

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **045410**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.11.23

(21) Номер заявки
202192550

(22) Дата подачи заявки
2020.03.20

(51) Int. Cl. *A61P 37/08* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(54) **КОМБИНАЦИЯ ИНГИБИТОРОВ ПУТИ IL-4/IL-13 И АБЛЯЦИЯ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АЛЛЕРГИИ**

(31) **62/822,022; 62/957,550**

(32) **2019.03.21; 2020.01.06**

(33) **US**

(43) **2021.12.01**

(86) **PCT/US2020/023988**

(87) **WO 2020/191346 2020.09.24**

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

(72) Изобретатель:
**Эсрат Себлюонджел, Лимнандер
Андре, Ореngo Джейми, Янкопулос
Джордж Д., Мерфи Эндрю Дж. (US)**

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

(56) WO-A1-2013116287
WO-A2-2008116149
US-A1-2019040126
WO-A1-2018201051
WO-A1-2014122144
WO-A1-2018151836
BLANKESTIJN MARK A. ET AL.: "Could daratumumab be used to treat severe allergy?", JOURNAL OF ALLERGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 139, no. 5, 19 January 2017 (2017-01-19), page 1677, XP029997492, ISSN: 0091-6749, DOI: 10.1016/J.JACI.2016.12.955, the whole document
KIRAN KUMAR MUDNAKUDU NAGARAJU ET AL.: "Bortezomib treatment diminishes hazelnut-induced intestinal anaphylaxis in mice: Immunomodulation", EUROPEAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 46, no. 7, 11 May 2016 (2016-05-11), pages 1727-1736, XP055708739, Weinheim, ISSN: 0014-2980, DOI: 10.1002/eji.201545918, the whole document
OLIVER WINTER ET AL.: "Pathogenic Long-Lived Plasma Cells and Their Survival Niches in Autoimmunity, Malignancy, and Allergy", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 189, no. 11, 19 November 2012 (2012-11-19), pages 5105-5111, XP055708694, US, ISSN: 0022-1767, DOI: 10.4049/jimmunol.1202317, the whole document

(57) В изобретении представлены способы лечения аллергии, включающие выбор пациента с аллергией и введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути IL-4/IL-13 (например, антитела против рецептора IL-4 или его антигенсвязывающего фрагмента) в комбинации с терапевтически эффективным количеством средства, которое истощает плазматические клетки (например, биспецифичного антитела против ВСМА/против CD3). В некоторых вариантах осуществления средство абляции плазматических клеток, такое как биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3, удаляет плазматические клетки, включая плазматические клетки IgE+, тогда как ингибитор пути IL-4/IL-13 предотвращает образование новых плазматических клеток IgE+, таким образом устраняя специфичный к аллергену IgE у пациента.

B1**045410****045410 B1**

Ссылка на родственные заявки

Согласно настоящей заявке, поданной 20 марта 2020 года в виде международной заявки на патент PCT, испрашивается приоритет в соответствии с предварительными заявками на выдачу патента США №№ 62/822022, поданной 21 марта 2019 года, и 62/957550, поданной 6 января 2020 года, полное содержание каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки.

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее раскрытие относится к способам лечения аллергии, включающим введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора пути IL-4/IL-13 в комбинации с терапевтически эффективным количеством средства абляции плазматических клеток.

Предшествующий уровень техники изобретения

Аллергии и аллергические заболевания представляют собой серьезное медицинское состояние с последствиями в диапазоне от не представляющих угрозы для жизни реакций, которые проходят с течением времени, до представляющих угрозу для жизни эффектов, таких как анафилаксия. Аллергические реакции могут возникать в результате контакта или воздействия множества продуктов, таких как некоторые пищевые продукты, яд насекомых, материал растительного происхождения (например, цветочная пыльца), химические вещества, лекарственные средства/лекарства и шерсть животных. На патофизиологию аллергии влияет сложное взаимодействие между сенсибилизацией, опосредованной иммуноглобулином E (IgE), иммунной системой и факторами окружающей среды. Современные варианты лечения аллергии включают предотвращение, фармакологическое лечение симптомов и профилактику с использованием специфичной к аллергену иммунотерапии (SIT). К сожалению, эти текущие стратегии лечения часто являются неадекватными, дорогими, непрактичными или сопряжены со значительным риском. Например, избежать аллергена не всегда возможно, и это может отрицательно сказаться на качестве жизни пациента и лица, осуществляющего уход. С другой стороны, иммунотерапевтические подходы включают преднамеренное введение аллергена восприимчивым людям и, следовательно, по своей природе являются рискованными с возможностью нежелательных тяжелых аллергических реакций или анафилаксии. Соответственно, в данной области существует неудовлетворенная потребность в новых терапевтических подходах, которые предотвращают или лечат аллергии или аллергические реакции и снижают риск развития аллергической реакции.

Сущность изобретения

В одном аспекте в настоящем раскрытии представлены способы лечения аллергии, аллергической реакции или аллергического расстройства для профилактики или уменьшения тяжести аллергической реакции, или для уменьшения, или устранения специфичного к аллергену сывороточного IgE у субъекта. В некоторых вариантах осуществления способ предусматривает введение субъекту (например, субъекту, имеющему аллергию, аллергическое расстройство, нарушение активации тучных клеток или мастоцитоз) ингибитора пути IL-4/IL-13 и средства абляции плазматических клеток.

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие включает в себя способы лечения аллергии или профилактики, или уменьшения тяжести аллергической реакции, включающие: (а) выбор субъекта с аллергическим заболеванием или расстройством, нарушением активации тучных клеток или мастоцитозом; и (b) введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора пути IL-4/IL-13 и терапевтически эффективного количества средства абляции плазматических клеток.

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие включает в себя способы лечения аллергии или профилактики, или уменьшения тяжести аллергической реакции, включающие: (а) выбор субъекта с аллергическим заболеванием или расстройством, нарушением активации тучных клеток или мастоцитозом; и (b) введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора пути IL-4/IL-13 и средства абляции плазматических клеток.

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие включает в себя способы лечения аллергии или профилактики, или уменьшения тяжести аллергической реакции, включающие: (а) выбор субъекта с аллергическим заболеванием или расстройством, нарушением активации тучных клеток или мастоцитозом, причем субъект получает исходную схему лечения, предусматривающую одну или несколько доз ингибитора пути IL-4/IL-13; и (b) введение по меньшей мере одной дозы средства абляции плазматических клеток.

В одном варианте осуществления введение ингибитора пути IL-4/IL-13 предотвращает образование новых плазматических клеток IgE⁺, а введение средства абляции плазматических клеток приводит к устранению находящихся в костном мозге плазматических клеток IgE⁺, таким образом устраняя специфичный к аллергену сывороточный IgE.

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие включает в себя способы повышения эффективности и/или переносимости схемы иммунотерапии у субъекта, имеющего аллергию. В некоторых вариантах осуществления способ предусматривает введение субъекту ингибитора пути IL-4/IL-13 и средства абляции плазматических клеток перед схемой иммунотерапии или одновременно с ней. В некоторых вариантах осуществления схемой иммунотерапии является пероральная схема иммунотерапии (OIT). В некоторых вариантах осуществления схемой иммунотерапии является подкожная схема имму-

нотерапии (SCIT). В некоторых вариантах осуществления иммунотерапией является схема специфичной к аллергену иммунотерапии для пищевого аллергена (например, аллергена арахиса). В некоторых вариантах осуществления иммунотерапией является схема специфичной к аллергену иммунотерапии для аллергена окружающей среды.

В одном варианте осуществления способов, раскрытых в данном документе, аллергическое заболевание или расстройство выбрано из группы, состоящей из аллергической астмы, сенной лихорадки, хронической крапивницы, пищевой аллергии, аллергии на цветочную пыльцу и аллергии на аллерген окружающей среды. В одном варианте осуществления у субъекта существует риск анафилаксии, вызванной аллергеном. В одном варианте осуществления у субъекта имеется сезонная аллергия. В одном варианте осуществления у субъекта имеется тяжелая аллергия. В одном варианте осуществления у субъекта имеется аллергия на один или несколько аллергенов, выбранных из группы, состоящей из молока, молочного продукта, яйца, сельдерея, кунжута, пшеницы, мяса, фруктов, сои, рыбы, моллюсков, сахара, арахисов, бобовых, древесного ореха, пыли, пылевого клеща, цветочной пыльцы, яда насекомых, плесени, меха животных, шерсти животных, шерсти, латекса, металла, бытового чистящего средства, моющего средства, лекарств, косметики, парфюмерии, лекарственных средств, таких как пенициллин, сульфаниламиды или салицилат, терапевтических моноклональных антител (например, цетуксимаба), амброзии, травы и березы. В одном варианте осуществления аллерген содержится в пищевом продукте, выбранном из группы, состоящей из молока, молочного продукта, яйца, сельдерея, кунжута, пшеницы, мяса, фруктов, сои, рыбы, моллюсков, сахара, арахисов, бобовых и древесного ореха. В одном варианте осуществления аллерген представляет собой непившей аллерген, выбранный из группы, состоящей из пыли, пылевого клеща, цветочной пыльцы, яда насекомых, плесени, меха животных, шерсти животных, шерсти, латекса, металла, бытового чистящего средства, моющего средства, лекарств, косметики, парфюмерии, лекарственных средств, таких как пенициллин, сульфаниламиды или салицилат, терапевтических моноклональных антител (например, цетуксимаба), амброзии, травы и березы.

В одном варианте осуществления способов, раскрытых в данном документе, ингибитор пути IL-4/IL-13 выбран из группы, состоящей из антитела против IL-4, антитела против IL-13, биспецифичного антитела против IL-4/IL-13, ингибитора рецептора IL-4 (IL-4R), ловушки IL-4, ловушки IL-5 и антитела против IL-4R. В одном варианте осуществления ингибитором пути IL-4/IL-13 является антитело против IL-4 (например, пасколизумаб). В другом варианте осуществления ингибитором пути IL-4/IL-13 является антитело против IL-13 (например, тралокинумаб, лебрикизумаб, дектрекумаб, GSK679586 или MEDI7836). В другом варианте осуществления ингибитором пути IL-4/IL-13 является биспецифичное антитело против IL-4/IL-13 (например, ромилкимаб). В другом варианте осуществления ингибитором пути IL-4/IL-13 является ингибитор IL-4R (например, мутеин IL-4, такой как питракинра, или антитело против IL-4R). В другом варианте осуществления ингибитором пути IL-4/IL-13 является антитело против IL-4R. В другом варианте осуществления ингибитором пути IL-4/IL-13 является ловушка IL-4 или ловушка IL-5.

В одном варианте осуществления ингибитором пути IL-4/IL-13 является антитело против IL-4R или его антигенсвязывающий фрагмент. В одном варианте осуществления антитело против IL-4R содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), которая содержит три определяющих комплементарность области (CDR) (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) тяжелой цепи, и вариабельную область легкой цепи (LCVR), которая содержит три CDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) легкой цепи, причем: HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; LCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; а LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8. В другом варианте осуществления антитело против IL-4R содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи (LCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. В другом варианте осуществления антитело против IL-4R содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9. В другом варианте осуществления антитело против IL-4R содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем легкая цепь имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10. В другом варианте осуществления антитело против IL-4R содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, а легкая цепь имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10. В другом варианте осуществления ингибитором пути IL-4/IL-13 является дупилумаб или его биоэквивалент. В другом варианте осуществления ингибитором пути IL-4/IL-13 выбран из группы, состоящей из дупилумаба, пасколизумаба, AMG317, MEDI2045, MEDI9314, тралокинумаба, лебрикизумаба, анрукинумаба, дектрекумаба, GSK679586, MEDI7836, ромилкимаба, ловушки IL-4, ловушки IL-5, AER-003 и питракинры.

В одном варианте осуществления способов, раскрытых в данном документе, средство абляции плазматических клеток выбрано из группы, состоящей из средства, нацеленного на В-клеточный антиген созревания (BCMA), ингибитора протеасом, ингибитора гистондеацетилазы, ингибитора фактора активации В-клеток (BAFF) и ингибитора лиганда, индуцирующего пролиферацию А (APRIL; CD256). В од-

ном варианте осуществления нацеленное на ВСМА средство выбрано из группы, состоящей из биспецифичного антитела против ВСМА/против CD3, химерного антигенного рецептора против ВСМА и антитела против ВСМА, конъюгированного с цитотоксичным лекарственным средством.

В одном варианте осуществления средством абляции плазматических клеток является биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий (а) первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с ВСМА; и (б) второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3. В одном варианте осуществления первый антигенсвязывающий домен содержит три CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащие вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12; и три CDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) легкой цепи, содержащие вариабельную область легкой цепи (LCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В дополнительном варианте осуществления HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14; HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22; LCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24; а LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26. В другом варианте осуществления второй антигенсвязывающий домен содержит три CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащие вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 28 и 36; и три CDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) легкой цепи, содержащие вариабельную область легкой цепи (LCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В дополнительном варианте осуществления HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30 или 38; HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32 или 40; HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34 или 42; LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22; LCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24; а LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26. В одном варианте осуществления биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 содержит: (а) первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с ВСМА и который содержит три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи, причем шесть CDR HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14-16-18-22-24-26; и (б) второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с CD3 и который содержит три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи, причем шесть CDR HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 30-32-34-22-24-26. В одном варианте осуществления биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 содержит: (а) первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с ВСМА и который содержит три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи, причем шесть CDR HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14-16-18-22-24-26; и (б) второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с CD3 и который содержит три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи, причем шесть CDR HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 38-40-42-22-24-26. В одном варианте осуществления биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 содержит: (а) первый антигенсвязывающий домен, содержащий HCVR согласно SEQ ID NO: 12 и LCVR согласно SEQ ID NO: 20; и (б) второй антигенсвязывающий домен, содержащий HCVR согласно SEQ ID NO: 28 и LCVR согласно SEQ ID NO: 20. В одном варианте осуществления биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 содержит: (а) первый антигенсвязывающий домен, содержащий HCVR согласно SEQ ID NO: 12 и LCVR согласно SEQ ID NO: 20; и (б) второй антигенсвязывающий домен, содержащий HCVR согласно SEQ ID NO: 36 и LCVR согласно SEQ ID NO: 20.

В одном варианте осуществления ингибитор пути IL-4/IL-13 вводят перед средством абляции плазматических клеток. В одном варианте осуществления ингибитор пути IL-4/IL-13 вводят после средства абляции плазматических клеток. В одном варианте осуществления введение ингибитора пути IL-4/IL-13 в комбинации со средством абляции плазматических клеток блокирует выработку IgE и удаляет специфичный к аллергену IgE из сыворотки у пациента по сравнению с субъектом, получавшим лечение одним из терапевтических средств в качестве монотерапии.

В другом варианте осуществления одну или несколько доз ингибитора пути IL-4/IL-13 вводят в комбинации с одной или несколькими дозами средства абляции плазматических клеток. В другом варианте осуществления по меньшей мере одна доза ингибитора пути IL-4/IL-13 содержит от приблизительно 0,1 до приблизительно 50 мг/кг веса тела субъекта. В другом варианте осуществления по меньшей мере одна доза ингибитора пути IL-4/IL-13 содержит от приблизительно 0,05 до приблизительно 600 мг ингибитора. В другом варианте осуществления по меньшей мере одна доза средства абляции плазматических клеток содержит от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг веса тела субъекта. В другом варианте осуществления по меньшей мере одна доза средства абляции плазматических клеток содержит от приблизительно 0,05 до приблизительно 500 мг средства.

В другом варианте осуществления способ дополнительно включает в себя введение по меньшей мере одного дополнительного терапевтического средства или применение терапии. В другом варианте

осуществления дополнительное терапевтическое средство или терапия включает в себя антагонист IgE, антигистаминное средство, противовоспалительное средство, кортикостероид, антагонист лейкотриена, ингибитор тучных клеток, бронхиальный расширитель, противоотечное средство, эпинефрин, антагонист IL-1, антагонист IL-5, антагонист IL-31, антагонист IL-33, антагонист IL-25, интерферон γ , антагонист TNF и/или антагонист TSLP.

В другом аспекте в настоящем раскрытии представлены фармацевтические композиции и комбинации для лечения аллергии, аллергической реакции или аллергического расстройства для профилактики или уменьшения тяжести аллергической реакции, для уменьшения или устранения специфичного к аллергену сывороточного IgE у субъекта или для повышения эффективности и/или переносимости схемы иммунотерапии у субъекта, имеющего аллергию. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция или комбинация содержит ингибитор пути IL-4/IL-13 (например, антитело против IL-4R α) и средство абляции плазматических клеток (например, нацеленное на ВСМА средство). В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция или комбинация содержит терапевтически эффективное количество ингибитора пути IL-4/IL-13 (например, антитело против IL-4R α) и терапевтически эффективное количество средства абляции плазматических клеток (например, средства, нацеленного на ВСМА). В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция или комбинация содержит субтерапевтическую дозу ингибитора пути IL-4/IL-13 (например, антитела против IL-4R α) и/или средства абляции плазматических клеток (например, средства, нацеленного на ВСМА).

В еще одном аспекте в настоящем раскрытии представлено применение ингибитора пути IL-4/IL-13 (например, антитела против IL-4R α) и средства абляции плазматических клеток (например, средства, нацеленного на ВСМА) при получении лекарственного средства для лечения аллергии, аллергической реакции или аллергического расстройства для профилактики или уменьшения тяжести аллергической реакции, для уменьшения или устранения специфичного к аллергену сывороточного IgE у субъекта или для повышения эффективности и/или переносимости схемы иммунотерапии у субъекта, имеющего аллергию. В некоторых вариантах осуществления один или оба ингибитора пути IL-4/IL-13 и средства абляции плазматических клеток используют в терапевтически эффективном количестве. В некоторых вариантах осуществления один или оба ингибитора пути IL-4/IL-13 и средства абляции плазматических клеток используют в субтерапевтической дозе.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 представлено схематичное изображение воздействия клеща домашней пыли (HDM) и протокола лечения антителами согласно исследованию, описанному в примере 1.

На фиг. 2A показаны уровни сывороточного IgE при воздействии HDM в течение 11 недель с последующим 1-недельным отдыхом у мышей, получавших лечение либо физиологическим раствором, либо без антител, либо антителом изотипического контроля, либо REGN5459 (биспецифичным антителом против ВСМА x против CD3), либо REGN1103 (антителом против IL-4R), либо комбинацией REGN5459 и REGN1103 согласно исследованию, описанному в примере 1. Звездочки (*) указывают степень статистической значимости относительно изотипических контролей (IgG).

На фиг. 2B показаны уровни сывороточного IgE при воздействии HDM в течение 11 недель с последующими 6 неделями отдыха у мышей, получавших лечение либо физиологическим раствором, либо без антител, либо антителом изотипического контроля, либо REGN5459 (биспецифичным антителом против ВСМА x против CD3), либо REGN1103 (антителом против IL-4R), либо комбинацией REGN5459 и REGN1103 согласно исследованию, описанному в примере 1. Звездочки (*) указывают степень статистической значимости относительно изотипических контролей (IgG).

На фиг. 3 представлено схематичное изображение воздействия HDM и протокола лечения антителами согласно исследованию, описанному в примере 2.

На фиг. 4A показаны уровни специфичного к HDM сывороточного IgE у мышей, подвергнутых продолжительному воздействию HDM и через 1 неделю после лечения биспецифичным антителом против ВСМА x против CD3 (REGN5459) или изотипическим контролем (REGN4460) согласно исследованию, описанному в примере 2. Звездочки (*) указывают степень статистической значимости относительно изотипических контролей (IgG). LLOQ=нижний предел количественного определения.

На фиг. 4B показаны уровни специфичного к HDM сывороточного IgE у мышей, подвергнутых продолжительному воздействию HDM и через 3 недели после лечения биспецифичным антителом против ВСМА x против CD3 (REGN5459) или изотипическим контролем (REGN4460) согласно исследованию, описанному в примере 2. Звездочки (*) указывают степень статистической значимости относительно изотипических контролей (IgG).

На фиг. 4C показаны уровни специфичного к HDM сывороточного IgE у мышей, подвергнутых продолжительному воздействию HDM и через 5 недель после лечения биспецифичным антителом против ВСМА x против CD3 (REGN5459) или изотипическим контролем (REGN4460) согласно исследованию, описанному в примере 2. Звездочки (*) указывают степень статистической значимости относительно изотипических контролей (IgG).

На фиг. 5 показано действие биспецифичного антитела против ВСМА x против CD3 и антитела против IL-4R α , отдельно или в комбинации, на плазматические клетки IgE костного мозга через 5 недель после введения

биспецифичного антитела против ВСМА х против CD3. Звездочки (*) указывают степень статистической значимости относительно изотипических контролей (IgG); * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$; **** $p \leq 0,0001$.

