

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202293240 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.03.13(22) Дата подачи заявки
2021.05.10(51) Int. Cl. A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ

(31) 63/023,092; 63/024,209; 63/159,303

(32) 2020.05.11; 2020.05.13; 2021.03.10

(33) US

(86) PCT/EP2021/062364

(87) WO 2021/228783 2021.11.18

(71) Заявитель:
ЯНССЕН БАЙОТЕК, ИНК. (US)

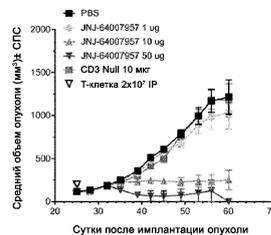
(72) Изобретатель:

Адамс Хоумер, Голдберг Дженна,
Банерджи Арноб, Стивенсон Тара,
Верона Ралука, Гиргис Сюзетта, Линь
Шуньсиньван (US)

(74) Представитель:

Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)

(57) Описаны способы лечения рака с применением биспецифического антитела ВСМАхCD3.



BCMA = антиген созревания В-клеток; CD3 = кластер дифференциации 3; MM = множественная миелома;
NSG = NOJ^{hscid}⁻/⁻; PBMC = мононуклеарные клетки периферической крови;
СПС = стандартная погрешность среднего значения.

A1

202293240

202293240

A1

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ

5 **ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА СМЕЖНЫЕ ЗАЯВКИ**

Настоящая заявка испрашивает преимущество по предварительной заявке на патент США № 63/023,092, поданной 11 мая 2020 г., предварительной заявке на патент США № 63/024,209, поданной 13 мая 2020 г., и предварительной заявке на патент США № 63/159,303, поданной 10 марта 2021 г. Полное содержание упомянутых выше заявок
10 полностью включено в настоящий документ путем ссылки.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, представленный в электронном виде в формате ASCII и полностью включенный в настоящий документ
15 путем ссылки. Копия указанного перечня в формате ASCII, созданная 12 мая 2020 г., называется «Sequence Listing 004852-150US1.txt» и имеет размер 25,4 килобайта.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Описаны способы лечения рака с применением биспецифического антитела
20 ВСМАхCD3.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Антиген созревания В-клеток (ВСМА), также известный как член 17 надсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNF), представляет собой
25 рецептор, который играет критически важную роль в созревании В-лимфоцитов (В-клеток) и последующей дифференциации в плазматические клетки. ВСМА связывается с 2 лигандами: связывающий пролиферацию лиганд (APRIL; CD256) и BAFF. APRIL и BAFF представляют собой трансмембранные белки типа II, которые легко
расщепляются фурином и секретируются в виде растворимых тримеров с помощью
30 многих клеток (В-клеток [аутокрин], моноцитов, дендритных клеток, Т-клеток, остеокластов и т. д.) и могут связываться с рецептором ВСМА. В отличие от других поверхностных маркеров ВСМА экспрессируется исключительно в клетках В-линии и избирательно индуцируется во время дифференциации плазматических клеток.

Рецептор ВСМА человека представляет собой 184 аминокислотный белок, который не имеет ни секреторную сигнальную последовательность, ни какой-либо специфический сайт расщепления протеазы в N-концевом внеклеточном домене 54 аминокислот. Однако N-концевой фрагмент наблюдается в виде растворимого белка в сыворотке в результате активности гамма-секретазы, которая расщепляет белок ВСМА в трансмембранном домене (Laurent et al., *Nat Commun.* 2015;6:7333). Ингибирование обработки гамма-секретазы приводит к значительному увеличению поверхностного белка ВСМА в первичных В-клетках человека (Laurent et al., 2015, *ид.*). Высокие уровни растворимого ВСМА (sBCMA) измеряли в образцах сыворотки пациентов со множественной миеломой (данные не показаны) и коррелировали с количествами плазматических клеток (Sanchez et al., *Br J Haematol.* 2012;158(6):727–738).

мРНК ВСМА и белок были универсально обнаружены в клеточной линии множественной миеломы (ММ) и во всех злокачественных плазматических клетках у пациентов с множественной миеломой заявителями (данные не показаны) и другими лицами (Carpenter et al., *Clin Cancer Res.* 2013;19(8):2048–2060; Novak et al., *Blood.* 2004;103(2):689–694). Аналогично, в клеточных линиях множественной миеломы и образцах пациентов ВСМА экспрессируется более стабильно по сравнению с ключевым маркером плазматических клеток (CD138), который также экспрессируется на нормальных фибробластах и эпителиальных клетках (Palaiologou et al., *Histol Histopathol.* 2014;29(2):177–189). Экспрессия ВСМА является селективной для линии В-клеток и не обнаружена в каких-либо основных тканях, за исключением инфильтрирующих плазматических клеток, как определено с помощью способов иммуногистохимии (ИНС) (Carpenter et al., 2014, *ид.*). В совокупности селективная экспрессия ВСМА на линии В-клеток делает ее привлекательной мишенью для терапии, опосредованной Т-клетками, для лечения нарушений плазматических клеток, таких как множественная миелома (Frigyesi et al., *Blood.* 2014;123(9):1336–1340; Tai et al., *Immunotherapy.* 2015;7(11):1187–1199).

Множественная миелома (ММ) представляет собой вторую по распространенности гематологическую злокачественную опухоль и составляет 2% от всех случаев смерти от рака. ММ представляет собой гетерогенное заболевание и вызывается чаще всего транслокациями хромосом, среди прочего, t(11;14),t(4;14),t(8;14),del(13),del(17) (Drach et al., *Blood.* 1998;92(3):802-809, Gertz et al., *Blood.* 2005;106(8):2837-2840; Facon et al., *Blood.* 2001;97(6): 1566–1571). У пациентов с ММ могут возникать различные связанные с заболеванием симптомы по причине

инфильтрации костного мозга, деструкции кости, почечной недостаточности, иммунодефицита и психологического давления в связи с диагнозом рака. По состоянию на 2006 г. 5-летняя выживаемость при ММ составляла приблизительно 34%, и это указывает на то, что ММ является трудноизлечимым заболеванием, которое в настоящее время не лечится.

Рецидивирующая и рефрактерная множественная миелома представляет собой конкретную неудовлетворенную медицинскую потребность. Пациенты с рецидивирующим и рефрактерным заболеванием определены как те, у которых наблюдается незначительный ответ или которые затем лучше прогрессируют при терапии или которые испытывают прогрессирование в течение 60 суток с момента их последней терапии. Пациенты, которые прогрессируют после приема как иммуномодулирующего лекарственного средства, так и ингибитора протеасом, имеют ограниченные варианты. Пациенты, ранее проходившие лечение, часто имеют нарушенную иммунную систему, что может приводить к другим болезненным состояниям, таким как условно-патогенные инфекции и состояния токсичности (например, миелосупрессия, периферическая нейропатия, тромбоз глубоких вен), которые сохраняются после предшествующего лечения. Кроме того, пациенты с прогрессивной множественной миеломой часто являются пожилыми и подвержены воздействию серьезных связанных с лечением нежелательных явлений (TEAE) при постоянном воздействии этих терапий. После это стандартные доступные терапии (такие как ингибиторы протеасом, иммуномодулирующие лекарственные средства и моноклональные антитела) были исчерпаны, стандартная терапия отсутствует. В Соединенных Штатах для достижения этого высокорезистентного заболевания лицензирован селинексор. Оставшиеся варианты для этих пациентов представляют собой либо участие в клиническом исследовании, либо пациентам может быть предложено повторное лечение с применением режима предшествующего лечения (если это допускается профилем токсичности для повторного лечения). Но часто при отсутствии других вариантов лечения им предоставляется паллиативное лечение только для смягчения связанных с заболеванием симптомов.

Уничтожение перенаправленными Т-клетками является желаемым механизмом действия во многих терапевтических областях. Как правило, молекулы, перенаправляющие Т-клетки, конструируют так, чтобы они имели по меньшей мере два антигенсвязывающих сайта, причем один сайт связывается с поверхностным антигеном клетки-мишени, а другой сайт связывается с поверхностным антигеном Т-клетки.

Среди поверхностных антигенов Т-клеток для уничтожения перенаправленными Т-клетками в качестве мишени наиболее часто используется эpsilon-субъединица человеческого CD3 из белкового комплекса TCR. Как в доклинических, так и в клинических исследованиях было показано, что перенаправление Т-клеток опосредуют различные форматы биспецифических антител (May C et al., *Biochem Pharmacol*, 84: 1105–12, 2012; Frankel S R & Baeuerle P A, *Curr Opin Chem Biol*, 17(3): 385–92, 2013).

Применение антител к ВСМА для лечения лимфом и множественной миеломы упоминается в WO2002066516 и WO2010104949. Антитела к ВСМА описаны, например, в публикации Gras M-P. et al. *Int Immunol*. 1997;7:1093–1106, WO200124811 и WO200124812. Биспецифические антитела к ВСМА и CD3 описаны, например, в WO2017/031104. Тем не менее, несмотря на то, что ВСМА и другие В-клеточные рецепторы, принадлежащие к надсемейству рецепторов TNF, и их лиганды BAFF и APRIL подвергаются воздействию в способах терапии, направленных на борьбу с раком, все еще сохраняется потребность в дополнительных вариантах лечения таких медицинских состояний.

ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В описании предложен способ лечения рака у испытуемого, нуждающегося в этом, включающий введение испытуемому терапевтически эффективного количества биспецифического антитела ВСМАхCD3 для лечения рака, когда у испытуемого наблюдается рецидив или рефрактерность к лечению предшествующим противораковым терапевтическим средством.

В описании также предложен способ лечения множественной миеломы у испытуемого, нуждающегося в этом, включающий введение испытуемому терапевтически эффективного количества биспецифического антитела ВСМАхCD3 для лечения множественной миеломы.

В описании также предложен способ лечения множественной миеломы у испытуемого, нуждающегося в этом, включающий введение испытуемому терапевтически эффективного количества биспецифического антитела ВСМАхCD3 для лечения множественной миеломы, когда у испытуемого наблюдается рецидив или рефрактерность к лечению предшествующим терапевтическим средством против множественной миеломы.

В описании также предложен способ лечения множественной миеломы у испытуемого, нуждающегося в этом, включающий введение испытуемому

терапевтически эффективного количества биспецифического антитела ВСМАхCD3 для лечения множественной миеломы, причем биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят в течение времени, достаточного для достижения строгого полного ответа, полного ответа, очень благоприятного частичного ответа, частичного ответа, минимального ответа или стабильного течения заболевания.

В описании также предложен способ лечения множественной миеломы у испытуемого, нуждающегося в этом, включающий введение испытуемому терапевтически эффективного количества биспецифического антитела ВСМАхCD3 для лечения множественной миеломы, причем биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят в течение времени, достаточного для достижения полного ответа, связанного с отрицательным течением минимального остаточного заболевания (MRD).

В конкретных вариантах осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 включает ВСМА-связывающий домен, включающий VH с SEQ ID NO: 10 и VL с SEQ ID NO: 11, и CD3-связывающий домен, включающий VH с SEQ ID NO: 20 и VL с SEQ ID NO: 21.

В конкретных вариантах осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 представляет собой теклистамаб.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На **ФИГ. 1** показана опосредованная Т-клетками зависимая от теклистамаба цитотоксичность клеточных линий множественной миеломы;

на **ФИГ. 2** показана кривая ответа дозы цитотоксичности клеток Н929 в цельной крови после 48-часовой инкубации с теклистамабом;

на **ФИГ. 3** показана кривая ответа дозы активации Т-клеток клетками Н929 в цельной крови после 48-часовой инкубации с теклистамабом;

на **ФИГ. 4** показана цитотоксическая активность теклистамаба по отношению к первичным плазменным клеткам множественной миеломы человека;

на **ФИГ. 5** показан аутологичный лизис множественной миеломы CD138+ костного мозга после инкубации с теклистамабом;

на **ФИГ. 6** показаны эффекты предварительного лечения *in vivo* даратумумабом на аутологичную эффективность теклистамаба в случае рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломы CD138+;

на **ФИГ. 7** показана опосредованная теклистамабом цитотоксичность опухолей множественной миеломы ВСМА⁺ в мышинных моделях;

на **ФИГ. 8** показана опосредованная теклистамабом цитотоксичность опухолей множественной миеломы ВСМА+ в мышинных моделях;

на **ФИГ. 9** показано краткое изложение дизайна исследования, описанного в настоящем документе в примере 3;

5 на **ФИГ. 10** показан ответ и время лечения у ответчиков в когортах с внутривенным введением дозы в первый момент окончания сбора данных;

на **ФИГ. 11А** показан профиль зависимости концентрации теклистамаба в сыворотке от времени после внутривенной (IV) инфузии посредством дозирования каждые 2 недели (Q2W) или еженедельно у испытуемых с множественной миеломой для когорт 1-7 в первый момент окончания сбора данных;

на **ФИГ. 11Б** показан профиль зависимости концентрации теклистамаба в сыворотке от времени после IV инфузии посредством дозирования Q2W или еженедельно у испытуемых с множественной миеломой для когорт 8-9 в первый момент окончания сбора данных;

15 на **ФИГ. 11В** показан профиль зависимости концентрации теклистамаба в сыворотке от времени после IV инфузии посредством дозирования Q2W или еженедельно у испытуемых с множественной миеломой для когорт 10-17 в первый момент окончания сбора данных;

на **ФИГ. 12А** показаны уровни Т-клеток CD3+ в ответ на лечение теклистамабом в первый момент окончания сбора данных;

на **ФИГ. 12Б** показаны уровни растворимого фактора IL-2R активации Т-клеток в ответ на лечение теклистамабом в первый момент окончания сбора данных;

на **ФИГ. 13А** показана продолжительность ответа у пациентов, получавших лечение RP2D теклистамаба во второй момент окончания сбора данных;

25 на **ФИГ. 13Б** показана продолжительность ответа у пациентов в когортах внутривенного дозирования во второй момент окончания сбора данных;

на **ФИГ. 13В** показана продолжительность ответа у пациентов в когортах подкожного дозирования во второй момент окончания сбора данных;

на **ФИГ. 14А** показаны средние концентрации теклистамаба в первую неделю после введения первой полной дозы теклистамаба в выбранных когортах, получающих внутривенное введение доз, со значениями EC₉₀, полученными в анализе цитотоксичности ex vivo с применением мононуклеарных клеток костного мозга пациентов с множественной миеломой;

на **ФИГ. 14Б** показаны средние концентрации теклистамаба в первую неделю после введения первой полной дозы теклистамаба в выбранных когортах, получающих подкожное введение доз, со значениями EC_{90} , полученными в анализе цитотоксичности *ex vivo* с применением моноклеарных клеток костного мозга пациентов с множественной миеломой;

на **ФИГ. 14В** показана индукция Т-клеток, положительных по белку запрограммированной клеточной гибели-1, в когортах, которые получали подкожное введение доз, во второй момент окончания сбора данных;

на **ФИГ. 15А** показан график CONSORT (сводные стандарты отчетности об испытаниях) для всей популяции; и

на **ФИГ. 15Б** показан график CONSORT для когорты RP2D.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Описанные способы будут более понятны со ссылкой на приведенное ниже подробное описание в сочетании с прилагаемыми фигурами, которые являются частью настоящего описания. Следует понимать, что описанные способы не ограничены конкретными способами, описанными и/или приведенными в настоящем документе, и что используемая в настоящем документе терминология предназначена для описания конкретных вариантов осуществления исключительно в качестве примера и не призвана носить ограничивающий характер в отношении заявленных способов. Все патенты, опубликованные заявки на патенты и публикации, процитированные в настоящем документе, включены в него путем ссылки, как если бы они были полностью изложены в настоящем документе.

Используемые в настоящем документе формы единственного числа включают в себя и множественное число.

В настоящем описании и формуле изобретения используют различные термины, относящиеся к аспектам настоящего описания. Такие термины должны иметь обычное для них значение в данной области техники, если не указано иное. Другие конкретно определенные термины следует толковать согласно приведенным в настоящем документе определениям.

Термин «около», используемый в отношении числовых диапазонов, отсечек и удельных величин, означает «в пределах приемлемого диапазона ошибки» для конкретного значения, определенного обычным специалистом в данной области, причем ошибка отчасти зависит от того, каким образом измерено или определено это

значение, т. е. от ограничений системы измерения. Если в примерах или в других разделах настоящего описания в контексте анализа, результата или варианта осуществления явным образом не указано иное, термин «около» означает «в пределах одного среднеквадратичного отклонения» в соответствии с практикой, принятой в данной области, или «в диапазоне до 5%», в зависимости от того, что больше.

Термин «**антитела**» подразумевается в широком значении и включает молекулы иммуноглобулинов, в том числе моноклональные антитела, включая мышинные, человеческие, гуманизированные и химерные моноклональные антитела, антигенсвязывающие фрагменты, мультиспецифические антитела, например биспецифические, триспецифические, тетраспецифические и т. п. антитела, димерные, тетрамерные или мультимерные антитела, одноцепочечные антитела, доменные антитела и любую другую модифицированную конфигурацию молекулы иммуноглобулина, которая содержит антигенсвязывающий сайт требуемой специфичности. «Полноразмерные антитела» состоят из двух тяжелых цепей (HC) и двух легких цепей (LC), соединенных между собой дисульфидными связями, а также из их мультимеров (например, IgM). Каждая тяжелая цепь состоит из переменной области тяжелой цепи (VH) и константной области тяжелой цепи (состоящей из доменов CH1, шарнирной области, CH2 и CH3). Каждая легкая цепь состоит из переменной области (VL) легкой цепи и константной области (CL) легкой цепи. Области VH и VL можно дополнительно подразделять на области гипервариабельности, называемые областями, определяющими комплементарность (CDR), между которыми расположены каркасные области (FR). Каждая из VH и VL состоит из трех CDR и четырех сегментов FR, расположенных в направлении от аминокислотного конца в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. Иммуноглобулины могут относиться к пяти основным классам (IgA, IgD, IgE, IgG и IgM) в зависимости от аминокислотной последовательности константного домена тяжелой цепи. IgA и IgG дополнительно подразделяются на изотипы IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Легкие цепи антител любых видов позвоночных можно относить в зависимости от аминокислотных последовательностей их константных доменов к одному из двух четко отличающихся типов, а именно каппа (κ) и лямбда (λ).

Термин «**антигенсвязывающий фрагмент**» или «**антигенсвязывающий домен**» относится к части молекулы иммуноглобулина, которая связывает антиген. Антигенсвязывающие фрагменты могут представлять собой синтетические, ферментативно получаемые или модифицированные методами генной инженерии

полипептиды, и они включают VH, VL, VH и VL, фрагменты Fab, F(ab')₂, Fd и Fv, доменные антитела (dAb), состоящие из одного домена VH или одного домена VL, переменные домены IgNAR акулы, адаптированные к верблюду VH-домены, минимальные единицы распознавания, состоящие из аминокислотных остатков, имитирующих CDR-области антитела, например участки FR3-CDR3-FR4, HCDR1, HCDR2 и/или HCDR3, а также LCDR1, LCDR2 и/или LCDR3. Домены VH и VL могут быть связаны вместе посредством синтетического линкера с образованием различных типов конфигураций одноцепочечных антител, в которых домены VH/VL можно объединять в пару внутримолекулярно или межмолекулярно в тех случаях, когда домены VH и VL экспрессируются отдельными одноцепочечными конструктами антител с образованием моновалентного антигенсвязывающего сайта, такими как одноцепочечный Fv (scFv) или диатело; они описаны, например, в международных патентных публикациях №№ WO1998/44001, WO1988/01649, WO1994/13804 и WO1992/01047.

15 Термин «**BCMA**» относится к антигену созревания В-клеток человека, также известному как CD269 или TNFRSF17 (UniProt Q02223). Внеклеточный домен BCMA охватывает остатки 1–54 последовательности Q02223. BCMA человека содержит аминокислотную последовательность с **SEQ ID NO: 1**.

SEQ ID NO: 1

20 MLQMAGQCSQNEYFDSLHACIPCQLRCSNTPPLTCQRYCNASVTNSVKGT
 NAILWTCLGLSLIISLAVFVLMFLLRKINSEPLKDEFKNTGSGLLGMANIDLEK
 SRTGDEIILPRGLEYTVEECTCEDCIKSKPKVDSDFCFPLPAMEEGATILVTTKT
 NDYCKSLPAALSATEIEKSISAR

25 Термин «**биспецифический**» относится к антителу, которое специфически связывается с двумя разными антигенами или двумя разными эпитопами в пределах одного антигена. Биспецифическое антитело может иметь перекрестную реактивность с другими родственными антигенами, например таким же антигеном от других видов (гомологов), таких как человек или обезьяна, например *Macaca cynomolgus* (яванский макак, крабод) или *Pan troglodytes*, или может связывать эпитоп, который имеется в
 30 двух или более разных антигенах.

«Биспецифическое антитело BCMAxCD3» относится к биспецифическому антителу, которое специфически связывается с BCMA и CD3.

Термин «**рак**» обозначает широкую группу различных заболеваний, характеризующихся неконтролируемым ростом ненормальных клеток в организме.

Нерегулируемое деление и рост клеток приводят к образованию злокачественных опухолей, которые прорастают в соседние ткани и также могут метастазировать в отдаленные части тела через лимфатическую систему или кровотоки. «Рак» или «раковая ткань» может включать в себя опухоль.

5 Термин «**CD3**» относится к человеческому антигену, который экспрессируется на Т-клетках в составе мультимолекулярного комплекса Т-клеточного рецептора (TCR) и который состоит из гомодимера или гетеродимера, образованного в результате ассоциации двух или четырех цепей рецептора: CD3-эпсилон, CD3-дельта, CD3-дзета и CD3-гамма. CD3-эпсилон человека содержит аминокислотную последовательность с
10 SEQ ID NO: 2. SEQ ID NO: 3 демонстрирует внеклеточный домен CD3-эпсилон.

SEQ ID NO: 2

MQSGTHWRVGLCLLSVGVWGQDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQY
PGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKP
EDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLLLLVEYYWSKNRKA
15 KAKPVTRGAGAGGRQQRGQNKERPPVNPDPYEPKRGQRDLVYSGLNQRR

SEQ ID NO: 3

DGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIG
SDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMD

20 Термины «**область CH3**» или «**домен CH3**» относятся к области CH3 иммуноглобулина. Область CH3 антитела IgG1 человека соответствует аминокислотным остаткам 341–446. Однако область CH3 может также представлять собой любой из других изотипов антител, описанных в настоящем документе.

25 Термин «**комбинация**» означает, что два или более терапевтических средства вместе вводят испытуемому в смеси, одновременно в виде отдельных агентов или последовательно в виде отдельных агентов в любом порядке.

30 «**Определяющие комплементарность области (CDR)**» представляют собой области антител, которые связывают антиген. CDR можно определить с помощью различных схем, например по Кабат (Wu *et al. J Exp Med* 132: 211–50, 1970) (Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991), Chothia (Chothia *et al. J Mol Biol* 196: 901-17, 1987), IMGT (Lefranc *et al. Dev Comp Immunol* 27: 55-77, 2003) and AbM (Martin and Thornton *J Mol Biol* 263: 800–15, 1996). Описано соответствие между различными разграничениями и нумерацией переменных областей (см., например, Lefranc *et al.*, *Dev Comp Immunol* 27: 55–77, 2003; Honegger and Pluckthun, *J Mol Biol* 309:657-70, 2001;

база данных International ImMunoGeneTics (IMGT); веб-ресурсы, http://www_imgt_org). Для разметки CDR можно применять доступные программы, такие как abYsis от UCL Business PLC. Используемые в настоящем документе термины «CDR», «HCDR1», «HCDR2», «HCDR3», «LCDR1», «LCDR2» и «LCDR3» включают CDR, определенные любым из способов, описанных выше, по Кабат, Чотиа, IMGT или AbM, если в описании явным образом не указано иное

Предполагается, что термин «**включающий**» служит для включения примеров, которые охватываются терминами «состоящий по существу из» и «состоящий из»; аналогичным образом предполагается, что термин «состоящий по существу из» включает в себя примеры, которые охватываются термином «состоящий из». Если из контекста явно не следует иное, в данном описании и формуле изобретения слова «включать», «включающий» и т. п. следует толковать в охватывающем смысле, в отличие от исключающего или исчерпывающего смысла; то есть в смысле «включая, без ограничений».

Термин «**усиливать**» или «**усиленный**» относится к усилению одной или более функций исследуемой молекулы по сравнению с контрольной молекулой или комбинации исследуемых молекул по сравнению с одной или более контрольными молекулами. Примерами функций, которые можно измерить, являются уничтожение опухолевых клеток, активация Т-клеток, относительное или абсолютное число Т-клеток, опосредованная Fc эффекторная функция (например, ADCC, CDC и/или ADCP) или связывание с Fcγ-рецептором (FcγR) или FcRn. Термин «усиленный» может означать усиление на около 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или более или статистически значимое усиление.

Термин «**Fc-гамма-рецептор**» (**FcγR**) относится к хорошо известным рецепторам FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb или FcγRIII. К активирующим FcγR относятся рецепторы FcγRI, FcγRIIa и FcγRIII.

Термин «**человеческое антитело**» относится к антителу, которое оптимизировано для обеспечения минимального иммунного ответа при введении человеческому индивиду. Варибельные области человеческого антитела получают из последовательностей человеческих иммуноглобулинов. Если антитело содержит константную область или часть константной области, константную область также получают из последовательностей человеческих иммуноглобулинов. Человеческое антитело содержит варибельные области тяжелой и легкой цепи, которые «получены

из» последовательностей человеческого происхождения, если переменные области человеческого антитела получены из системы, в которой используют иммуноглобулин человеческой зародышевой линии или перестроенные гены иммуноглобулина. Такими примерами систем являются библиотеки генов человеческих иммуноглобулинов, отображаемые на фаге, и трансгенные отличные от человека животные, такие как мыши или крысы, несущие локусы человеческих иммуноглобулинов. «Человеческое антитело», как правило, содержит аминокислотные отличия по сравнению с иммуноглобулинами, экспрессируемыми у людей, из-за различий между системами, используемыми для получения человеческих антител и локусов человеческих иммуноглобулинов, внедрения соматических мутаций, намеренного введения замен в каркасные участки и/или CDR, или и то и другое. Как правило, «человеческое антитело» по аминокислотной последовательности на по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентично аминокислотной последовательности, кодируемой генами иммуноглобулина человеческой зародышевой линии или перестроенными генами иммуноглобулина. В некоторых случаях «человеческое антитело» может включать консенсусные каркасные последовательности, полученные в результате анализов человеческих каркасных последовательностей, например, как описано в Knappik et al., (2000) J Mol Biol 296:57–86, или синтетическую HCDR3, включенную в библиотеки генов человеческих иммуноглобулинов, отображаемых на фаге, например, как описано в публикации Shi et al., (2010) J Mol Biol 397:385–96 и международной публ. пат. № WO2009/085462. Антитела, в которых по меньшей мере одна CDR получена из отличного от человека вида, не включены в определение «человеческого антитела».

Термин «**гуманизованное антитело**» относится к антителу, в котором по меньшей мере одна CDR получена из отличного от человека вида, и по меньшей мере один каркас получен из последовательностей человеческого иммуноглобулина. Гуманизованное антитело может включать в себя замены в каркасных областях, в результате чего каркасы могут не быть точной копией экспрессированного человеческого иммуноглобулина или человеческих генных последовательностей зародышевой линии.

Термин «**выделенный**» относится к однородной популяции молекул (таких как синтетические полинуклеотиды или белок, такой как антитело), которые были по существу отделены и/или очищены от других компонентов той системы, в которой

данные молекулы формировались, такой как рекомбинантная клетка, а также к белку, который был подвергнут по меньшей мере одной стадии очистки или выделения.

Термин «выделенное антитело» относится к антителу, которое по существу не содержит иных клеточных материалов и/или химических веществ, и охватывает антитела, которые выделены с более высокой чистотой, такой как 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% чистотой.

Термин «**моноклональное антитело**» относится к антителу, полученному из по существу гомогенной популяции молекул антител, т. е. отдельных антител, составляющих популяцию, идентичных за исключением возможных хорошо известных изменений, таких как удаление С-концевого лизина из тяжелой цепи антитела или посттрансляционные модификации, такие как изомеризация или дезамидирование аминокислот, окисление метионина или аспарагина или дезамидирование глутамина. Моноклональные антитела обычно связывают один антигенный эпитоп.

Биспецифические моноклональные антитела связываются с двумя разными антигенными эпитопами. В пределах популяции антител моноклональные антитела могут иметь гетерогенное гликозилирование. Моноклональное антитело может быть моноспецифическим или мультиспецифическим, например биспецифическим, моновалентным, двухвалентным или мультивалентным.

Термин «**мутация**» относится к сконструированному изменению или изменению природного происхождения в полипептидной или полинуклеотидной последовательности по сравнению с эталонной последовательностью. Изменение может представлять собой замену, вставку или делецию одной (одного) или более аминокислот или полинуклеотидов.

Термин «**мультиспецифический**» относится к антителу, которое специфически связывает по меньшей мере два разных антигена или по меньшей мере два разных эпитопа в пределах одного антигена. Мультиспецифическое антитело может связываться, например, с двумя, тремя, четырьмя или пятью разными антигенами или разными эпитопами в пределах одного антигена.

«**Отрицательный статус минимального остаточного заболевания**» или «отрицательный статус MRD» или «отрицательное MRD» относится к PerMillionCount (т. е. точечной оценке клеток злокачественной миеломы на миллион ядросодержащих клеток) в исследуемом образце костного мозга пациентов по сравнению с их эталонным образцом костного мозга (т. е. образцом костного мозга до воздействия

теклистамаба). На основе указанного значения PerMillionCount каждый образец определяют как положительный или отрицательный. Образцы являются положительными, если значение PerMillionCount больше или равно пределу чувствительности, в противном случае они являются отрицательными. Отрицательный статус минимального остаточного заболевания может быть определен при чувствительности 0,01% (10^{-4}), 0,001% (10^{-5}) или 0,0001% (10^{-6}). Отрицательный статус минимального остаточного заболевания определяли с помощью секвенирования следующего поколения (NGS).

10 Термин «**фармацевтическая композиция**» относится к композиции, которая включает активный ингредиент и фармацевтически приемлемый носитель.

Термин «**фармацевтически приемлемый носитель**» или «**эксципиент**» относится к ингредиенту в фармацевтической композиции, за исключением активного ингредиента, который нетоксичен для испытуемого.

15 Термин «**рекомбинантный**» относится к ДНК, антителам и другим белкам, которые получают, экспрессируют, создают или выделяют рекомбинантными способами, когда сегменты из разных источников соединены с получением рекомбинантной ДНК, антител или белков.

20 Термин «**снижать**» или «**сниженный**» относится к снижению одной или более функций исследуемой молекулы по сравнению с контрольной молекулой или комбинации исследуемых молекул по сравнению с одной или более контрольными молекулами. Примерами функций, которые можно измерить, являются уничтожение опухолевых клеток, активация Т-клеток, относительное или абсолютное число Т-клеток, опосредованная Fc эффекторная функция (например, ADCC, CDC и/или ADCP) или связывание с Fc γ -рецептором (Fc γ R) или FcRn. Термин «**сниженный**» может означать снижение на около 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или более, или статистически значимое снижение.

Термин «**рефрактерный**» относится к раку, который не поддается хирургическому вмешательству и изначально невосприимчив к терапии.

30 Термин «**рецидивирующий**» относится к раку, который отвечал на лечение, но затем вернулся.

