

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202292582 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.01.27

(22) Дата подачи заявки
2021.04.29

(51) Int. Cl. *A61K 31/454* (2006.01)
A61K 31/4545 (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01)
A61K 31/517 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
A61P 37/02 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ СВЯЗАННЫХ С ЦИТОКИНАМИ НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ ЯВЛЕНИЙ

(31) 20172322.8

(32) 2020.04.30

(33) EP

(86) PCT/US2021/029877

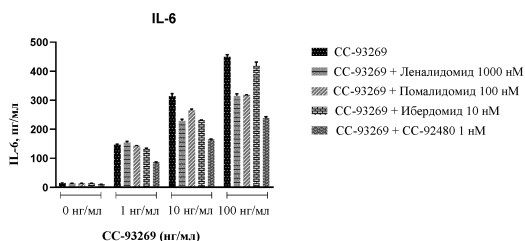
(87) WO 2021/222552 2021.11.04

(71) Заявитель:
БРИСТОЛ-МАЙЕРЗ СКВИББ
КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:
Джейараджу Данни Виджей,
Аматанджело Майкл, Ла Мотте-Мос
Росс, Пирселл Уильям, Тхакурта
Анджан Г. (US)

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

(57) Изобретение относится к агентам для применения в лечении или предупреждении связанного с цитокинами нежелательного явления или заболевания, такого как синдром высвобождения цитокинов (CRS).



A1

202292582

202292582

A1

PCT/US2021/029877

МПК:

<i>A61K 31/454</i> (2006.01)	<i>A61K 45/06</i> (2006.01)
<i>A61K 31/4545</i> (2006.01)	<i>A61K 35/02</i> (2006.01)
<i>A61K 31/496</i> (2006.01)	<i>A61K 37/02</i> (2006.01)
<i>A61K 31/517</i> (2006.01)	<i>C07K 16/28</i> (2006.01)
<i>A61K 31/5377</i> (2006.01)	

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ СВЯЗАННЫХ С ЦИТОКИНАМИ НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ ЯВЛЕНИЙ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к агентам для применения в лечении или предупреждении связанного с цитокинами нежелательного явления или заболевания, такого как синдром высвобождения цитокинов (CRS).

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Синдром высвобождения цитокинов (CRS) представляет собой потенциально тяжелое и угрожающее жизни нежелательное явление, характеризующееся повышенными уровнями провоспалительных цитокинов, что в тяжелых случаях приводит к системной воспалительной реакции. Без ограничения какой-либо теорией, CRS может быть результатом обильной и/или быстрой секреции цитокинов, например вследствие активации и/или пролиферации эффекторных иммунных клеток. Например, CRS возникает, когда большое количество лейкоцитов активируется и высвобождает воспалительные цитокины.

CRS является одним из наиболее часто встречающихся серьезных нежелательных эффектов иммунотерапевтических средств-рекрутеров Т-клеток, включая биспецифичные антитела-рекрутеры Т-клеток и Т-клетки с CAR (химерными антигенными рецепторами) (Teachey *et al.* (2013) *Blood*. 121(26): 5154-5157; Hay *et al.* (2017) *Blood*. 130(21): 2295-2306). Также был описан CRS после инфузии нескольких терапевтических средств на основе антител (Chatenoud *et al.* (1990) *Transplantation*. 49(4): 697-702; Freeman *et al.* (2015) *Blood*. 126(24): 2646-2649; Suntharalingam *et al.* (2006) *N. Engl. J. Med.* 355(10): 1018-1028; Winkler *et al.* (1999) *Blood*. 94(7): 2217-2224). Указанное нежелательное явление также может быть вызвано применением других средств клеточной терапии и иммунотерапии, а также инфекцией.

Несмотря на то, что существуют средства лечения для смягчения симптомов высвобождения цитокинов, такие как тоцилизумаб и кортикостероиды, понимание и устранение источника высвобождения цитокинов потенциально может увеличить терапевтический индекс этих средств клеточной терапии и иммунотерапии. Показано, что в сыворотке пациентов с CRS повышены уровни многих цитокинов, включая интерлейкин-6 (IL-6), интерлейкин-10 (IL-10) и IL-1-бета (Norelli *et al.* (2018) *Nat. Med.* 24(6): 739-748; Wang and Han (2018) *Biomark. Res.* 6: 4). Полагают, что IL-6 является основным медиатором токсичности при CRS (Tanaka *et al.* (2016) *Immunotherapy.* 8(8): 959-70), что дополнительно подтверждается эффективностью тоцилизумаба при лечении пациентов с тяжелой формой CRS за счет блокирования передачи сигналов IL-6 (Grupp *et al.* (2013) *N. Engl. J. Med.* 368: 1509-1518). В качестве альтернативы, на передача сигналов IL-1-бета может подвергаться нацеленному воздействию анакинры (IL-1-бета) для смягчения симптомов CRS. Как правило, применяют агент для нацеливания на отдельный цитокин и предупреждения нисходящей передачи сигналов, а исходная секреция IL-6 или IL-1-бета не предупреждается современными средствами лечения. Кроме того, существующие средства лечения CRS не всегда являются эффективными и/или могут иметь нежелательные побочные эффекты. Следовательно, существует потребность в дополнительных терапевтических средствах для лечения или предупреждения CRS.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к способам лечения или предупреждения связанного с цитокинами нежелательного явления или заболевания, такого как синдром высвобождения цитокинов (CRS), у субъекта с применением ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6), предпочтительно где указанный ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой помалидомид, ибердомид, леналидомид, авадомид или соединение 1 (4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В одном из аспектов настоящего изобретения предложен ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) для применения в способе лечения или предупреждения связанного с цитокинами нежелательного явления или заболевания, такого как синдром высвобождения цитокинов (CRS), у субъекта, где указанный ингибитор цитокинов

(например, ингибитор IL-6) представляет собой помалидомид, ибердомид, леналидомид, авадомид или соединение 1, и где соединение 1 представляет собой 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен способ лечения или предупреждения связанного с цитокинами нежелательного явления или заболевания, такого как синдром высвобождения цитокинов (CRS), у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6), где указанный ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой помалидомид, ибердомид, леналидомид, авадомид или соединение 1, где терапевтически эффективная доза представляет собой дозу, достаточную для ослабления или предупреждения развития CRS у субъекта, и где соединение 1 представляет собой 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В предпочтительных воплощениях связанное с цитокинами нежелательное явление или заболевание представляет собой синдром высвобождения цитокинов (CRS). В предпочтительных воплощениях субъект получал или будет получать терапевтический агент, который вызвал или может вызвать CRS. В особенно предпочтительных воплощениях терапевтический агент, который вызвал или может вызвать CRS, представляет собой рекрутер Т-клеток.

В альтернативных воплощениях связанное с цитокинами нежелательное явление или заболевание представляет собой коронавирусное заболевание 19 (COVID-19).

В других альтернативных воплощениях связанное с цитокинами нежелательное явление или заболевание представляет собой опосредованную цитокинами нейротоксичность. В предпочтительных воплощениях субъект получал или будет получать терапевтический агент, который вызвал или может вызвать опосредованную цитокинами нейротоксичность. В особенно предпочтительных воплощениях терапевтический агент, который вызвал или может вызвать опосредованную цитокинами нейротоксичность, представляет собой рекрутер Т-клеток.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен нацеленный на ВСМА

(антиген созревания В-клеток) терапевтический агент для применения в способе лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА, у субъекта, где указанный способ включает:

а) введение субъекту нацеленного на ВСМА терапевтического агента, где указанное введение может вызвать или вызвало CRS у субъекта; и

б) введение субъекту ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) в дозе, достаточной для предупреждения или ослабления развития CRS у субъекта, где указанный ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой помалидомид, ибердомид, леналидомид, авадомид или соединение 1, и где соединение 1 представляет собой 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предложен способ лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА, у субъекта, где указанный способ включает:

а) введение субъекту нацеленного на ВСМА терапевтического агента, и

б) введение субъекту ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6), где указанный ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой помалидомид, ибердомид, леналидомид, авадомид или соединение 1, и где соединение 1 представляет собой 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен нацеленный на ВСМА терапевтический агент для применения в способе лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА, у субъекта, где указанный способ включает:

а) введение субъекту ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6), где указанный ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой помалидомид, ибердомид, леналидомид, авадомид или соединение 1, и где соединение 1 представляет собой 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль; и

б) после введения ингибитора цитокинов введение субъекту нацеленного на ВСМА терапевтического агента, где указанное введение может вызвать CRS у

субъекта.

В соответствующем аспекте настоящего изобретения предложен способ лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА, у субъекта, где указанный способ включает:

а) введение субъекту ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6), где указанный ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой помалидомид, ибердомид, леналидомид, авадомид или соединение 1, и где соединение 1 представляет собой 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль; и

б) после введения ингибитора цитокинов введение субъекту нацеленного на ВСМА терапевтического агента, где указанное введение может вызвать CRS у субъекта.

В некоторых воплощениях ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят в первой дозе по меньшей мере за 1 сутки до введения нацеленного на ВСМА терапевтического агента, предпочтительно по меньшей мере за 2 суток, по меньшей мере за 3 суток, по меньшей мере за 4 суток, по меньшей мере за 5 суток, по меньшей мере за 6 суток, по меньшей мере за 7 суток, по меньшей мере за 8 суток, по меньшей мере за 9 суток, по меньшей мере за 10 суток, по меньшей мере за 11 суток, по меньшей мере за 12 суток, по меньшей мере за 13 суток или по меньшей мере за 14 суток до введения нацеленного на ВСМА терапевтического агента.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен нацеленный на ВСМА терапевтический агент для применения в способе лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА, у субъекта, где указанный способ включает:

а) введение субъекту нацеленного на ВСМА терапевтического агента, где указанное введение может вызвать или вызвало CRS у субъекта; и

б) после введения нацеленного на ВСМА терапевтического агента введение субъекту ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6), где указанный ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой помалидомид, ибердомид, леналидомид, авадомид или соединение 1, и где соединение 1 представляет собой 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В схожем аспекте настоящего изобретения предложен способ лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА, у субъекта, где указанный способ включает:

а) введение субъекту нацеленного на ВСМА терапевтического агента, где указанное введение может вызвать или вызвало CRS у субъекта; и

б) после введения нацеленного на ВСМА терапевтического агента введение субъекту ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6), где указанный ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой помалидомид, ибердомид, леналидомид, авадомид или соединение 1, и где соединение 1 представляет собой 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент вводят в первой дозе по меньшей мере за 1 сутки до введения ингибитора цитокинов, предпочтительно по меньшей мере за 2 суток, по меньшей мере за 3 суток, по меньшей мере за 4 суток, по меньшей мере за 5 суток, по меньшей мере за 6 суток, по меньшей мере за 7 суток, по меньшей мере за 8 суток, по меньшей мере за 9 суток, по меньшей мере за 10 суток, по меньшей мере за 11 суток, по меньшей мере за 12 суток, по меньшей мере за 13 суток или по меньшей мере за 14 суток до введения ингибитора цитокинов.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, мультиспецифичное антитело, которое специфично связывается с ВСМА и антигеном, который способствует активации одной или более Т-клеток) для применения в способе лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА, у субъекта, где указанный способ включает:

а) введение субъекту нацеленного на ВСМА терапевтического агента, где указанное введение может вызвать или вызвало CRS у субъекта; и

б) введение субъекту соединения 1, где соединение 1 представляет собой 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения «субъект» или «пациент» представляет собой человека.

В особенно предпочтительных воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент представляет собой рекрутер Т-клеток.

В воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения рекрутер Т-клеток представляет собой мультиспецифичное антитело, которое специфично связывается с антигеном-мишенью (например, раковым антигеном, таким как ВСМА) и антигеном, который способствует активации одной или более Т-клеток. В некоторых воплощениях антиген, который способствует активации одной или более Т-клеток, выбран из группы, состоящей из CD3, TCR α (Т-клеточный рецептор альфа), TCR β , TCR γ , TCR ζ , ICOS (индуцибельный Т-клеточный костимулятор), CD28, CD27, HVEM (медиатор проникновения вируса герпеса), LIGHT, CD40, 4-1BB, OX40, DR3, GITR (индуцируемый глюкокортикоидами рецептор фактора некроза опухоли), CD30, TIM1 Т-клеточный иммуноглобулин и домен муцина 1), SLAM (сигнальная молекула активации лимфоцитов), CD2 или CD226. В предпочтительных воплощениях антиген, который способствует активации одной или более Т-клеток, представляет собой CD3.

В альтернативных воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения рекрутер Т-клеток представляет собой химерный антигенный рецептор (CAR), нацеленный на антиген-мишень (например, раковый антиген, такой как ВСМА), или Т-клетку, экспрессирующую по меньшей мере один CAR, нацеленный на антиген-мишень (например, раковый антиген, такой как ВСМА).

В воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения терапевтический агент, который вызвал или может вызвать CRS, или нацеленный на ВСМА терапевтический агент включает антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие комбинацию областей CDR1H (определяющая комплементарность область 1 тяжелой цепи), CDR2H, CDR3H, CDR1L (определяющая комплементарность область 1 легкой цепи), CDR2L и CDR3L, выбранную из:

а) область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:23, область CDR2L с SEQ ID NO:24 и область CDR3L с SEQ ID NO:20;

б) область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:25, область CDR2L с SEQ ID NO:26 и область CDR3L с SEQ ID NO:20;

в) область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:27, область CDR2L с SEQ ID NO:28 и область CDR3L с SEQ ID NO:20;

г) область CDR1H с SEQ ID NO:29, область CDR2H с SEQ ID NO:30, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:31, область CDR2L с SEQ ID NO:32 и область CDR3L с SEQ ID NO:33;

д) область CDR1H с SEQ ID NO:34, область CDR2H с SEQ ID NO:35, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:31, область CDR2L с SEQ ID NO:32 и область CDR3L с SEQ ID NO:33;

е) область CDR1H с SEQ ID NO:36, область CDR2H с SEQ ID NO:37, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:31, область CDR2L с SEQ ID NO:32 и область CDR3L с SEQ ID NO:33; или

ж) область CDR1H с SEQ ID NO:15, область CDR2H с SEQ ID NO:16, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:18, область CDR2L с SEQ ID NO:19 и область CDR3L с SEQ ID NO:20.

В некоторых воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения терапевтический агент, который вызвал или может вызвать CRS, или нацеленный на BCMA терапевтический агент включает антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие VH (вариабельную область тяжелой цепи) и VL (вариабельную область легкой цепи), выбранные из группы, состоящей из следующих:

а) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:12;

б) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:13;

в) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:14;

г) область VH с SEQ ID NO:38 и область VL с SEQ ID NO:12;

д) область VH с SEQ ID NO:39 и область VL с SEQ ID NO:12;

е) область VH с SEQ ID NO:40 и область VL с SEQ ID NO:12; или

ж) область VH с SEQ ID NO:9 и область VL с SEQ ID NO:11.

В предпочтительных воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения терапевтический агент, который вызвал или может вызвать CRS, или нацеленный на BCMA терапевтический агент включает антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:14.

В альтернативных воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения терапевтический агент, который вызвал или может вызвать CRS, или нацеленный на BCMA терапевтический агент включает антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие VH, содержащую CDR1H с SEQ ID NO:64, CDR2H с SEQ ID NO:65 и CDR3H с SEQ ID NO:66, и VL, содержащую совокупность последовательностей CDR1L, CDR2L и CDR3L, выбранную из:

а) CDR1L с SEQ ID NO:67, CDR2L с SEQ ID NO:68 и CDR3L с SEQ ID NO:69, где нацеленный на BCMA терапевтический агент возможно содержит VH с SEQ ID NO:76 и VL с SEQ ID NO:77;

б) CDR1L с SEQ ID NO:70, CDR2L с SEQ ID NO:71 и CDR3L с SEQ ID NO:72, где нацеленный на BCMA терапевтический агент возможно содержит VH с SEQ ID NO:76 и VL с SEQ ID NO:78; или

в) CDR1L с SEQ ID NO:73, CDR2L с SEQ ID NO:74 и CDR3L с SEQ ID NO:75, где нацеленный на BCMA терапевтический агент возможно содержит VH с SEQ ID NO:76 и VL с SEQ ID NO:79.

В некоторых воплощениях мультиспецифичное антитело включает антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых воплощениях антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменный домен VH, содержащий CDR тяжелой цепи с SEQ ID NO: 1, 2 и 3 в качестве CDR1H, CDR2H и CDR3H тяжелой цепи, соответственно, и переменный домен VL, содержащий CDR легкой цепи с SEQ ID NO: 4, 5 и 6 в качестве CDR1L, CDR2L и CDR3L легкой цепи, соответственно. В предпочтительных воплощениях антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит область VH с SEQ ID NO:7 и область VL с SEQ ID NO:8.

В особенно предпочтительных воплощениях мультиспецифичное антитело включает антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:14, и антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область VH с SEQ ID NO:7 и область VL с SEQ ID NO:8.

В некоторых воплощениях мультиспецифичное антитело представляет собой биспецифичное антитело. В некоторых воплощениях биспецифичное антитело является двухвалентным (например, формата 1+1). В альтернативных воплощениях биспецифичное антитело является трехвалентным (например, формата 2+1). В

некоторых воплощениях трехвалентное биспецифичное антитело имеет формат: Fab CD3 - Fab BCMA - Fab BCMA или Fab BCMA - Fab CD3 - Fab BCMA (то есть в случаях, когда Fc отсутствует). В качестве альтернативы, трехвалентное биспецифичное антитело может иметь формат: Fab BCMA - Fc - Fab CD3 - Fab BCMA; Fab BCMA - Fc - Fab BCMA - Fab CD3 или Fab CD3 - Fc - Fab BCMA - Fab BCMA (то есть в случаях, когда Fc присутствует). В предпочтительных воплощениях трехвалентное биспецифичное антитело имеет формат Fab BCMA - Fc - Fab CD3 - Fab BCMA.

В некоторых воплощениях Fab к CD3 содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой кроссоверную легкую цепь, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL (константный домен легкой цепи), и где тяжелая цепь представляет собой кроссоверную тяжелую цепь, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1.

В некоторых воплощениях домен CH1 Fab-фрагмента к BCMA содержит аминокислотные модификации K147E/D и K213E/D (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU), и соответствующая легкая цепь иммуноглобулина содержит домен CL, имеющий аминокислотные модификации E123K/R/H и Q124K/R/H (указаны номера согласно нумерации Kabat).

В некоторых воплощениях мультиспецифичное (например, биспецифичное) антитело дополнительно содержит Fc. В некоторых воплощениях Fc представляет собой Fc IgG1 (иммуноглобулина G1). В некоторых воплощениях Fc (например, IgG1) содержит первую цепь Fc, содержащую первые константные домены CH2 и CH3, и вторую цепь Fc, содержащую вторые константные домены CH2 и CH3, и при этом:

а) первый домен CH3 содержит модификации T366S, L368A и Y407V или их консервативные замены (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU); и

б) второй домен CH3 содержит модификацию T366W или ее консервативные замены (указан номер согласно нумерации в соответствии с индексом EU).

В некоторых воплощениях Fc (например, IgG1) содержит:

а) модификации L234A, L235A и P329G (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU); и/или

б) модификации D356E и L358M (указаны номера согласно нумерации в

соответствии с индексом EU).

В других воплощениях биспецифичное антитело согласно настоящему изобретению содержит совокупность тяжелых и легких цепей полипептидов, представленных следующими SEQ ID NO:

83A10-TCB_{CV}: 48, 45, 46, 47 (x2);

22-TCB_{CV}: 48, 52, 53, 54 (x2); или

42-TCB_{CV}: 48, 55, 56, 57 (x2).

В предпочтительном воплощении биспецифичное антитело согласно настоящему изобретению представляет собой 42-TCB_{CV} и содержит совокупность тяжелых и легких цепей полипептидов, представленных SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56, и две копии SEQ ID NO:57.

В воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения нацеленный на BCMA терапевтический агент представляет собой AMG-420 [Amgen], BCMA tri-specific [Affimed], AFM26 [Affimed], Ab-957 [Janssen], BCMA/PD-L1 [Immune pharmaceuticals], AMG-701 [Amgen], PF-06863135 [Pfizer], REGN-5458 [Regeneron / Sanofi] или TNB-383B [TeneoBio].

В воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения нацеленный на BCMA терапевтический агент представляет собой химерный антигенный рецептор (CAR), нацеленный на BCMA, или Т-клетку, экспрессирующую по меньшей мере один CAR, нацеленный на BCMA («Т-клетка с CAR к BCMA»).

В некоторых воплощениях Т-клетка с CAR к BCMA представляет собой идекабтаген виклейсел (ide-cel), bb21217, JCARH125 (orva-cel), KITE-585 (Kite Pharmaceuticals), P-BCMA-101 (Poseida Therapeutics), CART-BCMA (Novartis), LCAR-B38M (Legend Biotech), JNJ-528 (Janssen Biotech), P-BCMA-101 (Poseida Therapeutics), CT053 (CARsgen Therapeutics), CTX120 (CRISPR Therapeutics), ET140 (Juno Therapeutics), UCART-BCMA (Cellestis), P-BCMA-101 (Poseida), JNJ-528/LCAR-B38M (Johnson & Johnson). В некоторых воплощениях Т-клетка с CAR к BCMA представляет собой MCAH171, FCARH143, CTX120, CT053 (Первая дочерняя больница Медицинского университета Вэньчжоу, Китай) или BCMA-CART (Hrain Biotechnology, Шанхай, Китай). В предпочтительных воплощениях Т-клетка с CAR к BCMA представляет собой идекабтаген виклейсел, bb21217 или JCARH125.

В воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения терапевтический агент, который вызвал или может вызвать CRS, или нацеленный на BCMA

терапевтический агент представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC).

В воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят до (например, в пределах 12 или 24 часов до) введения терапевтического агента (например, нацеленного на ВСМА терапевтического агента), в те же сутки, в которые осуществляют введение терапевтического агента (например, нацеленного на ВСМА терапевтического агента), или после (например, в пределах 12 или 24 часов после) введения терапевтического агента (например, нацеленного на ВСМА терапевтического агента).

В некоторых воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят пациенту в качестве предварительного лечения до введения терапевтического агента (например, нацеленного на ВСМА терапевтического агента). В некоторых воплощениях ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят в виде одной или более доз до (например, за 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 или 28 суток до) введения терапевтического агента (например, нацеленного на ВСМА терапевтического агента). В некоторых воплощениях ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят в 1, 2, 3, 4, 5, 6 и 7 сутки, до введения терапевтического агента (например, нацеленного на ВСМА терапевтического агента) в сутки 8.

В альтернативных воплощениях терапевтический агент (например, нацеленный на ВСМА терапевтический агент) вводят до введения ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6). В некоторых воплощениях терапевтический агент (например, нацеленный на ВСМА терапевтический агент) вводят в виде одной или более доз до (например, за 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 или 28 суток до) введения ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6). В некоторых воплощениях терапевтический агент (например, нацеленный на ВСМА терапевтический агент) вводят в сутки 1 и возможно сутки 4, до введения ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) в сутки 8.

В некоторых воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят в течение 12 часов после установления диагноза CRS.

Аспекты и воплощения настоящего изобретения изложены в прилагаемой

формуле изобретения. Эти и другие аспекты и воплощения настоящего изобретения также описаны в настоящем документе.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Далее настоящее изобретение будет описано более подробно со ссылкой на прилагаемые графические материалы, где:

На **фигуре 1** показаны различные форматы биспецифичных двухвалентных антител для применения в настоящем изобретении, которые содержат Fab-фрагменты, связывающиеся с Т-клеточным антигеном (показан CD3) и ВСМА, в формате Fab ВСМА-Fc-Fab CD3. Fab CD3 может включать кроссовер VH-VL для снижения вероятности ошибочного спаривания легкой цепи и образования побочных продуктов. В CL-CH1 могут быть введены аминокислотные замены «RK/EE» для снижения вероятности ошибочного спаривания легкой цепи/образования побочных продуктов при получении. Fab CD3 и Fab ВСМА могут быть соединены друг с другом посредством гибких линкеров.

На **фигуре 2** показаны различные форматы биспецифичных трехвалентных антител для применения в настоящем изобретении, которые содержат Fab-фрагменты, связывающиеся с Т-клеточным антигеном (показан CD3) и ВСМА, в следующих форматах: Fab ВСМА - Fc - Fab CD3 - Fab ВСМА (A, B); Fab ВСМА - Fc - Fab ВСМА - Fab CD3 (C, D). Fab CD3 может включать кроссовер VH-VL для снижения вероятности ошибочного спаривания легкой цепи и образования побочных продуктов. В CL-CH1 могут быть введены аминокислотные замены «RK/EE» для снижения вероятности ошибочного спаривания легкой цепи/образования побочных продуктов при получении. Fab CD3 и Fab ВСМА могут быть соединены друг с другом посредством гибких линкеров.

На **фигуре 3** показаны другие форматы биспецифичных двухвалентных антител для применения в настоящем изобретении, которые содержат Fab-фрагменты, связывающиеся с Т-клеточным антигеном (показан CD3) и ВСМА, в следующих форматах: Fc - Fab CD3 - Fab ВСМА (A, B); Fc - Fab ВСМА - Fab CD3 (C, D). Fab CD3 может включать кроссовер VH-VL для снижения вероятности ошибочного спаривания легкой цепи и образования побочных продуктов. В CL-CH1 могут быть введены аминокислотные замены «RK/EE» для снижения вероятности ошибочного спаривания легкой цепи/образования побочных продуктов при получении. Fab CD3 и Fab ВСМА могут быть соединены друг с другом посредством гибких линкеров.

На **фигуре 4** показано, что индуцированная LPS (липополисахариды) секреция IL-6 моноцитами снижается при предварительной обработке некоторыми IMiD(иммуномодулирующее имидное лекарственное средство)/CELMoD(модулятор лигазы E3 - цереблоне)-агентами. Моноциты, полученные от здоровых добровольцев, высевали в концентрации 1×10^6 клеток/мл и обрабатывали IMiD/CELMoD-агентами в указанной концентрации в течение ночи (приблизительно 17 часов). На следующее утро моноциты инкубировали с LPS в указанной концентрации в течение 4 часов, после чего оценивали уровни IL-6 в супернатанте с использованием анализа MSD.

На **фигуре 5** показано, что индуцированная LPS секреция IL-6 моноцитами снижается при предварительной обработке 1-100 нМ соединения 1. Моноциты, полученные от здоровых добровольцев, высевали в концентрации 1×10^6 клеток/мл и обрабатывали соединением 1 в указанной концентрации в течение ночи. На следующее утро моноциты инкубировали с LPS в указанной концентрации в течение 4 часов и затем подвергали стимуляции 5 мкг/мл нигерицина в течение 1 часа, после чего оценивали уровни IL-6 в супернатанте с использованием анализа MSD.

На **фигуре 6** показано, что индуцированная LPS секреция IL-6 макрофагами снижается при предварительной обработке некоторыми IMiD/CELMoD-агентами. Моноциты, полученные от здоровых добровольцев, высевали в концентрации 3×10^5 клеток/мл и инкубировали в течение 4 суток в среде RPMI 1640, содержащей M-CSF (макрофагальный колониестимулирующий фактор) (50 нг/мл) (50% среды заменяли через 2 суток) с получением «наивных» макрофагов (M0). В конце суток 4 макрофаги обрабатывали IMiD/CELMoD-агентами в указанной концентрации в течение ночи (приблизительно 17 часов). На следующее утро макрофаги подвергали стимуляции LPS в указанной концентрации в течение 8 часов, после чего оценивали уровни IL-6 в супернатанте с использованием анализа MSD.

На **фигуре 7** показано, что индуцированная LPS секреция провоспалительных цитокинов ингибируется при предварительной обработке производными талидомида (леналидомид и помалидомид представлены на фигурах 7B и 7C, соответственно). Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC), полученные от здоровых добровольцев, высевали в концентрации 2×10^6 клеток/мл и обрабатывали IMiD-соединениями в указанных концентрациях или контрольным DMSO (диметилсульфоксид) (0,25%) в течение 1 часа перед стимуляцией 1 нг/мл LPS. Через 18 часов оценивали уровни провоспалительных цитокинов в супернатанте посредством

мультиплексного анализа цитокинов.

На **фигуре 8** показано, что индуцированная LPS секреция IL-6, TNF-альфа (фактор некроза опухоли альфа) и IL1-бета PBMC одновременно подавляется при предварительной обработке IMiD/CELMoD-агентами. Свежие PBMC, полученные от здоровых добровольцев, высевали в концентрации 1×10^6 клеток/мл и обрабатывали IMiD-лекарственными средствами/CELMoD-агентами в указанной концентрации или DMSO в течение ночи перед стимуляцией LPS в указанной концентрации. Через 24 часа собирали культуральные среды и оценивали уровни IL-6, TNF-альфа и IL1-бета в супернатанте с использованием анализа MSD. ULOQ – верхний предел количественного определения.

На **фигуре 9** показано, что индуцированная CC-93269 секреция IL-6 PBMC в присутствии экспрессирующих BCMA клеток-мишеней подавляется при предварительной обработке IMiD/CELMoD-агентами. Свежие PBMC получали от здоровых добровольцев, процентное содержание CD3+ Т-клеток (общее) количественно определяли посредством проточной цитометрии, и PBMC обрабатывали 1 нМ соединения 1 (CC-92480) или контрольным DMSO в течение ночи. На следующее утро в лунки добавляли клетки-мишени (K562-BCMA, характеризующиеся очень высоким уровнем сверхэкспрессии поверхностного BCMA) или контрольные клетки (K562-MCB, экспрессия BCMA отсутствует) при отношении Т-клеток к клеткам-мишеням 5:1 с последующим добавлением CC-93269 в указанных концентрациях. Через 6, 24 и 48 часов после инкубирования собирали культуральные среды и оценивали уровни IL-6 в супернатанте с использованием анализа MSD.

На **фигуре 10** показано, что соединение 1 (CC-92480) подавляет индуцированную CC-93269 секрецию IL-6 совместной культурой PBMC + клетки K562-BCMA через 24 часа в случае концентраций CC-93269 до 10000 нг/мл включительно (**ФИГ. 10А**), а также независимо для 15 здоровых доноров (**ФИГ. 10В**). На **ФИГ. 10В** показаны уровни IL-6 для образцов, предварительно обработанных соединением 1 (CC-92480), нормализованные относительно образцов, предварительно обработанных контрольным DMSO, при этом контроль принят за 100%. Кружками обозначены независимые доноры, а горизонтальными линиями обозначены медианные значения; показаны не все доноры, поскольку для исключения небольших изменений, которые могут исказить результат, и для повышения достоверности результатов использовали отсечение данных для наименьших приблизительно 10% концентраций

IL-6, составляющих менее 200 пг/мл.

На **фигуре 11** показано, что индуцированная СС-93269 секреция IL-6 PBMC в присутствии экспрессирующих BCMA клеток-мишеней подавляется при предварительной обработке 1000 нМ леналидомида, 100 нМ помалидомида, 10 нМ ибердомида или 1 нМ соединения 1 (СС-92480). Свежие PBMC получали от здоровых добровольцев, процентное содержание CD3⁺ Т-клеток (общее) количественно определяли посредством проточной цитометрии, и PBMC обрабатывали IMiD/CELMoD-агентами в указанных концентрациях или контрольным DMSO в течение ночи. На следующее утро в лунки добавляли клетки-мишени (K562-BCMA, характеризующиеся очень высоким уровнем сверхэкспрессии поверхностного BCMA) при отношении Т-клеток к клеткам-мишеням 5:1 с последующим добавлением СС-93269 в указанных концентрациях. Через 24 часа после инкубирования собирали культуральные среды и оценивали уровни IL-6 в супернатанте с использованием анализа MSD.

На **фигуре 12** показано, что предварительная обработка соединением 1 (СС-92480) усиливает индуцированную СС-93269 секрецию TNF-альфа и IL-2 PBMC в присутствии клеток-мишеней K562-BCMA через 24 часа. Совместные культуры PBMC, клеток-мишеней K562-BCMA и СС-93269 готовили, как описано для фигуры 9. Через 6, 24 и 48 часов после инкубирования собирали культуральные среды и оценивали уровни TNF-альфа (ФИГ. 12А) и IL-2 (ФИГ. 12В) в супернатанте с использованием анализа MSD. ULOQ – верхний предел количественного определения.

На **фигуре 13** показано, что индуцированная СС-93269 секреция IL1-бета PBMC в присутствии клеток-мишеней K562 подавляется при предварительной обработке соединением 1 (СС-92480). Совместные культуры PBMC, клеток-мишеней K562-BCMA и СС-93269 готовили, как описано для фигуры 9. Через 6, 24 и 48 часов после инкубирования собирали культуральные среды и оценивали уровни IL1-бета в супернатанте с использованием анализа MSD (ФИГ. 13А). На ФИГ. 13В показаны уровни IL1-бета через 24 часа для образцов, обработанных соединением 1 (СС-92480), нормализованные относительно образцов, обработанных контрольным DMSO, для 15 независимых здоровых доноров. Кружками обозначены независимые доноры, а горизонтальными линиями обозначены медианные значения; показаны не все доноры, поскольку для исключения небольших изменений, которые могут исказить результат, и для повышения достоверности результатов использовали отсечение данных для

наименьших приблизительно 10% концентраций IL1-бета, составляющих менее 100 пг/мл.

На **фигуре 14** показано, что индуцированная СС-93269 секреция IL-6 РВМС в присутствии клеток-мишеней Н929 (Н929 представляет собой линию клеток множественной миеломы) подавляется при предварительной обработке IMiD/CELMoD-агентами. Свежие РВМС получали от здоровых добровольцев, процентное содержание CD3⁺ Т-клеток (общее) количественно определяли посредством проточной цитометрии, и РВМС обрабатывали 1 нМ соединения 1 (СС-92480) или контрольным DMSO в течение ночи. На следующее утро в лунки добавляли клетки-мишени Н929 при отношении Т-клеток к клеткам-мишеням 5:1 с последующим добавлением СС-93269 в указанных концентрациях. Через 6, 24 и 48 часов после инкубирования собирали культуру клеток и оценивали уровни IL-6 в супернатанте с использованием анализа MSD. Данные для двух независимых здоровых доноров показаны на **ФИГ. 14А** и **14В**.

На **фигуре 15** показано влияние предшествующего воздействия модулирующих цереблон (СМ) агентов во время индуцирования истощения Т-клеток на индуцированную СС-93269 цитолитическую активность. Представлена кинетика клеточного роста А) клеток NCI-H929 и В) клеток OPM-2 при исследованиях цитотоксичности в присутствии СС-93269 (47 пМ) в системе для прижизненного анализа клеток IncuCyte® S3. В качестве эффекторных клеток использовали Т-клетки здоровых доноров, подвергавшиеся или не подвергавшиеся длительной стимуляции антителом к CD3/CD28 (7 суток) в присутствии DMSO или СМ агентов (100 нМ помалидомида, 10 нМ СС-220 или 1 нМ СС-92480). Т-клетки и клетки NCI-H929 совместно культивировали при отношениях Е:Т 1:4 (NCI-H929) или 1:2 (OPM-2). В образцах, в которых CD3⁺ Т-клетки подвергались хронической стимуляции антителом к CD3/CD28 в течение 7 суток, наблюдали функциональное истощение Т-клеток (то есть потерю цитолитической функции) в клетках, обработанных DMSO, по сравнению со свежеразмороженными Т-клетками. Напротив, предшествующее воздействие СМ агентов предупреждало функциональное истощение клеток ТВМС, и активность СС-93269 была схожей с активностью, наблюдаемой в случае свежеразмороженных Т-клеток, или более выраженной. Представленные значения представляют собой среднее значение ± стандартное отклонение значений AUC для 2-3 повторностей в одном и том же эксперименте. AUC – площадь под кривой; DMSO – диметилсульфоксид; POM –

помалидомид; СС-220 – ибердомид. * р менее 0,05, ** р менее 0,01 по сравнению со свежеразмороженными Т-клетками, или согласно указанному, по данным дисперсионного анализа (ANOVA).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящем документе формы единственного числа могут относиться к одному или более чем одному (например, по меньшей мере одному) объекту.

«Приблизительно» обычно может означать допустимую степень погрешности измеряемой величины с учетом характера или точности измерений. Типичные степени погрешности находятся в пределах 20 процентов (%), как правило, в пределах 10%, и более типично, в пределах 5% от заданного значения или диапазона значений.

Воплощения, описанные в настоящем документе как «включающие» один или более признаков, также могут рассматриваться как раскрытие соответствующих воплощений, «состоящих из» и/или «по существу состоящих из» таких признаков.

Концентрации, количества, объемы, проценты и другие числовые значения могут быть представлены в настоящем документе в формате диапазона. Также следует понимать, что такой формат диапазона используется исключительно для удобства и краткости, и его следует интерпретировать гибко, как включающий не только числовые значения, явно указанные в качестве пределов диапазона, но также включающий все отдельные числовые значения или поддиапазоны, охватываемые этим диапазоном, как если бы каждое числовое значение и поддиапазон были явно указаны.