На фиг. 6 представлено схематичное изображение воздействия HDM и протокола лечения антителами согласно исследованию, описанному в примере 4.

На фиг. 7 показано действие биспецифичного антитела против ВСМА х против CD3 и антитела против IL-4R α , отдельно или в комбинации, на уровне специфичного к HDM сывороточного IgE. группы лечения описаны в примере 4 и таблице 7 и включают в себя: группу А (физиологический раствор), группу В (HDM в течение 12 недель, без антител), группу С (HDM в течение 15 недель, без антител), группу D (HDM в течение 15 недель, антитела изотипического контроля), группу E (HDM в течение 15 недель, биспецифичное антитело против ВСМА х против CD3), группу F (HDM в течение 15 недель, антитело против IL-4R α) и группу G (HDM в течение 15 недель, антитело против IL-4R α и биспецифичное антитело против ВСМА х против CD3). Статистическую значимость сравнивали между группами лечения, как показано на вкладке. ns=статистически не значимо; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$; **** $p \leq 0,0001$. LLOQ=нижний предел количественного определения.

На фиг. 8A-8D показано действие биспецифичного антитела против ВСМА х против CD3, отдельно или в комбинации с антителом против IL-4R α , на общее число плазматических клеток костного мозга (фиг. 8A), плазматические клетки IgE костного мозга (фиг. 8B), на общее число плазматических клеток селезенки (фиг. 8C) и плазматические клетки IgE селезенки (фиг. 8D). группы лечения описаны в примере 4 и табл. 7 и включают в себя: группу А (физиологический раствор), группу В (HDM в течение 12 недель, без антител), группу С (HDM в течение 15 недель, без антител), группу D (HDM в течение 15 недель, антитела изотипического контроля), группу E (HDM в течение 15 недель, биспецифичное антитело против ВСМА х против CD3), группу F (HDM в течение 15 недель, антитело против IL-4R α) и группу G (HDM в течение 15 недель, антитело против IL-4R α и биспецифичное антитело против ВСМА х против CD3). Статистическую значимость сравнивали между группами лечения, как показано на вкладке. ns=статистически не значимо; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$; **** $p \leq 0,0001$.

Подробное раскрытие изобретения

Следует понимать, что настоящее раскрытие не ограничено конкретными описанными способами и экспериментальными условиями, поскольку такие способы и условия можно менять. Также следует понимать, что терминология, использованная в данном документе, предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения, и что объем настоящего раскрытия будет ограничен только приложенной формулой изобретения.

Если не указано иное, все технические и научные термины, использованные в данном документе, имеют то же значение, которое обычно понятно специалисту в области, к которой относится раскрытие. В рамках настоящего изобретения термин "приблизительно" при использовании со ссылкой на конкретное приведенное числовое значение означает, что значение может отличаться от указанного значения не более чем на 1%. Например, в рамках настоящего изобретения выражение "приблизительно 100" включает в себя 99 и 101 и все значения между ними (например, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4 и так далее).

Хотя при практическом осуществлении настоящего раскрытия можно использовать любые способы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, которые описаны в данном документе, далее описаны предпочтительные способы и материалы.

Введение.

Аллергические симптомы, включая анафилаксию, обусловлены вызываемым аллергеном сшиванием специфичного к аллергену IgE, связанного с Fc ϵ R на эффекторных клетках (тучных клетках и базофилах), которые могут вызвать дегрануляцию тучных клеток. У аллергиков циркулирующий IgE возникает из секретирующих антитела клеток в костном мозге и из В-клеток, которые переключают класс, продуцируя новые продуцирующие IgE клетки. Секретирующие антитела клетки, которые накапливаются в костном мозге, являются долгоживущими и являются источником специфичного к аллергену IgE, даже в отсутствие аллергена. Кроме того, специфичный к аллергену IgE может быть долгоживущим у индивидуума, что подтверждается по меньшей мере следующим: (1) IgE сохраняется у подверженных атопии пациентов в отсутствие аллергена (Luger et al. *Allergol Int* 2010, 59:1-8); (2) аллергия может передаваться от подверженного атопии пациента неподверженному атопии индивиду во время трансплантации костного мозга от первого к последнему (Garzorz et al. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016, 30:1136-1139; Hallstrand et al., *Blood* 2004, 104:3086-3090); и (3) сывороточный IgE не исчезает у пациентов с помощью подходов абляции IgE+ В-клеток (Gauvreau et al. *Sci Transl Med* 2014, 6:243ra85).

В первоначальных исследованиях авторы настоящего раскрытия наблюдали, что лечение антителом против IL-4R предотвращало переключение класса и дифференцировку В-клеток в плазматические клетки, продуцирующие IgE, на мышинной модели индуцированного аллергеном воспаления легких, но не влияли на плазматические клетки IgE+ в костном мозге во время длительного воздействия аллергена. Таким образом, авторы изобретения предположили, что лечение ингибитором пути IL-4/IL-13 в комбинации с целевой абляцией долгоживущих плазматических клеток (включая плазматические клетки IgE+) может привести к блокированию выработки IgE из вновь образованных плазматических клеток IgE+, а также из плазматических клеток IgE+ в костном мозге. Как показано в данном документе, эта терапевти-

ческая комбинация может существенно уменьшить или полностью заблокировать выработку специфичного к аллергену IgE на животной модели воспаления легких 2 типа, индуцированного аллергеном (HDM). Следовательно, такая комбинация терапевтических средств также может быть полезна при лечении аллергического заболевания у субъектов с атопией.

Способы лечения аллергии.

В одном аспекте настоящее раскрытие связано с неожиданными результатами, полученными авторами изобретения, когда введение ингибитора пути IL-4/IL-13 (например, антитела против IL-4R) в комбинации со средством абляции плазматических клеток (например, биспецифичным антителом против ВСМА/против CD3) приводило к полному устранению специфичного к аллергену IgE в сыворотке субъектов в модели вызванного аллергеном хронического воспаления легких.

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления в настоящем раскрытии представлены способы лечения, облегчения или уменьшения тяжести по меньшей мере одного симптома или признака аллергии у субъекта. В некоторых вариантах осуществления в настоящем раскрытии представлены способы профилактики или уменьшения тяжести аллергической реакции у субъекта. В одном аспекте раскрытые способы включают выбор субъекта с аллергическим заболеванием или расстройством, нарушением активации тучных клеток или мастоцитозом; и введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора пути IL-4/IL-13 (например, антитела против IL-4, антитела против IL-13, биспецифичного антитела против IL-4/IL-13, ингибитора рецептора IL-4 (IL-4R), антитела против IL-4R или любого другого "ингибитора пути IL-4/IL-13", как описано в данном документе) и терапевтически эффективного количества средства абляции плазматических клеток (например, биспецифичного антитела против ВСМА/против CD3 или любого другого "средства абляции плазматических клеток", как описано в данном документе).

В настоящем раскрытии ссылки на любое конкретное антитело против IL-4R и/или любое конкретное средство абляции плазматических клеток предоставлены для иллюстрации репрезентативного ингибитора пути IL-4/IL-13 и репрезентативного средства абляции плазматических клеток, соответственно, и не ограничивают объем раскрытия, поскольку также можно использовать комбинации других ингибиторов пути IL-4/IL-13 и средств абляции плазматических клеток.

В рамках настоящего изобретения термины "лечить", "лечение" и тому подобное означают облегчение аллергических симптомов, устранение причины аллергических симптомов на временной или постоянной основе, или предотвращение или замедление появления аллергических симптомов у субъекта. В рамках настоящего изобретения термины также включают уменьшение или удаление специфичного к аллергену сывороточного IgE для предотвращения аллергической реакции. В некоторых вариантах осуществления термины относятся к снижению уровня сывороточного аллерген-специфического IgE по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80% или более по сравнению с исходным уровнем при введении ингибитора пути IL-4/IL-13 в комбинации со средством абляции плазматических клеток, предусмотренными способами настоящего раскрытия. В некоторых вариантах осуществления термины относятся к уменьшению уровня сывороточного аллерген-специфического IgE по сравнению с исходным уровнем при введении ингибитора пути IL-4/IL-13 в комбинации со средством абляции плазматических клеток, предусмотренными способами настоящего раскрытия.

В рамках настоящего изобретения выражение "нуждающийся в этом субъект" означает человека или животного, не являющегося человеком, которое имеет один или несколько симптомов или признаков аллергии или атопии, и/или у которого была диагностирована аллергия на аллерген. Термины "субъект" и "пациент" использованы в данном документе взаимозаменяемо. В некоторых вариантах осуществления термин "нуждающийся в этом субъект" включает в себя субъектов, которые имеют повышенный риск развития аллергии или аллергической реакции на аллерген. В некоторых вариантах осуществления термин включает в себя субъектов, у которых проявляется аллергенная сенсibilизация к одному или нескольким аллергенам. В некоторых вариантах осуществления способы настоящего раскрытия можно использовать для лечения субъектов, у которых проявляются повышенные уровни одного или нескольких биомаркеров сыворотки, включая, но без ограничения, общий IgE, специфичный к аллергену IgE, регулируемый тимусом и активацией хемокин (TARC), регулируемый активацией легочный хемокин (PARC), лактатдегидрогеназа (LDH) и/или периостин. Например, в некоторых вариантах осуществления способы настоящего раскрытия включают введение ингибитора пути IL-4/IL-13 в комбинации со средством абляции плазматических клеток пациентам с повышенными уровнями специфичного к аллергену сывороточного IgE.

Термин "нуждающийся в этом субъект" также включает в себя субъектов с аллергическим заболеванием или расстройством, выбранным из группы, состоящей из аллергической астмы, сенной лихорадки, хронической крапивницы, пищевой аллергии, аллергии на цветочную пыльцу и аллергии на (не пищевой) аллерген окружающей среды. Термин также включает в себя субъектов, которые страдают от тяжелой аллергии, вызванной одним или несколькими аллергенами. Например, в некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется "тяжелая" аллергия, если у субъекта имеется один или несколько тяжелых симптомов аллергической реакции, таких как симптом анафилаксии (например, затрудненное/шумное дыхание, отек языка, отек/стеснение в горле, затрудненная речь и/или хриплый голос, хрип

или постоянный кашель, тошнота/рвота, постоянное головокружение, обморок или потеря сознания).

В некоторых вариантах осуществления термин "нуждающийся в этом субъект" включает в себя субъекта, который подвержен аллергической реакции или имеет повышенный риск развития аллергической реакции на аллерген. Например, термин включает в себя субъектов, которые имеют риск анафилаксии, вызванной таким аллергеном, как арахис или пенициллин. В некоторых вариантах осуществления субъект может иметь повышенный риск развития аллергии или аллергической реакции на аллерген из-за сенсибилизации к указанному аллергену. Например, термин включает в себя субъектов, у которых проявляются повышенные уровни сывороточного IgE, специфичного к одному или нескольким аллергенам, ("сенсибилизация к аллергену"), например, к одному или нескольким пищевым аллергенам и/или аллергенам окружающей среды. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется уровень специфичного к аллергену IgE по меньшей мере приблизительно 0,35 кЕд/л (например, для одного или нескольких аллергенов, раскрытых в данном документе, таких как пищевой аллерген или аллерген окружающей среды, или аллерген, выбранный из группы, состоящей из молока, молочного продукта, яйца, сельдерея, кунжута, пшеницы, мяса, фруктов, сои, рыбы, моллюсков, сахара, арахисов, бобовых, древесного ореха, пыли, пылевого клеща, цветочной пыльцы, яда насекомых, плесени, меха животных, шерсти животных, шерсти, латекса, металла, бытового чистящего средства, моющего средства, лекарств, косметики, парфюмерии, лекарственных средств, таких как пенициллин, сульфаниламиды или салицилат, терапевтических моноклональных антител, амброзии, травы и березы). В контексте настоящего раскрытия термин "нуждающийся в этом субъект" также включает в себя субъектов, имеющих атопическое заболевание, и субъектов, которые имеют заболевание или нарушение, выбранное из группы, состоящей из атопического дерматита, астмы, аллергического ринита, эозинофильного эзофагита и пищевой аллергии. Термин "субъект" также включает в себя субъектов с повышенными уровнями сывороточного общего и специфичного к аллергену IgE или сывороточных хемокинов (например, CCL17 или CCL27), которые могут иметь повышенный риск развития аллергических реакций. В одном аспекте в настоящем раскрытии представлены способы снижения риска развития аллергии или аллергических реакций у восприимчивых субъектов.

В рамках настоящего изобретения термины "аллергический ответ", "аллергическая реакция", "аллергический симптом" и тому подобное включают один или несколько признаков или симптомов, выбранных из группы, состоящей из аллергической сыпи (например, крапивницы), ангионевротического отека, ринита, астмы, рвоты, чихания, насморка, воспаления носовых пазух, слезотечения, свистящего дыхания, бронхоспазма, снижения максимальной скорости выдоха (PEF), желудочно-кишечного расстройства, покраснения, опухших губ, опухшего языка, снижения артериального давления, анафилаксии и дисфункции/отказа органов. "Аллергический ответ", "аллергическая реакция", "аллергический симптом" и так далее также включает в себя такие иммунологические ответы и реакции, как, например, повышенная выработка IgE и/или повышенная выработка аллерген-специфического иммуноглобулина.

В рамках настоящего изобретения термин "аллерген" включает в себя любое вещество, химическое вещество, частицу или состав, который способен стимулировать аллергическую реакцию у восприимчивого индивидуума. Аллергены могут содержаться в пищевых продуктах или происходить из них, например, из молочных продуктов (например, коровьего молока), яйца, сельдерея, кунжута, пшеницы, мяса, сои, рыбы, моллюсков, сахаров (например, сахаров присутствующих в мясе, таких как альфа-галактоза), арахисов, других бобовых (например, фасоли, гороха, соевых бобов и так далее) и древесного ореха; аллерген, который содержится в пищевых продуктах или происходит из них, в данном документе называется "пищевой аллергена". Альтернативно, аллерген может содержаться в пищевом продукте или происходить из него, например, комнатный или уличный аллерген окружающей среды, например, из пыли (например, содержащей пылевого клеща), цветочной пыльцы, яда насекомых (например, яда пчел, ос, комаров, огненных муравьев и так далее), плесени, меха животных, шерсти животных, шерсти, латекса, металлов (например, никеля), бытовых чистящих средств, моющих средств, лекарств, косметики (например, парфюмерии и так далее), лекарственных средств (например, пенициллина, сульфаниламидов, салицилата и так далее), терапевтических моноклональных антител (например, цетуксимаба), амброзии, травы и березы. Иллюстративные аллергены цветочной пыльцы включают в себя, например, цветочную пыльцу деревьев, например, цветочную пыльцу березы, цветочную пыльцу кедра, цветочную пыльцу дуба, цветочную пыльцу ольхи, цветочную пыльцу граба, цветочную пыльцу конского каштана, цветочную пыльцу ивы, цветочную пыльцу тополя, цветочную пыльцу подорожника, цветочную пыльцу липы, цветочную пыльцу оливы, цветочную пыльцу *Ashe juniper* и цветочную пыльцу *Alstonia scholaris*. Другие примеры аллергенов можно найти в данном документе в другом месте.

Настоящее раскрытие включает в себя способы лечения аллергии, включая тяжелую аллергию, или профилактики, или уменьшения тяжести аллергической реакции, включающие введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора пути IL-4/IL-13 (например, антитела против IL-4R, как описано в данном документе) в комбинации с терапевтически эффективным количеством средства абляции плазматических клеток (например, биспецифичного антитела против ВСМА х против CD3, как описано в данном документе). В некоторых вариантах осуществления раскрытые способы нацелены на аллергическое заболевание или расстройство, нарушение активации тучных клеток или

мастоцитоз. В одном варианте осуществления аллергическое заболевание или расстройство выбрано из группы, состоящей из аллергической астмы, сенной лихорадки, хронической крапивницы, пищевой аллергии, аллергии на цветочную пыльцу и аллергии на (не пищевой) аллерген окружающей среды. В некоторых вариантах осуществления аллергическим заболеванием является пищевая аллергия, например, аллергия на арахис. В некоторых вариантах осуществления аллергическим заболеванием является тяжелая пищевая аллергия.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее раскрытие включает в себя способы лечения аллергии или профилактики, или уменьшения тяжести аллергической реакции, причем способы включают: (а) выбор пациента с аллергическим заболеванием или расстройством, нарушением активации тучных клеток или мастоцитозом, причем пациент получает исходную схему терапии, содержащую одну или несколько доз ингибитора пути IL-4/IL-13; и (б) введение по меньшей мере одной дозы средства абляции плазматических клеток. В этом аспекте способы усиливают терапевтическую эффективность ингибитора пути IL-4/IL-13 с уменьшением сывороточных уровней специфичного к аллергену IgE. В некоторых вариантах осуществления пациент получает терапевтическую схему, включающую одну или несколько доз ингибитора пути IL-4/IL-13 и вводит одну или несколько доз средства абляции плазматических клеток, таким образом усиливая противоаллергический эффект ингибитора пути IL-4/IL-13.

В некоторых вариантах осуществления раскрытые способы включают введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути IL-4/IL-13 и терапевтически эффективного количества средства абляции плазматических клеток в комбинации с дополнительным терапевтическим средством или терапией (например, схемой или процедурой). дополнительное терапевтическое средство или терапия может применяться для увеличения противоаллергической эффективности, для уменьшения токсичных эффектов одного или нескольких методов лечения и/или для уменьшения дозировки одного или нескольких методов лечения. В различных вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство или терапия может включать в себя одно или несколько из антагониста IgE, антигистаминного средства, противовоспалительного средства, кортикостероида, антагониста лейкотриена, ингибитора тучных клеток, бронхального расширителя, противоотечного средства, эпинефрина, антагониста IL-1, антагониста IL-5, антагониста IL-31, антагониста IL-33, антагониста IL-25, интерферона γ , антагониста TNF и антагониста TSLP.

Дополнительным терапевтическим средством может быть, например, другой антагонист IL-4R, антагонист IL-1 (в том числе, например, антагонист IL-1, приведенный в US 6927044), антагонист IL-6, антагонист IL-6R (включая, например, антитело против IL-6R, приведенное в US 7582298), антагонист IL-13, антагонист фактора некроза опухоли (TNF), антагонист IL-8, антагонист IL-9, антагонист IL-17, антагонист IL-5, антагонист IgE (например, антитело против IgE, такое как омализумаб), антагонист CD48, антагонист IL-31 (включая, например, приведенный в US 7531637), антагонист тимического стромального лимфопоэтина (TSLP) (включая, например, приведенный в US 2011/027468), интерферон-гамма (IFN γ), антибиотики, местные кортикостероиды, такролимус, пимекролимус, циклоспорин, азатиоприн, метотрексат, кромолин натрия, ингибиторы протеиназ, системные кортикостероиды, системная иммунотерапия, антигистаминные средства или их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления раскрытые способы введения терапевтически эффективного количества ингибитора пути IL-4/IL-13 и терапевтически эффективного количества средства абляции плазматических клеток приводят к уменьшению или исчезновению одного или нескольких симптомов или признаков аллергии по сравнению с не получавшим лечения субъектом или субъектом, получавшим лечение каким-либо ингибитором в виде монотерапии.

В некоторых вариантах осуществления раскрытые способы приводят к уменьшению, предпочтительно общему устранению специфичного к аллергену IgE у получавшего лечение субъекта. Например, раскрытые способы введения терапевтически эффективного количества ингибитора пути IL-4/IL-13 и терапевтически эффективного количества средства абляции плазматических клеток способствуют снижению в сыворотке по меньшей мере более, чем на приблизительно 50%, приблизительно 60%, приблизительно 70% или приблизительно 80% уровня специфичного к аллергену IgE у получавшего лечение субъекта по сравнению с не получавшим лечения субъектом или субъектом, получавшим лечение каким-либо ингибитором в виде монотерапии. В некоторых вариантах осуществления раскрытые способы приводят к полному устранению специфичного к аллергену сывороточного IgE у получавшего лечение субъекта по сравнению с субъектом, получавшим лечение каким-либо средством в виде монотерапии.

