокую степень ингибирования роста опухоли, повышенную вероятность предупреждения повторного появления опухоли по сравнению с субъектом, не подлежащим лечению, или субъектом, которому вводили любое из антител в качестве монотерапии). Альтернативные варианты осуществления настоящего изобретения относятся к параллельному введению антитела к PD-1 и биспецифического антитела, которое вводят в отдельной дозе при такой же или другой частоте по сравнению с антителом к PD-1. Согласно некоторым вариантам осуществления биспецифическое антитело вводят до, после введения антитела к PD-1 или одновременно с ним. Согласно определенным вариантам осуществления биспецифическое антитело вводят в виде единого дозированного состава с антителом к PD-1.

Дозировка.

Количество антитела к PD-1 и/или биспецифического антитела к CD20/CD3, вводимое субъекту в соответствии со способами по настоящему изобретению, обычно представляет собой терапевтически эффективное количество. В контексте настоящего документа фраза "терапевтически эффективное количество" означает количество антитела (антитела к PD-1 или биспецифического антитела к CD20/CD3), которое обеспечивает одно или несколько из следующего: (а) уменьшение тяжести или продолжительности симптома В-клеточной злокачественной опухоли; (б) ингибирование роста опухоли или повышение степени некроза опухоли, уменьшение размеров и/или исчезновение опухоли; (в) задержка роста и развития опухоли; (г) ингибирование, или замедление, или остановка метастазирования опухоли; (д) предупреждение повторного появления роста опухоли; (е) повышение выживаемости субъекта с В-клеточной злокачественной опухолью; и/или (г) сокращение применения или уменьшение необходимости в традиционной противоопухолевой терапии (например, сокращение или исключение применения химиотерапевтических или цитотоксических средств) по сравнению с субъектом, не подлежащим лечению, или субъектом, которому вводили любое из антител в качестве монотерапии.

В случае антитела к PD-1 терапевтически эффективное количество может составлять от приблизительно 0,05 мг до приблизительно 600 мг, например, приблизительно 0,05 мг, приблизительно 0,1 мг, приблизительно 1,0 мг, приблизительно 1,5 мг, приблизительно 2,0 мг, приблизительно 10 мг, приблизительно 20 мг, приблизительно 30 мг, приблизительно 40 мг, приблизительно 50 мг, приблизительно 60 мг, приблизительно 70 мг, приблизительно 80 мг, приблизительно 90 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 110 мг, приблизительно 120 мг, приблизительно 130 мг, приблизительно 140 мг, приблизительно 150 мг, приблизительно 160 мг, приблизительно 170 мг, приблизительно 180 мг, приблизительно 190 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 210 мг, приблизительно 220 мг, приблизительно 230 мг, приблизительно 240 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 260 мг, приблизительно 270 мг, приблизительно 280 мг, приблизительно 290 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 310 мг, приблизительно 320 мг, приблизительно 330 мг, приблизительно 340 мг, приблизительно 350 мг, приблизительно 360 мг, приблизительно 370 мг, приблизительно 380 мг, приблизительно 390 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 410 мг, приблизительно 420 мг, приблизительно 430 мг, приблизительно 440 мг, приблизительно 450 мг, приблизительно 460 мг, приблизительно 470 мг, приблизительно 480 мг, приблизительно 490 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 510 мг, приблизительно 520 мг, приблизительно 530 мг, приблизительно 540 мг, приблизительно 550 мг, приблизительно 560 мг, приблизительно 570 мг, приблизительно 580 мг, приблизительно 590 мг или приблизительно 600 мг антитела к PD-1. Согласно определенным вариантам осуществления вводят 250 мг антитела к PD-1.

В случае биспецифического антитела к CD20/CD3 терапевтически эффективное количество может составлять от приблизительно 10 микрограмм (мкг) до приблизительно 8000 мкг, например, приблизительно 10 мкг, приблизительно 20 мкг, приблизительно 50 мкг, приблизительно 70 мкг, приблизительно 100 мкг, приблизительно 120 мкг, приблизительно 150 мкг, приблизительно 200 мкг, приблизительно 250 мкг, приблизительно 300 мкг, приблизительно 350 мкг, приблизительно 400 мкг, приблизительно 450 мкг, приблизительно 500 мкг, приблизительно 550 мкг, приблизительно 600 мкг, приблизительно 700 мкг, приблизительно 800 мкг, приблизительно 900 мкг, приблизительно 1000 мкг, приблизительно 1050 мкг, приблизительно 1100 мкг, приблизительно 1500 мкг, приблизительно 1700 мкг, приблизительно 2000 мкг, приблизительно 2050 мкг, приблизительно 2100 мкг, приблизительно 2200 мкг, приблизительно 2500 мкг, приблизительно 2700 мкг, приблизительно 2800 мкг, приблизительно 2900 мкг, приблизительно 3000 мкг, приблизительно 4000 мкг, приблизительно 5000 мкг, приблизительно 6000 мкг, приблизительно 7000 мкг или приблизительно 8000 мкг биспецифического антитела к CD20/CD3.

Количество любого из антитела к PD-1 или биспецифического антитела к CD20/CD3, содержащееся в отдельных дозах, может быть выражено в миллиграммах антитела на килограмм веса тела субъекта (т.е. мг/кг). Согласно определенным вариантам осуществления любое из антитела к PD-1 или биспецифического антитела к CD20/CD3, применяемых в способах по настоящему изобретению, можно вводить субъекту в дозе, составляющей от приблизительно 0,0001 до приблизительно 100 мг/кг веса тела субъекта. Например, антитело к PD-1 можно вводить в дозе, составляющей от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг веса тела субъекта. Биспецифическое антитело к CD20/CD3 можно вводить в дозе, составляющей от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг веса тела субъекта.

Примеры

Следующие примеры приведены с целью предоставления специалистам в данной области полного раскрытия и описания того, как выполнять и применять способы и композиции по настоящему изобретению, и не предназначены для ограничения объема того, что авторы настоящего изобретения рассматривают как свое изобретение. Были предприняты усилия для обеспечения точности в отношении применяемых значений (например, количеств, температуры и т.д.), однако следует учитывать наличие некоторых погрешностей и отклонений в экспериментах. Если не указано иное, части являются частями по весу, молекулярная масса является средней молекулярной массой, температура приведена в градусах Цельсия и давление является атмосферным или близким к атмосферному.

Пример 1. In vivo эффективность антитела к PD-1 в комбинации с биспецифическим антителом к CD20×CD3 в отношении опухолей B16CD20.

В этом примере изучали эффект блокирования PD-1 в комбинации с CD20-нацеленной иммунотерапией в отношении развившихся опухолей B16CD20 у гуманизированных по CD20 и CD3 мышей с применением антител к PD-1 мыши и биспецифических антител к CD20×CD3 человека.

Иллюстративное биспецифическое антитело к CD20/CD3, применяемое в примерах в настоящем документе, представляет собой "bsAb1" (также известное как "антитело 1", раскрытое в US 20150266966), полностью человеческое биспецифическое моноклональное антитело к CD20 и CD3, причем антитело содержит связывающее CD20 плечо, содержащее первую вариабельную область тяжелой цепи (A-HCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, вариабельную область легкой цепи (LCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12; и связывающее CD3 плечо, содержащее вторую вариабельную область тяжелой цепи (B-HCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12. Биспецифическое антитело bsAb1 содержит последовательности CDR тяже-

лой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 14-22.

Гуманизированные по CD20 и по CD3 мыши были получены с помощью методов генной инженерии с применением технологии VelociGene® (Valenzuela et al 2003, Nat. Biotechnol. 21:652-659), которых затем скрещивали для получения гуманизированных по двум генам мышей CD20 CD3 (публикация заявки на патент США № 14/949834, поданная 23 ноября 2015 года).

В день 7 мышам подкожно имплантировали $2,5 \times 10^5$ клеток B16_CD20. В день 0 выбирали мышей с показателями среднего объема опухоли от 25 до 115 мм³ и рандомизировали их в пять групп обработки. Мышей обрабатывали антителами дважды в неделю следующим образом: группа 1: контроль (PBS); группа 2: изотипические контроли (двухвалентное антитело человека к нерелевантному антигену и контрольное IgG2a крысы - BE0089 от BioXCell); группа 3: антитело к hCD20×CD3 (bsAb1) (4 мг/кг); группа 4: антитело к PD-1 мыши (10 мг/кг; RMP1-14_rIgG2a; BioXCell); и группа 5: антитело к hCD20×CD3 (bsAb1) (4 мг/кг)+антитело к PD-1 мыши (10 мг/кг). Все антитела вводили внутривентриально. В группе 5 мышей обрабатывали антителами одновременно. Показатели объема опухоли отслеживали путем измерения с помощью штангенциркуля дважды в неделю на протяжении эксперимента, и за животными без опухоли наблюдали в отношении отсутствия повторного появления опухоли в течение периода длительностью до 80 дней.

Антитела к PD-1 и CD20×CD3 в качестве монотерапии обеспечивали задержку роста опухоли у мышей, причем у мышей объем опухоли достигал 500 мм³ в среднем за 19 дней. В отличие от этого, у мышей, которых обрабатывали антителом к PD-1 в комбинации с биспецифическим антителом к CD20×CD3, объем опухоли достигал 500 мм³ в среднем за 27 дней (фиг. 1 и табл. 1).

Таблица 1. Рост опухоли после введения антитела к PD-1 и биспецифического антитела к CD20/CD3

Обработка	Сред.число дней, за которые опухоль достигает 500 мм ³	Число мышей без опухоли ко дню 30
PBS	15	0/7
Изотипические контроли	15	0/7
bsAb1	19	1/7
Антитело к PD-1 (rIgG2a)	19	1/7
bsAb1 + антитело к PD-1	27	4/7

Обработка отдельным средством и комбинацией не индуцировала какое-либо изменение в весе тела, и ни в одной из групп лечения не наблюдали макроскопических признаков токсичности.

Описанный выше эксперимент повторяли дважды, и в обоих случаях обработка комбинацией обеспечивала значительную задержку и ингибирование роста опухоли по сравнению с контролями или монотерапией либо антителом к PD-1, либо биспецифическим антителом к CD20/CD3.