Ингибитор цитокинов

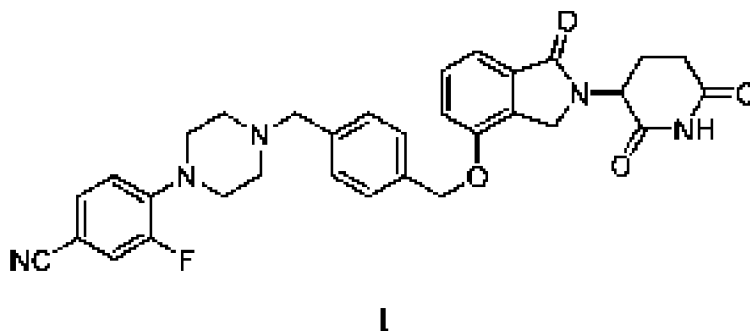
Ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) согласно настоящему изобретению может представлять собой модулятор лигазы E3 - цереблona (CELMoD) или иммуномодулирующее имидное лекарственное средство (IMiD), которое модулирует цереблон. Цереблон взаимодействует со связывающим поврежденную ДНК белком 1 и образует комплекс убиквитинлигазы E3 с куллином 4 и E2-связывающим белком ROC1 (известным как RBX1), где он выполняет функцию субстратного рецептора для отбора белков для убиквитинирования.

В предпочтительных воплощениях ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой производное талидомида, соединение 1 или их комбинацию.

«Производное талидомида» в настоящем документе относится к 2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-2,3-дигидро-1H-изоиндол-1,3-диону и его иммунотерапевтическим производным, таким как, но без ограничения ими:

леналидомид 3-(4-амино-1-оксо-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)пиперидин-2,6-дион; регистрационный номер CAS 191732-72-6); помалидомид (4-амино-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)изоиндолин-1,3-дион; регистрационный номер CAS 19171-19-8); ибердомид ((S)-3-(4-((4-(морфолинометил)бензил)окси)-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион; регистрационный номер CAS 1323403-33-3); авадомид (3-(5-амино-2-метил-4-оксо-3,4-дигидрохиназолин-3-ил)пиперидин-2,6-дион; регистрационный номер CAS 1398053-45-6) и соответствующие соли (предпочтительно соли HCl 1:1); или соединения, упомянутые в примере 4 как соединения А и В. Производные талидомида представляют собой IMiD-агенты, которые модулируют цереблон. В особенно предпочтительных воплощениях производное талидомида представляет собой помалидомид, леналидомид, ибердомид, авадомид или их комбинацию.

«Соединение 1» в настоящем документе относится к 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрилу (регистрационный номер CAS 2259648-80-9) или его энантиомеру, смеси энантиомеров, таутомеру, изотопологу или фармацевтически приемлемой соли. Соединение 1 представляет собой CELMoD-агент, также упоминаемый в настоящем документе как CC-92480. Структура соединения 1 является следующей:



В настоящем документе «изотополог» относится к соединению, содержащему по меньшей мере один атом, изотопный состав которого отличается от природного изотопного состава этого атома. Термин «изотопный состав» относится к количеству каждого изотопа, присутствующего для данного атома. В некоторых воплощениях предложены изотопологи соединения 1, например соединения, обогащенные дейтерием, углеродом-13 или азотом-15.

Фармацевтически приемлемые соли включают, но без ограничения ими, соли аминов, таких как, но без ограничения ими, N,N'-дибензилэтилендиамин, хлорпрокаин,

холин, аммоний, диэтаноламин и другие гидроксиалкиламины, этилендиамин, N-метилглюкамин, прокаин, N-бензил-1-фенетиламин, 1-*пара*-хлорбензил-2-пирролидин-1'-илметилбензимидазол, диэтиламин и другие алкиламины, пиперазин и трис(гидроксиметил)аминометан; соли щелочных металлов, таких как, но без ограничения ими, литий, калий и натрий; соли щелочноземельных металлов, таких как, но без ограничения ими, барий, кальций и магний; соли переходных металлов, таких как цинк, но без ограничения им; и другие соли металлов, такие как, но без ограничения ими, гидрофосфат натрия и двухзамещенный фосфат натрия; а также включают, но без ограничения ими, соли минеральных кислот, такие как, но без ограничения ими, гидрохлориды и сульфаты; и соли органических кислот, такие как, но без ограничения ими, ацетаты, лактаты, малаты, тартраты, цитраты, аскорбаты, сукцинаты, бутираты, валераты, фумараты и органические сульфонаты.

Ингибиторы цитокинов (например, ингибиторы IL-6) согласно настоящему изобретению доступны для приобретения и/или могут быть получены способами, известными специалисту в данной области техники. Способы получения ибердомиды описаны, например, в US 20110196150; а способы получения соединения 1 описаны, например, в WO-A1-2019226761.

В предпочтительных воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения ингибитор цитокинов представляет собой ингибитор провоспалительных цитокинов (например, ингибитор IL-6 или ингибитор IL-1-бета).

Терапевтические применения

Настоящее изобретение основано, по меньшей мере частично, на лечении или предупреждении связанного с цитокинами нежелательного явления или заболевания у пациента с применением ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6), такого как леналидомид, помалидомид, ибердомид, авадомид, соединение 1, или любой их комбинации.

В настоящем документе термины «лечить», «осуществление лечения» или «лечение» и тому подобное относятся к получению желаемого фармакологического и/или физиологического эффекта. Предпочтительно эффект является терапевтическим, то есть указанный эффект обеспечивает частичное или полное излечение заболевания и/или нежелательного симптома. Соответственно, фармакологический и/или физиологический эффект может уменьшить тяжесть заболевания и/или нежелательного симптома. В качестве альтернативы, фармакологический и/или физиологический

эффект может являться профилактическим, то есть указанный эффект обеспечивает полное или частичное предупреждение заболевания или нежелательного симптома.

В настоящем документе термины «предупреждать», «осуществление предупреждения» или «предупреждение» и тому подобное относятся к подавлению и/или задержке начала, развития и/или ухудшения течения заболевания и/или нежелательных симптомов.

Авторами настоящего изобретения было неожиданно обнаружено, что некоторые IMiD и CELMoD-агенты могут ингибировать секрецию провоспалительных цитокинов, в частности IL-6 и IL1-бета, макрофагами и/или моноцитами (см. примеры 1-5), которая может быть искусственно индуцирована липополисахаридами, LPS (Rossol *et al.* (2011) *Crit. Rev. Immunol.* 31(5): 379-446). Основываясь на этом открытии, авторы настоящего изобретения выяснили, что IMiD и CELMoD-агенты могут быть применены при нежелательных явлениях, при которых повышенные уровни цитокинов, в частности повышенные уровни IL-6 и IL-1-бета, как полагают, играют значимую роль, таких как CRS, опосредованная цитокинами нейротоксичность или коронавирусное заболевание 2019 (COVID-19).

В предпочтительных воплощениях ингибиторы цитокинов (например, ингибиторы IL-6) согласно настоящему изобретению обеспечивают лечение или предупреждение связанных с цитокинами нежелательных явлений у пациента, таких как CRS или опосредованная цитокинами нейротоксичность. Предпочтительно связанное с цитокинами нежелательное явление или заболевание не является злокачественным заболеванием. В некоторых воплощениях связанное с цитокинами нежелательное явление или заболевание не является солидной опухолью, метастатическим раком или опухолью мягких тканей. Например, в некоторых воплощениях связанное с цитокинами нежелательное явление или заболевание не является раком молочной железы.

Полагают, что CRS вызывается массивным высвобождением цитокинов, в основном IFN- γ (интерферон гамма), но также и TNF- α , активированными иммунными эффекторными клетками, например, Т-клетками, активированными иммунотерапией с применением рекрутинга Т-клеток. Без ограничения какой-либо теорией, эти цитокины индуцируют активацию других иммунных клеток, включая макрофаги и моноциты, что приводит к быстрой и/или обильной секреции провоспалительных цитокинов этими клетками. Активированные макрофаги и моноциты секретируют IL-6 и IL1-бета,

которые по принципу положительной обратной связи активируют больше Т-клеток и других иммунных клеток (Shimabukuro-Vornhagen A *et al.* (2018) *J. Immunother. Cancer.* 6(1): 56). Этот воспалительный каскад может привести к цитокиновому шторму и системной воспалительной реакции.

Полагают, что повышенные уровни IL-6 и IL1-бета являются основным медиатором токсичности при CRS. Например, в недавнем исследовании было показано, что высокие уровни IL-6 в наибольшей степени связаны с тяжелым течением CRS в течение первого месяца по сравнению с другими цитокинами (Teachey DT *et al.* (2016) *Cancer Discov.* 6(6): 664-679).

В некоторых воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения ингибиторы цитокинов (например, ингибиторы IL-6) согласно настоящему изобретению снижают секрецию провоспалительных цитокинов (например, IL-6) стромальными клетками костного мозга, остеобластами, клетками Купфера, мононуклеарными клетками периферической крови (PBMC), Т-клетками, В-клетками и/или миелоидными клетками (например, моноцитами и/или макрофагами). В некоторых воплощениях ингибиторы цитокинов (например, ингибиторы IL-6) согласно настоящему изобретению снижают секрецию провоспалительных цитокинов (например, IL-6) PBMC. В предпочтительных воплощениях ингибиторы цитокинов (например, ингибиторы IL-6) согласно настоящему изобретению снижают секрецию провоспалительных цитокинов (например, IL-6) моноцитами и/или макрофагами.

Секреция провоспалительных цитокинов может быть опосредована рекрутером Т-клеток, описанным в настоящем документе (например, 42-TCVsv). В некоторых воплощениях ингибиторы цитокинов (например, ингибиторы IL-6) согласно настоящему изобретению снижают опосредованную рекрутером Т-клеток (например, 42-TCVsv) секрецию провоспалительных цитокинов (например, IL-6). В предпочтительных воплощениях опосредованные рекрутером Т-клеток (например, 42-TCVsv) провоспалительные цитокины включают по меньшей мере IL-6. В особенно предпочтительных воплощениях опосредованные рекрутером Т-клеток (например, 42-TCVsv) провоспалительные цитокины включают по меньшей мере IL-6 и IL-1-бета. Таким образом, ингибиторы цитокинов согласно настоящему изобретению могут обеспечивать преимущество, заключающееся в снижении секреции нескольких цитокинов. В противоположность этому, существующие терапевтические средства, такие как тоцилизумаб и анакинра, нацелены на один цитокин.

Опосредованная рекрутером Т-клеток (например, 42-ТСВсv) секреция провоспалительных цитокинов (например, IL-6) может быть оценена в совместной культуре РВМС и экспрессирующих ВСМА клеток-мишеней (например, клеток множественной миеломы). В некоторых воплощениях ингибиторы цитокинов (например, ингибиторы IL-6) согласно настоящему изобретению снижают опосредованную рекрутером Т-клеток (например, 42-ТСВсv) секрецию IL-6 совместной культурой РВМС и экспрессирующих ВСМА клеток-мишеней (например, клеток множественной миеломы) при отношении Т-клеток к клеткам-мишеням 5:1, где кратное снижение является по меньшей мере 1,5-кратным, 2,0-кратным, 2,5-кратным, 3,0-кратным, 3,5-кратным, 4,0-кратным, 4,5-кратным или 5,0-кратным по сравнению с секрецией IL-6 совместной культурой, не обработанной ингибитором цитокинов. Возможно кратное снижение составляет вплоть до 5,0-кратного. Так, в некоторых воплощениях кратное снижение составляет от 1,5-кратного до 5,0-кратного.

В некоторых воплощениях ингибиторы цитокинов согласно настоящему изобретению снижают опосредованную рекрутером Т-клеток (например, 42-ТСВсv) секрецию IL1-бета совместной культурой РВМС и экспрессирующих ВСМА клеток-мишеней (например, клеток множественной миеломы) при отношении Т-клеток к клеткам-мишеням 5:1, где кратное снижение является по меньшей мере 2-кратным, 4-кратным, 6-кратным, 8-кратным или 10-кратным по сравнению с секрецией IL1-бета совместной культурой, не обработанной ингибитором цитокинов. Возможно кратное снижение составляет вплоть до 10-кратного. Так, в некоторых воплощениях кратное снижение составляет от 2-кратного до 10-кратного.

В некоторых воплощениях ингибиторы цитокинов (например, ингибиторы IL-6) согласно настоящему изобретению снижают опосредованную рекрутером Т-клеток (например, 42-ТСВсv) секрецию провоспалительных цитокинов (например, IL-6) совместной культурой РВМС и экспрессирующих ВСМА клеток-мишеней (например, клеток множественной миеломы) при концентрациях 42-ТСВсv вплоть до приблизительно 100 мг/мл, возможно вплоть до приблизительно 10000 нг/мл, например вплоть до приблизительно 1000 нг/мл.

В некоторых воплощениях ингибиторы цитокинов (например, ингибиторы IL-6) согласно настоящему изобретению не снижают опосредованную рекрутером Т-клеток (например, 42-ТСВсv) секрецию цитокинов, связанных с цитотоксичностью Т-клеток. Возможно при этом цитокины, связанные с цитотоксичностью Т-клеток, представляют

собой один или более из TNF-альфа, IL-2 и/или IFN-гамма.

В качестве альтернативы, секреция провоспалительных цитокинов может быть опосредована TLR4 (Toll-подобный рецептор 4). Таким образом, ингибиторы цитокинов (например, ингибиторы IL-6) согласно настоящему изобретению могут снижать опосредованную TLR4 секрецию провоспалительных цитокинов (например, IL-6) стромальными клетками костного мозга, остеобластами, клетками Купфера, PBMC, В-клетками и/или миелоидными клетками (например, моноцитами и/или макрофагами). Предпочтительно опосредованная TLR4 секреция провоспалительных цитокинов индуцирована LPS. В некоторых воплощениях ингибиторы цитокинов (например, ингибиторы IL-6) согласно настоящему изобретению снижают опосредованную TLR4 секрецию провоспалительных цитокинов (например, IL-6) PBMC, моноцитами и макрофагами. В предпочтительных воплощениях опосредованные TLR4 провоспалительные цитокины включают по меньшей мере IL-6. В особенно предпочтительных воплощениях индуцируемые LPS провоспалительные цитокины включают по меньшей мере IL-6, IL-1-бета и TNF-альфа.

В некоторых воплощениях провоспалительные цитокины представляют собой один или более из IL-6, IL-8, IL1-бета, GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор), MDC (макрофагальный хемокин), MIP-1альфа (макрофагальный белок воспаления 1 альфа) и TNF-альфа. В предпочтительных воплощениях провоспалительные цитокины включают по меньшей мере IL-6. В некоторых воплощениях провоспалительные цитокины не включают IL1-бета. В некоторых воплощениях провоспалительные цитокины включают по меньшей мере IL-6 и IL1-бета.

В предпочтительных воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения ингибиторы цитокинов согласно настоящему изобретению снижают секрецию IL-6 стромальными клетками костного мозга, остеобластами, клетками Купфера, PBMC, В-клетками и/или миелоидными клетками. В предпочтительных воплощениях ингибиторы цитокинов согласно настоящему изобретению снижают секрецию IL-6 моноцитами и/или макрофагами. В особенно предпочтительных воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения ингибиторы цитокинов согласно настоящему изобретению снижают опосредованную TLR4 секрецию IL-6 стромальными клетками костного мозга, остеобластами, клетками Купфера, PBMC, В-клетками и/или миелоидными клетками, предпочтительно моноцитами и/или макрофагами. В

предпочтительных воплощениях ингибиторы цитокинов (например, ингибиторы IL-6) согласно настоящему изобретению обеспечивают лечение или предупреждение CRS. Лечение CRS обычно осуществляют в соответствии со стратегией, соответствующей степени тяжести, с применением систем оценки ASTCT или CTCAE, первая из которых была наиболее недавно определена в источнике (Lee DW *et al.* (2019) *Biol. Blood Marrow Transplant.* 25(4): 625-638), а вторая была наиболее недавно опубликована Национальным институтом рака в ноябре 2017 г. Настоящее изобретение может быть применено для лечения или предупреждения любой степени CRS. В некоторых воплощениях CRS имеет по меньшей мере степень 1, по меньшей мере степень 2, по меньшей мере степень 3 или по меньшей мере степень 4. В некоторых воплощениях CRS имеет по меньшей мере степень 3 или 4. В некоторых воплощениях субъект получал или будет получать терапевтический агент, который вызвал или может вызвать CRS. В некоторых воплощениях лечение или предупреждение CRS снижает тяжесть и/или степень CRS.

В некоторых воплощениях терапевтический агент, который вызвал или может вызвать CRS, выбран из рекрутера Т-клеток (например, мультиспецифичного антитела, CAR или Т-клетки с CAR), моноклонального антитела, которое специфично связывается с антигеном-мишенью (например, раковым антигеном, таким как BCMA, CD19, CD20 или CD28), моноклонального антитела, которое специфично связывается с Т-клеточным антигеном (например, CD3), или конъюгата антитело-лекарственное средство. В предпочтительных воплощениях терапевтический агент представляет собой рекрутер Т-клеток.

Кроме того, авторы настоящего изобретения обнаружили, что ингибиторы цитокинов (например, ингибиторы IL-6) согласно настоящему изобретению могут повышать способность терапевтических агентов-рекрутеров Т-клеток к уничтожению клеток (например, для лечения множественной миеломы, которая может вызвать или вызвала CRS) и/или может предупреждать истощение Т-клеток и тем самым сохранять опосредованное Т-клетками уничтожение рекрутерами Т-клеток (см. пример 9).

Опосредованная цитокинами нейротоксичность является еще одним нежелательным явлением при иммунотерапии с применением рекрутинга Т-клеток. Проницаемость сосудов и нарушение гематоэнцефалического барьера, играющие центральную роль в нейротоксичности, были связаны с повышенным уровнем IL-6 (Khadka RH *et al.* (2019) *Immunotherapy.* 11(10): 851-857). Более ранний пик

концентрации IL-6 в сыворотке после терапии с применением Т-клеток с CAR ассоциирован с более высоким риском нейротоксичности по меньшей мере 4 степени (Gust J *et al.* (2017) *Cancer Discov.* 7(12): 1404-1419). Доклинические исследования подтвердили, что миелоидные клетки, включая моноциты и макрофаги, являются основным источником IL-6 при иммунотерапиях с применением рекрутинга Т-клеток (Yu S *et al.* (2017) *J. Hematol. Oncol.* 10(1):155; Teachey DT *et al.* (2013) *Blood.* 121(26): 5154-5157). Нейротоксичность, ассоциированная с терапией с применением Т-клеток с CAR и иммунотерапиями с применением рекрутинга Т-клеток, может быть обозначена как «синдром нейротоксичности, ассоциированной с иммунными эффекторными клетками (ICANS)» (Lee *et al.* (2018) *Biol. Blood Marrow Transplant.* 25(4): 625-638). Известно, что повышенный уровень цитокинов, включая IL-1, является частью патофизиологии ICANS.

В одном из аспектов настоящего изобретения предложен способ лечения или предупреждения опосредованной цитокинами нейротоксичности у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6), где указанный ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой помалидомид, ибердомид, леналидомид, авадомид или соединение 1, где терапевтически эффективная доза представляет собой дозу, достаточную для ослабления или предупреждения развития опосредованной цитокинами нейротоксичности у субъекта. В некоторых воплощениях опосредованная цитокинами нейротоксичность представляет собой синдром нейротоксичности, ассоциированной с иммунными эффекторными клетками (ICANS).

В альтернативных воплощениях ингибиторы цитокинов (например, ингибиторы IL-6) согласно настоящему изобретению обеспечивают лечение или предупреждение у пациента связанного с цитокинами заболевания, такого как CRS или коронавирусное заболевание 2019 (COVID-19).

Коронавирусное заболевание 2019 (COVID-19) представляет собой потенциально тяжелую острую респираторную инфекцию, вызванную коронавирусом 2 тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2). О повышенной секреции IL-6 неоднократно сообщалось в нескольких исследованиях COVID-19, и она была связана с тяжестью заболевания. Например, в недавнем исследовании показано, что IL-6 является эффективным маркером для прогнозирования дыхательной недостаточности (Herold T *et al.* (2020) *BMJ* [Предварительная публикация, 10 апреля 2020 г.]).

В одном из аспектов настоящего изобретения предложен способ лечения или предупреждения COVID-19 у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6), где указанный ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой помалидомид, ибердомид, леналидомид, авадомид или соединение 1, где терапевтически эффективная доза представляет собой дозу, достаточную для ослабления или предупреждения развития COVID-19 у субъекта.

Рекрутеры Т-клеток

В некоторых воплощениях связанное с цитокинами нежелательное явление или заболевание (например, CRS) вызвано терапией с применением рекрутинга Т-клеток.

В настоящем документе термин «рекрутер Т-клеток» или «терапия с применением рекрутинга Т-клеток» относится к любой связывающей молекуле или полипептиду, которые способны перенаправлять одну или более Т-клеток таким образом, чтобы вызвать активацию и/или пролиферацию указанных Т-клеток.

В предпочтительных воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения рекрутер Т-клеток специфично связывается с антигеном, который способствует активации одной или более Т-клеток («Т-клеточным антигеном»). В некоторых воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения рекрутер Т-клеток представляет собой антитело, которое специфично связывается с Т-клеточным антигеном («антитело-рекрутер Т-клеток»), предпочтительно где антитело-рекрутер Т-клеток является мультиспецифичным, предпочтительно биспецифичным. В альтернативных воплощениях рекрутер Т-клеток включает химерный антигенный рецептор («CAR»), который специфично связывается с Т-клеточным антигеном, предпочтительно где CAR экспрессируется на Т-клетке («Т-клетка с CAR»).

Так, в некоторых воплощениях рекрутер Т-клеток представляет собой мультиспецифичное антитело, которое специфично связывается с антигеном-мишенью (например, раковым антигеном) и антигеном, который способствует активации одной или более Т-клеток (например, CD3), химерный антигенный рецептор (CAR), нацеленный на антиген-мишень (например, раковый антиген), или Т-клетку, экспрессирующую по меньшей мере один CAR, нацеленный на антиген-мишень (например, раковый антиген).

В предпочтительных воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения рекрутер Т-клеток нацеливает одну или более Т-клеток на раковые клетки. Без

ограничения какой-либо теорией, рекрутинг одной или более Т-клеток к раковым клеткам может привести к активации и/или пролиферации Т-клеток в очаге рака, что может привести к обильной и/или быстрой секреции цитокинов (например, провоспалительных цитокинов) Т-клетками, другими иммунными клетками и/или не вовлеченными в процесс клетками, например миелоидными клетками.

Раковые клетки могут представлять собой клетки гематологического рака, солидной опухоли, метастатического рака, опухоли мягких тканей, метастатического поражения или их комбинации. В предпочтительных воплощениях раковые клетки представляют собой злокачественные В-клетки или плазматические клетки гематологического рака, выбранного из множественной миеломы, острого лимфобластного лейкоза (ALL), хронического лимфоцитарного лейкоза, неходжкинской лимфомы (например, лимфомы Беркитта, хронического лимфоцитарного лейкоза/мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы (CLL/SLL), диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL), фолликулярной лимфомы, иммунобластной крупноклеточной лимфомы, лимфобластной лимфомы из предшественников В-клеток или лимфомы из клеток мантийной зоны), лимфомы из клеток маргинальной зоны или плазмоклеточного лейкоза. В предпочтительных воплощениях раковые клетки представляют собой злокачественные В-клетки или плазматические клетки множественной миеломы, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL) или плазмоклеточного лейкоза.

Раковые клетки могут экспрессировать на своей поверхности один или более из следующих антигенов: CD138, BCMA, CD81, CD19, CD45, CD56, CD319, CD137, FcRH5, CD117 и/или GPCR5d.

В предпочтительных воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения рекрутер Т-клеток нацеливает одну или более Т-клеток на клетки, экспрессирующие раковый антиген.

В особенно предпочтительных воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения рекрутер Т-клеток специфично связывается с раковым антигеном. В некоторых воплощениях рекрутер Т-клеток представляет собой мультиспецифичное (например, биспецифичное) антитело, которое специфично связывается с раковым антигеном (например, BCMA) и антигеном, который способствует активации одной или более Т-клеток. В альтернативных воплощениях рекрутер Т-клеток представляет собой химерный антигенный рецептор (CAR), нацеленный на раковый антиген

(например, BCMA), или Т-клетку, экспрессирующую по меньшей мере один CAR, нацеленный на раковый антиген (например, BCMA).

В настоящем документе термин «раковый антиген» относится к молекуле (как правило, белку, углеводу или липиду), которая экспрессируется на поверхности раковой клетки, либо полностью, либо в виде фрагмента (например, МНС/пептид). В предпочтительных воплощениях раковый антиген представляет собой раковый антиген человека, который экспрессируется на поверхности раковой клетки человека, предпочтительно злокачественной В-клетки или плазматической клетки.

В некоторых воплощениях раковый антиген представляет собой CD19, CD20, GPCR5d, FcRH5, ROR1 или BCMA. В особенно предпочтительных воплощениях раковый антиген представляет собой BCMA. В качестве альтернативы, рекрутер Т-клеток может специфично связываться с членом оси BCMA, таким как BAFF или APRIL.

Антитело-рекрутеры Т-клеток

В настоящем документе «антитело-рекрутер Т-клеток» представляет собой антитело, которое специфично связывается с антигеном, который способствует активации одной или более Т-клеток («Т-клеточный антиген»). Т-клеточный антиген может быть выбран из группы, состоящей из CD3, TCR α , TCR β , TCR γ , TCR ζ , ICOS, CD28, CD27, HVEM, LIGHT, CD40, 4-1BB, OX40, DR3, GITR, CD30, TIM1, SLAM, CD2 или CD226. В предпочтительных воплощениях антиген, который способствует активации одной или более Т-клеток, представляет собой CD3. Соответственно, в предпочтительных воплощениях мультиспецифичные антитела согласно настоящему изобретению связываются с CD3.

В предпочтительных воплощениях антитело-рекрутер Т-клеток включает антитело, специфично связывающееся с CD3, или его антигенсвязывающий фрагмент.

Термин «CD3» относится к мультисубъединичному белковому комплексу CD3 человека. Мультисубъединичный белковый комплекс CD3 состоит из 6 различных полипептидных цепей. Таким образом, указанный термин включает цепь CD3 γ (SwissProt P09693), цепь CD3 δ (SwissProt P04234), две цепи CD3 ϵ (SwissProt P07766) и один гомодимер цепи CD3 ζ (SwissProt 20963), который ассоциирован с α -цепью и β -цепью Т-клеточного рецептора. Указанный термин охватывает «полноразмерный», не подвергнутый процессингу CD3, а также любые вариант, изоформу и видовой гомолог CD3, которые в естественных условиях экспрессируются клетками (включая Т-клетки).

или могут экспрессироваться на клетках, трансфицированных генами или кДНК (комплементарная ДНК), кодирующими эти полипептиды.

Термин «специфично связывающийся с CD3» относится к антителу, которое способно связываться с определенной мишенью с достаточной аффинностью таким образом, что указанное антитело полезно в качестве терапевтического агента для нацеливания на CD3. Мультиспецифичные антитела согласно настоящему изобретению могут быть исследованы в отношении связывания с CD3 методом SPR (поверхностного плазмонного резонанса), например с помощью Biacore®. В некоторых воплощениях антитело, специфично связывающееся с CD3, не связывается с другими антигенами или не связывается с другими антигенами с аффинностью, достаточной для оказания физиологического эффекта.

В некоторых воплощениях антитело, специфично связывающееся с CD3, связывается с CD3 человека с константой диссоциации (K_D) приблизительно 10^{-7} М или менее, K_D приблизительно 10^{-8} М или менее, K_D приблизительно 10^{-9} М или менее, K_D приблизительно 10^{-10} М или менее, K_D приблизительно 10^{-11} М или менее или K_D приблизительно 10^{-12} М или менее, как определено с использованием анализа методом поверхностного плазмонного резонанса, предпочтительно проведенного с помощью Biacore 8K при 25°C. В предпочтительных воплощениях антитело связывается с CD3 человека с константой диссоциации (K_D) приблизительно 10^{-8} М или менее.

Примеры антител к CD3 включают ОКТ3, TR66, APA 1/1, SP34, CH2527, WT31, 7D6, UCHT-1, Leu-4, BC-3, H2C, HuM291 (визилизумаб), Hu291 (PDL), ChAglyCD3 (отеликсизумаб), hОКТ3 γ 1(Ala-Ala) (теплизумаб) и NI-0401 (форалумаб).

Первым полученным антителом к CD3 был ОКТ3 (муромонаб-CD3), мышиное антитело, связывающееся с доменом CD3 ϵ . Последующие антитела к CD3 включают гуманизированные антитела или человеческие антитела, а также сконструированные антитела, например антитела, содержащие модифицированные области Fc.

Антитела к CD3 могут распознавать эпитоп на одной полипептидной цепи, например APA 1/1 или SP34 (Yang SJ, The Journal of Immunology (1986) 137; 1097-1100), или конформационный эпитоп, расположенный на двух или более субъединицах CD3, например WT31, 7D6, UCHT-1 (см. WO2000041474) и Leu-4. Были проведены клинические испытания с применением нескольких антител к CD3, включая BC-3 (Anasetti C *et al.* (1992) *Transplantation*. 54(5): 844-851) и H2C (WO2008119567A2).

Антитела к CD3, находящиеся в клинической разработке, включают HuM291 (визилизумаб) (Norman DJ *et al.* (2000) *Transplantation*. 70(12): 1707-1712) Hu291 (PDL), ChAglyCD3 (отеликсизумаб) (H Waldmann), hOKT3 γ 1(Ala-Ala) (теплизумаб) (J Bluestone and Johnson and Johnson) и (NI-0401) форалумаб.

Любое антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент могут являться подходящими для применения в антителах-рекрутерах Т-клеток согласно настоящему изобретению. Например, антитела-рекрутеры Т-клеток могут включать антитело к CD3, выбранное из OKT3, TR66, APA 1/1, SP34, CH2527, WT31, 7D6, UCHT-1, Leu-4, BC-3, H2C, HuM291 (визилизумаб), Hu291 (PDL), ChAglyCD3 (отеликсизумаб), hOKT3 γ 1(Ala-Ala) (теплизумаб) и NI-0401 (форалумаб). В некоторых воплощениях антитело-рекрутер Т-клеток согласно настоящему изобретению содержит гуманизированное антитело SP34 или его антигенсвязывающий фрагмент.

В некоторых предпочтительных воплощениях антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент могут быть получены из SP34 и могут иметь схожие последовательности и такие же свойства в отношении связывания эпитопа, как и антитело SP34.

В некоторых воплощениях антитело-рекрутер Т-клеток содержит антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие переменный домен VH, содержащий CDR тяжелой цепи SEQ ID NO: 1, 2 и 3 в качестве CDR1H, CDR2H и CDR3H тяжелой цепи, соответственно, и переменный домен VL, содержащий CDR легкой цепи SEQ ID NO: 4, 5 и 6 в качестве CDR1L, CDR2L и CDR3L легкой цепи, соответственно.

В некоторых воплощениях антитело-рекрутер Т-клеток содержит антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие переменные домены SEQ ID NO:7 (VH) и SEQ ID NO:8 (VL).

В некоторых воплощениях антитело-рекрутер Т-клеток содержит антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие переменную область VH, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична, по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и переменную область VL, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична, по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:8.

В некоторых воплощениях антитело-рекрутер Т-клеток представляет собой мультиспецифичное антитело. В предпочтительных воплощениях мультиспецифичное антитело специфично связывается с одним или более раковым антигеном (например, ВСМА) и антигеном, который способствует активации одной или более Т-клеток (например, CD3).

В предпочтительных воплощениях антитело-рекрутер Т-клеток представляет собой биспецифичное антитело. В особенно предпочтительных воплощениях биспецифичное антитело специфично связывается с раковым антигеном (например, ВСМА) и антигеном, который способствует активации одной или более Т-клеток (например, CD3).

Определения антител

В настоящем документе термин «антитело» охватывает различные структуры антител, включая, но без ограничения ими, моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифичные антитела (например, биспецифичные антитела) и фрагменты антител, при условии, что они проявляют желаемую антигенсвязывающую активность.

«Тяжелая цепь» содержит вариабельную область тяжелой цепи (обозначаемую в настоящем документе как «VH») и константную область тяжелой цепи (обозначаемую в настоящем документе как «CH»). Константная область тяжелой цепи содержит константные домены тяжелой цепи CH1, CH2 и CH3 (классы антител IgA, IgD и IgG) и возможно константный домен тяжелой цепи CH4 (классы антител IgE и IgM).

«Легкая цепь» содержит вариабельный домен легкой цепи (обозначаемый в настоящем документе как «VL») и константный домен легкой цепи (обозначаемый в настоящем документе как «CL»). Вариабельные области VH и VL могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), чередующиеся с более консервативными областями, называемыми каркасными областями (FR). Каждая VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от amino-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. «Константные домены» тяжелой цепи и легкой цепи непосредственно не участвуют в связывании антитела с мишенью, однако выполняют различные эффекторные функции.

Связывание между антителом и его антигеном-мишенью или эпитопом-мишенью опосредовано определяющими комплементарность областями (CDR). CDR

представляют собой области с высокой вариабельностью последовательностей, расположенные в пределах вариабельной области тяжелой цепи и легкой цепи антитела, где они образуют антигенсвязывающий сайт. CDR являются основными детерминантами антигенной специфичности. Как правило, каждая тяжелая цепь и легкая цепь антитела содержат три непоследовательно расположенных CDR. Области CDR3 тяжелой и легкой цепи антитела играют особенно важную роль в специфичности/аффинности связывания антител согласно настоящему изобретению и, следовательно, обеспечивают дополнительный аспект настоящего изобретения.

В настоящем документе термин «антигенсвязывающий фрагмент» включает любую встречающуюся в природе или искусственно сконструированную конфигурацию антигенсвязывающего полипептида, содержащую одну, две или три CDR легкой цепи и/или одну, две или три CDR тяжелой цепи, где указанный полипептид способен связываться с антигеном. Таким образом, указанный термин относится к молекуле, отличной от интактного антитела, которая содержит часть интактного антитела, связывающую антиген, с которым связывается интактное антитело. Примеры фрагментов антител включают, но без ограничения ими, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; диатела; линейные антитела; молекулы одноцепочечных антител (например, scFv) и мультиспецифичные антитела, полученные из фрагментов антител.

Последовательность CDR может быть идентифицирована посредством ссылки на любую систему нумерации, известную в данной области техники, например систему Kabat (Kabat EA *et al.* (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th ed. *Public Health Service. National Institutes of Health. Bethesda, MD.*); систему Chothia (Chothia C and Lesk AM (1987) *J. Mol. Biol.* 196(4): 901–917); или систему IMGT (Lefranc MP *et al.* (2003) *Dev. Comp. Immunol.* 27(1): 55–77).

Таблица 1: Идентификация CDR

	Нумерация Kabat	Нумерация Chothia	IMGT
CDR1 VH	31-35	26-32	27-38
CDR2 VH	50-65	52-56	56-65
VH CDR3	95-102	95-102	105-117
CDR1 VL	24-34	24-34	27-38
CDR2 VL	50-56	50-56	56-65
CDR3 VL	89-97	89-97	105-117

Для аминокислотных положений константной области тяжелой цепи,

рассматриваемых в настоящем изобретении, нумерация соответствует индексу EU, впервые описанному в Edelman GM *et al.* (1969) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 63(1): 78-85. Нумерация Edelman в соответствии с индексом EU также приведена в Kabat *et al.* (1991) (выше). Таким образом, термины «индекс EU, представленный Kabat», «индекс EU», «индекс EU согласно Kabat» или «нумерация в соответствии с индексом EU» в отношении тяжелой цепи относятся к системе нумерации остатков, основанной на нумерации остатков антитела EU IgG1 человека согласно Edelman *et al.*, представленной в Kabat *et al.* (1991). Система нумерации, используемая для аминокислотной последовательности константной области легкой цепи, схожим образом представлена в Kabat *et al.* (выше). Таким образом, в настоящем документе термин «пронумерованный согласно Kabat» относится к системе нумерации Kabat, представленной в Kabat *et al.* (выше).

Антитела согласно настоящему изобретению и их антигенсвязывающие фрагменты могут быть получены от любых видов рекомбинантными способами. Например, антитела или антигенсвязывающие фрагменты могут быть получены от мыши, крысы, козы, лошади, представителя семейства свинных, крупного рогатого скота, курицы, кролика, представителя семейства верблюдовых, осла, человека или могут представлять собой их химерные варианты. Для применения для введения человеку антитела или антигенсвязывающие фрагменты, полученные не от человека, могут быть генетически или структурно изменены для обеспечения меньшей антигенности при введении пациенту-человеку.

Особенно предпочтительными являются антитела человека или гуманизированные антитела, в частности, в виде рекомбинантных антител человека или гуманизированных антител.

Термин «гуманизированное антитело» относится к антителам, в которых каркасная область или «определяющие комплементарность области» (CDR) были модифицированы так, чтобы они содержали CDR иммуноглобулина, имеющего другую специфичность по сравнению со специфичностью исходного иммуноглобулина. Например, CDR мыши может быть привита на каркасную область антитела человека с получением «гуманизированного антитела». См., например, Riechmann L *et al.* (1988) *Nature.* 332: 323-327; и Neuberger MS *et al.* (1985) *Nature.* 314: 268-270. В некоторых воплощениях «гуманизированные антитела» представляют собой антитела, в которых константная область была дополнительно модифицирована или изменена по сравнению

с константной областью исходного антитела с обеспечением свойств антител согласно настоящему изобретению, в частности, в отношении связывания с Clq и/или связывания с рецептором Fc (FcR).