Термин «**испытуемый**» включает любого человека или не относящееся к человеку животное. Термин «не относящееся к человеку животное» включает в себя всех позвоночных, например млекопитающих и не млекопитающих, таких как приматы, овцы, собаки, кошки, лошади, коровы, цыплята, амфибии, рептилии и т. д.

Если не указано иное, термины «пациент» или «субъект» применяются взаимозаменяемо.

Термин «**перенаправляющее Т-клетки терапевтическое средство**» относится к молекуле, включающей две или более связывающих областей, причем одна из связывающих областей специфически связывается с антигеном клеточной поверхности на клетке-мишени или ткани, и причем вторая связывающая область молекулы специфически связывается с Т-клеточным антигеном. Примеры антигена клеточной поверхности включают в себя опухлеассоциированный антиген, такой как ВСМА. Примеры Т-клеточного антигена включают в себя, например, CD3. Такая способность связываться с двумя или несколькими мишенями рекрутирует Т-клетки к клетке-мишени или ткани, что приводит к уничтожению клетки-мишени или ткани.

Термин «**терапевтически эффективное количество**» относится к некоторому количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество может изменяться в зависимости от таких факторов, как течение заболевания, возраст, пол и масса тела испытуемого, а также от способности терапевтического средства или комбинации терапевтических средств вызывать у испытуемого требуемый ответ. Примеры показателей эффективного терапевтического средства или комбинации терапевтических средств, которые включают, например, улучшенное самочувствие пациента.

Термины «**лечить**» или «лечение» обозначают как терапевтическое лечение, так и профилактические или превентивные меры, причем целью является предотвращение или замедление (уменьшение) нежелательного физиологического изменения или расстройства. Преимущественные или желательные клинические результаты включают в себя ослабление симптомов, уменьшение степени заболевания, стабилизацию (т. е. отсутствие ухудшения) течения заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания, облегчение или временное улучшение болезненного состояния и ремиссию (частичную или полную), как обнаруживаемые, так и не обнаруживаемые. Термин «лечение» может также означать продление выживаемости по сравнению с выживаемостью, ожидаемой в случае, если субъект не получает лечение. Требующие лечения пациенты включают тех, которые уже имеют состояние или расстройство, а также тех, которые имеют предрасположенность к развитию состояния или расстройства, или тех, у которых такое состояние или расстройство необходимо предотвратить.

Термин «**опухолевая клетка**» или «раковая клетка» относится к раковой, предраковой или трансформированной клетке, либо *in vivo*, *ex vivo*, либо в культуре тканей, которая имеет спонтанные или индуцированные фенотипические изменения. Эти изменения не обязательно затрагивают поступление нового генетического материала. Хотя трансформация может быть вызвана инфекцией трансформирующим вирусом и встраиванием новой геномной нуклеиновой кислоты, поглощением экзогенной нуклеиновой кислоты или она также может возникать спонтанно или после воздействия канцерогена, в результате чего происходит мутация эндогенного гена. Трансформация/рак проявляются в морфологических изменениях, иммортализации клеток, нарушении контроля роста, образовании очагов, пролиферации, злокачественности, модулировании уровней маркера, специфичных для опухоли, инвазивности, росте опухоли у приемлемых животных-хозяев, таких как бестимусные мыши и т. п., *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo*.

Нумерация аминокислотных остатков в константной области антитела в тексте описания приведена в соответствии с каталогом ЕС, как описано в публикации Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991), если явно не указано иное. Нумерация константной цепи антитела приведена, например, на веб-сайте ImMunoGeneTics, на веб-ресурсах IMGT на диаграммах IMGT Scientific.

В настоящем документе применяются традиционные одно- и трехбуквенные коды обозначения аминокислот, как показано в таблице 1.

Таблица 1.

Аминокислота	Трехбуквенный код	Однбуквенный код
Аланин	Ala	О
Аргинин	Arg	R
Аспарагин	Asn	N
Аспаргат	Asp	D
Цистеин	Cys	C
Глутамат	Gln	E
Глутамин	Glu	Q
Глицин	Gly	G
Гистидин	His	H
Изолейцин	Ile	I
Лейцин	Leu	L
Лизин	Lys	K
Метионин	Met	M

Фенилаланин	Phe	F
Пролин	Pro	П
Серин	Ser	S
Треонин	Thr	T
Триптофан	Trp	W
Тирозин	Tyr	Y
Валин	Val	V

Биспецифические антитела ВСМАхCD3 и их применение

Изобретение основано, по меньшей мере частично, на обнаружении того, что терапевтический агент теклистамаб может быть применен для лечения множественной миеломы у испытуемых с рецидивом или рефрактерностью к лечению предшествующим противораковым терапевтическим средством.

Соответственно, в одном общем аспекте, изобретение относится к способу лечения рака у испытуемого, включающему введение испытуемому терапевтически эффективного количества биспецифического антитела ВСМАхCD3 для лечения рака, когда у испытуемого наблюдается рецидив или рефрактерность к лечению предшествующим противораковым терапевтическим средством.

Антиген созревания В-клеток (ВСМА) представляет собой связанный с клеточной мембраной член семейства рецепторов фактора некроза опухоли, участвующий в дифференциации В-клеток в плазматические клетки. Экспрессия ВСМА ограничена В-клеточной линией дифференциации, в которой он преимущественно экспрессируется в межфолликулярной области зародышевых центров и на дифференцированных плазматических клетках и плазмобластах. ВСМА практически отсутствует на наивных В-клетках и В-клетках памяти (Tai and Anderson, Immunotherapy 7: 1187–99, 2015).

Антитела

В изобретении может быть применено любое приемлемое биспецифическое антитело ВСМАхCD3, известное специалистам в данной области с учетом настоящего описания.

Различные форматы биспецифических антител включают в себя форматы, описанные в настоящем документе, и рекомбинантные IgG-подобные молекулы с двойным нацеливанием, причем каждая из двух сторон молекулы содержит Fab-фрагмент или часть Fab-фрагмента по меньшей мере двух разных антител; слитые молекулы IgG, в которых полноразмерные антитела IgG слиты с дополнительным Fab-фрагментом или частями Fab-фрагмента; слитые молекулы Fc, в которых одноцепочечные молекулы Fv

или стабилизированные диатела слиты с константными доменами тяжелой цепи, областями Fc или их частями; слитые молекулы Fab, в которых разные Fab-фрагменты слиты друг с другом; антитела из тяжелых цепей на основе ScFv и диател (например, доменные антитела, нанотела), в которых разные одноцепочечные молекулы Fv, или
5 разные диатела, или разные антитела из тяжелых цепей (например, доменные антитела, нанотела) слиты друг с другом, или с другим белком, или молекулой-носителем, или биспецифическими антителами, полученными в результате обмена плечами. Примеры биспецифических форматов включают в себя молекулы с двойным нацеливанием, включающие в себя молекулы (DT)-Ig с двойным нацеливанием (GSK/Domantis),
10 антитело «два в одном» (Genentech) и mAt2 (F-Star), молекулы с двойным переменным доменом (DVD)-Ig (Abbott), DuoBody (Genmab), Ts2Ab (MedImmune/AZ) и BsAb (Zymogenetics), HERCULES (Biogen Idec) и TvAb (Roche), слитые белки ScFv/Fc (Academic Institution), SCORPION (Emergent BioSolutions/Trubion, Zymogenetics/BMS) и перенацеливающиеся антитела с двойной аффинностью (Fc-DART) (MacroGenics), F(ab)2
15 (Medarex/AMGEN), антитела «двойного действия» или Bis-Fab (Genentech), Dock-and-Lock (DNL) (ImmunoMedics), двухвалентное биспецифическое антитело (Biotecnol) и Fab-Fv (UCB-Celltech), биспецифический T-клеточный активатор (BITE) (Micromet), тандемное диатело (Tandab) (Affimed), перенацеливающиеся антитела с двойной аффинностью (DART) (MacroGenics), одноцепочечное диатело (Academic), TCR-
20 подобные антитела (AIT, ReceptorLogics), слитый белок ScFv и человеческого сывороточного альбумина (Merrimack) и COMBODY (Epigen Biotech), нанотела с двойным нацеливанием (Ablynx), доменные антитела с двойным нацеливанием, имеющие только тяжелую цепь. Были описаны разные форматы биспецифических антител, например, в публикации Chames and Baty (2009) Curr Opin Drug Disc Dev 12: 276 и Nunez-
25 Prado et al., (2015) Drug Discovery Today 20(5):588–594.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 включает любой из ВСМА-связывающих доменов, описанных в WO 2017/031104, полное содержание которой включено в настоящий документ путем ссылки. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 включает
30 любой из CD3-связывающих доменов, описанных в WO 2017/031104. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 включает любое из биспецифических антител ВСМАхCD3 или их антигенсвязывающих фрагментов, описанных в WO 2017/031104.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело BCMAxCD3 включает BCMA-связывающий домен, включающую определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1) с SEQ ID NO: 14, HCDR2 с SEQ ID NO: 15, HCDR3 с SEQ ID NO: 16, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1) с SEQ ID NO: 17, LCDR2 с SEQ ID NO: 18 и LCDR3 с SEQ ID NO: 19; или переменную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 20 и переменную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 21.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело BCMAxCD3 включает BCMA-связывающий домен, включающий определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1) с SEQ ID NO: 4, HCDR2 с SEQ ID NO: 5, HCDR3 с SEQ ID NO: 6, LCDR1 с SEQ ID NO: 7, LCDR2 с SEQ ID NO: 8 и LCDR3 с SEQ ID NO: 9. или переменную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 10 и переменную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 11.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело BCMAxCD3 включает первую тяжелую цепь (HC1) с SEQ ID NO: 12, первую легкую цепь (LC1) с SEQ ID NO: 13, вторую тяжелую цепь (HC2) с SEQ ID NO: 22 и вторую легкую цепь (LC2) с SEQ ID NO: 23.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело BCMAxCD3 является химерным, гуманизированным или человеческим.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело BCMAxCD3 представляет собой антигенсвязывающий фрагмент. Примерами антигенсвязывающих фрагментов являются фрагменты Fab, F(ab')₂, Fd и Fv.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело имеет изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В предпочтительных вариантах осуществления биспецифическое антитело относится к изотипу IgG4. Пример IgG4 дикого типа содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 24.

SEQ ID NO: 24:

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCP
SCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSLGK

Биспецифическое антитело может относиться к любому аллотипу. Ожидается, что аллотип не влияет на свойства биспецифических антител, такие как связывание или опосредованные Fc эффекторные функции. Иммуногенность терапевтических антител связана с повышенным риском реакций на инфузию и сниженной длительностью терапевтического ответа (Baert *et al.*, (2003) *N Engl J Med* 348:602–08). Степень, с которой терапевтические антитела индуцируют иммунный ответ в организме-хозяине, отчасти может определяться аллотипом антитела (Stickler *et al.*, (2011) *Genes and Immunity* 12:213–21). Аллотип антитела связан с вариациями аминокислотной последовательности в конкретных положениях в последовательностях константных областей антитела. В таблице 2 приведены выбранные аллотипы IgG1, IgG2 и IgG4.

Таблица 2.

Аллотип	Аминокислотный остаток в позиции различия (нумерация остатков: каталог ЕС)							
	IgG2		IgG4		IgG1			
	189	282	309	422	214	356	358	431
G2m(n)	T	M						
G2m(n-)	P	V						
G2m(n)/(n-	T	V						
nG4m(a)			L	R				
G1m(17)					K	E	M	O
G1m(17,1)					K	D	L	O

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает одну или более замен в Fc-области, которая уменьшает связывание биспецифического антитела с Fcγ-рецептором (FcγR) и/или уменьшает эффекторные функции Fc, такие как связывание C1q, комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC), антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC) или фагоцитоз (ADCP). Конкретные замены можно выполнять при сравнении с IgG4 дикого типа с SEQ ID NO: 24.

Положения в Fc-области, в которых можно произвести замену для снижения связывания Fc-области с активирующим рецептором FcγR и для снижения эффекторной функции впоследствии, представляют собой замены L234A/L235A в IgG1, V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S в IgG2, F234A/L235A в IgG4, S228P/F234A/L235A в IgG4, N297A во всех изотипах Ig, V234A/G237A в IgG2, K214T/E233P/L234V/L235A/G236-делеция/A327G/P331A/D365E/L358M в IgG1,

H268Q/V309L/ A330S/P331S в IgG2, S267E/L328F в IgG1, L234F/L235E/D265A в IgG1, L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S в IgG1, S228P/F234A/L235A/G237A/P238S в IgG4 и S228P/F234A/L235A/G236-
 делеция/G237A/P238S в IgG4, причем нумерация остатков происходит в соответствии с
 5 каталогом ЕС.

Замены в Fc-области, которые могут применяться для снижения CDC, представляют собой замену K322A.

Для дополнительного усиления стабильности IgG4 в антителах IgG4 можно выполнять известную замену S228P.

10 В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело включает одну или более асимметричных замен в первом домене СН3 или во втором домене СН3, либо как в первом домене СН3, так и во втором домене СН3.

В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен выбраны из группы, состоящей из F405L/K409R, дикого типа/F405L_R409K,
 15 T366Y/F405A, T366W/F405W, F405W/Y407A, T394W/Y407T, T394S/Y407A, T366W/T394S, F405W/T394S и T366W/T366S_L368A_Y407V, L351Y_F405A_Y407V/T394W, T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V, T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V, L351Y_Y407A/T366A_K409F, L351Y_Y407A/T366V_K409F, Y407A/T366A_K409F и
 20 T350V_L351Y_F405A_Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 представляет собой изотип IgG4 и содержит фенилаланин в положении 405 и аргинин в положении 409 в первой тяжелой цепи (HC1), а также лейцин в положении 405 и лизин в положении 409 во второй тяжелой цепи (HC2), причем нумерация остатков
 25 соответствует каталогу ЕС.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 дополнительно содержит пролин в положении 228, аланин в положении 234 и аланин в положении 235 как в HC1, так и в HC2.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 содержит HC1 с SEQ ID NO: 31, первую легкую цепь (LC1) с SEQ ID NO: 32, HC2 с
 30 SEQ ID NO: 41 и вторую легкую цепь (LC2) с SEQ ID NO: 42.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 представляет собой CC-93269, BI 836909, JNJ-64007957 (теклистамаб) или PF-

06863135. В предпочтительных вариантах осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 представляет собой теклистамаб.

Раковые заболевания

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологическое злокачественное новообразование или солидную опухоль.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой множественную миелому, вялотекущую множественную миелому, моноклональную гаммапатию неясного генеза (МГНГ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), лимфому Беркитта (ЛБ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), макроглобулинемию Вальденстрема, плазмоцитарный лейкоз, амилоидоз легкой цепи (АЛЦ), В-клеточный лимфобластный лейкоз из клеток-предшественников, острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), миелодиспластический синдром (МДС), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), злокачественную В-клеточную опухоль, хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), лейкоз ворсистых клеток (ЛВК), бластную плазмочитоидную дендритноклеточную опухоль, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, В-клеточную лимфому маргинальной зоны (ЛМЗ), лимфому лимфоидной ткани слизистых оболочек (MALT), анапластическую крупноклеточную лимфому (АККЛ), лейкоз или лимфому.

В предпочтительных вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой множественную миелому. В некоторых вариантах осуществления у испытуемого впервые диагностирована множественная миелома. В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается рецидив или рефрактерность к лечению предшествующим противораковым терапевтическим средством, таким как терапевтическое средство, используемое для лечения множественной миеломы или других гематологических злокачественных опухолей.

В некоторых вариантах осуществления у испытуемого наблюдается рецидив или рефрактерность к лечению одним или более способами лечения или терапиями, такими как THALOMID[®] (талидомид), REVLIMID[®] (леналидомид), POMALYST[®] (помалидомид), VELCADE[®] (бортезомиб), NINLARO (иксазомиб), KYPROLIS[®] (карфилзомиб), FARADYK[®] (панобиностат), AREDIA[®] (памидронат), ZOMETHA[®] (золедроновая кислота), DARZALEX[®] (даратумумаб), элтозумаб или мелфалан, Хрovio[®] (селинексор), Venclexta[®] (венетоклакс), GSK 916, CAR-T-терапии, другие направленные на ВСМА терапии.

Различные качественные и/или количественные способы могут применяться для определения рецидивирующих или рефрактерных форм заболевания. Симптомами, которые могут быть связаны, например, с ухудшением или отсутствием улучшения состояния пациента или возвратом или ухудшением различных симптомов, связанных с
 5 солидными опухолями, и/или распространением раковых клеток в организме из одного места в другие органы, ткани или клетки.

В некоторых вариантах осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной к лечению антителом к CD38, селинексором, венетоклаксом, леналиномидом, бортезомибом, помалидомидом, карфилзомибом,
 10 элтозумабом, иксазомибом, мелфаланом или талидомидом или любой их комбинацией.

В некоторых вариантах осуществления множественная миелома представляет собой множественную миелому высокого риска. Известно, что испытуемые с множественной миеломой высокого риска раньше испытывают рецидивы и имеют
 15 неблагоприятный прогноз и исход. Испытуемых можно классифицировать как имеющие множественную миелому высокого риска, если они имеют одну или более из следующих цитогенетических аномалий: t(4;14)(p16;q32), t(14;16)(q32;q23), del17p, 1qAmp, t(4;14)(P16;q32) и t(14;16)(q32;q23), t(4;14)(p16;q32) и del17p, t(14;16)(q32;q23) и del17p, или t(4;14)(p16;q32), t(14;16)(q32;q23) и del17p. В некоторых вариантах
 20 осуществления субъект с множественной миеломой высокого риска имеет одну или более хромосомных аномалий, включающих: t(4;14)(p16;q32), t(14;16)(q32;q23), del17p, 1qAmp, t(4;14)(P16;q32) и t(14;16)(q32;q23), t(4;14)(p16;q32) и del17p, t(14;16)(q32;q23) и del17p; или t(4;14)(P16;q32), t(14;16)(q32;q23) и del17p или любую их комбинацию.

Цитогенетические аномалии можно обнаружить, например, с помощью
 25 флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH). При хромосомных транслокациях онкоген перемещается в область IgH на хромосоме 14q32, что приводит к дисрегуляции этих генов. Аномалия t(4;14)(P16;q32) включает транслокацию рецептора фактора роста фибробластов 3 (FGFR3) и белка, содержащего домен множественной миеломы SET (MMSET) (также называемого WHSC1/NSD2), а t(14;16)(q32;q23) включает
 30 транслокацию фактора транскрипции MAF C-MAF. Делеция 17p (del17p) включает утрату локуса гена p53.

Хромосомные перестройки можно идентифицировать с использованием хорошо известных методов, например флуоресцентной гибридизацией *in situ*, кариотипированием, гель-электрофорезом в пульсирующем поле или секвенированием.

Композиции

Биспецифическое антитело ВСМАхCD3 может быть составлено в виде фармацевтической композиции, включающей от около 1 мг/мл до около 200 мг/мл антитела.

5 В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит один или более эксципиентов. В некоторых вариантах осуществления один или более эксципиентов включают, без ограничений, буферный агент, сахар, поверхностно-активное вещество, хелатор или любую их комбинацию.

10 В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает:

от около 20 мг/мл до около 120 мг/мл биспецифического антитела ВСМАхCD3, например около 20 мг/мл, около 25 мг/мл, около 30 мг/мл, около 35 мг/мл, около 40 мг/мл, около 45 мг/мл, около 50 мг/мл, около 60 мг/мл, около 70 мг/мл, около 80 мг/мл, около 90 мг/мл, около 100 мг/мл, около 110 мг/мл, около 120 мг/мл или любое
15 промежуточное значение биспецифического антитела ВСМАхCD3;

от около 5 мМ до около 20 мМ буферного агента, например около 5 мМ, около 10 мМ, около 15 мМ, около 20 мМ или любое промежуточное значение фосфата натрия, KH_2PO_4 , ацетата натрия или цитрата натрия;

от около 1% мас./об. до около 20% мас./об. сахара, например около 1% мас./об.,
20 около 2% мас./об., около 3% мас./об., около 4% мас./об., около 5% мас./об., около 6% мас./об., около 7% мас./об., около 8% мас./об., около 9% мас./об., около 10% мас./об., около 15% мас./об., около 20% мас./об. или любое промежуточное значение глюкозы, сахарозы или целлобиозы;

от около 0,01% мас./об. до около 2% мас./об. поверхностно-активного вещества,
25 например около 0,01% мас./об., около 0,02% мас./об., около 0,03% мас./об., около 0,04% мас./об., около 0,05% мас./об., около 0,06% мас./об., около 0,07% мас./об., около 0,08% мас./об., около 0,09% мас./об., около 0,1% мас./об., около 0,5% мас./об., около 1% мас./об., около 1,5% мас./об., около 2% мас./об. или любое промежуточное значение полисорбата 80 (PS-80) или PS-20; и

30 от около 5 мМ до около 40 мМ, например около 5 мМ, около 10 мМ, около 15 мМ, около 20 мМ, около 25 мМ, около 30 мМ, около 35 мМ, около 40 мМ или любое промежуточное значение этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA) или соли эдетата при pH около 5–6, например около 5, около 5,1, около 5,2, около 5,3, около 5,4,

около 5,5, около 5,6, около 5,7, около 5,8, около 5,9, около 6 или любое промежуточное значение.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно включает от около 0,1 мг/мл до около 5 мг/мл аминокислоты, например
5 около 0,1 мг/мл, около 0,2 мг/мл, около 0,3 мг/мл, около 0,4 мг/мл, около 0,5 мг/мл, около 0,6 мг/мл, около 0,7 мг/мл, около 0,8 мг/мл, около 0,9 мг/мл, около 1 мг/мл, около 2 мг/мл, около 3 мг/мл, около 4 мг/мл, около 5 мг/мл или любое промежуточное значение метионина или аргинина.

В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция, пригодная для
10 настоящего изобретения, включает биспецифическое антитело ВСМАхCD3, такое как теклистамаб, 20 мМ фосфата натрия, 10% массы/объем (мас./об.) сахарозы, 0,06% (мас./об.) PS80 и 25 мкг/мл EDTA при pH 5,4.

В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция, пригодная для настоящего изобретения, включает биспецифическое антитело ВСМАхCD3, такое
15 как теклистамаб, от 10 до 15 мМ ацетата натрия, 8% (мас./об.) сахарозы, 0,04% (мас./об.) PS20 и 20 мкг/мл EDTA при pH 5,2.

В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция, пригодная для настоящего изобретения, включает биспецифическое антитело ВСМАхCD3, такое как теклистамаб, 15 мМ KH_2PO_4 , 10% (мас./об.) целлобиозы, 0,05% (мас./об.) PS20 и 25
20 мкг/мл EDTA при pH 5,1.

Введение

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят путем внутривенной инъекции.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят путем подкожной инъекции.

Доза биспецифического антитела ВСМАхCD3, вводимая испытуемому, страдающему от рака, такого как множественная миелома, является достаточной для облегчения или по меньшей мере частичной приостановки заболевания, подвергаемого
30 лечению («терапевтически эффективное количество») и включает в себя от около 0,1 мкг/кг до около 6000 мкг/кг, например от около 0,3 мкг/кг до около 5000 мкг/кг, от около 0,1 мкг/кг до около 3000 мкг/кг, от около 0,2 мкг/кг до около 3000 мкг/кг, от около 0,3 мкг/кг до около 3000 мкг/кг, от около 0,6 мкг/кг до около 3000 мкг/кг, от около 1,2 мкг/кг до около 3000 мкг/кг, от около 19,2 мкг/кг до около 3000 мкг/кг, от

мкг/кг до около 100 мкг/кг антитела. Пригодные дозы включают в себя, например, около 0,1 мкг/кг, около 0,2 мкг/кг, около 0,3 мкг/кг, около 0,6 мкг/кг, около 1,2 мкг/кг, около 2,4 мкг/кг, около 4,8 мкг/кг, около 9,6 мкг/кг. мкг/кг, около 19,2 мкг/кг, около 20 мкг/кг, около 35 мкг/кг, около 38,4 мкг/кг, около 40 мкг/кг, около 50 мкг/кг, около 57,6 мкг/кг, около 60 мкг/ кг, около 80 мкг/кг, около 100 мкг/кг, около 120 мкг/кг, около 180 мкг/кг, около 240 мкг/кг, около 270 мкг/кг, около 300 мкг/кг, около 720 мкг/кг, около 850 мкг/кг, около 1000 мкг/кг, около 1100 мкг/кг, около 1200 мкг/кг, около 1300 мкг/кг, около 1400 мкг/кг, около 1500 мкг/кг, около 1600 мкг/кг, около 1700 мкг/кг, около 1800 мкг/кг, около 2000 мкг/кг, около 2500 мкг/кг, около 3000 мкг/кг, около 3500 мкг/кг, около 4000 мкг/кг, около 4500 мкг/кг, около 5000 мкг/кг, около 5500 мкг/кг, около 6000 мкг/кг или любую промежуточную дозу.

Также можно вводить фиксированную стандартную дозу биспецифического антитела ВСМАхCD3, например, 50, 100, 200, 500 или 1000 мг, или любое промежуточное значение, или доза может быть основана на площади поверхности тела пациента, например 500, 400, 300, 250, 200 или 100 мг/м² или иметь любое промежуточное значение. Для лечения рака, такого как множественная миелома, обычно можно вводить от 1 до 8 доз (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8), но можно вводить и 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более доз.

Введение биспецифического антитела ВСМАхCD3 можно повторять через одни сутки, двое суток, трое суток, четверо суток, пять суток, шесть суток, одну неделю, две недели, три недели, один месяц, пять недель, шесть недель, семь недель, два месяца, три месяца, четыре месяца, пять месяцев, шесть месяцев или более. Кроме того, возможны повторные курсы лечения в виде длительного введения. Повторное введение можно проводить в той же дозе или в другой дозе. Например, биспецифическое антитело ВСМАхCD3 можно вводить в первой дозе с недельными интервалами в течение определенного количества недель, с последующим введением второй дозы каждые две недели в течение дополнительного определенного количества недель, с последующим введением третьей дозы каждую неделю в течение дополнительного определенного количества недель.

Биспецифическое антитело ВСМАхCD3 можно вводить в виде поддерживающей терапии, например, один раз в неделю в течение периода 6 или более месяцев. Например, биспецифическое антитело ВСМАхCD3 может быть обеспечено в виде суточной дозы в количестве от около 0,1 мкг/кг до около 6000 мкг/кг, например от около 0,2 мкг/кг до около 3000 мкг/кг, от около 0,2 мкг/кг до около 2000 мкг/кг, от

около 0,2 мкг/кг до около 1500 мкг/кг, от около 0,3 мкг/кг до около 1500 мкг/кг, около 0,6 от мкг/кг до около 720 мкг/кг, от около 1,2 мкг/кг до около 270 мкг/кг, от около 19,2 мкг/кг до около 720 мкг/кг, от около 35 мкг/кг до около 850 мкг/кг, от около 270 мкг/кг кг до около 720 мкг/кг антитела в сутки по меньшей мере в одни из суток 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, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40 или, альтернативно, по меньшей мере в одну из недели 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 после начала лечения или любой их комбинации с применением одной или разделенной дозы каждые 24, 12, 8, 6, 4 или 2 часа или в любой их комбинации.