Пример 2. In vivo эффективность антитела к PD-1 и биспецифического антитела к CD20×CD3 в случае применения режима дозирования с последовательным введением.

В этом примере противоопухолевый эффект антитела к PD-1 мыши в комбинации с биспецифическим антителом к CD20×CD3 человека изучали с применением режима дозирования с последовательным введением.

Гуманизированные по двум генам мыши CD20 CD3 были получены с помощью методов генной инженерии с применением технологии VelociGene® (Valenzuela et al 2003, Nat. Biotechnol. 21:652-659; публикация заявки на патент США № 14/949834, поданная 23 ноября 2015 года).

В день 7 мышам подкожно имплантировали $2,5 \times 10^5$ клеток B16_CD20. В день 0 выбирали мышей с показателями среднего объема опухоли от 30 до 65 мм³ и рандомизировали их в пять групп обработки (фиг. 2). На протяжении всего исследования измеряли темпы роста опухоли с применением штангенциркуля и дважды в неделю регистрировали показатели веса тела. Мышей обрабатывали антителами путем внутривентриального введения дважды в неделю следующим образом: группа 1: контроль (PBS); группа 2: изотипические контроли (двухвалентное антитело человека к нерелевантному антигену и контрольное IgG2a крысы - BE0089 от BioXCell); группа 3: антитело к PD-1 мыши (10 мг/кг; RMP1-14_rIgG2a; BioXCell); группа 4: антитело к hCD20×CD3 (bsAb1) (4 мг/кг); группа 5: антитело к hCD20×CD3 (bsAb1) (4 мг/кг)+антитело к PD-1 мыши (10 мг/кг), вводимые одновременно; группа 6: антитело к PD-1 мыши (10 мг/кг) с последующим введением антитела к hCD20×CD3 (bsAb1) (4 мг/кг); и группа 7: антитело к hCD20×CD3 (bsAb1) (4 мг/кг) с последующим введением антитела к PD-1 мыши (10 мг/кг). Все антитела вводили внутривентриально с применением режима дозирования с последовательным введением, как показано в табл. 2.

Таблица 2. Режим дозирования с последовательным введением

	Гр.	Компонент №1	Схема дозирования – компонент №1	Компонент №2	Схема дозирования – компонент №2	№ мышей
Контроли	1	Среда-носитель	Исходный день 0, 2×/неделю	Среда-носитель	Исходный день 0, 2×/неделю	5
	2	Изотипический контроль	Исходный день 0, 2×/неделю	Изотипический контроль	Исходный день 0, 2×/неделю	5
	3	RMPI-14 (антитело к PD-1)	Исходный день 0, 2×/неделю	N/A	N/A	5
	4	N/A	N/A	bsAb1	Исходный день 0, 2×/неделю	6
Одновременное дозирование	5	RMPI-14 (антитело к PD-1)	Исходный день 0, 2×/неделю	bsAb1	Исходный день 0, 2×/неделю	7
Антитело к PD-1, затем bsAb1	6	RMPI-14 (антитело к PD-1)	Исходный день 0, 2×/неделю	bsAb1	Исходный день 7, 2×/неделю	7
bsAb1, затем антитело к PD-1	7	RMPI-14 (антитело к PD-1)	Исходный день 7, 2×/неделю	bsAb1	Исходный день 0, 2×/неделю	7

Как для одновременного введения дозы bsAb1 и антитела к PD-1 мыши, так и для введения дозы антитела к mPD-1 с последующим введением bsAb1 была показана значимая задержка роста опухоли по сравнению с контрольными антителами, содержащими одно плечо (фиг. 3). При лечении комбинацией, когда bsAb1 вводят начиная с D0, а антитело к PD-1 вводят начиная с D7, задержку роста опухоли по сравнению с группами лечения отдельным средством в рамках исследования не наблюдали. При введении комбинации различия в отношении потери веса или не связанной с опухолью смертности не наблюдали.

Пример 3. Клиническое испытание антитела к PD-1 и антитела к CD20×CD3 с участием пациентов со злокачественными новообразованиями из В-клеток.

Данное исследование представляет собой открытое многоцентровое исследование с повышением дозы, предусматривающее несколько групп с повышением дозы и расширенных групп, для получения данных об эффективности, безопасности и переносимости антитела к PD-1 и биспецифического антитела к CD20/CD3, отдельно и в комбинации, с участием пациентов со злокачественными новообразованиями из В-клеток (включая В-клеточную неходжкинскую лимфому, лимфому Ходжкина и острый лимфобластный лейкоз).

Иллюстративное антитело к PD-1, применяемое в этом примере, представляет собой REGN2810 (также известное как H4H7798N, раскрытое в US 20150203579), полностью человеческое моноклональное антитело к PD-1, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, предусматривающую SEQ ID NO: 1/2; и последовательности CDR тяжелой и легкой цепей, предусматривающие SEQ ID NO: 3-8.

Иллюстративное биспецифическое антитело к CD20/CD3, применяемое в этом примере, представляет собой bsAb1 (описанное в примере 1 в настоящем документе).

Первичной целью исследования является оценка безопасности, переносимости и дозозимитирующей токсичности (DLT): (i) REGN2810 в качестве отдельного средства у пациентов с лимфомой (В-клеточной неходжкинской лимфомой [B-NHL] и лимфомой Ходжкина [HL]); (ii) bsAb1 в качестве отдельного средства у пациентов с острым лимфобластным лейкозом (ALL); (iii) комбинации bsAb1 и REGN2810 у пациентов с B-NHL; и (iv) комбинации bsAb1 и REGN2810 у пациентов с ALL.

Вторичные цели исследования являются следующими: (i) определить рекомендованную дозу для: REGN2810 в качестве отдельного средства у пациентов с лимфомой (B-NHL и HL); bsAb1 в качестве

отдельного средства у пациентов с ALL; bsAb1 и REGN2810, вводимых в комбинации, у пациентов с B-NHL; и bsAb1 и REGN2810, вводимых в комбинации, у пациентов с ALL; (ii) охарактеризовать фармакокинетический (PK) профиль bsAb1 и REGN2810 при введении в качестве отдельных средств и в комбинации; (iii) оценить иммуногенность bsAb1 и REGN2810 при введении в качестве отдельных средств и в комбинации; и (iv) предварительно исследовать противоопухолевую активность bsAb1 и REGN2810 при введении в качестве отдельных средств при определенных показаниях и в комбинации, определяемую по общей частоте ответа, минимальному остаточному заболеванию (MRD) у пациентов с заболеванием костного мозга на исходном уровне, продолжительности ответа, выживаемости без прогрессирования, медиане выживаемости и проценту выживаемости через 6 и 12 месяцев.

Дополнительными целями является оценка биомаркеров, которые могут коррелировать с механизмом действия, наблюдаемой токсичностью и потенциальной противоопухолевой активностью, включая без ограничения следующее: профилирование цитокинов; оценка в отношении субпопуляций В- и Т-клеток в периферической крови и иммунофенотипирование; оценка изменений в уровне экспрессии генов в клетках периферической крови; и оценка сывороточного иммуноглобулина.

Исследуемая популяция.

Целевая популяция включает пациентов с лимфомой (B-NHL и HL) и ALL, для которых не существует стандартных способов лечения. Различные патологические подтипы, удовлетворяющие критериям для разных групп испытания, перечислены в табл. 3-5.

Таблица 3. Патологический подтип, удовлетворяющий критериям для групп лечения в случае лимфомы, согласно классификации ВОЗ: повышение дозы REGN2810 в качестве отдельного средства в когортах с B-NHL и HL

Лимфома Ходжкина (HL)	• Классическая HL в форме нодулярного склероза • Классическая HL с большим количеством лимфоцитов • Смешанно-клеточная классическая HL • Классическая HL с лимфоидным истощением • Нодулярный вариант HL с лимфоидным преобладанием
Неоплазмы из зрелых В-клеток	• Фолликулярная лимфома (FL) любой степени • Мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (SLL) • Лимфоплазмочитарная лимфома (LPL) • Лимфома из клеток маргинальной зоны (MZL) (селезеночная, нодальная или экстранодальная) • Лимфома из клеток мантийной зоны (MCL) • Диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL), все подтипы • Диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL), конкретно не обозначенная • В-крупноклеточная лимфома с большим количеством Т-клеток/гистиоцитов • DLBCL, ассоциированная с хроническим воспалением • Вирус Эпштейна-Барр (EBV)+ DLBCL людей пожилого возраста • Лимфоматозный гранулематоз • Первичная медиастинальная (тимическая) В-крупноклеточная лимфома • Внутрисосудистая В-крупноклеточная лимфома • Первичная кожная DLBCL, типа, затрагивающего нижние конечности • В-клеточная лимфома, не поддающаяся классификации, со смешанными признаками, характерными для DLBCL и лимфомы

	Беркитта Лимфома Беркитта
--	---

Таблица 4. Патологический подтип, удовлетворяющий критериям для групп лечения в случае лимфомы, согласно классификации ВОЗ: расширенные когорты, получающие REGN2810 в качестве отдельного средства

Расширение когорт, получающих REGN2810 в качестве отдельного средства, при Лимфоме Ходжкина	Расширение когорт, получающих REGN2810 в качестве отдельного средства, при ВЯЛОТЕКУЩЕЙ CD20+ B-NHL	Расширение когорт, получающих REGN2810 в качестве отдельного средства, при АГРЕССИВНОЙ CD20+ B-NHL
- Классическая HL в форме нодулярного склероза - Классическая HL с большим количеством лимфоцитов - Смешанно-клеточная классическая HL - Классическая HL с лимфоидным истощением - Нодулярный вариант HL с лимфоидным преобладанием	НЕОПЛАЗМЫ ИЗ ЗРЕЛЫХ В-КЛЕТОК - FL (степень 1 или 2) - Лимфоплазмочитарная лимфома (LPL) - MZL (селезеночная, нодальная или экстра nodальная) - Мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (SLL)	НЕОПЛАЗМЫ ИЗ ЗРЕЛЫХ В-КЛЕТОК - FL (степень 3) - Лимфома из клеток мантийной зоны (MCL) - DLBCL, все подтипы - DLBCL, конкретно не обозначенная - В-крупноклеточная лимфома с большим количеством Т-клеток/гистиоцитов - DLBCL, ассоциированная с хроническим воспалением - Вирус Эпштейна-Барр (EBV)+ DLBCL людей пожилого возраста - Лимфоматоидный гранулематоз - Первичная медиастинальная (тимическая) - В-крупноклеточная лимфома - Внутрисосудистая В-крупноклеточная лимфома - Первичная кожная DLBCL, типа,
		затрагивающего нижние конечности - В-клеточная лимфома, не поддающаяся классификации, со смешанными признаками, характерными для DLBCL и лимфомы Беркитта - Лимфома Беркитта