Термин «человеческое антитело» означает антитело, имеющее аминокислотную последовательность, которая соответствует последовательности антитела, продуцируемого человеком или клеткой человека, или антитело, полученное из не являющегося человеком источника, в котором используется репертуар антител человека или другие последовательности, кодирующие антитела человека. Это определение антитела человека специально не включает гуманизированное антитело, содержащее антигенсвязывающие остатки, не являющиеся антигенсвязывающими остатками человека. Человеческие антитела могут быть получены с применением различных методик, известных в данной области техники, включая библиотеки фагового дисплея.

Термин «химерное антитело» относится к антителу, содержащему вариабельную область, то есть область связывания, из одного источника или вида, и по меньшей мере часть константной области, полученную из другого источника или вида, обычно получаемому с помощью методик рекомбинантных ДНК. Предпочтительными являются химерные антитела, содержащие вариабельную область от мыши и константную область от человека. Другими предпочтительными формами «химерных антител», охватываемых настоящим изобретением, являются формы, в которых константная область была модифицирована или изменена по сравнению с константной областью исходного антитела с обеспечением свойств антител согласно настоящему изобретению, в частности, в отношении связывания с Clq и/или связывания с рецептором Fc (FcR). Такие химерные антитела также называют «антителами с переключением классов». Химерные антитела представляют собой продукт экспрессии генов иммуноглобулина, содержащих сегменты ДНК, кодирующие вариабельные области иммуноглобулина, и сегменты ДНК, кодирующие константные области иммуноглобулина. Способы получения химерных антител, включающие общепринятые методики рекомбинантных ДНК и генной трансфекции, хорошо известны в данной области техники. См., например, Morrison SL *et al.* (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 81(21): 6851-6855; патенты США 5202238 и 5204244.

В настоящем документе термины «область Fc» и «Fc» используются взаимозаменяемо и относятся к части нативного иммуноглобулина, которая образована

двумя цепями Fc. Каждая «цепь Fc» содержит константный домен CH2 и константный домен CH3. Каждая цепь Fc также может содержать шарнирную область. Нативная область Fc является гомодимерной. В некоторых воплощениях область Fc может содержать модификации для обеспечения гетеродимеризации Fc.

Термин «часть Fc» относится к части антитела согласно настоящему изобретению или его антигенсвязывающему фрагменту, которая соответствует области Fc.

Существует пять основных классов константных областей тяжелой цепи, классифицируемых как IgA, IgG, IgD, IgE и IgM, каждый из которых имеет характерные эффекторные функции, обозначенные как изотип. Например, IgG разделяют на четыре подкласса, известные как IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Молекулы Ig взаимодействуют с несколькими классами клеточных рецепторов. Например, молекулы IgG взаимодействуют с тремя классами рецепторов Fc γ (Fc γ R), специфичными для класса антител IgG, а именно Fc γ RI, Fc γ RII и Fc γ RIII. Имеются сообщения, что важные последовательности для связывания IgG с рецепторами Fc γ R расположены в доменах CH2 и CH3.

Антитела согласно настоящему изобретению или их антигенсвязывающие фрагменты могут иметь любой изотип, то есть IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, а также представлять собой синтетические мультимеры четырехцепочечной иммуноглобулиновой (Ig) структуры. В предпочтительных воплощениях антитела или их антигенсвязывающие фрагменты имеют изотип IgG. Антитела или антигенсвязывающие фрагменты могут представлять собой любой подкласс IgG, например иметь изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В предпочтительных воплощениях антитела или их антигенсвязывающие фрагменты имеют изотип IgG1.

В некоторых воплощениях антитела содержат константную область тяжелой цепи, которая имеет изотип IgG. В некоторых воплощениях антитела содержат часть константной области тяжелой цепи, которая имеет изотип IgG. В некоторых воплощениях константная область IgG или ее часть представляет собой константную область IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. Предпочтительно константная область IgG или ее часть представляет собой константную область IgG1.

Антитела согласно настоящему изобретению или их антигенсвязывающие фрагменты могут содержать легкую цепь лямбда или легкую цепь каппа.

В предпочтительных воплощениях антитела или их антигенсвязывающие

фрагменты содержат легкую цепь, которая представляет собой легкую цепь каппа. В некоторых воплощениях антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую константную область легкой цепи (CL), которая представляет собой константную область каппа.

В некоторых воплощениях антитело содержит легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL), которая представляет собой переменную область каппа. Предпочтительно легкая цепь каппа содержит VL, которая представляет собой VL каппа, и CL, которая представляет собой CL каппа.

В качестве альтернативы, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты могут содержать легкую цепь, которая представляет собой легкую цепь лямбда. В некоторых воплощениях антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую константную область легкой цепи (CL), которая представляет собой константную область лямбда. В некоторых воплощениях антитело содержит легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи (VL), которая представляет собой переменную область лямбда.

Сконструированные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты включают антитела, в которых были выполнены модификации каркасных остатков внутри VH и/или VL. Такие модификации могут улучшать свойства антитела, например уменьшать иммуногенность антитела и/или оптимизировать получение и очистку антитела.

Антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, раскрытые в настоящем документе, могут быть дополнительно модифицированы с применением обычных методик, известных в данной области техники, например путем делеции(ий), вставки(ок), замены(ы), добавления(ий) и/или рекомбинации(ий) аминокислот, и/или любой(ых) другой(их) модификации(ий), известной(ых) в данной области техники, отдельно или в комбинации. Способы введения таких модификаций в последовательность ДНК, лежащую в основе аминокислотной последовательности изгиба цепи иммуноглобулина, хорошо известны специалистам в данной области техники.

Антитела согласно настоящему изобретению и их антигенсвязывающие фрагменты также включают производные, которые модифицированы (например, путем ковалентного присоединения любого типа молекулы к антителу) таким образом, что ковалентное присоединение не препятствует связыванию антитела с его эпитопом или иным образом не снижает биологическую активность антитела. Примеры подходящих

производных включают, но без ограничения ими, фукозилированные антитела, гликозилированные антитела, ацетилированные антитела, пегилированные антитела, фосфорилированные антитела и амидированные антитела.

Незначительные вариации в аминокислотных последовательностях антител согласно настоящему изобретению рассматриваются как охватываемые настоящим изобретением при условии, что указанные вариации в аминокислотной(ых) последовательности(ях) сохраняют по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, и наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности последовательности с антителом согласно настоящему изобретению или его антигенсвязывающим фрагментом, определенным в любой части настоящего документа.

Антитела согласно настоящему изобретению могут включать варианты, в которых аминокислотные остатки от одного вида заменены на соответствующий остаток от другого вида либо в консервативном, либо в неконсервативном положении. В одном из воплощений аминокислотные остатки в неконсервативных положениях заменены на консервативные или неконсервативные остатки. В частности, предполагаются консервативные аминокислотные замены.

«Консервативная аминокислотная замена» представляет собой замену аминокислотного остатка на аминокислотный остаток, имеющий схожую боковую цепь. В данной области техники определены семейства аминокислотных остатков, имеющих схожие боковые цепи, включая основные боковые цепи (например, лизин, аргинин или гистидин), кислые боковые цепи (например, аспарагиновая кислота или глутаминовая кислота), незаряженные полярные боковые цепи (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин или цистеин), неполярные боковые цепи (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин или триптофан), боковые цепи с разветвлением при бета-атоме углерода (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматические боковые цепи (например, тирозин, фенилаланин, триптофан или гистидин). Таким образом, если аминокислота в полипептиде заменена на другую аминокислоту из того же семейства боковых цепей, указанная аминокислотная замена считается консервативной. Включение консервативно модифицированных вариантов в объем антитела согласно настоящему изобретению не исключает другие формы вариантов, например полиморфные варианты, межвидовые гомологи и аллели.

«Неконсервативные аминокислотные замены» включают замены, при которых (1) остаток, имеющий электроположительную боковую цепь (например, Arg, His или Lys), заменяет электроотрицательный остаток (например, Glu или Asp) или заменен на него, (2) гидрофильный остаток (например, Ser или Thr) заменяет гидрофобный остаток (например, Ala, Leu, Ile, Phe или Val) или заменен на него, (3) цистеин или пролин заменяет любой другой остаток или заменен на него, или (4) остаток, имеющий объемную гидрофобную или ароматическую боковую цепь (например, Val, His, Ile или Trp), заменяет остаток, имеющий меньшую боковую цепь (например, Ala или Ser) или не имеющий боковой цепи (например, Gly), или заменен на него.

Химерные антигенные рецепторы

Химерные антигенные рецепторы (CAR) представляют собой искусственные рецепторы, которые экспрессируются на поверхности модифицированных иммунных клеток, например Т-клеток, для нацеливания иммунной клетки на клетку-мишень. В предпочтительных воплощениях CAR нацеливает иммунную клетку (например, Т-клетку) на раковую клетку (например, злокачественную В-клетку или плазматическую клетку гематологического рака). В особенно предпочтительных воплощениях CAR специфично связывается с одним или более раковыми антигенами (например, BCMA).

Как правило, CAR содержат внеклеточный антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен. В некоторых воплощениях после связывания внеклеточного домена с антигеном-мишенью, таким как раковый антиген (например, BCMA), посредством внутриклеточного сигнального домена генерируется сигнал, который активирует иммунную клетку, например, для нацеливания и уничтожения клетки, экспрессирующей антиген-мишень.

В некоторых воплощениях внеклеточный домен содержит рецептор или часть рецептора, которые связываются с антигеном-мишенью (например, BCMA). В некоторых воплощениях внеклеточный домен содержит или представляет собой антитело или его антигенсвязывающую часть, которые связываются с антигеном-мишенью (например, антитело к BCMA, описанное в настоящем документе). В конкретных воплощениях внеклеточный домен содержит или представляет собой домен одноцепочечного Fv (scFv). Домен одноцепочечного Fv может содержать, например, VL, связанную с VH гибким линкером, где указанные VL и VH получены из антитела, которое связывает антиген-мишень.

Трансмембранный домен может представлять собой любой трансмембранный

домен, имеющий происхождение от любой молекулы, известной в данной области техники, или полученный из нее. В конкретных воплощениях трансмембранный домен может быть получен из или иметь происхождение от CD8, CD28, рецептора цитокина, рецептора интерлейкина, рецептора фактора роста или тому подобного.

В предпочтительном воплощении трансмембранный домен получен из или имеет происхождение от молекулы CD8 α человека или молекулы CD28 человека. CD8 представляет собой трансмембранный гликопротеин, который служит корецептором для Т-клеточного рецептора (TCR) и экспрессируется главным образом на поверхности цитотоксических Т-клеток. Наиболее распространенная форма CD8 существует в виде димера, состоящего из цепей CD8 альфа и CD8 бета. CD28 экспрессируется на Т-клетках и обеспечивает костимулирующие сигналы, необходимые для активации Т-клеток. CD28 является рецептором для CD80 (B7.1) и CD86 (B7.2).

В некоторых воплощениях внеклеточный домен CAR соединен с трансмембранным доменом полипептида линкером, спейсерным доменом или шарнирным полипептидом, например последовательностью из CD28 или последовательностью из CTLA4. Спейсерный домен может быть получен из любого природного, синтетического, полусинтетического или рекомбинантного источника. Например, спейсерный домен может иметь происхождение от или быть получен из части иммуноглобулина (такого как IgG1 или IgG4), включая, но без ограничения ими, одну или более константных областей (например, CH2 и CH3), или шарнирную область, или их модифицированные версии.

Внутриклеточный сигнальный домен может быть получен из или иметь происхождение от любой внутриклеточной сигнальной молекулы, известной в данной области техники. В некоторых воплощениях внутриклеточный домен получен из или имеет происхождение от белка, который экспрессируется на поверхности Т-клеток и запускает активацию и/или пролиферацию указанных Т-клеток. В конкретных воплощениях внутриклеточный сигнальный домен получен из или имеет происхождение от CD3 дзета (CD3 ζ) или ее модифицированных версий. В других воплощениях внутриклеточный домен получен из или имеет происхождение от цепи рецептора лимфоцитов, белкового комплекса TCR/CD3, субъединицы рецептора Fc или субъединицы рецептора IL-2. В некоторых воплощениях внутриклеточный домен дополнительно содержит один или более костимулирующих доменов или мотивов. Указанные один или более костимулирующих доменов или мотивов могут быть

получены из или иметь происхождение от CD28, OX40 (CD134), 4-1BB (CD137), CD27, или костимулирующего полипептида индуцибельного Т-клеточного костимулятора (ICOS), или другого костимулирующего домена или мотива, или любой их комбинации. В некоторых воплощениях CD3 дзета, CD28, 4-1BB, OX40 и/или CD27 являются человеческими.

Такой CAR обычно переносят в иммунную эффекторную клетку с помощью вектора, предпочтительно ретровирусного вектора, содержащего последовательность, кодирующую указанный CAR. Модифицированные иммунные клетки, экспрессирующие CAR, могут представлять собой Т-клетки (например, CD4⁺ Т-клетки, CD8⁺ Т-клетки или цитотоксические Т-лимфоциты), для которых в настоящем документе используется термин «Т-клетка с CAR». Такие Т-клетки с CAR также предложены в настоящем изобретении.

Т-клетки, применяемые в композициях и способах, предложенных в настоящем документе, могут представлять собой «наивные» Т-лимфоциты или рестриктивные по МНС Т-лимфоциты. В некоторых воплощениях Т-клетки представляют собой инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL). В некоторых воплощениях Т-клетки были выделены из биоптата опухоли или были выращены из Т-клеток, выделенных из биоптата опухоли. В некоторых других воплощениях Т-клетки были выделены из периферической крови, пуповинной крови или лимфы, или выращены из таких выделенных Т-клеток. Т-клетки, применяемые для получения модифицированных Т-клеток, экспрессирующих CAR, могут быть выделены с применением принятых в данной области техники рутинных способов, например сбора крови с последующим аферезом и возможно опосредованных антителами выделения или сортировки клеток.

Модифицированные Т-клетки предпочтительно являются аутологичными для субъекта, которому должны быть введены указанные модифицированные Т-клетки. В некоторых других воплощениях модифицированные Т-клетки являются аллогенными для субъекта, которому должны быть введены указанные модифицированные Т-клетки. В случае, если для получения модифицированных Т-клеток применяют аллогенные Т-клетки, предпочтительно выбирать Т-клетки, которые уменьшают вероятность возникновения у субъекта реакции «трансплантат против хозяина» (GVHD). Например, в некоторых воплощениях для получения модифицированных Т-клеток выбирают вирус-специфичные Т-клетки, которые, как ожидается, будут иметь значительно сниженную исходную способность связываться с любыми антигенами реципиента и,

следовательно, активироваться ими. В некоторых воплощениях опосредованное реципиентом отторжение аллогенных Т-клеток может быть уменьшено путем совместного введения хозяину одного или более иммуносупрессивных агентов, например циклоспорина, такролимуса, сиролимуса, циклофосфамида или тому подобного.

Т-клетки, например немодифицированные Т-лимфоциты, или Т-клетки, экспрессирующие CD3 и CD28, или содержащие полипептид, содержащий сигнальный домен CD3 ζ и костимулирующий домен CD28, могут быть выращены с применением антител к CD3 и CD28, например антител, прикрепленных к гранулам; см., например, патенты США № 5948893; 6534055; 6352694; 6692964; 6887466 и 6905681.

Модифицированные Т-клетки могут возможно содержать «суицидальный ген» или «предохранительный выключатель», который в случае необходимости позволяет уничтожить по существу все указанные модифицированные Т-клетки. Например, в некоторых воплощениях модифицированные Т-клетки могут содержать ген тимидинкиназы HSV (вируса простого герпеса) (HSV-TK), которая вызывает гибель модифицированных Т-клеток при контакте с ганцикловиром. В другом воплощении модифицированные Т-клетки содержат индуцируемую каспазу, например индуцируемую каспазу 9 (icaspase9), например гибридный белок каспазы 9 и связывающего FK506 белка человека, что обеспечивает возможность димеризации при применении определенного низкомолекулярного фармацевтического средства. См. Straathof KC *et al.* (2005) *Blood* 105(11): 4247-4254.

Нацеленный на ВСМА терапевтический агент

В настоящем документе термин «нацеленный на ВСМА терапевтический агент» относится к связывающей молекуле или полипептиду, которые специфично связываются с ВСМА с достаточной аффинностью таким образом, что указанные связывающая молекула или полипептид полезны в качестве терапевтического агента для нацеливания на ВСМА. В предпочтительных воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент представляет собой рекрутер Т-клеток. Такие рекрутеры Т-клеток способны перенаправлять одну или более Т-клеток на экспрессирующие ВСМА клетки-мишени.

В настоящем документе термин «ВСМА» относится к антигену созревания В-клеток человека, также известному как ВСМА; TR17_HUMAN, TNFRSF17 (UniProt Q02223), который является членом суперсемейства рецепторов фактора некроза

опухоли (TNF), преимущественно экспрессируемым в дифференцированных плазматических клетках. Внеклеточный домен ВСМА состоит, согласно UniProt, из аминокислот 1-54 (или 5-51). ВСМА представляет собой трансмембранный гликопротеин, необходимый для созревания и выживания клеток множественной миеломы.

В настоящем документе «расстройство, ассоциированное с экспрессией ВСМА» представляет собой расстройство, при котором пациенты имеют аберрантную или повышенную экспрессию ВСМА. Расстройства, ассоциированные с экспрессией ВСМА, включают плазмоклеточные или В-клеточные расстройства, такие как множественная миелома, хронический лимфоцитарный лейкоз или неходжкинская лимфома (например, лимфома Беркитта, хронический лимфоцитарный лейкоз/мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (CLL/SLL), диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (DLBCL), фолликулярная лимфома, иммунобластная крупноклеточная лимфома, лимфобластная лимфома из предшественников В-клеток или лимфома из клеток мантийной зоны), лимфома из клеток маргинальной зоны, плазмоклеточный лейкоз или связанное с IgG4 заболевание. В предпочтительных воплощениях расстройство, ассоциированное с экспрессией ВСМА, представляет собой множественную миелому, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (DLBCL) или плазмоклеточный лейкоз.

В некоторых воплощениях расстройство, ассоциированное с экспрессией ВСМА, является рецидивирующим или рефрактерным, например рецидивирующая или рефрактерная множественная миелома, рецидивирующая или рефрактерная диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (DLBCL) или рецидивирующий или рефрактерный плазмоклеточный лейкоз. В альтернативных воплощениях расстройство, ассоциированное с экспрессией ВСМА, является впервые диагностированным (то есть еще не подвергавшимся лечению), например впервые диагностированная множественная миелома, впервые диагностированная диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (DLBCL) или впервые диагностированный плазмоклеточный лейкоз.

В особенно предпочтительных воплощениях расстройство, ассоциированное с экспрессией ВСМА, представляет собой множественную миелому, например множественную миелому с высоким риском или рецидивирующую и рефрактерную множественную миелому. В некоторых воплощениях множественная миелома с

высоким риском представляет собой заболевание III стадии согласно R-ISS и/или заболевание, характеризующееся ранним рецидивом (например, прогрессирующее заболевание в течение 12 месяцев с даты применения последней схемы лечения, такой как последняя схема лечения с применением ингибитора протеасом, иммуномодулирующего агента и/или дексаметазона).

В предпочтительных воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения нацеленный на ВСМА терапевтический агент включает антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент.

В настоящем документе термины «антитело против ВСМА», «антитело к ВСМА» или «антитело, которое связывается с ВСМА» относятся к антителу, специфично связывающемуся с внеклеточным доменом ВСМА. В некоторых воплощениях антитело, специфично связывающееся с ВСМА, не связывается с другими антигенами или не связывается с другими антигенами с аффинностью, достаточной для оказания физиологического эффекта.

В некоторых воплощениях степень связывания антитела к ВСМА с неродственным белком, не являющимся ВСМА, приблизительно в 10 раз, предпочтительно в более чем 100 раз меньше, чем степень связывания антитела с ВСМА, определенная, например, с помощью поверхностного плазмонного резонанса (SPR), например Biacore®, твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) или проточной цитометрии (FACS). В одном из воплощений антитело, которое связывается с ВСМА, имеет константу диссоциации (K_d) 10^{-8} М или менее, предпочтительно от 10^{-8} М до 10^{-13} М, предпочтительно от 10^{-9} М до 10^{-13} М.

В одном из воплощений антитело к ВСМА связывается с эпитопом ВСМА, который является консервативным среди ВСМА различных видов, предпочтительно человека и яванского макака, и, кроме того, предпочтительно также с ВСМА мыши и крысы.

Предпочтительно антитело к ВСМА специфично связывается с группой ВСМА, состоящей из ВСМА человека и ВСМА млекопитающего, не являющегося человеком, предпочтительно ВСМА яванского макака, мыши и/или крысы. Антитела к ВСМА анализируют с помощью ELISA в отношении связывания с ВСМА человека, используя ВСМА, связанный с планшетом. Для этого анализа используют количество ВСМА, связанного с планшетом, составляющее предпочтительно 1,5 мкг/мл, и концентрацию(и) антитела к ВСМА в диапазоне от 0,1 пМ до 200 нМ.

В предпочтительных воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент представляет собой рекрутер Т-клеток, описанный в настоящем документе.

Так, в некоторых воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент представляет собой мультиспецифичное (например, биспецифичное) антитело, которое специфично связывается с ВСМА и антигеном, который способствует активации одной или более Т-клеток (например, CD3), химерный антигенный рецептор (CAR), нацеленный на ВСМА, или Т-клетку, экспрессирующую по меньшей мере один CAR, нацеленный на ВСМА.

В некоторых предпочтительных воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент представляет собой мультиспецифичное (например, биспецифичное) антитело, которое специфично связывается с ВСМА и антигеном, который способствует активации одной или более Т-клеток (например, CD3). В особенно предпочтительных воплощениях мультиспецифичное (например, биспецифичное) антитело включает антитело к ВСМА, описанное в настоящем документе, или его антигенсвязывающий фрагмент.

В альтернативных предпочтительных воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент включает химерный антигенный рецептор (CAR), нацеленный на ВСМА, или Т-клетку, экспрессирующую по меньшей мере один CAR («Т-клетка с CAR»), нацеленный на ВСМА. В некоторых воплощениях внеклеточный домен CAR, нацеленный на ВСМА, содержит рецептор или часть рецептора, который связывается с ВСМА. В некоторых воплощениях внеклеточный домен CAR, нацеленный на ВСМА, содержит антитело к ВСМА, описанное в настоящем документе, например одноцепочечный Fv (scFv), или его антигенсвязывающий фрагмент.

В альтернативных воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC). Термин «конъюгат антитело-лекарственное средство» или «конъюгированное антитело» в настоящем документе относится к антителу, которое специфично связывается с антигеном (например, ВСМА) и конъюгировано с терапевтическим агентом, например с цитотоксическим агентом или радиоактивной меткой.

В некоторых воплощениях ADC содержит антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе. В некоторых воплощениях конъюгат антитело-лекарственное средство содержит майтанзиноид, предпочтительно где указанный майтанзиноид представляет собой нерасщепляемый

DM1-подобный майтанзиноид. В некоторых воплощениях конъюгат антитело-лекарственное средство представляет собой GSK2857916, AMG224 или CC99712.

Схемы введения

В некоторых воплощениях ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят в дозе, достаточной для предупреждения или ослабления развития CRS у субъекта. Авторы настоящего изобретения установили, что введение субъекту ингибиторов цитокинов (например, ингибиторов IL-6), описанных в настоящем документе, может повысить безопасность терапевтического агента, который вызвал или может вызвать CRS, путем ослабления высвобождения цитокинов (например, высвобождения провоспалительных цитокинов). Без ограничения какой-либо теорией, полагают, что ингибитор цитокинов подавляет секрецию провоспалительных цитокинов миелоидными клетками (например, макрофагами и/или моноцитами) и, таким образом, может предупреждать или ослаблять развитие CRS или обеспечивать лечение CRS у субъекта. В качестве альтернативы или в дополнение, введение ингибиторов цитокинов (например, ингибиторов IL-6), описанных в настоящем документе, может обеспечить возможность введения терапевтического агента, который вызвал или может вызвать CRS, в увеличенной дозе вследствие меньшей токсичности по сравнению с введением без ингибитора цитокинов, и тем самым может повышать терапевтический индекс терапевтического агента.

Ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) и терапевтический агент (например, нацеленный на BCMA терапевтический агент) могут быть введены одновременно, в частично пересекающиеся моменты времени или в различные моменты времени. В некоторых воплощениях ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят до введения терапевтического агента (например, до введения первой дозы терапевтического агента). В альтернативных воплощениях ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят после введения терапевтического агента (например, после введения первой дозы терапевтического агента).

В некоторых воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят до (например, в течение 12 или 24 часов до) введения нацеленного на BCMA терапевтического агента, в те же сутки, в которые осуществляют введение нацеленного на BCMA терапевтического агента, или после (например, в течение 12 или 24 часов после) введения нацеленного на BCMA терапевтического агента. В некоторых воплощениях любого из аспектов

настоящего изобретения ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят в течение 12 часов после установления диагноза CRS.

A) Ингибитор цитокинов в качестве первого вводимого агента

В некоторых воплощениях ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят субъекту в виде одной или более доз, где по меньшей мере одну дозу ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) вводят до введения первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток). Без ограничения какой-либо теорией, предварительное введение ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) может обеспечить предупреждение или ослабление развития CRS, ассоциированного с введением терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток). Кроме того, в воплощениях, в которых терапевтический агент представляет собой рекрутер Т-клеток (например, мультиспецифичное антитело-рекрутер Т-клеток, CAR или Т-клетку с CAR), введение ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6), описанного в настоящем документе, может повысить эффективность терапевтического агента, например, посредством потенцирования активации Т-клеток.

В некоторых воплощениях субъекту вводят одну или более доз ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) за 1-28 суток, например, за 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 или 28 суток до введения первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток). В предпочтительных воплощениях субъекту вводят одну или более доз ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) за 7 суток до введения первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток).

В некоторых воплощениях субъекту вводят две или более доз (например, две, три, четыре, пять, шесть или семь доз) ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) за 1-28 суток, например, за 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 или 28 суток до введения первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток). В некоторых воплощениях первую дозу ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) вводят субъекту за 7 суток до введения первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток), и одну или более последующих доз ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) вводят субъекту до (например, за 1, 2, 3, 4, 5 или 6 суток до) введения первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток). Например, шесть последующих доз ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) могут быть

введены субъекту за 6, 5, 4, 3, 2 и 1 сутки до введения первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток).

В некоторых воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят субъекту в виде одной или более доз, где по меньшей мере одну дозу ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) вводят в те же сутки, в которые осуществляют введение первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток). Соответственно, в некоторых воплощениях ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят субъекту в виде двух или более доз, где указанные две или более доз включают:

(1) одну или более доз за 1-28 суток, например, за 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 или 28 суток, предпочтительно за 7 суток до введения первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток); и

(2) по меньшей мере одну дозу в те же сутки, в которые осуществляют введение первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток).

Например, ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) может быть введен субъекту в виде семи доз за 7, 6, 5, 4, 3, 2 и 1 сутки до введения первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток) и по меньшей мере одной дозы в те же сутки, в которые осуществляют введение первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток).

В альтернативных воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) не вводят субъекту в те же сутки, в которые осуществляют введение первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток). Без ограничения какой-либо теорией, такие воплощения могут снижать риск нежелательных явлений, таких как нейтропения и/или инфекция.

В некоторых воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения одну или более доз ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) вводят субъекту после введения первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток). Без ограничения какой-либо теорией, последующее введение ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) может обеспечить предупреждение или ослабление развития CRS, или лечение CRS, связанного с введением терапевтического агента.

В некоторых воплощениях после введения первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток) следующую дозу ингибитора цитокинов (например,

ингибитора IL-6) вводят субъекту через 1-14 суток, например, через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 или 14 суток после введения первой дозы терапевтического агента. В воплощениях, в которых ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) не вводят субъекту в те же сутки, в которые осуществляют введение первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток), следующая доза ингибитора цитокинов может быть введена субъекту через 7-14 суток (например, через 7 суток) после введения первой дозы терапевтического агента. Без ограничения какой-либо теорией, считается, что риск нежелательных явлений, таких как нейтропения или инфекция, снижается после 1 недели введения терапевтического агента.

В некоторых воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят пациенту в виде лечения, включающего по меньшей мере один цикл лечения. В настоящем документе «цикл лечения» или «цикл» составляет 28 суток. В некоторых воплощениях лечение включает первый цикл лечения, где ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят пациенту в 1-21 сутки, а терапевтический агент (например, рекрутер Т-клеток) вводят пациенту в 8, 11, 15 и 22 сутки. В альтернативных воплощениях лечение включает первый цикл лечения, где ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят пациенту в 1-7 и 15-21 сутки, а терапевтический агент (например, рекрутер Т-клеток) вводят пациенту в 8, 11, 15 и 22 сутки. В других альтернативных воплощениях лечение включает первый цикл лечения, где ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят пациенту в 1-21 сутки, а терапевтический агент (например, рекрутер Т-клеток) не вводят пациенту в данном цикле лечения. В других альтернативных воплощениях лечение включает первый цикл лечения, где ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят пациенту в 1-28 суток, а терапевтический агент (например, рекрутер Т-клеток) не вводят пациенту в данном цикле лечения.

В некоторых воплощениях лечение включает второй цикл лечения, где ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят пациенту в 1-21 сутки, а терапевтический агент (например, рекрутер Т-клеток) вводят пациенту в 1, 8, 15 и 22 сутки. В некоторых воплощениях лечение включает третий цикл лечения, возможно четвертый, пятый и шестой циклы лечения, где ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят пациенту в 1-21 сутки, а терапевтический агент (например, рекрутер Т-клеток) вводят пациенту в 1, 8, 15 и 22 сутки. В некоторых воплощениях пациент продолжает получать лечение (например, всю последующую жизнь).

В альтернативных воплощениях лечение включает второй цикл лечения, где ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят пациенту в 1-7 и 15-21 сутки, а терапевтический агент (например, рекрутер Т-клеток) вводят пациенту в 1, 8, 15 и 22 сутки. В некоторых воплощениях лечение включает третий цикл лечения, возможно четвертый, пятый и шестой циклы лечения, где ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят пациенту в 1-7 и 15-21 сутки, а терапевтический агент (например, рекрутер Т-клеток) вводят пациенту в 1, 8, 15 и 22 сутки. В некоторых воплощениях пациент продолжает получать лечение (например, всю последующую жизнь).

В предпочтительных воплощениях рекрутер Т-клеток представляет собой нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv). Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv) может быть введен пациенту (например, пациенту с множественной миеломой) в соответствии со схемой, представленной в таблице 2 или таблице 3.

Таблица 2:

	Цикл 1	Цикл 2+
Ингибитор цитокинов (например, соединение 1 или ибердомид)	Сутки 1-21	Сутки 1-21
Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv)	Сутки 8, 11, 15, 22	Сутки 1, 8, 15, 22

Таблица 3:

	Цикл 1	Цикл 2+
Ингибитор цитокинов (например, соединение 1 или ибердомид)	Сутки 1-7, 15-21	Сутки 1-21
Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv)	Сутки 8, 11, 15, 22	Сутки 1, 8, 15, 22

В некоторых воплощениях ингибитор цитокинов (например, ибердомид или соединение 1) вводят перорально. В некоторых воплощениях одну или более доз ингибитора цитокинов (например, ибердомида или соединения 1) вводят в фиксированной дозе. В некоторых воплощениях ибердомид вводят в фиксированной дозе, составляющей от приблизительно 0,03 мг до приблизительно 6 мг, от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 4 мг, от приблизительно 0,3 мг до приблизительно 2 мг или от приблизительно 1,0 мг до приблизительно 1,6 мг, например приблизительно 1,0 мг, приблизительно 1,3 мг или приблизительно 1,6 мг. В некоторых воплощениях соединение 1 вводят в фиксированной дозе, составляющей от приблизительно 0,05 мг до приблизительно 5 мг, от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 2 мг, от приблизительно 0,2 мг до приблизительно 1,6 мг или от приблизительно 0,3 мг до приблизительно 1,0 мг, например приблизительно 0,3 мг, приблизительно 0,6 мг или приблизительно 1,0 мг.

В некоторых воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент вводят внутривенно. В предпочтительных воплощениях первую дозу нацеленного на ВСМА терапевтического агента (например, 42-ТСВсv) вводят подкожно. В некоторых воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv) вводят подкожно в первом цикле, возможно в первом и последующих циклах. В некоторых воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv) вводят в дозе, составляющей от приблизительно 1 мг до приблизительно 100 мг, от приблизительно 1 мг до приблизительно 75 мг, от приблизительно 1 мг до приблизительно 50 мг, от приблизительно 1 мг до приблизительно 25 мг или от приблизительно 1 мг до приблизительно 12 мг.

В некоторых воплощениях, в которых ингибитор цитокинов представляет собой соединение 1 или ибердомид, нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv) и ингибитор цитокинов могут быть введены пациенту (например, пациенту с множественной миеломой) в соответствии со схемой, представленной в таблицах 4, 5 или 6.

Таблица 4:

	Цикл 1	Цикл 2+
Соединение 1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 0,3 мг, приблизительно 0,6 мг или	Сутки 1-21	Сутки 1-21

приблизительно 1,0 мг		
Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv в дозе от приблизительно 1,0 мг до приблизительно 100 мг)	Сутки 8, 11, 15, 22	Сутки 1, 8, 15, 22

Таблица 5:

	Цикл 1	Цикл 2+
Ибердомид в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 1,0 мг, приблизительно 1,3 мг или приблизительно 1,6 мг	Сутки 1-21	Сутки 1-21
Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv в дозе от приблизительно 1,0 мг до приблизительно 100 мг)	Сутки 8, 11, 15, 22	Сутки 1, 8, 15, 22

Таблица 6:

	Цикл 1	Цикл 2+
Соединение 1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 0,6 мг, или ибердомид в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 1,3 мг	Сутки 1-7, 15-21	Сутки 1-21
Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv в дозе от приблизительно 1,0 мг до приблизительно 100 мг)	Сутки 8, 11, 15, 22	Сутки 1, 8, 15, 22

В некоторых воплощениях пациенту вводят один или более дополнительных терапевтических агентов. В предпочтительных воплощениях вводят кортикостероид, предпочтительно дексаметазон. В некоторых воплощениях кортикостероид (например, дексаметазон) вводят пациенту еженедельно в течение по меньшей мере первого цикла лечения, по меньшей мере первых двух циклов лечения или по меньшей мере первых трех циклов лечения. В предпочтительных воплощениях кортикостероид (например, дексаметазон) вводят пациенту (например, еженедельно) в течение трех циклов

лечения. Доза кортикостероида (например, дексаметазона) может составлять приблизительно 40 мг в неделю (например, для пациентов в возрасте до 75 лет включительно или не имеющих недостаточной массы тела) или приблизительно 20 мг в неделю (например, для пациентов 75 лет и старше или имеющих недостаточную массу тела, индекс массы тела [BMI] менее 18,5). Предпочтительно кортикостероид (например, дексаметазон) вводят перорально или внутривенно. В некоторых воплощениях кортикостероид (например, дексаметазон) вводят перорально с ингибитором цитокинов (например, ибердомидом или соединением 1). В некоторых воплощениях кортикостероид (например, дексаметазон) вводят внутривенно в сутки, в которые осуществляют введение нацеленного на ВСМА терапевтического агента (например, 42-ТСВсv).

В некоторых воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv), ингибитор цитокинов и кортикостероид (например, дексаметазон) вводят пациенту (например, пациенту с множественной миеломой) в соответствии со схемой, представленной в таблицах 7, 8 или 9.

Таблица 7:

	Цикл 1	Цикл 2+
Соединение 1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 0,3 мг, приблизительно 0,6 мг или приблизительно 1,0 мг	Сутки 1-21	Сутки 1-21
Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv в дозе от приблизительно 1,0 мг до приблизительно 100 мг)	Сутки 8, 11, 15, 22	Сутки 1, 8, 15, 22
Кортикостероид (например, дексаметазон в дозе приблизительно 40 мг/неделю для пациентов ≤ 75 лет и в дозе приблизительно 20 мг/неделю для пациентов > 75 лет или имеющих недостаточную массу тела)	Один раз в неделю	Один раз в неделю до окончания цикла

Таблица 8:

	Цикл 1	Цикл 2+
Ибердомид в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 1,0 мг, приблизительно 1,3 мг или приблизительно 1,6 мг	Сутки 1-21	Сутки 1-21
Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv в дозе от приблизительно 1,0 мг до приблизительно 100 мг)	Сутки 8, 11, 15, 22	Сутки 1, 8, 15, 22
Кортикостероид (например, дексаметазон в дозе приблизительно 40 мг/неделю для пациентов ≤ 75 лет и в дозе приблизительно 20 мг/неделю для пациентов > 75 лет или имеющих недостаточную массу тела)	Один раз в неделю	Один раз в неделю до окончания цикла 3

Таблица 9:

	Цикл 1	Цикл 2+
Соединение 1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 0,6 мг, или ибердомид в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 1,3 мг	Сутки 1-7, 15-21	Сутки 1-21
Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv в дозе от приблизительно 1,0 мг до приблизительно 100 мг)	Сутки 8, 11, 15, 22	Сутки 1, 8, 15, 22
Кортикостероид (например, дексаметазон в дозе приблизительно 40 мг/неделю для пациентов ≤ 75 лет и в дозе приблизительно 20 мг/неделю для пациентов > 75 лет или имеющих недостаточную массу тела)	Один раз в неделю	Один раз в неделю до окончания цикла 3

В одном из аспектов предложен способ лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА (например, множественной миеломы), где указанный способ

включает введение субъекту нацеленного на ВСМА терапевтического агента (например, 42-TCVscv) и ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6), где нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-TCVscv) и ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят субъекту в соответствии с любой из схем, представленных в таблицах 2, 3, 4, 5 или 6.