10 В одном варианте осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят внутривенно один раз в неделю в одной дозе. Например, биспецифическое антитело ВСМАхCD3 можно вводить внутривенно один раз в неделю в количестве около 0,1 мкг/кг, около 0,2 мкг/кг, около 0,3 мкг/кг, около 0,6 мкг/кг, около 1,2 мкг/кг, около 2,4 мкг/кг, около 4,8 мкг/кг, около 9,6 мкг/кг, около 19,2 мкг/кг, около 20 мкг/кг, 15 около 35 мкг/кг, около 38,4 мкг/кг, около 40 мкг/кг, около 50 мкг/ кг, около 57,6 мкг/кг, около 60 мкг/кг, около 80 мкг/кг, около 100 мкг/кг, около 120 мкг/кг, около 180 мкг/кг, около 240 мкг/кг, около 270 мкг/кг, около 300 мкг/кг, около 720 мкг/кг, около 850 мкг/кг, около 1000 мкг/кг, около 1100 мкг/кг, около 1200 мкг/кг, около 1300 мкг/кг, около 1400 мкг/кг, около 1500 мкг/кг, около 1500 мкг/кг, около 1600 мкг/кг, около 1700 20 мкг/кг, около 1800 мкг/кг или любой промежуточной дозе.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят внутривенно два раза в неделю в одной дозе. Например, биспецифическое антитело ВСМАхCD3 можно вводить внутривенно два раза в неделю в количестве около 0,1 мкг/кг, около 0,2 мкг/кг, около 0,3 мкг/кг, около 0,6 мкг/кг, около 1,2 мкг/кг, 25 около 2,4 мкг/кг, около 4,8 мкг/кг, около 9,6 мкг/кг, около 19,2 мкг/кг, около 20 мкг/кг, около 35 мкг/кг, около 38,4 мкг/кг, около 40 мкг/кг, около 50 мкг/ кг, около 57,6 мкг/кг, около 60 мкг/кг, около 80 мкг/кг, около 100 мкг/кг, около 120 мкг/кг, около 180 мкг/кг, около 240 мкг/кг, около 270 мкг/кг, около 300 мкг/кг, около 720 мкг/кг, около 850 мкг/кг, около 1000 мкг/кг, около 1100 мкг/кг, около 1200 мкг/кг, около 1300 мкг/кг, 30 около 1400 мкг/кг, около 1500 мкг/кг, около 1500 мкг/кг, около 1600 мкг/кг, около 1700 мкг/кг, около 1800 мкг/кг или любой промежуточной дозе.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят внутривенно в повышающей (или «начальной») дозе с последующим еженедельным введением в более высокой дозе. Например, биспецифическое антитело

BCMAxCD3 можно вводить внутривенно в повышающей дозе около 0,1 мкг/кг, около 0,2 мкг/кг, около 0,3 мкг/кг, около 0,6 мкг/кг, около 1,2 мкг/кг, около 2,4 мкг/кг, около 4,8 мкг/кг, около 9,6 мкг/кг, около 10 мкг/кг, около 19,2 мкг/кг, около 20 мкг/кг или любой промежуточной дозе с последующим еженедельным внутривенным введением дозы около 35 мкг/кг, около 38,4 мкг/кг, около 40 мкг/кг, около 50 мкг/кг, около 57,6 мкг/кг, около 60 мкг/кг, около 80 мкг/кг или любой промежуточной дозе.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело BCMAxCD3 вводят внутривенно в повышающей дозе с последующим введением в более высокой повышающей дозе с последующим еженедельным введением в третьей, более высокой дозе. Например, биспецифическое антитело BCMAxCD3 можно вводить внутривенно в повышающей дозе около 0,1 мкг/кг, около 0,2 мкг/кг, около 0,3 мкг/кг, около 0,6 мкг/кг, около 1,2 мкг/кг, около 2,4 мкг/кг, около 4,8 мкг/кг, около 9,6 мкг/кг, около 10 мкг/кг, около 19,2 мкг/кг, около 20 мкг/кг или любой промежуточной дозе с последующим внутривенным введением на повышающей дозе около 35 мкг/кг, около 38,4 мкг/кг, около 40 мкг/кг, около 50 мкг/кг, около 57,6 мкг/кг, около 60 мкг/кг, около 80 мкг/кг или любой промежуточной дозе с последующим еженедельным внутривенным введением в дозе около 80 мкг/кг, около 100 мкг/кг, около 120 мкг/кг, около 180 мкг/кг, около 240 мкг/кг, около 270 мкг/кг или любой промежуточной дозе.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело BCMAxCD3 вводят внутривенно в повышающей дозе с последующим введением в более высокой повышающей дозе, с последующим введением в третьей, более высокой повышающей дозе, с последующим еженедельным введением в четвертой более высокой дозе. Например, биспецифическое антитело BCMAxCD3 можно вводить внутривенно в повышающей дозе около 0,1 мкг/кг, около 0,2 мкг/кг, около 0,3 мкг/кг, около 0,6 мкг/кг, около 1,2 мкг/кг, около 2,4 мкг/кг, около 4,8 мкг/кг, около 9,6 мкг/кг, около 10 мкг/кг, около 19,2 мкг/кг, около 20 мкг/кг или любой промежуточной дозе с последующим внутривенным введением в повышающей дозе около 35 мкг/кг, около 38,4 мкг/кг, около 40 мкг/кг, около 50 мкг/кг, около 57,6 мкг/кг, около 60 мкг/кг, около 80 мкг/кг или любой промежуточной дозе с последующим внутривенным введением в повышающей дозе около 80 мкг/кг, около 100 мкг/кг, около 120 мкг/кг, около 180 мкг/кг, около 240 мкг/кг, около 270 мкг/кг или любой промежуточной дозе, с последующим еженедельным внутривенным введением в дозе около 300 мкг/кг, около 720 мкг/кг, около 850 мкг/кг, около 1000 мкг/кг, около 1100 мкг/кг, около 1200 мкг/кг,

около 1300 мкг /кг, около 1400 мкг/кг, около 1500 мкг/кг, около 1600 мкг/кг, около 1700 мкг/кг, около 1800 мкг/кг или любой промежуточной дозе.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят подкожно один раз в неделю в одной дозе. Например, биспецифическое антитело ВСМАхCD3 можно вводить подкожно один раз в неделю в количестве около 0,1 мкг/кг, около 0,2 мкг/кг, около 0,3 мкг/кг, около 0,6 мкг/кг, около 1,2 мкг/кг, около 2,4 мкг/кг, около 4,8 мкг/кг, около 9,6 мкг/кг, около 19,2 мкг/кг, около 20 мкг/кг, около 35 мкг/кг, около 38,4 мкг/кг, около 40 мкг/кг, около 50 мкг/ кг, около 57,6 мкг/кг, около 60 мкг/кг, около 80 мкг/кг, около 100 мкг/кг, около 120 мкг/кг, около 180 мкг/кг, около 240 мкг/кг, около 270 мкг/кг, около 300 мкг/кг, около 720 мкг/кг, около 850 мкг/кг, около 1000 мкг/кг, около 1100 мкг/кг, около 1200 мкг/кг, около 1300 мкг/кг, около 1400 мкг/кг, около 1500 мкг/кг, около 1500 мкг/кг, около 1600 мкг/кг, около 1700 мкг/кг, около 1800 мкг/кг, около 2000 мкг/кг, около 2500 мкг/кг, около 3000 мкг/кг, около 3500 мкг/ кг, около 4000 мкг/кг, около 4500 мкг/кг, около 5000 мкг/кг или любой промежуточной дозе.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят подкожно в повышающей дозе с последующим еженедельным введением в более высокой дозе. Например, биспецифическое антитело ВСМАхCD3 можно вводить подкожно в повышающей дозе около 10 мкг/кг, около 20 мкг/кг, около 35 мкг/кг, около 40 мкг/кг, около 50 мкг/кг, около 60 мкг/кг или любой промежуточной дозе с последующим еженедельным подкожным введением в дозе около 80 мкг/кг, около 100 мкг/кг, около 240 мкг/кг, около 300 мкг/кг или любой промежуточной дозе.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят подкожно в повышающей дозе с последующим введением в более высокой повышающей дозе с последующим еженедельным введением в третьей, более высокой дозе. Например, биспецифическое антитело ВСМАхCD3 можно вводить подкожно в возрастающей дозе около 10 мкг/кг, около 20 мкг/кг, около 35 мкг/кг, около 40 мкг/кг, около 50 мкг/кг, около 60 мкг/кг или любой промежуточной дозе с последующим подкожным введением в повышающей дозе около 80 мкг/кг, около 100 мкг/кг, около 240 мкг/кг, около 300 мкг/кг или любой промежуточной дозе с последующим еженедельным подкожным введением в дозе около 240 мкг/кг, около 720 мкг/кг, около 1100 мкг/кг, около 1200 мкг/кг, около 1300 мкг/кг, около 1400 мкг/кг, около 1500 мкг/ кг, около 1600 мкг/кг, около 1700 мкг/кг, около 1800 мкг/кг, около 2000 мкг/кг, около 2500 мкг/кг, около 3000 мкг/кг или любой промежуточной дозе.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят в течение времени, достаточного для достижения полного ответа, строгого полного ответа, очень благоприятного частичного ответа, частичного ответа, минимального ответа или стабильного статуса заболевания, и его можно продолжать до прогрессирования заболевания или отсутствия пользы для пациента. Статус заболевания может быть определен любым способом, подходящим способом, известным специалистам в данной области, с учетом настоящего описания, включая, например, анализ концентраций моноклонального белка в сыворотке и моче, уровней М-белка, уровней ВСМА.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят в течение времени, достаточного для достижения полного ответа, который характеризуется отрицательным статусом минимального остаточного заболевания (MRD). Отрицательный статус MRD может быть определен любым способом, подходящим способом, известным специалистам в данной области, с учетом настоящего описания. В некоторых вариантах осуществления отрицательный статус MRD определяют с помощью секвенирования следующего поколения (NGS). В некоторых вариантах осуществления отрицательный статус MRD определяют на уровне 10^{-4} клеток, 10^{-5} клеток или 10^{-6} клеток.

Биспецифическое антитело ВСМАхCD3 также вводят профилактически, чтобы снизить риск развития рака, такого как множественная миелома, замедлить начало развития событий при прогрессировании рака и/или снизить риск рецидива в случае ремиссии рака.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту одного или более противораковых препаратов.

В некоторых вариантах осуществления один или более методов лечения рака выбирают из группы, состоящей из трансплантации аутогенных стволовых клеток (ASCT), лучевой терапии, хирургического вмешательства, химиотерапевтического препарата, иммуномодулятора и средства для таргетной противораковой терапии.

В некоторых вариантах осуществления один или более методов лечения рака выбирают из группы, состоящей из селинексора, венетоклакса, леналидомида, талидомида, помалидомида, бортезомиба, карфилзомиба, элтозумаба, иксазомиба, мелфалана, дексаметазона, винкристина, циклофосфамида, гидроксидаунорубицина, преднизона, ритуксимаба, иматиниба, дазатиниба, нилотиниба, босутиниба, понатиниба, бафетиниба, саракатиниба, тозасертиба или данусертиба, цитарабина,

даунорубицина, идарубицина, митоксантрона, гидроксимочевины, децитабина, кладрибина, флударабина, топотекана, этопозид-б-тиогуанина, кортикостероида, метотрексата, б-меркаптопурина, азациитидина, триоксида мышьяка и полностью транс-ретиноевой кислоты или любых их комбинаций.

5 Хотя изобретение описано в общих чертах, варианты осуществления изобретения будут дополнительно описаны в следующих примерах, которые не следует толковать как ограничивающие объем формулы изобретения.

ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

- 10 1) Способ лечения рака у испытуемого, нуждающегося в этом, включающий введение испытуемому терапевтически эффективного количества биспецифического антитела ВСМАхCD3 или его антигенсвязывающего фрагмента для лечения рака, причем у испытуемого наблюдается рецидив или рефрактерность к предшествующему противораковому лечению.
- 15 2) Способ по варианту осуществления 2, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 или его антигенсвязывающий фрагмент включает ВСМА-связывающий домен, включающий HCDR1 с SEQ ID NO: 4, HCDR2 с SEQ ID NO: 5, HCDR3 с SEQ ID NO: 6, LCDR1 с SEQ ID NO: 7, LCDR2 с SEQ ID NO: 8 и
- 20 LCDR3 с SEQ ID NO: 9, и CD3-связывающий домен, включающий HCDR1 с SEQ ID NO: 14, HCDR2 с SEQ ID NO: 15, HCDR3 с SEQ ID NO: 16, LCDR1 с SEQ ID NO: 17, LCDR2 с SEQ ID NO: 18 и LCDR3 с SEQ ID NO: 19.
- 25 3) Способ по варианту осуществления 1 или 2, в котором ВСМА-связывающий домен включает переменную область тяжелой цепи (VH), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и переменную область легкой цепи (VL), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и CD3-связывающий домен включает переменную область тяжелой цепи (VH), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20, и переменную
- 30 область легкой цепи (VL), включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21.
- 4) Способ по любому одному из вариантов осуществления 1–3, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 представляет собой изотип IgG4 и

включает фенилаланин в положении 405 и аргинин в положении 409 в HC1, а также лейцин в положении 405 и лизин в положении 409 в HC2, в котором нумерация остатков соответствует каталогу ЕС.

- 5) Способ по любому одному из вариантов осуществления 1–4, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 дополнительно включает пролин в положении 228, аланин в положении 234 и аланин в положении 235 как в HC1, так и в HC2.
- 6) Способ по любому одному из вариантов осуществления 1–5, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 включает первую тяжелую цепь (HC1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, первую легкую цепь (LC1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, вторую тяжелую цепь (HC2), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22, и вторую легкую цепь (LC2), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23.
- 7) Способ по любому одному из вариантов осуществления 1–6, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 представляет собой теклистамаб.
- 8) Способ по любому одному из вариантов осуществления 1–7, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят внутривенно или подкожно.
- 9) Способ по варианту осуществления 8, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят внутривенно в дозе от около 0,2 мкг/кг еженедельно до около 1500 мкг/кг еженедельно, например от около 35 мкг/кг еженедельно до около 850 мкг/кг еженедельно, от 270 мкг/кг до около 720 мкг/кг еженедельно или 19,2–720 мкг/кг еженедельно; или от около 0,1 до 100 мкг/кг раз в две недели, например от около 0,2 до 50 мкг/кг раз в две недели или 0,3–19,2 мкг/кг раз в две недели.
- 10) Способ по варианту осуществления 8, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят подкожно в дозе от около 0,2 мкг/кг еженедельно до около 3000 мкг/кг еженедельно, например около 80–3000 мкг/кг еженедельно, от около 100 мкг/кг еженедельно до около 1800 мкг/кг еженедельно, от около 720 мкг/кг до 1500

мкг/кг еженедельно, например около 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700 или 1800 мкг/кг еженедельно.

- 5 11) Способ по любому одному из вариантов осуществления 1–10, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят в течение времени, достаточного для достижения полного ответа, строгого полного ответа, очень благоприятного частичного ответа, частичного ответа, минимального ответа или стабильного статуса заболевания, и его можно продолжать до прогрессирования заболевания или отсутствия пользы для пациента.
- 10 12) Способ по варианту осуществления 11, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят в течение времени, достаточного для достижения полного ответа, который характеризуется отрицательным статусом минимального остаточного заболевания (MRD), предпочтительно отрицательным статусом MRD при 10^{-6} клеток, как определено с помощью секвенирования следующего поколения (NGS).
- 15 13) Способ по любому одному из вариантов осуществления 1–12, в котором рак представляет собой гематологическую злокачественную опухоль.
- 20 14) Способ по варианту осуществления 13, в котором гематологическая злокачественная опухоль представляет собой множественную миелому.
- 25 15) Способ по любому одному из вариантов осуществления 1–14, в котором у испытуемого наблюдается рецидив или рефрактерность к лечению антителом к CD38, селинексором, венетоклаксом, леналиномидом, бортезомибом, помалидомидом, карфилзомибом, элтозумабом, иксазомибом, мелфаланом или талидомидом или любой их комбинацией.
- 30 16) Способ по любому одному из вариантов осуществления 1–15, в котором испытуемый представляет собой испытуемого-человека, предпочтительно предшествующее противораковое лечение включает введение испытуемому-человеку по меньшей мере одного из ингибитора протеасом и

иммуномодулирующего лекарственного средства, например бортезомиба, карфилзомиба, леналидомида или помалидомида.

- 5 17) Способ по любому одному из вариантов осуществления 1–16, дополнительно включающий введение испытываемому одного или более дополнительных противораковых терапевтических средств.
- 10 18) Способ по варианту осуществления 17, в котором одно или более дополнительных противораковых терапевтических средств выбирают из группы, состоящей из трансплантации аутогенных стволовых клеток (ASCT), лучевой терапии, хирургического вмешательства, химиотерапевтического препарата, CAR-T терапии, иммуномодулятора и средства для таргетной противораковой терапии.
- 15 19) Способ по варианту осуществления 18, в котором одно или более противораковых терапевтических средств выбирают из группы, состоящей из селинексора, венетоклакса, леналидомида, талидомида, помалидомида, бортезомиба, карфилзомиба, элтозумаба, иксазомиба, мелфалана, преднизона или дексаметазона или любой их комбинации.
- 20 20) Способ по любому одному из вариантов осуществления 1–19, в котором лечение достигает общей частоты ответа по меньшей мере 60%, например 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или более у получавших лечение испытываемых.
- 25 21) Способ по любому одному из вариантов осуществления 1–20, в котором лечение достигает 15% или более, например 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25% или более полного ответа у получавших лечение испытываемых.

ПРИМЕРЫ

30 Представленные ниже примеры приведены для дополнительного описания некоторых из описанных в данном документе вариантов осуществления. Целью примеров является иллюстрация, а не ограничение описанных вариантов осуществления.

Антитела и реагенты

Теклистамаб с антителом к ВСМА/CD3 (также называемый JNJ-64007957, JNJ-957 или JNJ-7957) (описано в WO2017031104A1) произведен компанией Jansen Pharmaceuticals. Теклистамаб включает ВСМА-связывающее плечо ВСМБ69 и CD3-связывающее плечо CD3B219, аминокислотные последовательности которых представлены в **таблице 3** и **таблице 4** соответственно.

Таблица 3. Последовательности связывающего ВСМА плеча теклистамаба

	Область	Последовательность	SEQ ID NO:
BCMB69	HCDR1	SGSYFWG	4
	HCDR2	SIYYSGITYYNPSLKS	5
	HCDR3	HDGAVAGLFDY	6
	LCDR1	GGNNIGSKSVH	7
	LCDR2	DDSDRPS	8
	LCDR3	QVWDSSSDHVV	9
	VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYFWGWIRQPPGKGL EWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAV YYCARHDGAVAGLFDYWGQGLTVTVSS	10
	VL	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGNNIGSKSVHWYQPPGQAPVV VVYDDSDRPSGIPERFSGNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVW DSSSDHVVFVGGGTKLTVLGQP	11
	HC	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYFWGWIRQPPGKGL EWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAV YYCARHDGAVAGLFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLGK	12
	ЖХ	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGNNIGSKSVHWYQPPGQAPVV VVYDDSDRPSGIPERFSGNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVW DSSSDHVVFVGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVC LISDFYPGAVTVAWKGDSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAASSYLS LTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	13

Таблица 4. Последовательности связывающего CD3 плеча теклистамаба

	Область	Последовательность	SEQ ID NO:
CD3B219	HCDR1	TYAMN	14
	HCDR2	RIRSKYNNYATYYAASVKG	15
	HCDR3	HGNFGNSYVSWFAY	16
	LCDR1	RSSTGAVTTSNYAN	17
	LCDR2	GTNKRAP	18
	LCDR3	ALWYSNLWV	19
	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQ APGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAASVKGRFTISRDDSK NSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARHGNFGNSYVSWFAYWG QGTLTVSS	20
VL	QTVVTQEPSLTVSPGGTVLTCRSSTGAVTTSNYANWVQ QKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLG VQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQP	21	
HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQ APGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAASVKGRFTISRDDSK NSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARHGNFGNSYVSWFAYWG QGTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLGLK	22	
ЖХ	QTVVTQEPSLTVSPGGTVLTCRSSTGAVTTSNYANWVQ QKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLG VQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQP KAAPS VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSP VKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKS HRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS	23	

Пример 1. Неклинические фармакологические исследования теклистамаба

Теклистамаб разрабатывают для лечения множественной миеломы (ММ). Это гуманизированное антитело, которое специфически распознает рецептор BCMA, который экспрессируется на высоком уровне в клетках множественной миеломы, и

рецепторный комплекс кластера дифференцировки 3 (CD3), экспрессируемый на Т-лимфоцитах (Т-клетках) (Laabi et al., *Nucleic Acids Res.* 1994;22(7):1147–54).

А. Влияние на сигнализацию ВСМА и связывание лиганда

5 ВСМА опосредует последующую сигнализацию, такую как NF-κB и p38, через ее лиганды APRIL и BAFF. Лечение теклистамабом не приводило к агонистической активации ВСМА-опосредованной сигнализации без признаков повышенного фосфорилирования p38 (данные не показаны). Аналогично, лечение теклистамабом при наличии рекомбинантного белка APRIL или BAFF продемонстрировало до 50% ингибирования фосфорилирования p38 при 1 мкг/мл теклистамаба и лигандов (данные 10 не показаны).

В. Опосредованная теклистамабом зависимая от Т-клеток цитотоксичность клеточных линий множественной миеломы

Лечение теклистамабом приводило к опосредованной Т-клетками цитотоксичности через 48 часов инкубации с клеточными линиями множественной миеломы ВСМА⁺ (H929, MM.1R и RPMI8226) и Т-клетками от 6 разных здоровых 15 доноров (средние EC₅₀ [EC₂₀] для H929, MM.1R, RPMI8226 составляли 0,58 [0,34], 0,07 [0,04] и 0,70 [0,25] нМ соответственно); важно, что не было лизиса ВСМА-отрицательной клеточной линии MV4-11, или контрольными биспецифическими антителами (несвязанное плечо × CD3 или ВСМА × несвязанное плечо; см. ФИГ. 1). 20 Для ФИГ. 1 молекулы теклистамаба и отрицательного контроля инкубировали в возрастающих концентрациях с клеточными линиями множественной миеломы и пан-Т-клетками здоровых доноров при соотношении Е:Т 5:1 при наличии блокатора, способного к кристаллизации фрагментов. Затем через 48 часов инкубации процентное содержание цитотоксичности оценивали при помощи проточной цитометрии и 25 рассчитывали EC₅₀ с применением программного обеспечения GraphPad Prism. Данные, показанные на ФИГ. 1, представляют собой среднее значение для 6 различных доноров Т-клеток.

ВСМА также был обнаружен в виде выпадающего, растворимого белка в крови 30 пациентов с множественной миеломой в концентрации 15,27 нМ sBCMA; данные не показаны). Для оценки влияния sBCMA на способность теклистамаба индуцировать гибель клеток в клетках множественной миеломы, рекомбинантный белок sBCMA добавляли в анализ цитотоксичности, и не наблюдали влияния на клеточную гибель до 56 нМ sBCMA, тогда как концентрация sBCMA в 3 раза выше (167 нМ) имела

умеренное снижение активности (в 2 раза), что позволяет предположить, что выпавший ВСМА в крови вряд ли повлияет на эффективность теклистамаба (данные не показаны).

С. Опосредованная теклистамабом активация Т-клеток при наличии клеточных линий ВСМА⁺ in vitro

5 Индуцированная теклистамабом экспрессия маркера активации Т-клеток, CD25, на Т-клетках от разных здоровых доноров в анализах цитотоксичности, описанных выше. Теклистамаб (но не нулевые молекулы отрицательного контроля) индуцировал мощную активацию Т-клеток при инкубации с клетками множественной миеломы ВСМА⁺ и пан-Т-клетками здоровых доноров при EC₅₀ для активации Т-клеток (средние значения EC⁵⁰ [EC²⁰] для H929, MM.1R и RPMI8226 составляли 0,50 [0,30], 0,15 [0,06] и 10 0,36 [0,15] нМ соответственно), в то время как в клетках отрицательного контроля (MV4 11) этого не было, за исключением максимальной концентрации 532 нМ с предельным увеличением концентрации регуляция экспрессии CD25 (данные не показаны). Кроме того, теклистамаб не вызывал активации Т-клеток в отсутствие 15 клеток-мишеней ВСМА⁺, демонстрируя специфичность активации Т-клеток, за исключением концентраций >100 нМ (данные не показаны). Концентрации цитокинов для интерферона (IFN)- γ , TNF- α , интерлейкина (IL)-2, IL-6, IL-8 и IL-10 определяли с помощью анализов RPMI8226 и H929, и соответствующие значения рассчитывали для каждого донора (средние значения EC₅₀ и EC₂₀ для клеток RPMI8226 представляли 20 собой IFN γ : 1,61 [0,97], TNF- α : 18,17 [0,80], IL-2: 2,00 [1,07], IL-6: 1,33 [0,71], IL-8: 0,50 [0,26], и IL-10: 0,78 [0,50]; и средние значения EC₅₀ и EC₂₀ для клеток H929 представляли собой IFN- γ : 2,82 [1,94], TNF- α : 3,75 [2,04], IL-2: 4,09 [3,29], IL-6: 1,44 [0,82], IL-8: 2,19 [1,52] и IL-10: 1,91 [1,56]) (данные не показаны).

Д. Опосредованная теклистамабом зависимая от Т-клеток цитотоксичность клеточной линии множественной миеломы в анализе цельной крови здоровых испытуемых

25 Для более клинически значимой модели была разработана модельная система цельной крови in vitro для оценки эффективности теклистамаба. ВСМА-положительные клетки MM H929 были добавлены в кровь 6 здоровых доноров при соотношении эффектор:мишень (Е:Т) 5:1, наряду с увеличением концентрации теклистамаба в течение 48 часов для испытания цитотоксичности клеток-мишеней, активации Т-клеток, и высвобождения цитокинов. Лечение теклистамабом (от 0,009 до 532 нМ) 30 приводило к дозозависимой цитотоксичности H929 до 88,5%, как показано на ФИГ. 2.

Цитотоксичность измеряли при помощи проточной цитометрии. На графике, показанном на ФИГ. 2, представлены средние \pm СОС, полученные с помощью программного обеспечения GraphPad Prism.

Отдельные значения цитотоксичности EC_{50} (EC_{20}) от 6 доноров находились в диапазоне 0,305–3,422 нМ (0,052–1,917 нМ), что дает среднее 1,262 нМ (0,630 нМ).

Е. Опосредованная теклистамабом активация Т-клеток при наличии клеточной линии ВСМА⁺ в анализе цельной крови

При помощи клинически значимой системы модели цельной крови H929 *in vitro*, описанной выше в разделе D, исследовали активацию Т-клеток. Активацию измеряли как процентное содержание Т-клеток (CD3⁺), которые также были положительными для маркера активации CD25. Лечение теклистамабом (от 0,009 до 532 нМ) приводило к дозозависимой активации Т-клеток до 63,1% (ФИГ. 3). Активацию Т-клеток измеряли при помощи проточной цитометрии. На графике, показанном на ФИГ. 3, представлены средние \pm СОС, полученные при помощи программного обеспечения GraphPad Prism.

Индивидуальная активация Т-клеток EC_{50} (EC_{20}) от 6 доноров находилась в диапазоне 0,486–2,200 нМ (0,191–0,940 нМ), давая среднее 1,406 нМ (0,542 нМ).

Ф. Анализы связывания теклистамаба, цитотоксичности и активации Т-клеток с применением клеток костного мозга множественной миеломы CD138⁺, полученных от пациентов

Оценивали способность теклистамаба индуцировать гибель с применением образцов первичной множественной миеломы ($n = 5$) в кокультуре с Т-клетками от здоровых доноров. Кроме того, измеряли связывание с антителами и потенциал Т-клеточной активации. Теклистамаб связывался со всеми образцами пациентов и индуцировал их гибель дозозависимым образом через 48 часов, что измерялось по потере плазматических клеток CD138⁺ (средние значения EC_{50} [EC_{20}] составляли 2,53 [1,03] нМ, ФИГ. 4). Замороженные моноклеарные клетки, полученные из костного мозга, от 5 разных пациентов (числа множественной миеломы на оси Y) применяли для оценки связывания теклистамаба по сравнению с изотипическим контролем IgG4 (левая панель), цитотоксичностью плазматических клеток (в центре) и активацией Т-клеток (справа). Во всех образцах донора теклистамаб связывается с плазмочитами дозозависимым образом, и по оси Y фиксировали средние интенсивности флуоресценции. Для анализа цитотоксичности Т-клетки от нормального здорового донора (# M7077) экзогенно добавляли к образцам BMMNC пациентов и инкубировали

с теклистамабом, BCMA × null или CD3 × null в течение 48 часов. К каждому образцу BM было добавлено всего 100 000 Т-клеток, что привело к следующим соотношениям E:T: A=14:1, B=1,7:1, C=13:1, D=2,9:1, E=5:1. Отмечали уменьшение живых плазмоцитов (CD138⁺) и сопутствующее увеличение экспрессии CD25 на Т-клетках в ответ на лучение теклистамабом. Специфические для донора значения IC50 для цитотоксичности и значения EC50 для активации Т-клеток указаны на графиках на ФИГ. 4.

Как и ожидалось, данные по активации Т-клеток (средние значения EC₅₀ [EC₂₀] составляли 1,33 (0,70) нМ) коррелировали с результатами, полученными на основе анализов гибели клеток. Контрольные нулевые антитела не приводили к значительной гибели или активации Т-клеток, за исключением 1 из 5 пациентов, у которых было минимальная гибель при концентрациях >67 нМ. Эти данные показывают, что теклистамаб способен индуцировать гибель клеток в клетках костного мозга с первичной множественной миеломой *ex vivo*.

G. Анализы цитотоксичности теклистамаба с применением аутологичных клеток костного мозга с множественной миеломой CD138⁺

Лизис клеток множественной миеломы с помощью теклистамаба анализировали в аутологичных условиях с образцами моноклеарных клеток костного мозга от пациентов с множественной миеломой (Frerichs et al., *Clin Cancer Res.* published online ahead of print, 2020 Jan 22). Серийные разведения теклистамаба (от 0,0064 до 4 мкг/мл) инкубировали с образцами в течение 48 часов. Лизис клеток множественной миеломы CD138^{high}/CD38⁺ оценивали при помощи проточной цитометрии.

Средний лизис клеток множественной миеломы оценивали в образцах пациентов с впервые диагностированной множественной миеломой (n = 11), рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой, до воздействия даратумумаба (n = 21), и множественной миеломой, рефрактерной к даратумумабу (n = 17; ФИГ. 5). Значительно более высокий лизис (p=0,031) наблюдался у пациентов, рефрактерных к даратумумабу. Опосредованный теклистамабом лизис клеток множественной миеломы был связан с активацией (CD25) и дегрануляцией (CD107a) Т-клеток CD4⁺ и CD8⁺ (Frerichs et al., 2020, *ид.*).

Улучшению уменьшения опухоли может способствовать иммуностимулирующему действию даратумумаба; следовательно, в исследовании также анализировали последовательные аспираты костного мозга у пациентов с множественной миеломой до и после лечения даратумумабом (n = 8). Значительно

улучшенный ($p=0,0004$) лизис клеток множественной миеломы под действием теклистамаба наблюдали в образцах, полученных после прогрессирования заболевания во время лечения даратумумабом, по сравнению с образцами, собранными до начала применения даратумумаба (ФИГ. 6; Frerichs et al., 2020, *ид.*).

5 **Н. Влияние теклистамаба на мышинные модели опухолей с перенаправлением Т-клеток**

Эффективность теклистамаба оценивали на 2 моделях множественной миеломы человека BCMA⁺ у мышей NOD/scid γ c^{-/-} (NSG) с гуманизированными моноклеарными клетками периферической крови (PBMC); либо на профилактической модели, когда лечение начинали во время имплантации опухолевых клеток, либо на сформированной модели, когда лечение начинали после образования пальпируемых опухолей. В профилактической модели H929 теклистамаб обладал противоопухолевой эффективностью со значительным снижением образования и роста опухоли по сравнению с контрольными мышами, получавшими фосфатно-солевой буфер (PBS), при уровнях доз либо 0,5, либо 1 мкг/животное (0,025 или 0,05 мг/кг), тогда как биспецифические антитела CD3 \times null или BCMA \times null не подавляли онкогенез в модели (ФИГ. 7).

На ФИГ. 7 показана профилактическая модель H929. Мышам NSG IV прививали PBMC человека в сутки -7. Через одну неделю в сутки 1 мышам SC инокулировали клетки множественной миеломы H929, а затем IV вводили биспецифический текластамаб BCMA \times CD3 в дозе 0,1, 0,5 или 1 мкг/мышь (эквивалентно 0,005, 0,025 или 0,05 мг/кг для 20-граммовой мыши) или соответствующие контрольные биспецифические антитела (BCMA \times null или CD3 \times null). Последующие дозы вводили в сутки 4, 6, 8 и 11. Подкожные опухоли измеряли два раза в неделю, а результаты представляли в виде среднего объема опухоли, выраженного в мм³ \pm СПС, для каждой группы. Графически представлены только данные до суток 22, так как это были последние сутки, когда объем контрольной опухоли, обработанной PBS, оставался ниже максимальных пределов размера опухоли.

В сформированной модели RPMI8226 уровень дозы 0,1 мкг/животное теклистамаба ингибировал рост опухоли на 53% по сравнению с контролем, получавшим PBS ($p<0,05$), в сутки 28 (ФИГ. 8). Более высокий уровень дозы 1 мкг/животное теклистамаба продемонстрировал ограниченную эффективность и может представлять собой уровень дозы, при котором биспецифическое антитело имеет перенасыщенное связывание с мишенью, создавая стерические препятствия, которые

блокируют одновременное связывание с двумя мишенями. Этот эффект наблюдали ранее при высоких уровнях доз с другими молекулами перенаправления CD3 (данные не показаны).

На ФИГ. 8 мышам линии NSG инокулировали клетки RPMI8226, а затем, после формирования опухоли (средний объем опухоли $\sim 75 \text{ мм}^3$), им IV прививали человеческие РВМС. Затем мышам IV вводили контрольные биспецифические антитела (BCMA \times null или CD3 \times null в сутки 1, 4, 6, 8, 11, 15 и 25 после имплантации РВМС или теклистамаб в дозе 0,1 или 1 мкг/мышь (эквивалентно 0,005 или 0,05 мг/кг для 20-граммовой мыши) в сутки 8, 11, 13, 15, 18 и 25 после имплантации РВМС. Графически представлены только данные до суток 28, так как это были последние сутки, когда в каждой группе оставалось по меньшей мере $n = 7$ мышей.

Пример 2. Неклинические токсикологические исследования теклистамаба

Исследование токсичности повторных доз было проведено на обезьянах *Супотолгус* (яванский макак). Яванские макаки считались фармакологически релевантной животной моделью для оценки потенциальной токсичности теклистамаба. Fab к CD3 связывался с CD3 яванского макака с аналогичной аффинностью к CD3 человека. BCMA яванского макака имеет $>90\%$ сходства последовательности с BCMA человека, и теклистамаб продемонстрировал положительные результаты связывания *in vitro* и функциональной активности (измеряемой с помощью анализов цитотоксичности или активации Т-клеток) в трансфицированных клеточных линиях, которые сверхэкспрессировали BCMA яванского макака (таблица 5). Хотя яванские макаки считались фармакологически релевантной животной моделью для теклистамаба, аффинность связывания для BCMA яванских макаков и EC_{50} *in vitro* для цитотоксичности и активации Т-клеток у яванских макаков были в 2–36 раз ниже, чем у человека.