Таблица 5. Патологический подтип, удовлетворяющий критериям для групп лечения в случае лимфомы, согласно классификации ВОЗ: когорты с повышением дозы bsAb1 и REGN2810 в комбинации и расширенные когорты

Повышение дозы комбинации при CD20+ B-NHL	Расширение когорты, получающей комбинацию, при ВЯЛОТЕКУЩЕЙ CD20+ B-NHL	Расширение когорты, получающей комбинацию, при АГРЕССИВНОЙ CD20+ B-NHL
НЕОПЛАЗМЫ ИЗ ЗРЕЛЫХ В-КЛЕТОК Фолликулярная лимфома (FL) любой степени Мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (SLL) Лимфоплазмочитарная лимфома (LPL) Лимфома из клеток маргинальной зоны (MZL) (селезеночная, нодальная или экстранодальная) Лимфома из клеток мантийной зоны (MCL) Диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL), все подтипы	НЕОПЛАЗМЫ ИЗ ЗРЕЛЫХ В-КЛЕТОК FL (степень 1 или 2) Лимфоплазмочитарная лимфома (LPL) MZL (селезеночная, нодальная или экстранодальная) Мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (SLL)	НЕОПЛАЗМЫ ИЗ ЗРЕЛЫХ В-КЛЕТОК FL (степень 3) Лимфома из клеток мантийной зоны (MCL) DLBCL, все подтипы DLBCL, конкретно не обозначенная В-крупноклеточная лимфома с большим количеством Т-клеток/гистиоцитов DLBCL, ассоциированная с хроническим воспалением Вирус Эпштейна-Барр (EBV)+ DLBCL людей пожилого возраста Лимфоматоидный

Диффузная В- крупноклеточная лимфома (DLBCL), конкретно не обозначенная В-крупноклеточная лимфома с большим количеством Т- клеток/гистиоцитов DLBCL, ассоциированная с хроническим воспалением Вирус Эпштейна-Барр (EBV)+ DLBCL людей пожилого возраста Лимфоматоидный гранулематоз Первичная медиастинальная (тимическая) В- крупноклеточная лимфома Внутрисосудистая В- крупноклеточная лимфома Первичная кожная DLBCL, типа, затрагивающего нижние конечности В-клеточная лимфома, не поддающаяся классификации, со смешанными признаками, характерными для DLBCL и лимфомы Беркитта Лимфома Беркитта		гранулематоз Первичная медиастинальная (тимическая) В- крупноклеточная лимфома Внутрисосудистая В- крупноклеточная лимфома Первичная кожная DLBCL, типа, затрагивающего нижние конечности В-клеточная лимфома, не поддающаяся классификации, со смешанными признаками, характерными для DLBCL и лимфомы Беркитта Лимфома Беркитта
---	--	--

Критерии включения в группы лечения В-NHL и HL.

Чтобы подходить для включения в исследование, пациент должен соответствовать следующим критериям: (1) злокачественное новообразование кроветворной ткани, характеризующееся следующим: а) NHL: подтвержденное злокачественное новообразование из CD20+ В-клеток, причем заболевание в активной фазе является рефрактерным к самой последней предшествующей терапии, или после нее наблюдают рецидив, для которого не существует стандартных способов лечения, и для которого лечение антителом к CD20 не является целесообразным: i. В-NHL согласно критериям WHO 2008 (Camro 2011), b) подтвержденная HL согласно критериям WHO 2008 (Camro 2011), причем при заболевании в активной фазе не наблюдают ответ на предшествующую терапию или наблюдают рецидив после предшествующей терапии, для которого не существует стандартных способов лечения (только для когорт, получающих терапию REGN2810 в качестве отдельного средства); (2) у всех пациентов должен наблюдаться по меньшей мере 1 измеряемый по двум координатам очаг поражения ($\geq 1,5$ см), подтвержденный с применением диагностической визуализации (КТ, ПЭТ-КТ или МРТ); (3) возраст >18 лет; (4) функциональный статус по шкале Восточной Объединенной Онкологической группы (ECOG) <1 ; (5) ожидаемая продолжительность жизни по меньшей мере 6 месяцев; (6) адекватная функция костного мозга, подтвержденная по следующим критериям: а) число тромбоцитов $>75 \times 10^9/\text{л}$, б) уровень гемоглобина ≥ 9 г/дл, с) ANC (абсолютное число нейтрофилов) $>1 \times 10^9/\text{л}$ (примечание: для пациентов с содержанием клеток ниже пороговых уровней, приведенных выше, рассматривается возможность включения в исследование, если, по мнению исследователя, причина предположительно связана с недавней инфильтрацией костного мозга первичным злокачественным новообразованием. В таких случаях исследователь должен обсудить критерии включения со спонсором и получить одобрение на включение в исследование в письменной форме); (7) адекватная функция печени: а) общий билирубин в $\leq 1,5 \times$ превышает верхнюю границу нормального диапазона (ULN) (в $\leq 3 \times$ превышает ULN, при поражении печени), б) трансаминазы в $\leq 2,5 \times$ превышают ULN (в $\leq 5 \times$ превышают ULN, при поражении печени), с) щелочная фосфатаза в $\leq 2,5 \times$ превышает ULN (в

$\leq 5,0 \times$ превышает ULN, при поражении печени) (примечание: пациенты с поражением печени, обусловленным их злокачественным новообразованием, при одновременном $3 \times$ превышении $ULN \leq$ аспаратаминотрансферазы (AST) и/или $5 \times$ превышении ULN аланинаминотрансферазы (ALT) и $1,5 \times$ превышении $ULN \leq$ общий билирубин $\leq 3 \times ULN$, будут исключены. Примечание: для пациентов с синдромом Жильбера не является необходимым удовлетворение этому требованию, при условии, что общий билирубин у них не меняется от исходного уровня. Примечание: для пациентов рассматривается возможность включения в исследование, если, по мнению исследователя, отклоняющиеся от нормы результаты лабораторных анализов связаны с текущим первичным злокачественным новообразованием. В таких случаях исследователь должен обсудить критерии включения со спонсором и получить одобрение на включение в исследование в письменной форме); (8) креатинин сыворотки крови в $\leq 1,5 \times$ превышает ULN или рассчитанный по формуле Кокрофта-Голта клиренс креатинина ≥ 50 мл/мин. (Примечание: для пациентов с рассчитанным по формуле Кокрофта-Голта клиренсом креатинина, который не удовлетворяет критериям, может рассматриваться возможность включения в исследование, если измеренный клиренс креатинина (на основе теста с использованием собранной в течение суток мочи или другого подходящего способа) > 50 мл/мин. Примечание: для пациентов рассматривается возможность включения в исследование, если, по мнению исследователя, отклоняющиеся от нормы результаты лабораторных анализов связаны с текущим первичным злокачественным новообразованием. В таких случаях исследователь должен обсудить критерии включения со спонсором и получить одобрение на включение в исследование в письменной форме); (9) нормальное значение фракции выброса сердца, измеренной с помощью MUGA-сканирования до проведения лечения или эхокардиограммы в пределах 4 недель до включения в исследование в пределах нормального диапазона значений для учреждения; (10) готовность пройти обязательную биопсию перед лечением, если, по мнению исследователя, у пациента имеется доступный очаг поражения, из которого можно взять биоптат, без существенного риска для пациента; (11) готовность и способность выполнять требования касательно визитов в клинику и процедур, связанных с исследованием; и (12) предоставление подписанной формы информированного согласия.

Критерии исключения для групп лечения B-NHL и HL.

Пациент, который соответствует любому из следующих критериев, будет исключен из исследования: (1) первичная лимфома центральной нервной системы (ЦНС) или известное поражение ЦНС при вторичной NHL ЦНС или подозрение на наличие такого поражения; (2) случаи в анамнезе или текущая значимая патология со стороны ЦНС, такая как: а) эпилепсия, эпилептический припадок, парез, афазия, апopleксия, серьезные повреждения головного мозга, заболевание мозжечка, органический церебральный синдром, психоз, или б) данные о наличии очагов воспаления и/или васкулит, определенный с помощью МРТ головного мозга в ходе скрининга; (3) актуальные или недавние (в пределах 2 лет) данные о наличии значимого аутоиммунного заболевания, требующего лечения системными иммуносупрессорными терапевтическими препаратами, что может предполагать риск развития iAE; (4) стандартная противолимфомная химиотерапия (препаратами, отличными от биологических) или лучевая терапия менее чем за 28 дней до первого введения исследуемого(исследуемых) лекарственного(лекарственных) средства(средств); (5) лечение экспериментальным средством, отличным от биологического, менее чем за 28 дней до первого введения исследуемого(исследуемых) лекарственного(лекарственных) средства(средств); (6) лечение алемтузумабом менее чем за 12 недель от первого введения исследуемого(исследуемых) лекарственного(лекарственных) средства(средств); (7) лечение ритуксимабом, иммуномодулирующими средствами или другим экспериментальным или коммерческим средством, отличным от биологического, менее чем за 28 дней до первого введения исследуемого(исследуемых) лекарственного(лекарственных) средства(средств). Примеры иммуномодулирующих средств включают блокаторы CTLA-4, 4-1BB (CD137), LAG3, OX-40, терапевтические вакцины или терапевтические препараты на основе цитокинов; (8) предшествующая аллогенная трансплантация стволовых клеток; (9) предшествующее лечение средством, которое блокирует сигнальный путь с участием PD-1/PD-L1, за исключением случаев, когда у пациента наблюдали положительный эффект (актуально только для пациентов в случае терапии REGN2810 в качестве отдельного средства) (Примечание: такие пациенты должны обсуждаться с назначенным спонсором медицинским монитором перед включением в исследование); (10) сопутствующее активное злокачественное новообразование, в отношении которого пациент получает лечение; (11) данные о значимом сопутствующем заболевании или медицинском состоянии, которое может негативным образом влиять на проведение исследования, или подвергать пациента значительному риску, включая без ограничения значимое заболевание сердечнососудистой системы (например, заболевание сердечно-сосудистой системы класса III или IV согласно Нью-Йоркской ассоциации кардиологов, инфаркт миокарда в пределах 6 месяцев до скрининга, нестабильная аритмия или нестабильная стенокардия) и/или значимое заболевание легких (например, обструктивное заболевание легких и случаи в анамнезе бронхоспазма с клиническими симптомами); (12) известная активная бактериальная, вирусная, грибковая, микобактериальная или другая инфекция или любой значительный случай инфекции, требующий госпитализации или лечения противомикробными средствами для IV (внутривенного) применения, в пределах 14 дней до первого введения исследуемого лекарственного средства; (13) инфекция,