Согласно некоторым вариантам осуществления у субъекта может быть снижение уровня сывороточного IgE, специфичного к одному или нескольким аллергенам, после введения одной или нескольких доз ингибитора пути IL-4/IL-13 (например, антитела против IL-4R) в комбинации с одной или несколькими дозами средства абляции плазматических клеток (например, биспецифичного антитела против ВСМА/против CD3). Например, приблизительно на 8 день, 15 день, 22 день, 25 день, 29 день, 36 день, 43 день, 50 день, 57 день, 64 день, 71 день, 85 день или 112 день после введения одной или нескольких доз антитела против IL-4R (например, дупилумаба) в комбинации со средством абляции плазматических клеток у субъекта согласно настоящему раскрытию может быть снижение специфичного к аллергену IgE

приблизительно на 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или более по сравнению с исходным уровнем (причем "исходный уровень" определяют, как уровень специфичного к аллергену IgE у субъекта непосредственно перед первым введением).

Способы обнаружения и/или количественной оценки специфичного к аллергену IgE или общего IgE в сыворотке известны в данной области; наборы для таких измерений доступны из различных коммерческих источников; и различные коммерческие диагностические лаборатории предлагают услуги, которые также обеспечивают измерение таких уровней.

Например, Phadiatop™ представляет собой коммерчески доступный вариант сывороточного специфичного или антиген-специфичного теста на IgE, который был введен для скрининга аллергической сенсибилизации (Merrett et al. 1987, Allergy 17: 409-416). Тест предусматривает одновременное тестирование сывороточного специфического IgE к смеси релевантных аллергенов, вызывающих частую ингаляционную аллергию. Тест дает качественный результат, положительный или отрицательный, в зависимости от полученной флуоресцентной реакции. Когда образец пациента дает флуоресцентную реакцию выше или равную эталонной, отображается положительный результат теста. Образец пациента с более низкой флуоресцентной реакцией указывает на отрицательный результат теста. Настоящее раскрытие включает в себя способы, включающие выбор субъекта, который имеет положительный результат тестирования, и введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора пути IL-4/IL-13 в комбинации со средством абляции плазматических клеток.

В некоторых вариантах осуществления комбинация введенного терапевтического средства является безопасной и хорошо переносится субъектом, так что не существует никакого увеличения неблагоприятных побочных эффектов по сравнению с субъектом, получавшим лечение каким-либо терапевтическим средством в виде монотерапии.

Ингибиторы пути IL-4/IL-13.

Способы, раскрытые в данном документе, включают введение терапевтически эффективного количества ингибитора пути IL-4/IL-13 нуждающемуся в этом субъекту. В рамках настоящего изобретения "ингибитор пути IL-4/IL-13" (также называемый в данном документе "антагонист пути IL-4/IL-13", "блокатор пути IL-4/IL-13" и так далее) представляет собой любое средство, которое ингибирует или ослабляет по меньшей мере одно из: (i) связывания IL-4 и/или IL-13 со своими соответствующими рецепторами; (ii) передачи сигнала и/или активности IL-4 и/или IL-13; и/или (iii) нисходящей передачи сигнала/активности, которая обусловлена связыванием IL-4 и/или IL-13 со своими соответствующими рецепторами. Иллюстративные ингибиторы пути IL-4/IL-13 включают в себя, но без ограничения, антитела против IL-4 (например, антитела, раскрытые в патенте США 7740843 и публикациях заявок на патент США 2010/0297110 и 2016/0207995), антитела против IL-13 (например, антитела, раскрытые в патентах США 7501121, 7674459, 7807788, 7910708, 7915388, 7935343, 8088618, 8691233 и 9605065, публикациях заявок на патент США 2006/0073148 и 2008/0044420 и EP2627673B1), биспецифичные антитела, которые связываются с IL-4 и IL-13 (например, антитела, раскрытые в патенте США 8388965 и публикациях заявок на патент США 2011/0008345, 2013/0251718 и 2016/0207995), и ингибиторы рецептора IL-4 (IL-4R) (описанные ниже). части публикаций, процитированных в данном документе, в которых указаны ингибиторы пути IL-4/IL-13, включены в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления осуществления ингибитором пути IL-4/IL-13 может быть антитело, низкомолекулярное соединение, нуклеиновая кислота, полипептид или его функциональный фрагмент или вариант. Неограничивающие примеры подходящего ингибитора пути IL-4/IL-13 антитела включают антитела против IL-4, антитела против IL-13 и биспецифичные антитела против IL-4/IL-13, антитела против IL-4R и антигенсвязывающие фрагменты любого из вышеперечисленных. Другие неограничивающие примеры подходящих ингибиторов пути IL-4/IL-13 включают в себя: молекулы РНКи, такие как молекулы РНКи против IL-4 и РНКи против IL-13, антисмысловые молекулы, такие как антисмысловые РНК против IL-4 и антисмысловые РНК против IL-13 и доминантно-отрицательные белки, такие как доминантно-отрицательный белок IL-4, доминантно-отрицательный белок IL-13.

В рамках настоящего изобретения "ингибитор IL-4R" (также называемый в данном документе "ингибитор пути IL-4/IL-13", "антагонист IL-4R", "блокатор IL-4R", "блокатор IL-4R α " и так далее) представляет собой любое средство, которое связывается или взаимодействует с IL-4R α или лигандом IL-4R и ингибирует или ослабляет нормальную биологическую функцию передачи сигнала рецептора IL-4 1 типа и/или 2 типа. рецептор IL-44 1 типа представляет собой димерный рецептор, содержащий цепь IL-4R α и цепь γ . рецептор IL-4 2 типа представляет собой димерный рецептор, содержащий цепь IL-4R α и цепь IL-13R α 1. рецепторы IL-4 1 типа взаимодействуют и подвергаются стимуляции IL-4, тогда как рецепторы IL-4 2 типа взаимодействуют и подвергаются стимуляции IL-4 и IL-13. Таким образом, ингибиторы IL-4R, которые можно использовать в способах согласно настоящему раскрытию, могут функционировать посредством блокировки опосредованной IL-4 передачи сигнала, опосредованной IL-13 передачи сигнала или опосредованной как IL-4, так и IL-13 передачи сигнала. Таким образом, ингибиторы IL-4R согласно настоящему раскрытию могут предотвращать взаимодействие IL-4 и/или IL-13 с рецептором 1 типа или 2 типа.

Неограничивающие примеры категорий ингибиторов IL-4R включают мутеины IL-4 (например, питракину), низкомолекулярные ингибиторы IL-4R, аптамеры против IL-4R, ингибиторы IL-4R на основе пептидов (например, молекулы "пептител"), "рецепторные антитела" (например, сконструированные молекулы, содержащие связывающий лиганд домен компонента IL-4R) и антитела или антигенсвязывающие фрагменты антител, которые специфично связывают IL-4R α человека. В рамках настоящего изобретения ингибиторы IL-4R также включают антигенсвязывающие белки, которые специфично связывают IL-4 и/или IL-13.

Другие неограничивающие примеры подходящих ингибиторов пути IL-4/IL-13, которые можно использовать в контексте настоящего раскрытия включают в себя, например, питракину (AER-001; BAY-16-9996), аэродерму (AER-003) и антитела, называемые и известные в данной области как дупилумаб, пасколизумаб, AMG-317, MILR1444A, CAT-354, QAX576, анрукинзумаб (IMA-638), ISIS-369645 (AIR-645), IMA-026, APG-201, CNTO-607, MK-6105, MEDI9314, MEDI2045, тралокинумаб, лебрикизумаб, ромилкимаб и DOM-0910.

Антитела против IL-4R α и Их антигенсвязывающие фрагменты.

Согласно некоторым иллюстративным вариантам осуществления настоящего раскрытия ингибитором пути IL-4/IL-13 является антитело против IL-4R α или его антигенсвязывающий фрагмент. Термин "антитело", как использовано по всему настоящему раскрытию, включает в себя молекулы иммуноглобулина, содержащие четыре полипептидных цепи, две тяжелые (H) цепи и две легкая (L) цепи, соединенные дисульфидными связями, а также их мультимеры (например, IgM). В обычном антителе каждая тяжелая цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи (сокращенно обозначенную в данном документе HCVR или VH) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три домена, CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи (сокращенно обозначенную в данном документе LCVR или VL) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один домен (CL1). Области VH и VL можно дополнительно подразделить на области гипервариабельности, называемые определяющие комплементарность области (CDR), со вставками более консервативных областей, называемых каркасные области (FR). Каждая VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В различных вариантах осуществления раскрытия FR антитела (или его антигенсвязывающей части) могут быть идентичны последовательностям зародышевого типа человека или могут быть модифицированы естественным или искусственным путем. Консенсусная аминокислотная последовательность может быть определена на основе параллельного анализа двух или более CDR.

Термин "антитело", как использовано по всему настоящему раскрытию, включает в себя их антигенсвязывающие фрагменты - то есть антигенсвязывающие фрагменты полноразмерных молекул антител. Термины "антигенсвязывающая часть" антитела, "антигенсвязывающий фрагмент" антитела и тому подобное, как использовано по всему настоящему раскрытию, включают любые существующие в природе, получаемые ферментативно, синтетический или генетически сконструированный полипептид или гликопротеин, который специфично связывает антиген с образованием комплекса. Антигенсвязывающие фрагменты антител могут быть получены, например, из полноразмерных молекул антител с использованием любых подходящих стандартных методов, таких как протеолитическое расщепление или методы рекомбинантной геномной инженерии, включающие манипулирование и экспрессию ДНК, кодирующей вариабельные и необязательно константные домены антитела. Такая ДНК известна и/или легко доступна, например, из коммерческих источников, библиотек ДНК (включая, например, библиотеки фаг-антитело) или может быть синтезирована. ДНК может быть секвенирована и химически обработана или с использованием методов молекулярной биологии, например, для расположения одного или нескольких вариабельных и/или константных доменов с подходящей конфигурацией или для введения кодонов, создания остатков цистеина, модификации, добавления или удаления аминокислот и так далее.

Неограничивающие примеры антигенсвязывающих фрагментов включают в себя: (i) фрагменты Fab; (ii) фрагменты F(ab')₂; (iii) фрагменты Fd; (iv) фрагменты Fv; (v) одноцепочечные молекулы Fv (scFv); (vi) фрагменты dAb; и (vii) минимальные единицы распознавания, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариабельную область антител (например, выделенную определяющую комплементарность область (CDR), такую как пептид CDR3) или ограниченный пептид FR3-CDR3-FR4. Другие сконструированные молекулы, такие как доменно-специфичные антитела, однодоменные антитела, антитела с удаленным доменом, химерные антитела, антитела с привитой CDR, диатела, триатела, тетратела, минитела, нанотела (например, моновалентные нанотела, двухвалентные нанотела и так далее), небольшие модульные иммунофармацевтические вещества (SMIP) и вариабельные IgNAR домены акул также включены в выражение "антигенсвязывающий фрагмент", которое использовано по всему настоящему раскрытию.

Антигенсвязывающий фрагмент антител обычно будет содержать по меньшей мере один вариабельный домен. Вариабельный 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 в рамке с ними. В антигенсвязывающих фрагментах, имеющих домен VH, связанный с доменом VL, домены VH и VL могут быть расположены друг относительно друга с любым подходящим расположением. Например, переменная область может быть димерной и содержать димеры VH¹VH², VH¹VL или VL-VL. Альтернативно, антигенсвязывающий фрагмент антител может содержать мономерный домен VH или VL.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент антител 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 внутри антигенсвязывающего фрагмента антител согласно настоящему раскрытию, включают в себя: (i) VH¹CH1; (ii) VH¹CH₂; (iii) VH¹CH₃; (iv) VH¹CH1-CH₂; (v) VH¹CH1-CH₂-CH₃; (vi) VH¹CH₂-CH₃; (vii) VH¹CL; (viii) VL-CH1; (ix) VL-CH₂; (x) VL-CH₃; (xi) VL-CH1-CH₂; (xii) VL-CH1-CH₂-CH₃; (xiii) VL-CH₂-CH₃; и (xiv) VL-CL. В любой конфигурации переменных и константных доменов, включая любые иллюстративные конфигурации, перечисленные выше, переменные и константные домены могут быть либо непосредственно связаны друг с другом, либо могут быть связаны с помощью полноразмерной или частичной шарнирной или линкерной области. Шарнирная область может состоять по меньшей мере из 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или более) аминокислот, которые приводят к гибкой или полугибкой связи между соседними переменными и/или константными доменами в единой молекуле полипептида. Кроме того, антигенсвязывающий фрагмент антител согласно настоящему раскрытию может содержать гомодимер или гетеродимер (или другой мультимер) с любой конфигурацией переменного и константного домена, перечисленного выше, с нековалентной связью друг с другом и/или с одним или несколькими мономерными доменами VH или VL (например, с помощью дисульфидной связи (связей)).

Термин "антитело", как использовано по всему настоящему раскрытию, также включает в себя мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела. Мультиспецифичное антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела обычно будет содержать по меньшей мере два разных переменных домена, причем каждый переменный домен способен специфично связываться с отдельным антигеном или с различными эпитопами одного и того же антигена. формат любого мультиспецифичного антитела может быть адаптирован для использования в контексте антител или антигенсвязывающего фрагмента антител согласно настоящему раскрытию с использованием стандартных методов, доступных в данной области. Например, настоящее раскрытие включает в себя способы, включающие использование биспецифичных антител, в которых одно плечо иммуноглобулина специфично для IL-4R α или его фрагмента, а другое плечо иммуноглобулина специфично для второй терапевтической мишени или конъюгировано с терапевтическим фрагментом. Иллюстративные биспецифичные форматы, которые можно использовать в контексте настоящего раскрытия, включают, без ограничения, например, биспецифичные форматы на основе scFv или диател, молекулы слияния IgG-scFv, двойной переменный домен (DVD)-Ig, квадрому, выступы-во-впадины, общую легкую цепь (например, общую легкую цепь с выступами-во-впадины и так далее), CrossMab, CrossFab, тело (SEED), лейциновую застежку, Duobody, IgG1/IgG2, Fab двойного действия (DAF)-IgG и Биспецифичные форматы Mab² (см., например, Klein et al. 2012, mAbs 4(6):653-663 и ссылки, цитируемые там, для обзора вышеупомянутых форматов). Биспецифичные антитела также могут быть сконструированы с использованием конъюгации пептид/нуклеиновой кислоты, например, где природные аминокислоты с ортогональной химической реактивностью использованы для получения конъюгатов сайт-специфичное антитело-олигонуклеотид, которые затем самособираются в мультимерные комплексы с определенным составом, валентностью и геометрией. (См., например, Kazane et al. J. Am. Chem. Soc. 2013, 135(1):340-46).

Антитела, используемые в способах согласно настоящему раскрытию, могут быть человеческими антителами. Термин "человеческое антитело", как использовано по всему настоящему раскрытию, предназначен включать антитела, имеющие переменные и константные области, полученные из человеческих последовательностей зародышевого типа иммуноглобулина. человеческие антитела согласно раскрытию тем не менее могут содержать аминокислотные остатки, не кодируемые человеческими последовательностями зародышевого типа иммуноглобулина (например, мутации, введенные с помощью случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или посредством соматической мутации *in vivo*), например, в CDR и в частности, CDR3. Однако, термин "человеческое антитело", как использовано по всему настоящему раскрытию, не предназначено для включения антител, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии других видов млекопитающих, таких как мыши, были привиты на человеческие каркасные последовательности.

Антитела, используемые в способах согласно настоящему раскрытию, могут быть рекомбинантными человеческими антителами. Термин "рекомбинантное человеческое антитело", как использовано по всему настоящему раскрытию, предназначен для включения всех человеческих антител, которые получают, экспрессируют, создают или выделяют рекомбинантными способами, таких как антитела, экспрессируемые с использованием рекомбинантного вектора экспрессии, трансфицированного в клетку-хозяин (дополнительно описано ниже), антитела, выделенные из рекомбинантной комбинаторной библиотеки человеческих антител (дополнительно описано ниже), антитела, выделенные у животного (например,

мышь), которое является трансгенным по генам иммуноглобулина человека (см., например, Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295), или антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные с помощью любого другого средства, которое включает сплайсинг последовательностей гена иммуноглобулина человека с другими последовательностями ДНК. Такие рекомбинантные человеческие антитела имеют вариабельные и константные области, полученные из человеческих последовательностей зародышевого типа иммуноглобулина. Однако в некоторых вариантах осуществления такие рекомбинантные человеческие антитела подвергаются мутагенезу *in vitro* (или когда используют животное, трансгенное по последовательностям Ig человека, соматический мутагенез *in vivo*), и, таким образом, аминокислотные последовательности областей VH и VL рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые хотя и получены из последовательности VH и VL зародышевой линии человека и связаны с ними, могут не существовать в природе в репертуаре зародышевой линии человеческого антитела *in vivo*.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитела, используемые в способах согласно настоящему раскрытию, специфично связывают IL-4R α . Термин "специфично связывается" и тому подобное означает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент образует с антигеном комплекс, который является относительно стабильным в физиологических условиях. Способы определения, связывается ли антитело специфично с антигеном, хорошо известны в данной области и включают, например, равновесный диализ, поверхностный плазмонный резонанс и тому подобное. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело, которое "специфично связывает" IL-4R α , как использовано в контексте настоящего раскрытия, включает антитела, которые связывают IL-4R α или его часть с KD менее приблизительно 500 нМ, менее приблизительно 300 нМ, менее приблизительно 200 нМ, менее приблизительно 100 нМ, менее приблизительно 90 нМ, менее приблизительно 80 нМ, менее приблизительно 70 нМ, менее приблизительно 60 нМ, менее приблизительно 50 нМ, менее приблизительно 40 нМ, менее приблизительно 30 нМ, менее приблизительно 20 нМ, менее приблизительно 10 нМ, менее приблизительно 5 нМ, менее приблизительно 4 нМ, менее приблизительно 3 нМ, менее приблизительно 2 нМ, менее приблизительно 1 нМ или менее приблизительно 0,5 нМ при измерении в анализе поверхностного плазмонного резонанса. Однако выделенное антитело, которое специфично связывает человеческий IL-4R α , может иметь перекрестную реактивность с другими антигенами, такими как молекулы IL-4R α из других (нечеловеческих) видов.

Согласно некоторым иллюстративным вариантам осуществления настоящего раскрытия ингибитором пути IL-4/IL-13 является антитело против IL-4R α или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), вариабельную область легкой цепи (LCVR) и/или определяющие комплементарность области (CDR), содержащие любые аминокислотные последовательности антител против IL-4R, приведенные в патенте США № 7608693, включенном в данный документ посредством ссылки. В некоторых иллюстративных вариантах осуществления антитело против IL-4R α или его антигенсвязывающий фрагмент, который можно использовать в контексте способов согласно настоящему раскрытию, содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HCDR) вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и определяющую комплементарность область легкой цепи (LCDR) вариабельной области легкой цепи (LCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело против IL-4R α или его антигенсвязывающий фрагмент содержит три HCDR (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) и три LCDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), причем 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; а LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8. В других вариантах осуществления антитело против IL-4R или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HCVR, содержащую SEQ ID NO: 1, и LCVR, содержащую SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления способы согласно настоящему раскрытию включают использование антитела против IL-4R, причем антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления антитело против IL-4R 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, представляет собой полностью человеческое антитело против IL-4R, известное как дупилумаб (DUPIXENT™). Согласно некоторым иллюстративным вариантам осуществления способы согласно настоящему раскрытию включают использование дупилумаба или его биоэквивалента. Термин "биоэквивалент" в отношении дупилумаба относится к антителам против IL-4R или связывающих IL-4R белков или их фрагментам, которые являются фармацевтически эквивалентными или фармацевтически альтернативными, имеющими скорость и/или степень абсорбции, которые не показывают значительных различий с дупилумабом при введении в той же молярной дозе в аналогичных экспериментальных условиях, либо однократной дозе, либо многократной дозе. В контексте

настоящего раскрытия термин относится к антигенсвязывающим белкам, которые связываются с IL-4R, которые не имеют клинически значимых различий с дупилумабом по безопасности, чистоте и/или эффективности.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего раскрытия антитело против IL-4R человека или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления антитело против IL-4R человека или его антигенсвязывающий фрагмент содержит три HCDR (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 4 и 5, соответственно, и содержит HCVR, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 1.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего раскрытия антитело против IL-4R человека или его антигенсвязывающий фрагмент содержит LCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления антитело против IL-4R человека или его антигенсвязывающий фрагмент содержит три LCDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно, и содержит LCVR, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 2.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего раскрытия антитело против IL-4R человека или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, имеющую не более 5 аминокислотных замен. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего раскрытия антитело против IL-4R человека или его антигенсвязывающий фрагмент содержит LCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, имеющую не более 2 аминокислотных замен.

В некоторых вариантах осуществления антитело против IL-4R человека или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HCVR, имеющую 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 1, и LCVR, имеющую 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления антитело против IL-4R человека или его антигенсвязывающий фрагмент содержит (a) HCDR1, HCDR2 и HCDR3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 4 и 5, соответственно, и HCVR, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 1; и (b) LCDR1, LCDR2 и LCDR3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно, и LCVR, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 2.