Таблица 5. Диапазон аффинности связывания и активности антител к BCMA

Антитело	Аффинность связывания с BCMA (нМ) ^a		EC_{50} цитотоксичности (нМ) ^b		EC_{50} активации Т-клеток (нМ) ^b	
	Человек	Яванский макак	Человек	Яванский макак	Человек	Яванский макак
Теклистамаб	(0,15–0,20)	(5,36–7,27)	0,31–0,86	0,64–3,3	0,2–0,32	1,38–3,9

^aИзмерено методом SPR

^bСсылка на человека указала на применение BCMA человека и Т-клеток человека; ссылка на яванского макака указывает на применение BCMA яванского макака и Т-клеток человека. Соотношение E:T=5:1;

Примечание: Цитотоксичность и активацию Т-клеток измеряли через 48 часов после лечения.

EC₅₀=полуМаксимальная эффективная концентрация; SPR=поверхностный плазменный резонанс

5

Токсикологический профиль теклистамаба оценивали на яванских макаках в рамках основной надлежащей лабораторной практики (GLP) — 5-недельного исследования токсичности повторных доз IV с 8-недельным периодом восстановления. В этом исследовании теклистамаб вводили путем IV болюсной инъекции яванским макакам (5/пол/группу) в дозах 1, 10 и 30 мг/кг/неделю в течение 5 недель. Воздействие теклистамаба (максимальная концентрация [C_{макс}] и площадь под кривой [AUC]) увеличивалась приблизительно пропорционально дозе (таблица 6). Двадцать одно из 30 (70%) животных, получавших теклистамаб, имело положительную реакцию на антитела к лекарственным средствам (ADA) в дозах 1 мг/кг (8 из 10), 10 мг/кг (8 из 10) и 30 мг/кг (5 из 10) получавших дозы групп. Из этих 21 животного, имевшего положительную реакцию на ADA, у 7 животных (2 животных в группе, получающей 1 мг/кг/неделю, 3 животных в группе, получающей 10 мг/кг/неделю, и 2 животных в группе, получающей 30 мг/кг/неделю) наблюдались более низкие уровни воздействия лекарственного средства по сравнению с животными, имевшими отрицательную реакцию на ADA, в группе с той же дозой в сутки 22 и/или сутки 29 (таблица 6). Другие 14 животных, имевших положительную реакцию на ADA, демонстрировали аналогичную реакцию на воздействие лекарственного средства, по сравнению с животными, имевшими отрицательную реакцию на ADA, в группе с той же дозой. Иммуногенность обезьян по отношению к белкам человека, как правило, не является прогностической в отношении иммуногенности человека. При испытании *in vitro* связывание и цитотоксичность теклистамаба были ниже у обезьян, чем у людей. Различия в экспрессии ВСМА у яванских макаков и пациентов с множественной миеломой еще больше ограничили интерпретацию результатов. Типичные признаки активности, связанной с биспецифическими антителами CD3, после введения яванским макакам не наблюдались. Поэтому результаты исследований на обезьянах следует интерпретировать с осторожностью.

30

Таблица 6. Средние оценки параметров токсикокинетики теклистамаба в сыворотке

Доза (мг/кг)	Последующая доза в сутки 1		Последующая доза в сутки 22			Положительная реакция на ADA (n+/всего n)
	$C_{\text{макс}}^a$ (мкг/мл)	$AUC_{\text{сутки1-8}}^a$ (мкг·сутки/мл)	$C_{\text{макс}}^a$ (мкг/мл)	$AUC_{\text{сутки22-29}}^a$ (мкг·сутки/мл)	R^b	
1	26,77	63,36	38,58	128,93	2,04	8/10
10	300,30	719,86	417,75	1181,22	1,65	8/10
30	785,45	2032,35	1084,01	3549,19	1,75	5/10

^an = 5/пол/группу.

5 ^b Представлено среднее отдельных коэффициентов.

$AUC_{\text{сутки1-8}}$ = площадь под кривой зависимости концентрации в сыворотке от времени от суток 1 до суток 8; $AUC_{\text{сутки22-29}}$ = площадь под кривой зависимости концентрации в сыворотке от времени от суток 22 до суток 29; $C_{\text{макс}}$ = максимальная наблюдаемая концентрация в сыворотке n = число; R=коэффициент накопления, рассчитанный на
10 основе $AUC_{\text{сутки22-29}}$ и $AUC_{\text{сутки1-8}}$

В данном исследовании теклистамаб хорошо переносился и не влиял на выживаемость, клинические наблюдения (включая пищевое поведение), массу тела, офтальмологические обследования, физиологические параметры (артериальное
15 давление, частоту сердечных сокращений, частоту дыхания и температуру тела), клиническую патологию (гематологию, биохимию и коагуляцию), иммунологические параметры (иммунофенотипирование цельной крови и цитокины), обобщенные результаты вскрытия, массы органов или результаты микроскопии (включая места инъекций). Исходя из этих результатов, уровень отсутствия наблюдаемого эффекта
20 (NOEL) для IV введения еженедельно 5 доз текластамаба составил 30 мг/кг у самцов и самок обезьян.

Отсутствие фармакодинамического (например, высвобождение цитокинов или временное снижение количества лимфоцитов) или токсикологического ответа на теклистамаб объяснялось комбинацией меньшего количества плазматических клеток
25 (и, следовательно, низкой экспрессии ВСМА) у здорового яванского макака и ограниченной перекрестной реактивности теклистамаба у яванских макаков по сравнению с людьми.

В дополнение к описанному выше 5-недельному исследованию токсичности GLP с применением теклистамаба, было проведено 5-недельное исследование

токсичности без GLP у яванских макаков, исследование перекрестной реактивности тканей, анализы высвобождения цитокинов, анализы совместимости сыворотки и анализы гемолитического потенциала (данные не показаны).

5 **Пример 3. Исследование фазы 1/2 теклистамаба, вводимого в качестве монотерапии при рецидивирующей или рефрактерной множественной миеломе**

А. План исследования

10 Было проведено первое открытое многоцентровое исследование фазы 1/2 на людях теклистамаба, вводимого в качестве монотерапии взрослым испытуемым с множественной миеломой (ММ) с рецидивом или рефрактерностью (RR) или непереносимостью установленных методов лечения. Исследование охватывает 3 части: часть 1 (увеличение дозы), часть 2 (наращивание дозы при предложенной
15 рекомендованной дозе (-ах) фазы 2 (RP2D[s])) и часть 3 (наращивание дозы фазы 2 при RP2D в когортах испытуемых с рецидивирующей или рефрактерной множественной миеломой с неудовлетворенной потребностью в лечении).

20 Теклистамаб представляет собой гуманизированное биспецифическое антитело на основе пролина, аланина, аланина (PAA) IgG4, направленное на ВСМА и рецепторы CD3, полученное путем культивирования рекомбинантных клеток яичника китайского хомячка с последующим выделением, хроматографической очисткой и составлением композиции.

Теклистамаб имеет молекулярную массу 146,261 кДа для гликоформы G0F/G0F и изоэлектрические точки в диапазоне от 6,5 до 7,3 pI. Было определено, что его постоянная абсорбции при 280 нм составляет $1,58 \text{ (мг/мл)}^{-1} \text{ см}^{-1}$.

25 Лекарственный препарат поставляется в ампуле для внутривенного (IV) или подкожного (SC) введения в соответствии с соответствующими инструкциями по препарату, для которого может потребоваться разбавляющий агент.

Теклистамаб вводили внутривенно (диапазон 0,3–19,2 мкг/кг [раз в две недели]; 19,2–720 мкг/кг [еженедельно]) или подкожно (80,0–3000 мкг/кг еженедельно) в разных когортах; повышающее дозирование применяли для доз $\geq 38,4$ мкг/кг.

30 Применяли схему повышающего дозирования (1–3 дозы вводили в отдельных когортах по каждому уровню дозы в течение недели перед циклом 1, сутки 1) (ФИГ. 9). Последующие уровни внутривенной и подкожной дозы были выбраны с применением модифицированного способа непрерывной переоценки.

Пациенты должны были получать глюкокортикоиды, антигистаминные и жаропонижающие препараты перед введением повышающих доз и первой полной дозой теклистамаба для смягчения синдрома высвобождения цитокинов (CRS) и реакций, относящихся к инфузии. Введение перед лечением H2-антагониста и противорвотного средства было необязательным.

Пациенты продолжали получать лечение до прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности, отзыва согласия, смерти или окончания исследования (определяемого как период, составляющего 2 года, после первой дозы последнего пациента).

Часть 1 (увеличение дозы)

Основная цель части 1 состояла в том, чтобы определить рекомендуемую дозу (-ы) фазы 2 путем изучения множественных внутривенных \pm повышающих доз с первичной конечной точкой частоты и типа дозолIMITИРУЮЩЕЙ токсичности (DLT).

Часть 2 (наращивание дозы)

Основная цель части 2 состояла в том, чтобы охарактеризовать безопасность и переносимость теклистамаба при потенциальном RP2D. Первичная конечная точка 2 представляла собой распространенность и тяжесть НЯ, серьезные НЯ и лабораторные показатели. Другие конечные точки включали в себя общую частоту ответа (ОЧО), продолжительность ответа, время до ответа, минимальную остаточную болезнь (MRD), фармакокинетические параметры, фармакодинамические маркеры и антитела к теклистамабу.

В исследование были включены следующие ключевые когорты:

- IV Когорта 16: Повышающие дозы 10 и 60 мкг/кг с последующей еженедельной лечебной дозой 270 мкг/кг
- IV Когорты 17, 18: Повышающие дозы 10, 60 и 240 мкг/кг с последующей еженедельной лечебной дозой 720 мкг/кг
- IV Когорта 19: Повышающие дозы 10, 60 и 300 мкг/кг с последующей еженедельной лечебной дозой 1500 мкг/кг
- SC Когорта 3: Повышающие дозы 60 и 240 мкг/кг в сутки -7 и сутки -4, соответственно, с последующей еженедельной лечебной дозой 720 мкг/кг, начиная с цикла 1, сутки 1
- SC Когорта 4: Повышающие дозы 60 и 240 мкг/кг в сутки -5 и сутки -3/сутки -2, соответственно, с последующей еженедельной лечебной дозой 720 мкг/кг, начиная с цикла 1, сутки 1

- SC Когорты 5, 6: Повышающие дозы 60 и 300 мкг/кг в сутки -7 и сутки -4, соответственно, с последующей еженедельной лечебной дозой 1500 мкг/кг, начиная с цикла 1, сутки 1
- SC Когорта 7: Повышающие дозы 60, 300 и 1500 мкг/кг в сутки -7, сутки -5 и сутки -3, соответственно, с последующей еженедельной лечебной дозой 3000 мкг/кг, начиная с цикла 1, сутки 1

Критерии включения были следующими:

Каждый потенциальный испытуемый должен был удовлетворять все из перечисленных ниже критериев для включения в исследование:

1. Возраст ≥ 18 лет.
 2. Задokumentированный диагноз множественной миеломы в соответствии с диагностическими критериями IMWG.
 3. Часть 1 и часть 2. Измеряемая множественная миелома, которая была рецидивирующей или рефрактерной к установленным методам лечения с известной клинической пользой при рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломе или с непереносимостью установленных методов лечения множественной миеломы и кандидатом на лечение теклистамабом по мнению лечащего врача.
- Предшествующие линии терапии должны были включать ингибитор протеасом (PI) и иммуномодулирующее лекарственное средство (IMiD) в любом порядке в течение курса лечения. Были допущены испытуемые, которые не могли переносить ингибитор протеасом или иммуномодулирующие лекарственные средства.
- В части 2 (наращивание дозы) в дополнение к вышеуказанным критериям множественная миелома должна была быть измерена в соответствии с текущими опубликованными рекомендациями IMWG путем оценки центральной лаборатории.
- Если оценка центральной лаборатории была недоступна, соответствующие местные лабораторные измерения должны были превышать минимальный требуемый уровень по меньшей мере на 25%. В качестве измеряемого заболевания можно применять локальное процентное содержание клеток $\geq 30\%$ в плазме костного мозга, если при оценке сыворотки или мочи не наблюдалось измеримое заболевание.
- Часть 3. Когорты А, В и С. Множественная миелома должна была быть измерена в соответствии с текущими опубликованными рекомендациями IMWG путем оценки в центральной лаборатории:
- Уровень моноклонального парапротеина (М-белка) в сыворотке $\geq 1,0$ г/дл или уровень М-белка в моче ≥ 200 мг/24 часа; или

Множественная миелома легкой цепи без измеримого заболевания в сыворотке или моче: Концентрация свободных легких цепей иммуноглобулина в сыворотке (FLC) ≥ 10 мг/дл и ненормальное соотношение FLC иммуноглобулина каппа и лямбда.

- 5 - Если оценки центральной лаборатории были недоступны, соответствующие измерения местных лабораторий должны были превышать минимально требуемый уровень по меньшей мере на 25%.
- Предшествующее лечение (часть 3):
- 10 - Когорта А: Испытуемые должны были 1) ранее получить по меньшей мере 3 линии лечения или иметь двойную рефрактерность к ИП и IMiD и 2) ранее получать PI, IMiD и антитело к CD38 (рефрактерная множественная миелома, как определено консенсусными критериями IMWG). Примечание: Индукция с трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток или без нее и с поддерживающей терапией или без нее считалась одной линией терапии.
- 15 - Пройшел по меньшей мере 1 полный цикл лечения для каждой линии терапии, если прогрессирующее заболевание не было лучшим ответом на линию терапии.
- 20 - Испытуемый должен был иметь задокументированные доказательства прогрессирующего заболевания, основанные на определении исследователем ответа по критериям IMWG во время или в течение 12 месяцев после последней линии терапии.
- 25 - Когорта В: ранее получавшие по меньшей мере 4 линии терапии множественной миеломы и те, заболевание которых было пента-рефрактерным к по меньшей мере 2 PI, по меньшей мере 2 IMiD и моноклональным антителам к CD38 (рефрактерная множественная миелома, как определено консенсусными критериями IMWG). Примечание: Индукция с трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток или без нее и с поддерживающей терапией или без нее считалась одной линией терапии.
- 30 - Пройшел по меньшей мере 1 полный цикл лечения для каждой линии терапии, если прогрессирующее заболевание не было лучшим ответом на линию терапии.
- Испытуемый должен был иметь задокументированные доказательства прогрессирующего заболевания, основанные на определении

исследователем ответа по критериям IMWG во время или в течение 12 месяцев после последней линии терапии.

- Когорта С: рефрактерность или прогрессирование после терапии CAR-T, направленной на BCMA, или ADC, направленным на BCMA.
- 5
- Испытуемый должен был иметь задокументированные доказательства прогрессирующего заболевания, основанные на определении исследователем ответа по критериям IMWG в течение 12 месяцев терапии, направленной на BCMA.
4. Оценка общего состояния 0 или 1 по шкале Восточной объединенной онкологической группы (ECOG).
- 10
5. Клинические лабораторные показатели до лечения, соответствующие следующим критериям в фазе скрининга:

Гематология	
Гемоглобин	≥8 г/дл (≥5 ммоль/л) (без предварительного переливания эритроцитов [RBC] в течение 7 суток до лабораторного исследования; было разрешено применение рекомбинантного эритропоэтина человека)
Тромбоциты	≥75 × 10 ⁹ /л для испытуемых, у которых <50% ядродержащих клеток костного мозга представляли собой плазматические клетки; в противном случае количество тромбоцитов ≥50 × 10 ⁹ /л (без трансфузионной поддержки за 7 суток до лабораторного исследования)
Абсолютное количество нейтрофилов (ANC)	≥1,0 × 10 ⁹ /л (предварительная поддержка факторов роста была разрешена, но не должна была поддерживаться в течение 7 суток до лабораторного исследования)
Химический состав	
AST и ALT	≤3,0 × верхний предел нормального состояния (ULN)
Креатинин или клиренс креатинина	Креатинин сыворотки: ≤1,5 мг/дл или клиренс креатинина: ≥40 мл/мин/1,73 м ² на основе расчета формулы модифицированной диеты при заболевании почек
Общий билирубин	≤2,0 × ULN; за исключением испытуемых с врожденной билирубинемией, такой как синдром Жильбера (в этом случае требовался прямой билирубин ≤1,5 × ULN)
Откорректированный сывороточный кальций	≤14 мг/дл (≤3,5 ммоль/л) или свободный ионизированный кальций <6,5 мг/дл (<1,6 ммоль/л)

6. Женщины детородного возраста должны были иметь отрицательный результат теста на беременность при скрининге и до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства с применением высокочувствительного теста на беременность либо в сыворотке (β -хорионический гонадотропин человека [β -hCG]), либо в моче.
7. Женщины детородного возраста и фертильные мужчины, ведущие активную половую жизнь, должны были дать согласие на применение высокоэффективного способа контрацепции (частота неудач $<1\%$ /год) с момента подписания ICF) во время исследования и в течение 90 дней после последней дозы исследуемого лекарственного средства. Контрацепция должна была соответствовать местным предписаниям, касающимся применения способов контроля над рождаемостью для испытуемых, участвующих в клинических испытаниях.
- Если женщина была детородного возраста, испытуемая должна была согласиться применять на практике высокоэффективный способ контрацепции (частота неудач $<1\%$ в год при постоянном и правильном применении).
- В дополнение к высокоэффективному способу контрацепции мужчина, вступивший в половую связь с женщиной детородного возраста, должен был дать согласие на применение барьерного способа контрацепции и должен был применять презерватив.
- Женщины и мужчины должны были согласиться не выступать в качестве доноров яйцеклеток (зрелых или незрелых) или спермы соответственно во время исследования и в течение 90 дней после приема последней дозы исследуемого лекарственного средства.
- Примечание: Если детородный потенциал изменился после начала исследования или изменился риск беременности, женщина должна была начать применять высокоэффективный способ контрацепции, как описано в критериях включения. Если репродуктивный статус был сомнительным, рассматривалась дополнительная оценка. Следует отметить, что взаимодействие между гормональной контрацепцией и теклистамабом не было исследовано. Таким образом, неизвестно, может ли теклистамаб снизить эффективность способа контрацепции.
8. Испытуемый должен был подписать форму информированного согласия (ICF), в которой указано, что он или она понимает цель и процедуры, необходимые для исследования, и готов (-а) участвовать в исследовании. Согласие необходимо было получить до начала любых исследований или процедур, связанных с

исследованием, которые не являлись частью стандартного лечения заболевания пациента.

9. Готовность и возможность соблюдать указанные в настоящем протоколе запреты и ограничения.

5

Критерии исключения были следующими:

Любой потенциальный испытуемый, который соответствовал любому одному из нижеприведенных критериев, был исключен из участия в исследовании.

- 10 1. Предшествующее лечение с помощью любой терапии, нацеленной на ВСМА, за исключением когорты С.
- 15 2. Предшествующая противоопухолевая терапия перед введением первой дозы исследуемого лекарственного средства:
- Нацеленная терапия, эпигенетическая терапия или лечение исследуемым лекарственным средством или применение инвазивного исследуемого
 - 15 медицинского устройства в течение 21 суток или по меньшей мере 5 периодов полувыведения, в зависимости от более короткого периода.
 - Лечение множественной миеломы моноклональными антителами в течение 21 суток.
 - Цитотоксическая терапия в течение 21 суток.
 - 20 - Терапия ингибиторами протеасом в течение 14 суток.
 - Терапия иммуномодулирующими средствами в течение 7 суток.
 - Лучевая терапия в течение 21 суток. Однако, если радиационный портал покрывал $\leq 5\%$ резерва костного мозга, испытуемый соответствовал критериям независимо от даты окончания лучевой терапии.
 - 25 3. Токсичность от предыдущих методов противоопухолевой терапии, которая не приведена к исходным уровням или к степени 1 или ниже, за исключением алопеции или периферической нейропатии.
 - 4. Получали накопленную дозу кортикостероидов, эквивалентную ≥ 140 мг преднизолона, в течение 14-дневного периода до первой дозы исследуемого
 - 30 лекарственного средства (не включало препараты для предварительного лечения).
 - 5. Трансплантация стволовых клеток:
 - Аллогенная трансплантация стволовых клеток в течение 6 месяцев.
 Испытуемые, проходившие аллогенную трансплантацию, должны были

отказаться от всех иммуносупрессивных препаратов в течение 6 недель без признаков реакции «трансплантат против хозяина».

- Проходили аутологичную трансплантацию стволовых клеток за ≤ 12 недель до первой дозы исследуемого лекарственного средства.

- 5 6. Известное активное поражение ЦНС или наблюдаемые клинические признаки поражения множественной миеломой мозговых оболочек.
7. Плазмоклеточный лейкоз ($> 2,0 \times 10^9$ /л плазматических клеток по стандартной дифференциальной диагностике), макроглобулинемия Вальденстрема, синдром РОEMS (полиневропатия, органомегалия, эндокринопатия, моноклональный белок и изменения кожи) или первичный амилоидный амилоидоз легкой цепи.
- 10 8. Известно, что они имеют сероположительную реакцию в отношении вируса иммунодефицита человека или синдрома приобретенного иммунодефицита.
9. Инфекция гепатита В или риск реактивации вируса гепатита В, как это определено в соответствии с рекомендациями Американского общества клинической онкологии.
- 15 Соответствие критериям устанавливал исследователь. В случае, если инфекционный статус был неясен, для определения инфекционного статуса необходимы количественные уровни. Активная инфекция гепатита С, определяемая положительным тестом на РНК вируса гепатита С (ВГС). Испытуемые с положительной реакцией на антитела к ВГС должны были пройти тестирование на РНК ВГС.
- 20 10. Легочная недостаточность, требующая дополнительного применения кислорода для поддержания адекватного насыщения кислородом.
11. Известные аллергические реакции, гиперчувствительность или непереносимость теклистамаба или его эксципиентов.
- 25 12. Любое серьезное основное медицинское состояние, например:
- Доказательства серьезной активной вирусной, бактериальной или неконтролируемой системной грибковой инфекции.
 - Активное аутоиммунное заболевание или задокументированная история аутоиммунного заболевания
- 30 - Психические состояния (например, злоупотребление алкоголем или наркотиками), деменция или измененное психическое состояние
- Любая другая проблема, которая ухудшит способность испытуемого получать или переносить запланированное лечение в исследовательском центре, понимать информированное согласие или любое условие, участие в котором, по мнению

исследователя, не отвечало бы интересам испытуемого (например, поставит под угрозу благополучие) или которое может предотвратить, ограничить или запутать оценочные результаты, указанные в протоколе.

- 5 13. Беременность, или грудное вскармливание, или планирование беременности во время участия в данном исследовании или в течение 90 дней после получения последней дозы исследуемого лекарственного средства.
14. Планирование мужчиной зачатия ребенка во время участия в этом исследовании или в течение 90 дней после получения последней дозы исследуемого лекарственного средства.
- 10 15. Серьезная хирургическая операция в течение 2 недель после введения первой дозы, или полное восстановление после операции, или хирургическое вмешательство, запланированное во время ожидаемого участия испытуемого в исследовании, или в течение 2 недель после введения последней дозы исследуемого лекарственного средства (примечание: могут участвовать испытуемые с запланированными
- 15 хирургическими процедурами, которые будут проводиться под местной анестезией).
16. Инсульт или судороги в течение 6 месяцев после подписания формы информированного согласия.
17. Следующие сердечные заболевания:
- 20 - Хроническая сердечная недостаточность стадии III или IV согласно Нью-йоркской ассоциации кардиологов (NYHA);
- Инфаркт миокарда или аортокоронарное шунтирование (АКШ) ≤ 6 месяцев до включения в исследование
- 25 - В анамнезе клинически значимая желудочковая аритмия или необъяснимый обморок, не считающийся вазовагальным по своей природе или связанный с обезвоживанием
- В анамнезе тяжелая неишемическая кардиомиопатия
- Нарушенная функция сердца (LVEF $< 45\%$), оцененная с помощью эхокардиограммы или сканирования с множественной регистрацией (MUGA)
- 30 (выполнено за ≤ 8 недель до включения в исследование)
18. Диагноз или лечение инвазивной злокачественности, отличной от множественной миеломы, за исключением:

- злокачественности, получающей лечение с намерением излечения, причем известное активное заболевание отсутствовало в течение > 2 лет до включения в исследование; или
- получающего в достаточной степени лечение немеланомного рака кожи без признаков заболевания;

В. Способы

Нежелательные явления (НЯ) классифицирован в соответствии с Общими терминологическими критериями нежелательных явлений Национального института рака v4.03m, а синдром высвобождения цитокинов (CRS) классифицирован Lee et al., Blood 2014;124:188. Образцы крови собирали для клинических лабораторных испытаний перед введением каждой дозы теклистамаба и в дополнительные моменты времени в течение первого цикла лечения. Ответ оценивался исследователем с применением критериев Международной рабочей группы по миеломе в сутки 1 каждого цикла до прогрессирования заболевания, летального исхода, начала нового противоракового лечения, отзыва согласия на участие в исследовании или окончания исследования, в зависимости от того, какое событие произошло раньше, и минимальное остаточное заболевание (MRD) в костном мозге оценивали с помощью секвенирования следующего поколения (NGS).

Образцы крови и аспираты костного мозга собирали для фармакокинетического, фармакодинамического анализа и анализа иммуногенности через заранее установленные интервалы времени. Образцы сыворотки были проанализированы на предмет концентраций теклистамаба, профилей цитокинов и антител к теклистамабу с применением проверенных анализов. Популяции иммунных клеток анализировали методом проточной цитометрии.

Лечение теклистамабом в исследовании начинали с внутривенного (IV) введения дозы, основанной на минимальном ожидаемом уровне биологического эффекта, 0,3 мкг/кг каждые 2 недели (Q2W) в сутки 1 и 15 28-суточных циклов; однако частота введения доз была изменена на еженедельное дозирование в сутки 1, 8 и 15 21-суточных циклов после рассмотрения исходных данных фармакокинетики (PK) (см. ниже). После рассмотрения данных по безопасности и эффективности и с учетом того, что синдром высвобождения цитокинов (CRS) может быть смягчен при подкожном (SC) введении, было также оценено введение доз SC.

Статистический анализ

Увеличение дозы теклистамаба и идентификацию RP2D проводили с применением модифицированного способа непрерывной переоценки, основанного на вероятности DLT с помощью двухпараметрической байесовской модели логистической регрессии (Neuenschwander B, Branson M, Gsponer T. Critical aspects of the Bayesian approach to phase I cancer trials. Stat Med 2008;27:2420-39) и увеличения с применением принципа контроля передозировки (Babb J, Rogatko A, Zacks S. Cancer phase I clinical trials: efficient dose escalation with overdose control. Stat Med 1998;17:1103-20).

Безопасность оценивали у всех пациентов, получавших ≥ 1 дозы теклистамаба. Эффективность анализировали у пациентов, оцениваемых по ответу, включая всех тех, кто получил ≥ 1 дозы теклистамаба и имел ≥ 1 оценки ответа после исходного уровня. Фармакокинетику, фармакодинамику и иммуногенность анализировали у пациентов, получивших ≥ 1 дозы теклистамаба и которые имели ≥ 1 оцениваемого измерения концентрации теклистамаба в плазме, ≥ 1 измерения биомаркеров и ≥ 1 образец иммуногенности после введения дозы соответственно.

Начальная доза на основе минимального ожидаемого уровня биологического эффекта (MABEL)

Определение исходной дозы теклистамаба на основе MABEL основывалось на неклинических данных, полученных в исследованиях *in vitro*, в которых оценивали конечные точки как эффективности (активация Т-клеток и перенаправленная гибель Т-клеток ВСМА-положительных клеток множественной миеломы), так и безопасности (высвобождение цитокинов). Две системы анализа *in vitro* (цельная кровь и очищенные Т-клетки) применяли для независимой проверки, в результате чего расчетный MABEL составил 0,04 нМ на основе начальной дозы 0,3 мкг/кг теклистамаба, вводимого в виде приблизительно 4-часовой инфузии один раз на 2 недели. Это было основано на консервативном подходе с применением самого низкого среднего ЕС20 из наиболее чувствительного анализа активации Т-клеток, цитотоксичности и высвобождения цитокинов.

Модифицированный способ постоянной переоценки введения теклистамаба и увеличения дозы

Теклистамаб вводили под наблюдением персонала учреждения. Первую внутривенную дозу вводили в течение ≥ 2 часов, и пациенты находились под клиническим наблюдением каждые 15–20 минут во время инфузии, в конце инфузии и через 0,5, 1, 2 и 3 часа после инфузии. При всех последующих инфузиях пациентов

контролировали непосредственно перед инфузией, каждые 30 минут во время инфузии, в конце инфузии и по клиническим показаниям. В отсутствие любой степени ≥ 2 CRS или инфузионных реакций во время цикла 1 последующие дозы могли вводить в течение приблизительно 1 часа с одобрения спонсора. После того как группа по оценке безопасности (SET) сочла уровень дозы безопасным, внутривенное введение в этой дозе можно было делать в течение 1 часа.

Для внутривенного введения применяли модифицированный способ непрерывной переоценки в двух фазах титрования (ускоренной и стандартной); для подкожного введения применяли только стандартную фазу титрования. В фазе ускоренного титрования увеличение дозы начиналось с того, что от одного до трех пациентов получали лечение по стадиям, чтобы между приемами первой дозы последовательных пациентов прошло ≥ 72 часов (при наличии >1 пациента); ≥ 1 пациента должны были пройти оценку на DLT, прежде чем доза могла считаться безопасной, и пациенты были включены в когорту следующего уровня дозы. Доза для когорты следующего уровня дозы была определена на основе всех имеющихся данных, включая рекомендуемую дозу, с помощью байесовской модели логистической регрессии и увеличения с применением принципа контроля передозировки во время рассмотрения; следующая доза не должна была превышать предыдущую дозу более чем в два раза. Ускоренное титрование необходимо было прекратить и начать стандартное титрование, если возникала DLT или токсичность степени ≥ 2 .

В стандартной фазе титрования ≥ 3 пациентов были включены в каждую когорту уровня дозы с применением поэтапного подхода, аналогичного тому, который применялся в фазе ускоренного титрования; ≥ 3 пациентов должны были пройти один цикл лечения, прежде чем доза могла считаться безопасной, и пациенты были включены в когорту следующего уровня дозы. Если для оценки были доступны только два пациента (т. е. если другие пациенты прекратили лечение) и ни у одного из пациентов не наблюдалось токсичности ≥ 2 степени, два пациента считались достаточными для принятия решения. Пациенты, не завершившие оценку DLT по причинам, отличным от DLT, могли быть заменены. Если у одного пациента наблюдалась DLT во время цикла 1, SET могла либо разрешить включение в исследование ≤ 6 дополнительных пациентов, либо повторно оценить все доступные данные и обновленную вероятность DLT для определения когорты следующего уровня дозы в соответствии с байесовской моделью логистической регрессии и увеличения с применением принципа контроля передозировки. Если у двух пациентов наблюдалась

DLT, дальнейшее включение в когорту с этим уровнем дозы должно была быть остановлено, а SET должна была повторно оценить все имеющиеся данные, чтобы определить, следует ли включать дополнительных пациентов с текущим или более низким уровнем дозы, который соответствует увеличению уровня контроля передозировки. В когорту можно было включить до 12 пациентов с уровнем дозы, определенным SET как безопасный, или ниже. Если DLT не наблюдалась, увеличение дозы продолжалось до следующего уровня дозы с назначенной повышающей дозой (дозами). Для того чтобы считаться повышающей дозой, она должна была быть испытана на ≥ 3 пациентов, которые прошли оценку DLT при этой дозе. Повышающая доза (дозы) или схема могли быть исключены или откорректированы SET для получения требуемого эффекта адаптации Т-клеток для снижения уровня цитокинов и, таким образом, уменьшения симптоматического CRS у большинства пациентов, проходивших лечение. Повышающая доза также могла быть откорректирована для снижения токсичности, связанной с лекарственными средствами, кроме CRS.