В некоторых воплощениях способ лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА, включает введение пациенту одного или более дополнительных терапевтических агентов. В предпочтительных воплощениях вводят кортикостероид, предпочтительно дексаметазон. В некоторых воплощениях кортикостероид (например, дексаметазон) вводят пациенту еженедельно в течение по меньшей мере первого цикла лечения, по меньшей мере первых двух циклов лечения или по меньшей мере первых трех циклов лечения. В предпочтительных воплощениях кортикостероид (например, дексаметазон) вводят пациенту (например, еженедельно) в течение трех циклов лечения. В некоторых воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-TCVscv), ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) и кортикостероид (например, дексаметазон) вводят пациенту в соответствии со схемой, представленной в таблицах 7, 8 или 9.

Б) Терапевтический агент в качестве первого вводимого агента

В некоторых воплощениях ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят субъекту в виде одной или более доз, при этом первую дозу ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) вводят после введения первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток). Без ограничения какой-либо теорией, введение ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) после введения терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток) может обеспечить предупреждение или ослабление развития CRS, или лечение CRS, связанного с введением терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток). Кроме того, в воплощениях, в которых терапевтический агент представляет собой рекрутер Т-клеток (например, мультиспецифичное антитело-рекрутер Т-клеток, CAR или Т-клетку с CAR), введение ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6), описанного в настоящем документе, может повысить эффективность терапевтического агента, например посредством потенцирования активации Т-клеток.

В некоторых воплощениях первую дозу ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) вводят субъекту через 1-28 суток после, например через 1, 2, 3, 4, 5, 6,

7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 или 28 суток после, или в те же сутки, но после первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток). В предпочтительных воплощениях первую дозу ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) вводят субъекту через 7 суток после первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток).

В некоторых воплощениях субъекту вводят две или более доз (например, две, три, четыре, пять, шесть или семь доз) ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) через 1-28 суток после, например через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 или 28 после, или в те же сутки, но после, предпочтительно через 7 суток после первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток). В некоторых воплощениях первую дозу ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) вводят субъекту через 7 суток после первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток), и одну или более последующих доз ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) вводят субъекту после (например, через 8-27 суток после) введения первой дозы терапевтического агента (например, рекрутера Т-клеток).

В некоторых воплощениях любого из аспектов настоящего изобретения ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят пациенту в виде лечения, включающего по меньшей мере один цикл лечения. В некоторых воплощениях лечение включает первый цикл лечения, где ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят пациенту в 8-28 сутки, а терапевтический агент (например, рекрутер Т-клеток) вводят пациенту в 1, 4, 8, 15 и 22 сутки. В альтернативных воплощениях лечение включает первый цикл лечения, где ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят пациенту в 8-14 сутки и 22-28 сутки, а терапевтический агент (например, рекрутер Т-клеток) вводят пациенту в 1, 4, 8, 15 и 22 сутки. В некоторых воплощениях лечение включает второй цикл лечения, где ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят пациенту в 8-28 сутки, а терапевтический агент (например, рекрутер Т-клеток) вводят пациенту в 1, 8, 15 и 22 сутки. В альтернативных воплощениях лечение включает второй цикл лечения, где ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят пациенту в 8-14 сутки и 22-28 сутки, а терапевтический агент (например, рекрутер Т-клеток) вводят пациенту в 1, 8, 15 и 22 сутки. В некоторых воплощениях лечение включает третий цикл лечения, возможно четвертый, пятый и шестой циклы лечения, где ингибитор цитокинов (например,

ингибитор IL-6) вводят пациенту в 8-28 сутки, а терапевтический агент (например, рекрутер Т-клеток) вводят пациенту в 1, 8, 15 и 22 сутки. В некоторых воплощениях пациент продолжает получать лечение (например, всю последующую жизнь).

В некоторых воплощениях рекрутер Т-клеток представляет собой нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-TCBcv). Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-TCBcv) может быть введен пациенту (например, пациенту с множественной миеломой) в соответствии со схемой, представленной в таблице 10 или таблице 11.

Таблица 10:

	Цикл 1	Цикл 2+
Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-TCBcv)	Сутки 1, 4, 8, 15, 22	Сутки 1, 8, 15, 22
Ингибитор цитокинов (например, соединение 1 или ибердомид)	Сутки 8-28	Сутки 8-28

Таблица 11:

	Цикл 1	Цикл 2+
Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-TCBcv)	Сутки 1, 4, 8, 15, 22	Сутки 1, 8, 15, 22
Ингибитор цитокинов (например, соединение 1 или ибердомид)	Сутки 8-14, 22-28	Сутки 8-28

В некоторых воплощениях ингибитор цитокинов (например, ибердомид или соединение 1) вводят перорально. В некоторых воплощениях одну или более доз ингибитора цитокинов (например, ибердомида или соединения 1) вводят в фиксированной дозе. В некоторых воплощениях ибердомид вводят в фиксированной дозе, составляющей от приблизительно 0,03 мг до приблизительно 6 мг, от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 4 мг, от приблизительно 0,3 мг до приблизительно 2 мг или от приблизительно 1,0 мг до приблизительно 1,6 мг, например приблизительно 1,0 мг, приблизительно 1,3 мг или приблизительно 1,6 мг. В некоторых воплощениях соединение 1 вводят в фиксированной дозе, составляющей от приблизительно 0,05 мг до приблизительно 5 мг, от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 2 мг, от приблизительно 0,2 мг до приблизительно 1,6 мг или от

приблизительно 0,3 мг до приблизительно 1,0 мг, например приблизительно 0,3 мг, приблизительно 0,6 мг или приблизительно 1,0 мг.

В некоторых воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент вводят внутривенно. В предпочтительных воплощениях первую дозу нацеленного на ВСМА терапевтического агента (например, 42-ТСВсv) вводят подкожно. В некоторых воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv) вводят подкожно в первом цикле, возможно в первом и последующих циклах. В некоторых воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv) вводят в дозе, составляющей от приблизительно 1 мг до приблизительно 100 мг, от приблизительно 1 мг до приблизительно 75 мг, от приблизительно 1 мг до приблизительно 50 мг, от приблизительно 1 мг до приблизительно 25 мг или от приблизительно 1 мг до приблизительно 12 мг.

В некоторых воплощениях, в которых ингибитор цитокинов представляет собой соединение 1 или ибердомид, нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv) и ингибитор цитокинов могут быть введены пациенту (например, пациенту с множественной миеломой) в соответствии со схемой, представленной в таблицах 12, 13 или 14.

Таблица 12:

	Цикл 1	Цикл 2+
Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv в дозе от приблизительно 1,0 мг до приблизительно 100 мг)	Сутки 1, 4, 8, 15, 22	Сутки 1, 8, 15, 22
Соединение 1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 0,3 мг, приблизительно 0,6 мг или приблизительно 1,0 мг	Сутки 8-28	Сутки 8-28

Таблица 13:

	Цикл 1	Цикл 2+
Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv в дозе от приблизительно 1,0 мг до приблизительно 100 мг)	Сутки 1, 4, 8, 15, 22	Сутки 1, 8, 15, 22

Ибердомид в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 1,0 мг, приблизительно 1,3 мг или приблизительно 1,6 мг	Сутки 8-28	Сутки 8-28
---	------------	------------

Таблица 14:

	Цикл 1	Цикл 2+
Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv в дозе от приблизительно 1,0 мг до приблизительно 100 мг)	Сутки 1, 4, 8, 15, 22	Сутки 1, 8, 15, 22
Соединение 1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 0,6 мг, или ибердомид в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 1,3 мг	Сутки 8-14, 12-28	Сутки 8-28

В некоторых воплощениях пациенту вводят один или более дополнительных терапевтических агентов. В предпочтительных воплощениях вводят кортикостероид, предпочтительно дексаметазон. В некоторых воплощениях кортикостероид (например, дексаметазон) вводят пациенту еженедельно в течение по меньшей мере первого цикла лечения, по меньшей мере первых двух циклов лечения или по меньшей мере первых трех циклов лечения. В предпочтительных воплощениях кортикостероид (например, дексаметазон) вводят пациенту (например, еженедельно) в течение трех циклов лечения. Доза кортикостероида (например, дексаметазона) может составлять приблизительно 40 мг в неделю (например, для пациентов в возрасте до 75 лет включительно, не имеющих недостаточной массы тела) или приблизительно 20 мг в неделю (например, для пациентов старше 75 лет или имеющих недостаточную массу тела, индекс массы тела [BMI] менее 18,5). Предпочтительно кортикостероид (например, дексаметазон) вводят перорально или внутривенно. В некоторых воплощениях кортикостероид (например, дексаметазон) вводят перорально с ингибитором цитокинов (например, ибердомидом или соединением 1). В некоторых воплощениях кортикостероид (например, дексаметазон) вводят внутривенно в сутки, в которые осуществляют введение нацеленного на ВСМА терапевтического агента (например, 42-ТСВсv).

В некоторых воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент

(например, 42-ТСВсv), ингибитор цитокинов и кортикостероид (например, дексаметазон) вводят пациенту (например, пациенту с множественной миеломой) в соответствии со схемой, представленной в таблицах 15, 16 или 17.

Таблица 15:

	Цикл 1	Цикл 2+
Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv в дозе от приблизительно 1,0 мг до приблизительно 100 мг)	Сутки 1, 4, 8, 15, 22	Сутки 1, 8, 15, 22
Соединение 1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 0,3 мг, приблизительно 0,6 мг или приблизительно 1,0 мг	Сутки 8-28	Сутки 8-28
Кортикостероид (например, дексаметазон в дозе приблизительно 40 мг/неделю для пациентов ≤ 75 лет и в дозе приблизительно 20 мг/неделю для пациентов > 75 лет или имеющих недостаточную массу тела)	Один раз в неделю	Один раз в неделю до окончания цикла 3

Таблица 16:

	Цикл 1	Цикл 2+
Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv в дозе от приблизительно 1,0 мг до приблизительно 100 мг)	Сутки 1, 4, 8, 15, 22	Сутки 1, 8, 15, 22
Ибердомид в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 1,0 мг, приблизительно 1,3 мг или приблизительно 1,6 мг	Сутки 8-28	Сутки 8-28
Кортикостероид (например, дексаметазон в дозе приблизительно 40 мг/неделю для пациентов ≤ 75 лет и в дозе приблизительно 20 мг/неделю для пациентов > 75 лет или имеющих недостаточную массу тела)	Один раз в неделю	Один раз в неделю до окончания цикла 3

Таблица 17:

	Цикл 1	Цикл 2+
Нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, 42-ТСВсv в дозе от приблизительно 1,0 мг до приблизительно 100 мг)	Сутки 1, 4, 8, 15, 22	Сутки 1, 8, 15, 22
Соединение 1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 0,6 мг, или ибердомид в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 1,3 мг	Сутки 8-14, 12-28	Сутки 8-28
Кортикостероид (например, дексаметазон в дозе 40 мг/неделю для пациентов ≤ 75 лет и в дозе 20 мг/неделю для пациентов > 75 лет или имеющих недостаточную массу тела)	Один раз в неделю	Один раз в неделю до окончания цикла 3

В одном из аспектов предложен способ лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА, где указанный способ включает введение субъекту нацеленного на ВСМА терапевтического агента (например, 42-ТСВсv) и ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6), где нацеленный на ВСМА терапевтический агент и ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят субъекту в соответствии с любой из схем, представленных в таблицах 10, 11, 12, 13 или 14.

В некоторых воплощениях способ лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА, включает введение пациенту одного или более дополнительных терапевтических агентов. В предпочтительных воплощениях вводят кортикостероид, предпочтительно дексаметазон. В некоторых воплощениях кортикостероид (например, дексаметазон) вводят пациенту еженедельно в течение по меньшей мере первого цикла лечения, по меньшей мере первых двух циклов лечения или по меньшей мере первых трех циклов лечения. В предпочтительных воплощениях кортикостероид (например, дексаметазон) вводят пациенту (например, еженедельно) в течение трех циклов лечения. В некоторых воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент

(например, 42-TCBcv), ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) и кортикостероид (например, дексаметазон) вводят пациенту в соответствии со схемой, представленной в таблицах 15, 16 или 17.

Связывающие ВСМА последовательности

В некоторых воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент) содержит комбинацию областей CDR1H, CDR2H, CDR3H, CDR1L, CDR2L и CDR3L, выбранную из группы из:

а) область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:23, область CDR2L с SEQ ID NO:24 и область CDR3L с SEQ ID NO:20;

б) область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:25, область CDR2L с SEQ ID NO:26 и область CDR3L с SEQ ID NO:20;

в) область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:27, область CDR2L с SEQ ID NO:28 и область CDR3L с SEQ ID NO:20;

г) область CDR1H с SEQ ID NO:29, область CDR2H с SEQ ID NO:30, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:31, область CDR2L с SEQ ID NO:32 и область CDR3L с SEQ ID NO:33;

д) область CDR1H с SEQ ID NO:34, область CDR2H с SEQ ID NO:35, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:31, область CDR2L с SEQ ID NO:32 и область CDR3L с SEQ ID NO:33;

е) область CDR1H с SEQ ID NO:36, область CDR2H с SEQ ID NO:37, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:31, область CDR2L с SEQ ID NO:32 и область CDR3L с SEQ ID NO:33; и

ж) область CDR1H с SEQ ID NO:15, область CDR2H с SEQ ID NO:16, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:18, область CDR2L с SEQ ID NO:19 и область CDR3L с SEQ ID NO:20.

В предпочтительных воплощениях нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент) содержит комбинацию областей CDR1H, CDR2H, CDR3H, CDR1L, CDR2L и CDR3L, выбранную из:

а) область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:27, область CDR2L с SEQ ID NO:28 и область CDR3L с SEQ ID NO:20;

б) область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:25, область CDR2L с SEQ ID NO:26 и область CDR3L с SEQ ID NO:20; или

в) область CDR1H с SEQ ID NO:15, область CDR2H с SEQ ID NO:16, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:18, область CDR2L с SEQ ID NO:19 и область CDR3L с SEQ ID NO:20.

В любом из воплощений, раскрытых в настоящем документе, область CDR1L с SEQ ID NO:27 может быть заменена на область CDR1L с SEQ ID NO:62; и область CDR2L с SEQ ID NO:28 может быть заменена на область CDR2L с SEQ ID NO:63. Соответственно, в некоторых воплощениях мультиспецифичное (например, биспецифичное) антитело может включать антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:62, область CDR2L с SEQ ID NO:63 и область CDR3L с SEQ ID NO:20.

В любом из воплощений, раскрытых в настоящем документе, область CDR1L с SEQ ID NO:25 может быть заменена на область CDR1L с SEQ ID NO:60; и область CDR2L с SEQ ID NO:26 может быть заменена на область CDR2L с SEQ ID NO:61. Соответственно, в некоторых воплощениях мультиспецифичное (например, биспецифичное) антитело может включать антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:60, область CDR2L с SEQ ID NO:61 и область CDR3L с SEQ ID NO:20.

В любом из воплощений, раскрытых в настоящем документе, область CDR1L с SEQ ID NO:18 может быть заменена на область CDR1L с SEQ ID NO:58; и область CDR2L с SEQ ID NO:19 может быть заменена на область CDR2L с SEQ ID NO:59. Соответственно, в некоторых воплощениях мультиспецифичное (например, биспецифичное) антитело может включать антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область CDR1H с SEQ ID NO:15, область CDR2H с SEQ ID NO:16, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:58, область CDR2L с SEQ ID NO:59 и область CDR3L с SEQ ID NO:20.

В особенно предпочтительных воплощениях нацеленный на BCMA терапевтический агент (например, антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент) содержит область VH, содержащую область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22 и область CDR3H с SEQ ID NO:17, а также область VL, содержащую область CDR1L с SEQ ID NO:27, область CDR2L с SEQ ID NO:28 и область CDR3L с SEQ ID NO:20.

В некоторых воплощениях нацеленный на BCMA терапевтический агент (например, антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент) содержит VH и VL выбранные из группы, состоящей из:

- а) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:12,
- б) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:13,
- в) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:14,
- г) область VH с SEQ ID NO:38 и область VL с SEQ ID NO:12,
- д) область VH с SEQ ID NO:39 и область VL с SEQ ID NO:12,
- е) область VH с SEQ ID NO:40 и область VL с SEQ ID NO:12, или
- ж) область VH с SEQ ID NO:9 и область VL с SEQ ID NO:11.

В некоторых воплощениях нацеленный на BCMA терапевтический агент (например, антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент) содержит VH и VL выбранные из группы, состоящей из:

а) VH, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична, по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10, и VL, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:12;

б) VH, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична, по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10, и VL, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:13;

в) VH, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична, по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей

мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10, и VL, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:14;

г) VH, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична, по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38, и VL, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:12;

д) VH, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична, по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39, и VL, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:12;

е) VH, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична, по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:40, и VL, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:12; или

ж) VH, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична, по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, и VL, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична, по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:11.

В некоторых воплощениях нацеленный на BCMA терапевтический агент (например, антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент) содержит VH и VL выбранные из группы, состоящей из:

- а) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:13,
- б) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:14, или

в) область VH с SEQ ID NO:9 и область VL с SEQ ID NO:11.

В особенно предпочтительных воплощениях нацеленный на BCMA терапевтический агент (например, антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент) содержит область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:14.

В некоторых воплощениях нацеленный на BCMA терапевтический агент (например, антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент) содержит CDR3H, CDR3L, CDR1H, CDR2H, CDR1L и CDR2L одного из GSK2857916, AMG-420, AMG-701, JNJ-957, JNJ-64007957, PF-06863135, REGN-5458 или TNB-383B. В некоторых воплощениях нацеленный на BCMA терапевтический агент (например, антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент) содержит VH и VL одного из GSK2857916, AMG-420, AMG-701, JNJ-957, JNJ-64007957, PF-06863135, REGN-5458 или TNB-383B. В некоторых воплощениях антитело к BCMA представляет собой BCMA tri-specific [Affimed], AFM26 [Affimed], Ab-957 [Janssen] или BCMA/PD-L1 [Immune pharmaceuticals].

В некоторых воплощениях нацеленный на BCMA терапевтический агент представляет собой мультиспецифичное (например, биспецифичное) антитело согласно настоящему изобретению, которое включает антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие комбинацию областей CDR1H, CDR2H, CDR3H, CDR1L, CDR2L и CDR3L, выбранную из группы из:

а) область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:23, область CDR2L с SEQ ID NO:24 и область CDR3L с SEQ ID NO:20;

б) область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:25, область CDR2L с SEQ ID NO:26 и область CDR3L с SEQ ID NO:20;

в) область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:27, область CDR2L с SEQ ID NO:28 и область CDR3L с SEQ ID NO:20;

г) область CDR1H с SEQ ID NO:29, область CDR2H с SEQ ID NO:30, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:31, область CDR2L с SEQ ID NO:32 и область CDR3L с SEQ ID NO:33;

д) область CDR1H с SEQ ID NO:34, область CDR2H с SEQ ID NO:35, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:31, область CDR2L с

SEQ ID NO:32 и область CDR3L с SEQ ID NO:33;

е) область CDR1H с SEQ ID NO:36, область CDR2H с SEQ ID NO:37, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:31, область CDR2L с SEQ ID NO:32 и область CDR3L с SEQ ID NO:33; или

ж) область CDR1H с SEQ ID NO:15, область CDR2H с SEQ ID NO:16, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:18, область CDR2L с SEQ ID NO:19 и область CDR3L с SEQ ID NO:20,

и антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область CDR1H с SEQ ID NO:1, область CDR2H с SEQ ID NO:2, область CDR3H с SEQ ID NO:3, область CDR1L с SEQ ID NO:4, область CDR2L с SEQ ID NO:5 и область CDR3L с SEQ ID NO:6.

В особенно предпочтительных воплощениях мультиспецифичное (например, биспецифичное) антитело согласно настоящему изобретению включает:

а) антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область VH, содержащую область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22 и область CDR3H с SEQ ID NO:17, и область VL, содержащую область CDR1L с SEQ ID NO:27, область CDR2L с SEQ ID NO:28 и область CDR3L с SEQ ID NO:20; и

б) антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область CDR1H с SEQ ID NO:1, область CDR2H с SEQ ID NO:2, область CDR3H с SEQ ID NO:3, область CDR1L с SEQ ID NO:4, область CDR2L с SEQ ID NO:5 и область CDR3L с SEQ ID NO:6.

В некоторых воплощениях мультиспецифичное (например, биспецифичное) антитело согласно настоящему изобретению включает антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие VH и VL выбранные из группы, состоящей из:

а) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:12,

б) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:13,

в) область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:14,

г) область VH с SEQ ID NO:38 и область VL с SEQ ID NO:12,

д) область VH с SEQ ID NO:39 и область VL с SEQ ID NO:12,

е) область VH с SEQ ID NO:40 и область VL с SEQ ID NO:12, или

ж) область VH с SEQ ID NO:9 и область VL с SEQ ID NO:11, и

антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область

VH с SEQ ID NO:7 и область VL с SEQ ID NO:8.

В особенно предпочтительных воплощениях мультиспецифичное (например, биспецифичное) антитело согласно настоящему изобретению включает антитело к BCMA или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область VH с SEQ ID NO:10 и область VL с SEQ ID NO:14, и антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие область VH с SEQ ID NO:7 и область VL с SEQ ID NO:8.

В предпочтительных воплощениях биспецифичное антитело согласно настоящему изобретению содержит следующие SEQ ID NO (указанные в таблицах 23A и 24B ниже):

83A10-TCBcv: 48, 45, 46, 47 (x2) (Фигура 2A)

22-TCBcv: 48, 52, 53, 54 (x2) (Фигура 2A)

42-TCBcv: 48, 55, 56, 57 (x2) (Фигура 2A)

В настоящем документе термин «83A10-TCBcv» относится к биспецифичному антителу, специфично связывающемуся с BCMA и CD3, как определено комбинацией его тяжелой и легкой цепей, представленной SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47 (2x) и SEQ ID NO: 48, как показано на фигуре 2A и описано в EP14179705.

В настоящем документе термин «22-TCBcv» относится к биспецифичному антителу Mab22, определенному комбинацией его тяжелой и легкой цепей, представленной SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53 и SEQ ID NO:54 (2x), как показано на фигуре 2A и описано в WO 2017/021450.

В настоящем документе термин «42-TCBcv» относится к биспецифичному антителу Mab42, определенному комбинацией его тяжелой и легкой цепей, представленной SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56 и SEQ ID NO:57 (2x), как показано на фигуре 2A и описано в WO 2017/021450. В настоящей заявке 42-TCBcv взаимозаменяемо обозначается как CC-93269.

В предпочтительных воплощениях биспецифичное антитело согласно настоящему изобретению представляет собой 42-TCBcv. Авторы настоящего изобретения определили, что описанные в настоящем документе ингибиторы цитокинов (например, ингибиторы IL-6) могут быть введены субъекту в дозе, достаточной для подавления секреции провоспалительных цитокинов, опосредованной 42-TCBcv, то есть секреции провоспалительных цитокинов миелоидными клетками (например, макрофагами и/или моноцитами), при этом указанная доза ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) не ослабляет уничтожение экспрессирующих

BCMA клеток (например, клеток множественной миеломы), опосредованное 42-TCB_{scv}. Таким образом, ингибиторы цитокинов (например, ингибиторы IL-6) могут предупреждать или ослаблять развитие CRS у субъекта, который получал или будет получать 42-TCB_{scv}, при этом не ослабляют уничтожение экспрессирующих BCMA клеток (например, клеток множественной миеломы), опосредованного 42-TCB_{scv} (см., например, пример 9).

В некоторых воплощениях ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) усиливает уничтожение экспрессирующих BCMA клеток (например, клеток множественной миеломы), опосредованное 42-TCB_{scv}. *In vitro* опосредованное 42-TCB_{scv} уничтожение экспрессирующих BCMA клеток (например, клеток множественной миеломы) может быть измерено в совместной культуре Т-клеток здорового донора и экспрессирующих BCMA клеток-мишеней (например, клеток множественной миеломы) при отношении Т-клеток к клеткам-мишеням 5:1. *In vivo* для оценки опосредованного 42-TCB_{scv} уничтожения клеток множественной миеломы могут быть применены измерения опухолей, например, в модели ксенотрансплантата H929 у мышей.

В некоторых воплощениях нацеленный на BCMA терапевтический агент представляет собой 42-TCB_{scv}, а ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой помалидомид. В некоторых воплощениях нацеленный на BCMA терапевтический агент представляет собой 42-TCB_{scv}, а ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой ибердомид. В некоторых воплощениях нацеленный на BCMA терапевтический агент представляет собой 42-TCB_{scv}, а ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой леналидомид. В некоторых воплощениях нацеленный на BCMA терапевтический агент представляет собой 42-TCB_{scv}, а ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой авадомид. В некоторых воплощениях нацеленный на BCMA терапевтический агент представляет собой 42-TCB_{scv}, а ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой соединение 1.

В одном из аспектов настоящего изобретения предложен 42-TCB_{scv} для применения в способе лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией BCMA, у субъекта, где указанный способ включает

- а) введение субъекту 42-TCB_{scv}; и
- б) введение субъекту помалидомида в дозе, достаточной для

предупреждения или ослабления развития CRS у субъекта.

В одном из аспектов настоящего изобретения предложен 42-TCB_{scv} для применения в способе лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией BCMA, у субъекта, где указанный способ включает

- а) введение субъекту 42-TCB_{scv}; и
- б) введение субъекту ибердомида в дозе, достаточной для предупреждения или ослабления развития CRS у субъекта.

В одном из аспектов настоящего изобретения предложен 42-TCB_{scv} для применения в способе лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией BCMA, у субъекта, где указанный способ включает

- а) введение субъекту 42-TCB_{scv}; и
- б) введение субъекту леналидомида в дозе, достаточной для предупреждения или ослабления развития CRS у субъекта.

В одном из аспектов настоящего изобретения предложен 42-TCB_{scv} для применения в способе лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией BCMA, у субъекта, где указанный способ включает

- а) введение субъекту 42-TCB_{scv}; и
- б) введение субъекту авадомида в дозе, достаточной для предупреждения или ослабления развития CRS у субъекта.

В одном из аспектов настоящего изобретения предложен 42-TCB_{scv} для применения в способе лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией BCMA, у субъекта, где указанный способ включает

- а) введение субъекту 42-TCB_{scv}; и
- б) введение субъекту соединения 1 в дозе, достаточной для предупреждения или ослабления развития CRS у субъекта.

В качестве альтернативы, нацеленный на BCMA терапевтический агент может представлять собой CAR, нацеленный на BCMA, или Т-клетку, экспрессирующую по меньшей мере один CAR, нацеленный на BCMA.

В некоторых воплощениях нацеленный на BCMA терапевтический агент (например, CAR к BCMA или Т-клетка с CAR к BCMA) содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VL, представленные в Таблице 18.

Таблица 18: Положение аминокислот CDR для CDR1, CDR2 и CDR3 в SEQ ID

NO: 76-85

SEQ ID NO:	Описание	Положение аминокислот CDR		
		CDR1	CDR2	CDR3
76	VH CD11D5.3	31-35	50-66	99-106
77	VL1 CD11D5.3	24-38	54-60	93-101
78	VL2 CD11D5.3 (альтернативная)	24-38	54-60	93-101
79	VL3 CD11D5.3 (альтернативная)	24-38	54-60	93-101
80	VH A7D12.2	31-35	50-66	99-111
81	VL A7D12.2	24-34	50-56	89-97
82	VH C12A32.3	31-35	50-66	99-106
83	VL C12A32.3	24-38	54-60	93-101
84	VH C13F12.1	31-35	50-66	99-106
85	VL C13F12.1	24-38	54-60	93-101

В некоторых воплощениях нацеленный на BCMA терапевтический агент (например, CAR к BCMA или Т-клетка с CAR к BCMA) содержит VH и VL, где:

а) VH содержит CDR из SEQ ID NO:76, и VL содержит CDR из SEQ ID NO:77, как указано в таблице 18, возможно где VH содержит SEQ ID NO:76 и VL содержит SEQ ID NO:77;

б) VH содержит CDR из SEQ ID NO:76, и VL содержит CDR из SEQ ID NO:78, как указано в таблице 18, возможно где VH содержит SEQ ID NO:76 и VL содержит SEQ ID NO:78;

в) VH содержит CDR из SEQ ID NO:76, и VL содержит CDR из SEQ ID NO:79, как указано в таблице 18, возможно где VH содержит SEQ ID NO:76 и VL содержит SEQ ID NO:79;

г) VH содержит CDR из SEQ ID NO:80, и VL содержит CDR из SEQ ID NO:81, как указано в таблице 18, возможно где VH содержит SEQ ID NO:80 и VL

содержит SEQ ID NO:81;

д) VH содержит CDR из SEQ ID NO:82, и VL содержит CDR из SEQ ID NO:83, как указано в таблице 18, возможно где VH содержит SEQ ID NO:82 и VL содержит SEQ ID NO:83; или

е) VH содержит CDR из SEQ ID NO:84, и VL содержит CDR из SEQ ID NO:85, как указано в таблице 18, возможно где VH содержит SEQ ID NO:84 и VL содержит SEQ ID NO:85.

В некоторых воплощениях нацеленный на BCMA терапевтический агент (например, CAR к BCMA или Т-клетка с CAR к BCMA) содержит VH и VL, выбранные из группы, состоящей из:

а) VH, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична, по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:76, и VL, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:77;

б) VH, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична, по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:76, и VL, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:78;

в) VH, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична, по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:76, и VL, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:79;

г) VH, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична, по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:80, и VL, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей

мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:81;

д) VH, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична, по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:82, и VL, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:83; или

е) VH, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична, по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:84, и VL, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична, по меньшей мере на 95% идентична или идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85.

В предпочтительных воплощениях нацеленный на BCMA терапевтический агент (например, CAR к BCMA или Т-клетка с CAR к BCMA) содержит VH, содержащую CDR1H с SEQ ID NO:64, CDR2H с SEQ ID NO:65, CDR3H с SEQ ID NO:66, и VL, содержащую совокупность последовательностей CDR1L, CDR2L и CDR3L, выбранную из:

а) CDR1L с SEQ ID NO:67, CDR2L с SEQ ID NO:68 и CDR3L с SEQ ID NO:69, возможно где VH содержит SEQ ID NO:76 и VL содержит SEQ ID NO:77;

б) CDR1L с SEQ ID NO:70, CDR2L с SEQ ID NO:71 и CDR3L с SEQ ID NO:72, возможно где VH содержит SEQ ID NO:76 и VL содержит SEQ ID NO:78; или

в) CDR1L с SEQ ID NO:73, CDR2L с SEQ ID NO:74 и CDR3L с SEQ ID NO:75, возможно где VH содержит SEQ ID NO:76 и VL содержит SEQ ID NO:79.

В некоторых воплощениях Т-клетка с CAR к BCMA представляет собой ide-cel, идекабтаген виклейсел или bb21217. В некоторых воплощениях Т-клетка с CAR к BCMA представляет собой orga-cel или JCARH125.

В некоторых воплощениях Т-клетка с CAR к BCMA представляет собой KITE-585 (Kite Pharmaceuticals), P-BCMA-101 (Poseida Therapeutics), CART-BCMA (Novartis), LCAR-B38M (Legend Biotech), JNJ-528 (Janssen Biotech), P-BCMA-101 (Poseida Therapeutics), CT053 (CARsgen Therapeutics), CTX120 (CRISPR Therapeutics), ET140 (Juno Therapeutics), UCART-BCMA (Cellestis), P-BCMA-101 (Poseida), JNJ-528/LCAR-

В38М (Johnson & Johnson) или Т-клетки с CAR к ВСМА от Radiance Bio или Второй дочерней больницы Хэнаньского университета традиционной китайской медицины/Hrain Biotechnology Co. Ltd.). В некоторых воплощениях Т-клетка с CAR к ВСМА представляет собой MCARH171, FCARH143, CTX120, CT053 (Первая дочерняя больница Медицинского университета Вэньчжоу, Китай) или ВСМА-CART (Hrain Biotechnology, Шанхай, Китай).

Формат мультиспецифичных антител

Форматы для мультиспецифичных антител известны из уровня техники. Например, форматы биспецифичных антител описаны в Kontermann RE (2012) *MAbs*. 4(2): 182-197; Holliger P and Hudson PJ (2005) *Nat. Biotechnol.* 23(9): 1126-1136; Chan AC and Carter PJ (2010) *Nature Reviews Immunology*. 10(5): 301-316 и Cuesta AM *et al.* (2010) *Trends Biotechnol.* 28(7): 355-362.

Мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению могут иметь любой формат. Форматы мультиспецифичных и биспецифичных антител включают, например, мультивалентные одноцепочечные антитела, диатела и триатела, а также антитела, имеющие структуру константного домена полноразмерных антител, к которой присоединены дополнительные антигенсвязывающие домены (например, одноцепочечный Fv, tandemный scFv, домен VH и/или домен VL, Fab или (Fab)₂) посредством одного или более пептидных линкеров, а также миметики антител, такие как DARPIn. В некоторых воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению имеют формат scFv, например биспецифичный рекрутер Т-клеток (BITE[®]). В некоторых воплощениях антитела согласно настоящему изобретению представляют собой одноцепочечные антитела, которые содержат первый домен, который связывается с ВСМА, второй домен, который связывается с Т-клеточным антигеном (например, CD3), и третий домен, который содержит два полипептидных мономера, каждый из которых содержит шарнирный участок, домен CH2 и домен CH3, где указанные два полипептидных мономера слиты друг с другом через пептидный линкер (например, (шарнирный участок-CH2-CH3-линкер-шарнирный участок-CH2-CH3)).

«Валентность» антитела означает количество связывающих доменов. Соответственно, термины «двухвалентный», «трехвалентный» и «мультивалентный» означают наличие двух связывающих доменов, трех связывающих доменов и

множества связывающих доменов, соответственно. Мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению могут иметь более одного связывающего домена, способного связываться с каждым антигеном-мишенью (то есть антитело является трехвалентным или мультивалентным). В предпочтительных воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению имеют более одного связывающего домена, способного связываться с одним и тем же эпитопом каждого антигена-мишени. В некоторых воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению имеют более одного связывающего домена, способного связываться с различными эпитопами на каждом антигене-мишени.

Мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению могут быть двухвалентными, трехвалентными или четырехвалентными. В предпочтительных воплощениях мультиспецифичное (например, биспецифичное) антитело является трехвалентным, предпочтительно где трехвалентное антитело является двухвалентным в отношении ВСМА. Таким образом, биспецифичное антитело согласно настоящему изобретению может быть трехвалентным, где указанное трехвалентное антитело является двухвалентным в отношении ВСМА.

Мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела могут представлять собой полноразмерные антитела от одного вида или могут быть химеризованными или гуманизированными. В случае антитела с более чем двумя антигенсвязывающими доменами некоторые связывающие домены могут быть идентичными при условии, что белок имеет связывающие домены для двух различных антигенов.

Мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению могут иметь биспецифичный гетеродимерный формат. В некоторых воплощениях биспецифичное антитело содержит две различные тяжелые цепи и две различные легкие цепи. В других воплощениях мультиспецифичное (например, биспецифичное) антитело содержит две идентичные легкие цепи и две различные тяжелые цепи. В некоторых воплощениях в мультиспецифичных (например, биспецифичных) антителах согласно настоящему изобретению одна из двух пар тяжелой цепи и легкой цепи (НС/LC) специфично связывается с CD3, а другая пара специфично связывается с ВСМА.

В воплощениях, в которых биспецифичные антитела согласно настоящему

изобретению являются двухвалентными, они могут содержать одно антитело к ВСМА и одно антитело к CD3 (что обозначено в настоящем документе как формат «1+1»).

В воплощениях, в которых антитела к ВСМА и CD3 представляют собой Fab, двухвалентные биспецифичные антитела в формате 1+1 могут иметь формат: Fab CD3 - Fab ВСМА (то есть в случаях, когда Fc отсутствует). В качестве альтернативы, биспецифичные антитела могут иметь формат: Fc - Fab CD3 - Fab ВСМА; Fc - Fab ВСМА - Fab CD3 или Fab ВСМА - Fc - Fab CD3 (то есть в случаях, когда Fc присутствует). В предпочтительных воплощениях двухвалентные биспецифичные антитела имеют формат Fab ВСМА - Fc - Fab CD3.

«Fab CD3 - Fab ВСМА» означает, что Fab CD3 связан своим N-концом с C-концом Fab ВСМА.

«Fc - Fab ВСМА - Fab CD3» означает, что Fab ВСМА связан своим C-концом с N-концом Fc, а Fab CD3 связан своим C-концом с N-концом Fab ВСМА.

«Fc - Fab CD3 - Fab ВСМА» означает, что Fab CD3 связан своим C-концом с N-концом Fc, а Fab ВСМА связан своим C-концом с N-концом Fab CD3.