Идентичность последовательности может быть измерена с помощью способов, известных в данной области (например, GAP, BESTFIT и BLAST).

Настоящее раскрытие также предусматривает использование антител против IL-4R в способах лечения аллергии или для устранения специфичного к аллергену IgE у субъекта, причем антитела против IL-4R содержат варианты любых аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе, имеющие одну или несколько консервативных аминокислотных замен. Например, настоящее раскрытие предусматривает использование антител против IL-4R, имеющих аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR, например, с 10 или менее, 8 или менее, 6 или менее, 4 или менее и так далее консервативными аминокислотными заменами относительно любых аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления раскрытие предусматривает использование антитела против IL-4R, имеющего аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR с 1, 2, 3 или 4 консервативными аминокислотными заменами относительно любых аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе.

Другие антитела против IL-4R α , которые можно использовать в контексте способов согласно настоящему раскрытию, включают в себя, например, антитело, называемое и известное в данной области как AMG317 (Corren et al. 2010, Am J Respir Crit Care Med. 181(8):788-796) или MEDI 9314 или любые антитела против IL-4R α , приведенные в патенте США № 7186809, патенте США № 7605237, патенте США № 7638606, патенте США № 8092804, патенте США № 8679487 или патенте США № 8877189. части публикаций, процитированных в данном документе, в которых идентифицированы антитела против IL-4R α , включены в данный документ посредством ссылки.

Антитела против IL-4R α , использованные в контексте способов согласно настоящему раскрытию, может иметь зависимые от pH характеристики связывания. Например, антитело против IL-4R α для использования в способах согласно настоящему раскрытию может демонстрировать пониженное связывание с IL-4R α при кислом pH по сравнению с нейтральным pH. Альтернативно, антитело против IL-4R α согласно настоящему раскрытию может демонстрировать повышенное связывание со своим антигеном при кислом pH по сравнению с нейтральным pH. Выражение "кислый pH" включает в себя значения pH менее 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 менее. Как использовано по всему настоящему раскрытию, выражение "нейтральный pH" означает pH от приблизительно 7,0 до приблизительно 7,4. Выражение "нейтральный pH" включает в себя значения pH приблизительно 7,0, 7,05, 7,1, 7,15, 7,2, 7,25, 7,3, 7,35 и 7,4.

В некоторых случаях "пониженное связывание с IL-4R α при кислом pH по сравнению с нейтральным pH" выражено в показателях соотношения значения KD связывания антитела с IL-4R α при кислом pH и значения KD связывания антитела с IL-4R α при нейтральном pH (или наоборот). Например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент можно рассматривать как проявляющее "пониженное связывание с IL-4R α при кислом pH по сравнению с нейтральным pH" для цели настоящего раскрытия, если антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет соотношение KD кислый/нейтральный приблизительно 3,0 или более. В некоторых иллюстративных вариантах осуществления соотношение KD кислый/нейтральный для антитела или антигенсвязывающего фрагмента согласно настоящему раскрытию 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 более.

Антитела с зависимыми от pH характеристиками связывания могут быть получены, например, путем скрининга популяции антител на предмет пониженного (или усиленного) связывания с конкретным антигеном при кислом pH по сравнению с нейтральным pH. Кроме того, модификации антигенсвязывающего домена на аминокислотном уровне могут давать антитела с зависимыми от pH характеристиками. Например, путем замены одной или нескольких аминокислот антигенсвязывающего домена (например, внутри CDR) на остаток гистидина может быть получено антитело с уменьшенным связыванием антигена при кислом pH относительно нейтрального pH. Как использовано по всему настоящему раскрытию, выражение "кислый pH" означает pH 6,0 или менее.

Средства абляции плазматических клеток.

Способы, раскрытые в данном документе, включают введение терапевтически эффективного количества средства абляции плазматических клеток нуждающемуся в этом субъекту. В рамках настоящего изобретения "средство абляции плазматических клеток" относится к любой молекуле, способной специфично связываться с поверхностным антигеном на плазматических клетках и уничтожать или аблировать указанную плазматическую клетку. В некоторых вариантах осуществления средством абляции плазматических клеток может быть антитело, низкомолекулярное соединение, нуклеиновая кислота, полипептид или его функциональный фрагмент или вариант. В контексте настоящего раскрытия средство абляции плазматических клеток используют в комбинации с ингибитором пути IL-4/IL-13 в раскрытых способах.

Неограничивающие примеры подходящего средств абляции плазматических клеток включают нацеленные на ВСМА средства (описанные в другом месте в данном документе), ингибиторы протеасом [например, бортезомиб (Velcade), карфилзомиб (Cuprolis), иксазомиб (Ninlaro)], ингибиторы гистондеацетилазы [например, панобиностат (Farydak)], ингибиторы фактора активации В-клеток (BAFF; также называемого BlyS, TALL-1 или CD257) (например, антитела против BAFF, такие как белидумаб, табалумаб, AMG570; или антитела против рецептора BAFF, такие как ианалумаб) и ингибиторы лиганда, индуцирующего пролиферацию А (APRIL; также называемые TNFSF13 или CD256) (например, антитела против APRIL, такие как BION-1301 или VIS624).

Нацеленные на ВСМА средства.

Согласно некоторым иллюстративным вариантам осуществления средства абляции плазматических клеток, использованные в способах, раскрытых в данном документе, представляют собой нацеленные на ВСМА средства.

В рамках настоящего изобретения термин "нацеленное на ВСМА средство" относится к любой молекуле, способной специфично связываться с ВСМА, которая экспрессируется на поверхности клетки у субъекта, таким образом нацеливаясь на указанную клетку для разрушения. ВСМА экспрессируется исключительно в клетках линии В-клеток, особенно в межфолликулярной области зародышевого центра, а также на плазмобластах и дифференцированных плазматических клетках. ВСМА избирательно индуцируется во время дифференцировки плазматических клеток и необходим для оптимального выживания долгоживущих плазматических клеток в костном мозге. Таким образом, нацеленное на ВСМА средство связывается с ВСМА, экспрессируемым на поверхности плазматических клеток и опосредует уничтожение или абляцию клеток, которые экспрессируют ВСМА (абляция плазматических клеток). В контексте настоящего раскрытия в некоторых вариантах осуществления нацеленное на ВСМА средство содержит связывающий фрагмент, который связывается с ВСМА, экспрессируемым на поверхности плазматиче-

ских клеток (его антигенсвязывающим фрагментом или антигенсвязывающим компонентом), и фрагмент, который способствует уничтожению указанной плазматической клетки. В некоторых вариантах осуществления связывающий ВСМА фрагмент, экспрессируемый на поверхности плазматической клетки, представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфично связывается с ВСМА. Такой связывающий ВСМА фрагмент связан (например, ковалентно связан) с фрагментом, который способствует уничтожению или разрушению целевой плазматической клетки. Фрагмент, который способствует целенаправленному уничтожению связанной плазматической клетки, может представлять собой молекулу, которая непосредственно убивает целевую клетку (например, цитотоксичное средство), или может представлять собой белок или его фрагмент, который опосредует уничтожение целевой клетки иммунной клеткой, например, Т-клеткой. В контексте настоящего раскрытия термин "нацеленное на ВСМА средство" включает в себя, но без ограничения, антитело против ВСМА, которые конъюгированы с терапевтическим средством, таким как цитотоксичное лекарственное средство ("ВСМА ADC" или "ADC против ВСМА"), химерные антигенные рецепторы (CAR), которые специфично связываются с ВСМА, ("ВСМА CAR" или "CAR против ВСМА") и биспецифичные антитела против ВСМА/против CD3.

Согласно некоторым вариантам осуществления нацеленное на ВСМА средство, использованное в контексте раскрытых способов, представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), содержащий антитело против ВСМА и цитотоксичное лекарственное средство. В некоторых вариантах осуществления антитело против ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент и цитотоксичное средство ковалентно соединены посредством линкера. В общих чертах, ADC содержат: A-[L-P]y, в которых А представляет собой антигенсвязывающую молекулу, например, антитело против ВСМА или его фрагмент, L представляет собой линкер, Р представляет собой полезный груз или терапевтический фрагмент (например, цитотоксичное средство), а у представляет собой целое число от 1 до 30. В данной области известны примеры подходящих цитотоксичных средств и химиотерапевтических средств для образования ADC. Неограничивающими примерами подходящих цитотоксичных средств, которые могут быть конъюгированы с антителами против ВСМА для использования в раскрытых способах, являются ауристатин, такой как монометилауристатин Е (ММАЕ) или монометилауристатин F (ММАF), тубулизин, такой как TUB-OH или TUB-OMOM, производное томаймицина, производное доластатина или майтансиноид, такой как DM1 или DM4. Согласно некоторым иллюстративным вариантам осуществления в настоящем раскрытии предусмотрено использование ADC против ВСМА в способах лечения аллергии, причем ADC против ВСМА включают любые аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытые в другом месте в данном документе.

Настоящее раскрытие также предусматривает использование ADC против ВСМА в способах лечения аллергии, в которых антитела содержат варианты любых аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе, имеющие одну или несколько консервативных аминокислотных замен. Например, настоящее раскрытие предусматривает использование антител, имеющих аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR, например, с 10 или менее, 8 или менее, 6 или менее, 4 или менее и так далее консервативными аминокислотными заменами относительно любых аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления раскрытие предусматривает использование антител, имеющих аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR с 1, 2, 3 или 4 консервативными аминокислотными заменами относительно любых аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе.

Другие ADC против ВСМА, которые можно использовать в контексте способов согласно настоящему раскрытию, включают, например, ADC, называемые и известные в данной области, как белантамаб мафодотин, GSK2857916, AMG224, HDP-101, MEDI2228 и TBL-CLN1, или любые ADC против ВСМА, приведенные, например, в публикациях патентов WO2011/108008, WO2014/089335, WO2017/093942, WO2017/143069, WO2019/025983. части публикаций, процитированных в данном документе, в которых указаны ADC против ВСМА, включены в данный документ посредством ссылки.

Согласно некоторым вариантам осуществления нацеленное на ВСМА средство, использованное в контексте раскрытых способов, представляет собой химерный антигенный рецептор (CAR), который специфично связывается с ВСМА ("ВСМА CAR"). Термин "химерный антигенный рецептор" (CAR) относится к молекулам, которые объединяют связывающий домен против компонента, присутствующего в клетке-мишени, например, специфичность на основе антитела к нужному антигену (например, ВСМА на плазматической клетке) с внутриклеточным доменом, активирующим рецептор Т-клетки, для получения химерного белка, который обладает специфичной клеточной иммунной активностью против мишени. Обычно, CAR состоят из внеклеточного одноцепочечного связывающего антитело домена (scFv), слитого с внутриклеточным сигнальным доменом дзета-цепи Т-клеточного антигенного рецепторного комплекса и имеют способность, при экспрессии в Т-клетках, перенаправлять распознавание антигена на основе специфичности моноклональных антител. В некоторых вариантах осуществления ВСМА CAR или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), переменную область легкой цепи (LCVR) и/или определяющие комплементарность области (CDR), содер-

жащие аминокислотные последовательности любого из антител, приведенных в предварительной заявке на патент США USSN 62/700615, поданной 19 июля 2018 года или в международной заявке на патент № PCT/US2019/042452, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки. Согласно некоторым иллюстративным вариантам осуществления настоящее раскрытие предусматривает использование CAR против ВСМА в способах лечения аллергии, причем CAR против ВСМА содержат любые из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в другом месте в данном документе.

Настоящее раскрытие также предусматривает использование CAR против ВСМА в способах лечения аллергии, причем CAR содержат варианты любых аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе, имеющие одну или несколько консервативных аминокислотных замен. Например, настоящее раскрытие предусматривает использование CAR против ВСМА, имеющих аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR, например, с 10 или менее, 8 или менее, 6 или менее, 4 или менее и так далее консервативными аминокислотными заменами относительно любых аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления раскрытие предусматривает использование CAR против ВСМА, имеющего аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR с 1, 2, 3 или 4 консервативными аминокислотными заменами относительно любых аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе.

Другие CAR против ВСМА, которые можно использовать в контексте способов согласно настоящему раскрытию, включают, например, CAR, называемый и известный в данной области, как bb2121, LCAR-B38M и 4C8A, или любые CAR против ВСМА, приведенные, например, в публикациях патентов WO2015/052538, WO2015/052536, WO2016/094304, WO2016/166630, WO2016/151315, WO2016/130598, WO2017/183418, WO2017/173256, WO2017211900, WO2017/130223, WO2018/229492, WO2018/085690, WO2018/151836, WO2018/028647, WO2019/006072. части публикаций, процитированных в данном документе, в которых указаны CAR против ВСМА включены в данный документ посредством ссылки.

Согласно некоторым иллюстративным вариантам осуществления нацеленное на ВСМА средство, использованное в контексте раскрытых способов, представляет собой биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 (также называемое в данном документе "биспецифичное антитело против ВСМА x против CD3"). биспецифичные антитела против ВСМА/против CD3 полезны для специфичного нацеливания опосредованного Т-клетками уничтожения клеток, которые экспрессируют ВСМА. Термины "антитело", "антигенсвязывающий фрагмент", "человеческое антитело", "рекомбинантное антитело" и другие родственные термины определены выше. В контексте антител против ВСМА/против CD3 и их антигенсвязывающих фрагментов настоящее раскрытие предусматривает использование биспецифичных антител, в которых одно плечо иммуноглобулина специфично для ВСМА или его фрагмента, а другое плечо иммуноглобулина специфично для второй терапевтической мишени (например, CD3 на Т-клетках). Иллюстративные биспецифичные форматы, которые можно использовать в контексте настоящего раскрытия, включают, без ограничения, например, биспецифичные форматы на основе scFv или диател, молекулы слияния IgG-scFv, двойной вариабельный домен (DVD)-Ig, квадруму, выступы-во-впадины, общую легкую цепь (например, общую легкую цепь с выступами-во-впадины и так далее), CrossMab, CrossFab, (SEED) антитело, лейциновую застежку, Duobody, IgG1/IgG2, Fab двойного действия (DAF)-IgG и биспецифичные форматы Mab2 (для обзора вышеупомянутых форматов см., например, Klein et al. 2012, mAbs 4(6):653-663 и цитируемые там ссылки). Биспецифичные антитела также могут быть сконструированы с использованием конъюгации пептид/нуклеиновая кислота, например, причем неприродные аминокислоты с ортогональной химической реактивностью использованы для получения конъюгатов сайт-специфичное антитело-олигонуклеотид, которые затем самособираются в мультимерные комплексы с определенным составом, валентностью и геометрией. (См., например, Kazane et al. J. Am. Chem. Soc. 2013, 135(1):340-46).

Термин "специфично связывается" и тому подобное означает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент образует комплекс с антигеном, который является относительно стабильным в физиологических условиях. Способы определения, специфично ли связывается антитело с антигеном, хорошо известны в данной области и включают, например, равновесный диализ, поверхностный плазмонный резонанс и тому подобное. Например, антитело, которое "специфично связывает" ВСМА, как использовано в контексте настоящего раскрытия, включает антитела, которые связывают ВСМА или его часть с KD менее приблизительно 100 нМ, менее приблизительно 50 нМ, менее приблизительно 20 нМ, менее приблизительно 10 нМ, менее приблизительно 5 нМ, менее приблизительно 1 нМ, менее приблизительно 500 пМ, менее приблизительно 200 пМ, менее приблизительно 100 пМ или менее приблизительно 50 пМ при измерении в анализе поверхностного плазмонного резонанса. Однако выделенное антитело, которое специфично связывает человеческий ВСМА, может иметь перекрестную реактивность с другими антигенами, такими как молекулы ВСМА от других (нечеловеческих) видов.

Согласно некоторым иллюстративным вариантам осуществления биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), вариабельную область легкой цепи (LCVR) и/или определяющие комплементарность об-

ласти (CDR), содержащие аминокислотные последовательности любого из антител, приведенных в предварительной заявке на патент США USSN 62/793645, поданной 17 января 2019 года, или в международной заявке на патент № PCT/US2019/042447, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки. В некоторых иллюстративных вариантах осуществления биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, который можно использовать в контексте настоящего раскрытия, содержит: (a) первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с ВСМА; и (b) второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с CD3. В одном варианте осуществления первый антигенсвязывающий домен содержит определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) варибельной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и определяющую комплементарность область легкой цепи (LCDR) варибельной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. Согласно некоторым вариантам осуществления первый антигенсвязывающий домен содержит три HCDR (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) и три LCDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), причем HCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14; HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; HCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; LCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22; LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24; а LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26. В одном варианте осуществления второй антигенсвязывающий домен содержит определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) варибельной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28 или SEQ ID NO: 36, и определяющую комплементарность область легкой цепи (LCDR) варибельной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В одном варианте осуществления второй антигенсвязывающий домен содержит три HCDR (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) и три LCDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), причем HCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30 или 38; HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32 или 40; HCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34 или 42; LCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22; LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24; и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26.

В одном варианте осуществления биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) первый антигенсвязывающий домен, который содержит домены HCDR1, HCDR2 и HCDR3, соответственно, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 16 и 18, и домены LCDR1, LCDR2 и LCDR3, соответственно, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 22, 24 и 26; и (b) второй антигенсвязывающий домен, который содержит домены HCDR1, HCDR2 и HCDR3, соответственно, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 30, 32 и 34, и домены LCDR1, LCDR2 и LCDR3, соответственно, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 22, 24 и 26. В одних вариантах осуществления биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) первый антигенсвязывающий домен, который содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20; и (b) второй антигенсвязывающий домен, который содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

В одном варианте осуществления биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) первый антигенсвязывающий домен, который содержит домены HCDR1, HCDR2 и HCDR3, соответственно, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 16 и 18, и домены LCDR1, LCDR2 и LCDR3, соответственно, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 22, 24 и 26; и (b) второй антигенсвязывающий домен, который содержит домены HCDR1, HCDR2 и HCDR3, соответственно, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 38, 40 и 42, и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 домены, соответственно, содержащего аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 22, 24 и 26. В одних вариантах осуществления биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (a) первый антигенсвязывающий домен, который содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20; и (b) второй антигенсвязывающий домен, который содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36 и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

Иллюстративные биспецифичные антитела против ВСМА/против CD3 включают полностью человеческие биспецифичные антитела, известные как REGN5458 и REGN5459. Согласно некоторым иллюстративным вариантам осуществления способы согласно настоящему раскрытию включают использование REGN5458 или REGN5459 или его биоэквивалента. В рамках настоящего изобретения термин "биоэквивалент" в отношении антитела против ВСМА/против CD3 относится к антителам или связывающим ВСМА/CD3 белкам или их фрагментам, которые представляют собой фармацевтические эквиваленты или фармацевтические альтернативы, имеющие скорость и/или степень абсорбции, которые не показывают существенного различия с эталонным антителом (например, REGN5458 или REGN5459) при введе-

нии в той же молярной дозе в аналогичных экспериментальных условиях, либо однократной дозе, либо многократной дозе; термин "биоэквивалент" также включает антигенсвязывающие белки, которые связываются с ВСМА/CD3 и не имеют клинически значимых различий с эталонным антителом (например, REGN5458 или REGN5459) в отношении безопасности, чистоты и/или эффективности.

В некоторых вариантах осуществления биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (а) первый антигенсвязывающий домен, который содержит HCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12, и LCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20; и (b) второй антигенсвязывающий домен, который содержит HCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 28, и LCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (а) первый антигенсвязывающий домен, который содержит три HCDR (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 16 и 18, соответственно, и HCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12, и содержит три LCDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 22, 24 и 26, соответственно, и LCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20; и (b) второй антигенсвязывающий домен, который содержит три HCDR (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 30, 32 и 34, соответственно, и HCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 28, и содержит три LCDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 22, 24 и 26, соответственно, и LCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20.

В некоторых вариантах осуществления биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (а) первый антигенсвязывающий домен, который содержит HCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12, и LCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20; и (b) второй антигенсвязывающий домен, который содержит HCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 36, и LCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: (а) первый антигенсвязывающий домен, который содержит три HCDR (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 16 и 18, соответственно, и HCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12, и содержит три LCDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 22, 24 и 26, соответственно, и LCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20; и (b) второй антигенсвязывающий домен, который содержит три HCDR (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 38, 40 и 42, соответственно, и HCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 36, и содержит три LCDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 22, 24 и 26, соответственно, и LCVR, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20.