вызванная вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) или активная инфекция, вызванная вирусом гепатита В (HBV) или вирусом гепатита С (HCV); (14) случаи пневмонии в анамнезе за последние 5 лет; (15) случаи аллергических реакций в анамнезе, приписываемых соединениям с химическим или биологическим составом, подобным таковому у исследуемого(исследуемых) лекарственного(лекарственных) средства(средств); (16) случаи в анамнезе реакции гиперчувствительности на любое соединение из группы тетрациклиновых антибиотиков (мера предосторожности, связанная с возможным присутствием следовых компонентов в материале для получения лекарственного средства); (17) известная реакция гиперчувствительности как на аллопуринол, так и на расбуриказу; (18) беременные или кормящие грудью женщины; и (19) ведущие активную половую жизнь мужчины или женщины репродуктивного возраста, не желающие применять соответствующие требованиям средства контрацепции в ходе исследования и вплоть до 6 месяцев после прекращения приема исследуемого лекарственного препарата.

Критерии включения в исследуемые группы с лимфобластным лейкозом.

Чтобы подходить для включения в исследование, пациент должен соответствовать следующим критериям: (1) подтвержденный рецидивировавший или не поддающийся лечению CD20+ (определено как наличие экспрессии CD20, выявленной с помощью проточной цитометрии, на поверхности >20% лейкозных лимфобластов) В-клеточный ALL после проведения по меньшей мере индукционной и 1 цикла закрепляющей химиотерапии; а. для пациентов с положительным по филадельфийской хромосоме ALL требуется, чтобы по меньшей мере 1 ингибитор тирозинкиназ у них не оказал терапевтического эффекта, или наблюдалась его непереносимость; Примечание: допускается участие пациентов с бластным кризом с лимфоидным фенотипом при хроническом миелоидном лейкозе (CML), при условии, что они соответствуют критерию включения № 1; (2) возраст ≥ 18 лет; (3) функциональный статус по шкале ECOG ≤ 2 ; (4) заболевание, не затрагивающее ЦНС, подтвержденное с применением люмбальной пункции, в пределах 28 дней от начала применения исследуемого лекарственного средства (см. п.5); (5) адекватная функция костного мозга, подтвержденная по следующим критериям: а) число тромбоцитов $\geq 10 \times 10^9/\text{л}$, б) уровень Hb ≥ 7 г/дл, с) абсолютное число фагоцитов $\geq 0,5 \times 10^9/\text{л}$ (фагоциты: нейтрофилы, палочкоядерные гранулоциты и моноциты); (6) адекватная функция печени: а) общий билирубин в $\leq 1,5 \times$ превышает ULN (в $\leq 3 \times$ превышает ULN при поражении печени), б) трансаминазы в $\leq 2,5 \times$ превышают ULN (в $\leq 5 \times$ превышают ULN, при поражении печени), с) щелочная фосфатаза в $\leq 2,5 \times$ превышает ULN (в $\leq 5 \times$ превышает ULN при поражении печени) (Примечание: для пациентов с синдромом Жильбера не является необходимым удовлетворение этому требованию, при условии, что общий билирубин у них не меняется от исходного уровня. Примечание: для пациентов рассматривается возможность включения в исследование, если, по мнению исследователя, отклоняющиеся от нормы результаты лабораторных анализов связаны с текущим первичным злокачественным новообразованием. В таких случаях исследователь должен обсудить критерии включения со спонсором и получить одобрение на включение в исследование в письменной форме); (7) креатинин сыворотки крови в $\leq 1,5 \times$ превышает ULN или рассчитанный по формуле Кокрофта-Голта клиренс креатинина ≥ 50 мл/мин. (Примечание: для пациентов с рассчитанным по формуле Кокрофта-Голта клиренсом креатинина, который не удовлетворяет критериям, может рассматриваться возможность включения в исследование, если измеренный клиренс креатинина (на основе теста с использованием собранной в течение суток мочи или другого подходящего способа) ≥ 50 мл/мин. Примечание: для пациентов рассматривается возможность включения в исследование, если, по мнению исследователя, отклоняющиеся от нормы результаты лабораторных анализов связаны с текущим первичным злокачественным новообразованием. В таких случаях исследователь должен обсудить критерии включения со спонсором и получить одобрение на включение в исследование в письменной форме); (8) отсутствие признаков острой или хронической болезни "трансплантат против хозяина" (GvHD) и отсутствие приема лекарственного препарата от GvHD в пределах 14 дней до начала приема исследуемого(исследуемых) лекарственного(лекарственных) средства(средств); (9) нормальное значение фракции выброса сердца, измеренной с помощью MUGA-сканирования до проведения лечения или эхокардиограммы в пределах 4 недель до включения в исследование в пределах нормального диапазона значений для учреждения; (10) готовность и способность выполнять требования касательно визитов в клинику и процедур, связанных с исследованием; и (11) предоставление подписанной формы информированного согласия.

Критерии исключения для групп лечения с лимфобластным лейкозом.

Пациент, который соответствует любому из следующих критериев, будет исключен из исследования: (1) случаи в анамнезе или текущая значимая патология со стороны ЦНС, такая как: а) эпилепсия, эпилептический припадок, парез, афазия, апоплексия, серьезные повреждения головного мозга, заболевание мозжечка, органический церебральный синдром, психоз, или б) данные о наличии очагов воспаления и/или васкулит, определенный с помощью МРТ головного мозга в ходе скрининга; (2) лейкоз Беркитта; (3) текущее тестикулярное поражение при лейкозе; (4) актуальные или недавние (в пределах 2 лет) данные о наличии значимого аутоиммунного заболевания (за исключением GvHD), требующего лечения системными иммуносупрессорными терапевтическими препаратами, что может предполагать риск развития iAE; (5) стандартная противолейкозная химиотерапия (препаратами, отличными от биологических) или лучевая терапия менее чем за 14 дней до первого введения исследуемого(исследуемых) лекарствен-

ного(лекарственных) средства(средств); (6) лечение экспериментальным средством, отличным от биологического, менее чем за 14 дней до первого введения исследуемого(исследуемых) лекарственного(лекарственных) средства(средств); (7) лечение ритуксимабом, иммуномодулирующими средствами или другим экспериментальным или коммерческим средством, отличным от биологического, менее чем за 14 дней до первого введения исследуемого лекарственного средства. (Примеры иммуномодулирующих средств включают блокаторы CTLA-4, 4-1BB (CD137), LAG3, OX-40, терапевтические вакцины или терапевтические препараты на основе цитокинов); (8) лечение алемтузумабом менее чем за 12 недель до первого введения исследуемого(исследуемых) лекарственного(лекарственных) средства(средств); (9) предшествующая аллогенная трансплантация стволовых клеток в пределах 3 месяцев лечения; (10) сопутствующее активное злокачественное новообразование, в отношении которого пациент получает лечение; (11) данные о значимом сопутствующем заболевании или медицинском состоянии, которое может негативным образом влиять на проведение исследования, или подвергать пациента значительному риску, включая без ограничения значимое заболевание сердечно-сосудистой системы (например, заболевание сердечно-сосудистой системы класса III или IV согласно Нью-Йоркской ассоциации кардиологов, инфаркт миокарда в пределах 6 месяцев до скрининга, нестабильная аритмия или нестабильная стенокардия) и/или значимое заболевание легких (например, обструктивное заболевание легких и случаи в анамнезе бронхоспазма с клиническими симптомами); (12) известная активная бактериальная, вирусная, грибковая, микобактериальная или другая инфекция или любой значительный случай инфекции, требующий госпитализации или лечения противомикробными средствами для IV применения, в пределах 14 дней до первого введения исследуемого(исследуемых) лекарственного(лекарственных) средства(средств); (13) инфекция, вызванная ВИЧ, или активная инфекция, вызванная HBV или HCV; (14) случаи пневмонии в анамнезе за последние 5 лет; (15) случаи аллергических реакций в анамнезе, приписываемых соединениям с химическим или биологическим составом, подобным таковому у исследуемого(исследуемых) лекарственного (лекарственных) средства (средств); (16) случаи в анамнезе реакции гиперчувствительности на любое соединение из группы тетрациклиновых антибиотиков (мера предосторожности, связанная с возможным присутствием следовых компонентов в материале для получения лекарственного средства); (17) известная реакция гиперчувствительности как на аллопуринол, так и на расбуриказу; (18) беременные или кормящие грудью женщины; и (19) ведущие активную половую жизнь мужчины или женщины репродуктивного возраста, не желающие применять соответствующие требованиям средства контрацепции в ходе исследования и вплоть до 6 месяцев после прекращения приема исследуемого лекарственного препарата.

Дизайн исследования.

Данное исследование представляет собой открытое многоцентровое исследование с повышением дозы, предусматривающее несколько групп с повышением дозы и расширенных групп. Пациентов определяют в одну из следующих групп: получающая REGN2810 в качестве отдельного средства, получающая bsAb1 в качестве отдельного средства или получающая комбинацию обоих лекарственных средств, в зависимости от диагноза пациента и от стадии исследования на момент включения в исследование.