15 Критерии дозолимитирующей токсичности

Дозолимитирующая негематологическая токсичность представляла собой общую негематологическую токсичность ≥ 3 степени (исключая алопецию; нейротоксичность степени 3, которая не снижается до исходного уровня или степени ≤ 1 через < 72 часов; астению, лихорадку или запор степени 3; тошноту, рвоту или диарею степени 3 [если не требуется зондовое питание, полное парентеральное питание или госпитализация]; инфекцию, кровотечение или другие ожидаемые прямые осложнения цитопении из-за активного заболевания; и первый случай ограниченного CRS степени 3 [т. е. восстановление до исходного уровня или степени ≤ 1 за < 72 часа]), нарушение общего биохимического анализа степени 3 (если сохраняется в течение > 7 суток или связано с клиническими осложнениями, несмотря на наилучшую поддерживающую терапию [включая электролиты и гормональные добавки, если это клинически применимо в соответствии со стандартами учреждения]), нарушение общего биохимического состава степени 4 (если не снижается в течение 5 суток до степени ≤ 1 или исходного уровня и не связано с CRS или инфузионным событием), нарушения общего биохимического состава степени 5, повышенное содержание аспартата аминотрансферазы степени 3 (AST) или аланинаминотрансферазы (ALT), которые не вернулись к уровню ≤ 1 или исходному уровню в течение 7 суток или не соответствуют критериям закона Хая (т. е. AST или $ALT \geq 3 \times$ верхний предел нормы [ULN], общее содержания билирубина $\geq 2 \times$ ULN и щелочной фосфатазы $\leq 2 \times$ ULN; без

альтернативной этиологии), или повышенный уровень липазы и/или амилазы степени 3, связанный с клиническими или рентгенологическими признаками панкреатита.

Дозолимитирующая гематологическая токсичность представляла собой нейтропению степени 4 в течение >7 суток, фебрильную нейтропению степени 3, не снижающуюся до степени ≤ 1 в течение 7 суток, фебрильную нейтропению степени 4, тромбоцитопению степени 3 с клинически значимым кровотечением, тромбоцитопению степени 4 или нейтропению степени 5, фебрильную нейтропению или тромбоцитопению. Для гематологической токсичности для документирования их начала и разрешения часто проводили лабораторный контроль, включающий полный и дифференциальный подсчет крови.

Корректировка дозы

В случае DLT необходимо было воздержаться от лечения и назначить поддерживающую терапию. В случае другой клинически значимой токсичности степени ≥ 3 лечение можно было бы приостановить по клиническим показаниям и назначить поддерживающую терапию; лечение можно было бы возобновить, если токсичность степени ≥ 3 снижалась до степени ≤ 1 или исходного уровня. Если лечение было возобновлено, можно было бы вводить более низкую дозу, если это считалось клинически целесообразным, с одобрения спонсора. Первое снижение дозы происходило на один уровень ниже текущей дозы или ниже, а второе снижение дозы происходило на два уровня ниже текущей дозы или ниже, причем более низкие уровни дозы определялись как те, которые оценивались во время этапа увеличения дозы (часть 1) и были признаны безопасными. В случае CRS любой степени требовалось воздержаться от лечения до его снижения.

Применение теклистамаба следовало прекратить из-за реакции, связанной с инфузией степени 4; реакции в месте инъекции степени ≥ 3 ; CRS степени 3 или 4, за исключением первого случая ограниченного CRS степени 3 (т. е. восстановление до степени ≤ 1 или исходного уровня за <48 часов); рецидивирующей нейротоксичности степени 3 или любой нейротоксичности степени 4; негематологической токсичности степени 4, соответствующей критериям DLT, за исключением переходных отклонений лабораторных показателей степени 4, связанных с синдромом лизиса опухоли, повышения уровня липазы или амилазы степени 4 без клинических симптомов или рентгенологических признаков панкреатита, симптомов CRS степени 1/2 или первого появления ограниченного CRS степени 3 (т. е. восстановление до степени ≤ 1 или исходного уровня за <5 суток) или связанного с первым случаем CRS степени 3;

гематологической токсичности степени 4, соответствующей критериям DLT; беременности; сопутствующего (непротокольное) системного противоопухолевого лечения; сопутствующего заболевания, препятствующего дальнейшему назначению лечения; отказа от дальнейшего лечения; несоблюдения требований к теклистамабу или процедуре; подтвержденного прогрессирования заболевания в соответствии с критериями IMWG, если только исследователь не сочтет, что продолжение лечения отвечает интересам пациента и после одобрения спонсора; или любых причин безопасности или переносимости по усмотрению исследователя.

В общей популяции и рекомендованной когорте дозы фазы 2, соответственно, нежелательные явления привели к задержкам цикла у 51 (32,5%) и 16 (40,0%) пациентов, к задержкам введения дозы у 20 (12,7%) и четырех (10,0%) пациентов и к снижению введения дозы у пяти (3,2%) и нулевого количества пациентов.

Минимальное остаточное заболевание (MRD)

MRD оценивали, чтобы определить способность монотерапии теклистамабом вызывать интенсивные количественные ответы у этой сложной популяции пациентов.

Оценку MRD проводили с помощью анализа ClonoSEQ™ (Adaptive Biotechnologies, Сиэтл, штат Вашингтон, США) с применением аспиратов костного мозга (BMA) всех испытуемых с подозрением на полный ответ (ПО). Дополнительные оценки MRD проводились после подозрения на ПО для испытуемых, которые продолжали участвовать в исследовании, если это было возможно. В анализе ClonoSEQ™ MRD применяют секвенирование следующего поколения (NGS) для определения частоты клонотипов миеломы, идентифицированных на исходном уровне, с применением набора мультиплексных локус-специфических наборов праймеров для тяжелых цепей иммуноглобулина (*IgH*, *IgK*, *IgL*).

Статус MRD определяли при чувствительности 10^{-4} (0,01%, 1 раковая клетка на 10 000 лейкоцитов, [WBC]), 10^{-5} (0,001%, 1 раковая клетка на 100 000 WBC) и 10^{-6} (0,0001%, 1 раковая клетка на 1 000 000 WBC). Пациенты считались подходящими для оценки, если у них был образец костного мозга, полученный после скрининга (до лечения), который идентифицировал доминантный миеломный клонотип для отслеживания, и образец с подозрением на ПО для отслеживания указанного клона. Порог чувствительности для определения MRD-отрицательности может зависеть от применяемого анализа и количества оцениваемых клеток или клеточных эквивалентов. Применяли анализ ClonoSEQ™, предел чувствительности которого может достигать 10^{-6} . Однако сообщество специалистов по миеломе, в том числе Международная

рабочая группа по миеломе (IMWG), недавно выпустило руководство по оценке MRD и рекомендовало 10^{-5} в качестве порогового значения для оценки MRD независимо от применяемого анализа. Таким образом, MRD-отрицательность оценивали при предложенном IMWG пороговом значении 10^{-5} и при пороговом значении чувствительности 10^{-6} анализа ClonoSEQ™. При подозрении на ПР 6/7 оцениваемых пациентов были признаны как имеющие отрицательность как при предложенном IMWG пороговом значении 10^{-5} , так и при самом высоком пороговом значении чувствительности 10^{-6} . Из этих пациентов 5 получили внутривенное введение и 4/5 пациентов имели MRD-отрицательность, в то время как остальные 2 пациента получили подкожное введение, и оба были подтверждены как имеющие MRD-отрицательность.

С. Исследуемая популяция и продолжительность лечения, первый момент окончания сбора данных

Первый момент окончания сбора данных имел место в марте 2020 г.

В общей сложности 74 испытуемых получали теклистамаб IV в дозах до 19,2 мкг/кг каждые две недели (Q2W) (когорты 1–7) и до 720 мкг/кг еженедельно (когорты 8–17). В общей сложности 24 испытуемых лечили теклистамабом SC в дозах до 720 мкг/кг еженедельно (когорты 1–4). Для каждого пути введения применяли различные стратегии повышающих доз. Основные требования к пригодности включали в себя:

- измеримый ММ
- RR или непереносимость установленных терапий ММ
- Hb ≥ 8 г/дл, тромбоциты $\geq 75 \times 10^9$ /л, ANC $\geq 1,0 \times 10^9$ /л (^a $\geq 50 \times 10^9$ /л для пациентов с $\geq 50\%$ плазматических клеток костного мозга)

Введение IV

Среди испытуемых, получавших лечение IV, средний возраст составлял 63,0 года (от 24 до 82 лет). Среднее количество предшествующих терапевтических схем составляло 6 (в диапазоне от 2 до 14). В соответствии с протоколом испытуемые в части 1 или части 2 должны были пройти предшествующую терапию ингибитором протеасом (PI) и иммуномодулирующим средством (IMiD) (или известной непереносимостью). 87,8% из этих испытуемых имели рефрактерность к PI+IMiD, 82,4% испытуемых имели тройную рефрактерность (PI/IMiD/антитело к CD38) и 40,5% испытуемых имели пента-рефрактерность (2 PI, 2 IMiD, антитело к CD38).

Средняя продолжительность лечения теклистамабом IV для всех испытуемых составила 2,1 месяца (в диапазоне от 0,03 до 17,2 месяца). Средняя продолжительность

лечения для подтвержденных ответивших ($n = 19$) составляла 6,4 месяца (в диапазоне от 2,1 до 17,2 месяца).

В IV когорте 16 (лечебная доза 270 мкг/кг еженедельно; $n = 11$), средняя продолжительность лечения составляла 2,8 месяца (от 0,03 до 6,3 месяца) на момент прекращения сбора данных, при этом среднее составляло 4,5 месяца для подтвержденных ответчиков ($n = 6$) в этой когорте.

В IV когорте 17 (лечебная доза 720 мкг/кг еженедельно; $n = 6$), средняя продолжительность лечения для всех испытуемых составляла 0,4 месяца (в диапазоне от 0,3 до 1 месяца) на момент прекращения сбора данных.

10 Введение SC

Среди испытуемых, получавших SC, средний возраст составлял 67,0 лет (от 41 до 76 лет). Среднее количество предшествующих терапевтических схем составляло 6,0 (в диапазоне от 3 до 14). 83,3% испытуемых имели рефрактерность к PI+IMiD, 70,8% испытуемых имели тройную рефрактерность (PI/IMiD/антитело к CD38) и 37,5% 15 испытуемых имели пента-рефрактерность (2 PI, 2 IMiD, антитело к CD38).

Средняя продолжительность лечения теклистамабом SC для всех испытуемых составила 2,1 месяца (диапазон от 0,7 до 6,7 месяца). Средняя продолжительность лечения для подтвержденных ответивших ($n = 10$) составляла 4,4 месяца (в диапазоне от 2,1 до 6,2 месяца).

20 В SC когорте 3 и SC когорте 4 (лечебная доза 720 мкг/кг еженедельно; $n = 11$), средняя продолжительность лечения составляла 1,9 месяца (от 0,7 до 3,7 месяца) на момент прекращения сбора данных, при этом среднее составляло 2,8 месяца для подтвержденных ответчиков ($n = 5$) в этих когортах.

25 **D. Безопасность, первый момент окончания сбора данных**

В анализах и тексте, представленных в настоящем документе, сутки 1 исследования относятся к первым суткам введения исследуемого лекарственного средства (повышающая доза или полная лечебная доза [когорты 1–9]).

1. Дозолимитирующая токсичность

У испытуемых, получавших теклистамаб IV, наблюдались две дозолимитирующие токсичности (DLT). У испытуемых, получавших теклистамаб SC, 30 не регистрировались DLT.

2. Возникшие в процессе лечения нежелательные явления (TEAE)

НЯ считалось возникшим в процессе лечения, если оно возникло во время или после первоначального введения исследуемого лекарственного средства до дня приема

последней дозы плюс 100 суток (часть 1 и часть 2) или плюс 30 суток (часть 3) или за сутки до начала последующей противоопухолевой терапии, в зависимости от того, какое событие было раньше. Любое НЯ, которое исследователь считал очень вероятно, скорее всего или, возможно, связанным с исследуемым лекарственным средством, также считалось возникшим в процессе лечения, независимо от даты начала события.

Введение IV

Среди испытуемых, получавших теклистамаб IV, 72 (97,3%) имели ≥ 1 ТЕАЕ. Двадцать шесть испытуемых (35,1%) имели любое ТЕАЕ с максимальной степенью тяжести 3; 33 испытуемых (44,6%) имели любое ТЕАЕ с максимальной степенью тяжести 4. У одного испытуемого наблюдалось НЯ степени 5, а еще у 1 испытуемого наблюдалось НЯ степени 5, которое не считалось возникшим в процессе лечения. Тридцать шесть испытуемых (48,6%) имели в общей сложности 87 серьезных ТЕАЕ.

Сорок три испытуемых (58,1%) испытывали ≥ 1 связанного с инфекцией ТЕАЕ. ТЕАЕ было идентифицировано исследователем как связанное с инфекцией в электронной форме истории болезни (eCRF). Пять испытуемых (6,8%) испытывали ≥ 1 ТЕАЕ, связанного с инфузией. События нейротоксичности, связанные с теклистамабом, представлены ниже. CRS регистрировали у 40 испытуемых (54,1%). Из этих испытуемых 27 (36,5%) имели CRS максимальной степени 1 и 1 (17,6%) имел CRS максимальной степени 2. О CRS степени 3 или выше не сообщалось.

Наиболее часто сообщаемыми ТЕАЕ ($\geq 20\%$ испытуемых) были анемия (44 испытуемых [59,5%]), CRS (39 испытуемых (52,7%; см. примечание ниже), нейтропения (37 испытуемых [50,0%]), тромбоцитопения (31 испытуемый [41,9%]), лейкопения (22 испытуемых [29,7%]), пирексия (22 испытуемого [29,7%]), диарея (18 испытуемых [24,3%]), кашель (18 испытуемых [24,3%]), инфекция верхних дыхательных путей (16 испытуемых [21,6%]), боль в спине (15 испытуемых [20,3%]) и головная боль (15 испытуемых [20,3%]).

Введение SC

Среди испытуемых, получавших теклистамаб SC, 24 (100,0%) имели ≥ 1 ТЕАЕ. Десять испытуемых (41,7%) имели любое ТЕАЕ с максимальной степенью тяжести 3; 6 испытуемых (25,0%) имели любое ТЕАЕ с максимальной степенью тяжести 4. Ни один испытуемый не имел 5 ТЕАЕ или НЯ. Шесть испытуемых (25,0%) имели в общей сложности 9 серьезных ТЕАЕ.

Одиннадцать испытуемых (45,8%) имели ≥ 1 связанного с инфекцией ТЕАЕ. Четверо испытуемых (16,7%) имели ≥ 1 связанного с инфекцией ТЕАЕ. Не сообщалось

о событиях нейротоксичности, связанных с SC теклистамаба. CRS регистрировали у 11 испытуемых (45,8%). Из этих испытуемых 10 (41,7%) имели CRS максимальной степени 1 и 1 (4,2%) имел CRS максимальной степени 2.

Наиболее часто сообщаемыми TEAE ($\geq 20\%$ испытуемых) были анемия (12
 5 испытуемых [50,0%]), CRS (11 испытуемых [45,8%]), нейтропения (11 испытуемых [45,8%]), тромбоцитопения (7 испытуемых [29,2%]), пирексия (6 испытуемых [25,0%]), кашель (6 испытуемых [25,0%]), инфекция верхних дыхательных путей (5 испытуемых [20,8%]) и тошнота (5 испытуемых [20,8%]).

3. TEAE степени 3 и степени 4

10 Введение IV

TEAE степени 3 или 4 наблюдались у 60 испытуемых (81,1%), получавших IV
 введение теклистамаба. Наиболее часто сообщаемые события ($\geq 5\%$ испытуемых)
 включали в себя нейтропению (31 испытуемый [41,9%]), анемию (27 испытуемых
 15 [36,5%]), тромбоцитопению (18 испытуемых [24,3%]), лейкопению (11 испытуемых [14,9%]), лимфопению (11 испытуемых [14,9%]), гиперфосфатемию (6 испытуемых [8,1%]), пневмонию (5 испытуемых [6,8%]), сепсис (5 испытуемых [6,8%]), гиперкальцемию (4 испытуемого [5,4%]), гипертензию (4 испытуемого [5,4%]) и острую почечную недостаточность (4 испытуемого [5,4%]).

Введение SC

20 TEAE степени 3 или 4 наблюдались у 16 испытуемых (66,7%), получавших SC
 введение теклистамаба. Наиболее часто сообщаемые события ($\geq 5\%$ испытуемых)
 включали нейтропению (8 испытуемых [33,3%]), анемию (6 испытуемых [25,0%]),
 тромбоцитопению (5 испытуемых [20,8%]), лимфоию (3 испытуемых [12,5%]) и
 гиперфосфатемию (2 испытуемого [8,3%]).

25 4. Серьезные TEAE

Введение IV

Серьезные TEAE регистрировали в отношении 36 испытуемых (48,6%),
 получавших теклистамаб IV. У ≥ 3 испытуемых сообщалось о следующих серьезных
 TEAE: CRS (7 испытуемых); пневмонии (6 испытуемых); сепсисе (5 испытуемых);
 30 пирексии (4 испытуемых); и гиперкалиемии, боли в оконечностях и острой почечной
 недостаточности (у каждого из 3 испытуемых).

Введение SC

Серьезные ТЕАЕ регистрировали в отношении 6 испытуемых (25,0%), получавших теклистамаб SC. Ни один из предпочтительных терминов не был зарегистрирован как серьезный более чем у 1 испытуемого.

5 5. *Летальный исход*

Введение IV

Двадцать два испытуемых, получавших теклизтамаб IV, умерли. Семнадцать летальных случаев были вызваны прогрессирующим заболеванием, 2 летальных случая были связаны с НЯ, и 3 летальных случая были приведены по «другим» причинам в клинической базе данных (1 испытуемый из-за глиобластомы и 2 испытуемых из-за сепсиса, 1 из которых также имел неподтвержденное прогрессирование заболевания на момент смерти). Три летальных исхода имели место в течение 30 дней получения последней дозы исследуемого лекарственного средства, включая 2 испытуемых с прогрессирующим заболеванием, и испытуемого, упомянутого выше, который умер из-за сепсиса и неподтвержденного прогрессирования заболевания.

Введение SC

Три испытуемых, получавшие теклистамаб SC, умерли. Летальный исход из-за прогрессирующего заболевания у 2 испытуемых и приведен по «другим» причинам в клинической базе данных (ухудшение состояния здоровья). Два смертельных исхода, в том числе вследствие ухудшения состояния, имели место в течение 30 дней с момента получения последней дозы исследуемого лекарственного средства.

6. *Нежелательные явления, представляющие особый интерес*

CRS — введение IV

Возникшие после лечения симптомы CRS были зарегистрированы у 40 испытуемых (54,1%), получавших теклистамаб IV. У ≥ 3 испытуемого были зарегистрированы следующие возникшие в процессе лечения симптомы CRS: пирексия (38 испытуемых); озноб, гипотензия и синусовая тахикардия (у каждого из 9 испытуемых), головная боль (5 испытуемых), гипоксия (4 испытуемых) и повышение уровня аспаратаминотрансферазы (3 испытуемых).

Среднее время начала CRS составляло 1 сутки от получения самой последней дозы исследуемого лекарственного средства (диапазон от 1 до 3 суток) со средней продолжительностью 3 суток (диапазон от 1 до 6 суток). События CRS, устраненные у всех испытуемых. Тридцать семь испытуемых (50,0%) получали поддерживающие меры в качестве лечения CRS (18 испытуемых [24,3%] получали тоцилизумаб, 13

испытуемых [17,6%] получали кортикостероиды, 1 испытуемый [1,4%] получал вазопрессоры, и 5 испытуемых [6,8%] получали кислород).

В когорте 16 IV (доза лекарственного средства 270 мкг/кг в неделю; n = 11), 2 испытуемых (18,2%) имели CRS с максимальной степенью тяжести 1 и 4 испытуемых (36,4%) имели CRS с максимальной степенью тяжести 2. Средняя продолжительность составляла 1 сутки (диапазон от 1 до 6 суток). Трое испытуемых имели несколько событий CRS. Из 3 других событий CRS, зарегистрированных в этой когорте, 1 произошло после получения первой повышающей дозы, 1 произошло после второй повышающей дозы и 1 произошло после первой лечебной дозы. Каждый из этих испытуемых (все на одном участке) получал лечение тоцилизумабом.

В когорте 17 IV (доза лекарственного средства 720 мкг/кг в неделю; n = 6), 2 испытуемых (33,3%) имели CRS с максимальной степенью тяжести 1 и 1 испытуемый (16,7%) имел CRS с максимальной степенью тяжести 2. Средняя продолжительность составляла 2 суток (диапазон от 1 до 2 суток). Один испытуемый имел 4 события CRS (вторую и третью повышающие дозы и первую и вторую дозы лекарственного средства). После первой повышающей дозы один испытуемый имел CRS. Эти 2 испытуемых получали лечение тоцилизумабом. Сообщалось, что третий испытуемый имел CRS после второй дозы лекарственного средства и не получал тоцилизумаб.

CRS — введение SC

Возникшие после лечения симптомы CRS были зарегистрированы у 11 испытуемых (45,8%), получавших теклистамаб SC. Сообщалось о пирексии у 10 испытуемых, и о других возникших в процессе лечения симптомах CRS не сообщалось у ≥ 3 испытуемых.

Среднее время начала CRS составляло 2,0 суток после введения самой последней дозы исследуемого лекарственного средства (в диапазоне от 2 до 3 суток) со средней продолжительностью 1 сутки (в диапазоне от 1 до 4 суток). События CRS, устраненные у всех испытуемых. Десять испытуемых (41,7%) получали поддерживающие меры в качестве лечения CRS (2 испытуемых [8,3%], получали тоцилизумаб, 2 испытуемых [8,3%] получали кортикостероиды, ни один испытуемый не получал вазопрессоры, и 1 испытуемый [4,2%] получал кислород).

В SC когорте 3 и SC когорте 4 (лечебная доза 720 мкг/кг еженедельно; n = 11) 7 испытуемых (63,6%) имели CRS с максимальной степенью тяжести 1. О более тяжелом CRS в этих когортах на сегодняшний день не сообщалось. Средняя продолжительность составляла 1 сутки (диапазон от 1 до 4 суток). Четверо испытуемых имели несколько

событий CRS; только один из них получал лечение тоцилизумабом. Из 3 других случаев CRS, зарегистрированных в этих когортах, 1 произошел после первой повышающей дозы, 1 произошел после второй повышающей дозы и 1 произошел после первой лечебной дозы (1 из которых лечили тоцилизумабом).

5 Связанная с теклистамабом нейротоксичность — введение IV

Шесть испытуемых (8,1%), получавших теклистамаб IV, испытывали события нейротоксичности, которые по меньшей мере, возможно, связаны с теклистамабом. У 3 из 6 испытуемых нейротоксичность была устранена в течение 2 суток. Из 4 испытуемых, которые продолжали лечение, ни один не имел дополнительной
10 связанной с теклистамабом нейротоксичности.

Следует отметить, что НЯ степени тяжести 5 в виде сниженного уровня сознания, о котором сообщалось у умершего испытуемого, получавшего IV теклистамаб (см. выше), был сочтен исследователем не связанным с исследуемым лекарственным средством, не возникло в контексте CRS, началось после
15 прогрессирования заболевания и ухудшилось по степени после начала последующей противоопухолевой терапии.

Связанная с теклистамабом нейротоксичность — введение SC

Ни у одного из испытуемых, получавших теклистамаб SC, не было случаев нейротоксичности, которые по меньшей мере, возможно, были связаны с
20 теклистамабом.

Е. Эффективность, первый момент окончания сбора данных

Введение IV

Шестьдесят семь испытуемых, получавших теклистамаб IV, имели ≥ 1 оценки заболевания после введения дозы на момент окончания сбора данных (т. е. поддавались
25 оценке эффективности). Общая частота ответа (ОЧО); строгий полный ответ [сПО] + полный ответ [ПО] + очень благоприятный частичный ответ [ОБЧО] + частичный ответ [ЧО]) для всех испытуемых, получавших IV теклистамаб, составил 28,4%, причем 15 испытуемых имели ОБЧО или выше и 7 испытуемых имели ПО или выше (таблица 7; ФИГ. 10). Продолжительность лечения у ответчиков была больше, чем у тех, кто не
30 ответил на него. Двадцать восемь испытуемых (41,8%) имели стабильное заболевание и 19 испытуемых (28,4%) имели прогрессирующее заболевание. Следует отметить, что дата окончания сбора данных на ФИГ. 10 была более ранней, чем для текста.

Ответы происходили быстро, со средним временем до подтвержденного первого ответа (ЧО или выше) 1 месяц (в диапазоне от 1 до 3 месяцев). Среднее время до

подтвержденного ПО или выше и подтвержденного ОБЧО или выше составляло 2,1 месяца (в диапазоне от 1,6 до 7,2 месяца) и 1 месяц (от 1,0 до 5,8 месяца) соответственно.

Средняя продолжительность наблюдения за всеми испытуемыми, получавшими лечение IV, на момент прекращения сбора данных составляла 7,4 месяца (в диапазоне от 0,3 до 27,0 месяца).

Первый ответ в исследовании с увеличением дозы наблюдался у испытуемого из IV когорты 10 (лечебная доза еженедельно 38,4 мкг/кг). Для испытуемых, получавших лечение в IV когорте 10 и выше (n = 54), ОЧО составляла 35,2% со специфическими ответами, указанными выше. Наблюдалось увеличение интенсивности ответов с течением времени у некоторых испытуемых с продолжающимся ответом у 16/21 пациентов с ответом.

В IV когорте 16 (лечебная доза 270 мкг/кг еженедельно; n = 9 оцениваемых испытуемых), ОЧО составляла 66,7%, причем из 2 испытуемых (22,2%) каждый имел ПО, ОБЧО и ЧО (таблица 7; ФИГ. 10). Среднее время до первого подтвержденного ответа (ЧО или выше) в этой когорте составляло 0,95 месяца (в диапазоне от 1,0 до 1,7 месяца). Средняя продолжительность наблюдения за всеми испытуемыми в IV когорте 16 на момент прекращения сбора данных составляла 3,9 месяца (в диапазоне от 0,3 до 6,3 месяца). Эти предварительные данные свидетельствуют о убедительной эффективности в этой популяции пациентов, получавших интенсивное предварительное лечение.

Таблица 7. Сводная информация по общему наиболее подтвержденному ответу на основе оценки исследователя; Выборка для анализа mITT

	Всего IV	10/60, затем 270 мкг/кг (IV16)	10/60/240, затем 720 мкг/кг еженедельно (IV17)	Всего SC	60/240, затем 720 мкг/кг еженедельно (SC3 и SC4)	В общей сумме
Популяция анализа: Модифицированная выборка «все рандомизированные пациенты согласно назначенному лечению»	67	9	2	24	11	91
Категория по ответу						
Строгий полный ответ (сПО)	2 (3,0%)	0	0	0	0	2 (2,2%)
Полный ответ (ПО)	5 (7,5%)	2 (22,2%)	0	2 (8,3%)	0	7 (7,7%)

	Всего IV	10/60, затем 270 мкг/кг (IV16)	10/60/240, затем 720 мкг/кг еженедельно (IV17)	Всего SC	60/240, затем 720 мкг/кг еженедельно (SC3 и SC4)	В общей сумме
Очень благоприятный частичный ответ (ОБЧО)	8 (11,9%)	2 (22,2%)	0	4 (16,7%)	2 (18,2%)	12 (13,2%)
Частичный ответ (ЧО)	4 (6,0%)	2 (22,2%)	0	3 (12,5%)	2 (18,2%)	7 (7,7%)
Минимальный ответ (МО)	0	0	0	0	0	0
Стабильное заболевание (СЗ)	28 (41,8%)	2 (22,2%)	1 (50,0%)	11 (45,8%)	5 (45,5%)	39 (42,9%)
Прогрессирующее заболевание (ПЗ)	19 (28,4%)	1 (11,1%)	0	4 (16,7%)	2 (18,2%)	23 (25,3%)
Не подлежит оценке (NE)	1 (1,5%)	0	1 (50,0%)	0	0	1 (1,1%)
Общий ответ (сПО+ПО +ОБЧО+ЧО)	19 (28,4%)	6 (66,7%)	0	9 (37,5%)	4 (36,4%)	28 (30,8%)
Клиническая польза (общий ответ + МО)	19 (28,4%)	6 (66,7%)	0	9 (37,5%)	4 (36,4%)	28 (30,8%)
ОБЧО или выше (сПО+ПО +ОБЧО)	15 (22,4%)	4 (44,4%)	0	6 (25,0%)	2 (18,2%)	21 (23,1%)

mIT (модифицированная выборка «все рандомизированные пациенты согласно назначенному лечению): Испытуемые получали по меньшей мере одно исследуемое лечение и находились под наблюдением в течение по меньшей мере 1 месяца или имели по меньшей мере одну оценку ответа исследователем.

Примечание: Ответ был оценен исследователями на основе критериев IMWG.

Процентные значения рассчитывали с числом испытуемых в каждой группе в качестве знаменателя.

Введение SC

Двадцать четыре испытуемых, получавших теклистамаб SC, имели ≥ 1 оценки заболевания после введения дозы на момент окончания сбора данных (т. е. поддавались оценке эффективности). ОЧО составляла 37,5%, причем у 6 испытуемых была ОБЧО или выше, а у 2 испытуемых была ПО или выше (таблица 7). Ответы происходили быстро, со средним временем до первого ответа (ЧО или выше) 1,6 месяца (в диапазоне от 0,9 до 1,9 месяца). Продолжительность лечения у ответчиков была больше, чем у тех, кто не ответил на него. Десять испытуемых (41,7%) имели стабильное заболевание и 4 испытуемых (16,7%) имели прогрессирующее заболевание.

Среднее время до первого подтвержденного ответа (ЧО или выше) составляло 1,6 месяца (в диапазоне от 1 до 2 месяцев). Среднее время до подтвержденного ПО или

выше или подтвержденного ОБЧО или выше составляло 2,7 месяца (в диапазон от 2,3 до 3,0 месяца) и 1,76 месяца (от 0,9 до 3,1 месяца) соответственно.

Средняя продолжительность наблюдения за всеми испытуемыми, получавшими лечение SC, на момент прекращения сбора данных составляла 3 месяца (в диапазоне от 0,9 до 6,8 месяца).

В SC когорте 3 и SC когорте 4 (лечебная доза 720 мкг/кг еженедельно; n = 11 оцениваемых испытуемых), ОЧО составляла 36,4%, причем из 2 испытуемых (18,2%) каждый имел ОБЧО и ЧО (таблица 7). Средняя продолжительность ответчиков в этой когорте была рассмотрена выше. Среднее время до первого подтвержденного ответа (ЧО или выше) в этих когортах составляло 1,3 месяца (в диапазоне от 0,9 до 1,6 месяца). Средняя продолжительность наблюдения за всеми испытуемыми в SC когорте 3 и SC когорте 4 на момент прекращения сбора данных составляла 1,9 месяца (в диапазоне от 0,9 до 3,7 месяца).

MRD

Кроме того, у двух пациентов, получавших лечение IV, были доступны устойчивые образцы MRD для оценки. Оба пациента демонстрировали устойчивую MRD-отрицательность приблизительно через 5 и 14 месяцев после получения их первого отрицательного образца MRD. Считалось, что оба пациента имеют отрицательность при 10^{-5} , и один пациент также имел отрицательность при 10^{-6} . Для одного пациента, который не был признан имеющим MRD-отрицательность при верхнем пороговом значении 10^{-6} , это было следствием недостаточности клеточного материала для правильной оценки MRD-отрицательности при 10^{-6} .