Настоящее раскрытие также предусматривает использование антител против ВСМА/против CD3 в способах лечения аллергии, причем антитела содержат варианты любых аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе, имеющие одну или несколько консервативных аминокислотных замен. Например, настоящее раскрытие предусматривает использование антител против ВСМА/против CD3, имеющих аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR, например, с 10 или менее, 8 или менее, 6 или менее, 4 или менее и так далее консервативными аминокислотными заменами относительно любых аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления раскрытие

предусматривает использование антитела против ВСМА/против CD3, имеющего аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR с 1, 2, 3 или 4 консервативными аминокислотными заменами относительно любых аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе.

Другие антитела против ВСМА/против CD3, которые можно использовать в контексте способов согласно настоящему раскрытию, включают, например, антитела, называемые и известные в данной области, как AMG420, AMG701, CC-93269, EM801, JNJ-64007957 и TNB384B, или любые из антител против ВСМА/против CD3, приведенных, например, в публикациях патентов WO2013/072415, WO2014/140248, WO2014/122144, WO2016/166629, WO2016/079177, WO2016/020332, WO2017031104, WO2017/223111, WO2017/134134, WO2018/083204, WO2018/201051. части публикаций, процитированных в данном документе, в которых указаны антитела против ВСМА/против CD3, включены в данный документ посредством ссылки.

Источение IgE в комбинации с иммунотерапией от аллергенов.

В настоящем раскрытии также представлены способы повышения эффективности и/или переносимости схемы иммунотерапии (например, схемы специфической к аллергенам иммунотерапии) у субъекта, имеющего аллергию. В некоторых вариантах осуществления способ предусматривает введение субъекту, имеющему аллергию, ингибитора пути IL-4/IL-13 (такого как антитело против IL-4R) и средства абляции плазматических клеток (такого как антитело против ВСМА/против CD3) перед схемой иммунотерапии или одновременно с ней.

В некоторых вариантах осуществления субъект, которому требуется лечение, страдает от пищевой аллергии. Например, в некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется аллергия на молоко, молочный продукт, яйцо, сельдерей, кунжут, пшеницу, мясо, фрукты, сою, рыбу, моллюски, сахар, арахис, бобовые, древесный орех или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется аллергия на арахис. В некоторых вариантах осуществления субъект, которому требуется лечение, страдает от непищевой аллергии (например, аллергии на аллерген окружающей среды). Например, в некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется аллергия на непищевой аллерген, выбранный из группы, состоящей из пыли, пылевого клеща, цветочной пыльцы, яда насекомых, плесени, меха животных, шерсти животных, шерсти, латекса, металла, бытового чистящего средства, моющего средства, лекарств, косметики, парфюмерии, лекарственных средств, таких как пенициллин, сульфаниламиды или салицилат, терапевтических моноклональных антител (например, цетуксимаба), амброзии, травы и березы. В некоторых вариантах осуществления субъект, которому требуется лечение, страдает от тяжелой аллергии (например, тяжелой пищевой аллергии или тяжелой непищевой аллергии).

В рамках настоящего изобретения "аллерген-специфическая иммунотерапия" относится к многократному введению аллергена (например, аллергена, раскрытого в данном документе) субъекту с течением времени в виде средства для лечения или профилактики аллергии и аллергической реакции или для уменьшения, для устранения аллергической реакции. В некоторых вариантах осуществления схема специфичной к аллергену иммунотерапии представляет собой пероральную иммунотерапию. В некоторых вариантах осуществления схема специфичной к аллергену иммунотерапии представляет собой подкожную иммунотерапию. В некоторых вариантах осуществления схема специфичной к аллергену иммунотерапии представляет собой сублингвальную иммунотерапию. В общем, схема иммунотерапии может представлять собой "обычную" схему иммунотерапии или "ускоренную" схему иммунотерапии. Как правило, в обычной схеме иммунотерапии возрастающие дозы аллергена (также называемые "повышающее титрование") вводят пациенту с недельными интервалами в течение от нескольких недель до месяцев (например, более 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 месяцев или дольше) под тщательным медицинским наблюдением с последующей поддерживающей схемой, которая обычно включает введение одной или нескольких доз аллергена, причем самую высокую дозу вводят во время схемы повышающего титрования. В ускоренной схеме иммунотерапии график повышающего титрования ускоряют по сравнению с обычной иммунотерапией. Примеры ускоренной иммунотерапии включают "интенсивную" иммунотерапию и "кластерную" иммунотерапию. В интенсивной иммунотерапии за день вводят обычно возрастающие дозы аллергена в течение нескольких последовательных дней (например, в течение 2 дней, 3 дней, 4 дней, 5 дней, 6 дней или одной недели) до тех пор, пока не будет достигнута максимальная переносимая доза. В кластерной иммунотерапии в течение одного дня вводят обычно несколько (например, 2-3) возрастающих доз аллергена в течение непоследовательных дней до тех пор, пока не будет достигнута максимальная переносимая доза, обычно в течение 4-8 недель.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути IL-4/IL-13 и средство абляции плазматических клеток вводят перед или одновременно со схемой специфичной к аллергену иммунотерапии, раскрытой в данном документе, (например, пероральной, сублингвальной или подкожной иммунотерапии, которой может быть обычная или ускоренная иммунотерапия). В некоторых вариантах осуществления перед началом схемы иммунотерапии вводят средство абляции плазматических клеток (например, 1, 2, 3, 4, 5 или более доз). В некоторых вариантах осуществления перед началом схемы иммунотерапии вводят ингибитор пути IL-4/IL-13 (например, 1, 2, 3, 4, 5 или более доз). В некоторых вариантах осуществления перед началом схемы иммунотерапии вводят по меньшей мере одну дозу каждого из средства абляции

плазматических клеток и ингибитора пути IL-4/IL-13. В некоторых вариантах осуществления одновременно со схемой иммунотерапии вводят ингибитор пути IL-4/IL-13. В некоторых вариантах осуществления одновременно со схемой иммунотерапии вводят средство абляции плазматических клеток.

Фармацевтические композиции и введение.

Раскрытые способы включают введение ингибитора пути IL-4/IL-13 в комбинации со средством абляции плазматических клеток нуждающемуся в этом субъекту, причем ингибиторы содержатся в отдельных фармацевтических композициях или в комбинированной (единой) фармацевтической композиции. фармацевтические композиции согласно раскрытию можно готовить с фармацевтически приемлемыми носителями, вспомогательными веществами и другими средствами, которые обеспечивают подходящий перенос, доставку, переносимость и тому подобное. Множество подходящих готовых форм можно найти в рецептурах, известных всем химикам-фармацевтам: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa. Эти готовые формы включают, например, порошки, пасты, мази, желе, воски, масла, содержащие (катионные или анионные) липиды везикулы (такие как LIPOFECTIN™), конъюгаты ДНК, безводные абсорбирующие пасты, эмульсии масла в воде и вода в масле, эмульсии карбовакс (полиэтиленгликоли различной молекулярной массы), полутвердые гели и полутвердые смеси, содержащие карбовакс. См. также Powell et al., 1998, J Pharm Sci Technol, 52:238-311.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции согласно раскрытию содержат терапевтически эффективное количество ингибитора пути IL-4/IL-13 (такого как антитело против IL-4R) и/или терапевтически эффективное количество средства абляции плазматических клеток (такого как антитело против ВСМА/против CD3) и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления раскрытые фармацевтические композиции составляют для введения путем инъекции, такой как внутривенная инъекция.

Известны различные системы доставки, которые можно использовать для введения фармацевтических композиций согласно настоящему раскрытию, например, инкапсуляция в липосомах, 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, но без ограничения, внутрикожный, внутримышечный, внутрибрюшинный, внутривенный, подкожный, интраназальный, эпидуральный и пероральный пути. Композиции можно вводить любым удобным путем, например, путем инфузии или болюсной инъекции, путем абсорбции через эпителиальные или кожно-слизистые оболочки (например, слизистую оболочку полости рта, слизистую оболочку прямой и кишки и так далее) и можно вводить вместе с другими биологически активными средствами. В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути IL-4/IL-13 и/или средство абляции плазматических клеток вводят внутривенно. В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути IL-4/IL-13 и/или средство абляции плазматических клеток вводят подкожно.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция согласно настоящему раскрытию содержится внутри контейнера. Таким образом, в другом аспекте предоставлены контейнеры, содержащие фармацевтическую композицию, раскрытую в данном документе. Например, в некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержится внутри контейнера, выбранного из группы, состоящей из стеклянного флакона, шприца, устройства доставки в виде ручки и автоинъектора.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию согласно настоящему раскрытию доставляют подкожно или внутривенно с помощью стандартной иглы и шприца. В некоторых вариантах осуществления шприц представляет собой предварительно заполненный шприц. Кроме того, что касается подкожной доставки, устройство доставки в виде ручки или автоинъектор легко может найти применение при доставке фармацевтической композиции согласно настоящему раскрытию. устройство доставки в виде ручки может быть многоразовым или одноразовым. Обычно в многоразовом устройстве доставки в виде ручки используют сменный картридж, который содержит фармацевтическую композицию. После введения всей фармацевтической композиции в картридже и опорожнения картриджа пустой картридж можно легко выбросить и заменить новым картриджем, который содержит фармацевтическую композицию. Затем устройство доставки в виде ручки можно использовать повторно. В одноразовом устройстве доставки в виде ручки нет сменного картриджа. Вместо этого одноразовое устройство доставки в виде ручки поставляют предварительно заполненным фармацевтической композицией, содержащейся в резервуаре внутри устройства. После опорожнения резервуара от фармацевтической композиции все устройство выбрасывают.

Примеры подходящих устройств доставки в виде ручки и автоинъектора включают, но без ограничения, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc. Woodstock, UK), ручку DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland), ручку HUMALOG MIX 75/25™, ручку HUMALOG™, ручку HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co. Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II и III (Novo Nordisk, COPENhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, COPENhagen, Denmark), ручку BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ и OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Germany). Примеры одноразовых устройств доставки в виде ручки, применяемых для подкожной доставки фармацевтической композиции согласно настоящему раскрытию, включают, но без ограничения, ручку

ку SOLOSTAR™ (sanofi-aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk) и KWIKPEN™ (Eli Lilly), автоинъектор SURECLICK™ (AMGen, Thousand Oaks, CA), PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN (Dey, L.P.) и ручку HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park IL).

В определенных ситуациях одну или обе фармацевтические композиции можно доставлять в системе с контролируемым высвобождением. В одном варианте осуществления можно использовать насос. В другом варианте осуществления можно использовать полимерные материалы. См., "Medical Applications of Controlled Release", Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, FLA. В еще одном варианте осуществления система с контролируемым высвобождением может быть размещена в непосредственной близости от мишени композиции, что требует только фракции системной дозы (см., например, Goodson, 1984, Medical Applications of Controlled Release, vol. 2, pp. 115-138). Другие системы с контролируемым высвобождением обсуждаются в Langer, 1990, Science 249:1527-1533.

Подходящие инъекционные препараты могут иметь лекарственные формы для внутривенных, подкожных, внутрикожных и внутримышечных инъекций, капельных инфузий и так далее. Эти инъекционные препараты могут быть получены с помощью известных способов. Например, инъекционные препараты могут быть получены, например, путем растворения, суспендирования или эмульгирования антигена или его соли, описанных выше, в стерильной водной среде или масляной среде, обычно используемой для инъекций. В качестве водной среды для инъекций используют, например, физиологический раствор, изотонический раствор, содержащий глюкозу и другие вспомогательные средства и так далее, которые можно использовать в комбинации с подходящим солюбилизирующим средством, таким как спирт (например, этанол), полиспирт (например, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль), неионное поверхностно-активное вещество [например, полисорбат 80, HCO-50 (полиоксиэтилен (50 моль) аддукт гидрогенизированного касторового масла)] и так далее. В качестве масляной среды используют, например, кунжутное масло, соевое масло и так далее, которое можно использовать в комбинации с солюбилизирующим средством, таким как бензилбензоат, бензиловый спирт и так далее. Полученной таким образом инъекцией предпочтительно заполняют подходящую ампулу.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции для перорального или парентерального применения, описанные выше, получают в виде лекарственных форм в единичной дозе, соответствующей дозе активных ингредиентов. Такие лекарственные формы в единичной дозе включают в себя, например, таблетки, пилюли, капсулы, инъекции (ампулы), картриджи, суппозитории и так далее.

Инъекционные препараты фармацевтических композиций могут быть получены с помощью известных способов. Например, инъекционный препарат может быть получен, например, путем растворения, суспендирования или эмульгирования ингибитора (например, антигена против IL-4R) или его соли в стерильной водной среде или масляной среде, обычно используемой для инъекций. В качестве водной среды для инъекций используют, например, физиологический раствор, изотонический раствор, содержащий глюкозу и другие вспомогательные средства и так далее, которые можно использовать в комбинации с подходящим солюбилизирующим средством, таким как спирт (например, этанол), полиспирт (например, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль), неионное поверхностно-активное вещество [например, полисорбат 80, HCO-50 (полиоксиэтилен (50 моль) аддукт гидрогенизированного касторового масла)] и так далее. В качестве масляной среды используют, например, кунжутное масло, соевое масло и так далее, которое можно использовать в комбинации с солюбилизирующим средством, таким как бензилбензоат, бензиловый спирт и так далее. Полученным таким образом инъекционным препаратом предпочтительно заполняют подходящую ампулу для инъекций. В некоторых вариантах осуществления инъекционный препарат может содержать ингибитор (например, антигена против IL-4R) в некоторой концентрации и один или несколько фармацевтически приемлемых растворителей (например, дистиллированную воду, физиологический раствор и так далее).

Иллюстративные фармацевтические композиции, содержащие антиген против IL-4R, которые можно использовать в контексте настоящего раскрытия, раскрыты, например, в патенте США № 8945559, части которого, в которых указаны фармацевтические композиции, содержащие антиген против IL-4R, включены в данный документ посредством ссылки.

Наборы.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем раскрытии представлены фармацевтические комбинации и наборы, содержащие ингибитор пути IL-4/IL-13, раскрытый в данном документе, и средство абляции плазматических клеток, раскрытое в данном документе. В некоторых вариантах осуществления комбинация или набор содержит антиген против IL-4R, раскрытый в данном документе (например, антиген против IL-4R или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий HCDR1, HCDR2 и HCDR3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 4 и 5, соответственно, и LCDR1, LCDR2 и LCDR3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 6, 7 и 8, соответственно) и средство абляции плазматических клеток, раскрытое в данном документе (например, биспецифичное антигенное средство против ВСМА/против CD3, содержащее первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с ВСМА; и второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с CD3, причем первый антигенсвязывающий домен содержит HCDR1, HCDR2 и HCDR3,

содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 16 и 18, соответственно, и LCDR1, LCDR2 и LCDR3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 22, 24 и 26, соответственно; и при этом второй антигенсвязывающий домен содержит HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30 или 38, HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32 или 40, HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34 или 42, и LCDR1, LCDR2 и LCDR3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 22, 24 и 26, соответственно.

В некоторых вариантах осуществления комбинация или набор, содержащий ингибитор пути IL-4/IL-13 и средством абляции плазматических клеток, предназначен для использования в способе, раскрытом в данном документе. В некоторых вариантах осуществления комбинация или набор предназначен для применения при лечении аллергии или аллергического расстройства, или для уменьшения или устранения специфичного к аллергену сывороточного IgE у субъекта. В некоторых вариантах осуществления комбинация или набор дополнительно содержит одно или несколько дополнительных терапевтических средств, раскрытых в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления комбинация или набор, содержащий ингибитор пути IL-4/IL-13 и средством абляции плазматических клеток, предназначен для использования для повышения эффективности и/или переносимости схемы иммунотерапии у субъекта, имеющего аллергию. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления комбинация или набор дополнительно содержит один или несколько реагентов для схемы иммунотерапии.

В некоторых вариантах осуществления набор для использования, раскрытый в данном документе, дополнительно содержит инструкции по применению. В некоторых вариантах осуществления набор для использования, раскрытый в данном документе, содержит один или несколько контейнеров, содержащих ингибитор пути IL-4/IL-13 и средство абляции плазматических клеток. В некоторых вариантах осуществления набор содержит первый контейнер, содержащий ингибитор пути IL-4/IL-13, и второй контейнер, содержащий средство абляции плазматических клеток.

Схемы введения.

В некоторых вариантах осуществления раскрытые способы включают последовательное введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора пути IL-4/IL-13 в комбинации с терапевтически эффективным количеством средства абляции плазматических клеток, причем каждое терапевтическое средство вводят субъекту в виде одной или нескольких доз, например, в виде части специальной терапевтической схемы введения дозы. В некоторых вариантах осуществления способы согласно настоящему раскрытию включают введение ингибиторов аддитивной или синергической активности для лечения аллергического заболевания или расстройства, нарушения активации тучных клеток или мастоцитоза.

В рамках настоящего изобретения "последовательное введение" означает, что каждую дозу ингибитора вводят субъекту в разные моменты времени, например, в разные дни, разделенные заданным интервалом (например, часами, днями, неделями или месяцами). В некоторых вариантах осуществления раскрытые способы включают последовательное введение субъекту одной первоначальной дозы ингибитора пути IL-4/IL-13, за которой следует одна или несколько последующих доз ингибитора пути IL-4/IL-13. В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают последовательное введение субъекту одной первоначальной дозы средства абляции плазматических клеток, за которой следует одна или несколько последующих доз средства абляции плазматических клеток.

В некоторых вариантах осуществления терапевтическая схема введения дозы включает введение одной или нескольких доз ингибитора пути IL-4/IL-13 в комбинации с одной или несколькими дозами средства абляции плазматических клеток. В некоторых вариантах осуществления одну или несколько доз ингибитора пути IL-4/IL-13 и/или одну или несколько доз средства абляции плазматических клеток вводят субъекту с частотой приблизительно раз в день, один раз каждые два дня, один раз каждые три дня, один раз каждые четыре дня, один раз каждые пять дней, один раз каждые шесть дней, один раз в неделю, один раз каждые две недели, один раз каждые три недели, один раз каждые четыре недели, один раз в месяц, один раз каждые два месяца, один раз каждые три месяца, один раз каждые четыре месяца или менее часто.

В рамках настоящего изобретения выражение "в комбинации с" означает, что ингибитор пути IL-4/IL-13 вводят перед, после или одновременно со средством абляции плазматических клеток. Термин "в комбинации с" также включает в себя последовательное или одновременное введение ингибитора пути IL-4/IL-13 и средства абляции плазматических клеток.

Например, когда ингибитор пути IL-4/IL-13 вводят "перед" средством абляции плазматических клеток, ингибитор пути IL-4/IL-13 можно вводить более, чем за 150 ч, приблизительно 150 ч, приблизительно 100 ч, приблизительно 72 ч, приблизительно 60 ч, приблизительно 48 ч, приблизительно 36 ч, приблизительно 24 ч, приблизительно 12 ч, приблизительно 10 ч, приблизительно 8 ч, приблизительно 6 ч, приблизительно 4 ч, приблизительно 2 ч, приблизительно 1 ч, приблизительно 30 мин или приблизительно 15 мин перед введением средства абляции плазматических клеток. Когда ингибитор пути IL-4/IL-13 вводят "после" средства абляции плазматических клеток, ингибитор пути IL-4/IL-13 можно вводить через

приблизительно 15 мин, приблизительно 30 мин, приблизительно 1 ч, приблизительно 2 ч, приблизительно 4 ч, приблизительно 6 ч, приблизительно 8 ч, приблизительно 10 ч, приблизительно 12 ч, приблизительно 24 ч, приблизительно 36 ч, приблизительно 48 ч, приблизительно 60 ч, приблизительно 72 ч или более 72 ч после введения средства абляции плазматических клеток. Введение ингибитора пути IL-4/IL-13 "одновременно" со средством абляции плазматических клеток означает, что ингибитор пути IL-4/IL-13 вводят субъекту в виде отдельной дозы в пределах 10 мин (перед, после или в то же время) от введения средства абляции плазматических клеток или вводят субъекту в виде единой комбинированной лекарственной формы, содержащей ингибитор пути IL-4/IL-13 и средство абляции плазматических клеток.

В рамках настоящего изобретения "первоначальной дозой" является доза, которую вводят в начале схемы лечения (также называя "исходная доза"). Одна или несколько последующих доз, вводимых после первоначальной дозы, все могут содержать то же количество ингибитора пути IL-4/IL-13 или средства абляции плазматических клеток. Однако в некоторых вариантах осуществления количество, содержащееся в первоначальной и последующей дозах, отличается друг от друга (например, его регулируют в большую или меньшую сторону по необходимости) в течение курса лечения. В некоторых вариантах осуществления одну или несколько (например, 1, 2, 3, 4 или 5) доз вводят в начале схемы лечения в виде "загрузочных доз", за которыми следуют последующие дозы, которые вводят реже (например, "поддерживающие дозы"). Например, ингибитор пути IL-4/IL-13 или средство абляции плазматических клеток можно вводить пациенту с аллергическим заболеванием в загрузочной дозе от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг с последующей одной или несколькими поддерживающими дозами от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг веса тела пациента.