«Fab ВСМА - Fc - Fab CD3» означает, что Fab-фрагменты к ВСМА и CD3 связаны их C-концами с N-концом Fc.

В воплощениях, в которых биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению являются трехвалентными, они могут содержать два антитела к ВСМА и одно антитело к CD3 (что обозначено в настоящем документе как формат «2+1»).

В воплощениях, в которых антитела к ВСМА и CD3 представляют собой Fab, трехвалентные биспецифичные антитела в формате 2+1 могут иметь формат: Fab CD3 - Fab ВСМА - Fab ВСМА или Fab ВСМА - Fab CD3 - Fab ВСМА (то есть в случаях, когда Fc отсутствует). В качестве альтернативы, биспецифичные антитела могут иметь формат: Fab ВСМА - Fc - Fab CD3 - Fab ВСМА; Fab ВСМА - Fc - Fab ВСМА - Fab CD3 или Fab CD3 - Fc - Fab ВСМА - Fab ВСМА (то есть в случаях, когда Fc присутствует). В предпочтительных воплощениях трехвалентные биспецифичные антитела имеют формат Fab ВСМА - Fc - Fab CD3 - Fab ВСМА.

«Fab CD3 - Fab ВСМА - Fab ВСМА» означает, что Fab CD3 связан своим C-концом с N-концом первого Fab ВСМА, а первый Fab ВСМА связан своим C-концом с N-концом второго Fab ВСМА.

«Fab ВСМА - Fab CD3 - Fab ВСМА» означает, что первый Fab ВСМА связан своим C-концом с N-концом Fab CD3, а Fab CD3 связан своим C-концом с N-концом

второго Fab BCMA.

«Fab BCMA - Fc - Fab CD3 - Fab BCMA» означает, что первый Fab BCMA и Fab CD3 связаны своими С-концами с N-концом Fc, а второй Fab BCMA связан своим С-концом с N-концом Fab CD3.

«Fab BCMA - Fc - Fab BCMA - Fab CD3» означает, что первый Fab BCMA и второй Fab BCMA связаны своими С-концами с N-концом Fc, а Fab CD3 связан своим С-концом с N-концом второго Fab BCMA.

«Fab CD3 - Fc - Fab BCMA - Fab BCMA» означает, что Fab CD3 и первый Fab BCMA связаны своими С-концами с N-концом Fc, а второй Fab BCMA связан своим С-концом с N-концом первого Fab BCMA.

В некоторых воплощениях биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению могут содержать не более одного Fab BCMA, специфично связывающегося с BCMA, и не более одного Fab CD3, специфично связывающегося с CD3, и не более одной части Fc.

В некоторых воплощениях биспецифичное антитело содержит не более одного Fab CD3, специфично связывающегося с CD3, не более двух Fab BCMA, специфично связывающихся с BCMA, и не более одной части Fc. В некоторых воплощениях не более одного Fab CD3 и не более одного Fab BCMA связаны с частью Fc и связывание осуществляется посредством С-концевого связывания Fab с шарнирной областью части Fc. В некоторых воплощениях второй Fab BCMA связан своим С-концом либо с N-концом Fab CD3, либо с шарнирной областью части Fc, и, следовательно, находится между частью Fc биспецифичного антитела и Fab CD3.

В воплощениях, включающих два Fab BCMA, указанные Fab BCMA предпочтительно получены из одного и того же антитела и предпочтительно идентичны по последовательностям CDR, последовательностям переменных доменов VH и VL и/или последовательностям константных доменов CH1 и CL. Предпочтительно аминокислотные последовательности двух Fab BCMA идентичны.

Мультиспецифичные биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению также могут содержать scFv вместо Fab. Таким образом, в некоторых воплощениях биспецифичные антитела имеют любой из указанных выше форматов, где каждый Fab заменен на соответствующий scFv.

«Fab-фрагмент» и «Fab» используются в настоящем документе взаимозаменяемо, они содержат одну легкую цепь (то есть константный домен CL и

VL) и одну тяжелую цепь (то есть константный домен CH1 и VH). Тяжелая цепь Fab-фрагмента не способна образовывать дисульфидную связь с другой тяжелой цепью.

«Fab'-фрагмент» содержит одну легкую цепь и одну тяжелую цепь, но помимо CH1 и VH «Fab'-фрагмент» содержит между доменами CH1 и CH2 область тяжелой цепи, которая необходима для образования межцепочечной дисульфидной связи. Таким образом, два «Fab'-фрагмента» могут подвергаться ассоциации путем образования дисульфидной связи с получением молекулы F(ab')₂.

«F(ab')₂-фрагмент» содержит две легкие цепи и две тяжелые цепи. Каждая цепь включает часть константной области, необходимую для образования межцепочечной дисульфидной связи между двумя тяжелыми цепями.

«Fv-фрагмент» содержит только переменные области тяжелой и легкой цепи. Он не содержит константных областей.

«Однодоменное антитело» представляет собой фрагмент антитела, содержащий единицу одного домена антитела (например, VH или VL).

«Одноцепочечный Fv» («scFv») представляет собой фрагмент антитела, содержащий домены VH и VL антитела, соединенные с получением одной цепи. Для соединения доменов VH и VL scFv обычно применяют полипептидный линкер.

«Тандемный scFv», также известный как TandAb[®], представляет собой одноцепочечную молекулу Fv, полученную путем ковалентного связывания двух scFv в тандемной ориентации с помощью гибкого пептидного линкера.

«Биспецифичный рекрутер Т-клеток» (BiTE[®]) представляет собой слитый белок, состоящий из двух одноцепочечных переменных фрагментов (scFv) в одной пептидной цепи. Один из scFv связывается с Т-клетками через рецептор CD3, а другой связывается с антигеном опухолевых клеток.

«Диатело» представляет собой небольшой двухвалентный и биспецифичный фрагмент антитела, содержащий переменный домен тяжелой цепи (VH), соединенный с переменным доменом легкой цепи (VL) в одной и той же полипептидной цепи (VH-VL), соединенный с помощью пептидного линкера, слишком короткого для того, чтобы допустить спаривание между двумя доменами в одной и той же цепи (Kipriyanov, Int. J. Cancer 77 (1998), 763-772). Это обеспечивает спаривание с комплементарными доменами другой цепи и способствует сборке димерной молекулы с двумя функциональными антигенсвязывающими сайтами.

«DARPin» представляет собой биспецифичную молекулу с анкириновыми

повторами. DARPIn получают из природных белков-анкиринов, которые встречаются в геноме человека и которые являются одним из наиболее распространенных типов связывающих белков. Модуль библиотеки DARPIn определяется последовательностями природных белков с анкириновыми повторами с использованием 229 анкириновых повторов для исходного конструирования и еще 2200 для последующей оптимизации. Модули служат строительными блоками для библиотек DARPIn. Модули библиотеки подобны последовательностям генома человека. DARPIn состоит из 4-6 модулей. Поскольку каждый модуль составляет приблизительно 3,5 кДа, размер среднего DARPIn составляет 16-21 кДа. Выбор связывающих элементов осуществляют с помощью рибосомного дисплея, который является полностью бесклеточным и описан в He M. and Taussig MJ., *Biochem Soc Trans.* 2007, Nov;35(Pt 5):962-5.

Компоненты, например Fab-фрагменты, биспецифичных антител согласно настоящему изобретению, могут быть химически соединены с применением подходящего линкера согласно уровню техники. В предпочтительных воплощениях применяют линкер (Gly4-Ser1)₂ (Desplancq DK *et al.* (1994) *Protein Eng.* 7(8):1027-33; Mack M *et al* (1995) *PNAS.* 92(15): 7021-7025). В настоящем документе «химически соединенные» (или «соединенные») означает, что компоненты соединены посредством ковалентного связывания. Поскольку линкер представляет собой пептидный линкер, такое ковалентное связывание обычно осуществляют с помощью биохимических рекомбинантных методик. Например, связывание может быть осуществлено с применением нуклеиновой кислоты, кодирующей домены VL и/или VH соответствующих Fab-фрагментов, линкер и часть цепи Fc, если антитело содержит Fc.

В случае применения линкера этот линкер может иметь длину и последовательность, достаточные для обеспечения того, чтобы каждый из первого и второго доменов могли, независимо друг от друга, сохранять их различающиеся специфичности связывания.

Fc

Антитела (например, биспецифичные антитела) согласно настоящему изобретению могут иметь Fc или не иметь Fc. В предпочтительных воплощениях антитела (например, биспецифичные антитела) согласно настоящему изобретению содержат Fc, предпочтительно Fc человека.

В некоторых воплощениях Fc представляет собой вариантный Fc, например последовательность Fc, которая была модифицирована (например, путем замены,

делеции и/или вставки аминокислоты) относительно исходной последовательности Fc (например, немодифицированный полипептид Fc, который впоследствии модифицируют с получением варианта) для обеспечения желаемых структурных характеристик и/или биологической активности.

Соответственно, антитела (например, биспецифичные антитела) согласно настоящему изобретению могут содержать Fc, содержащий одну или более модификаций, как правило, для изменения одного или более функциональных свойств антитела, таких как время полужизни в сыворотке, связывание комплемента, связывание с рецептором Fc и/или антигензависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность. В мультиспецифичных (например, биспецифичных) антителах согласно настоящему изобретению Fc может быть соединен с Fab-фрагментами к ВСМА и/или к CD3.

Присутствие Fc обеспечивает преимущество, заключающееся в увеличении периода полувыведения антитела. Антитела (например, биспецифичные антитела) согласно настоящему изобретению могут иметь период полувыведения у мышей или яванских макаков, предпочтительно яванских макаков, составляющий более 12 часов, предпочтительно 3 суток или более. В некоторых воплощениях антитела (например, биспецифичные антитела) согласно настоящему изобретению имеют период полувыведения, составляющий приблизительно от 1 до 12 суток, что обеспечивает возможность введения по меньшей мере один или два раза в неделю.

Сниженная эффекторная функция

Предпочтительно мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению содержат область Fc (например, подкласса IgG1), которая содержит модификации для избегания связывания с FcR и C1q и свести к минимуму ADCC/CDC (антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность/комплементзависимая цитотоксичность). Это обеспечивает преимущество, заключающееся в том, что биспецифичное антитело опосредует свою эффективность в уничтожении опухолевых клеток исключительно за счет перенаправления/активации эффективного механизма эффекторной клетки, например Т-клетки. Таким образом, исключаются дополнительные механизмы действия, такие как влияние на систему комплемента и экспрессирующие FcR эффекторные клетки, и снижается риск побочных эффектов, таких как инфузионные реакции.

В предпочтительных воплощениях мультиспецифичные (например,

биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению содержат область Fc IgG, в частности IgG1, содержащую модификации L234A, L235A и P329G (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU).

Гетеродимеризация

Мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению могут представлять собой гетеромультимерные антитела. Такие гетеромультимерные антитела могут содержать модификации в областях, участвующих во взаимодействиях между цепями антитела, для обеспечения правильной сборки антител.

Например, мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению могут содержать Fc, имеющий одну или более модификаций в доменах CH2 и CH3 для обеспечения гетеродимеризации Fc. В качестве альтернативы или в дополнение к этому, мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению могут содержать модификации в CH1 и области CL для стимулирования предпочтительного спаривания между тяжелой цепью и легкой цепью Fab-фрагмента.

Существует ряд стратегий для стимулирования гетеродимеризации. Эти стратегии могут включать введение асимметричных комплементарных модификаций в каждую из двух цепей антитела таким образом, что обе цепи совместимы друг с другом и, следовательно, способны образовывать гетеродимер, но каждая цепь не способна образовывать димер сама с собой. Такие модификации могут включать вставки, делеции, консервативные и неконсервативные замены и перегруппировки.

Гетеродимеризации может способствовать введение заряженных остатков с обеспечением подходящих электростатических взаимодействий между первой цепью антитела и второй цепью антитела. Например, в первую цепь антитела могут быть введены одна или более положительно заряженных аминокислот, а в соответствующие положения во второй цепи антитела могут быть введены одна или более отрицательно заряженных аминокислот.

В качестве альтернативы или помимо этого, гетеродимеризации может способствовать введение стерических несоответствий между контактирующими остатками. Например, в первую цепь антитела могут быть введены один или более остатков с объемной боковой цепью, а в соответствующие положения во второй цепи антитела могут быть введены один или более остатков, способных вместить объемную

боковую цепь.

В качестве альтернативы или помимо этого, гетеродимеризации может способствовать введение одной или более модификаций в гидрофильные и гидрофобные остатки на поверхности контакта цепей, чтобы сделать образование гетеродимера более благоприятным с точки зрения энтропии и энтальпии, чем образование гомодимера.

Еще одной стратегией стимулирования гетеродимеризации является перегруппировка частей цепей антитела таким образом, чтобы каждая цепь оставалась совместимой только с цепью, содержащей соответствующие перегруппировки. Например, технология CrossMAb основана на кроссовере доменов антител для обеспечения правильной ассоциации цепей. Существует три основных формата CrossMAb: (1) CrossMAb^{Fab}, в котором поменяны местами VH и VL, а также поменяны местами CH1 и CL; (2) CrossMAb^{VH-VL}, в котором поменяны местами VH и VL; и (3) CrossMAb^{CH1-CL}, в котором поменяны местами CH1 и CL (Klein C *et al.* (2016) *MAbs*. 8(6): 1010-1020).

В некоторых воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению могут включать обмен VH и VL. В некоторых воплощениях антитела (например, биспецифичные) согласно настоящему изобретению могут включать обмен CH1 и CL. В некоторых воплощениях антитела (например, биспецифичные) согласно настоящему изобретению могут включать обмен VH и VL, а также обмен CH1 и CL.

В предпочтительных воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению включают обмен VH и VL.

Другие подходы к стимулированию гетеродимеризации включают применение домена, сконструированного путем обмена цепей (SEED) (Davis JH *et al.* (2010) *Protein Eng Des Sel*, 23(4): 195–202).

Комбинация указанных выше стратегий может быть применена для максимального увеличения эффективности сборки при сведении к минимуму влияния на стабильность антитела.

Гетеродимеризация Fc

В некоторых воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению могут иметь гетеродимерный Fc, например

они могут содержать одну тяжелую цепь, имеющую происхождение от антитела к ВСМА, и одну тяжелую цепь, имеющую происхождение от антитела к CD3.

Мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению могут содержать гетеродимерный Fc, содержащий одну или более модификаций, которые способствуют ассоциации первого домена СН2 и/или СН3 со вторым доменом СН2 и/или СН3. В предпочтительных воплощениях указанные одна или более модификаций способствуют ассоциации первого домена СН3 со вторым доменом СН3, например путем обеспечения асимметричных модификаций домена СН3. Указанные одна или более модификаций могут включать модификации, выбранные из вставок, делеций, консервативных и неконсервативных замен и перегруппировок аминокислот, а также их комбинаций.

Как правило, первый домен СН3 и второй домен СН3 конструируют комплементарным образом, вследствие чего каждый домен СН3 (или содержащая его тяжелая цепь) больше не может гомодимеризоваться с самим собой, но вынужден гетеродимеризоваться с комплементарно сконструированным другим доменом СН3 (так что первый и второй домены СН3 гетеродимеризуются, и гомодимеры между двумя первыми или двумя вторыми доменами СН3 не образуются).

Мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению могут содержать Fc, имеющий одну или более модификаций «выступ во впадину», которые подробно описаны с несколькими примерами, например, в WO 96/027011; Ridgway JB *et al.* (1996) *Protein Eng.* 9(7) 617-621; Merchant AM *et al.* (1998) *Nat. Biotechnol.* 16(7): 677-681 и WO 98/050431.

В этом способе поверхности взаимодействия двух доменов СН3 изменяют для повышения гетеродимеризации обеих цепей Fc, содержащих эти два домена СН3. Один из двух доменов СН3 (двух цепей Fc) может являться «выступом», в то время как другой является «впадиной».

Соответственно, мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению содержат два домена СН3, где каждый из первого домена СН3 первой цепи Fc и второго домена СН3 второй цепи Fc соответствует поверхности контакта, которая включает исходную поверхность контакта между доменами СН3 антитела, где указанная поверхность контакта изменена, чтобы способствовать образованию антитела.

В некоторых воплощениях:

а) домен СНЗ одной цепи Fc изменен таким образом, что в пределах исходной поверхности контакта домена СНЗ одной цепи Fc, которая соответствует исходной поверхности контакта домена СНЗ другой цепи Fc, аминокислотный остаток заменен на аминокислотный остаток, имеющий больший объем боковой цепи, вследствие чего на поверхности контакта домена СНЗ одной цепи Fc образуется выступ, который можно расположить в полости на поверхности контакта домена СНЗ другой цепи Fc; и

б) домен СНЗ другой цепи Fc изменен таким образом, что в пределах исходной поверхности контакта домена СНЗ указанной другой цепи Fc, которая соответствует исходной поверхности контакта домена СНЗ первой цепи Fc, аминокислотный остаток заменен на аминокислотный остаток, имеющий меньший объем боковой цепи, вследствие чего на поверхности контакта домена СНЗ указанной другой цепи Fc образуется впадина, в которой можно расположить выступ на поверхности контакта домена СНЗ первой цепи Fc.

Предпочтительно указанный аминокислотный остаток, имеющий больший объем боковой цепи, выбран из группы, состоящей из аргинина (R), фенилаланина (F), тирозина (Y), триптофана (W).

В некоторых воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению содержат первый домен СНЗ, содержащий модификацию(и) в положениях T366, L368 и Y407, например T366S, L368A и Y407V (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU).

В некоторых воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению содержат второй домен СНЗ, содержащий модификацию в положении T366 («модификацию, соответствующую выступу»), например T366W (указан номер согласно нумерации в соответствии с индексом EU).

В особенно предпочтительных воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению содержат первый домен СНЗ, содержащий модификации T366S, L368A и Y407V или их консервативные замены, и второй домен СНЗ, содержащий модификацию T366W или ее консервативную замену (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU).

В одном из воплощений мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению содержат первый домен СНЗ, содержащий

модификацию, указанную в таблице 19, и второй домен СНЗ, содержащий модификации, указанные в таблице 19.

Таблица 19: Модификация «выступ во впадину»

Первый домен СНЗ		Второй домен СНЗ	
НУМЕРАЦИЯ КАВАТ	НУМЕРАЦИЯ СОГЛАСНО ИНДЕКСУ EU	НУМЕРАЦИЯ КАВАТ	НУМЕРАЦИЯ СОГЛАСНО ИНДЕКСУ EU
T389S L391A Y438V	T366S L368A Y407V	T389W	T366W

В качестве альтернативы, мультиспецифичные (например, биспецифичные) антители согласно настоящему изобретению могут содержать одну или более модификаций, указанных в источниках US 9562109 и US 9574010 (включенных в настоящий документ посредством ссылки).

В некоторых воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антители согласно настоящему изобретению содержат первый домен СНЗ, содержащий одну или более модификаций в положениях T350, L351, F405 и/или Y407 (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU), например T350V, L351Y, F405A и/или Y407V. В некоторых воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антители согласно настоящему изобретению содержат первый домен СНЗ, содержащий модификацию(и) в положениях T350, L351, F405 и Y407 (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU), например T350V, L351Y, F405A и Y407V.

В некоторых воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антители согласно настоящему изобретению содержат второй домен СНЗ, содержащий одну или более модификаций в положениях T350, T366, K392 и/или T394 (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU), например T350V, T366L, K392L и/или T394W. В некоторых воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антители согласно настоящему изобретению содержат второй домен СНЗ, содержащий модификацию(и) в положениях T350, T366, K392 и T394 (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU), например T350V, T366L, K392L и T394W.

В предпочтительных воплощениях мультиспецифичные (например,

биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению содержат первый домен СНЗ, содержащий одну или более модификаций в положениях Т350, L351, F405 и/или Y407 (например, Т350V, L351Y, F405A и/или Y407V), и второй домен СНЗ, содержащий одну или более модификаций в положениях Т350, Т366, К392 и/или Т394 (например, Т350V, Т366L, К392L и/или Т394W) (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU).

В особенно предпочтительных воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению содержат первый домен СНЗ, содержащий модификации в положениях Т350, L351, F405 и Y407 (например, Т350V, L351Y, F405A и Y407V), и второй домен СНЗ, содержащий модификации в положениях Т350, Т366, К392 и Т394 (например, Т350V, Т366L, К392L и Т394W) (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU).

Указанные одна или более модификаций могут изменять электростатические заряды, гидрофобные/гидрофильные взаимодействия и/или стерические влияния между боковыми цепями.

В особенно предпочтительных воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению содержат первый домен СНЗ, содержащий модификации Т350V, L351Y, F405A и Y407V или их консервативные замены, и второй домен СНЗ, содержащий модификации Т350V, Т366L, К392L и Т394W или их консервативные замены (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU).

В одном из воплощений мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению содержат первый домен СНЗ, содержащий модификации, указанные в таблице 20, и второй домен СНЗ, содержащий модификации, указанные в таблице 20.

Таблица 20: Модификации Fc для гетеродимеризации

Первый домен СНЗ		Второй домен СНЗ	
НУМЕРАЦИЯ КАВАТ	НУМЕРАЦИЯ СОГЛАСНО ИНДЕКСУ EU	НУМЕРАЦИЯ КАВАТ	НУМЕРАЦИЯ СОГЛАСНО ИНДЕКСУ EU
T371V	T350V	T371V	T350V
L372Y	L351Y	T389L	T366L
F436A	F405A	K420L	K392L
Y438V	Y407V	T422W	T394W

Другие методики модификации СНЗ для обеспечения гетеродимеризации рассматриваются в качестве альтернативных вариантов настоящего изобретения и описаны, например, в WO96/27011, WO98/050431, EP1870459, WO2007/110205, WO2007/147901, WO2009/089004, WO2010/129304, WO2011/90754, WO2011/143545, WO2012/058768, WO2013/157954, WO2013/157953 и WO2013/096291.

В некоторых воплощениях биспецифичное антитело согласно настоящему изобретению имеет изотип IgG2, и может быть применен подход к гетеродимеризации, описанный в WO 2010/129304.

Другие модификации Fc

В некоторых воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению могут содержать Fc, где оба домена СНЗ изменены путем введения цистеина (C) в качестве аминокислоты в соответствующих положениях каждого домена СНЗ, вследствие чего может образовываться дисульфидный мостик между обоими доменами СНЗ. Цистеины могут быть введены в положение 349 в одном из доменов СНЗ и положение 354 в другом домене СНЗ (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU).

Предпочтительно цистеин, введенный в положение 354, находится в первом домене СНЗ, а цистеин, введенный в положение 349, находится во втором домене СНЗ (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU).

Fc может содержать модификации, такие как D356E, L358M, N384S, K392N, V397M и V422I (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU). Предпочтительно оба домена СНЗ содержат D356E и L358M (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU).

Гетеродимеризация легкой и тяжелой цепей

В мультиспецифичных (например, биспецифичных) антителах согласно настоящему изобретению одна или более из тяжелых цепей и легких цепей иммуноглобулина могут содержать одну или более модификаций, например аминокислотные модификации, которые могут способствовать предпочтительному спариванию конкретной тяжелой цепи с конкретной легкой цепью, когда тяжелые цепи и легкие цепи совместно экспрессируются или совместно продуцируются. Такие модификации могут обеспечить значительно улучшенную эффективность получения/очистки без изменения биологических свойств, таких как связывание с ВСМА. В частности, путем введения одной или более модификаций, таких как обмен

аминокислот, можно значительно уменьшить неправильное спаривание легких цепей и образование побочных продуктов при производстве, и, следовательно, увеличить выход и облегчить очистку.

Указанные одна или более модификаций могут способствовать преимущественному спариванию гетеродимеров путем введения стерических затруднений, замен заряженных аминокислот с противоположными зарядами и/или посредством гидрофобных или гидрофильных взаимодействий. В предпочтительных воплощениях указанные одна или более модификаций способствуют преимущественному спариванию гетеродимеров путем введения стерических затруднений и замен(ы) заряженных аминокислот с противоположными зарядами.

Обмен аминокислот может представлять собой замены заряженных аминокислот с противоположными зарядами (например, на поверхности контакта CH1/CL), что уменьшает неправильное спаривание легких цепей, например образование побочных продуктов типа белков Бенс-Джонса.

В предпочтительных воплощениях одна или более модификаций, способствующих гетеродимеризации легкой и тяжелой цепей, представляют собой аминокислотные модификации в легкой и тяжелой цепях за пределами CDR.

Указанные одна или более модификаций могут присутствовать в антителе к ВСМА или его антигенсвязывающем фрагменте. В качестве альтернативы, указанные одна или более модификаций могут присутствовать в антителе к CD3 или его антигенсвязывающем фрагменте. В предпочтительных воплощениях указанные одна или более модификаций присутствуют в антителе к ВСМА или его антигенсвязывающем фрагменте.

В некоторых воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению содержат тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую домен CH1, имеющий аминокислотные модификации K147E/D и K213E/D (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU), и соответствующую легкую цепь иммуноглобулина, содержащую домен CL, имеющий аминокислотные модификации E123K/R/H и Q124K/R/H (указаны номера согласно нумерации Kabat). Предпочтительно домен CH1 содержит аминокислотные модификации K147E и K213E (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU) или их консервативные замены, а соответствующий домен CL содержит аминокислотные модификации E123R и Q124K или их консервативные замены

(указаны номера согласно нумерации Kabat). Такие мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела могут быть получены с высоким выходом и могут быть легко очищены.

В одном из воплощений аминокислотные модификации, описанные в таблице 21, могут присутствовать в антителе к ВСМА или в антителе к CD3.

В одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению являются двухвалентными и содержат одно антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент и одно антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент (формат «1+1»), где:

а) антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент (например, Fab ВСМА) содержит домен СН1, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 21, и соответствующий домен CL, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 21; или

б) антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент (например, Fab CD3) содержит домен СН1, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 21, и соответствующий домен CL, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 21.

В одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению являются трехвалентными и содержат два антитела к ВСМА или их антигенсвязывающих фрагмента и одно антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент (формат «2+1»), где:

а) одно или оба антитела к ВСМА или их антигенсвязывающие фрагменты (например, Fab ВСМА) содержат домен СН1, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 21, и соответствующий домен CL, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 21; или

б) антитело к CD3 (например, Fab CD3) содержит домен СН1, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 21, и соответствующий домен CL, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 21.

В частности, каждое антитело к ВСМА (например, Fab ВСМА) может содержать домен СН1, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 21, и соответствующий домен CL, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 21.

Таблица 21: Модификации легкой и тяжелой цепей для гетеродимеризации

Домен СН1		Домен СL	
НУМЕРАЦИЯ КАВАТ	НУМЕРАЦИЯ СОГЛАСНО ИНДЕКСУ EU	НУМЕРАЦИЯ КАВАТ	НУМЕРАЦИЯ СОГЛАСНО ИНДЕКСУ EU
K145E	K147E	E123R	E123R
K221E	K213E	Q124K	Q124K

В предпочтительном воплощении мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению содержат модификации, указанные в таблице 21, в комбинации с модификациями, указанными в таблице 19. Так, в одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению являются двухвалентными и содержат:

а) одно антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент и одно антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент (формат «1+1»), где (1) антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент (например, Fab ВСМА) содержит домен СН1, содержащий аминокислотные модификации K147E и K213E, и соответствующий домен СL, содержащий аминокислотные модификации E123R и Q124K (то есть модификации, указанные в таблице 21), или (2) антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент (например, Fab CD3) содержит домен СН1, содержащий аминокислотные модификации K147E и K213E, и соответствующий домен СL, содержащий аминокислотные модификации E123R и Q124K (то есть модификации, указанные в таблице 21); и

б) первый домен СН3, содержащий модификации T366S, L368A и Y407V, и второй домен СН3, содержащий модификацию T366W (то есть модификации, указанные в таблице 19).

В одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению являются трехвалентными и содержат:

а) два антитела к ВСМА или их антигенсвязывающие фрагменты и одно антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент (формат «2+1»), где (1) одно или оба антитела к ВСМА или их антигенсвязывающие фрагменты (например, Fab ВСМА) содержат домен СН1, содержащий аминокислотные модификации K147E и K213E, и соответствующий домен СL, содержащий аминокислотные модификации E123R и Q124K (то есть модификации, указанные в таблице 21), или (2) антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент (например, Fab CD3) содержит домен

CH1, содержащий аминокислотные модификации K147E и K213E, и соответствующий домен CL, содержащий аминокислотные модификации E123R и Q124K (то есть модификации, указанные в таблице 21); и

б) первый домен CH3, содержащий модификации T366S, L368A и Y407V, и второй домен CH3, содержащий модификацию T366W (то есть модификации, указанные в таблице 19).

В частности, каждое антитело к ВСМА (например, Fab ВСМА) может содержать домен CH1, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 21, и соответствующий домен CL, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 21. В предпочтительных воплощениях первая цепь Fc связана с N-конца Fc с C-концом первого антитела к ВСМА, а вторая цепь Fc связана с N-конца Fc с C-концом антитела к CD3.

В альтернативных воплощениях мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению содержат тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую домен CH1, имеющий аминокислотные модификации в одном или более из положений A141, L145, K147, Q175 (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU), и соответствующую легкую цепь иммуноглобулина, содержащую домен CL, имеющий аминокислотные модификации в одном или более из положений F116, Q124, L135, T178 (указаны номера согласно нумерации Kabat). Предпочтительно домен CH1 содержит аминокислотные модификации A141W, L145E, K147T, Q175E или их консервативные замены (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU), а соответствующий домен CL содержит аминокислотные модификации F116A, Q124R, L135V, T178R или их консервативные замены (указаны номера согласно нумерации Kabat).

В одном из воплощений мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению содержат домен CH1, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 22, и соответствующую легкую цепь иммуноглобулина, содержащую домен CL, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 22. В воплощениях, в которых мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению содержат антитело к ВСМА или его антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению и антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению, аминокислотные модификации, описанные в таблице 22,

могут находиться в антителе к ВСМА или в антителе к CD3.

В одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению являются двухвалентными и содержат одно антитело к ВСМА и одно антитело к CD3 (формат «1+1»), где:

(а) антитело к ВСМА (например, Fab ВСМА) содержит домен CH1, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 22, и соответствующий домен CL, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 22; или

(б) антитело к CD3 (например, Fab CD3) содержит домен CH1, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 22, и соответствующий домен CL, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 22.

В одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению являются трехвалентными и содержат два антитела к ВСМА и одно антитело к CD3 (формат «2+1»), где:

(а) одно или оба антитела к ВСМА (например, Fab ВСМА) содержат домен CH1, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 22, и соответствующий домен CL, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 22; или

(б) антитело к CD3 (например, Fab CD3) содержит домен CH1, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 22, и соответствующий домен CL, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 22.

В особенно предпочтительных воплощениях каждое антитело к ВСМА (например, Fab ВСМА) может содержать домен CH1, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 22, и соответствующий домен CL, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 22.

Таблица 22: Модификации легкой и тяжелой цепей для гетеродимеризации

Домен CH1		Домен CL	
НУМЕРАЦИЯ КАВАТ	НУМЕРАЦИЯ СОГЛАСНО ИНДЕКСУ EU	НУМЕРАЦИЯ КАВАТ	НУМЕРАЦИЯ СОГЛАСНО ИНДЕКСУ EU
A139W	A141W	F116A	F116A
L143E	L145E	Q124R	Q124R
K145T	K147T	L135V	L135V
Q179E	Q175E	T178R	T178R

В предпочтительном воплощении мультиспецифичные (например,

биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению содержат аминокислотные модификации, указанные в таблице 22, в комбинации с модификациями аминокислот, указанными в таблице 20. Так, в одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению являются двухвалентными и содержат:

(а) одно антитело к ВСМА и одно антитело к CD3 (формат «1+1»), где (1) антитело к ВСМА (например, Fab ВСМА) содержит домен CH1, содержащий аминокислотные модификации A141W, L145E, K147T и Q175E, и соответствующий домен CL, содержащий аминокислотные модификации F116A, Q124R, L135V и T178R (то есть модификации, указанные в таблице 22), или (2) антитело к CD3 (например, Fab CD3) содержит домен CH1, содержащий аминокислотные модификации A141W, L145E, K147T и Q175E, и соответствующий домен CL, содержащий аминокислотные модификации F116A, Q124R, L135V и T178R (то есть модификации, указанные в таблице 22); и

(б) первый домен CH3, содержащий модификации T350V, L351Y, F405A и Y407V, и второй домен CH3, содержащий модификации T350V, T366L, K392L и T394W (то есть модификации, указанные в таблице 20).

В предпочтительных воплощениях первая цепь Fc связана с N-конца Fc с C-концом антитела к ВСМА, а вторая цепь Fc связана с N-конца Fc с C-концом антитела к CD3.

В одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению являются трехвалентными и содержат:

(а) два антитела к ВСМА и одно антитело к CD3 (формат «2+1»), где (1) одно или оба антитела к ВСМА (например, Fab ВСМА) содержат домен CH1, содержащий аминокислотные модификации A141W, L145E, K147T и Q175E, и соответствующий домен CL, содержащий аминокислотные модификации F116A, Q124R, L135V и T178R (то есть модификации, указанные в таблице 22), или (2) антитело к CD3 (например, Fab CD3) содержит домен CH1, содержащий аминокислотные модификации A141W, L145E, K147T и Q175E, и соответствующий домен CL, содержащий аминокислотные модификации F116A, Q124R, L135V и T178R (то есть модификации, указанные в таблице 22); и

(б) первый домен CH3, содержащий модификации T350V, L351Y, F405A и Y407V, и второй домен CH3, содержащий модификации T350V, T366L, K392L и

T394W (то есть модификации, указанные в таблице 20).

В частности, каждое антитело к ВСМА (например, Fab ВСМА) содержит домен СН1, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 22, и соответствующий домен СL, имеющий аминокислотные модификации, указанные в таблице 22. В предпочтительных воплощениях первая цепь Fc связана с N-конца Fc с C-концом первого антитела к ВСМА, а вторая цепь Fc связана с N-конца Fc с C-концом антитела к CD3.

В качестве альтернативы, домен СН1 может содержать аминокислотную модификацию в положении Q175 (указан номер согласно нумерации в соответствии с индексом EU), а соответствующий домен СL может содержать аминокислотные модификации в одном или более из положений F116, Q124, L135, T178 (указаны номера согласно нумерации Kabat). Домен СН1 может содержать аминокислотную модификацию Q175K (указан номер согласно нумерации в соответствии с индексом EU) или ее консервативную замену, а соответствующий домен СL может содержать аминокислотные модификации F116A, Q124R, L135V, T178R (указаны номера согласно нумерации Kabat) или их консервативные замены.

В альтернативных воплощениях домен СН1 может содержать аминокислотную модификацию в положении Q175 (указан номер согласно нумерации в соответствии с индексом EU), а соответствующий домен СL может содержать аминокислотные модификации в одном или более из положений Q124, L135, Q160, T180 (указаны номера согласно нумерации Kabat). Домен СН1 может содержать аминокислотную модификацию Q175K (указан номер согласно нумерации в соответствии с индексом EU) или ее консервативную замену, а соответствующий домен СL может содержать аминокислотные модификации Q124E, L135W, Q160E и T180E или их консервативные замены (указаны номера согласно нумерации Kabat).

Мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению могут дополнительно содержать замену в положении 49 области VL аминокислоты, выбранной из группы аминокислот тирозина (Y), глутаминовой кислоты (E), серина (S) и гистидина (H), и/или замену в положении 74 области VL аминокислоты, которая представляет собой треонин (T) или аланин (A).

CrossMAb

Мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению могут включать технологию CrossMAb. Технология

CrossMAb основана на кроссовере (перекрестном связывании) доменов антител для обеспечения правильной ассоциации цепей. Ее применяют для облегчения образования мультиспецифичных антител. Существует три основных формата CrossMAb: (1) CrossMAb^{Fab}, в котором поменяны местами VH и VL, а также поменяны местами CH1 и CL; (2) CrossMAb^{VH-VL}, в котором поменяны местами VH и VL; и (3) CrossMAb^{CH1-CL}, в котором поменяны местами CH1 и CL (Klein C *et al.* (2016) *MAbs*. 8(6): 1010-1020).

Технология CrossMAb известна из уровня техники. Биспецифичные антитела, в которых переменные домены VL и VH или константные домены CL и CH1 заменены друг на друга, описаны в источниках WO2009080251 и WO2009080252.

В одном или более антителах или антигенсвязывающих фрагментах в составе мультиспецифичных (например, биспецифичных) антител согласно настоящему изобретению переменные домены VL и VH или константные домены CL и CH1 могут быть заменены друг на друга. В некоторых воплощениях антитела (например, биспецифичные) согласно настоящему изобретению могут включать обмен VH и VL, а также обмен CH1 и CL. Так, мультиспецифичные (например, биспецифичные) антитела согласно настоящему изобретению могут содержать кроссоверную легкую цепь или кроссоверную тяжелую цепь. В настоящем документе «кроссоверная легкая цепь» представляет собой легкую цепь, которая может содержать VH-CL, VL-CH1 или VH-CH1. В настоящем документе «кроссоверная тяжелая цепь» представляет собой тяжелую цепь, которая может содержать VL-CH1, VH-CL или VL-CL.