В заключение, лечение теклистамабом пациентов в исследовании с оцениваемыми образцами показало 85,7% отрицательных результатов MRD, достигло отрицательных результатов MRD как при IV, так и SC введении и показало стойкий отрицательный результат MRD в течение 14 месяцев после получения первого образца MRD-отрицательности.

Ф. Клиническая фармакокинетика, первый момент окончания сбора данных

Введение IV

На момент окончания сбора данных предварительные фармакокинетические данные были доступны для 65 испытуемых, получавших теклистамаб IV, у которых можно было оценить фармакокинетику в дозах от 0,3 до 19,2 мкг/кг Q2W (когорты 1–7) или в дозах от 19,2 до 720 мкг/кг еженедельно (когорты 8–17).

Предварительные результаты РК после многократных IV инфузий теклистамаба в цикле 3 показали, что еженедельное введение доз не давало или давало минимальное накопление лекарственного средства причем средний коэффициент накопления (на основе AUC_{tau}) находился в диапазоне от 0,61 до 1,57 раза. Устойчивое воздействие на состояние увеличивалось приблизительно пропорционально дозе в диапазоне от 38,4 до 270 мкг/кг еженедельно (когорты 10–16). Профили зависимости концентрации теклистамаба от времени после IV введения представлены на ФИГ. 11.

Г. Клиническая фармакодинамика, первый момент окончания сбора данных

Оценивали проточную цитометрию и растворимые цитокиновые факторы для определения способности монотерапии теклистамабом демонстрировать ожидаемые фармакодинамические (PD) механизмы действия, включая индукцию цитокинов, временное снижение количества Т-клеток (перераспределение Т-клеток) и активацию Т-клеток. Исследовательская проточная цитометрия биомаркеров была проведена компанией Navigate BioPharma Services (Карлсбад, штат Калифорния, США), а оценка цитокинов — лабораториями ARUP (Солт-Лейк-Сити, штат Юта, США) с применением образцов цельной крови от всех оцениваемых (исходный образец и по меньшей мере один образец после лечения) испытуемых.

Введение IV

Были доступны данные по 74 испытуемым, имевшим IV введение, оцениваемым на предмет фармакодинамики в исследовании. Были включены данные о IV дозах теклистамаба, вводимых Q2W (лечебные дозы в диапазоне от 0,3 до 19,2 мкг/кг) и еженедельно (лечебные дозы в диапазоне от 19,2 до 270 мкг/кг). После увеличения дозы (доз) и лечебных доз в первом цикле у испытуемых наблюдались фармакодинамические изменения, которые были характерны для механизма действия теклистамаба при всех дозах $\geq 9,6$ мкг/кг теклистамаба. Они включали общую активацию Т-клеток, о чем свидетельствует повышенная экспрессия CD25 на CD3+ Т-клетках (среднее максимальное кратное изменение 1,71 [в диапазоне от 0,21 до 8,86]), а также наблюдения за перераспределением Т-клеток и нечастым увеличением, о чем свидетельствует общее абсолютное число Т-клеток (0,32; 0,01–19,07).

Последовательное увеличение некоторых цитокинов происходило во время введения повышающей дозы (доз) и первого цикла; в частности, они включали IL-10 (19,22; 0,17–1124,00), IL-6 (3,50; 1,00–204,00) и IL-2R α (2,32; 0,51–27,72).

Введение SC

Были доступны данные по 24 испытуемым, имевшим SC введение, оцениваемым на предмет фармакодинамики в исследовании. Были включены данные о SC дозах теклистамаба, вводимых еженедельно (лечебные дозы в диапазоне от 19,2 до 270 мкг/кг). После повышения дозы (доз) и лечебных доз в первом цикле у испытуемых наблюдались фармакодинамические изменения, характерные для механизма действия теклистамаба при всех дозах. Они включали общую активацию Т-клеток, о чем свидетельствует повышенная экспрессия CD25 на CD3⁺ Т-клетках (среднее максимальное кратное изменение 1,98 [в диапазоне от 0,22 до 7,70]), а также наблюдения за перераспределением Т-клеток и нечастым увеличением, о чем свидетельствует общее абсолютное число Т-клеток (0,11; 0,01–1,92). Последовательное увеличение некоторых цитокинов происходило во время введения повышающей дозы (доз) и первого цикла; в частности, они включали IL-10 (4,65; 1,60–65,60), IL-6 (3,00; 0,26–41,60) и IL-2R α (1,95; 1,95–9,48). Следует отметить, что наблюдаемое продуцирование цитокинов было ослаблено по сравнению с IV введением.

Наиболее выраженная индукция цитокинов происходила с анализатами IL-10, IL-6 и IL-2R α . Эти цитокины демонстрировали продольные паттерны индукции, которые часто исчезали перед введением следующей дозы. Растворимый фактор активации Т-клеток IL-2R α (растворимый CD25) демонстрировал увеличение после повышения дозы и введения полной дозы (ФИГ. 12Б). Контроль цитокинов показал, что схемы повышающего дозирования обеспечивают управляемый профиль индукции цитокинов в поддержку синдрома высвобождения цитокинов более низкой степени, активации Т-клеток и эффективного дозирования теклистамаба.

Оценки абсолютных количеств Т-клеток в периферической крови методом проточной цитометрии до введения дозы, через 24 часа после введения дозы и до введения дозы последующего лечения выявили временное снижение количества Т-клеток (ФИГ. 12А). Было высказано предположение, что это снижение облегчает доставку эффекторных клеток к участку действия. Однако доступные в настоящее время анализы не позволяют отслеживать каждую Т-клетку у пациента, тем не менее, этот феномен PD наблюдался в других перенаправляющих терапевтических средствах, которые имели эффективное лечение миеломы и других гематологических злокачественных опухолей (т. е., блинатумомаб).

В заключение, лечение теклистамабом пациентов с оцениваемыми образцами показало временное увеличение цитокинов, увеличение растворимого IL-2R α и

временное снижение количеств Т-клеток в периферической крови, что соответствовало ожидаемому механизму действия.

Н. Выводы, первый момент окончания сбора данных

Теклистамаб имел управляемый профиль безопасности при всех оцененных
5 дозах: все события CRS (56%) относились к 1–2 степени и по существу ограничивались первой повышающей и полной дозами; повышенное дозирование снижало CRS высокой степени; наблюдалась низкая частота нейротоксических событий, преимущественно 1–2 степени.

10 Более высокие ответы были достигнуты при более высоких дозах: в популяции пациентов с поздней стадией при IV дозе 270 мкг/кг ОЧО составляла 64% с 55% \geq ОБЧО; ранние ответы также наблюдались при IV дозе 720 мкг/кг с более коротким наблюдением; наблюдались устойчивые ответы до 18 месяцев; 16/20 пациентов имели постоянный ответ на момент окончания сбора данных; 4/5 пациентов имели MRD-отрицательность при 10^{-6} , а 2/2 оцениваемых пациентов имели устойчивую MRD-
15 отрицательность.

И. Исследуемая популяция и продолжительность лечения, второй момент окончания сбора данных

Второй момент окончания сбора данных имел место в феврале 2021 г.

20 В период от 8 июня 2017 г. до 4 февраля 2021 г. в исследование было включено 155 пациентов, которые получили ≥ 1 дозы теклистамаба; В анализ эффективности были включены 153 пациента с ≥ 1 оценкой после исходного ответа. В общей сложности 100 пациентов (64,1%) прекратили лечение из-за прогрессирования заболевания (48,7%), решения врача (5,8%), нежелательного явления (6,4%), отказа пациента (1,9%) и летального случая (0,6%) (ФИГ. 15). В общей популяции средний возраст составлял
25 63,0 года (в диапазоне 24–84), 54,5% пациентов были мужчинами, а 32,5% имели цитогенетический профиль высокого риска (таблица 8). Пациенты получали в среднем шесть предшествующих линий терапии (в диапазоне от 2 до 14); 81,4% имели рефрактерность к тройному классу, 38,5% имели рефрактерность к пента-препаратам и 90,4% имели рефрактерность к последней линии терапии. Исходные характеристики
30 пациентов в дозовой когорте, обозначенной как RP2D (n = 40), по существу соответствовали таковым в общей популяции (таблица 8).

Теклистамаб вводили внутривенно 84 пациентам (раз в две недели n = 12 и еженедельно n = 72) и подкожно 72 пациентам. Диапазон доз составлял 0,3–19,2 мкг/кг при внутривенном введении раз в две недели, 19,2–720 мкг/кг при еженедельном

внутривенном введении и 80,0–3000 мкг/кг при подкожном введении, причем для полных доз $\geq 38,4$ мкг/кг применяли повышающее дозирование. В когортах еженедельных внутривенных инъекций было два DLT (делирий степени 4 [при повышающей дозе 20,0 мкг/кг у пациента, назначенного в когорту 120 мкг/кг] и тромбоцитопения степени 4 в контексте CRS и диссеминированного внутрисосудистого свертывания [180 мкг/кг полной дозы]), и ни одного при подкожном введении доз. MTD теклистаба не был достигнут. Однако общая безопасность, эффективность, фармакокинетические и фармакодинамические данные (подробно описанные ниже) подтверждают еженедельную подкожную дозу 1500 мкг/кг теклистаба в качестве RP2D.

Таблица 8. Подробные сведения об исходных характеристиках

Характеристика	Всего (N = 156)*	Еженедельно 1500 мкг/кг подкожно когорта† (n = 40)
Средний возраст (диапазон) — лет	63,0 (24–84)	62,5 (39–84)
Возраст ≥ 70 лет — числ. (%)	34 (21,8)	9 (22,5)
Пол — числ. (%)		
Мужчины	85 (54,5)	26 (65,0)
Женщины	71 (45,5)	14 (35,0)
Раса — числ. (%)		
Европеонды	128 (82,1)	31 (77,5)
Черный	7 (4,5)	1 (2,5)
Азиаты	2 (1,3)	0
Прочее	3 (1,9)	1 (2,5)
Неизвестно	3 (1,9)	0
Не сообщено	13 (8,3)	7 (17,5)
Среднее время с момента постановки диагноза (диапазон) — год	6,7 (0,5–26,2)	5,7 (0,8–17,4)
Экстремедуллярные плазмоцитомы ≥ 1 — числ. (%)	18 (11,5)	8 (20,0)
Плазматические клетки костного мозга $\geq 60\%$ — числ. (%)	34 (23,6)	3 (8,6)
Оценка общего состояния ECOG — числ. (%)		
0	61 (39,1)	17 (42,5)
1	95 (60,9)	23 (57,5)
Стадия ISS — числ. (%)‡		
I	75 (48,4)	24 (61,5)
II	48 (31,0)	11 (28,2)
III	32 (20,6)	4 (10,3)
Цитогенетический профиль высокого риска — числ. (%)§	38 (32,5)	10 (37,0)
del(17p)	24 (20,5)	7 (25,9)
t(4;14)	17 (14,5)	4 (14,8)
t(14;16)	6 (5,1)	1 (3,7)
Среднее число линий предшествующих терапий множественной миеломы (диапазон)	6,0 (2–14)	5,0 (2–11)
Ранее проведенная аутологичная трансплантация стволовых клеток — числ. (%)	133 (85,3)	34 (85,0)
Предшествующий ингибитор протеасом — числ.		

Характеристика	Всего (N = 156)*	Еженедельно 1500 мкг/кг подкожно когорта† (n = 40)
(%)		
Любой ингибитор протеасом ‖		
Получали лечение	156 (100)	40 (100)
Рефрактерные	139 (89,1)	35 (87,5)
Бортезомиб		
Получали лечение	150 (96,2)	39 (97,5)
Рефрактерные	97 (62,2)	22 (55,0)
Карфилзомиб		
Получали лечение	123 (78,8)	32 (80,0)
Рефрактерные	104 (66,7)	27 (67,5)
Иксазомиб		
Получали лечение	30 (19,2)	9 (22,5)
Рефрактерные	19 (12,2)	5 (12,5)
Предшествующее иммуномодулирующее лекарственное средство — числ. (%)		
Любое иммуномодулирующее лекарственное средство ¶		
Получали лечение	156 (100)	40 (100)
Рефрактерные	151 (96,8)	38 (95,0)
Леналидомид		
Получали лечение	153 (98,1)	39 (97,5)
Рефрактерные	138 (88,5)	34 (85,0)
Помалидомид		
Получали лечение	129 (82,7)	31 (77,5)
Рефрактерные	119 (76,3)	28 (70,0)
Талидомид		
Получали лечение	50 (32,1)	12 (30,0)
Рефрактерные	21 (13,5)	5 (12,5)
Предшествующее антитело к CD38 — числ. (%)		
Любое антитело к CD38 **		
Получали лечение	150 (96,2)	40 (100)
Рефрактерные	145 (92,9)	39 (97,5)
Даратумумаб		
Получали лечение	147 (94,2)	40 (100)
Рефрактерные	142 (91,0)	39 (97,5)
Изатуксимаб		
Получали лечение	4 (2,6)	0
Рефрактерные	4 (2,6)	0
Воздействие на тройной класс — числ. (%)††	150 (96,2)	40 (100)
Рефрактерные к тройному классу — числ. (%)††	127 (81,4)	33 (82,5)
Воздействие пента-препарата — числ. (%)‡‡	107 (68,6)	26 (65,0)
Рефрактерные к пента-препарату — числ. (%)‡‡	60 (38,5)	14 (35,0)
Рефрактерные к последней линии терапии — числ. (%)	141 (90,4)	34 (85,0)

ECOG — Восточная объединенная онкологическая группа ISS — Международная система стадирования

* Внутривенно раз в две недели, n = 12; еженедельно внутривенно, n = 72; еженедельно подкожно, n = 72.

† Повышающие дозы 60,0 и 300 мкг/кг.

‡ Знаменателе представляет собой оцениваемых пациентов, n = 144 в общей популяции и n = 35 в когорте, получавшей еженедельное подкожное введение 1500 мкг/кг.

§ Получено на основе комбинации сывороточного β 2-микроглобулина и альбумина; отсутствует у одного пациента.

|| Знаменатель представляет собой оцениваемых пациентов, $n = 117$ в общей популяции и $n = 27$ в когорте, получавшей еженедельное подкожное введение 1500 мкг/кг.

5 ¶ Бортезомиб, карфилзомиб и/или иксазомиб.

** Талидомид, леналидомид и/или помалидомид.

†† Даратумумаб и/или изатуксимаб.

‡‡ По меньшей мере один ингибитор протеасом, по меньшей мере одно иммуномодулирующее лекарственное средство и одно антитело к CD38.

10 §§ По меньшей мере два ингибитора протеасом, по меньшей мере два иммуномодулирующих лекарственных средства и одного антитело к CD38.

Ж. Безопасность, второй момент окончания сбора данных

15 В общей популяции у 155 пациентов (99,4%) были НЯ, а у 130 (83,3%) — НЯ степени 3/4; В когорте, получавшей лечение в RP2D, у 39 пациентов (97,5%) были НЯ, а у 28 (70,0%) были НЯ степени 3/4 (таблицы 9 и 10). НЯ степени 3/4 считались связанными с лечением у 76 пациентов (48,7%) во всех когортах и у 21 (52,5%) в когорте RP2D. Десять (6,4%) пациентов прекратили прием теклистамаба из-за НЯ, один из которых (делирий) считался связанным с лечением; НЯ не приводили к
20 прекращению лечения в когорте RP2D.

Таблица 9. Нежелательные явления, зарегистрированные у $\geq 15\%$ пациентов в общей популяции

Переменная — числ. (%)	Всего (N = 156)		Еженедельно 1500 мкг/кг Когорта с подкожным введением† (n = 40)	
	Любая степень	Степень 3/4	Любая степень	Степень 3/4
Любое нежелательное явление	155 (99,4)	130 (83,3)	39 (97,5)	28 (70,0)
Гематология				
Нейтропения	94 (60,3)	76 (48,7)	24 (60,0)	16 (40,0)
Анемия	90 (57,7)	52 (33,3)	19 (47,5)	11 (27,4)
Тромбоцитопения	67 (42,9)	36 (23,1)	18 (45,0)	8 (20,0)
Лейкопения	44 (28,2)	23 (14,7)	13 (32,5)	7 (17,5)
Негематологический				
Синдром высвобождения цитокинов	89 (57,1)	0	28 (70,0)	0
Пирексия	47 (30,1)	0	7 (17,5)	0
Диарея	41 (26,3)	2 (1,3)	8 (20,0)	1 (2,5)
Утомляемость	39 (25,0)	2 (1,3)	12 (30,0)	1 (2,5)
Тошнота	39 (25,0)	1 (0,6)	10 (25,0)	0
Головная боль	37 (23,7)	0	8 (20,0)	0
Кашель	36 (23,1)	3 (1,9)	4 (10,0)	0

Переменная — числ. (%)	Всего (N = 156)		Еженедельно 1500 мкг/кг Когорта с подкожным введением† (n = 40)	
	Любая степень	Степень 3/4	Любая степень	Степень 3/4
Боль в спине	29 (18,6)	3 (1,9)	2 (5,0)	1 (2,5)
Инфекция верхних дыхательных путей	29 (18,6)	0	2 (5,0)	0
Артралгия	26 (16,7)	3 (1,9)	4 (10,0)	1 (2,5)
Рвота	24 (15,4)	1 (0,6)	8 (20,0)	0

† Повышающие дозы 60,0 и 300 мкг/кг.

Таблица 10. Нежелательные явления, зарегистрированные у $\geq 10\%$ пациентов в общей популяции

Переменная — числ. (%)	Всего (N = 156)		Когорты с внутривенным введением (n = 84)		Когорты с подкожным введением (n = 72)	
	Любая степень	Степень 3/4	Любая степень	Степень 3/4	Любая степень	Степень 3/4
Любое нежелательное явление	155 (99,4)	130 (83,3)	84 (100)	76 (90,5)	71 (98,6)	54 (75,0)
Гематологические заболевания	133 (85,3)	117 (75,0)	74 (88,1)	68 (81,0)	59 (81,9)	49 (68,1)
Нейтропения	94 (60,3)	76 (48,7)	50 (59,5)	44 (52,4)	44 (61,1)	32 (44,4)
Анемия	90 (57,7)	52 (33,3)	54 (64,3)	33 (39,3)	36 (50,0)	19 (26,4)
Тромбоцитопения	67 (42,9)	36 (23,1)	37 (44,0)	21 (25,0)	30 (41,7)	15 (20,8)
Лейкопения	44 (28,2)	23 (14,7)	25 (29,8)	14 (16,7)	19 (26,4)	9 (12,5)
Лимфопения	22 (14,1)	21 (13,5)	15 (17,9)	14 (16,7)	7 (9,7)	7 (9,7)
Общие заболевания и реакции в месте введения	106 (67,9)	8 (5,1)	53 (63,1)	4 (4,8)	53 (73,6)	4 (5,6)
Пирексия	47 (30,1)	0	30 (35,7)	0	17 (23,6)	0
Утомляемость	39 (25,0)	2 (1,3)	21 (25,0)	1 (1,2)	18 (25,0)	1 (1,4)
Эритема в месте инъекции	20 (12,8)	0	0	0	20 (27,8)	0
Периферический отек	19 (12,2)	2 (1,3)	10 (11,9)	0	9 (12,5)	2 (2,8)
Инфекции и инвазии	91 (58,3)	25 (16,0)	57 (67,9)	19 (22,6)	34 (47,2)	6 (8,3)
Инфекция верхних дыхательных путей	29 (18,6)	0	21 (25,0)	0	8 (11,1)	0
Пневмония	16 (10,3)	8 (5,1)	11 (13,1)	7 (8,3)	5 (6,9)	1 (1,4)
Инфекция дыхательных путей	16 (10,3)	3 (1,9)	12 (14,3)	2 (2,4)	4 (5,6)	1 (1,4)
Заболевания скелетно-мышечной и соединительно-тканной систем	85 (54,5)	16 (10,3)	48 (57,1)	8 (9,5)	37 (51,4)	8 (11,1)
Задний паз	29 (18,6)	3 (1,9)	21 (25,0)	1 (1,2)	8 (11,1)	2 (2,8)
Артралгия	26 (16,7)	3 (1,9)	13 (15,5)	2 (2,4)	13 (18,1)	1 (1,4)
Миалгия	17 (10,9)	0	10 (11,9)	0	7 (9,7)	0
Боль в конечности	16 (10,3)	3 (1,9)	10 (11,9)	3 (3,6)	6 (8,3)	0
Заболевания желудочно-кишечного тракта	81 (51,9)	4 (2,6)	43 (51,2)	2 (2,4)	38 (52,8)	2 (2,8)
Диарея	41 (26,3)	2 (1,3)	25 (29,8)	1 (1,2)	16 (22,2)	1 (1,4)
Тошнота	39 (25,0)	1 (0,6)	19 (22,6)	1 (1,2)	20 (27,8)	0
Рвота	24 (15,4)	1 (0,6)	12 (14,3)	1 (1,2)	12 (16,7)	0

Переменная — числ. (%)	Всего (N = 156)		Когорты с внутривенным введением (n = 84)		Когорты с подкожным введением (n = 72)	
	Любая степень	Степень 3/4	Любая степень	Степень 3/4	Любая степень	Степень 3/4
Запор	17 (10,9)	0	10 (11,9)	0	7 (9,7)	0
Расстройство метаболизма и питания	77 (49,4)	25 (16,0)	44 (52,4)	14 (16,7)	33 (45,8)	11 (15,3)
Гипокальциемия	22 (14,1)	0	16 (19,0)	0	6 (8,3)	0
Гипомагниемия	21 (13,5)	0	12 (14,3)	0	9 (12,5)	0
Гипокалиемия	21 (13,5)	4 (2,6)	11 (13,1)	1 (1,2)	10 (13,9)	3 (4,2)
Гипофосфатемия	20 (12,8)	11 (7,1)	10 (11,9)	6 (7,1)	10 (13,9)	5 (6,9)
Снижение аппетита	19 (12,2)	2 (1,3)	9 (10,7)	1 (1,2)	10 (13,9)	1 (1,4)
Другие						
Синдром высвобождения цитокинов	89 (57,1)	0	45 (53,6)	0	44 (61,1)	0
Головная боль	37 (23,7)	0	20 (23,8)	0	17 (23,6)	0
Кашель	36 (23,1)	3 (1,9)	23 (27,4)	2 (2,4)	13 (18,1)	1 (1,4)
Повышение аспаргатаминотрансферазы	22 (14,1)	1 (0,6)	14 (16,7)	1 (1,2)	8 (11,1)	0
Головокружение	20 (12,8)	0	12 (14,3)	0	8 (11,1)	0
Повышение аланинаминотрансферазы	18 (11,5)	1 (0,6)	11 (13,1)	1 (1,2)	7 (9,7)	0

* Два или менее предпочтительных термина в классе системы органов.

Часто сообщалось о гематологических НЯ (таблица 9) наиболее частыми гематологическими НЯ степени 3/4 в общей популяции и когорте RP2D были нейтропения (48,7% и 40,0% соответственно), анемия (33,3% и 27,4% соответственно) и тромбоцитопения (23,1% и 20,0% соответственно). В общей популяции доля пациентов с первым появлением гематологического НЯ степени 3/4 во время введения повышающих доз или цикла ½ составляло 51,3% для нейтропении, 90,4% для анемии и 83,3% для тромбоцитопении.

Наиболее частым негематологическим НЯ был CRS, который развился у 89 (57,1%) пациентов в целом и у 28 (70,0%) пациентов, получавших лечение в RP2D; все события CRS имели степень 1/2. Среднее время до появления CRS относительно самой последней дозы теклистамаба составляло 1,0 суток (в диапазоне 1–3) при внутривенном введении (т. е. сутки внутривенной инфузии) и 2,0 суток (в диапазоне 1–5) при подкожном введении (т. е. сутки после подкожной инъекции); средняя продолжительность составляла 1,0 (в диапазоне 1–7) и 2,0 суток (в диапазоне 1–31) соответственно (таблица 11). CRS по существу ограничивался повышающей и первой полной дозой (данные не показаны). В целом 23,7% пациентов (32,5% в когорте RP2D) получали тоцилизумаб и 14,7% (12,5% в когорте RP2D) получали стероиды в качестве

поддерживающих мер для CRS. CRS был устранен у всех 89 пациентов. Другими негематологическими НЯ, которые регистрировались у $\geq 25\%$ пациентов, были пирексия (не связанная с CRS; 30,1%; 17,5% в RP2D), диарея (26,3%; 20,0% в RP2D), усталость (25,0%; 30,0% в RP2D) и тошнота (25,0%; 25,0% в RP2D); общие негематологические НЯ обычно имели степень 1/2 и были аналогичны при внутривенном и подкожном введении (таблица 10).

Таблица 11. Характеристики и управление CRS

Переменная	Когорты с внутривенным введением (n = 84)	Когорты с подкожным введением (n = 72)	Всего (N = 156)
Пациенты с событием CRS — числ. (%)	45 (53,6)	44 (61,1)	89 (57,1)
Максимальная степень токсичности — числ. (%)			
Степень 1	32 (38,1)	32 (44,4)	64 (41,0)
Степень 2	13 (15,5)	12 (16,7)	25 (16,0)
Среднее время до начала действия относительно самой последней дозы (диапазон), сутки	1,0 (1, 3)	2,0 (1, 5)	2,0 (1, 5)
Средняя продолжительность (диапазон), сутки	1,0 (1, 7)	2,0 (1, 31)	2,0 (1, 31)
Поддерживающие меры — числ. (%)*	43 (51,2)	41 (56,9)	84 (53,8)
Тоцилизумаб	22 (26,2)	15 (20,8)	37 (23,7)
Стероиды	16 (19,0)	7 (9,7)	23 (14,7)
Кислород	6 (7,1)	4 (5,6)	10 (6,4)
Вазопрессор	1 (1,2)	0	1 (0,6)
Прочее	42 (50,0)	39 (54,2)	81 (51,9)

10 CRS — синдром высвобождения цитокинов.

* Пациенты могли получать более одной поддерживающей меры для CRS.

15 Инфекции регистрировали у 85 пациентов (54,5% ; степень 3/4, 15,4%), включая 14 (35,0%; степень 3/4, 7,5%) получавших лечение в RP2D. Нейротоксичность (все степени) наблюдалась у семи пациентов (4,5%), с одним событием степени 1 (2,5%) в когорте RP2D; у двух пациентов были события нейротоксичности степени 3/4 при внутривенном введении и ни у одного пациента при подкожном введении (таблица 12). Реакции на инфузию были зарегистрированы у четырех пациентов в группах с внутривенным введением (4,8%), а реакции на участке инъекции были

зарегистрированы у 29 пациентов в группах с подкожным введением (40,3%), включая 20 (50,0%), получавших лечение в RP2D; все события имели степень 1/2.

5 Серьезные НЯ возникали у 73 пациентов (46,8%) всего и у 14 (35,0%) пациентов, получавших лечение в RP2D (таблица 13). Серьезные НЯ, зарегистрированные у $\geq 5\%$ пациентов, представляли собой CRS (всего 8,3%; 0,5% в RP2D), пневмонию (6,4%; 0 в RP2D) и сепсис (5,8%; 2,5% в RP2D). Двадцать шесть пациентов (16,7%) имели серьезные НЯ, которые считали связанным с приемом теклистамаба, в том числе трое (7,5%) в когорте RP2D.

10 **Таблица 12. Нейротоксичность, связанная с теклистамабом, по оценке исследователя**

Переменная — числ. (%)	Всего (N = 156)	Еженедельно 1500 мкг/кг Когорта с подкожным введением* (n = 40)
Любая нейротоксичность	7 (4,5)	1 (2,5)
Заболевания нервной системы	4 (2,6)	1 (2,5)
Афазия	1 (0,6)	0
Дисграфия	1 (0,6)	0
Парестезия	1 (0,6)	0
Нарушение речи	1 (0,6)	0
Тремор	1 (0,6)	1 (2,5)
Психические расстройства	4 (2,6)	0
Состояние спутанности	2 (1,3)	0
Брадикардия	1 (0,6)	0
Делирий	1 (0,6)	0
Изменение психического состояния	1 (0,6)	0

* Повышающие дозы 60,0 и 300 мкг/кг.

15 **Таблица 13. Серьезные нежелательные явления, зарегистрированные у $\geq 2\%$ пациентов в общей популяции**

Переменная — числ. (%)	Всего (N = 156)	Еженедельно 1500 мкг/кг Когорта с подкожным введением* (n = 40)
Любое серьезное нежелательное явление	73 (46,8)	14 (35,0)
Синдром высвобождения цитокинов	13 (8,3)	2 (5,0)
Пневмония	9 (5,8)	1 (2,5)
Сепсис	9 (5,8)	1 (2,5)
Пирексия	6 (3,8)	1 (2,5)
Острая почечная недостаточность	5 (3,2)	1 (2,5)

* Повышающие дозы 60,0 и 300 мкг/кг.

Во время исследования было 49 летальных исходов, из них 33 из-за прогрессирования заболевания, шесть из-за НЯ, которые произошли через ≤ 100 суток после последней дозы теклистамаба или до начала последующей системной противоопухолевой терапии, и десять по другим причинам (таблица 14). Одно НЯ, приведшее к летальному исходу (пневмония у пациента из когорты, получавшей еженедельное внутривенное введение дозы 80,0 мкг/кг), было расценено исследователем как связанное с лечением; остальные НЯ, приведшие к летальному исходу (COVID-19 [n = 2] и сниженные уровни сознания на фоне продолжающейся пневмонии, дыхательная недостаточность и сепсис [каждое n = 1]), считались не связанными с теклистамабом.

Таблица 14. Сводные данные по летальным исходам во время исследования

Основная причина — числ. (%)	Всего (N = 156)
Прогрессирование заболевания	33 (21,2)
Нежелательное явление	6 (3,8)
Связанные с лечением	1 (0,6)
Пневмония	n = 1
Не связанные с лечением	5 (3,2)
COVID-19	n = 2
Сниженный уровень сознания	n = 1
Дыхательная недостаточность	n = 1
Сепсис	n = 1
Другие*	10 (6,4)
Рак мозга (глиобластома)	n = 1
Сепсис	n = 1
Сепсис/множественная миелома	n = 1
Двусторонняя пневмония с дыхательной недостаточностью	n = 1
Инфекция COVID-19	n = 1
Ухудшение состояния здоровья	n = 1
Отчет о патологии аутопсии, пока нет точных данных	n = 1
Дыхательная недостаточность	n = 1
Отторжение трансплантата после аллогенной трансплантации гемопоэтических клеток	n = 1
Неизвестно	n = 1

* Все причины, за исключением ухудшения состояния здоровья и неизвестных факторов, возникли после начала последующей терапии.

К. Эффективность, второй момент окончания сбора данных

Средняя продолжительность наблюдения составила 14,1 месяца (диапазон 0,6–38,3+) в когортах с внутривенным введением и 7,1 месяца (1,1–17,6+) в когортах с подкожным введением. Ответы на теклистамаб у оцениваемых пациентов во всех когортах показаны в таблицах 15–17. Аналогичную эффективность наблюдали в RP2D по сравнению с еженедельными внутривенными дозами ≥ 270 мкг/кг и подкожными дозами ≥ 720 мкг/кг (таблица 18). Для этих пяти уровней доз ОЧО составила 67,4%, а у 62,8% пациентов был достигнут очень благоприятный частичный ответ или выше (\geq ОБЧО); средняя продолжительность ответа не была достигнута.