В одном иллюстративном варианте осуществления настоящего раскрытия каждую последующую дозу вводят от 1/2 до 14 недель или более (например, 1/2, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½ или более недель) после непосредственно предшествующей дозы. фраза "непосредственно предшествующая доза" в рамках настоящего изобретения означает в последовательности несколько введенных дозу каждого ингибитора, введенного субъекту перед введением следующей дозы в последовательности без промежуточных доз.

Дозировка.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна доза ингибитора пути IL-4/IL-13 содержит приблизительно 0,1-50 мг/кг, например, приблизительно 0,1-10 мг/кг веса тела субъекта. Например, по меньшей мере одна доза может содержать приблизительно 0,1, 1, 0,3, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 мг/кг веса тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна доза ингибитора пути IL-4/IL-13 содержит приблизительно 0,05-600 мг ингибитора пути IL-4/IL-13, например, приблизительно 5-600 мг, приблизительно 10-300 мг, приблизительно 50-600 мг или приблизительно 50-300 мг, например, приблизительно 5, 10, 15, 20, 25, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400 мг, 500 мг, 600 мг или более ингибитора пути IL-4/IL-13. В одном варианте осуществления ингибитором пути IL-4/IL-13 является REGN668 (дупилумаб).

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна доза средства абляции плазматических клеток содержит приблизительно 0,1-20 мг/кг веса тела субъекта, например, приблизительно 0,1, 1, 0,3, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 мг/кг веса тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна доза средства абляции плазматических клеток содержит приблизительно 0,05-500 мг средства абляции плазматических клеток, например, приблизительно 5, 10, 15, 20, 25, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100 мг или более средства абляции плазматических клеток. В одном варианте осуществления средством абляции плазматических клеток является биспецифичное антитело против BCMA/против CD3 (такое как REGN5459). В одном варианте осуществления средством абляции плазматических клеток является ингибитор протеасом, такой как бортезомиб.

Количества ингибитора пути IL-4/IL-13 и средства абляции плазматических клеток, введенные субъекту согласно способам, раскрытым в данном документе, представляет собой терапевтически эффективное количество. В рамках настоящего изобретения термин "терапевтически эффективное количество" означает количество каждого терапевтического средства, которое приводит к одному или нескольким из: (a) уменьшения тяжести или продолжительности симптома или признака аллергии - например, анафилаксии; (b) уменьшения уровня сывороточного аллерген-специфического IgE; (c) устранения сывороточного IgE у субъекта; (d) уменьшения сенсibilизации аллергена; (e) уменьшения предрасположенности к аллергической реакции и/или (f) уменьшения использования или потребности в обычной противоаллергической терапии (например, снижение или устранение использования кортикостероидов) по сравнению с не получавшим лечения субъектом или субъектом, получавшим лечение каким-либо терапевтическим средством в виде монотерапии.

В случае ингибитора пути IL-4/IL-13 (например, антитела против IL-4R) 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, ингибитора пути IL-4/IL-13. В некоторых вариантах осуществления субъекту вводят 10 мг, 25 мг, 50 мг, 75 мг, 150 мг или 300 мг ингибитора пути IL-4/IL-13.

В случае средства абляции плазматических клеток (например, биспецифичного антитела против ВСМА/против CD3) терапевтически эффективное количество может составлять от приблизительно 0,05 мг до приблизительно 500 мг, от приблизительно 1 мг до приблизительно 500 мг, от приблизительно 10 мг до приблизительно 450 мг, от приблизительно 50 мг до приблизительно 400 мг, от приблизительно 75 мг до приблизительно 350 мг или от приблизительно 100 мг до приблизительно 300 мг антител. Например, в различных вариантах осуществления количество средства абляции плазматических клеток составляет приблизительно 0,05 мг, приблизительно 0,1 мг, приблизительно 1,0 мг, приблизительно 1,5 мг, приблизительно 2,0 мг, приблизительно 5 мг, приблизительно 10 мг, приблизительно 15 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 или приблизительно 500 мг, средства абляции плазматических клеток.

В некоторых вариантах осуществления величина индивидуальной дозы ингибитора пути IL-4/IL-13 (например, антитела против IL-4R) и/или средства абляции плазматических клеток (например, антитела против ВСМА/против CD3), введенной субъекту, может быть меньше терапевтически эффективного количества, то есть субтерапевтической дозы. Например, если терапевтически эффективное количество ингибитора содержит 3 мг/кг, субтерапевтическая доза содержит количество менее 3 мг/кг, например, 2 мг/кг, 1,5 мг/кг, 1 мг/кг, 0,5 мг/кг или 0,3 мг/кг. В рамках настоящего изобретения "субтерапевтическая доза" относится к количеству ингибитора, которое само не приводит к терапевтическому эффекту. Однако, в некоторых вариантах осуществления можно вводить несколько субтерапевтических доз ингибитора для совместного достижения терапевтического эффекта у субъекта.

Примеры

Раскрытая технология далее описана посредством следующих примеров. Использование этих и других примеров где-либо в описании является только иллюстративным и никоим образом не ограничивает объем и значение раскрытия или любой проиллюстрированной формы. Также раскрытие не ограничено какими-либо конкретными предпочтительными вариантами осуществления, описанными в данном документе. На самом деле, при чтении этого описания специалистам в данной области могут быть очевидны модификации и варианты раскрытия, которые можно получить без отклонения от его сути и объема. Следовательно, раскрытие должно быть ограничено только терминами формула изобретения, наряду с полным объемом эквивалентов, на которые имеет право формула изобретения. Также, хотя были приняты усилия для обеспечения точности используемых чисел (например, количество, температуры и так далее), следует учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, части являются массовыми частями, молекулярная масса представляет собой среднюю молекулярную массу, температура дана в градусах по Цельсию, а давление равно или близко к атмосферному.

Пример 1. Эффект антитела против IL-4R в комбинации с биспецифичным антителом против ВСМА/против CD3.

Этот пример относится к исследованию, которое демонстрирует повышенную эффективность ингибитора пути IL-4/IL-13 в комбинации со средством абляции плазматических клеток для блокировки выработки IgE на мышинной модели воспаления легких, вызванного длительным аллергеном.

Ингибитором пути IL-4/IL-13, использованным в этом примере было мышинное антитело против IL-4R, идентифицированное как REGN1103, которое представляет собой мышинное антитело-имитатор че-

ловеческого моноклонального антитела, идентифицированного как REGN668 (также известного как дупилумаб), направленного на человеческий IL-4R. REGN1103 содержит пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR согласно SEQ ID NO: 43/44 и имеет сродство с мышинным IL-4R, которое находится в диапазоне, аналогичном сродству дупилумаба с человеческим IL-4R. Кроме того, REGN1103 ингибирует зависимость от IL-4- и IL-13 пролиферацию клеточных линий при IC50 1,9 нМ и 11 пМ, соответственно.

Средством абляции плазматических клеток, использованным в этом примере было биспецифичное антитело против BCMA/против CD3 REGN5459, которое содержит связывающий домен против BCMA, содержащий HCVR согласно SEQ ID NO: 12 и LCVR согласно SEQ ID NO: 20; и связывающий домен против CD3, содержащий HCVR согласно SEQ ID NO: 36 и LCVR согласно SEQ ID NO: 20.

Материалы и способы.

Для определения влияния комбинирования антитела против IL-4R α и против BCMA x против CD3 на выработку IgE в соответствующей модели *in vivo*, было проведено исследование воспаления легких, вызванного продолжительным воздействием клеща домашней пыли (HDM), у мышей, которые были гомозиготными по человеческому BCMA и человеческому CD3 вместо мышинного BCMA и CD3. Хроническое воспаление легких и стойкую выработку IgE индуцировали путем интраназального воздействия на мышей 25 мкг HDM (Greer, номер по каталогу XPB70D3A25), разведенного в 20 мкл физиологического раствора (Sigma, номер по каталогу S8776), или 20 мкл физиологического раствора (контрольная группа) (*i.p.*) три раза в неделю в течение 11 недель. Эта модель вызывает переключение класса В-клеток на плазматические клетки, продуцирующие IgE, во вторичных лимфоидных органах и стимулирует накопление плазматических клеток IgE в костном мозге. На 8 неделе после первого введения HDM подгруппа мышей начала получать подкожные инъекции 25 мг/кг REGN1103 (против IL-4R α) или 25 мг/кг изотипического контроля до конца эксперимента. На 11 неделе подкожно вводили две дозы REGN5459 (против BCMA x против CD3) или две дозы антитела изотипического контроля, и мышам давали отдохнуть в отсутствие *i.p.* HDM в течение 9 недель. Подробная информация о воздействии HDM и протоколе лечения антителами представлена в табл. 1 и на фиг. 1.

Таблица 1

Воздействие HDM и протокол лечения мышей антителами

Группа	Гуманизированные мыши BCMAxCD3	Интраназально (i.p.) (11 недель)	Отдых	Антитело (2 раза в неделю после 8 недель)	Антитело (2 дозы на 11 неделе)
A	8	Физиологический раствор	9 недель	Отсутствует	Отсутствует
B	9	HDM	9 недель	Отсутствует	Отсутствует
C	10	HDM	9 недель	Изотипический контроль	Изотипический контроль
D	8	HDM	9 недель	Изотипический контроль	REGN5459 (против BCMA x против CD3)
E	9	HDM	9 недель	REGN1103 (против IL-4R α)	Изотипический контроль
F	9	HDM	9 недель	REGN1103 (против IL-4R α)	REGN5459 (против BCMA x против CD3)

Через 1 неделю и 6 недель после последней дозы HDM у всех групп мышей брали ~100 мкл крови путем кровопускания из ретроорбитальных пазух и переносили в пробирки microtainer (BD, номер по каталогу 365967) для выделения сыворотки. Определяли общую концентрацию IgE в сыворотке с использованием набора OptEIA™ ELISA (BD Biosciences, #555248) в соответствии с инструкциями изготовителя. Вкратце, планшеты ELISA покрывали антителами для захвата IgE, разведенными в покрывающем буфере (карбонат-бикарбонатном буфере, Sigma; номер по каталогу C3041, разведенном в 100 мл дистиллированной воды, Gibco; номер по каталогу 15230-270) в течение ночи при 4°. Покрываемые планшеты промывали 4X в промывочном буфере (0,05% Tween 20, Sigma; номер по каталогу P1379, разведенном в DPBS, GE; номер по каталогу SH3001304). Планшеты блокировали раствором для разведения для анализа (BD; номер по каталогу 555213) в течение 1 часа при комнатной температуре (RT). На планшеты добавляли 100 мкл образцов сыворотки, разведенных в начальной концентрации 1:50 или 1:100 с дальнейшими 3-кратными серийными разведениями, и стандарт IgE, разведенный в начальной концентрации

100 нг/мл с дальнейшими 2-кратными серийными разведениями, и инкубировали в течение 2 ч при RT. Затем планшеты промывали 4X в промывочном буфере и инкубировали в 100 мкл рабочего детектора (детекторного антитела с sAv-HRP) в течение 1 ч при RT. Планшеты промывали 7X, замачивали в промывочном буфере в течение 5 мин и снова промывали 4X для удаления несвязанных детекторных антител. В каждый образец добавляли 100 мкл субстратного раствора TMB (BD; номер по каталогу 555214), а планшеты инкубировали в темноте в течение 30 мин с последующим добавлением 50 мкл останавливающего раствора (2N серная кислота, BDH VWR аналитический; номер по каталогу BDH7500). Оптическую плотность измеряли при 450 нм, концентрации IgE рассчитывали из стандартной кривой. Значения сывороточного IgE показаны в нг/мл. Статистическую значимость определяли с помощью критерия Краскела-Уоллиса с апостериорным критерием множественных сравнений Дьюнна в GraphPad Prism.

Результаты.

В модели длительного HDM лечение антителом против IL4Rα само по себе уменьшало, но не устраняло циркулирующий IgE (фиг. 2A и 2B; табл. 2).

Таблица 2

Влияние лечения антителами против IL-4Rα и против BCMA x против CD3 на сывороточный IgE в длительной модели HDM

Группа	Среднее ±CO сывороточного IgE (нг/мл) 1 нед отдыха	Разница	Среднее значение ±CO сывороточного IgE в (нг/мл) 6 нед отдыха	Разница
		средних рангов по сравнению с изотипическим контролем 1 нед отдыха		средних рангов по сравнению с изотипическим контролем 6 нед отдыха
A (Физиологический раствор)	308,5 ±277,4 (n=8)	-25,58 (**)	610,8 ±524,9 (n=8)	-18,85
B (HDM)	17981 ±11162 (n=9)	3,578	8725 ±4545 (n=9)	0,2333
C (Изотипический контроль)	12279 ±15582 (n=10)	N/A	11997 ±12524 (n=10)	N/A
D (против BCMA x против CD3)	750,5 ± 596,1 (n=8)	-18,45	21995 ±13734 (n=8)	8,025
E (против IL4Rα)	786,1 ±300,4 (n=9)	- 16,76	528,5 ±231,6 (n=9)	-17,99
F (против BCMA x против CD3+против IL-4Rα)	0 ±0 (n=9)	- 37,2 (****)	0 ±0 (n=9)	- 32,1 (****)

Лечение только антителами против BCMA x против CD3 временно уменьшало выработку IgE, но уровни сывороточного IgE восстанавливались после 6 недель отдыха (фиг. 2A & 2B; табл. 2). Комбинация лечения антителами против IL-4Rα с антителами против BCMA x против CD3 устраняло сывороточный IgE (неопределяемых с помощью IgE ELISA) (фиг. 2A и 2B; табл. 2), что демонстрирует эффективность блокировки IL-4Rα и истощения плазматических клеток антителами против BCMA x против CD3 в виде успешной стратегии блокировки выработки IgE.

Пример 2. Терапевтическая комбинация биспецифичного антитела против BCMAxCD3 с антителом против IL-4Rα полностью блокирует выработку специфичного к HDM IgE во время продолжительного воздействия HDM.

Этот пример демонстрирует эффективность блокировки IL-4R и истощения плазматических клеток для блокировки специфичной к аллергену выработки IgE даже в присутствии непрерывного воздействия аллергена.

В этом примере использованным ингибитором пути IL-4/IL-13 было мышинное антитело против IL-4R REGN1103, которое представляет собой мышинное антитело-имитатор человеческого моноклонального антитела, идентифицированного как REGN668 (также известного как дупилумаб), направленное на человеческий IL-4R. REGN1103 описан в примере 1 выше. Использованным средством абляции плазматических клеток было биспецифичное антитело против BCMA x против CD3 REGN5459, описанное в примере 1 выше. В качестве изотипических контролей использовали мышинное IgG1 антитело (REGN1094) и человеческое IgG4 x антитело против CD3 (REGN4460).

Материалы и способы.

Для определения влияния комбинирования антител против IL-4R α и против BCMA x против CD3 на выработку IgE в соответствующей модели *in vivo* было проведено исследование воспаления легких, вызванного продолжительным воздействием клеща домашней пыли (HDM), у мышей, которые были гомозиготными по человеческому BCMA и человеческому CD3 вместо мышинного BCMA и CD3. Хроническое воспаление легких и стойкую выработку IgE индуцировали путем интраназального воздействия на мышей 25 мкг HDM (Greer, номер по каталогу XPB70D3A25), разведенного в 20 мкл физиологического раствора (Sigma, номер по каталогу S8776), или 20 мкл физиологического раствора (контрольная группа) (i.p.) три раза в неделю в течение 19 недель. Эта модель вызывает переклечение класса В-клеток на плазматические клетки, продуцирующие IgE, во вторичных лимфоидных органах и стимулирует накопление плазматических клеток IgE в костном мозге. На 12 неделе после первого введения HDM подгруппа мышей начала получать подкожные инъекции 25 мг/кг REGN1103 (против IL-4R α) или 25 мг/кг REGN1094 (изотипического контроля) до конца эксперимента. На 15 неделе две дозы REGN5459 (против BCMA x против CD3) или две дозы REGN4460 (изотипического контроля) вводили подкожно, и мышей подвергали воздействию HDM в течение дальнейших 4 недель. Детали воздействия HDM и протокол лечения антителами показаны в табл. 3 ниже и на фиг. 3.

Таблица 3

Воздействие HDM и протокол лечения антителами для мышей в длительной (19 недель) модели HDM

Группа	Гуманизированные мыши BCMAxCD3	Интраназально (i.p.) (11 недель)	Антитело (2 раза в неделю после 8 недели)	Антитело (2 дозы на 11 неделе)
A	9	Физиологический раствор	Отсутствует	Отсутствует
B	11	HDM	Отсутствует	Отсутствует
C	10	HDM	REGN1094 (изотипический контроль)	REGN4460 (изотипический контроль)
D	9	HDM	REGN1094 (изотипический контроль)	REGN5459 (против BCMA x против CD3)
E	11	HDM	REGN1103 (против IL-4R α)	REGN4460 (изотипический контроль)
F	10	HDM	REGN1103 (против IL-4R α)	REGN5459 (против BCMA x против CD3)

Через 1 неделю, 3 недели и 5 недель после введения REGN5459 у всех групп мышей брали ~100 мкл крови путем кровопускания из ретроорбитальных пазух и переносили в пробирки microtainer (BD, номер по каталогу 365967) для выделения сыворотки. Концентрацию специфичного к HDM IgE в сыворотке определяли с использованием набора для анализа антител против HDM-IgE в сыворотке мыши (номер по каталогу Chondrex 3037) в соответствии с инструкциями изготовителя. Вкратце, 100 мкл образцов сыворотки, разведенных в концентрации 1:20 или 1:60, и стандарт HDM-IgE, разведенный в начальной концентрации 50 нг/мл с дальнейшими 2-кратными серийными разведениями, добавляли в планшеты с заранее нанесенным покрытием, предоставленные в наборе, и инкубировали при 4°C в течение ночи. Затем планшеты промывали 3X в промывочном буфере и инкубировали в 100 мкл биотинилированного HDM, поставляемого с набором. Затем планшеты промывали 4X в промывочном буфере и инкубировали

в 100 мкл стрептавидинпероксидазы (поставляемой с набором) в течение 30 мин при RT. Планшеты промывали 7X, и в каждый образец добавляли 100 мкл субстратного раствора TMB (поставляемого с набором), а планшеты инкубировали в темноте в течение 25 мин с последующим добавлением 50 мкл останавливающего раствора (2N серная кислота, поставляемая с набором). Оптическую плотность измеряли при 450 нМ, и концентрации HDM-IgE рассчитывали по стандартной кривой. Значения сывороточного IgE показаны в нг/мл. Нижний предел количественного определения (LLOQ) для ELISA специфичного к HDM IgE составлял 15,62 нг/мл. Статистическую значимость определяли с помощью критерия Краскела-Уоллиса с апостериорным критерием множественных сравнений Дьюнна в GraphPad Prism.

Результаты.

В модели длительного HDM лечение антителом против IL4R α показало тенденцию к снижению уровней специфичного к HDM сывороточного IgE, которые не достигли статистической значимости, и эта тенденция сохранялась в течение трех исследованных временных точек (см., фиг. 4A, 4B и 4C и табл. 4). Лечение только антителами против VCMA x против CD3 приводило к значительному снижению циркулирующего специфичного к HDM IgE по сравнению с группой изотипического контроля через одну неделю после введения REGN5459 (фиг. 4A), но этот эффект был кратковременным, и через 3 недели или через 5 недель после введения биспецифичных антител уровни специфичного к HDM IgE существенно не отличались по сравнению с группой изотипического контроля (фиг. 4B и 4C и табл. 4). Комбинация лечения антителами против IL-4R α с антителами против VCMA x против CD3 устраняло специфичный к HDM IgE в сыворотке (неопределимый с помощью ELISA). Этот эффект сохранялся на протяжении всего эксперимента (см., фиг. 4A, 4B и 4C и табл. 4), что демонстрирует эффективность блокировки IL-4R α и истощения плазматических клеток антителами против VCMA x против CD3 в виде успешной стратегии блокировки специфичной к аллергену выработки IgE даже в присутствии непрерывного воздействия аллергена.