Группы лечения и когорты для определения дозы для пациентов с лимфомой (B-NHL и HL) более подробно описаны на фиг. 4. Пациентов определяют в одну из следующих когорт:

группы, получающие REGN2810 в качестве отдельного средства, в случае пациентов с лимфомой (B-NHL и HL);

2 когорты с повышением дозы (1 мг/кг и 3 мг/кг);

3 расширенные когорты: а) вялотекущая B-NHL, б) агрессивная B-NHL и в) HL группы, получающие лечение комбинацией, в случае пациентов с B-NHL;

когорты с повышением дозы для нескольких схем применения;

2 расширенные когорты: а) вялотекущая B-NHL, и б) агрессивная B-NHL.

Когорты, получающие лечение отдельным средством и комбинацией, в случае пациентов с ALL, более подробно описаны на фиг. 5. Пациентов определяют в одну из следующих когорт:

группы, получающие bsAb1 в качестве отдельного средства, в случае пациентов с ALL;

когорты с повышением дозы для нескольких схем применения;

2 расширенные когорты: а) рецидивировавший/не поддающийся лечению ALL, и б) положительный по минимальному остаточному заболеванию (MRD+) ALL группы, получающие лечение комбинацией, в случае пациентов с ALL;

когорты с повышением дозы для нескольких схем применения.

2 расширенные когорты: а) рецидивировавший/не поддающийся лечению ALL, и б) MRD-положительный ALL.

Лечение комбинированным терапевтическим препаратом начинают после предоставления данных по отдельному средству и рассмотрения их соответствующим органом здравоохранения.

REGN2810 в качестве отдельного средства у пациентов с лимфомой (B-NHL и HL).

На фиг. 6 показана схема лечения REGN2810 в качестве отдельного средства для пациентов с лимфомой. Пациентам вводят REGN2810 IV каждые 2 недели (Q2W) при установленном уровне дозы (DL). Пациенты получают REGN2810 на протяжении периода приема не менее 12 доз (24 недели) и не более 24

доз (48 недель). Спустя не менее 24 недель лечения и после консультации с исследователем и спонсором, пациенты, у которых после оценок в отношении опухолевой массы был выявлен полный ответ, стабилизация заболевания или частичный ответ, которые оставались неизменными на протяжении 3 последующих оценок опухоли, также могли принять решение прекратить лечение. После завершения лечения (24 или 48 недель) будет проводиться 24-недельный (6 месяцев) период наблюдения.

bsAb1 в качестве отдельного средства у пациентов с ALL.

На фиг. 7 показана схема лечения bsAb1 в качестве отдельного средства для пациентов с ALL. Пациентам назначают DL, который будет предусматривать начальную дозу, с последующей более высокой дозой, при условии, что начальная доза была переносимой (табл. 6).

Таблица 6. Уровни дозы для bsAb1

Уровень дозы	Начальная доза (фиксированная, мкг)	Последующая доза (фиксированная, мкг)
DL-1	10	30
DL1	30	100
DL2	100	300
DL3	300	1000
DL4	1000	2000
DL5	1000	3000
DL6	1000	4000
DL7	1000	5000

bsAb1 вводят внутривенно каждую неделю на протяжении периода приема 11 доз, с последующим лечением каждые 4 недели (Q4W), начиная с недели 13, на протяжении периода приема еще 6 доз. За пациентами наблюдают в течение еще 6 месяцев после завершения лечения bsAb1.

Комбинированная терапия.

Включают 2 отдельные группы, получающие комбинацию, одну для пациентов с B-NHL, а другую для пациентов с ALL. На фиг. 8 показана схема лечения комбинацией для пациентов с B-NHL, а на фиг. 9 показана схема лечения комбинацией для пациентов с ALL.

Пациентам вводят REGN2810 IV Q2W при установленном DL (0,3, 1 или 3 мг/кг). Пациенты получают REGN2810 на протяжении периода приема не менее 12 доз (24 недели) и не более 24 доз (48 недель). Спустя не менее 24 недель лечения и после консультации с исследователем и спонсором, пациенты, у которых после оценок в отношении опухолевой массы был выявлен полный ответ, стабилизация заболевания или частичный ответ, которые оставались неизменными на протяжении 3 последующих оценок опухоли, также могли принять решение прекратить лечение.

Пациентам будет назначен DL bsAb1, который будет предусматривать начальную дозу, с последующей более высокой дозой, при условии, что начальная доза была переносимой (табл. 6). bsAb1 будет вводиться внутривенно каждую неделю на протяжении периода приема 11 доз, с последующим лечением Q4W, начиная с недели 13, на протяжении периода приема еще 6 доз.

В случае предусмотренных исследованием визитов, во время которых вводят как bsAb1, так и REGN2810, REGN2810 будет вводиться первым. За пациентами будут наблюдать в течение еще по меньшей мере 6 месяцев после завершения лечения bsAb1. Момент начала наблюдения будет зависеть от длительности лечения пациента REGN2810 (24 или 48 недель).

Исходные дозы.

REGN2810 в качестве отдельного средства: Исходная доза REGN2810 у пациентов с лимфомой составляет 1 мг/кг один раз в 2 недели, при отсутствии непредвиденных результатов исследования безопасности. Расширения когорт для REGN2810 в качестве отдельного средства при вялотекущей B-NHL, агрессивной B-NHL и HL определяют в группе с повышением дозы REGN2810 в качестве отдельного средства у пациентов с лимфомой (B-NHL и HL).

bsAb1 в качестве отдельного средства: Исходный DL bsAb1 в качестве отдельного средства у пациентов с ALL устанавливают исходя из результатов наблюдений безопасности. Исходная доза начального DL у пациентов с ALL будет по меньшей мере в 10 меньше начальной дозы DL, для которого была подтверждена безопасность; однако при этом исходный DL не будет ниже чем DLL. Расширения когорт для bsAb1 в качестве отдельного средства при рецидивировавшем/не поддающемся лечению ALL и MRD-положительном ALL определяют в группе с повышением дозы с ALL.

Группа, получающая комбинацию - пациенты с B-NHL: запланированная доза REGN2810 при введении в комбинации с bsAb1 у пациентов с B-NHL составляет 3 мг/кг Q2W, при условии отсутствия непредвиденных результатов исследования безопасности в случае повышения дозы REGN2810 в качестве отдельного средства при злокачественных новообразованиях из В-клеток. Исходный DL bsAb1 при введении в комбинации с REGN2810 у пациентов с B-NHL будет на 1 DL меньше такового, для которого была подтверждена безопасность, и который будет не меньше DL1.

Группа, получающая комбинацию - пациенты с ALL: запланированная доза REGN2810 при введении в комбинации с bsAb1 у пациентов с ALL составляет 3 мг/кг Q2W, при условии отсутствия непредвиденных результатов исследования безопасности в случае повышения дозы REGN2810 в качестве отдельного средства при злокачественных новообразованиях из В-клеток. Исходный DL bsAb1 при введении в комбинации с REGN2810 у пациентов с ALL будет представлять собой DL, для которого была подтверждена безопасность и доказана минимальная биологическая активность в группе с повышением дозы bsAb1 в качестве отдельного средства у пациентов с ALL в текущем исследовании. Минимальная биологическая активность определяется как подтверждение снижения содержания бластных клеток костного мозга на 50% (частичный ответ) при исследовании костного мозга, проводимого на 5 неделе по меньшей мере у 1 из 3 пациентов, которых лечили с применением установленного уровня дозы.

Повышение дозы.

Во всех группах и всех когортах правила повышения будут соответствовать классической схеме повышения дозы 3+3, включающей от 3 до 6 пациентов на когорту.

Период наблюдения дозолимитирующей токсичности (DLT) определяется как первые 28 дней лечения для всех когорт во всех группах. Любое из следующих событий, имеющих место в первые 28 дней лечения (и рассматривающихся исследователем как таковые, связанные с исследуемым лечением), считаются DLT: увеит степени ≥ 2 , нейтропения 4 степени, тромбоцитопения 4 степени и фебрильная нейтропения степени ≥ 3 .

Максимальную переносимую дозу (MTD) определяют исходя из наблюдаемой токсичности во время периода наблюдения DLT, и она определяется как уровень дозы (DL), непосредственно ниже уровня, при котором дозирование прекращают ввиду проявления DLT у 2 или более пациентов. Если для части группы повышение дозы не прекращается ввиду проявления DLT, будет считаться, что MTD не была определена.

Оптимальную биологическую дозу также определяют исходя из результатов наблюдений безопасности и переносимости, PK, PD и предварительных данных о противоопухолевой активности.

Рекомендованную дозу для расширенных групп определяют исходя из обзора данных, применяемых для определения MTD и/или оптимальной биологической дозы.

MTD, оптимальную биологическую дозу и рекомендованную дозу определяют независимо для групп, получающих отдельное средство, и каждой группы, получающей комбинированный терапевтический препарат при определенных показаниях (NHL и ALL); может быть идентифицировано до 4 MTD, оптимальных биологических доз и рекомендованных доз. MTD для любой из групп, получающих комбинированный терапевтический препарат, не превышает DL MTD отдельного средства, поскольку случаи DLT у 2 пациентов для такого DL отдельного средства, и обусловленное этим определение MTD, исключает дальнейшее повышение дозы.

Продолжительность исследования.

Период исследуемого лечения составляет от 6 до 12 месяцев в зависимости от данных по ответам на лечение у отдельного пациента. Период наблюдения составляет 6 месяцев для всех пациентов.

Объем выборки: точное число включенных в исследование пациентов зависит от случаев определяемых протоколом DLT и числа DL, которые будут доступны. Объем выборки для повышения дозы REGN2810 в качестве отдельного средства при лимфоме (B-NHL и HL) составляет не более 12 пациентов. Объем выборки для bsAb1 в качестве отдельного средства в случае пациентов с ALL составляет не более 42 пациентов (в зависимости от того, какой DL доступен в этой группе). Объем выборки для повышения дозы комбинированного препарата в случае пациентов с B-NHL составляет не более 42 пациентов (в зависимости от того, какой DL доступен в этой группе). Объем выборки для повышения дозы комбинированного препарата в случае пациентов с ALL составляет не более 42 пациентов (в зависимости от того, какой DL доступен в этой группе). В каждую расширенную когорту будет включено 20 пациентов, что в общей сложности составляет 180 пациентов.