В некоторых аспектах предложено мультиспецифичное (например, биспецифичное) антитело, содержащее антитело к ВСМА согласно настоящему изобретению или его антигенсвязывающий фрагмент и антитело к CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, где указанное мультиспецифичное (например, биспецифичное) антитело содержит:

- а) легкую цепь и тяжелую цепь антитела, специфично связывающегося с CD3; и
- б) легкую цепь и тяжелую цепь антитела, специфично связывающегося с ВСМА,

где переменные домены VL и VH и/или константные домены CL и CH1 заменены друг на друга в (1) антителе к ВСМА и/или (2) антителе к CD3.

В некоторых воплощениях переменные домены VL и VH или константные домены CL и CH1 антитела к CD3 или его антигенсвязывающего фрагмента заменены

друг на друга. Более предпочтительно переменные домены VL и VH антитела к CD3 или его антигенсвязывающего фрагмента заменены друг на друга.

В воплощениях, в которых биспецифичные антитела в формате 1+1 имеют формат: Fab CD3 - Fab BCMA (то есть в случаях, когда Fc отсутствует); Fc - Fab CD3 - Fab BCMA; Fc- Fab BCMA - Fab CD3 или Fab BCMA - Fc - Fab CD3, биспецифичные антитела могут включать формат CrossMAb, например CrossMAb^{Fab}, CrossMAb^{VH-VL} или CrossMAb^{CH1-CL}. Fab BCMA может иметь формат CrossMAb, например CrossMAb^{Fab}, CrossMAb^{VH-VL} или CrossMAb^{CH1-CL}. В качестве альтернативы, Fab CD3 может иметь формат CrossMAb, например CrossMAb^{Fab}, CrossMAb^{VH-VL} или CrossMAb^{CH1-CL}. В предпочтительных воплощениях Fab CD3 биспецифичного антитела включает формат CrossMAb^{VH-VL}.

Особенно предпочтительно, чтобы биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению, имеющие формат 2+1, включали технологию CrossMAb. Так, в воплощениях, в которых трехвалентные биспецифичные антитела в формате 2+1 имеют формат: Fab CD3 - Fab BCMA - Fab BCMA; Fab BCMA - Fab CD3 - Fab BCMA (то есть в случаях, когда Fc отсутствует); Fab BCMA - Fc - Fab CD3 - Fab BCMA; Fab BCMA - Fc - Fab BCMA - Fab CD3 или Fab CD3 - Fc - Fab BCMA - Fab BCMA, биспецифичные антитела могут включать формат CrossMAb, например CrossMAb^{Fab}, CrossMAb^{VH-VL} или CrossMAb^{CH1-CL}. Fab BCMA может иметь формат CrossMAb, например CrossMAb^{Fab}, CrossMAb^{VH-VL} или CrossMAb^{CH1-CL}. В качестве альтернативы, Fab CD3 может иметь формат CrossMAb, например CrossMAb^{Fab}, CrossMAb^{VH-VL} или CrossMAb^{CH1-CL}. В предпочтительных воплощениях Fab CD3 биспецифичного антитела включает формат CrossMAb^{VH-VL}.

В некоторых воплощениях биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению, имеющие формат 1+1, не включают технологию CrossMAb, то есть ни антитело к BCMA, ни антитело к CD3 не имеют переменных доменов VL и VH или константных доменов CL и CH1, замененных друг на друга.

Примеры мультиспецифичных антител

Примеры воплощений мультиспецифичных антител представлены на Фигурах 1-3 и описаны ниже.

В одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению представляют собой двухвалентные биспецифичные антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, один Fab-фрагмент антитела к BCMA

и одну часть Fc в соответствии с форматом Fab BCMA - Fc - Fab CD3. Fab-фрагмент к BCMA содержит аминокислотные модификации, представленные в таблице 21. Fab-фрагмент к CD3 содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой кроссоверную легкую цепь, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой кроссоверную тяжелую цепь, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1. Это воплощение представлено на фигуре 1А.

В одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению представляют собой двухвалентные биспецифичные антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, один Fab-фрагмент антитела к BCMA и одну часть Fc в соответствии с форматом Fab BCMA - Fc - Fab CD3. Fab-фрагмент к CD3 содержит (а) легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой кроссоверную легкую цепь, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой кроссоверную тяжелую цепь, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1; а также (б) аминокислотные модификации, представленные в таблице 21. Это воплощение представлено на фигуре 1В.

В одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению представляют собой трехвалентные биспецифичные антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, два Fab-фрагмента антитела к BCMA и одну часть Fc в соответствии с форматом Fab BCMA - Fc - Fab CD3 - Fab BCMA. Каждый Fab-фрагмент к BCMA содержит аминокислотные модификации, представленные в таблице 21. Fab-фрагмент к CD3 содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой кроссоверную легкую цепь, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой кроссоверную тяжелую цепь, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1. Это воплощение представлено на фигуре 2А.

В одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению представляют собой трехвалентные биспецифичные антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, два Fab-фрагмента антитела к BCMA и одну часть Fc в соответствии с форматом Fab BCMA - Fc - Fab CD3 - Fab BCMA. Fab-фрагмент к CD3 содержит (а) легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой кроссоверную легкую цепь, которая содержит переменный домен

VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой кроссоверную тяжелую цепь, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1; а также (б) аминокислотные модификации, представленные в таблице 21. Это воплощение представлено на фигуре 2В.

В одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению представляют собой трехвалентные биспецифичные антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, два Fab-фрагмента антитела к ВСМА и одну часть Fc в соответствии с форматом Fab ВСМА - Fc - Fab ВСМА - Fab CD3. Каждый Fab-фрагмент к ВСМА содержит аминокислотные модификации, представленные в таблице 21. Fab-фрагмент к CD3 содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой кроссоверную легкую цепь, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой кроссоверную тяжелую цепь, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1. Это воплощение представлено на фигуре 2С.

В одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению представляют собой трехвалентные биспецифичные антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, два Fab-фрагмента антитела к ВСМА и одну часть Fc в соответствии с форматом Fab ВСМА - Fc - Fab ВСМА - Fab CD3. Fab-фрагмент к CD3 содержит (а) легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой кроссоверную легкую цепь, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой кроссоверную тяжелую цепь, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1; а также (б) аминокислотные модификации, представленные в таблице 21. Это воплощение представлено на фигуре 2D.

В одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению представляют собой двухвалентные биспецифичные антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, один Fab-фрагмент антитела к ВСМА и одну часть Fc в соответствии с форматом Fc - Fab CD3 - Fab ВСМА. Fab-фрагмент к ВСМА содержит аминокислотные модификации, представленные в таблице 21. Fab-фрагмент к CD3 содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой кроссоверную легкую цепь, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой кроссоверную тяжелую цепь, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1. Это

воплощение представлено на фигуре 3А.

В одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению представляют собой двухвалентные биспецифичные антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, один Fab-фрагмент антитела к ВСМА и одну часть Fc в соответствии с форматом Fc - Fab CD3 - Fab ВСМА. Fab-фрагмент к CD3 содержит (а) легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой кроссоверную легкую цепь, которая содержит вариабельный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой кроссоверную тяжелую цепь, которая содержит вариабельный домен VL и константный домен CH1; а также (б) аминокислотные модификации, представленные в таблице 21. Это воплощение представлено на фигуре 3В.

В одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению представляют собой двухвалентные биспецифичные антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, один Fab-фрагмент антитела к ВСМА и одну часть Fc в соответствии с форматом Fc - Fab ВСМА - Fab CD3. Fab-фрагмент к ВСМА содержит аминокислотные модификации, представленные в таблице 21. Fab-фрагмент к CD3 содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой кроссоверную легкую цепь, которая содержит вариабельный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой кроссоверную тяжелую цепь, которая содержит вариабельный домен VL и константный домен CH1. Это воплощение представлено на фигуре 3С.

В одном из воплощений биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению представляют собой двухвалентные биспецифичные антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, один Fab-фрагмент антитела к ВСМА и одну часть Fc в соответствии с форматом Fc - Fab ВСМА - Fab CD3. Fab-фрагмент к CD3 содержит (а) легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой кроссоверную легкую цепь, которая содержит вариабельный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой кроссоверную тяжелую цепь, которая содержит вариабельный домен VL и константный домен CH1; а также (б) аминокислотные модификации, представленные в таблице 21. Это воплощение представлено на фигуре 3D.

В одном из воплощений антитела, представленные на фигуре 2, дополнительно содержат модификации, приведенные в таблице 19.

В одном из аспектов биспецифичные антитела согласно настоящему изобретению представляют собой трехвалентные биспецифичные антитела, содержащие один Fab-фрагмент антитела к CD3, два Fab-фрагмента антитела к ВСМА и одну часть Fc в соответствии с форматом Fab ВСМА - Fc - Fab CD3 - Fab ВСМА. Fab-фрагмент к CD3 содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где легкая цепь представляет собой кроссоверную легкую цепь, которая содержит переменный домен VH и константный домен CL, и где тяжелая цепь представляет собой кроссоверную тяжелую цепь, которая содержит переменный домен VL и константный домен CH1. Каждый Fab-фрагмент к ВСМА содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где тяжелая цепь содержит домен CH1, который содержит аминокислотные модификации K147E и K213E (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU), и где легкая цепь содержит соответствующий домен CL, который содержит аминокислотные модификации E123R и Q124K (указаны номера согласно нумерации Kabat) (то есть модификации, указанные в таблице 21). Часть Fc содержит первую цепь Fc и вторую цепь Fc, где первая цепь Fc содержит первый константный домен CH2 и первый константный домен CH3, а вторая цепь Fc содержит второй константный домен CH2 и второй константный домен CH3. Первая цепь Fc связана с N-конца Fc с C-концом первого Fab к ВСМА, а вторая цепь Fc связана с N-конца Fc с C-концом Fab к CD3. Первый домен CH3 содержит модификации T366S, L368A и Y407V («модификации, соответствующие впадине»), а второй домен CH3 содержит модификацию T366W («модификацию, соответствующую выступу») (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU) (то есть модификации, указанные в таблице 19). Кроме того, обе цепи Fc дополнительно содержат модификации L234A, L235A и P329G, а также возможно D356E и L358M (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU). Возможно первый домен CH3 дополнительно содержит аминокислотную модификацию S354C, а второй домен CH3 дополнительно содержит аминокислотную модификацию Y349C (указаны номера согласно нумерации в соответствии с индексом EU), вследствие чего образуется дисульфидный мостик между обоими доменами CH3.

Фармацевтические композиции

Ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) для применения согласно настоящему изобретению может быть введен пациенту в виде фармацевтической композиции. Соответственно, в настоящем изобретении также предложена

фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективную дозу ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) согласно настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый эксципиент.

Термин «фармацевтически приемлемый» в настоящем документе означает одобренный регулирующим органом федерального или регионального правительства или включенный в Фармакопею США, Европейскую фармакопею или другую общепризнанную фармакопею для применения у животных, и, более конкретно, у людей.

Примеры подходящих эксципиентов включают одно или более из воды, солевого раствора, забуференного фосфатом физиологического раствора, декстрозы, глицерина, этанола и тому подобного, а также любую их комбинацию. Во многих случаях будет предпочтительным включение в композицию изотонических агентов, таких как сахара, многоатомные спирты или хлорид натрия. В частности, соответствующие примеры подходящих эксципиентов включают: (1) забуференный фосфатом физиологический раствор Дульбекко, pH приблизительно 7,4, содержащий или не содержащий от приблизительно 1 мг/мл до 25 мг/мл сывороточного альбумина человека, (2) 0,9% солевой раствор (0,9% масс./об. хлорида натрия (NaCl)) и (3) 5% (масс./об.) декстрозу; а также могут содержать антиоксидант, такой как триптамин, и стабилизирующий агент, такой как Tween 20®.

Специалисту в данной области техники будет понятно, что подходящий выбор эксципиента или эксципиентов для применения с терапевтически эффективной дозой ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) согласно настоящему изобретению будет зависеть от желаемых свойств фармацевтической композиции.

Фармацевтические композиции или терапевтически эффективная доза ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) согласно настоящему изобретению могут быть введены пациенту посредством любого подходящего системного или местного пути введения. Например, введение может быть пероральным, трансбуккальным, сублингвальным, офтальмологическим, интраназальным, интратрахеальным, легочным, местным, трансдермальным, введением в мочеполовой тракт, ректальным, подкожным, внутривенным, внутриартериальным, внутрибрюшинным, внутримышечным, внутрочерепным, интратекальным, эпидуральным, внутрижелудочковым или внутриопухолевым. В предпочтительных воплощениях фармацевтические композиции или ингибитор цитокинов (например,

ингибитор IL-6) вводят перорально.

Ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) может быть введен в фиксированной дозе. В воплощениях, в которых ингибитор цитокинов представляет собой ибердомид, указанный ингибитор цитокинов вводят в фиксированной дозе, составляющей от приблизительно 0,03 мг до приблизительно 6 мг, от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 4 мг, от приблизительно 0,3 мг до приблизительно 2 мг или от приблизительно 1,0 мг до приблизительно 1,6 мг, например приблизительно 1,0 мг, приблизительно 1,3 мг или приблизительно 1,6 мг. В некоторых воплощениях соединение 1 вводят в фиксированной дозе, составляющей от приблизительно 0,05 мг до приблизительно 5 мг, от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 2 мг, от приблизительно 0,2 мг до приблизительно 1,6 мг или от приблизительно 0,3 мг до приблизительно 1,0 мг, например приблизительно 0,3 мг, приблизительно 0,6 мг или приблизительно 1,0 мг.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут быть приготовлены для введения с помощью любых подходящих средств, например посредством эпидермальных или трансдермальных пластырей, мазей, лосьонов, кремов или гелей; распылителей, испарителей или ингаляторов; путем инъекции или инфузии; или в форме капсул, таблеток, жидких растворов или суспензий в воде или неводных средах, капель, суппозиториях, клизм, спреев или порошков. Наиболее подходящий путь введения в каждом конкретном случае будет зависеть от физического и психического состояния пациента, природы и тяжести заболевания и желаемых свойств состава.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен набор, содержащий:

а) нацеленный на ВСМА терапевтический агент (например, мультиспецифичное антитело, которое специфично связывается с ВСМА и антигеном, который способствует активации одной или более Т-клеток, например 42-TCVsv) и

б) фармацевтическую композицию, содержащую соединение 1, где соединение 1 представляет собой 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

Комбинированные терапии

В некоторых воплощениях лечение включает введение пациенту терапевтически

эффективной дозы ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) согласно настоящему изобретению в виде комбинированной терапии, где комбинированная терапия включает введение терапевтически эффективной дозы ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6) согласно настоящему изобретению и одного или более чем одного дополнительного терапевтического агента. Предполагается, что термин «комбинированная терапия» охватывает введение выбранных терапевтических агентов одному пациенту, и подразумевается, что она включает лечение, при котором указанные агенты вводят одним и тем же путем введения или различными путями введения, или в одно и то же время или в разное время.

В некоторых воплощениях один или более чем один дополнительный терапевтический агент выбран из группы, состоящей из:

а) стероида, например кортикостероида;

б) антагониста цитокинового рецептора или цитокина, выбранного из GM-CSF, IL-10, IL-10R, IL-6, рецептора IL-6 (IL-6R), IFN γ , IFNGR, IL-2, IL-2R/CD25, MCP-1, CCR2, CCR4, MIP1 β , CCR5, TNF α , TNFR1, IL-1, IL-1R1 и IL-1R α /IL-1 β , где указанный антагонист выбран из антитела или антигенсвязывающего фрагмента, малой молекулы, белка или пептида и нуклеиновой кислоты.

в) молекулы, которая уменьшает популяцию регуляторных Т-клеток (Treg), например циклофосфида;

г) жаропонижающего средства, анальгетиков и/или антибиотиков; и/или

д) средства для предупреждения припадков, например леветирацетама.

В настоящем документе термин «кортикостероид» означает любой природный или синтетический стероидный гормон, который может иметь происхождение от холестерина и характеризуется гидрированной кольцевой системой циклолентанпергидрофенантрена. Встречающиеся в природе кортикостероиды обычно продуцируются корой надпочечников. Синтетические кортикостероиды могут быть галогенированы. Функциональные группы, необходимые для активности, включают двойную связь в положении Δ^4 , кетогруппу при C3 и кетогруппу при C20. Кортикостероиды могут обладать глюкокортикоидной и/или минералокортикоидной активностью. Примеры типичных кортикостероидов включают преднизолон, метилпреднизолон, преднизон, триамцинолон, бетаметазон, будесонид и дексаметазон. В некоторых воплощениях кортикостероид представляет собой дексаметазон или метилпреднизолон.

Антагонист цитокинового рецептора или цитокина может быть выбран из тоцилизумаба, силтуксимаба, анакинры, клазакизумаба, сарилумаба, олокизумаба, элсалимомаба, ALD518/BMS-945429, сирукумаба (CNTO 136), CPSI-2634, ARGX-109, лензилумаба, FE301 и FM101. В некоторых воплощениях указанный антагонист представляет собой антитело к IL-6R, например тоцилизумаб. В некоторых воплощениях указанный антагонист представляет собой антитело к IL-6, например силтуксимаб. В некоторых воплощениях указанный антагонист представляет собой антагонист IL-1R1, например анакинру.

В предпочтительных воплощениях один или более чем один дополнительный терапевтический агент включает тоцилизумаб. В альтернативных предпочтительных воплощениях один или более чем один дополнительный терапевтический агент включает анакинру. В некоторых воплощениях один или более чем один дополнительный терапевтический агент включает тоцилизумаб и анакинру.

В некоторых воплощениях настоящего изобретения предложен способ лечения или предупреждения синдрома высвобождения цитокинов (CRS) у субъекта, включающий введение субъекту помалидомида и тоцилизумаба и/или анакинры.

В некоторых воплощениях настоящего изобретения предложен способ лечения или предупреждения синдрома высвобождения цитокинов (CRS) у субъекта, включающий введение субъекту ибердомида и тоцилизумаба и/или анакинры.

В некоторых воплощениях настоящего изобретения предложен способ лечения или предупреждения синдрома высвобождения цитокинов (CRS) у субъекта, включающий введение субъекту леналидомида и тоцилизумаба и/или анакинры.

В некоторых воплощениях настоящего изобретения предложен способ лечения или предупреждения синдрома высвобождения цитокинов (CRS) у субъекта, включающий введение субъекту авадомида и тоцилизумаба и/или анакинры.

В некоторых воплощениях настоящего изобретения предложен способ лечения или предупреждения синдрома высвобождения цитокинов (CRS) у субъекта, включающий введение терапевтически эффективной дозы соединения 1 и тоцилизумаба и/или анакинры, и где соединение 1 представляет собой 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

В предпочтительных воплощениях один или более чем один дополнительный

терапевтический агент включает дексаметазон. Ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) согласно настоящему изобретению может быть введен последовательно (до или после) или одновременно с дексаметазоном. В некоторых воплощениях в случае возникновения нежелательного явления (например, CRS или нейтропении) лечение может дополнительно включать введение пациенту дексаметазона.

Дексаметазон может быть введен в количестве, достаточном для ослабления секреции цитокинов (например, IL-6), индуцированной рекрутером Т-клеток, описанным в настоящем документе. В некоторых воплощениях дексаметазон вводят в дозе от приблизительно 20 мг до приблизительно 40 мг еженедельно. Например, доза дексаметазона приблизительно 40 мг/неделю может быть введена субъектам не пожилого возраста, например до 75 лет включительно, тогда как доза дексаметазона приблизительно 20 мг/неделю может быть введена субъектам пожилого возраста, например старше 75 лет или субъектам с недостаточной массой тела. Предпочтительно дексаметазон вводят перорально или внутривенно. В некоторых воплощениях дексаметазон вводят перорально с ингибитором цитокинов (например, ингибитором IL-6). В некоторых воплощениях дексаметазон вводят внутривенно в сутки, в которые осуществляют введение рекрутера Т-клеток (например, нацеленного на ВСМА терапевтического агента). Дексаметазон может быть введен в течение по меньшей мере одного месяца после введения рекрутера Т-клеток, например в течение двух или предпочтительно трех месяцев после введения рекрутера Т-клеток.

В одном из аспектов настоящего изобретения предложен способ лечения или предупреждения синдрома высвобождения цитокинов (CRS) у субъекта, включающий введение субъекту ибердомида и дексаметазона.

В одном из аспектов настоящего изобретения предложен способ лечения или предупреждения синдрома высвобождения цитокинов (CRS) у субъекта, включающий введение субъекту соединения 1 и дексаметазона.

В одном из аспектов настоящего изобретения предложен способ лечения или предупреждения синдрома высвобождения цитокинов (CRS) у субъекта, включающий введение субъекту помалидомида и дексаметазона.

В одном из аспектов настоящего изобретения предложен способ лечения или предупреждения синдрома высвобождения цитокинов (CRS) у субъекта, включающий введение субъекту леналидомида и дексаметазона.

В одном из аспектов настоящего изобретения предложен способ лечения или предупреждения синдрома высвобождения цитокинов (CRS) у субъекта, включающий введение субъекту талидомида и дексаметазона.

Приведенные выше воплощения следует рассматривать в качестве иллюстративных примеров. Предусмотрены дополнительные воплощения. Следует понимать, что любой признак, описанный в отношении любого из воплощений, может быть применен отдельно или в комбинации с другими описанными признаками, а также может быть применен в комбинации с одним или более признаками любого другого из воплощений или любой комбинации любых других воплощений. Кроме того, эквиваленты и модификации, не описанные выше, также могут быть применены без отступления от объема настоящего изобретения, который определен в прилагаемой формуле изобретения.

В контексте настоящего изобретения специалисту в данной области техники будут очевидны другие примеры и варианты описанных в настоящем документе антител и способов. Другие примеры и варианты входят в объем настоящего изобретения, определенный в прилагаемой формуле изобретения.

Все документы, упомянутые в настоящем документе, полностью включены в настоящий документ посредством ссылки, включая все данные, таблицы, чертежи и текст, представленные в упомянутых документах.

Таблица 23А: Последовательности антител

SEQ ID NO:	Название (названия)	Аминокислотные последовательности
1	CDR1H CD3	TYAMN
2	CDR2H CD3	RIRSKYNNYATYYADSVKG
3	CDR3H CD3	HGNFGNSYVSWFAY
4	CDR1L CD3	GSSTGAVTTSNYAN
5	CDR2L CD3	GTNKRAP
6	CDR3L CD3	ALWYSNLWV
7	VH CD3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNW VRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTI SRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSY VSWFAYWGQGTLLTVSS

8	VL CD3	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANW VQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL
9	VH 83A10	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWV RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFDYWGQG TLVTVSS
10	VH Mab21 VH Mab22 VH Mab42	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMGW VRQAPGKGLEWVSAISGPGSSTYYADSVKGRFTISRDN NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFDYWGQG GTLVTVSS
11	VL 83A10	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGYPDFTFGQGTKVEIK
12	VL Mab21 VL Mab27 VL Mab33 VL Mab39	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSEYYLAWYQ QKPGQAPRLLEHA STRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGYPDFTFGQGTKVEIK
13	VL Mab22	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLI SGAGSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGYPDFTFGQGTKVEIK
14	VL Mab42	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSDEYLSWYQ QKPGQAPRLLIHSA STRATGIPDRFSGSGSGTDFTLAIS RLEPEDFAVYYCQQYGYPDFTFGQGTKVEIK
15	CDR1H 83A10	SYAMS
16	CDR2H 83A10	AISGSGGSTYYADSVKG
17	CDR3H 83A10 CDR3H Mab21 CDR3H Mab22 CDR3H Mab42 CDR3H Mab27 CDR3H Mab33	VLGWFDY

	CDR3H Mab39	
18	CDR1L 83A10	RASQSVSSSYLA
19	CDR2L 83A10	GASSRAT
20	CDR3L 83A10 CDR3L Mab21 CDR3L Mab22 CDR3L Mab42	QQYGYPPDFT
21	CDR1H Mab21 CDR1H Mab22 CDR1H Mab42	DNAMG
22	CDR2H Mab21 CDR2H Mab22 CDR2H Mab42	AISGPGSSTYYADSVKG
23	CDR1L Mab21	RASQSVSEYYLAW
24	CDR2L Mab21	EHASTRAT
25	CDR1L Mab22	RASQSVSSYYLA
26	CDR2L Mab22	GAGSRAT
27	CDR1L Mab42	RASQSVSDEYLS
28	CDR2L Mab42	SASTRAT
29	CDR1H Mab27	SAPMG
30	CDR2H Mab27	AISYIGHTYYADSVKG
31	CDR1L Mab27 CDR1L Mab33 CDR1L Mab39	RASQSVSEYYLA
32	CDR2L Mab27 CDR2L Mab33 CDR2L Mab39	HASTRAT
33	CDR3L Mab27 CDR3L Mab33 CDR3L Mab39	QQYGYPPDFT
34	CDR1H Mab33	TNAMG
35	CDR2H Mab33	AINRFGGSTYYADSVKG

36	CDR1H Mab39	QNAMG
37	CDR2H Mab39	AISPTGFSTYYADSVKG
38	VH Mab27	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSAPMGWV RQAPGKGLEWVSAISYIGHTYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFDYWGQG TLVTVSS
39	VH Mab33	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYTNAMGW VRQAPGKGLEWVSAINRFGGSTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFDYWGQ GTLVTVSS
40	VH Mab39	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTQNAMGW VRQAPGKGLEWVSAISPTGFSTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFDYWGQ GTLVTVSS
41	CH1 BCMA 83A10 CH1 BCMA Mab21 CH1 BCMA Mab22 CH1 BCMA Mab42	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSC
42	CL BCMA 83A10 CL BCMA Mab21 CL BCMA Mab22 CL BCMA Mab42	RTVAAPS VFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLS KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
43	CH1 CD3	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSC
44	CL CD3	ASVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLS KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

45	Содержащая выступ HC 83A10	EVQ LLES G GGLV QPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWV RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVED YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDG GGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA VTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARF SGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVF GGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
46	Содержащая впадину HC 83A10	EVQ LLES G GGLV QPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWV RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVED YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCA VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK

47	LC 83A10	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGYPPDFTFGQGGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
48	LC CD3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNW VRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTI SRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSY VSWFAYWGQGTLLTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDYSLSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
49	Содержащая выступ HC Mab21	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMGW VRQAPGKGLEWVSAISGPSSTYYADSVKGRFTISR NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFDYWGG GTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVE DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCD GGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTG AVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWV FGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK

50	Содержащая впадину HC Mab21	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMGW VRQAPGKGLEWVSAISGPSSTYYADSVKGRFTISR NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVE DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCD KTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSGF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
51	LC Mab21	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSEYYLAWYQ QKPGQAPRLLEHASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGYPPDFTFGQGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
52	Содержащая выступ HC Mab22	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMGW VRQAPGKGLEWVSAISGPSSTYYADSVKGRFTISR NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVE DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCD GGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTG AVTTSNYANWVQEKPQAFRGLIGGTNKRAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWV FGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR

		TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
53	Содержащая впадину HC Mab22	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMGW VRQAPGKGLEWVSAISGPSSTYYADSVKGRFTISR NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVE DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCD KTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
54	LC Mab22	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYYLAWYQ QKPGQAPRLISGAGSRATGIPDRFSGSGSGTDFLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGYPDFTFGQGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
55	Содержащая выступ HC Mab42	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMGW VRQAPGKGLEWVSAISGPSSTYYADSVKGRFTISR NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVE DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCD GGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTG

		AVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWV FGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
56	Содержащая впадину HC Mab42	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMGW VRQAPGKGLEWVSAISGPSSTYYADSVKGRFTISR NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLGWFQDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVE DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCD KTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
57	LC Mab42	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSDEYLSWYQ QKPGQAPRLLIHSASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLAIS RLEPEDFAVYYCQQYGYPDFTFGQGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
58	CDR1L 83A10	RASQSVSSSYLAW

	(альтернатива SEQ ID NO: 18)	
59	CDR2L 83A10 (альтернатива SEQ ID NO: 19)	YGASSRAT
60	CDR1L Mab22 (альтернатива SEQ ID NO: 25)	RASQSVSSYYLAW
61	CDR2L Mab22 (альтернатива SEQ ID NO: 26)	SGAGSRAT
62	CDR1L Mab42 (альтернатива SEQ ID NO: 27)	RASQSVSDEYLSW
63	CDR2L Mab42 (альтернатива SEQ ID NO: 28)	HSASTRAT
64	CDR1H C11D5.3	DYSIN
65	CDR2H C11D5.3	WINTETREPAYAYDFRG
66	CDR3H C11D5.3	DYSYAMDY
67	CDR1 L1 C11D5.3	RASESVSVIGAHLIH
68	CDR2 L1 C11D5.3	LASNLET
69	CDR3 L1 C11D5.3	LQSRIFPRT
70	CDR1 L2 C11D5.3	RASESVDNYGFSFMH
71	CDR2 L2	RASNLES

	C11D5.3	
72	CDR3 L2 C11D5.3	QQSNKDPRT
73	CDR1 L3 C11D5.3	RASESVTILGSHLIH
74	CDR2 L3 C11D5.3	LASNVQT
75	CDR3 L3 C11D5.3	LQSRTIPRT
76	VH C11D5.3	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVK RAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSLET SASTAYLQINNPKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQG TSVTVSS
77	VL1 C11D5.3	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIHW YQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTL TIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGGTKLEIK
78	VL2 C11D5.3	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYGFSFMH WYQQKPGQPPLLIYRASNLESGIPARFSGSGSRTDFA LTINPVETDDVATYYCQQSNKDPRTFGGGGTKLEIK
79	VL3 C11D5.3	DIVLTQSPASLAMSLGKRATISCRASESVSVIGAHLIH WYQQKPGQPPLLIYLASNLETGVPARFSGSGSGTDF TLTIDPVEEDDVAIYSCLQSRIFPRTFGGGGTKLEIK
80	VH A7D12.2	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYTFTNFGMNW VKQAPGKGFKWMWINTYTGESYFADDFKGRFAFS VETSATTAYLQINNPKTEDTATYFCARGEIYYGYDGG FAYWGQGLTVTVSA
81	VL A7D12.2	DVVMQTQSHRFMSTSVGDRVSITCRASQDVNTAVSWY QQKPGQSPKLLIFSASYRYTGVPDRFTGSGSGADFTLT ISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPWTFGGGTKLDIK
82	VH C12A32.2	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFRHYSMNWW KQAPGKGLKWMGRINTESGVPIYADDFKGRFAFSVE TSASTAYLVINNPKDEDTASYFCSNDYLYSLDFWGQG

		TALTVSS
83	VL C12A32.2	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYW YQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTL TIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIK
84	VH C13F12.1	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTHYSMNWV KQAPGKGLKWMGRINTETGEPLYADDFKGRFAFSLE TSASTAYLVINNKNEDTATFFCSNDYLYSCDYWGQ GTTLTVSS
85	VL C13F12.1	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYW YQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTL TIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIK

Примечания: SEQ ID NO:20 и SEQ ID NO:33 идентичны; SEQ ID NO: 83 и SEQ ID NO: 85 идентичны.

Таблица 23В: Последовательности, нацеленные на BCMA (краткий перечень)

	SEQ ID NO:							
Антитело к CD3	VH	VL	CDR1H	CDR2H	CDR3H	CDR1L	CDR2L	CDR3L
	7	8	1	2	3	4	5	6
Антитело к BCMA	VH	VL	CDR1H	CDR2H	CDR3H	CDR1L	CDR2L	CDR3L
83A10	9	11	15	16	17	18	19	20
Mab21	10	12	21	22	17	23	24	20
Mab22	10	13	21	22	17	25	26	20
Mab42	10	14	21	22	17	27	28	20
Mab27	38	12	29	30	17	31	32	33
Mab33	39	12	34	35	17	31	32	33
Mab39	40	12	36	37	17	31	32	33
C11D5.3 A	76	77	64	65	66	67	68	69
C11D5.3 B	76	78	64	65	66	70	71	72
C11D5.3 C	76	79	64	65	66	73	74	75

Таблица 24А: Дополнительные конструкции

	SEQ ID NO:			
Фрагмент/конструкция	83A10	Mab21	Mab22	Mab42
CH1 BCMA	41	41	41	41
CL BCMA	42	42	42	42
CH1 CD3	43	43	43	43
CL CD3	44	44	44	44

Таблица 24В: Дополнительные конструкции

	SEQ ID NO:			
Конструкция	83A10	Mab21	Mab22	Mab42
BCMA VH_CH1cv x CD3 VL_CH1 Fc knob LALA PG (содержащая выступ HC)	45	49	52	55
BCMAcv HC hole LALA PG (содержащая впадину HC)	46	50	53	56
LC hum IgG1 BCMAcv (LC BCMA)	47	51	54	57
VH_CL CD3 (LC CD3)	48	48	48	48

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Обработка леналидомидом, помалидомидом, ибердомидом или соединением 1 снижает секрецию IL-6 выделенными моноцитами

Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) выделяли из крови четырех здоровых людей-доноров путем деления клеток с помощью фиколла, и затем из этих PBMC выделяли моноциты методом негативной селекции. Обогащенную фракцию моноцитов высевали в концентрации 1×10^6 клеток/мл и инкубировали в течение ночи (приблизительно 17 часов) с 1000 нМ леналидомида, 100 нМ помалидомида, 10 нМ ибердомида или 1 нМ соединения 1 или контрольным DMSO (0,001%) перед стимуляцией различными концентрациями LPS для обеспечения секреции IL-6.

Через 4 часа культуру клеток центрифугировали при 300 g в течение 5 минут для удаления клеток, и супернатант подвергали анализу Meso Scale Discovery (MSD) для количественного определения секретированного IL-6.

Полученные данные показывают, что индуцированная LPS секреция IL-6

моноцитами снижается при предварительной обработке леналидомидом, помалидомидом, ибердомидом или соединением 1 (см. ФИГ. 4).

Пример 2: Секреция IL-6 моноцитами снижается под действием соединения 1 в определенном диапазоне концентраций

Моноциты от двух здоровых людей-доноров выделяли, как указано в примере 1. В данном случае выделенные моноциты (1×10^6 клеток/мл) обрабатывали различными концентрациями соединения 1 (1 нМ, 10 нМ или 100 нМ) или контрольным DMSO (0,001%) в течение ночи (приблизительно 17 часов) перед стимуляцией различными концентрациями LPS.

Через 4 часа добавляли 5 мкг/мл нигерицина на 1 час для активации инфламмосомы, собирали супернатанты и проводили анализ MSD для количественного определения секретированного IL-6.

Полученные данные показывают, что индуцированная LPS секреция IL-6 моноцитами снижается при предварительной обработке 1 нМ, 10 нМ или 100 нМ соединения 1 (см. ФИГ. 5).

Пример 3: Обработка леналидомидом, помалидомидом, ибердомидом или соединением 1 снижает секрецию IL-6 выделенными макрофагами

Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) выделяли из крови двух здоровых людей-доноров путем разделения клеток с помощью фиколла, и затем из этих PBMC выделяли моноциты методом позитивной селекции с использованием магнитных микрочастиц MACS C14. Выделенные моноциты высевали в концентрации 3×10^5 клеток/мл и инкубировали в течение 4 суток в среде RPMI 1640, содержащей M-CSF (50 нг/мл) (50% среды заменяли через 2 суток) с получением «наивных» макрофагов (M0). В конце суток 4 макрофаги инкубировали в течение ночи (приблизительно 17 часов) с 1000 нМ леналидомида, 100 нМ помалидомида, 10 нМ ибердомида или 1 нМ соединения 1 или контрольным DMSO (0,001%) перед стимуляцией различными концентрациями LPS для обеспечения секреции IL-6.

Через 6 часов культуру клеток центрифугировали при 300 g в течение 5 минут для удаления клеток, и супернатант подвергали анализу MSD для количественного определения секретированного IL-6.

Полученные данные показывают, что индуцированная LPS секреция IL-6 макрофагами снижается при предварительной обработке леналидомидом, помалидомидом, ибердомидом или соединением 1 (см. ФИГ. 6).

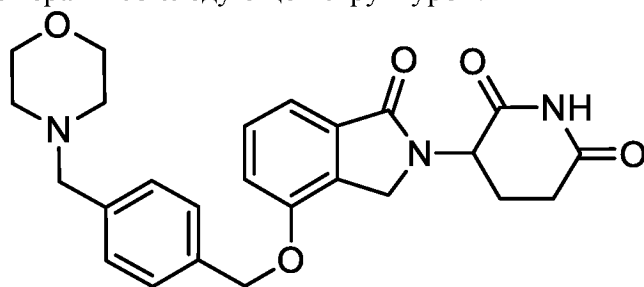
Пример 4: Обработка некоторыми IMiD-соединениями снижает индуцированную LPS секрецию провоспалительных цитокинов.

Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) выделяли из крови здоровых людей-доноров путем деления клеток с помощью фиколла. Полученные PBMC высевали в концентрации 2×10^6 клеток/мл и обрабатывали различными концентрациями IMiD-соединений или контрольным DMSO (0,25%) в течение 1 часа при 37°C перед стимуляцией 1 нг/мл LPS в течение 18 часов при 37°C.

Образцы супернатантов подвергали мультиплексному анализу цитокинов (прибор Luminex IS100) для количественного определения уровней секретированных IL-6, IL-8, IL-1-бета (IL-1 β), GM-CSF, MDC, MIP-1-альфа (MIP-1 α), MIP-1-бета (MIP-1 β) и TNF-альфа (TNF- α) (см., например, ФИГ. 7А-С).