Таблица 4

Специфичный к HDM IgE на 1, 3 и 5 неделе после лечения антителами против VCMAxCD3

Группа	Среднее \pm CO сывороточного IgE (нг/мл) 1 нед отдыха	Разница средних рангов по сравнению с изотипическим контролем	Среднее значение \pm CO сывороточного IgE в (нг/мл) 3 нед после	Разница средних рангов по сравнению с изотипическим контролем	Среднее значение \pm SD сывороточного IgE в (нг/мл) 5 нед после	Разница средних рангов по сравнению с изотипическим контролем

		1 нед после BCMAxС D3	BCMAxС D3	3 нед после BCMAxС D3	BCMAxС D3	5 нед после BCMAxС D3
А (Физиологич еский раствор)	Ниже LLOQ (n=9)	-37,47 (****)	Ниже LLOQ (n=9)	-32,61 (***)	Ниже LLOQ (n=9)	-32,9 (***)
В (HDM)	185,0 170,7 (n=11)	-2,273	202,3 179,4 (n=11)	-3,318	357,9 264,9 (n=11)	-0,2636
С (Изотипичес кий контроль)	175,0 97,56 (n=11)	N/A	248,7 ±131,8 (n=10)	N/A	352,4 229,5 (n=10)	N/A
Д (против BCMA x против CD3)	16,49 15,50 (n=9)	-24,64 (*)	733,9 ±571,3 (n=9)	1,056	930,3 ±887,6 (n=9)	2,433
Е (против IL- 4Rα)	34,90 25,12 ± (n=11)	- 16,64	23,67 16,67 (n=11)	-18,05	24,4 ±□17,23 (n=11)	-16,85
Ф (против BCMA x против CD3+против IL-4Rα)	Ниже LLOQ (n=11)	-42,23 (****)	Ниже LLOQ (n=10)	- 38,10 (****)	Ниже LLOQ (n=10)	- 34,15 (***)

Пример 3. Влияние комбинированного лечения биспецифичным антителом против BCMAxCD3 и антителом против IL-4Rα на плазматические клетки IgE костного мозга.

У мышей, описанных в примере 2, также анализировали плазматические клетки IgE костного мозга. После воздействия HDM и протокола лечения антителами, как описано в табл. 3 и на фиг. 3, мышей умерщвляли, и у мышей собирали бедренные кости. Из бедренных костей извлекали костный мозг, разрезая оба конца каждой кости, помещая каждую кость в отдельную лунку 96-луночного планшета для ПЦР с отверстиями, вырезанными в дне каждой лунки, затем помещая планшет для ПЦР поверх 96-луночного планшета для сбора с глубокими лунками на 2 мл и центрифугируя планшет в течение 4 минут при 500 g. Костный мозг ресуспендировали в 0,5 мл буфера для лизиса RBC и инкубировали в течение 3 мин при комнатной температуре с последующим добавлением 1-2 мл PBS для дезактивации буфера для лизиса. Клетки центрифугировали при 400 g в течение 4 мин, супернатант декантировали, и осадок ресуспендировали в 1 мл DPBS и фильтровали через планшетный фильтр Millipore (100 мкм) в планшет с глубокими лунками на 2 мл. Затем клетки центрифугировали и ресуспендировали в 200 мкл PBS. Затем клетки костного мозга помещали в 96-луночные планшеты и окрашивали маркером живых/мертвых клеток с последующим окрашиванием антител антителами B220, CD138, IgM, IgG1, IgA, IgD, IgE (внеклеточное блокирование) и "Dump" (включая TCRβ, CD200R3, Ly6G, CD49b и CD11b).

После окрашивания клетки дважды промывали буфером MACS, фиксировали BD Cytotfix (номер по каталогу 554655), разведенными 1:4 в PBS в течение 15 мин, затем ресуспендировали в буфере MACS и хранили при 4°C. В день сбора клетки промывали, инкубировали в BD Perm/промывочном буфере (номер по каталогу 554723) в течение 10 мин и окрашивали внутриклеточными антителами Light Chain κ, IgG1 и Intra IgE. Затем клетки собирали в приборе LSRFortessa и анализировали с использованием программного обеспечения FlowJo. Зрелые плазматические клетки IgE костного мозга идентифицировали

как Live, Dump- B220- Light Chain κ+ IgE+. Процент уменьшения плазматических клеток у отдельных мышей, которым вводили антитела, рассчитывали по следующей формуле: $100 - (100 \times \text{процент плазматических клеток/средний процент плазматических клеток в группе изотипа})$, где процент плазматических клеток рассчитывают относительно общего количества живых клеток.

Результаты.

В модели длительного HDM с непрерывное воздействие HDM после лечения антителами введение отдельно антител против IL4Rα или BCMA x CD3 не оказывало значительного влияния на плазматические клетки IgE костного мозга во время сбора (через 5 недель после введения BCMAxCD3), хотя лечение антителами против IL-4Rα показало тенденцию к снижению плазматических клеток IgE костного мозга (см. фиг. 5 и табл. 5). В противоположность этому, комбинация непрерывного введения антител анти-IL-4Rα с временным введением антител против BCMA x против CD3 приводила к существенному уменьшению плазматических клеток IgE костного мозга относительно отсутствия лечения и изотипического контроля (см. фиг. 5 и табл. 5).

Таблица 5

Плазматические клетки IgE костного мозга (BMPC) после лечения антителами			
	Лечение	Плазматически е клетки	Среднее процентное снижение относительно
		(процент живых±СО)	среднего количества плазматических клеток в группе изотипического контроля
IgE BMP C	против BCMA x против CD3	0,0378±0,023	-5,72 (нс)
	против IL4Rα	0,017±0,016	48,46 (нс)
	против BCMA x против CD3+против IL4Rα	0,0013±0,0005	96,14 (***)

Пример 4. Влияние комбинированного лечения биспецифичным антителом против BCMAxCD3 и антителом против IL-4Rα на выработку IgE и продуцирующие IgE клетки.

Для определения влияния комбинированного лечения антителами против IL-4Rα и против BCMA x против CD3 на выработку IgE и продуцирующие IgE клетки в соответствующей модели in vivo исследование воспаления легких, вызванного HDM, было проведено у мышей, которые были гомозиготными по человеческому BCMA и человеческому CD3 вместо мышинового BCMA и CD3, как описано в примерах 1-2 выше. Хроническое воспаление легких и стойкую выработку IgE индуцировали, воздействуя на мышей 25 мкг HDM, разведенным в 20 мкл физиологического раствора, или 20 мкл физиологического раствора (контрольная группа) интраназально (i.n.) три раза в неделю в течение 15 недель. Эта модель вызывает переключение класса В-клеток на плазматические клетки, продуцирующие IgE, во вторичных лимфоидных органах и стимулирует накопление плазматических клеток IgE в костном мозге. На 12 неделе после первого введения HDM подгруппа мышей начала получать подкожные инъекции 25 мг/кг REGN1103 (против IL-4Rα) или 25 мг/кг REGN1094 (изотипического контроля) до конца эксперимента. На 15 неделе две дозы REGN5459 (против BCMA x против CD3) или две дозы REGN4460 (изотипического контроля) вводили подкожно, и мышам давали отдохнуть в течение 2 недель без дополнительного введения HDM. Детали воздействия HDM и протокол лечения антителами приведены на фиг. 6 и в табл. 6 ниже.

Таблица 6
Воздействие HDM и протокол лечения мышей антителами для устранения влияния лечения антителами против IL-4R α и против VCMA x против CD3 на популяции плазматических клеток костного мозга в длительной (15 недель) модели HDM

Группа	Гуманизированные мыши VCMAxCD3 (#)	Интраназально (i.p.) (15 недель)	Антитело (2 раза в неделю после 12 недели)	Антитело (2 дозы на 15 неделе)
A	9	Физиологический раствор	Отсутствует	Отсутствует
B	11	HDM (12 недель)	Отсутствует	Отсутствует
C	13	HDM	Отсутствует	Отсутствует
D	10	HDM	REGN1094 (изотипический контроль)	REGN4460 (изотипический контроль)
E	9	HDM	REGN1094 (изотипический контроль)	REGN5459 (против VCMA x против CD3)
F	10	HDM	REGN1103 (против IL-4R α)	REGN4460 (изотипический контроль)
G	10	HDM	REGN1103 (против IL-4R α)	REGN5459 (против VCMA x против CD3)

После воздействия HDM и протокола лечения антителами мышей умерщвляли и брали кровь, селезенку и кости. Кровь брали у всех групп мышей путем пункции сердца и переносили в пробирки microtainer (BD, номер по каталогу 365967) для выделения сыворотки. Концентрацию специфичного к HDM IgE в сыворотке определяли с использованием набора для анализа антител против HDM-IgE в сыворотке мыши (номер по каталогу Chondrex 3037) в соответствии с инструкциями изготовителя. Вкратце, 100 мкл образцов сыворотки, разведенных в концентрации 1:10 или 1:60, и стандарт HDM-IgE, разведенный в начальной концентрации 50 нг/мл с дальнейшими 2-кратными серийными разведениями, добавляли в планшеты с заранее нанесенным покрытием, предоставленные в наборе, и инкубировали при 4°C в течение ночи. Затем планшеты промывали 3X в промывочном буфере и инкубировали в 100 мкл биотинилированного HDM, поставляемого с набором. Затем планшеты промывали 4X в промывочном буфере и инкубировали в 100 мкл стрептавидинпероксидазы (поставляемой с набором) в течение 30 мин при RT. Планшеты промывали 7X, и в каждый образец добавляли 100 мкл субстратного раствора TMB (поставляемого с набором), а планшеты инкубировали в темноте в течение 25 мин с последующим добавлением 50 мкл останавливающего раствора (2N серная кислота, поставляемая с набором). Оптическую плотность измеряли при 450 нм, и концентрации HDM-IgE рассчитывали по стандартной кривой. Значения сывороточного IgE показаны в нг/мл. Статистическую значимость определяли с помощью критерия Краскела-Уоллиса с апостериорным критерием множественных сравнений Дьюнна в GraphPad Prism.

Также у мышей собирали селезенки и бедренные кости. Селезенки измельчали на сетчатом фильтре для клеток размером 74 микрон в 2 мл среды RPMI с использованием заднего конца шприца на 3 мл, и суспензии отдельных клеток переносили на 96-луночный планшет. Костный мозг извлекали из бедренных костей, разрезая оба конца каждой кости, помещая каждую кость в отдельную лунку 96-луночного планшета для ПЦР с отверстиями, вырезанными в дне каждой лунки, затем помещая планшет для ПЦР поверх 96-луночного планшета для сбора с глубокими лунками на 2 мл и центрифугируя планшет в течение 4 мин при 500 g. Образцы селезенки ресуспендировали в 1 мл, а костный мозг в 0,5 мл буфера для лизиса RBC и инкубировали в течение 3 мин при комнатной температуре с последующим добавлением 1-2 мл PBS для дезактивации буфера для лизиса. Клетки центрифугировали при 400 g в течение 4 мин, супернатант декантировали, и осадок ресуспендировали в 1 мл DPBS и фильтровали через планшетный фильтр Millipore (100 мкм) в планшет с глубокими лунками на 2 мл. Затем клетки центрифугировали, и клетки селезенки ресуспендировали в 1 мл, а костный мозг в 200 мкл PBS. Затем одну десятую клеток

селезенки и все клетки костного мозга помещали в 96-луночные планшеты и окрашивали маркером живых/мертвых клеток с последующим окрашиванием антител антителами B220, CD138, IgM, IgG1, IgA, IgD, IgE (внеклеточное блокирование) и "Dump" (включая TCR β , CD200R3, Ly6G, CD49b и CD11b). После окрашивания клетки дважды промывали буфером MACS, фиксировали BD Cytofix (номер по каталогу 554655), разведенным 1:4 в PBS в течение 15 мин, затем ресуспендировали в буфере MACS и хранили при 4 градусах. В день сбора клетки промывали, инкубировали в BD Perm/промывочном буфере (номер по каталогу 554723) в течение 10 мин и окрашивали внутриклеточными антителами Light Chain κ , IgG1 и Intra IgE. Затем клетки собирали в приборе LSRFortessa и анализировали с использованием программного обеспечения FlowJo. Зрелые плазматические клетки идентифицировали как Live, Dump- (включая TCRb, CD200R3, Ly6G, CD49b и CD11b) B220- Light Chain k^+ . Процент уменьшения плазматических клеток у отдельных мышей, которым вводили антитела, рассчитывали по следующей формуле: $100 - (100 \times \text{процент плазматических клеток/средний процент плазматических клеток в группе изотипа})$, где процент плазматических клеток рассчитывают относительно общего количества живых клеток. результаты показаны в табл. 7 ниже.

Результаты.

В модели длительного HDM лечение антителом против IL4R α (группа F) показало тенденцию к снижению уровней специфичного к HDM сывороточного IgE в большинстве образцов, имеющих обнаруживаемые уровни специфичного к HDM IgE (см., табл. 7 и фиг. 7). И лечение только антителами против BCMA x против CD3 (группа E), и комбинация лечения антителами против IL-4R α с антителами против BCMA x против CD3 (группа G) устраняла специфичный к HDM IgE в сыворотке, причем у всех мыши проявлялись уровни ниже нижнего предела количественного определения. Эти данные демонстрируют, что лечения антителами против BCMA x против CD3 достаточно для существенного уменьшения специфичного к HDM IgE в сыворотке через 2 недели после введения.

В том же эксперименте лечение антителом против IL4R α не влияло на общее количество плазматических клеток костного мозга (фиг. 8A) и показало тенденцию к снижению плазматических клеток IgE костного мозга (фиг. 8B). лечение только антителами против BCMA x против CD3 приводило к существенному уменьшению как общего количества плазматических клеток, так и плазматических клеток IgE костного мозга относительно групп с отсутствием лечения и групп лечения изотипическим контролем во время сбора (две недели после введения REGN5459) (фиг. 8A-8B). Комбинация лечения антителами против IL-4R α с антителами против BCMA x против CD3 также существенно снижала общее количество плазматических клеток и специфичных по Ige плазматических клеток костного мозга в той же степени, что и только антитела против BCMA x против CD3, что демонстрирует, что последнего лечения достаточно для истощения плазматических клеток костного мозга. Аналогичных результаты также наблюдались в селезенке; лечение антителом против IL4R α не показало влияния на общее число плазматических клеток или плазматических клеток IgE селезенки (фиг. 8C-8D). лечение только антителами против BCMA x против CD3 приводило к существенному уменьшению общего числа плазматических клеток селезенки относительно групп с отсутствием лечения и групп лечения изотипическим контролем во время сбора (две недели после введения REGN5459) (фиг. 8C-8D). Комбинация лечения антителами против IL-4R α с антителами против BCMA x против CD3 также существенно снижала общее число плазматических клеток селезенки в той же степени, что и только антитела против BCMA x против CD3, что демонстрирует, что последнего лечения достаточно для истощения плазматических клеток селезенки. Количество плазматических клеток IgE уменьшалось при лечении только антителами против BCMA x против CD3, а также при комбинации антител против IL-4R α и против BCMA x против CD3. Однако, уменьшение плазматических клеток IgE селезенки достигло статистической значимости только по сравнению с группой, которая получала HDM в течение 12 недель в отсутствие лечения антителами, или с группой изотипического контроля, но не по сравнению с группой, которая получала HDM в течение 15 недель и без лечения антителами.

Таблица 7

Влияние биспецифичного антитела против BCMA x против CD3, отдельно или в комбинации с антителом против IL-4R α , на уровни специфичного к HDM IgE сыворотки

Группа	A (Физиологический раствор)	B (HDM 12 недель)) Без Ab	C (Без Ab)	D (IgG)	E (BCMA A x CD3)	F (против IL-4R α)	G (BCMA A x CD3+против IL-

							4R α)
Среднее \pm СО сывороточны й IgE (нг/мл)	0,223 \pm 0,669	55,37 \pm 34,3	112,28 \pm 108,88	139,13 \pm 48,02	0,79 \pm 2,51	31,25\pm 32,73	0,06 \pm 0,13
Разница средних рангов по сравнению с изотипически м контролем	-47,02 (****)	-13,5 (нс)	-9,185 (нс)	N/A	-46,9 (****)	-21,4 (нс)	-46,1 (****)

Таблица 8

Влияние биспецифичного антитела против ВСМА х против CD3, отдельно или в комбинации с антителом против IL-4R α , на общие плазматические клетки и плазматические клетки IgE костного мозга и селезенки

	Лечение	Плазматически е клетки (процент живых \pm СО	Среднее процентное снижение относительно среднего количества плазматических клеток в группе изотипического контроля
Всего ВМРС	против ВСМА х против CD3	0,018 \pm 0,006	95,76 (***)
	против IL4R α	0,437 \pm 0,115	-2,10 (нс)
	против ВСМА х против CD3+против IL4R α	0,021 \pm 0,009	94,83 (***)
IgE ВМРС	против ВСМА х против CD3	0,002 \pm 0,001	91,08 (***)
	против IL4R α	0,014 \pm 0,013	37,62 (нс)
	против ВСМА х против CD3+против IL4R α	0,001 \pm 0,0003	94,65 (****)
Всего ПК селезенки	против ВСМА х против CD3	0,07 \pm 0,03	84,67 (**)
	против IL4R α	0,448 \pm 0,319	11,75 (нс)
	против ВСМА х против CD3+против IL4R α	0,07 \pm 0,024	86,64 (**)
IgE ПК	против ВСМА х против CD3	0,00079 \pm 0,0004	75,98 (**)
селезенки	против IL4R α	0,0031 \pm 0,002	14,97 (нс)
	против ВСМА х против CD3+против IL4R α	0,0009 \pm 0,001	73,81 (**)

Объем настоящего изобретения не следует ограничивать конкретными вариантами осуществления, описанными в данном документе. На самом деле, различные модификации изобретения в дополнение тем, которые описаны в данном документе, станут очевидны специалистам в данной области из предшествующего описания и сопровождающих фигур. Такие модификации предназначены попадать в объем прилагаемой формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ уменьшения или устранения аллерген-специфического сывороточного IgE у субъекта, включающий: (a) выбор субъекта с аллергическим заболеванием или расстройством, нарушением активации тучных клеток или мастоцитозом; и (b) введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора пути IL-4/IL-13 и средства абляции плазматических клеток, в котором средством абляции плазматических клеток является биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий: (a) первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с ВСМА; и (b) второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3.

2. Способ лечения аллергии или профилактики, или уменьшения тяжести аллергической реакции на аллерген, включающий: (a) выбор субъекта с аллергическим заболеванием или расстройством, нарушением активации тучных клеток или мастоцитозом; и (b) введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора пути IL-4/IL-13 и средства абляции плазматических клеток, в котором средством абляции плазматических клеток является биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий: (a) первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с ВСМА; и (b) второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3.

3. Способ лечения аллергии или профилактики, или уменьшения тяжести аллергической реакции на аллерген, включающий: (a) выбор субъекта с аллергическим заболеванием или расстройством, нарушением активации тучных клеток или мастоцитозом, причем субъект получает исходную схему лечения, предусматривающую одну или несколько доз ингибитора пути IL-4/IL-13; и (b) введение субъекту по меньшей мере одной дозы средства абляции плазматических клеток, в котором средством абляции плазматических клеток является биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий: (a) первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с ВСМА; и (b) второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3.

4. Способ по любому из пп.1-3, в котором введении ингибитора пути IL-4/IL-13 предотвращает образование новых плазматических клеток IgE+ и при этом введении средства абляции плазматических клеток способствует устранению находящихся в костном мозге плазматических клеток IgE+, таким образом уменьшая или устраняя специфичный к аллергену сывороточный IgE у субъекта.

5. Способ по любому из пп.1-4, в котором аллергическое заболевание или расстройство выбрано из группы, состоящей из аллергической астмы, сенной лихорадки, хронической крапивницы, пищевой аллергии, аллергии на цветочную пыльцу и аллергии на (не пищевой) аллерген окружающей среды.

6. Способ по любому из пп.1-5, в котором у субъекта существует риск анафилаксии, вызванной аллергеном.

7. Способ по любому из пп.1-6, в котором у субъекта имеется сезонная аллергия.

8. Способ по любому из пп.1-7, в котором у субъекта имеется тяжелая аллергия.

9. Способ по любому из пп.1-8, в котором у субъекта имеется аллергия, вызванная одним или несколькими аллергенами, выбранными из группы, состоящей из молока, молочного продукта, яйца, сельдерея, кунжута, пшеницы, мяса, сои, рыбы, фруктов, моллюсков, сахара, арахиса, бобовых, древесного ореха, пыли, пылевого клеща, цветочной пыльцы, яда насекомых, плесени, меха животных, шерсти животных, шерсти, латекса, металла, бытового чистящего средства, моющего средства, лекарств, косметики, парфюмерии, лекарственных средств, таких как пенициллин, сульфаниламиды или салицилат, терапевтических моноклональных антител (например, цетуксимаба), амброзии, травы и березы.