Исследуемые варианты лечения и введение.

bsAb1 предоставляется в виде раствора в стерильных флаконах для однократного применения. Каждый флакон содержит bsAb1 в извлекаемом объеме 1 мл в концентрации 2 мг/мл. Фармацевт или другое квалифицированное лицо определяется в каждом центре для приготовления bsAb1 для введения. Величина получаемой(получаемых) дозы(доз) соответствует назначенному для когорты уровню дозы. Доза, вводимая при каждом уровне дозы, является фиксированной дозой и не зависит от веса или площади поверхности тела пациента. Каждую дозу bsAb1 вводят путем внутривенной (IV) инфузии в течение по меньшей мере 60 минут. Продолжительность инфузии может быть увеличена до 4 часов в соответствии с клинической оценкой, проводимой лечащим врачом. Кроме того, исследователь может решить разделить дозу на 2 отдельные инфузии, осуществляемые за период длительностью 2 (предпочтительно последовательных) дня.

REGN2810 предоставляется в виде раствора в стерильных флаконах для однократного применения. Каждый флакон содержит REGN2810 в концентрации 25 мг/мл в объеме, достаточном для извлечения 10 мл. REGN2810 будет вводиться в виде 30-минутной IV инфузии. Доза для каждого пациента будет зави-

сеть от индивидуального веса тела. Дозу REGN2810 следует корректировать в соответствии с изменениями веса тела на $\geq 10\%$. Корректировки дозы в соответствии с изменениями веса тела, составляющие $<10\%$, выполняются на усмотрение исследователя.

В случае предусмотренных исследованием визитов, во время которых вводят как bsAb1, так и REGN2810, REGN2810 вводится первым.

Перед введением bsAb1 в дозах 300 мкг или выше по меньшей мере за 1 час до инфузии требуется премедикация дексаметазоном. В случае первого введения начальной дозы bsAb1 и первого введения последующей более высокой дозы (ступенчатая доза) рекомендуется прием по меньшей мере 7,5 мг дексаметазона. Если пациент переносит инфузии без каких-либо признаков или симптомов инфузионной реакции или синдрома высвобождения цитокинов (CRS), исследователь может снизить дозу или отменить премедикацию дексаметазоном, вводимым перед последующими инфузиями, при необходимости, определяемой результатами клинической оценки. Также может рассматриваться премедикация антигистаминными препаратами и/или ацетаминофеном. При дозах bsAb1 ниже 300 мкг эмпирическая премедикация антигистаминными препаратами, ацетаминофеном и/или кортикостероидами перед инфузией исследуемого лекарственного средства не рекомендуется, за исключением случаев, когда пациент перенес инфузионные реакции или CRS 2 или более высокой степени, вызванные предшествующей инфузией bsAb1.

Рекомендуется, чтобы пациенты с ALL, которые в высокой степени подвержены риску развития синдрома высвобождения цитокинов (CRS) и/или TLS (определяется следующим: $\geq 50\%$ лимфобластов в костном мозге; лактатдегидрогеназа [LDH] ≥ 500 Ед/л; или экстрамедуллярное поражение), получали дексаметазон в рамках подготовительной фазы терапии. Концентрация дексаметазона в рамках подготовительной фазы терапии должна составлять 10 мг/м² каждый день (QD) в течение минимум 3 дней и максимум 5 дней. Применение дексаметазона в рамках подготовительной фазы терапии следует прекращать за ≥ 72 часа до начала применения лекарственного(лекарственных) средства(средств).

При рецидиве или прогрессировании для пациентов может рассматриваться возможность повторного лечения. Для пациентов с субоптимальным ответом также может рассматриваться возможность проведения повторного лечения. Выбор повторного лечения (добавление REGN2810, bsAb1 или лечение, которое пациент уже получает, при более высокой дозе) будет зависеть от начального лечения, которое получал пациент в рамках испытания (например, bsAb1 в качестве отдельного средства, REGN2810 или комбинированный терапевтический препарат), и того, для каких когорт была подтверждена безопасность на момент, когда для пациента рассматривалась возможность проведения повторного лечения. Все решения касательно повторного лечения будут приняты после обсуждения между исследователем, проводящим лечение, и спонсором. Повторное лечение будет проводиться при наиболее высоком DL, который считался безопасным и переносимым на момент проявления рецидива или прогрессирования. Перед повторным лечением будет требоваться, чтобы пациенты вновь подписали форму информированного согласия, и чтобы они соответствовали критериям включения в исследования для проведения повторного лечения. В случае пациентов, которые получали терапию отдельным средством, если лечащий врач полагает, что при рецидиве или прогрессировании интересам пациента максимально отвечает получение комбинированной терапии, пациент может перейти на лечение комбинацией при уровне дозы комбинации, который считался безопасным и переносимым на момент, когда для пациента рассматривалась возможность проведения повторного лечения.

Конечные точки исследования.

Первичной конечной точкой является безопасность (в частности, нежелательные явления [АЕ], DLT, данные лабораторных исследований безопасности и результаты клинических исследований). Вторичными конечными точками являются: (i) PK bsAb1 и REGN2810 при введении отдельно и в комбинации; (ii) иммуногенность: антитела к bsAb1 и/или к REGN2810; (iii) противоопухолевая активность: (a) общая частота ответа согласно соответствующим критериям ответа для определенного показателя; (b) продолжительность ответа и выживаемость без прогрессирования через 6 и 12 месяцев; (c) оценка минимального остаточного заболевания (MRD) для пациентов с поражением костного мозга на исходном уровне; и (iv) фармакодинамические измерения, включая профилирование цитокинов; оценку в отношении субпопуляций В- и Т-клеток в периферической крови и иммунофенотипирование, анализ занятости PD-1 циркулирующих Т-клеток, оценку изменений в уровне экспрессии генов в клетках периферической крови; и оценку сывороточного иммуноглобулина.

Также отмечали и указывали в сводных данных процентное изменение размера целевой опухоли от исходного уровня.

Процедуры и оценки.

Процедуры скрининга, которые требуется выполнить, включают оценку фракции выброса сердца и МРТ головного мозга.

Процедуры по оценке безопасности включают изучение сведений о перенесенных ранее заболеваниях, физикальное обследование, оценку основных физиологических показателей, электрокардиограмму (ЭКГ), анализ коагуляции, анализы иммунологической безопасности (для пациентов, которых лечили

REGN2810), оценку В-симптомов и оценку функционального статуса, клинико-лабораторные исследования, АЕ и оценку в отношении сопутствующих лекарственных препаратов.

Процедуры, касающиеся анализа эффективности, которые требуется выполнить для оценок опухоли, включают КТ- или МРТ-сканирование, позитронную эмиссионную томографию с использованием ¹⁸F-фтордезоксиглюкозы (FDG-PET), пункцию и биопсию костного мозга (BMA/Bx), люмбальную пункцию, биопсию лимфатического узла и/или опухоли.

Пациентов с NHL и с HL оценивают в соответствии с критериями по Cheson (Cheson et al 2007, J. Clin. Oncol. 25(5):579-86). Пациентов с заболеванием, при котором накапливается фтордезоксиглюкоза (FDG), также оценивают в соответствии с классификацией Lugano (Cheson et al 2014, J. Clin. Oncol 32:3059-3067). Пациентов с ALL оценивают в соответствии с NCCN Guidelines 2014.

Оценку на наличие MRD с применением образцов костного мозга осуществляют централизованно с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Определение ответа в отношении MRD осуществляют по Brüggemann et al (Leukemia 2010, 24:521-35) у пациентов с ALL, фолликулярной лимфомой и лимфомой из клеток маргинальной зоны.

Собирают образцы крови для оценки РК и антитела к лекарственному средству (ADA).

Образцы для оценки биомаркеров собирают для отслеживания изменений в продукции цитокинов, уровнях провоспалительных цитокинов в сыворотке крови и изменений в отношении субпопуляций лимфоцитов и их статуса активации. Кроме того, эти образцы позволяют проводить анализы в отношении опухоли или генетические анализы соматических клеток для вариаций, которые влияют на клиническое течение первичного заболевания или модулируют обусловленные лечением побочные эффекты.

Безопасность.

Нежелательное явление (АЕ) представляет собой любое неблагоприятное медицинское явление у пациента, которому вводили исследуемое лекарственное средство, которое может иметь или может не иметь причинно-следственную связь с исследуемым лекарственным средством. Таким образом, АЕ представляет собой любой неблагоприятный и непредусмотренный признак (включая отклоняющиеся от нормы данные лабораторного исследования), симптом или заболевание, которые совпадают по времени с применением исследуемого лекарственного средства, независимо от того, считались ли они связанными с исследуемым препаратом, или нет. АЕ также включает любое ухудшение (т.е. любое клинически значимое изменение частоты и/или интенсивности) предсуществующего состояния, которое совпадает по времени с применением исследуемого лекарственного средства. Прогрессирование первичного злокачественного новообразования не будет считаться АЕ, если оно явно согласуется с типичным сценарием прогрессирования первичной злокачественной опухоли (включая динамику, пораженные органы и т.д.). Клинические симптомы прогрессирования могут быть зарегистрированы как АЕ, если симптом не может быть определен исключительно как связанный с прогрессированием первичного злокачественного новообразования, или не соответствует ожидаемому сценарию прогрессирования для исследуемого заболевания. Серьезное АЕ (SAE) представляет собой любое неблагоприятное медицинское явление, которое при любой дозе приводит к смертельному исходу, представляет угрозу для жизни, требует госпитализации, приводит к стойкой или значительной нетрудоспособности и/или представляет собой важное с медицинской точки зрения событие.

За пациентами наблюдают в отношении основных физиологических показателей, общей безопасности, развития синдрома высвобождения цитокинов, сокращения числа В-клеток, токсичности для ЦНС и иммунопосредованных АЕ.

План статистического анализа.

Когорты с повышением дозы: Дизайн исследования основывается на применении традиционной схемы 3+3 с 3-6 пациентами на DL.

Расширенные когорты: объем выборки, составляющий 20 пациентов для каждой расширенной когорты, определен исходя из клинических соображений для дальнейшего изучения безопасности RP2D в расширенных когортах. Объем выборки, составляющий 20 пациентов, также дает возможность предварительно оценить ответ опухоли.

Все зарегистрированные АЕ в этом исследовании классифицированы с применением доступной на данный момент версии Медицинского словаря регуляторной деятельности (Medical Dictionary for Regulatory Activities) (MedDRA®). Классификация представлена терминами в направлении от наиболее низкого уровня. Приводятся стенографическая запись, предпочтительные термины (PT) и основной системно-органный класс (SOC).