10

Таблица 15. Ответ на теклистамаб у оцениваемых пациентов в когортах с внутривенным введением раз в две недели*

Переменная	0,3 мкг/кг (n = 1)	0,6 мкг/кг (n = 1)	1,2 мкг/кг (n = 1)	2,4 мкг/кг (n = 3)	4,8 мкг/кг (n = 2)	9,6 мкг/кг (n = 1)	19,2 мкг/кг (n = 2)
Лучший общий ответ — числ. (%)							
Строгий полный ответ	0	0	0	0	0	0	0
Полный ответ	0	0	0	0	0	0	0
Очень благоприятный частичный ответ	0	0	0	0	0	0	0
Частичный ответ	0	0	0	0	0	0	0
Стабильное заболевание	1 (100)	1 (100)	0	2 (66,7)	1 (50,0)	1 (100)	2 (100)
Прогрессирующее заболевание	0	0	1 (100)	1 (33,3)	1 (50,0)	0	0
Общая частота ответа — числ. (%)	0	0	0	0	0	0	0
Очень благоприятный частичный ответ или выше — числ. (%)	0	0	0	0	0	0	0
Полный ответ или выше — числ. (%)	0	0	0	0	0	0	0

* Оценка исследователем оцениваемых пациентов, получивших по меньшей мере одну дозу теклистамаба и по меньшей мере одну оценку заболевания после исходного уровня; включает неподтвержденные ответы.

† Включает строгий полный ответ, полный ответ, очень благоприятный частичный ответ и частичный ответ.

15

Таблица 16. Ответ на теклистамаб у оцениваемых пациентов в когортах с еженедельным внутривенным введением*

Переменная	19,2 мкг/кг (n = 1)	38,4 мкг/кг (n = 1)	38,4 мкг/кг (n = 4)†	57,6 мкг/кг (n = 10)‡	80,0 мкг/кг (n = 12)‡	80,0 мкг/кг (n = 5)§	120 мкг/кг (n = 6)	180 мкг/кг (n = 6)	270 мкг/кг (n = 12)¶	720 мкг/кг (n = 15)**	Всего (n = 83)
Лучшая общая частота ответа — числ. (%)											
Строгий полный ответ	0	0	0	2 (20,0)	0	0	0	1 (16,7)	0	1 (6,7)	4 (4,8)
Полный ответ	0	0	1 (25,0)	0	1 (8,3)	0	2 (33,3)	0	5 (41,7)	3 (20,0)	12 (14,5)
Неподтвержденный — числ. ††	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Очень благоприятный частичный ответ	0	0	1 (25,0)	1 (10,0)	1 (8,3)	1 (20,0)	0	0	3 (25,0)	6 (40,0)	13 (15,7)
Частичный ответ	0	0	0	1 (10,0)	1 (8,3)	0	0	0	1 (8,3)	0	3 (3,6)
Стабильное заболевание	0	1 (100)	1 (25,0)	2 (20,0)	6 (50,0)	0	2 (33,3)	4 (66,7)	1 (8,3)	2 (13,3)	27 (32,5)
Прогрессирующее заболевание	1 (100)	0	1 (25,0)	4 (40,0)	3 (25,0)	4 (80,0)	2 (33,3)	1 (16,7)	2 (16,7)	3 (20,0)	24 (28,9)
Общая частота ответа — числ. (%) ‡‡	0	0	2 (50,0)	4 (40,0)	3 (25,0)	1 (20,0)	2 (33,3)	1 (16,7)	9 (75,0)	10 (66,7)	32 (38,6)
Очень благоприятный частичный ответ или выше — числ. (%)	0	0	2 (50,0)	3 (30,0)	2 (16,7)	1 (20,0)	2 (33,3)	1 (16,7)	8 (66,7)	10 (66,7)	29 (34,9)
Полный ответ или выше — числ. (%)	0	0	1 (25,0)	2 (20,0)	1 (8,3)	0	2 (33,3)	1 (16,7)	5 (41,7)	4 (26,7)	16 (19,3)

IMWG — Международная рабочая группа по миеломе.

* Оценка исследователем оцениваемых пациентов, получивших по меньшей мере одну дозу теклистамаба и по меньшей мере одну оценку заболевания после исходного уровня; включает неподтвержденные ответы.

† Повышающая доза 19,2 мкг/кг.

‡ Повышающая доза 20,0 мкг/кг.

§ Повышающие дозы 20,0 и 57,6 мкг/кг.

|| Повышающие дозы 20,0 и 60,0 мкг/кг.

¶ Повышающие дозы 10,0 и 60,0 мкг/кг.

** Повышающие дозы 10,0, 60,0 и 240 мкг/кг.

†† Пациенты соответствуют всем критериям полного ответа согласно критериям IMWG.

‡‡ Включает строгий полный ответ, полный ответ, очень благоприятный частичный ответ и частичный ответ.

Таблица 17. Ответ на теклистамаб у оцениваемых пациентов в когортах с еженедельным подкожным введением*

Переменная	80.0 мкг/кг (n = 6)†	240 мкг/кг (n = 7)‡	720 мкг/кг (n = 15)§	1500 мкг/кг (n = 40)¶	3000 мкг/кг (n = 4)	Всего (n = 72)
Лучший общий ответ — числ. (%)						
Строгий полный ответ	0	0	2 (13,3)	5 (12,5)	0	7 (9,7)
Полный ответ	2 (33,3)	2 (28,6)	3 (20,0)	7 (17,5)	1 (25,0)	15 (20,8)
Неподтвержденный — числ. **	0	0	0	2	0	2
Очень благоприятный частичный ответ	1 (16,7)	1 (14,3)	4 (26,7)	11 (27,5)	3 (75,0)	20 (27,8)
Неподтвержденный — числ. ††	0	0	0	2	0	2
Частичный ответ	0	0	0	3 (7,5)	0	3 (4,2)
Неподтвержденный — числ. ‡‡	0	0	0	2	0	2
Стабильное заболевание	2 (33,3)	2 (28,6)	2 (13,3)	8 (20,0)	0	14 (19,4)
Прогрессирующее заболевание	1 (16,7)	2 (28,6)	4 (26,7)	6 (15,0)	0	13 (18,1)
Общий ответ — числ. (%)§§	3 (50,0)	3 (42,9)	9 (60,0)	26 (65,0)	4 (100)	45 (62,5)
Очень благоприятный частичный ответ или выше — числ. (%)	3 (50,0)	3 (42,9)	9 (60,0)	23 (57,5)	4 (100)	42 (58,3)
Полный ответ или выше — числ. (%)	2 (33,3)	2 (28,6)	5 (33,3)	12 (30,0)	1 (25,0)	22 (30,6)

* Оценка исследователем оцениваемых пациентов, получивших по меньшей мере одну дозу теклистамаба и по меньшей мере одну оценку заболевания после исходного уровня; включает неподтвержденные ответы.

† Повышающая доза 20,0 мкг/кг.

‡ Повышающие дозы 40,0 и 80,0 мкг/кг.

§ Повышающие дозы 60,0 и 240 мкг/кг.

¶ Повышающие дозы 60,0 и 300 мкг/кг.

¶¶ Повышающие дозы 60,0, 300 и 1500 мкг/кг.

** Пациенты соответствуют всем критериям полного ответа согласно критериям IMWG.

†† Пациенты соответствуют всем критериям очень благоприятного частичного ответа согласно критериям IMWG.

‡‡ Пациенты соответствуют всем критериям частичного ответа согласно критериям IMWG.

§§ Включает строгий полный ответ, полный ответ, очень благоприятный частичный ответ и частичный ответ.

Таблица 18. Ответ на теклистамаб у оцениваемых пациентов, получавших лечение в RP2D и на других уровнях активных доз*

Переменная	Еженедельно 1500 мкг/кг Когорта с подкожным введением (n = 40) [†]	Другие когорты с еженедельным внутривенным введением (≥ 270 мкг/кг) и когорты с подкожным введением (≥ 720 мкг/кг) (n = 46) [‡]
Лучший общий ответ — числ. (%)		
Строгий полный ответ	5 (12,5)	3 (6,5)
Полный ответ	7 (17,5)	12 (26,1)
Неподтвержденный — числ.§	2	0
Очень благоприятный частичный ответ	11 (27,5)	16 (34,8)
Неподтвержденный — числ.	2	0
Частичный ответ	3 (7,5)	1 (2,2)
Неподтвержденный — числ.¶	2	0
Стабильное заболевание	8 (20,0)	5 (10,9)
Прогрессирующее заболевание	6 (15,0)	9 (19,6)
Общий ответ — числ. (%)**	26 (65,0)	32 (69,6)
Очень благоприятный частичный ответ или выше — числ. (%)	23 (57,5)	31 (67,4)
Полный ответ или выше — числ. (%)	12 (30,0)	15 (32,6)
Среднее время до первого подтвержденного ответа (диапазон) — мес.	1,0 (0,2–3,1)	1,0 (0,7–10,6)
Среднее время до первого подтвержденного очень благоприятного частичного ответа или выше (диапазон) — мес.	1,0 (0,2–4,6)	1,7 (0,7–6,0)
Среднее время до первого подтвержденного полного ответа или выше (диапазон) — мес.	2,3 (1,6–4,4)	4,4 (1,6–11,3)
Средняя продолжительность ответа (95% CI) — мес.	Н/Д (5,8–Н/Р)	Н/Д (10,0–Н/Р)

IMWG, Международная рабочая группа по миеломе; Н/Д — не достигнуто; RP2D — рекомендованная доза для фазы 2.

5 * Оценка исследователем оцениваемых пациентов, получивших по меньшей мере одну дозу теклистамаба и по меньшей мере одну оценку заболевания после исходного уровня; включает неподтвержденные ответы.

† Повышающие дозы 10,0 и 60,0 мкг/кг.

‡ Ежедневные внутривенные дозы 270 и 720 мкг/кг и ежедневные подкожные дозы 720 и 3000 мкг/кг.

§ Пациенты соответствуют всем критериям полного ответа согласно критериям IMWG.

5 | Пациенты соответствуют всем критериям очень благоприятного частичного ответа согласно критериям IMWG.

¶ Пациенты соответствуют всем критериям частичного ответа согласно критериям IMWG.

10 ** Включает строгий полный ответ, полный ответ, очень благоприятный частичный ответ и частичный ответ.

Средняя продолжительность наблюдения за всеми пациентами, получавшими лечение в RP2D, составила 4,3 месяца (диапазон 1,1–10,4+). У пациентов с оценкой ответа, получавших лечение в RP2D (n = 40), ОЧО составила 65,0%; 57,5% достигли ≥ОБЧО и 30,0% достигли ПО или выше (≥ПО). У 33 пациентов с рефрактерностью к тройному классу, получавших лечение в RP2D, и подлежащих оценке ответа, ОЧО составила 60,6%. Среднее время до первого подтвержденного ответа составило 1,0 месяца (диапазон 0,2–3,1), до первого подтвержденного ОБЧО — 1,0 месяца (диапазон 0,2–4,6), а до первого подтвержденного ≥ПО — 2,3 месяца (диапазон 1,6–4,4) в когорте RP2D. Средняя продолжительность ответа не была достигнута.

20 Ответы были устойчивыми и становились более интенсивными с течением времени в RP2D и в других когортах (ФИГ. 13). Среди 26 пациентов, получавших лечение в RP2D (медиана наблюдения, 5,3 месяца [в диапазоне 1,2–10,4+]), 23 (88,5%) были живы и продолжали лечение. Учитывая наблюдаемое повышение интенсивности ответов с течением времени, заявители оценили первых 22 пациентов, получавших лечение в RP2D, которые составили когорту с медианой наблюдения ≥6 месяцев (медиана, 6,3 месяца [в диапазоне 1,4–10,4+]); в этой группе ОЧО составляла 72,7%, причем 68,2% достигли ≥ОБЧО и 36,4% достигли ≥ПО.

Минимальное остаточное заболевание

30 Из 26 пациентов с полным ответом во всех когортах у 14 были образцы, пригодные для оценки MRD. У трех из 26 пациентов отсутствовали исходные образцы. У остальных 23 пациентов с исходными образцами, доступными для анализа MRD, десять образцов не прошли исходную калибровку (восемь биологических сбоя, один технический сбой и один сбой уникальности), а у двух дополнительных образцов не были подтверждены полные ответы. У одного пациента был взят повторный образец MRD, собранный через 14 месяцев после полного ответа, для анализа устойчивого MRD.

Из 14 оцениваемых пациентов во всех когортах девять имели MRD-отрицательный ПР или строгий ПР на уровне 10^{-6} . MRD-отрицательность сохранялась спустя 14 месяцев после ПО у одного оцениваемого пациента.

5 **L. Клиническая фармакокинетика, фармакодинамика и иммуногенность, второй момент окончания сбора данных**

Предварительные фармакокинетические результаты показали, что после внутривенного введения теклистамаба максимальные концентрации ($C_{\text{макс}}$) наблюдались в конце инфузии у большинства пациентов и быстро снижались (ФИГ. 10 14А). После первой подкожной дозы концентрации теклистамаба постепенно увеличивались (ФИГ. 14Б), а $C_{\text{макс}}$ был примерно в 4,5 раза ниже, чем при внутривенной дозе, нормализованной по дозе. Индивидуальное время достижения $C_{\text{макс}}$ наступало в течение 3–8 суток после подкожной инъекции. Средние минимальные уровни после введения первой дозы теклистамаба были сопоставимы между 15 аналогичными внутривенными и подкожными еженедельными дозами. После еженедельного подкожного введения среднее накопление увеличивалось в 1,8–3,9 раза. Воздействие увеличивалось приблизительно пропорционально дозе после многократного подкожного введения доз в диапазоне 80–3000 мкг/кг. Предварительный фармакокинетический анализ популяции показал, что уровни 20 растворимого ВСМА, похоже, не влияли на воздействие теклистамаба (данные не показаны). В RP2D средние минимальные уровни теклистамаба превышали целевую максимальную эффективную концентрацию 90% (EC_{90}) в анализе цитотоксичности *ex vivo* (с применением моноклеарных клеток костного мозга пациентов с ММ) (Girgis S, Lin SSX, Pillarisetti K, et al. Translational Approach of Using Ex Vivo Cytotoxicity and 25 Early Clinical Data to Predict Teclistamab Efficacious Therapeutic Range in Multiple Myeloma Patients. Blood 2020;136 (Supplement 1):35) (ФИГ. 14Б).

После еженедельного подкожного введения теклистамаба Т-клетки, положительные по белку-1 запрограммированной гибели клеток, индуцировались на периферии с последовательной активацией Т-клеток, наблюдаемой в RP2D (ФИГ. 14В). 30 Результаты были аналогичны другим маркерам активации Т-клеток (данные не показаны). Последовательное увеличение цитокинов наблюдалось после подкожного введения теклистамаба, причем более высокая индукция наблюдалась в когортах с более высокими дозами, включая RP2D (данные не показаны).

Антитела к теклистамабу в низких титрах (равных минимальному разведению, необходимому для анализа [1: 20]) были обнаружены у двух из 107 оцениваемых пациентов (1,9%), у одного в когорте с внутривенным введением 80,0 мкг/кг и у одного в когорте с подкожным введением 240 мкг/кг. Антитела к теклистамабу, похоже, не оказывали воздействия на безопасность или фармакокинетику у этих пациентов.

М. Выводы

В этом первом исследовании теклистамаба на людях недельная подкожная доза 1500 мкг/кг была выбрана в качестве RP2D на основе коллективной безопасности, эффективности, фармакокинетических и фармакодинамических данных. В RP2D теклистамаб хорошо переносился, а профиль безопасности был аналогичен другим когортам, получавшим подкожное введение. Частота ответов в этой когорте (ОЧО, 65,0%; ≥ОБЧО, 57,5%) соответствовала значениям, наблюдаемым для пяти наиболее активных доз; ответы были стойкими и становились более интенсивными с течением времени. Воздействие теклистамаба поддерживали на протяжении интервала дозирования, причем уровни, превышающие целевое воздействие, были получены из EC90 из анализа цитотоксичности ex vivo (Girgis S, Lin SSX, Pillariseti K, et al. Translational Approach of Using Ex Vivo Cytotoxicity and Early Clinical Data to Predict Teclistamab Efficacious Therapeutic Range in Multiple Myeloma Patients. Blood 2020;136 (Supplement 1):35). Наконец, введение теклистамаба при RP2D приводило к устойчивой активации Т-клеток и индукции цитокинов. На основе этих результатов в настоящее время проводится международное исследование экспансии теклистамаба на открытой фазе 2 при PR2D у пациентов с RRMM (NCT04557098).

Схему повышающего дозирования применяли в нескольких когортах, включая пациентов, получавших лечение в RP2D, для снижения риска тяжелого CRS (Blinicyto® (блинатумомаб) для инъекций [Инструкция по медицинскому применению препарата]. Amgen Inc., Thousand Oaks, CA. 2017; Stein A, Franklin JL, Chia VM, et al. Benefit-Risk Assessment of Blinatumomab in the Treatment of Relapsed/Refractory B-Cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia. Drug Saf 2019;42:587–601). При таком подходе CRS имел степень 1/2 и по существу возникал во время введения повышающих и первых полных доз теклистамаба. Подкожная инъекция была изучена, поскольку она требует более короткого времени введения, ожидается, что она повысит удобство для пациентов и медицинских работников и может отсрочить CRS по причине более постепенной абсорбции. Действительно, концентрации теклистамаба в сыворотке

повышались более постепенно при подкожном введении по сравнению с внутривенным, а среднее время до начала CRS было отсрочено на одни сутки. Характер низкой степени событий CRS позволяет предположить, что амбулаторное введение дозы теклистамаба в RP2D осуществимо и будет изучено в будущих исследованиях.

5 Теклистамаб продемонстрировал значительно большую эффективность в этом исследовании по сравнению с испытаниями других новых, одобренных методов лечения ММ у аналогичных популяций пациентов. Хотя в исследовании по изобретению подгруппа была небольшой, для пациентов с рефрактерностью к тройному классу ОЧО составляла 60,6% для теклистамаба в RP2D по сравнению с 26% 10 для селинекса и 31% для белантамаб мафодотина в одобренной дозе (Chari A, Vogl DT, Gavriatopoulou M, et al. Oral Selinexor-Dexamethasone for Triple-Class Refractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med* 2019;381:727–38; Lonial S, Lee HC, Badros A, et al. Belantamab mafodotin for relapsed or refractory multiple myeloma (DREAMM-2): a two-arm, randomised, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2020;21:207–21). Эти результаты 15 необходимо подтвердить в большей популяции пациентов; тем не менее, они указывают на то, что теклистамаб обладает обнадеживающей эффективностью у пациентов с RRMM, которые исчерпали стандартные методы лечения, и потенциально может обеспечить существенное улучшение по сравнению с доступными методами лечения. Более того, теклистамаб хорошо переносился в RP2D без прекращения 20 лечения из-за НЯ, тогда как селинексор и белантамаб мафодотин вызывали желудочно-кишечные и глазные токсические эффекты, соответственно, что приводило к прекращению лечения у подгруппы пациентов.

 Теклистамаб давал ОЧО, сравнимую с другими опубликованными экспериментальными иммунотерапевтическими препаратами, направленными на 25 BCMA, т. е. идекабтаген виклеуцелом, терапией CAR-T и AMG-420, BiTE (Raje N, Berdeja J, Lin Y, et al. Anti-BCMA CAR T-Cell Therapy bb2121 in Relapsed or Refractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med* 2019;380:1726–37; Topp MS, Duell J, Zugmaier G, et al. Anti-B-Cell Maturation Antigen BiTE Molecule AMG 420 Induces Responses in Multiple Myeloma. *J Clin Oncol* 2020;38:775–83). Профиль безопасности теклистамаба в RP2D 30 был более благоприятным по сравнению с идекабтаген виклеуцелом, без CRS ≥ 3 степени (по сравнению с 5%) и с низким уровнем нейротоксичности (2,5% по сравнению с 18%). Не было случаев периферической полинейропатии, серьезного НЯ, наблюдаемого при применении AMG-420, после лечения теклистамабом. Преимущество биспецифических антител, таких как теклистамаб, состоит в том, что

они легко доступны по сравнению с CAR-T, без необходимости сбора и производства персонализированных Т-клеток, нацеленных на ВСМА, что задерживает лечение и может ограничивать доступ к пациентам вблизи крупных специализированных центров. Более того, в отличие от BiTE, теклистамаб представляет собой

5 полноразмерное антитело с более длительным периодом полувыведения (Pillariseti K, Powers G, Luistro L, et al. Teclistamab is an active T cell-redirecting bispecific antibody against B-cell maturation antigen for multiple myeloma. Blood Adv 2020;4:4538-49), что позволяет осуществлять прерывистое введение. В этом первом отчете о полноразмерных биспецифических антителах у крупной популяции пациентов с ММ

10 теклистамаб продемонстрировал благоприятный профиль эффективности и токсичности по сравнению с белантамаб мафодотином, единственным одобренным на сегодняшний день препаратом, направленным на ВСМА, а также с идекабтаген виклеуцелом и AMG-420.

В заключение, в данном исследовании фазы 1 обеспечены доказательства того,

15 что полноразмерные биспецифические антитела могут перенаправлять Т-клетки на клетки ММ с прерывистым подкожным введением и высокой эффективностью. При еженедельной подкожной дозе 1500 мкг/кг теклистамаб хорошо переносился, и у значительной части пациентов с RRMM, получавших интенсивное предварительное лечение, был достигнут ответ; ответы были стойкими и становились более

20 интенсивными с течением времени. В будущих исследованиях будет проведена дальнейшая оценка теклистамаба у пациентов с RRMM, при ММ более ранней линии, а также в комбинации с другими агентами.

Пример 4. Исследование фазы 1b увеличения дозы/наращивания дозы даратумумаба в комбинации с теклистамабом в качестве лечения рецидивирующей или рефрактерной множественной миеломы

В фазе 1b проводят исследование увеличения дозы/наращивания дозы, открытое, многоцентровое, многогрупповое исследование даратумумаба в комбинации с теклистамабом или другим биспецифическим антителом, перенаправляющим Т-

30 клетки, направленным на GPRC5D (талкетумаб; также известный как JNJ-64407564) для изучения безопасности, RP2D(s) и предварительной эффективности комбинации. В исследование включены взрослые с множественной миеломой, получившие ≥ 3 предшествующих линий терапии, включая PI и IMiD, или имеющие заболевание с двойной рефрактерностью к PI и IMiD.

Специалистам в данной области техники будет очевидно, что предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения допускают множество изменений и модификаций и что такие изменения и модификации могут быть сделаны без отклонения от сущности изобретения. Таким образом, предполагается, что прилагаемые пункты формулы изобретения включают все такие эквивалентные вариации, которые соответствуют истинной сущности и объему настоящего изобретения.

Описания каждого патента, патентной заявки и публикации, цитируемой или описанной в этом документе, включены в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

ПЕРВОНАЧАЛЬНАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака у испытуемого, нуждающегося в этом, включающий введение
испытуемому терапевтически эффективного количества биспецифического
5 антитела ВСМАхCD3 или его антигенсвязывающего фрагмента для лечения рака,
причем у испытуемого наблюдается рецидив или рефрактерность к
предшествующему противораковому лечению.
2. Способ по п. 1, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 или его
10 антигенсвязывающий фрагмент включает ВСМА-связывающий домен,
включающий HCDR1 с SEQ ID NO: 4, HCDR2 с SEQ ID NO: 5, HCDR3 с SEQ ID
NO: 6, LCDR1 с SEQ ID NO: 7, LCDR2 с SEQ ID NO: 8 и LCDR3 с SEQ ID NO: 9, и
CD3-связывающий домен, включающий HCDR1 с SEQ ID NO: 14, HCDR2 с SEQ ID
NO: 15, HCDR3 с SEQ ID NO: 16, LCDR1 с SEQ ID NO: 17, LCDR2 с SEQ ID NO: 18
15 и LCDR3 с SEQ ID NO: 19.
3. Способ по п. 2, в котором ВСМА-связывающий домен включает вариабельную
область тяжелой цепи (VH), имеющую аминокислотную последовательность SEQ
ID NO: 10, и вариабельную область легкой цепи (VL), имеющую аминокислотную
20 последовательность SEQ ID NO: 11, и CD3-связывающий домен включает
вариабельную область тяжелой цепи (VH), имеющую аминокислотную
последовательность SEQ ID NO: 20, и вариабельную область легкой цепи (VL),
имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21.
- 25 4. Способ по п. 2, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 представляет
собой изотип IgG4 и включает фенилаланин в положении 405, и аргинин в
положении 409 в HC1, и лейцин в положении 405, и лизин в положении 409 в HC2,
причем нумерация остатков соответствует каталогу ЕС.
- 30 5. Способ по п. 2, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 дополнительно
включает пролин в положении 228, аланин в положении 234 и аланин в положении
235 как в HC1, так и в HC2.

6. Способ по п. 2, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 включает первую тяжелую цепь (HC1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, первую легкую цепь (LC1), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, вторую тяжелую цепь (HC2), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22, и вторую легкую цепь (LC2), имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23.
7. Способ по п. 2, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 представляет собой теклистамаб.
8. Способ по п. 2, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят внутривенно или подкожно.
9. Способ по п. 8, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят внутривенно в дозе от около 0,2 мкг/кг еженедельно до около 1500 мкг/кг еженедельно, например от около 35 мкг/кг еженедельно до около 850 мкг/кг еженедельно, от 270 мкг/кг до около 720 мкг/кг еженедельно или 19,2–720 мкг/кг еженедельно; или от около 0,1 до 100 мкг/кг раз в две недели, например от около 0,2 до 50 мкг/кг раз в две недели или 0,3–19,2 мкг/кг раз в две недели.
10. Способ по п. 8, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят подкожно в дозе от около 0,2 мкг/кг еженедельно до около 3000 мкг/кг еженедельно, например около 80–3000 мкг/кг еженедельно, от около 100 мкг/кг еженедельно до около 1800 мкг/кг еженедельно, от около 720 мкг/кг до 1500 мкг/кг еженедельно, например около 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700 or 1800 мкг/кг еженедельно.
11. Способ по п. 2, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят в течение времени, достаточного для достижения полного ответа, строгого полного ответа, очень благоприятного частичного ответа, частичного ответа, минимального ответа или стабильного статуса заболевания, и его можно продолжать до прогрессирования заболевания или отсутствия пользы для пациента.
12. Способ по п. 11, в котором биспецифическое антитело ВСМАхCD3 вводят в течение времени, достаточного для достижения полного ответа, который

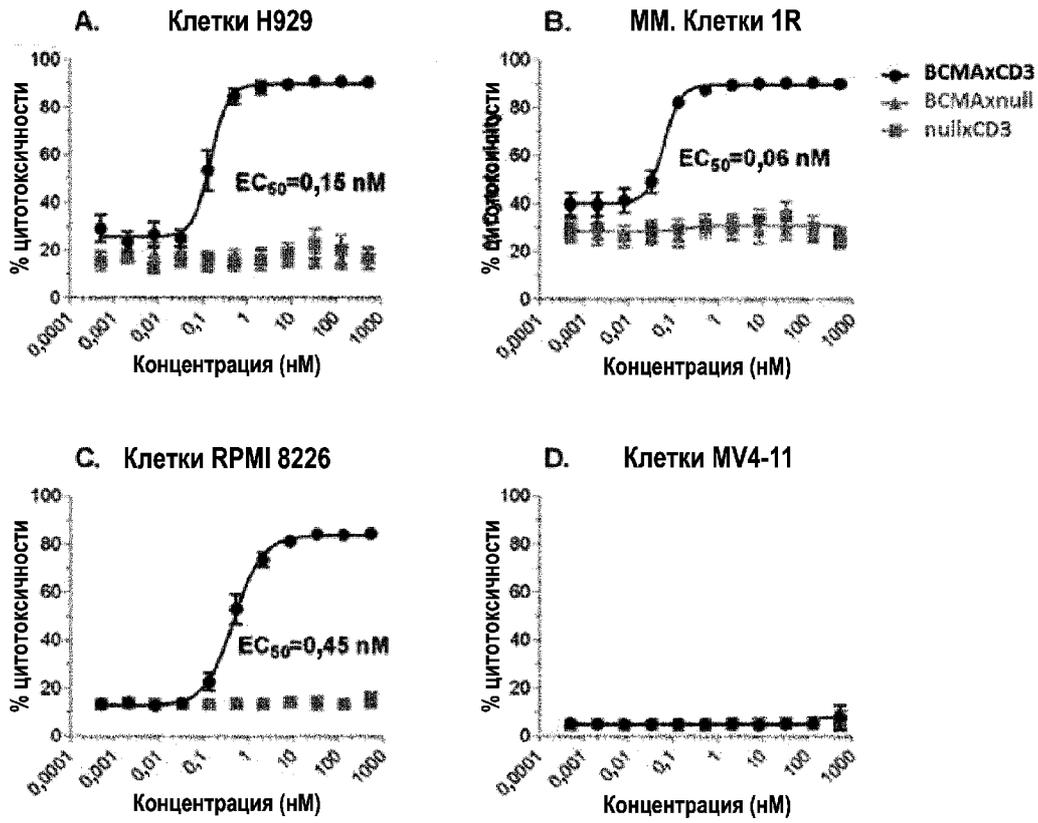
характеризуется отрицательным статусом минимального остаточного заболевания (MRD), предпочтительно отрицательным статусом MRD при 10^{-6} клеток, как определено с помощью секвенирования следующего поколения (NGS).

- 5 13. Способ по п. 2, в котором рак представляет собой гематологическую злокачественную опухоль.
14. Способ по п. 2, в котором гематологическая злокачественная опухоль представляет собой множественную миелому.
- 10 15. Способ по п. 2, в котором у испытуемого наблюдается рецидив или рефрактерность к лечению антителом к CD38, селинексором, венетоклаксом, леналиномидом, бортезомибом, помалидомидом, карфилзомибом, элтозумабом, иксазомибом, мелфаланом или талидомидом или любой их комбинацией.
- 15 16. Способ по п. 2, в котором испытуемый представляет собой испытуемого-человека, предпочтительно предшествующее противораковое лечение включает введение испытуемому-человеку по меньшей мере одного из ингибитора протеасом и иммуномодулирующего лекарственного средства, такого как бортезомиб,
- 20 карфилзомиб, леналидомид или помалидомид.
17. Способ по п. 2, дополнительно включающий введение испытуемому одного или более дополнительных противораковых терапевтических средств.
- 25 18. Способ по п. 17, в котором одно или более дополнительных противораковых терапевтических средств выбирают из группы, состоящей из трансплантации аутогенных стволовых клеток (ASCT), лучевой терапии, хирургического вмешательства, химиотерапевтического препарата, CAR-T терапии, иммуномодулятора и средства для таргетной противораковой терапии.
- 30 19. Способ по п. 18, в котором одно или более противораковых терапевтических средств выбирают из группы, состоящей из селинексора, венетоклакса, леналидомида, талидомида, помалидомида, бортезомиба, карфилзомиба,

элотозумаба, иксазомиба, мелфалана, преднизона или дексаметазона или любой их комбинации.

- 5 20. Способ по п. 2, в котором лечение достигает общей частоты ответа по меньшей мере 60%, например 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или более у получавших лечение испытуемых.
- 10 21. Способ по п. 2, в котором лечение достигает 15% или более, например 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25% или более полного ответа у получавших лечение испытуемых.