Рассчитывали значения IC₅₀ (концентрации, обеспечивающей полумаксимальное ингибирование) для определения эффективности каждого IMiD-соединения в отношении ингибирования стимулированной LPS секреции каждого цитокина (см. таблицу 25).

Данные показывают, что индуцированная LPS секреция PBMC провоспалительных цитокинов ингибируется при предварительной обработке помалидомидом, леналидомидом, авадомидом, ибердомидом, соединением А или соединением В. Соединения А и В представляют собой IMiD-соединения и являются региоизомерами со следующей структурой:



Талидомид оказывал минимальный эффект или не оказывал эффекта в отношении секреции IL-6, IL-8, IL-1 β , GM-CSF, MDC, MIP-1 α , MIP-1 β и TNF- α . Напротив, производные талидомида ингибировали секрецию IL-6, IL-8, IL-1 β , GM-CSF, MDC, MIP-1 α и TNF- α с различной эффективностью.

Таблица 25: Краткая характеристика профиля ингибирования цитокинов для IMiD-соединений

IMiD	IC ₅₀ (μM) продукции цитокинов в PBMC, стимулированных LPS
------	---

	IL-6	IL-8	IL-1 β	GM-CSF	MDC	MIP-1 α	MIP-1 β	TNF- α
Талидомид	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Помалидомид	0,059	2,9	0,047	1,5	0,031	0,23	>10	0,033
Леналидомид	1,2	>10	0,39	>10	0,19	>10	>10	0,22
Авадомид	0,060	>10	0,054	0,95	0,062	0,30	>10	0,034
Ибердомид	0,0038	>10	0,00046	0,0022	0,0021	0,028	>10	0,00059
Соединение А	0,01	>10	0,00085	0,0092	0,0026	0,19	>10	0,0018
Соединение В	0,083	>10	0,0062	0,039	0,012	0,45	>10	0,0095

Пример 5: Опосредованное IMiD/CELMoD подавление индуцированной LPS секреции IL-6, TNF-альфа и IL1-бета PBMC.

Свежие мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) выделяли из крови (лейкоцитарной пленки) здоровых людей-добровольцев путем разделения клеток с использованием фиколла. Выделенные PBMC высевали в концентрации 1×10^6 клеток/мл и обрабатывали 1000 нМ леналидомида, 100 нМ помалидомида, 10 нМ ибердомида, 1 нМ соединения 1 (CC-92480) или контрольным DMSO в течение ночи (приблизительно 17 часов). На следующее утро PBMC подвергали стимуляции различными концентрациями LPS (липополисахаридов из *Escherichia coli* O111:B4).

Через 24 часа собирали культуральные среды от контрольных и стимулированных клеток, центрифугировали при 300 g в течение 5 минут для удаления клеток, и супернатант подвергали анализу цитокинов для количественного определения уровней секретированных IL-6, TNF-альфа (TNF- α) и IL-1-бета (IL-1 β) с использованием анализа MSD (см., например, ФИГ. 8A-C).

Полученные данные показывают, что при предварительной обработке леналидомидом, помалидомидом, ибердомидом или соединением 1 снижается индуцированная LPS секреция IL-6, TNF- α и IL-1 β PBMC. Соответственно, предварительная обработка IMiD/CELMoD может быть применена в качестве единого агента для нацеливания на все три цитокина вместо применения отдельных агентов, каждый из которых нацелен на один цитокин, что является текущим стандартом лечения при терапии CRS.

Пример 6: Опосредованное IMiD/CELMoD подавление индуцированной СС-93269 секреции IL-6 PBMC в присутствии экспрессирующих BCMA клеток-мишеней

Свежие PBMC выделяли из крови (лейкоцитарной пленки) здоровых людей-добровольцев путем разделения клеток с использованием фиколла. Процентное содержание CD3⁺ Т-клеток (общее) в PBMC количественно определяли посредством проточной цитометрии. Выделенные PBMC высевали в 12-луночные планшеты в концентрации $1,5 \times 10^6$ клеток/мл и обрабатывали 1 нМ соединения 1 (СС-92480), 1000 нМ леналидомида, 100 нМ помалидомида, 10 нМ ибердомида или контрольным DMSO в течение ночи (приблизительно 17 часов).

После инкубирования в течение ночи в лунки добавляли клетки-мишени K562-BCMA (характеризующиеся очень высоким уровнем сверхэкспрессии поверхностного BCMA) или контрольные клетки K562-MCB (экспрессия BCMA отсутствует) при отношении Т-клеток к клеткам-мишеням 5:1. K562-BCMA и K562-MCB представляют собой изогенную пару, имеющую происхождение от линии клеток хронического миелоидного лейкоза (CML). К совместной культуре добавляли СС-93269 в различных концентрациях и инкубировали. СС-93269 представляет собой биспецифичное антитело к BCMA и CD3, являющееся рекрутером Т-клеток, также упоминаемое в настоящем документе как 42-TCBcv.

Через 6, 24 и 48 часов после инкубирования собирали культуральные среды от всех образцов, центрифугировали при 300 g в течение 5 минут для удаления клеток, и супернатант подвергали анализу цитокинов для количественного определения уровней секретированного IL-6 с использованием анализа MSD.

На ФИГ. 9А и В показаны данные для предварительной обработки соединением 1 совместных культур с K562-BCMA и K562-MCB, соответственно. Уровни IL-6 в совместной культуре с K562-BCMA обусловлены связыванием СС-93269 с BCMA и CD3 и последующей активацией Т-клеток, в то время как в совместной культуре с K562-MCB показаны фоновые уровни IL-6.

На ФИГ. 10А показаны уровни IL-6 через 24 часа для образца K562-BCMA, в котором PBMC от независимого здорового донора предварительно обрабатывали соединением 1 или контрольным DMSO, а также СС-93269 в концентрациях до 10000 нг/мл включительно. Линейный диапазон этой системы *in vitro* теряется приблизительно при 100 нг/мл СС-93269, однако данные показывают, что даже за пределами динамического диапазона секреция IL-6 подавляется при концентрациях

СС-93269 вплоть до 10000 нг/мл.

Также были собраны независимые данные для РВМС от 15 здоровых доноров. РВМС предварительно обрабатывали соединением 1 или DMSO (контроль) и добавляли клетки-мишени (K562-BCMA), а также СС-93269, как описано выше. На ФИГ. 10В показаны уровни IL-6 через 24 часа для РВМС, предварительно обработанных соединением 1, нормализованные относительно контрольной обработки, при этом контроль принят за 100%. В целом медианное снижение уровня IL-6 приблизительно в два раза наблюдали при 10 нг/мл СС-93269 для всех протестированных доноров. Кругами обозначены независимые доноры, а горизонтальными линиями обозначены медианные значения; показаны не все доноры, поскольку для исключения небольших изменений, которые могут исказить результат, и для повышения достоверности результатов использовали отсечение данных для наименьших приблизительно 10% концентраций IL-6, составляющих менее 200 пг/мл.

На ФИГ. 11 показаны уровни IL-6 через 24 часа в совместной культуре клеток-мишеней K562-BCMA и РВМС от одного донора, предварительно обработанной 1000 нМ леналидомида, 100 нМ помалидомида, 10 нМ ибердомида, 1 нМ соединения 1 (СС-92480) или контрольным DMSO. Снижение опосредованной СС-93269 секреции IL-6 также наблюдали при предварительной обработке леналидомидом, помалидомидом и ибердомидом РВМС от еще двух здоровых доноров. Данные показывают, что предварительная обработка совместной культуры РВМС и экспрессирующих BCMA клеток (K562-BCMA) соединением 1, леналидомидом, помалидомидом или ибердомидом приводит к уменьшению/ослаблению секреции IL-6, ассоциированной с активностью СС-93269.

Примечательно, что в этой модели *in vitro* также анализировали TNF-альфа, IFN-гамма и IL-2, крайне важные цитокины, связанные с литической активностью Т-клеток и иммунной активацией. Через 6, 24 и 48 часов после инкубирования уровни TNF-альфа, IFN-гамма и IL-2 количественно определяли в супернатанте с использованием анализа MSD, как и в случае IL-6. На ФИГ. 12А-В показано, что предварительная обработка соединением 1 (СС-92480) усиливает индуцированную СС-93269 секрецию TNF-альфа и IL-2 РВМС в присутствии клеток-мишеней K562 через 24 часа. Предварительная обработка IMiD/CELMoD не оказывала влияния на IFN-гамма (данные не представлены).

Пример 7: Опосредованное соединением 1 (СС-92480) подавление

индуцированной СС-93269 секреции IL1-бета PBMC в присутствии экспрессирующих ВСМА клеток-мишеней

Свежие PBMC выделяли из крови (лейкоцитарной пленки) здоровых людей-добровольцев путем разделения клеток с использованием фиколла. Процентное содержание CD3⁺ Т-клеток (общее) в PBMC количественно определяли посредством проточной цитометрии. Выделенные PBMC высевали в 12-луночные планшеты в концентрации $1,5 \times 10^6$ клеток/мл и обрабатывали 1 нМ соединения 1 (СС-92480) или контрольным DMSO в течение ночи (приблизительно 17 часов). После инкубирования в течение ночи в лунки добавляли клетки-мишени K562-ВСМА при отношении Т-клеток к клеткам-мишеням 5:1 с последующим инкубированием с СС-93269 в различных концентрациях. K562-ВСМА представляет собой линию клеток хронического миелоидного лейкоза (CML), которая характеризуется очень высоким уровнем сверхэкспрессии поверхностного ВСМА.

Через 6, 24 и 48 часов после инкубирования собирали культуральные среды от всех образцов, центрифугировали при 300 g в течение 5 минут для удаления клеток, и супернатант подвергали анализу цитокинов для количественного определения уровней секретированного IL1-бета с использованием анализа MSD.

На ФИГ. 13А показано, что предварительная обработка совместной культуры PBMC и экспрессирующих ВСМА клеток (K562-ВСМА) соединением 1 приводит к уменьшению/ослаблению секреции IL1-бета, ассоциированной с активностью СС-93269 (то есть связыванием с ВСМА и CD3 и последующей активацией Т-клеток). Принимая во внимание данные, полученные в предшествующих примерах, ожидается, что другие IMiD/CELMoD, такие как леналидомид, помалидомид и ибердомид, будут оказывать действие, схожее с действием соединения 1.

Также были собраны независимые данные для PBMC, полученных от 15 здоровых доноров. PBMC предварительно обрабатывали соединением 1 или DMSO (контроль) и добавляли клетки-мишени (K562-ВСМА), а также СС-93269, как описано выше. На ФИГ. 13В показаны уровни IL1-бета через 24 часа для PBMC, предварительно обработанных соединением 1, нормализованные относительно контрольной обработки, при этом контроль принят за 100%. В целом наблюдается десятикратное медианное снижение уровней IL1-бета при 10 нг/мл СС-93269 для всех протестированных доноров.

Пример 8: Опосредованное соединением 1 (СС-92480) подавление

индуцированной СС-93269 секреции IL-6 PBMC в присутствии клеток множественной миеломы

Свежие PBMC выделяли из крови (лейкоцитарной пленки) людей-добровольцев путем разделения клеток с использованием фиколла. Процентное содержание CD3+ Т-клеток (общее) в PBMC количественно определяли посредством проточной цитометрии. Выделенные PBMC высевали в 12-луночные планшеты в концентрации $1,5 \times 10^6$ клеток/мл и обрабатывали 1 нМ соединения 1 (СС-92480) или контрольным DMSO в течение ночи (приблизительно 17 часов). После инкубирования в течение ночи клетки промывали с удалением СС-92480, после чего в лунки добавляли клетки-мишени H929 при отношении Т-клеток к клеткам-мишеням 5:1. H929 представляет собой линию клеток множественной миеломы, которая экспрессирует умеренные уровни ВСМА (в четыре раза ниже, чем K562-ВСМА).

Затем совместную культуру инкубировали с СС-93269 в различных концентрациях. Через 6, 24 и 48 часов после инкубирования собирали культуральные среды от всех образцов, центрифугировали при 300 *g* в течение 5 минут для удаления клеток, и супернатант подвергали анализу цитокинов для количественного определения уровней секретированного IL-6 с использованием анализа MSD. На ФИГ. 14А-В показаны данные для двух независимых здоровых доноров.

Данные показывают, что предварительная обработка совместной культуры PBMC и клеток множественной миеломы соединением 1 приводит к уменьшению/ослаблению секреции IL-6, ассоциированной с активностью СС-93269 (то есть связыванием с ВСМА и CD3 и последующей активацией Т-клеток). Принимая во внимание данные, полученные в других примерах, ожидается, что другие IMiD/CELMoD, такие как леналидомид, помалидомид и ибердомид, будут оказывать действие, схожее с действием соединения 1.

Пример 9: IMiD/CELMoD усиливают опосредованное СС-93269 уничтожение Т-клетками клеток MM *in vitro*

Для оценки эффектов модулирующих цереблон (СМ) агентов в отношении функции Т-клеток после длительной стимуляции (то есть имитации истощения Т-клеток) обогащенные CD3+ Т-клетки здоровых доноров подвергали стимуляции, нацеленной на CD3/CD28, в присутствии DMSO (контроль), 100 нМ помалидомида, 10 нМ ибердомида (СС-220) или 1 нМ соединения 1 (СС-92480) в течение 7 суток. Продолжительная и повторяющаяся нацеленная на CD3/CD28 стимуляция Т-клеток

приводит к функциональному истощению Т-клеток *in vitro*.

Длительно стимулируемые Т-клетки затем использовали в исследованиях опосредованной СС-93269 цитотоксичности в отношении клеток-мишеней множественной миеломы (ММ) NCI-H929 или OPM-2. Т-клетки промывали для удаления соединений и смешивали с флуоресцентно меченными линиями клеток ММ (NCI-H929, OPM-2) при оптимизированном отношении эффектора к мишени (Е:Т) (1:2 или 1:4) в присутствии фиксированных концентраций СС-93269 (47 пМ). В качестве контрольных эффекторных клеток использовали свежеразмороженные Т-клетки (то есть неистощенные Т-клетки) от того же донора. В этой экспериментальной модели для анализа цитотоксичности количество клеток-мишеней постоянно контролировали с помощью системы для прижизненного анализа клеток IncuCyte® S3 в течение как минимум 10 суток. Супернатанты культур клеток отбирали из лунок для последующего исследования опосредованной СС-93269 цитотоксичности через 3 суток после смешивания с клетками-мишенями ММ. CD3⁺ Т-клетки от 2 или 3 независимых здоровых доноров исследовали в отношении каждой линии клеток ММ.

Результаты, наблюдаемые как с клетками NCI-H929 (ФИГ. 15А), так и с клетками OPM-2 (ФИГ. 15В) в качестве клеток-мишеней ММ, позволяют предположить, что исследуемые СМ агенты (помалидомид, ибердомид или СС-92480) оказывали благоприятное действие на цитолитическую функцию Т-клеток в контексте направляемого биспецифичным антителом уничтожения клеток-мишеней. Т-клетки, подвергавшиеся длительной стимуляции в присутствии DMSO (контроль), продемонстрировали отсроченное снижение индуцированной биспецифичным антителом цитолитической активности (то есть функциональное истощение Т-клеток) с возобновлением роста клеток-мишеней ММ с течением времени. Напротив, Т-клетки, подвергавшиеся длительной стимуляции в присутствии СМ агентов, сохраняли индуцированную СС-93269 цитолитическую активность, сравнимую с активностью, опосредованной свежеразмороженными Т-клетками. Таким образом, воздействие СМ агентов предупреждало истощение Т-клеток при длительной анти-CD3/CD28 стимуляции, что приводило к сохранению цитолитической активности эффекторных клеток в последующих исследованиях с применением СС-93269.

Формула изобретения

1. Ингибитор цитокинов для применения в способе лечения или предупреждения связанного с цитокинами нежелательного явления или заболевания у субъекта, где указанный ингибитор цитокинов представляет собой помалидомид, ибердомид, леналидомид, авадомид или соединение 1, и где соединение 1 представляет собой

4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

2. Ингибитор цитокинов для применения по п. 1, где связанное с цитокинами нежелательное явление или заболевание представляет собой синдром высвобождения цитокинов (CRS).

3. Ингибитор цитокинов для применения по п. 1 или п. 2, где субъект получал или будет получать терапевтический агент, который вызвал или может вызвать CRS.

4. Ингибитор цитокинов для применения по п. 3, где указанный терапевтический агент нацелен на ВСМА (антиген созревания В-клеток) («нацеленный на ВСМА терапевтический агент»).

5. Ингибитор цитокинов для применения по п. 1, где связанное с цитокинами нежелательное явление или заболевание представляет собой коронавирусное заболевание 2019 (COVID-19) или опосредованную цитокинами нейротоксичность.

6. Нацеленный на ВСМА терапевтический агент для применения в способе лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА, у субъекта, где указанный способ включает:

а) введение субъекту нацеленного на ВСМА терапевтического агента, где указанное введение может вызвать или вызвало CRS у субъекта; и

б) введение субъекту ингибитора цитокинов в дозе для предупреждения или ослабления развития CRS у субъекта, где указанный ингибитор цитокинов представляет собой помалидомид, ибердомид, леналидомид, авадомид или соединение 1, и где соединение 1 представляет собой 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую

соль.

7. Нацеленный на ВСМА терапевтический агент для применения в способе лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА, у субъекта, где указанный способ включает:

а) введение субъекту ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6), где указанный ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой помалидомид, ибердомид, леналидомид, авадомид или соединение 1, и где соединение 1 представляет собой 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль; и

б) после введения ингибитора цитокинов введение субъекту нацеленного на ВСМА терапевтического агента, где указанное введение может вызвать CRS у субъекта.

8. Нацеленный на ВСМА терапевтический агент для применения по п. 7, где ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) вводят в первой дозе приблизительно за 7 суток до введения нацеленного на ВСМА терапевтического агента.

9. Нацеленный на ВСМА терапевтический агент для применения в способе лечения расстройства, ассоциированного с экспрессией ВСМА, у субъекта, где указанный способ включает:

а) введение субъекту нацеленного на ВСМА терапевтического агента, где указанное введение может вызвать или вызвало CRS у субъекта; и

б) после введения нацеленного на ВСМА терапевтического агента введение субъекту ингибитора цитокинов (например, ингибитора IL-6), где указанный ингибитор цитокинов (например, ингибитор IL-6) представляет собой помалидомид, ибердомид, леналидомид, авадомид или соединение 1, и где соединение 1 представляет собой 4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил или его энантиомер, смесь энантиомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

10. Нацеленный на ВСМА терапевтический агент для применения по п. 9, где указанный нацеленный на ВСМА терапевтический агент вводят в первой дозе

приблизительно за 7 суток до введения ингибитора цитокинов.

11. Нацеленный на ВСМА терапевтический агент для применения по любому из пп. 6-10, где расстройство, ассоциированное с экспрессией ВСМА, у субъекта представляет собой: множественную миелому, возможно где множественная миелома представляет собой множественную миелому с высоким риском или рецидивирующую и рефрактерную множественную миелому; хронический лимфоцитарный лейкоз; или неходжкинскую лимфому, возможно где неходжкинская лимфома представляет собой лимфому Беркитта, хронический лимфоцитарный лейкоз/мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому (CLL/SLL), диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, фолликулярную лимфому, иммунобластную крупноклеточную лимфому, лимфобластную лимфому из предшественников В-клеток или лимфому из клеток мантийной зоны.

12. Ингибитор цитокинов для применения по п. 3 или п. 4 или нацеленный на ВСМА терапевтический агент для применения по любому из пп. 6-11, где терапевтический агент, который вызвал или может вызвать CRS, или нацеленный на ВСМА терапевтический агент представляет собой рекрутер Т-клеток.

13. Ингибитор цитокинов для применения по п. 12 или нацеленный на ВСМА терапевтический агент для применения по п. 12, где рекрутер Т-клеток представляет собой мультиспецифичное антитело, которое специфично связывается с раковым антигеном (например, ВСМА) и антигеном, который способствует активации одной или более Т-клеток, возможно где антиген, который способствует активации одной или более Т-клеток, выбран из группы, состоящей из CD3, TCR α (Т-клеточный рецептор альфа), TCR β , TCR γ , TCR ζ , ICOS (индуцибельный Т-клеточный костимулятор), CD28, CD27, HVEM (медиатор проникновения вируса герпеса), LIGHT, CD40, 4-1BB, OX40, DR3, GITR (индуцируемый глюкокортикоидами рецептор фактора некроза опухоли), CD30, TIM1 (Т-клеточный иммуноглобулин и домен муцина 1), SLAM (сигнальная молекула активации лимфоцитов), CD2 или CD226, предпочтительно где указанный антиген, который способствует активации одной или более Т-клеток, представляет собой CD3.

14. Ингибитор цитокинов для применения по п. 13 или нацеленный на ВСМА

терапевтический агент для применения по п. 13, где мультиспецифичное антитело представляет собой биспецифичное антитело, возможно где биспецифичное антитело содержит два Fab-фрагмента антитела к ВСМА, один Fab-фрагмент антитела к CD3 и одну часть Fc, и указанное биспецифичное антитело имеет формат Fab ВСМА - Fc - Fab CD3 - Fab ВСМА.

15. Ингибитор цитокинов для применения по п. 12 или нацеленный на ВСМА терапевтический агент для применения по п. 12, где рекрутер Т-клеток представляет собой химерный антигенный рецептор (CAR), нацеленный на раковый антиген (например, ВСМА), или Т-клетку, экспрессирующую по меньшей мере один CAR, нацеленный на раковый антиген (например, ВСМА).

16. Ингибитор цитокинов для применения по п. 4 или по любому из пп. 12-14, когда они являются зависимыми от п. 4, или нацеленный на ВСМА терапевтический агент для применения по любому из пп. 6-15, где указанный нацеленный на ВСМА терапевтический агент содержит комбинацию областей CDR1H (определяющая комплементарность область 1 тяжелой цепи), CDR2H, CDR3H, CDR1L (определяющая комплементарность область 1 легкой цепи), CDR2L и CDR3L, выбранную из:

а) область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:27, область CDR2L с SEQ ID NO:28 и область CDR3L с SEQ ID NO:20; возможно где нацеленный на ВСМА терапевтический агент содержит VH (вариабельную область тяжелой цепи) с SEQ ID NO: 10 и VL (вариабельную область легкой цепи) с SEQ ID NO: 14;

б) область CDR1H с SEQ ID NO:21, область CDR2H с SEQ ID NO:22, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:25, область CDR2L с SEQ ID NO:26 и область CDR3L с SEQ ID NO:20; возможно где нацеленный на ВСМА терапевтический агент содержит VH с SEQ ID NO: 10 и VL с SEQ ID NO: 13; и

в) область CDR1H с SEQ ID NO:15, область CDR2H с SEQ ID NO:16, область CDR3H с SEQ ID NO:17, область CDR1L с SEQ ID NO:18, область CDR2L с SEQ ID NO:19 и область CDR3L с SEQ ID NO:20; возможно где нацеленный на ВСМА терапевтический агент содержит VH с SEQ ID NO: 9 и VL с SEQ ID NO: 11.

17. Ингибитор цитокинов для применения по п. 13 или п. 14 или нацеленный на ВСМА терапевтический агент для применения по п. 13 или п. 14, где мультиспецифичное антитело содержит совокупность тяжелых и легких цепей полипептидов, представленных SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56, и две копии SEQ ID NO:57.

18. Ингибитор цитокинов для применения по п. 4 или по любому из пп. 12-15, когда они являются зависимыми от п. 4, или нацеленный на ВСМА терапевтический агент для применения по любому из пп. 6-15, где указанный нацеленный на ВСМА терапевтический агент содержит VH, содержащую CDR1H с SEQ ID NO:64, CDR2H с SEQ ID NO:65, CDR3H с SEQ ID NO:66, и VL, содержащую совокупность последовательностей CDR1L, CDR2L и CDR3L, выбранную из:

а) CDR1L с SEQ ID NO:67, CDR2L с SEQ ID NO:68 и CDR3L с SEQ ID NO:69, возможно где нацеленный на ВСМА терапевтический агент содержит VH с SEQ ID NO:76 и VL с SEQ ID NO:77;

б) CDR1L с SEQ ID NO:70, CDR2L с SEQ ID NO:71 и CDR3L с SEQ ID NO:72, возможно где нацеленный на ВСМА терапевтический агент содержит VH с SEQ ID NO:76 и VL с SEQ ID NO:78; или

в) CDR1L с SEQ ID NO:73, CDR2L с SEQ ID NO:74 и CDR3L с SEQ ID NO:75, возможно где нацеленный на ВСМА терапевтический агент содержит VH с SEQ ID NO:76 и VL с SEQ ID NO:79.

19. Ингибитор цитокинов для применения по любому из пп. 3, 4 или 12-18 или нацеленный на ВСМА терапевтический агент для применения по любому из пп. 6-18, где:

(а) ингибитор цитокинов вводят до (например, в течение 12 или 24 часов до) введения терапевтического агента (например, нацеленного на ВСМА терапевтического агента);

(б) ингибитор цитокинов вводят в те же сутки, в которые осуществляют введение терапевтического агента (например, нацеленного на ВСМА терапевтического агента);

(в) ингибитор цитокинов вводят после (например, в течение 12 или 24 часов после) введения терапевтического агента (например, нацеленного на ВСМА

терапевтического агента); или

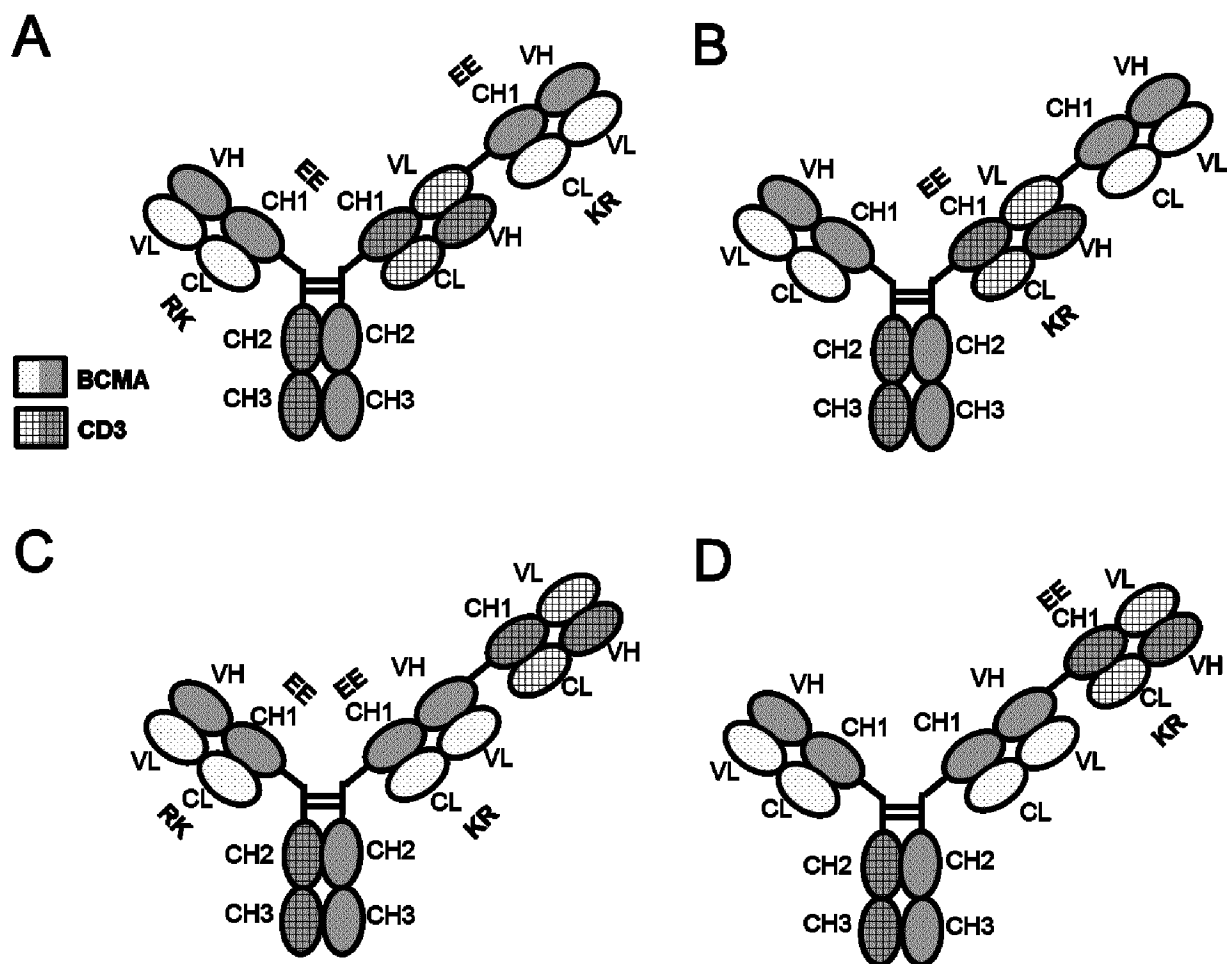
(г) ингибитор цитокинов вводят в течение 12 часов после установления диагноза CRS.

20. Ингибитор цитокинов или нацеленный на ВСМА терапевтический агент для применения по любому из пп. 1-19, где ингибитор цитокинов представляет собой ингибитор провоспалительных цитокинов.

21. Ингибитор цитокинов или нацеленный на ВСМА терапевтический агент для применения по любому из пп. 1-20, где связанное с цитокинами нежелательное явление или заболевание не является раком молочной железы.

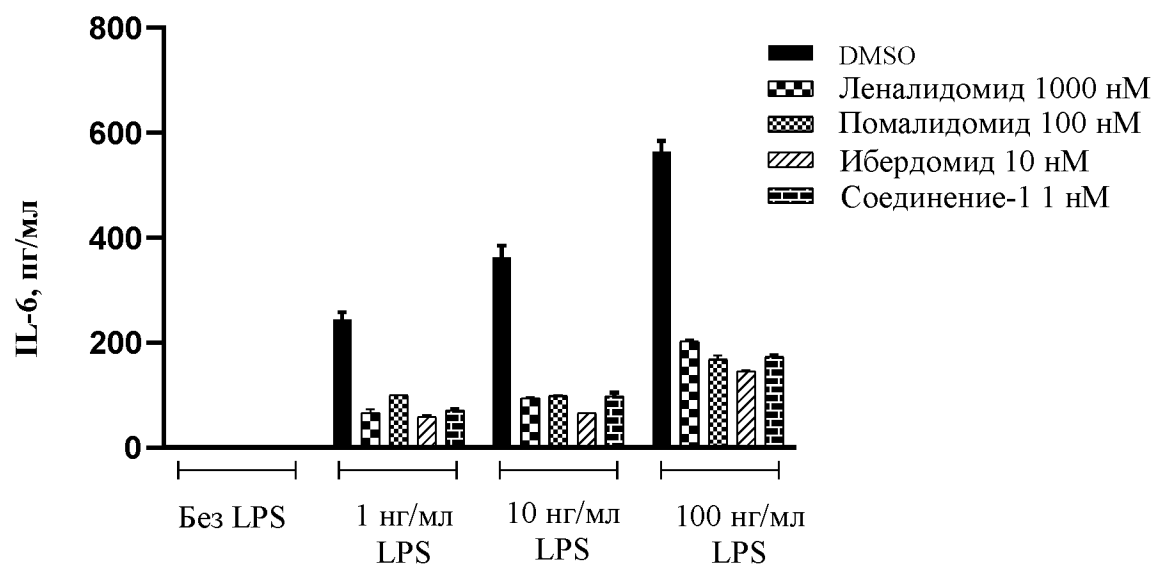
Фиг. 1

Фиг. 2

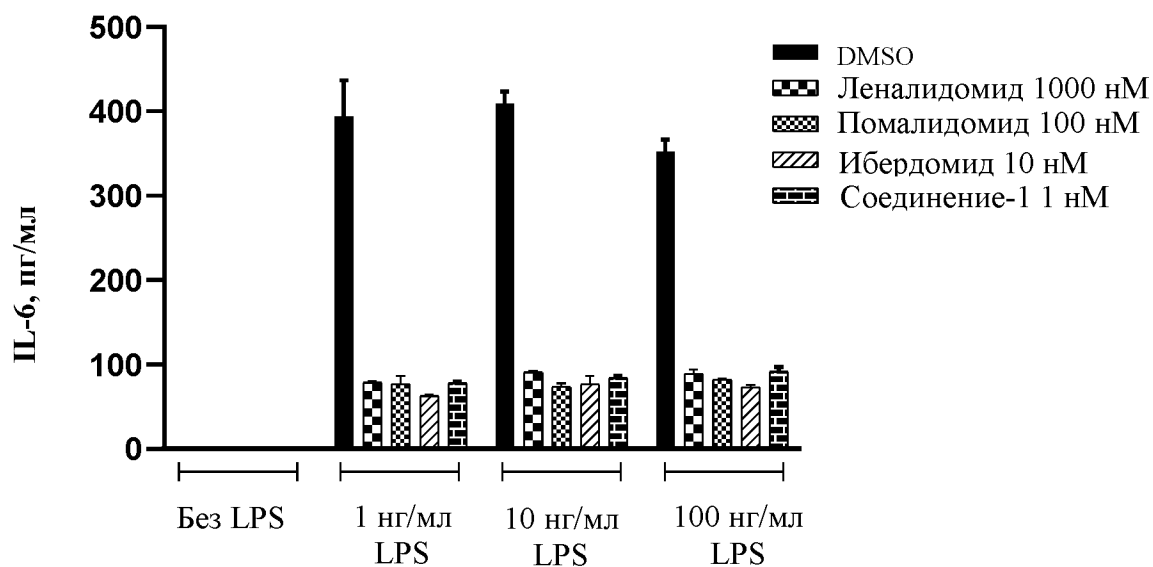


Фиг. 4

Индукцированная LPS секрция IL-6 - Моноциты - Донор 1

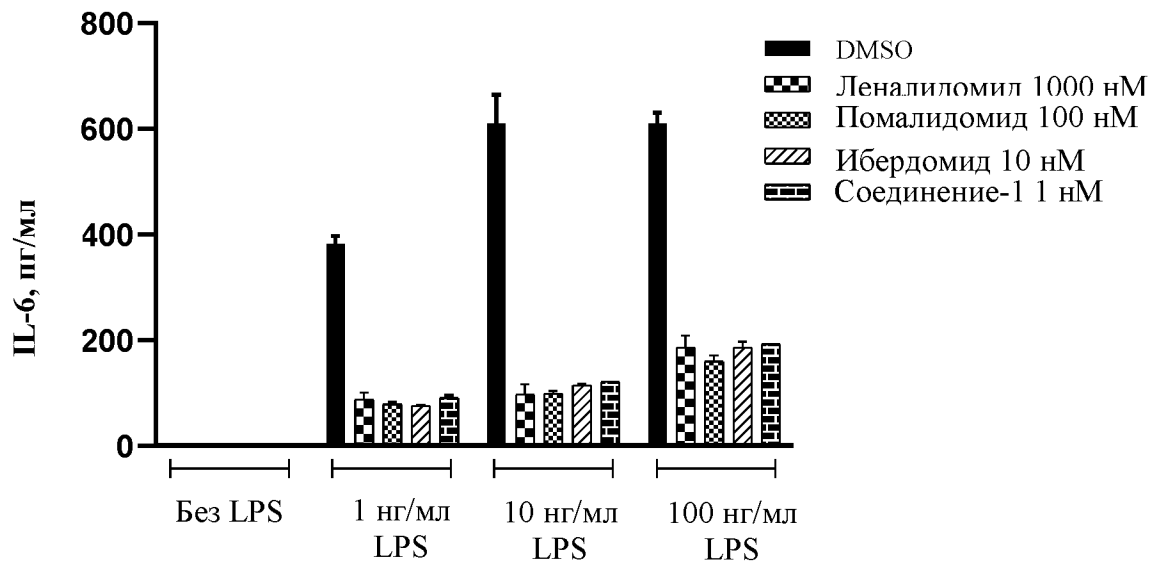


Индукцированная LPS секрция IL-6 - Моноциты - Донор 2

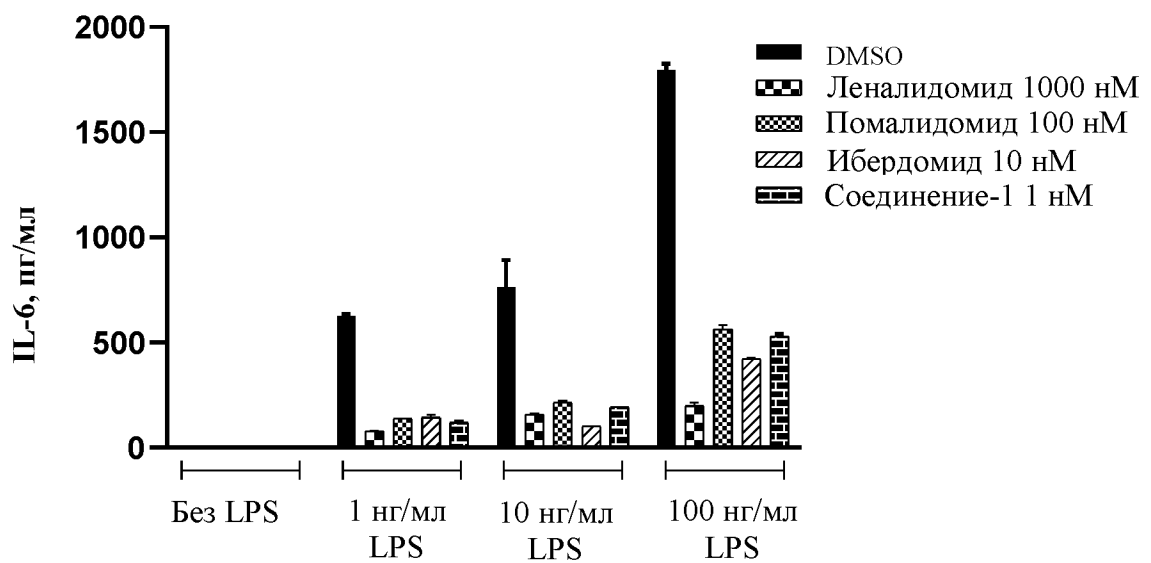


Фиг. 4 (продолжение)