Краткие описания возникших после начала лечения нежелательных явлений (TEAE), по группам лечения, включают: (i) число (n) и процентную долю (%) пациентов по меньшей мере с 1 TEAE по SOC и PT; (ii) TEAE по тяжести, представленные по SOC и PT; и (iii) TEAE по взаимосвязи с лечением (связаны или не связаны), представленные по SOC и PT. Случаи смерти и другие серьезные нежелательные явления (SAE) приведены и обобщены по группам лечения. Возникшие после начала лечения нежелательные явления, являющиеся причиной окончательного прекращения лечения, приведены и обобщены по группам лечения.

Анализы эффективности.

В сводных данных указан объективный ответ опухоли, определенный согласно критериям в соответствии с конкретным заболеванием. Данные по продолжительности ответа и выживаемости без прогрессирования через 6 и 12 месяцев приведены и обобщены в соответствии с оценкой Каплана-Майера, при необходимости. Приведен и указан в сводных данных статус касательно минимального остаточного заболевания. Приведены и обобщены данные по выживаемости без прогрессирования. Также обобщены данные по процентному изменению размера целевой опухоли от исходного уровня.

Результаты.

Ожидается, что антитела, отдельно и в комбинации, являются безопасными и хорошо переносятся пациентами. Ожидается, что введение REGN2810 отдельно или в комбинации с bsAb1 будет обеспечивать ингибирование роста опухоли и/или содействие регрессии опухоли у пациентов с вялотекущей или агрессивной В-NHL или HL. Ожидается, что у пациентов с ALL, которым вводят bsAb1 отдельно или в комбинации с REGN2810, будет наблюдаться ингибирование роста опухоли и/или ремиссия. Ожидается, что общая частота ответа будет превышать таковую для комбинированного терапевтического препарата по сравнению с любым из препаратов в качестве монотерапии.

Объем настоящего изобретение не ограничен конкретными вариантами осуществления, описанными в настоящем документе. Фактически, различные модификации настоящего изобретения в дополнение к тем, которые описаны в настоящем документе, будут очевидны для специалистов в данной области из предшествующего описания и прилагаемых чертежей. Предполагается, что такие модификации охвачены объемом прилагаемой формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения или ингибирования роста опухоли, предусматривающий

- (i) отбор субъекта с В-клеточной неходжкинской лимфомой; и
- (ii) введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают белок-1 запрограммированной гибели клеток (PD-1); и терапевтически эффективного количества биспецифического антитела, содержащего первое антигенсвязывающее плечо, которое специфически связывает CD20, и второе антигенсвязывающее плечо, которое специфически связывает CD3; причем

антитело к PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (CDR) (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) варибельной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) варибельной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2;

первое антигенсвязывающее плечо биспецифического антитела содержит три CDR тяжелой цепи (A-HCDR1, A-HCDR2 и A-HCDR3) варибельной области тяжелой цепи (A-HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) LCVR, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12;

второе антигенсвязывающее плечо биспецифического антитела содержит три CDR тяжелой цепи (B-HCDR1, B-HCDR2 и B-HCDR3) варибельной области тяжелой цепи (B-HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) LCVR, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12; и

количество антитела к PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента составляет 1-3 мг/кг веса тела субъекта, количество биспецифического антитела составляет от 10 до 8000 мкг, и антитело к PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят до или одновременно с биспецифическим антителом.

2. Способ по п.1, в котором количество антитела к PD-1 составляет 1 или 3 мг/кг веса тела субъекта.

3. Способ по любому из пп.1, 2, в котором антитело к PD-1 вводят одновременно с биспецифическим антителом.

4. Способ по п.3, в котором антитело к PD-1 вводят до введения биспецифического антитела.

5. Способ по п.4, в котором антитело к PD-1 вводят за 1 неделю до введения биспецифического антитела.

6. Способ по п.1, в котором одну или несколько доз антитела к PD-1 вводят в комбинации с одной или несколькими дозами биспецифического антитела.

7. Способ по п.6, в котором каждая доза антитела к PD-1 составляет 1-3 мг/кг веса тела субъекта.

8. Способ по п.6 или 7, в котором каждая доза антитела к PD-1 составляет 1 или 3 мг/кг веса тела субъекта.

9. Способ по любому из пп.6-8, в котором каждая доза биспецифического антитела составляет 10-8000 микрограмм.

10. Способ по любому из пп.6-9, в котором каждую дозу антитела к PD-1 вводят через 0,5-12 недель после ближайшей предшествующей дозы.

11. Способ по любому из пп.6-10, в котором каждую дозу биспецифического антитела вводят через 0,5-12 недель после ближайшей предшествующей дозы.
12. Способ по п.11, в котором каждую дозу антитела к PD-1 вводят один раз в две недели, а каждую дозу биспецифического антитела вводят один раз в неделю.
13. Способ по любому из пп.6-12, в котором каждую дозу биспецифического антитела разделяют на 2-5 частей в пределах периода дозирования.
14. Способ по любому из пп.6-13, в котором антитело к PD-1 вводят до введения биспецифического антитела или одновременно с ним.
15. Способ по п.14, в котором антитело к PD-1 вводят до введения биспецифического антитела.
16. Способ по п.15, в котором антитело к PD-1 вводят за 1 неделю до введения биспецифического антитела.
17. Способ по любому из пп.1-16, в котором антитела вводят внутривенно, подкожно или внутривенно.
18. Способ по любому из пп.1-17, в котором у субъекта наблюдается резистентность, или неудовлетворительный ответ, или рецидив после предшествующей терапии.
19. Способ по любому из пп.1-18, в котором лечение обеспечивает терапевтический эффект, выбранный из группы, состоящей из задержки роста опухоли, снижения числа опухолевых клеток, регрессии опухоли, повышения выживаемости, частичного ответа и полного ответа.
20. Способ по п.19, в котором происходит задержка роста опухоли по меньшей мере на 10 дней по сравнению с субъектом, не подлежащим лечению.
21. Способ по любому из пп.1-20, в котором происходит ингибирование роста опухоли по меньшей мере на 50% по сравнению с субъектом, не подлежащим лечению.
22. Способ по любому из пп.1-20, в котором происходит ингибирование роста опухоли по меньшей мере на 50% по сравнению с субъектом, которому вводили любое из антител в качестве монотерапии.
23. Способ по п.14, в котором происходит ингибирование роста опухоли по меньшей мере на 50% по сравнению с субъектом, которому вводили биспецифическое антитело к CD20/CD3 до введения антитела к PD-1.
24. Способ по любому из пп.1-23, дополнительно предусматривающий применение у субъекта третьего терапевтического средства или терапии, где третье терапевтическое средство или терапия выбраны из группы, состоящей из облучения, хирургического вмешательства, химиотерапевтического средства, противоопухолевой вакцины, ингибитора PD-L1, ингибитора LAG-3, ингибитора CTLA-4, ингибитора TIM3, ингибитора BTLA, ингибитора TIGIT, ингибитора CD47, ингибитора индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO), антагониста фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), ингибитора ангиопоэтина-2 (Ang2), ингибитора трансформирующего ростового фактора бета (TGF β), ингибитора рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), антитела к опухолеспецифическому антигену, вакцины на основе бациллы Кальмета-Герена, гранулоцитарно-моноцитарного колониестимулирующего фактора, цитотоксина, ингибитора рецептора интерлейкина 6 (IL-6R), ингибитора рецептора интерлейкина 4 (IL-4R), ингибитора IL-10, IL-2, IL-7, IL-21, IL-15, конъюгата антитела и лекарственного средства, противовоспалительного лекарственного средства и диетической добавки.
25. Способ по п.1, в котором HCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; HCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; LCDR1 антитела к PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; LCDR2 антитела к PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и LCDR3 антитела к PD-1 или его антиген связывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.
26. Способ по п.25, в котором HCVR содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и LCVR содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.
27. Способ по любому из пп.1-26, в котором антитело к PD-1 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.
28. Способ по п.1, в котором A-HCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14; A-HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; A-HCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; LCDR1 первого антигенсвязывающего плеча биспецифического антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17; LCDR2 первого антигенсвязывающего плеча биспецифического антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; и LCDR3 первого антигенсвязывающего плеча биспецифического антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19.
29. Способ по п.28, в котором A-HCVR содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и LCVR первого антигенсвязывающего плеча биспецифического антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12.
30. Способ по п.1, в котором B-HCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:

20; В-НСДР2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21; В-НСДР3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22; ВСДР1 второго антигенсвязывающего плеча биспецифического антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17; ВСДР2 второго антигенсвязывающего плеча биспецифического антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; и ВСДР3 второго антигенсвязывающего плеча биспецифического антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19.

31. Способ по п.30, в котором В-НСВР содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и ВСВР второго антигенсвязывающего плеча биспецифического антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12.