10. Способ по любому из пп.1-9, в котором аллерген содержится или получен из пищевого продукта, выбранного из группы, состоящей из молока, молочного продукта, яйца, сельдерея, кунжута, пшеницы, мяса, фруктов, сои, рыбы, моллюсков, сахара, арахиса, бобовых и древесного ореха.

11. Способ по любому из пп.1-9, в котором аллерген представляет собой непищевой аллерген, выбранный из группы, состоящей из пыли, пылевого клеща, цветочной пыльцы, яда насекомых, плесени, меха животных, шерсти животных, шерсти, латекса, металла, бытового чистящего средства, моющего средства, лекарств, косметики, парфюмерии, лекарственных средств, таких как пенициллин, сульфаниламиды или салицилат, терапевтических моноклональных антител (например, цетуксимаба), амброзии, травы и березы.

12. Способ повышения эффективности и/или переносимости схемы иммунотерапии у субъекта, имеющего аллергию, причем способ включает введение субъекту ингибитора пути IL-4/IL-13 и средства абляции плазматических клеток перед схемой иммунотерапии или одновременно с ней, в котором средством абляции плазматических клеток является биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий: (a) первый антигенсвязывающий домен, который специфично связывается с ВСМА; и (b) второй антигенсвязывающий домен, который специфично связывает CD3.

13. Способ по п.12, в котором иммунотерапией является пероральная иммунотерапия.

14. Способ по п.12, в котором иммунотерапией является подкожная иммунотерапия.

15. Способ по любому из пп.12-14, в котором у субъекта имеется пищевая аллергия.

16. Способ по п.15, в котором у субъекта имеется аллергия на молоко, молочный продукт, яйцо, сельдерей, кунжут, пшеницу, мясо, фрукты, сою, рыбу, моллюски, сахар, арахис, бобовые или древесный орех.

17. Способ по любому из пп.12-14, в котором у субъекта имеется аллергия на непищевой аллерген, выбранный из группы, состоящей из пыли, пылевого клеща, цветочной пыльцы, яда насекомых, плесени, меха животных, шерсти животных, шерсти, латекса, металла, бытового чистящего средства, моющего средства, косметики, парфюмерии, лекарственного средства, терапевтического моноклонального антитела, амброзии, травы и березы.

18. Способ по любому из пп.12-17, в котором средство абляции плазматических клеток вводят перед началом схемы иммунотерапии.

19. Способ по любому из пп.12-18, в котором по меньшей мере одну дозу ингибитора пути IL-4/IL-13 вводят перед началом схемы иммунотерапии.

20. Способ по любому из пп.12-19, в котором ингибитор пути IL-4/IL-13 вводят одновременно со схемой иммунотерапии.

21. Способ по любому из пп.1-20, в котором ингибитор пути IL-4/IL-13 выбран из группы, состоящей из антитела против IL-4, антитела против IL-13, биспецифичного антитела против IL-4/IL-13, ингибитора рецептора IL-4 (IL-4R), ловушки IL-4, ловушки IL-5 и антитела против IL-4R.

22. Способ по любому из пп.1-21, в котором ингибитором пути IL-4/IL-13 является антитело против IL-4.

23. Способ по любому из пп.1-21, в котором ингибитором пути IL-4/IL-13 является антитело против IL-13.

24. Способ по любому из пп.1-21, в котором ингибитором пути IL-4/IL-13 является биспецифичное антитело против IL-4/IL-13.

25. Способ по любому из пп.1-21, в котором ингибитором пути IL-4/IL-13 является ингибитор IL-4R.

26. Способ по любому из пп.1-21, в котором ингибитором пути IL-4/IL-13 является антитело против IL-4R.

27. Способ по п.26, в котором антитело против IL-4R содержит три определяющие комплементарность области (CDR) (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) тяжелой цепи и три CDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) легкой цепи, причем HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, LCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, а LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.

28. Способ по п.27, в котором антитело против IL-4R содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи (LCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

29. Способ по любому из пп.26-28, в котором антитело против IL-4R содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9.

30. Способ по любому из пп.26-28, в котором антитело против IL-4R содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем легкая цепь имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

31. Способ по любому из пп.26-28, в котором антитело против IL-4R содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, а легкая цепь имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

32. Способ по любому из пп.1-31, в котором ингибитором пути IL-4/IL-13 является дупилумаб.

33. Способ по любому из пп.1-21, в котором ингибитор пути IL-4/IL-13 выбран из группы, состоящей из дупилумаба, пасколизумаба, AMG317, MEDI2045, MEDI9314, тралокинумаба, лебрикизумаба, анрукинзумаба, дектрекумаба, GSK679586, MEDI7836, ромилкимаба, ловушки IL-4, ловушки IL-5, AER-003 и питракинры.

34. Способ по п.1, в котором первый антигенсвязывающий домен содержит три CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащие вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и три CDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) легкой цепи, содержащие вариабельную область легкой цепи (LCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

35. Способ по п.34, в котором HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16, HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18, LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22, LCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24, а LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26.

36. Способ по любому из пп.1, 34, 35, в котором второй антигенсвязывающий домен содержит три CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащие вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ

ID NO: 28 и 36, и три CDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) легкой цепи, содержащие вариабельную область легкой цепи (LCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

37. Способ по п.36, в котором HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30 или 38, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32 или 40, HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34 или 42, LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22, LCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24, а LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26.

38. Способ по п.1, в котором биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(а) первый антигенсвязывающий домен, который содержит домены HCDR1, HCDR2 и HCDR3 соответственно, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 16 и 18, и домены LCDR1, LCDR2 и LCDR3 соответственно, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 22, 24 и 26; и

(б) второй антигенсвязывающий домен, который содержит домены HCDR1, HCDR2 и HCDR3 соответственно, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 30, 32 и 34, и домены LCDR1, LCDR2 и LCDR3 соответственно, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 22, 24 и 26.

39. Способ по п.1, в котором биспецифичное антитело против ВСМА/против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(а) первый антигенсвязывающий домен, который содержит домены HCDR1, HCDR2 и HCDR3 соответственно, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14, 16 и 18, и домены LCDR1, LCDR2 и LCDR3 соответственно, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 22, 24 и 26; и

(б) второй антигенсвязывающий домен, который содержит домены HCDR1, HCDR2 и HCDR3 соответственно, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 38, 40 и 42, и домены LCDR1, LCDR2 и LCDR3 соответственно, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 22, 24 и 26.

40. Способ по любому из пп.1-39, в котором ингибитор пути IL-4/IL-13 вводят перед средством абляции плазматических клеток.

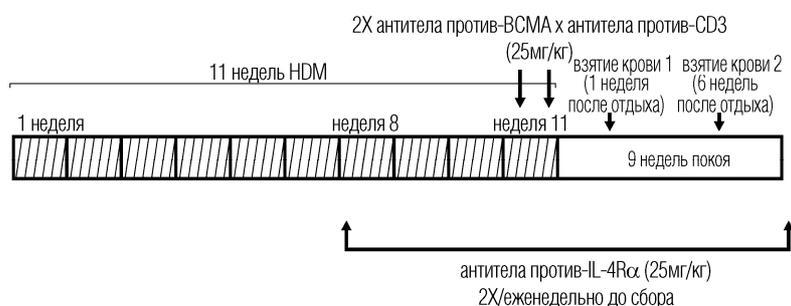
41. Способ по любому из пп.1-39, в котором ингибитор пути IL-4/IL-13 вводят после средства абляции плазматических клеток.

42. Способ по любому из пп.1-39, в котором ингибитор пути IL-4/IL-13 и средство абляции плазматических клеток вводят одновременно.

43. Способ по любому из пп.1-42, в котором введение блокирует выработку IgE и удаляет специфичный к аллергену IgE из сыворотки у субъекта по сравнению с субъектом, получавшим лечение либо ингибитором пути IL-4/IL-13, либо средством абляции плазматических клеток в качестве монотерапии.

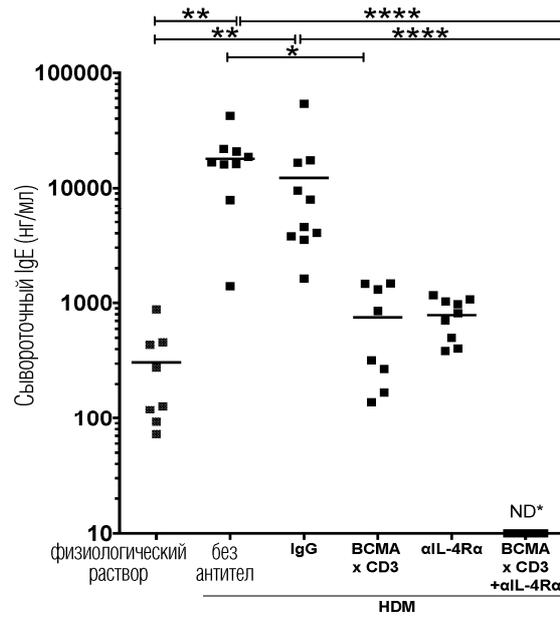
44. Способ по любому из пп.1-43, дополнительно включающий введение по меньшей мере одного дополнительного терапевтического средства или применение терапии.

45. Способ по п.44, в котором дополнительное терапевтическое средство выбрано из группы, состоящей из антагониста IgE, антигистаминного средства, противовоспалительного средства, кортикостероида, антагониста лейкотриена, ингибитора тучных клеток, бронхального расширителя, противоотечного средства, эпинефрина, антагониста IL-1, антагониста IL-5, антагониста IL-31, антагониста IL-33, антагониста IL-25, интерферона γ , антагониста TNF и антагониста TSLP.

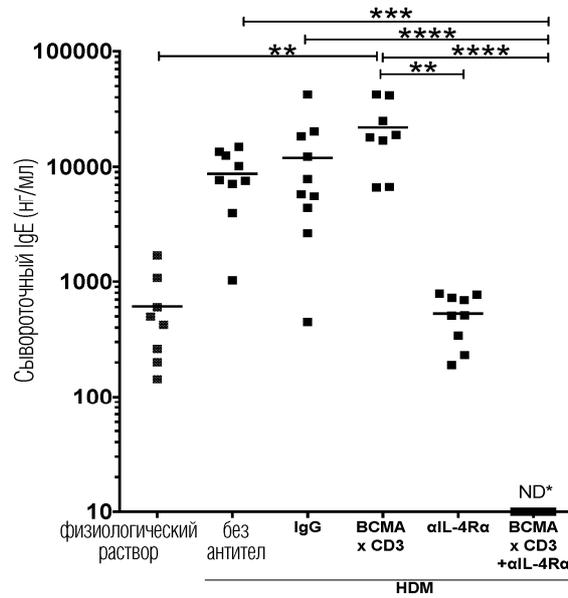


Фиг. 1

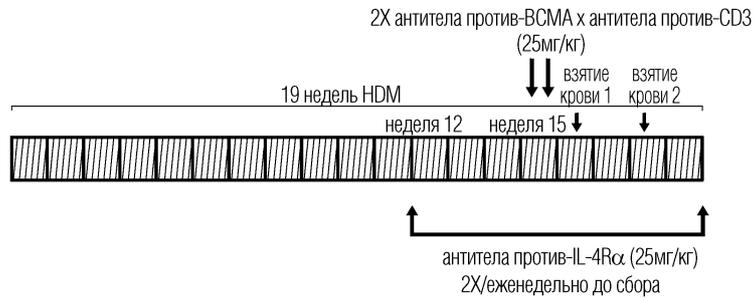
045410



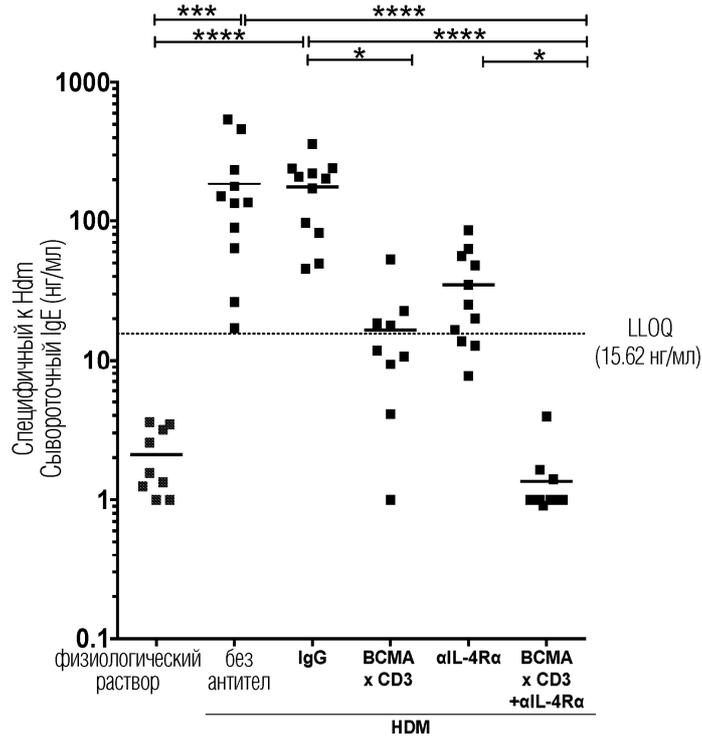
Фиг. 2А



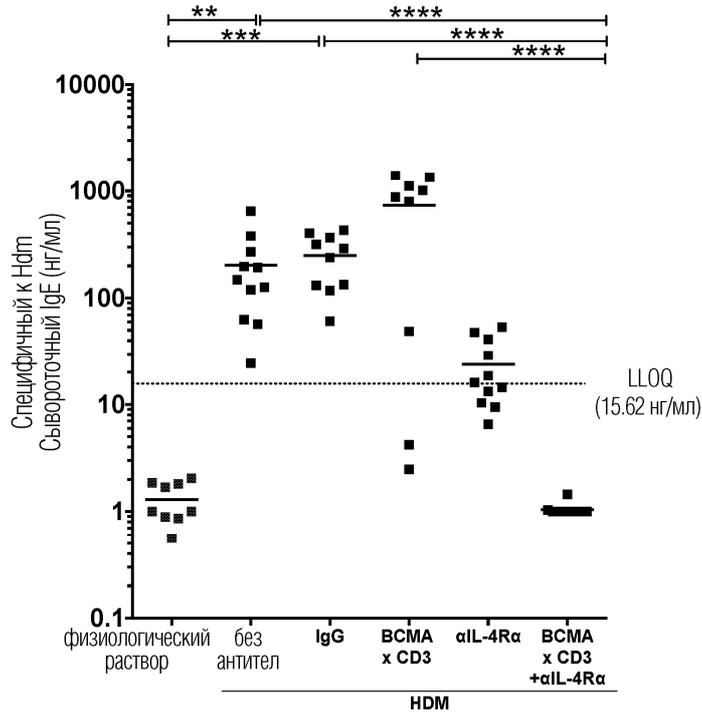
Фиг. 2В



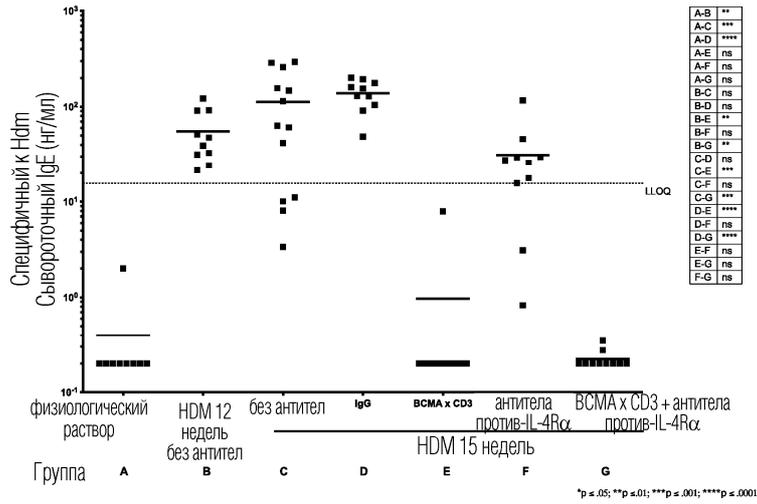
Фиг. 3



Фиг. 4А



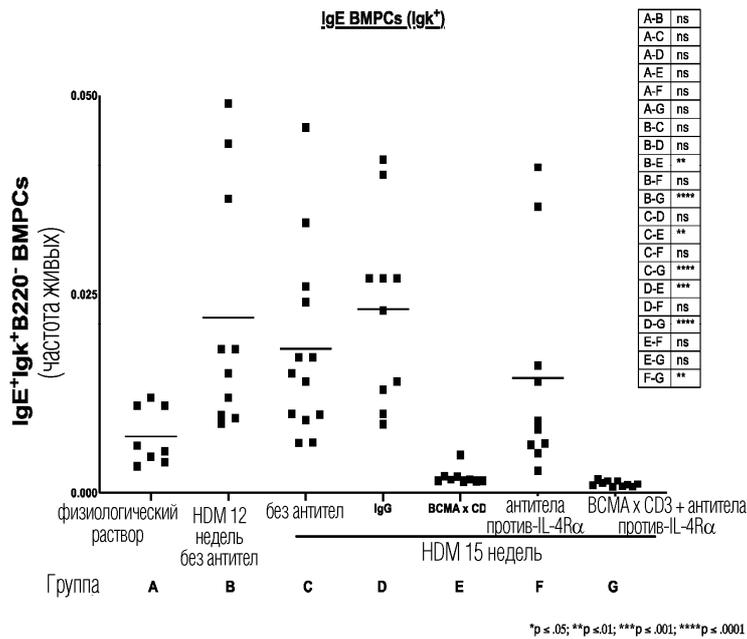
Фиг. 4В



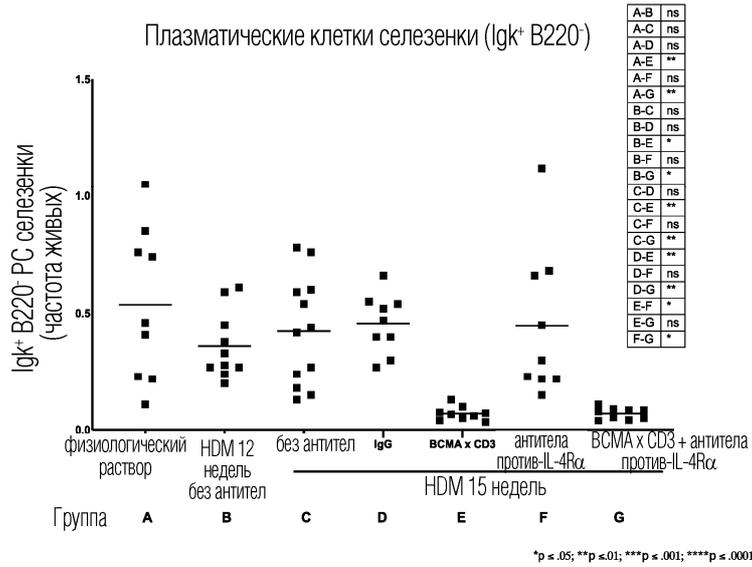
Фиг. 7



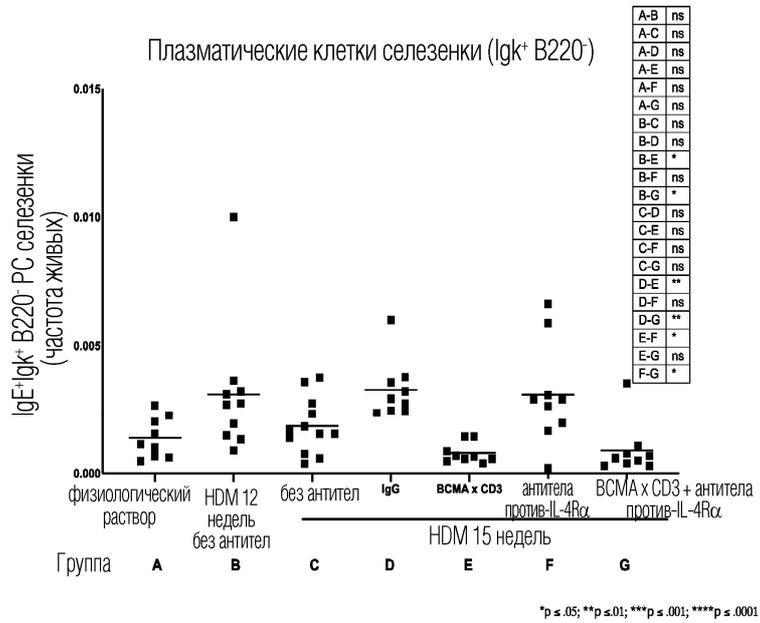
Фиг. 8А



Фиг. 8В



Фиг. 8С



Фиг. 8D