Индукцированная LPS секрция IL-6 - Моноциты - Донор 3

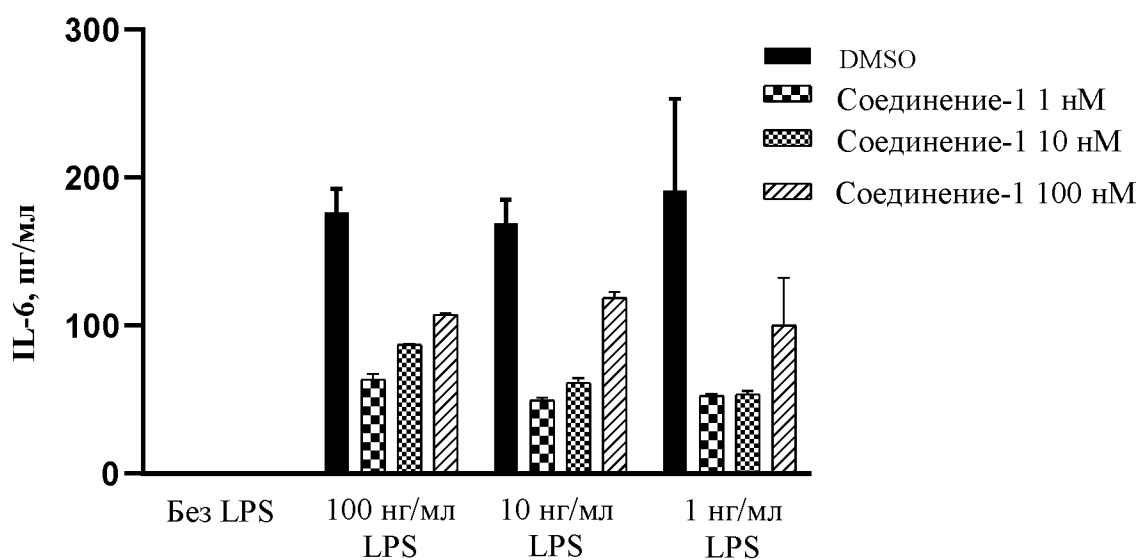


Индукцированная LPS секрция IL-6 - Моноциты - Донор 4

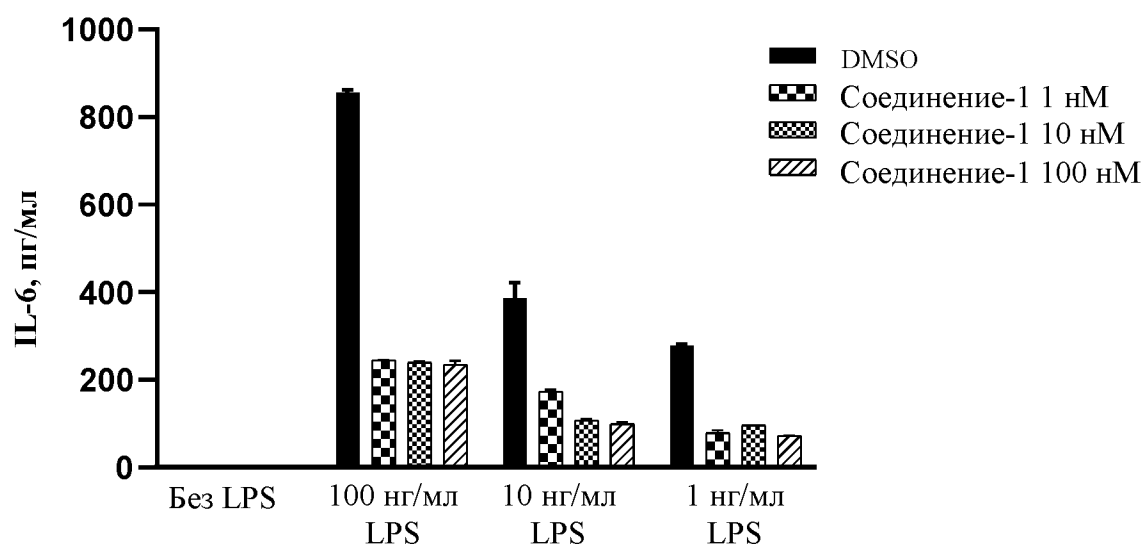


Фиг. 5

Индукцированная LPS секрция IL-6 - Моноциты - Донор 5

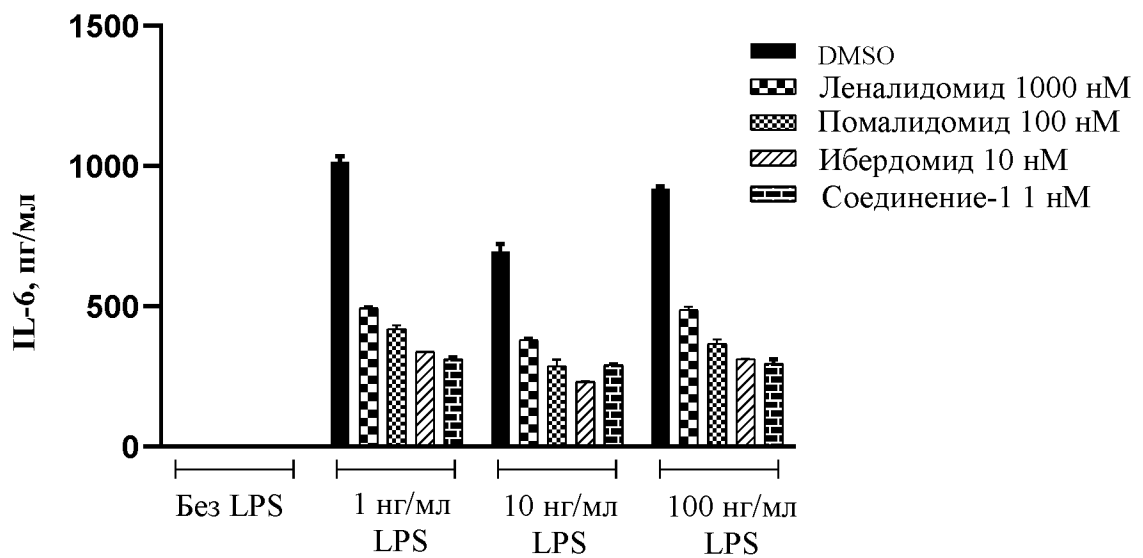


Индукцированная LPS секрция IL-6 - Моноциты - Донор 5

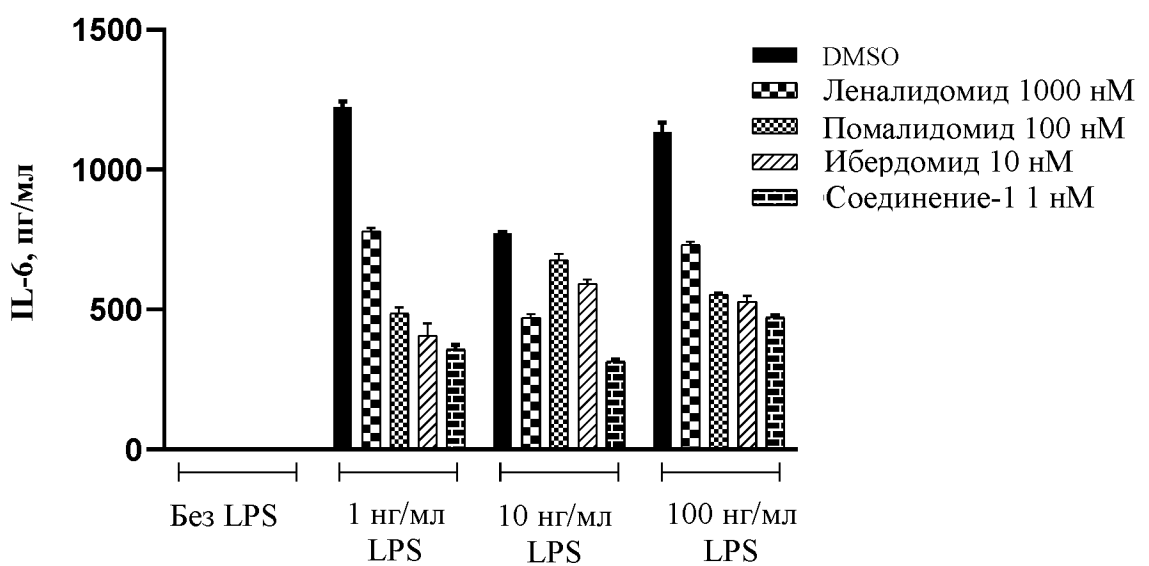


Фиг. 6

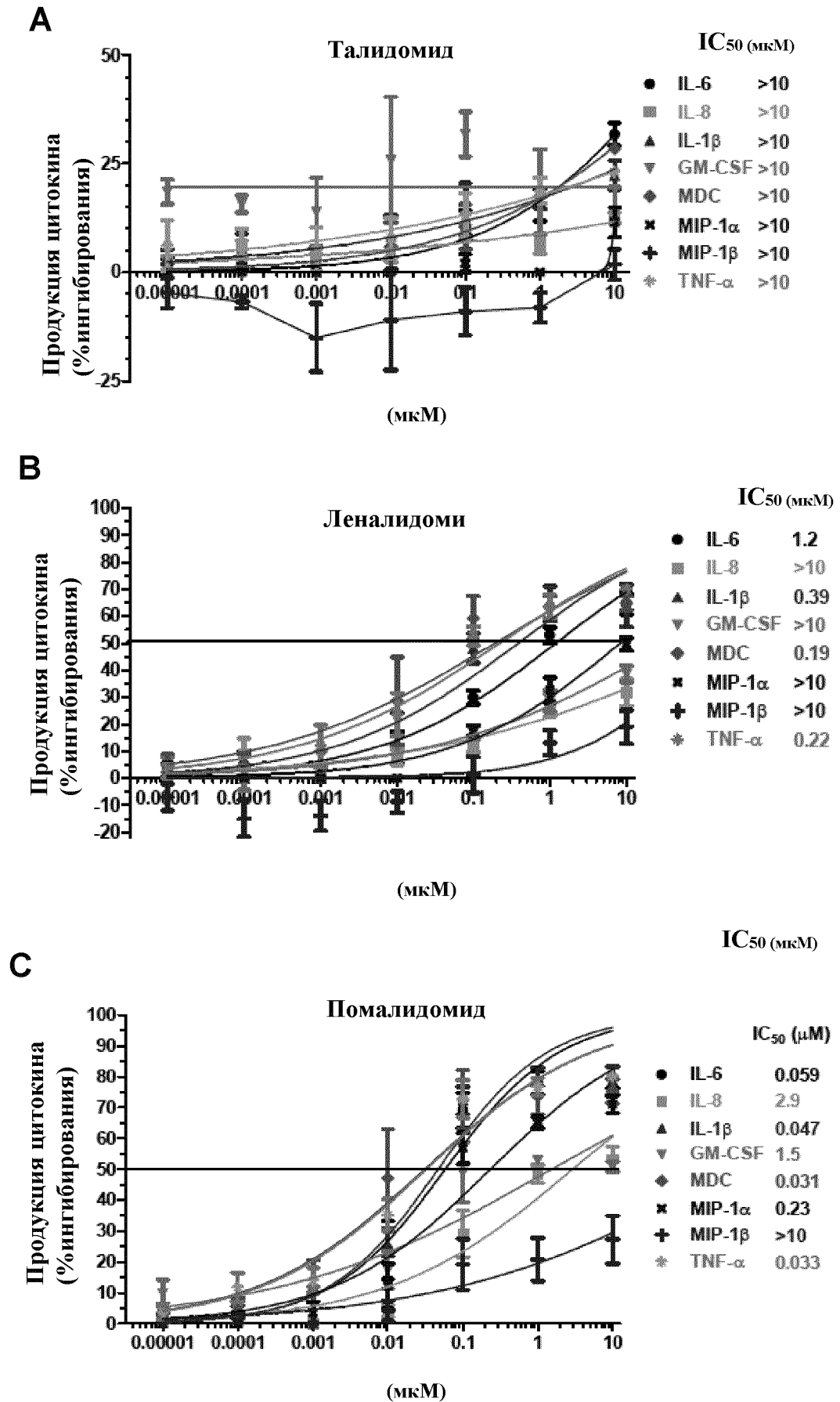
Индукцированная LPS секрция IL-6 макрофагами - Донор 7



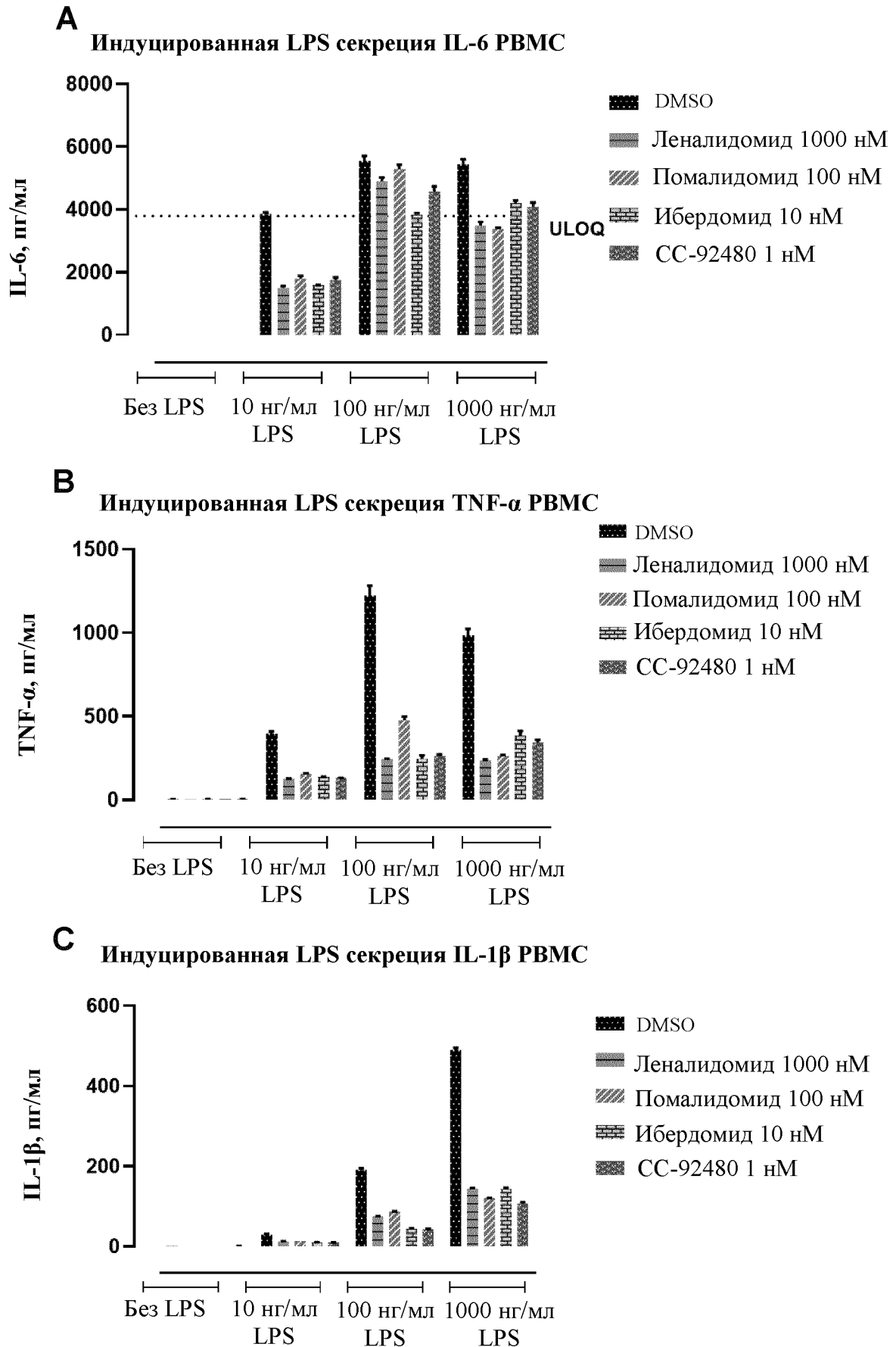
Индукцированная LPS секрция IL-6 макрофагами - Донор 8



Фиг. 7



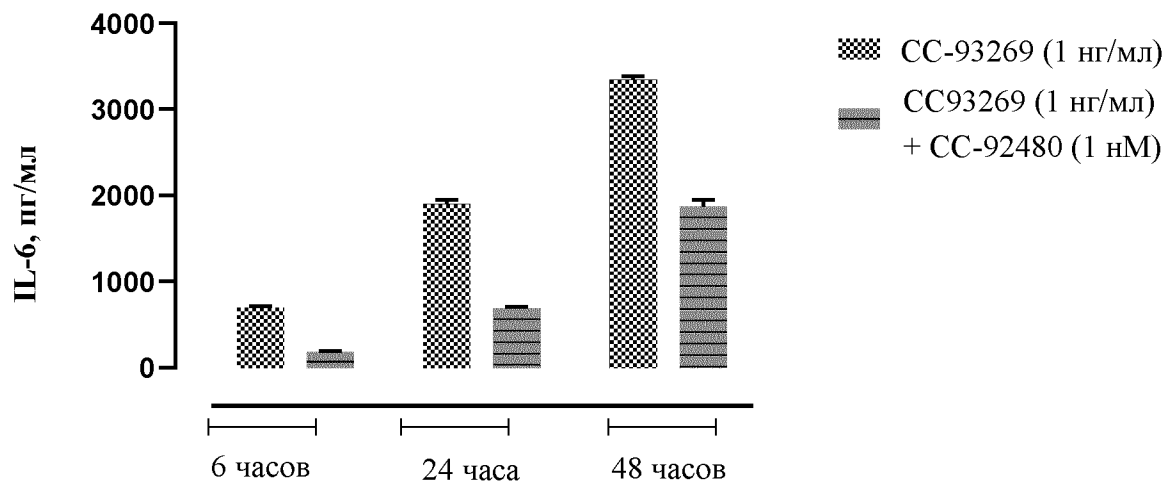
Фиг. 8



Фиг. 9

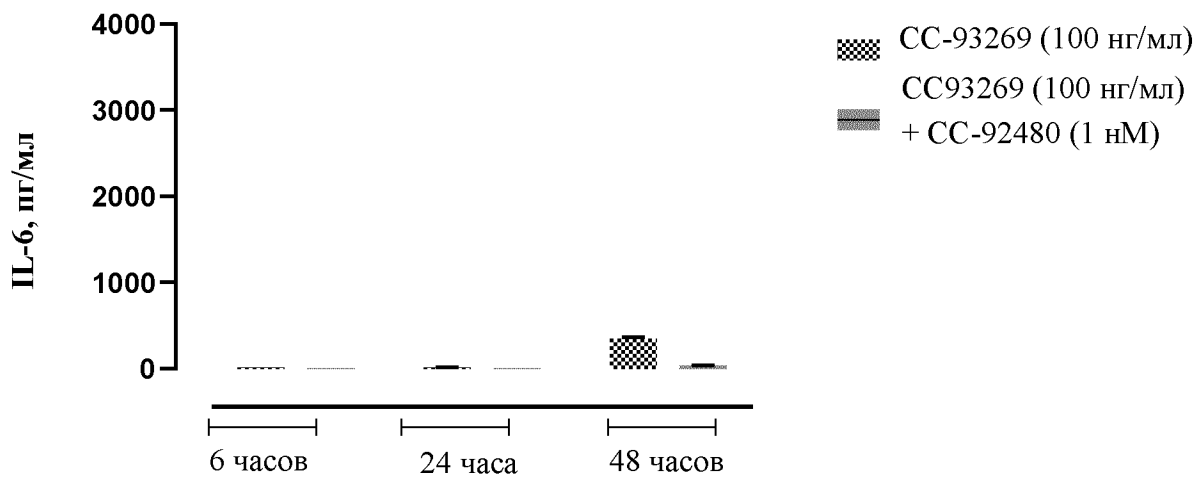
A

Опосредованная совместным культивированием (СС-93269+клетки-мишени К-562-BCMA+PBMC) секреция IL-6



B

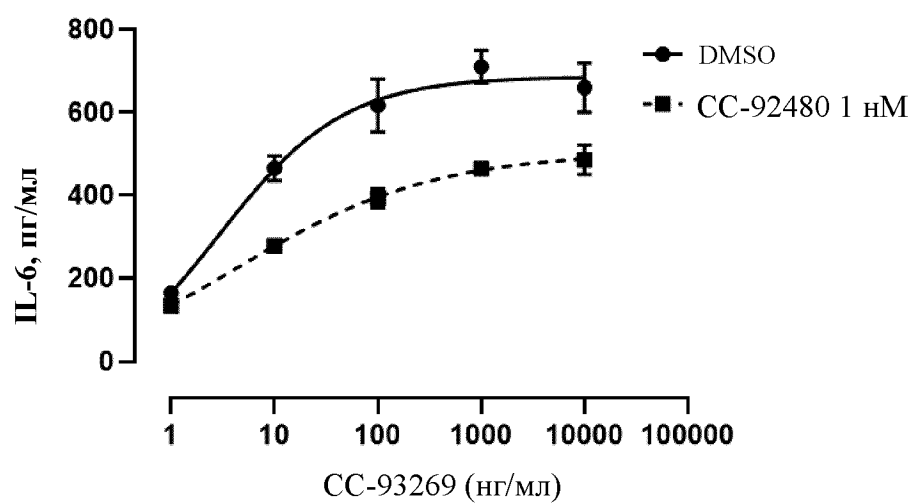
Опосредованная совместным культивированием (СС-93269+клетки-мишени К-562-МСВ+PBMC) секреция IL-6



11/16

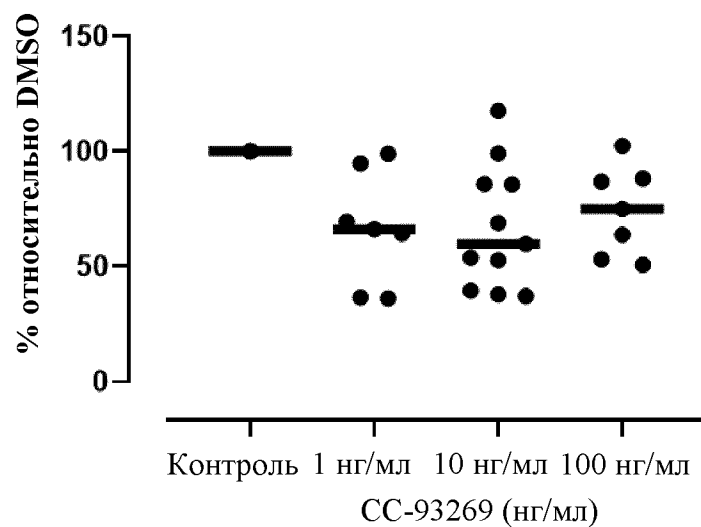
Фиг. 10

А Опосредованная совместным культивированием (СС-93269+клетки-мишени К-562-BCMA+PBMC) секреция IL-6



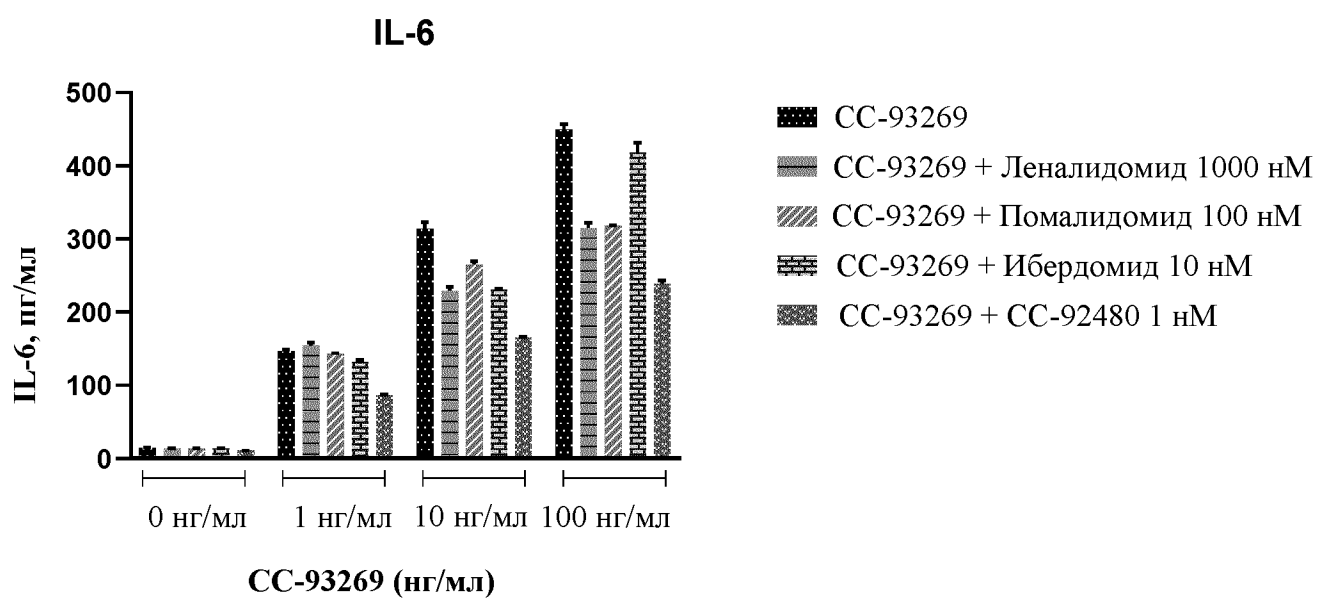
В

Опосредованная совместным культивированием (СС-93269+клетки-мишени К-562-BCMA+PBMC) секреция IL-6



12/16

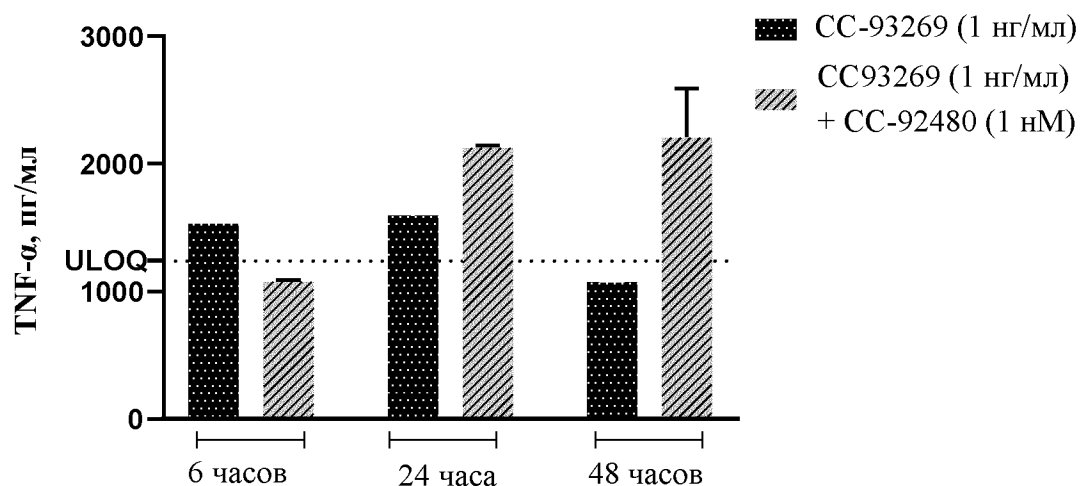
Фиг. 11



Фиг. 12

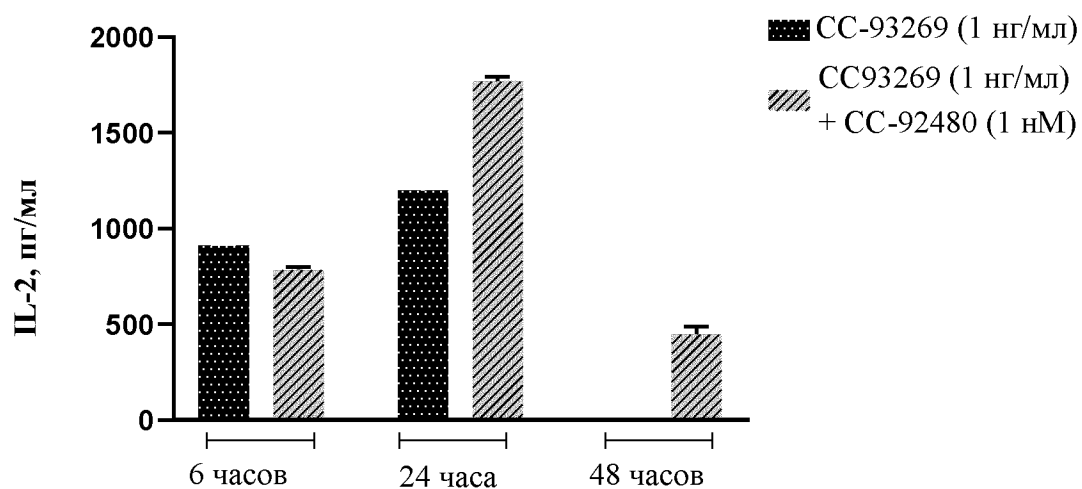
A

Опосредованная совместным культивированием (СС-93269+клетки-мишени К-562-BCMA+PBMC) секреция TNF- α



B

Опосредованная совместным культивированием (СС-93269+клетки-мишени К-562-BCMA+PBMC) секреция IL-2

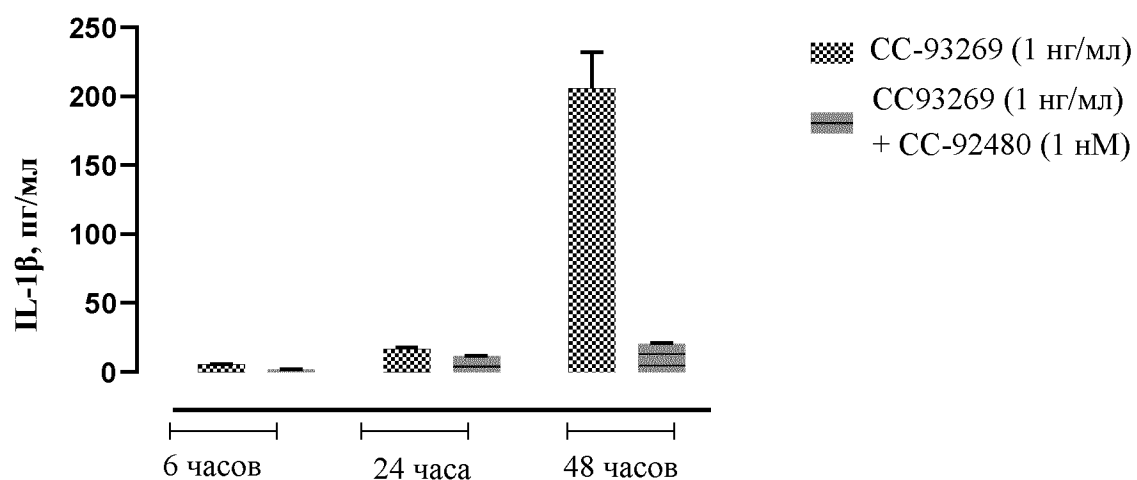


14/16

Фиг. 13

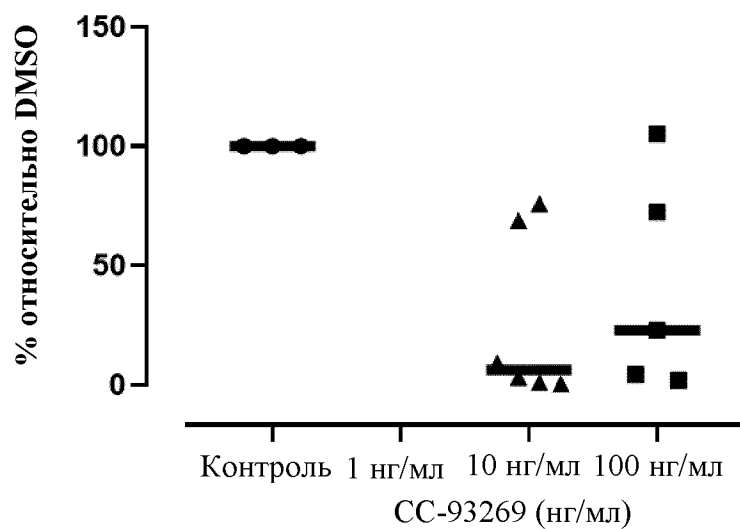
A

Опосредованная совместным культивированием
(СС-93269+клетки-мишени К-562-BCMA+PBMC) секреция IL-1 β



B

Опосредованная совместным культивированием
(СС-93269+клетки-мишени К-562-BCMA+PBMC) секреция IL-1 β

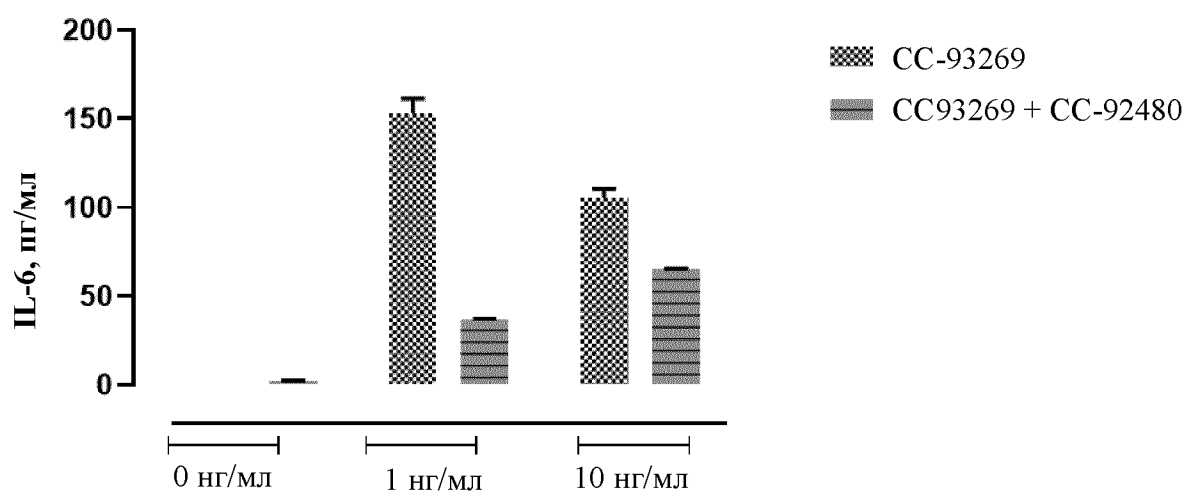


15/16

Фиг. 14

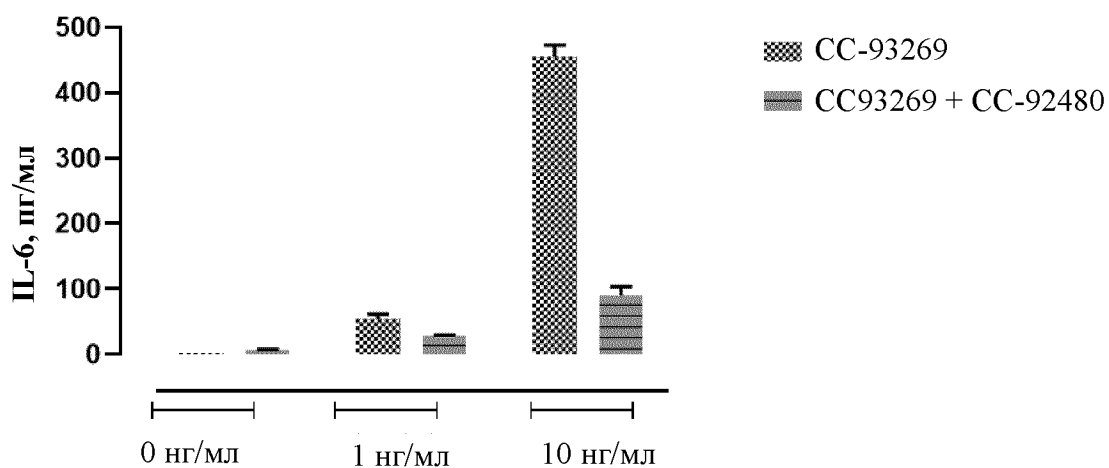
A

Опосредованная совместным культивированием
(CC-93269+клетки-мишени H929+РВМС донора А) секреция IL-6



B

Опосредованная совместным культивированием
(CC-93269+клетки-мишени H929+РВМС донора В) секреция IL-6



16/16

Фиг. 15