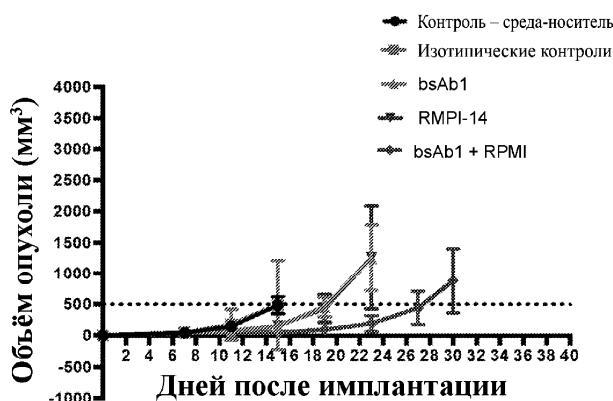
32. Применение выделенного антитела в терапевтически эффективном количестве или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связывают белок-1 запрограммированной гибели клеток (PD-1), в комбинации с выделенным биспецифическим антителом в терапевтически эффективном количестве, содержащим первое антигенсвязывающее плечо, которое специфически связывает CD20, и второе антигенсвязывающее плечо, которое специфически связывает CD3, для лечения или ингибирования роста опухоли, представляющей собой В-клеточную злокачественную опухоль у субъекта, причем:

антитело к PD-1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (CDR) (НСДР1, НСДР2 и НСДР3) вариабельной области тяжелой цепи (НСВР), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и три CDR легкой цепи (ВСДР1, ВСДР2 и ВСДР3) вариабельной области легкой цепи (ВСВР), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2;

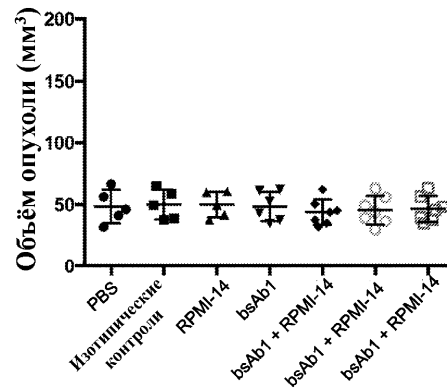
первое антигенсвязывающее плечо биспецифического антитела содержит три CDR тяжелой цепи (А-НСДР1, А-НСДР2 и А-НСДР3) вариабельной области тяжелой цепи (А-НСВР), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и три CDR легкой цепи (А-ВСДР1, А-ВСДР2 и А-ВСДР3) вариабельной области легкой цепи (А-ВСВР), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12;

второе антигенсвязывающее плечо биспецифического антитела содержит три CDR тяжелой цепи (В-НСДР1, В-НСДР2 и В-НСДР3) вариабельной области тяжелой цепи (В-НСВР), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и три CDR легкой цепи (В-ВСДР1, В-ВСДР2 и В-ВСДР3) вариабельной области легкой цепи (В-ВСВР), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и количество антитела к PD-1 или его антигенсвязывающего фрагмента составляет 1-3 мг/кг веса тела субъекта, и количество биспецифического антитела составляет от 10 до 8000 мкг.

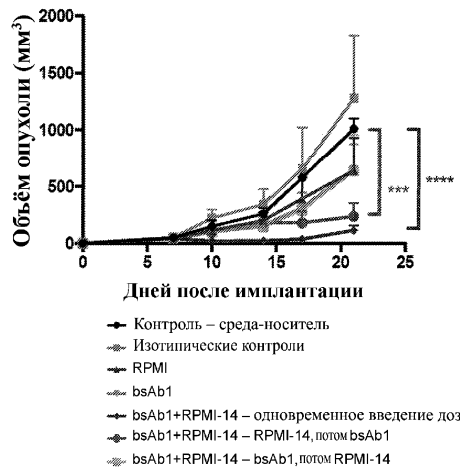
33. Применение по п.30, причем В-клеточная злокачественная опухоль выбрана из группы, состоящей из лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы, фолликулярной лимфомы, мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы, лимфоплазмоцитарной лимфомы, лимфомы из клеток маргинальной зоны, лимфомы из клеток мантийной зоны, диффузной В-крупноклеточной лимфомы, В-клеточных форм лимфомы, лимфоматозного гранулематоза, лимфомы Беркитта, острого лимфобластного лейкоза, волосатоклеточного лейкоза и В-клеточного хронического лимфоцитарного лейкоза.



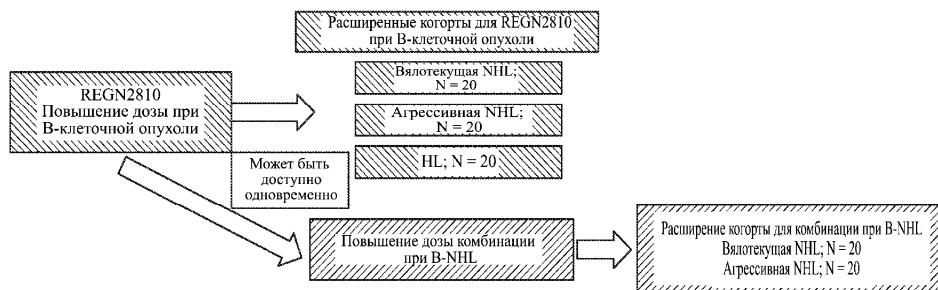
Фиг. 1



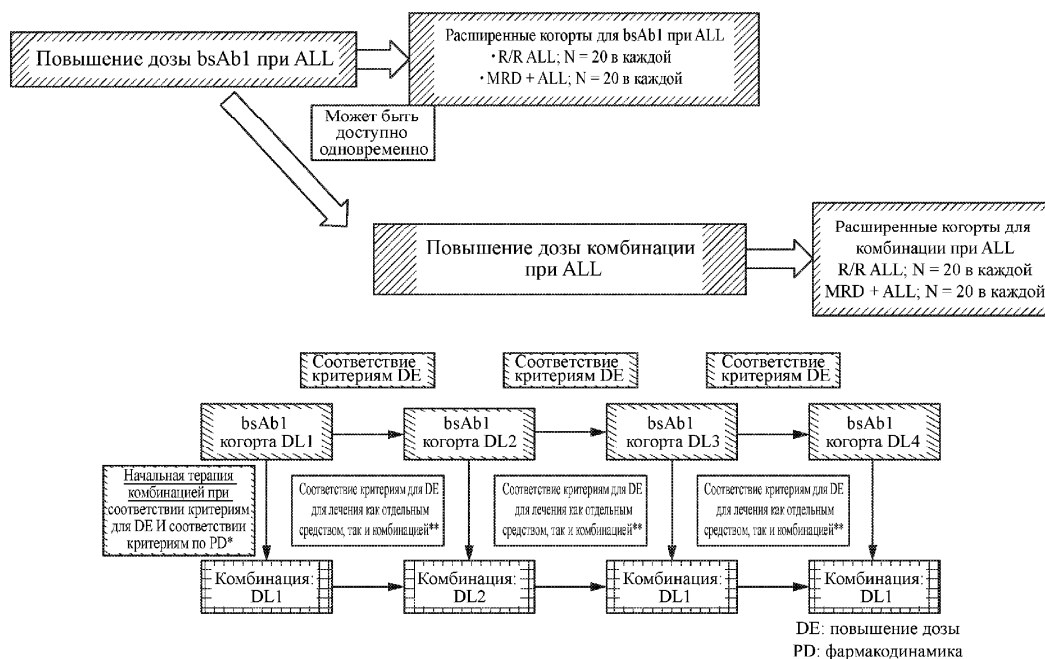
Фиг. 2



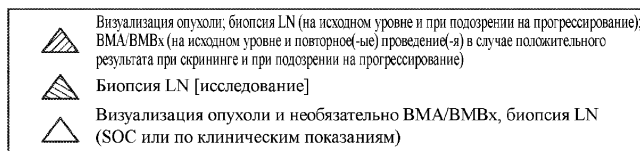
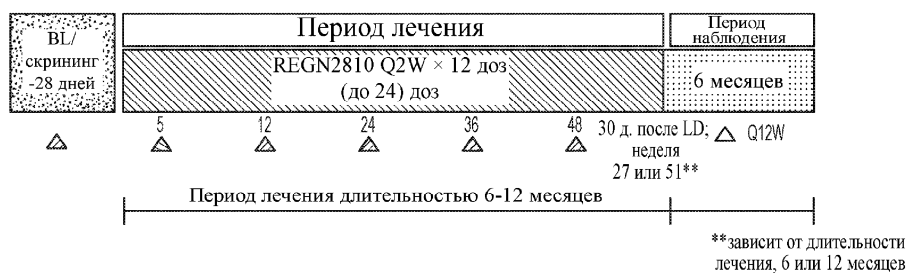
Фиг. 3



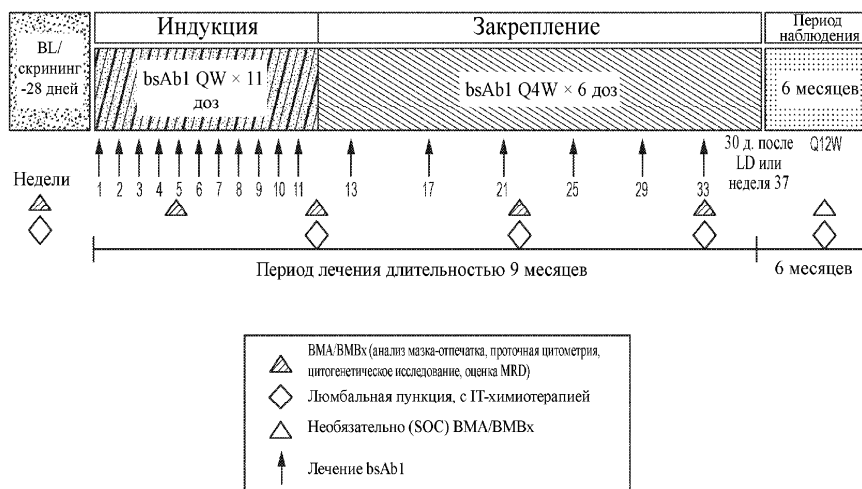
Фиг. 4



Фиг. 5



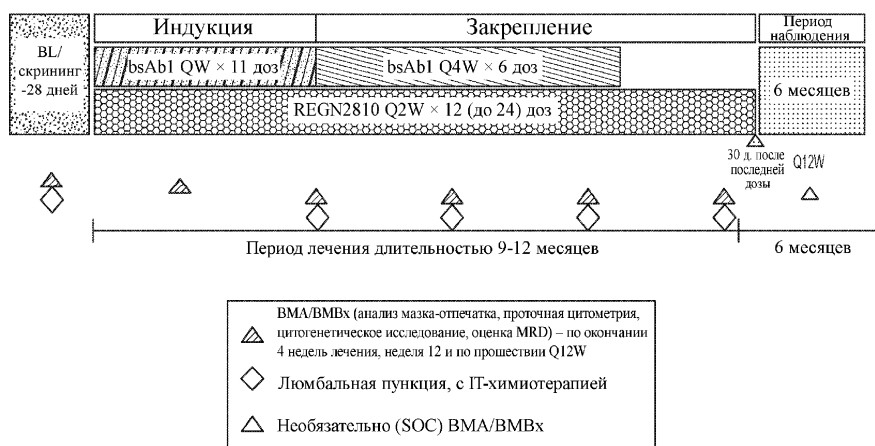
Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8



Фиг. 9



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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