ФИГ. 1



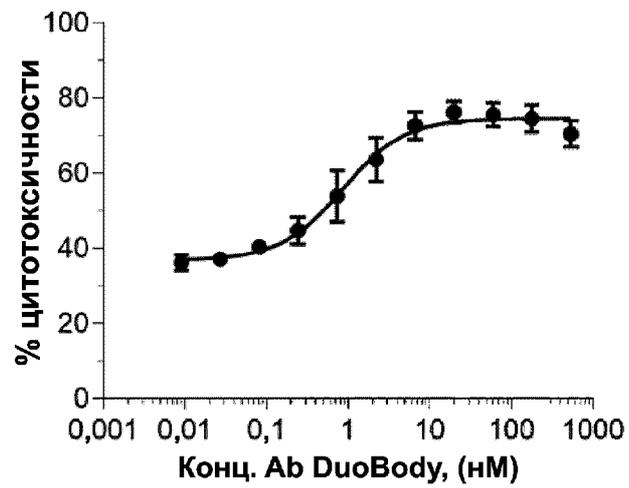
Концентрации теклистамаба:

μg/mL	0	0,0003	0,001	0,005	0,020	0,078	0,313	1,250	5,000	20,000	80,000
nM	0	0,0020	0,008	0,032	0,130	0,520	2,078	8,313	33,250	133,000	532,000

BCMA = антиген созревания В-клеток; EC50 = полумаксимальная эффективная концентрация

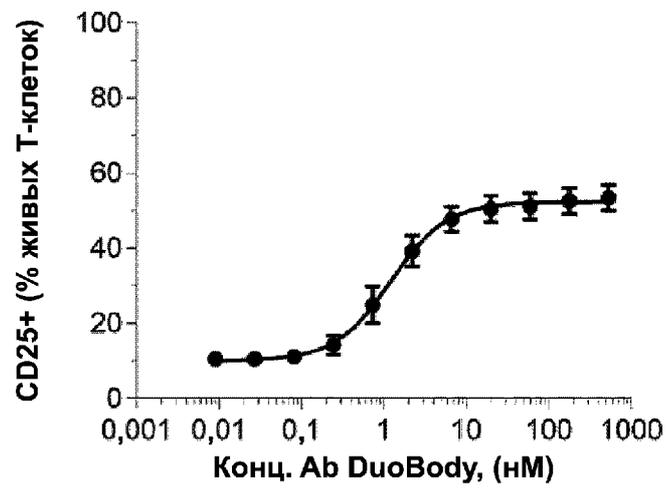
E: T = эффектор:мишень

ФИГ. 2



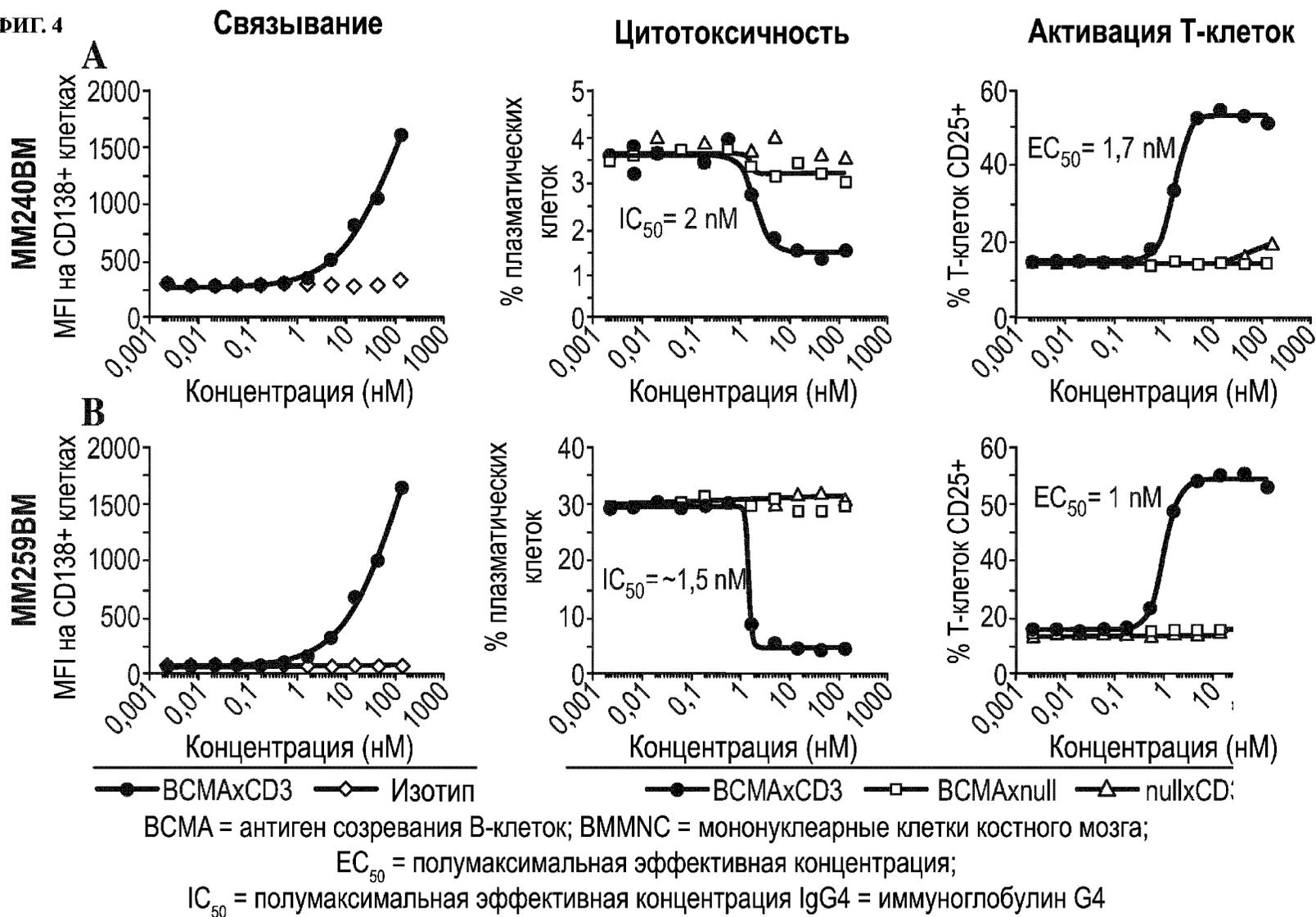
СПС = стандартная погрешность среднего значения.

ФИГ. 3

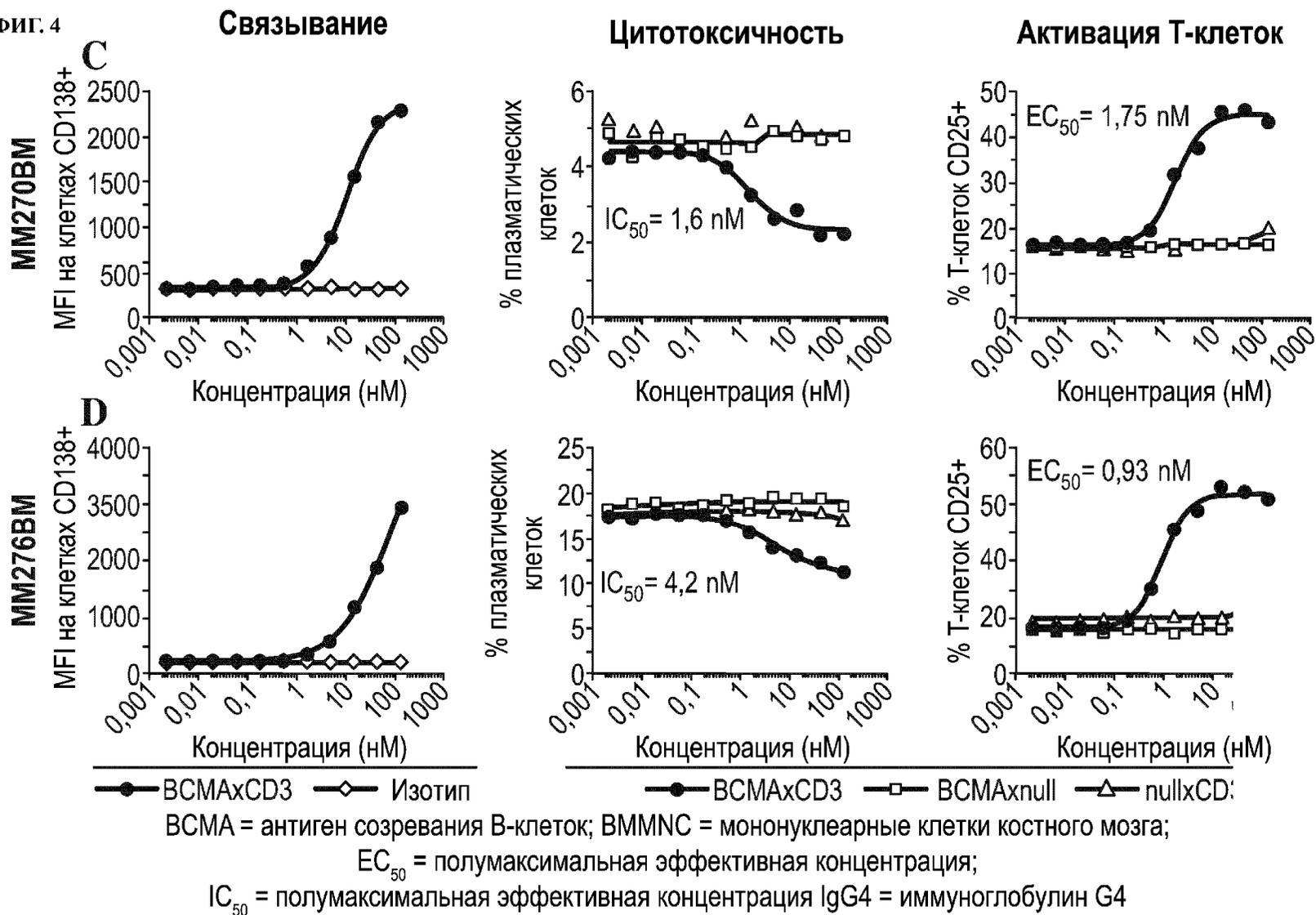


СПС = стандартная погрешность среднего значения.

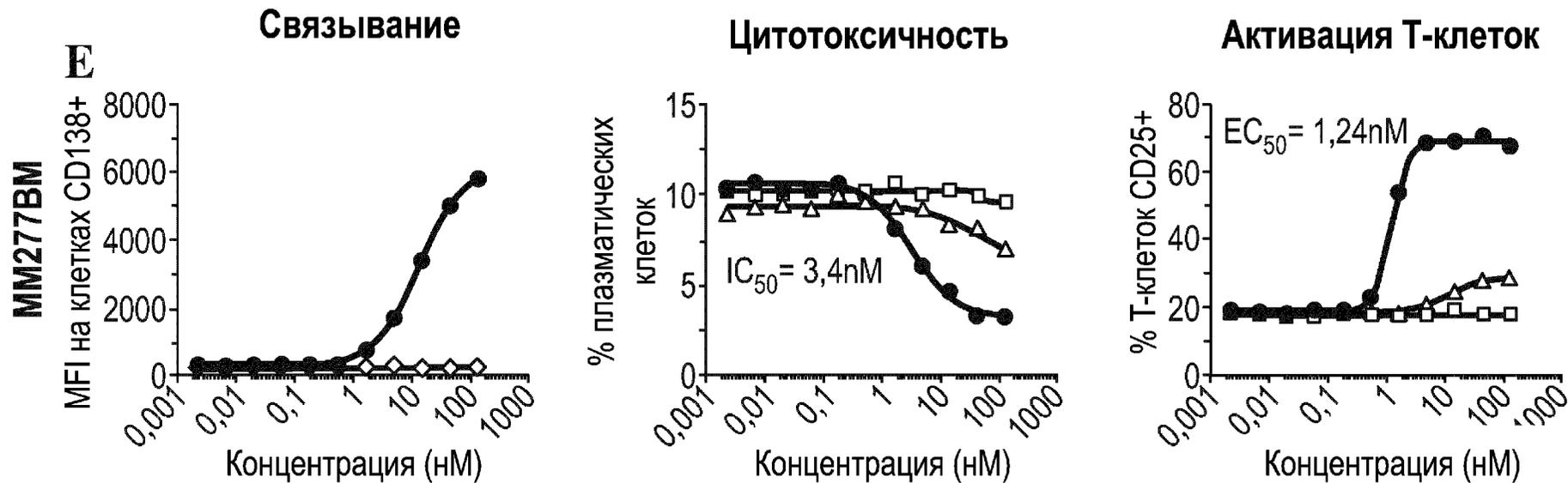
ФИГ. 4



ФИГ. 4



ФИГ. 4



● BCMAxCD3 ◇ Изотип

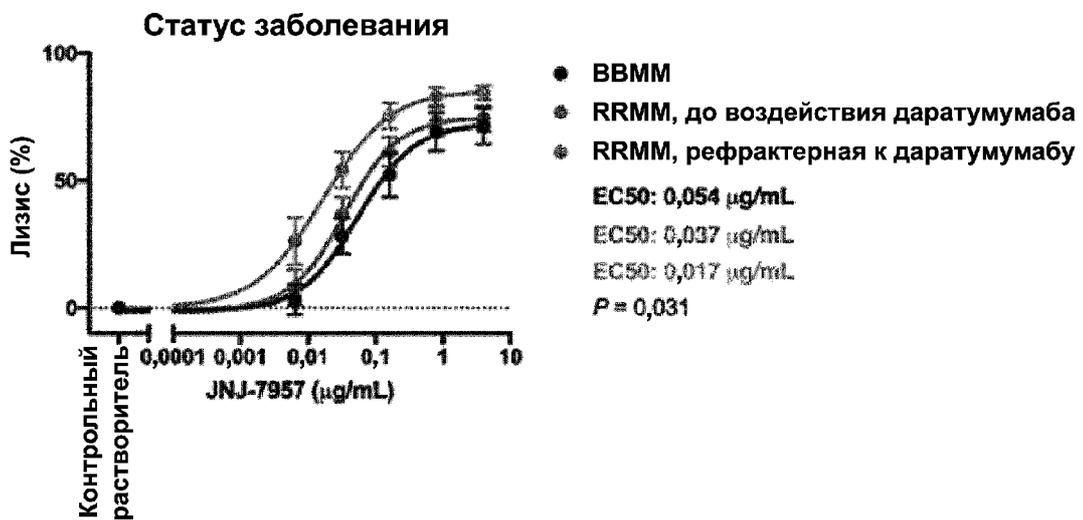
● BCMAxCD3 □ BCMAxnull △ nullxCD3

BCMA = антиген созревания В-клеток; BMMNC = мононуклеарные клетки костного мозга;

EC_{50} = полумаксимальная эффективная концентрация;

IC_{50} = полумаксимальная эффективная концентрация IgG4 = иммуноглобулин G4

ФИГ. 5



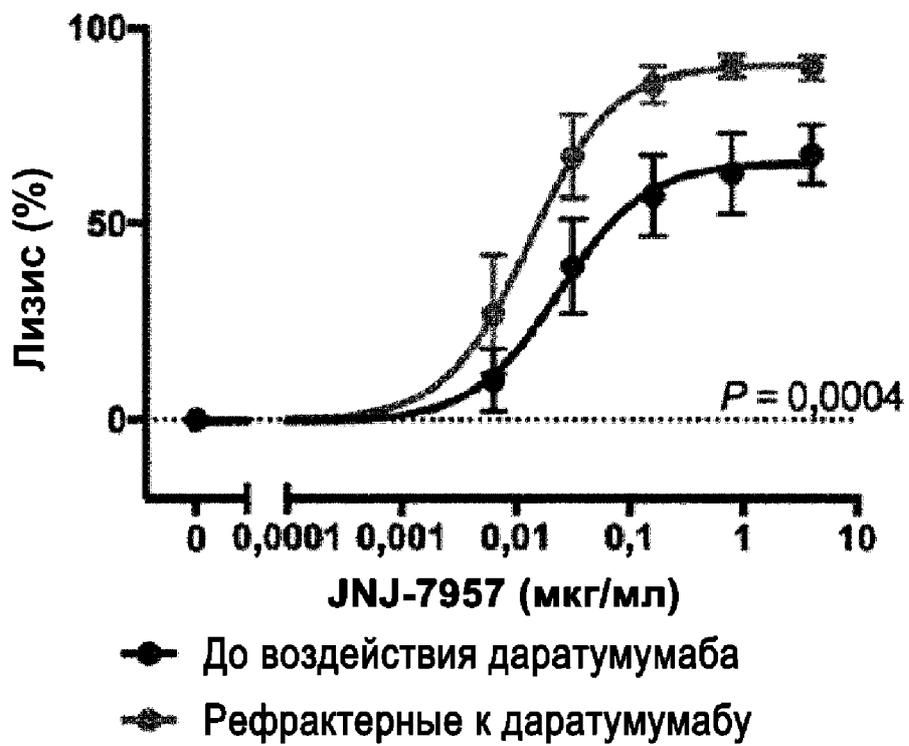
Был проведен односторонний ANOVA.

ANOVA = дисперсионный анализ; дара = даратумумаб; NDMM = впервые диагностированная множественная миелома;

RRMM = рецидивирующая/рефрактерная множественная миелома.

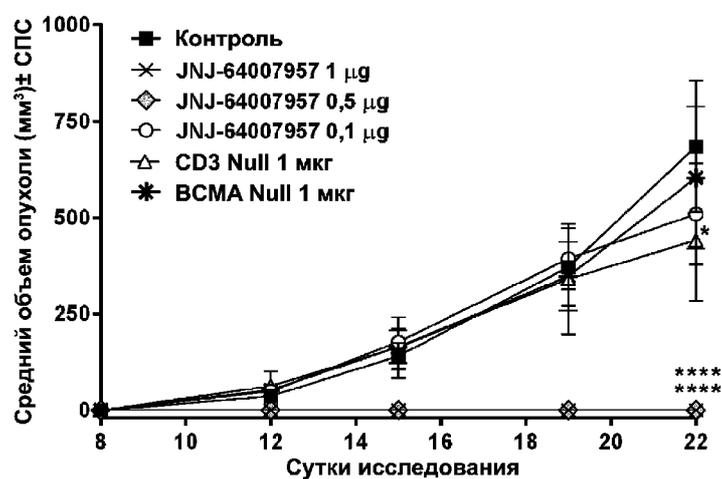
ФИГ. 6

Последовательные образцы ВМ
n=8



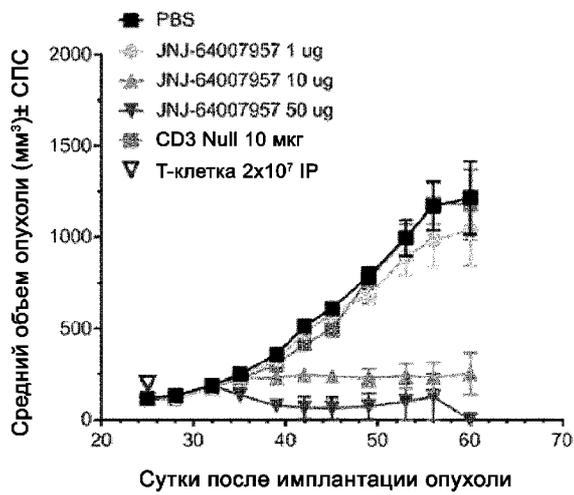
Анализ с помощью органолиптической оценки по двум образцам.
ВМ = костный мозг

ФИГ. 7



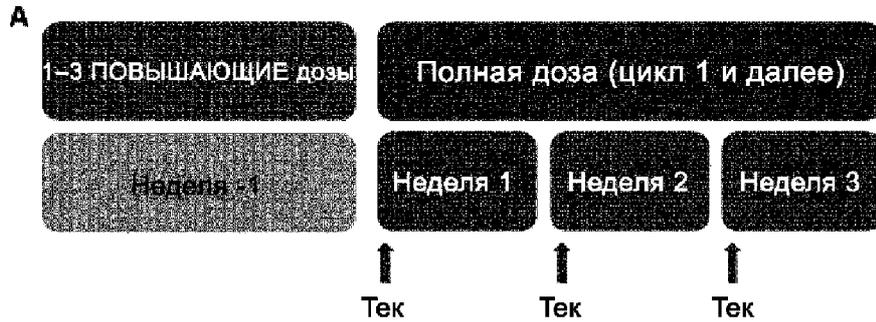
BCMA = антиген созревания В-клеток; CD3 = кластер дифференциации 3; NSG=NOD/scidyc-/-;
 BVMS = мононуклеарные клетки периферической крови; PBS = фосфатно-солевой буферный раствор;
 СПС = стандартная погрешность среднего значения.

ФИГ. 8

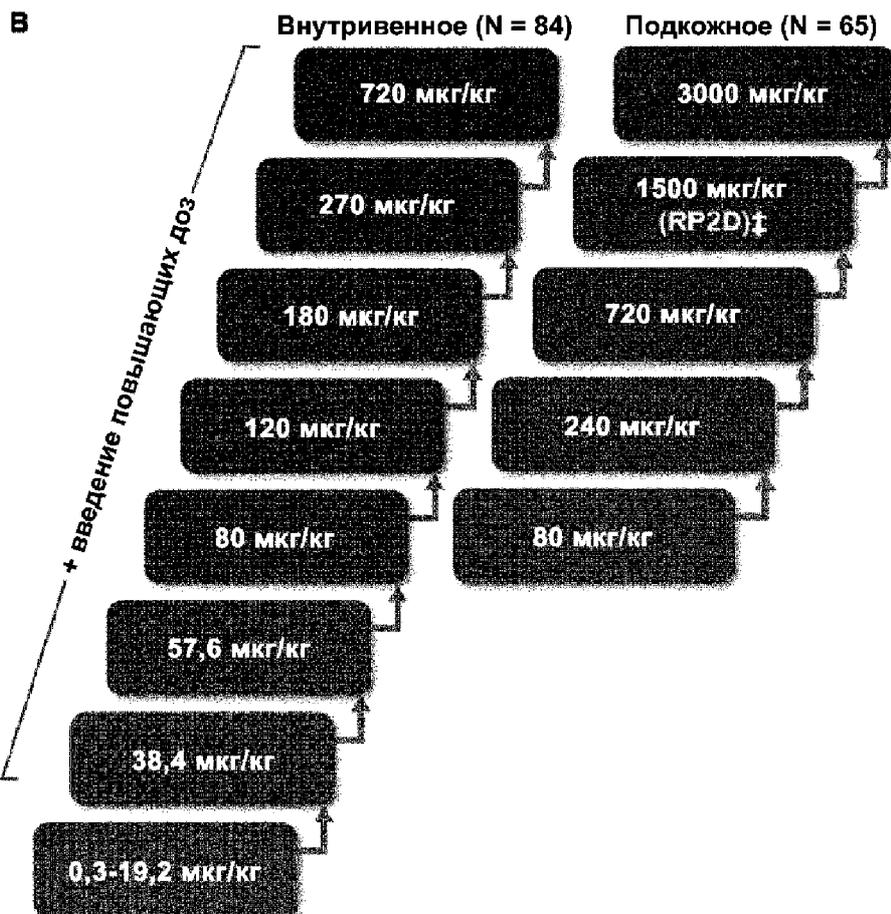


BCMA = антиген созревания В-клеток; CD3 = кластер дифференциации 3; MM = множественная миелома;
 NSG=NOD/scidyc^{-/-}; PBMC = мононуклеарные клетки периферической крови;
 СПС = стандартная погрешность среднего значения.

ФИГ. 9



- Начальное внутривенное введение дозы переключилось на еженедельное внутривенное или подкожное ± введение повышающих доз
- Премедикация была ограничена повышающими дозами и первой полной дозой
 - Отсутствие потребности в стероидах после первой полной дозы



RP2D — рекомендованная доза для фазы 2.

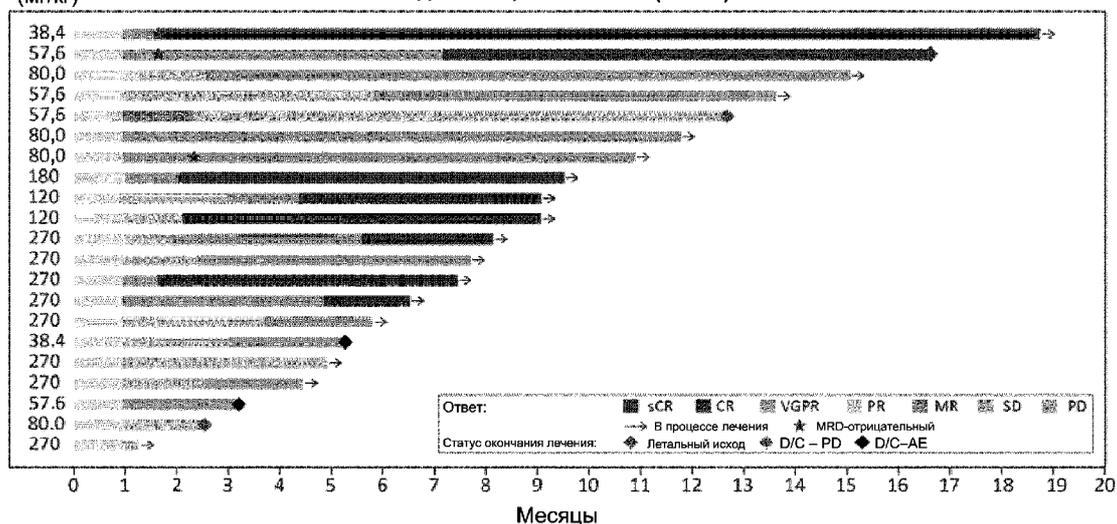
* Глюкокортикоиды, антигистаминные и жаропонижающие.

† 1–3 повышающие дозы, предоставляемые в течение 1 недели перед полной дозой.

‡ Повышающие дозы 60,0 и 300,0 мкг/кг.

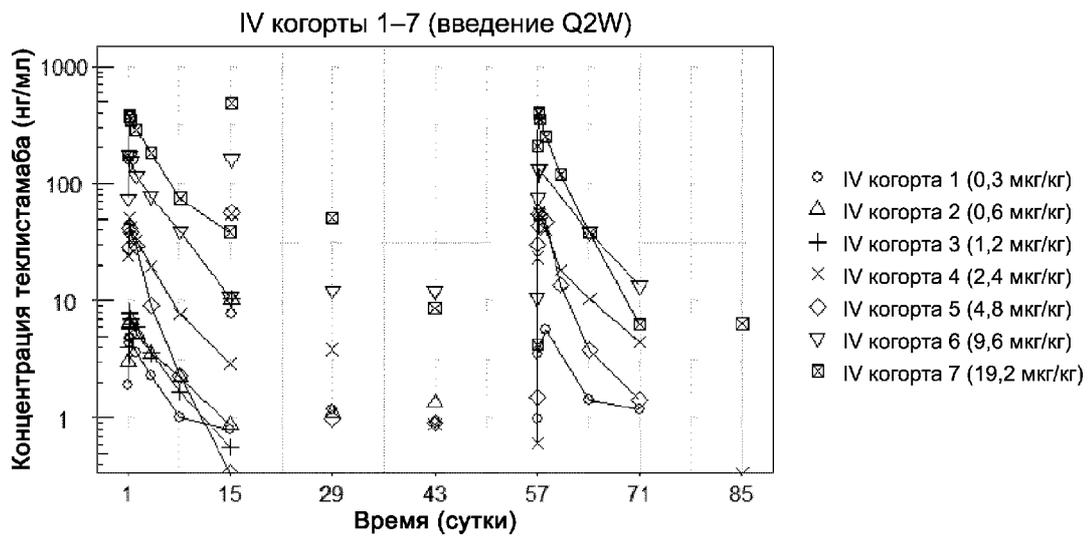
ФИГ. 10
Доза
(мг/кг)

IV дозы: 38,4–270 мкг/кг (n = 21)

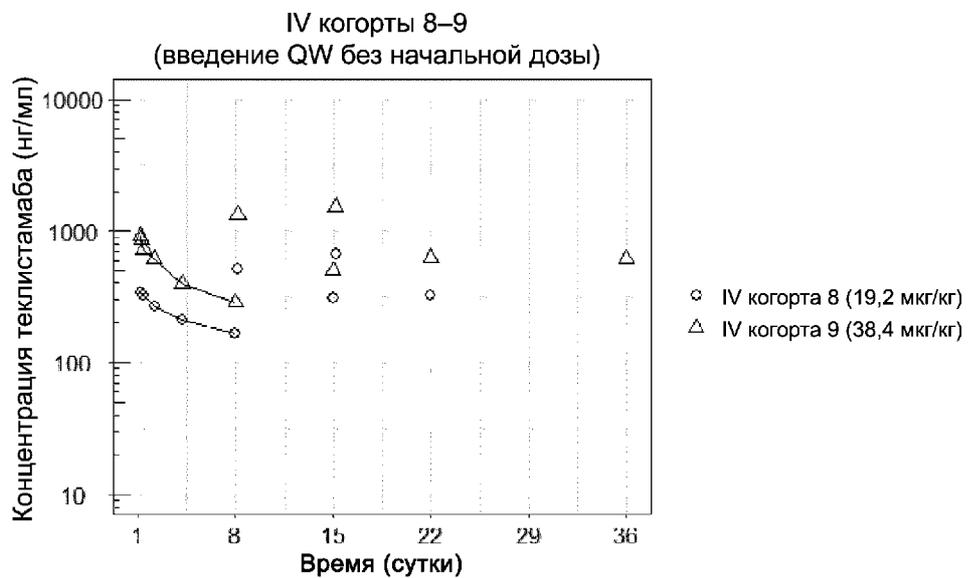


ПО = полный ответ, сПО = строгий полный ответ, ОБЧО = очень благоприятный частичный ответ,
 ЧО = частичный ответ, МО = минимальный ответ, SD = стабильное заболевание,
 PD = прогрессирующее заболевание, D/C = прекращение

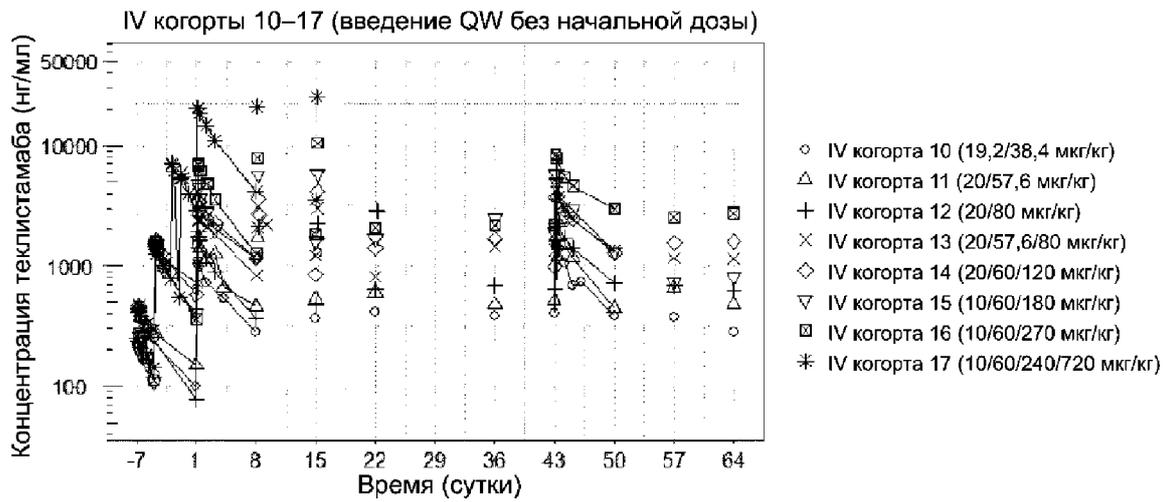
ФИГ. 11А



ФИГ. 11Б

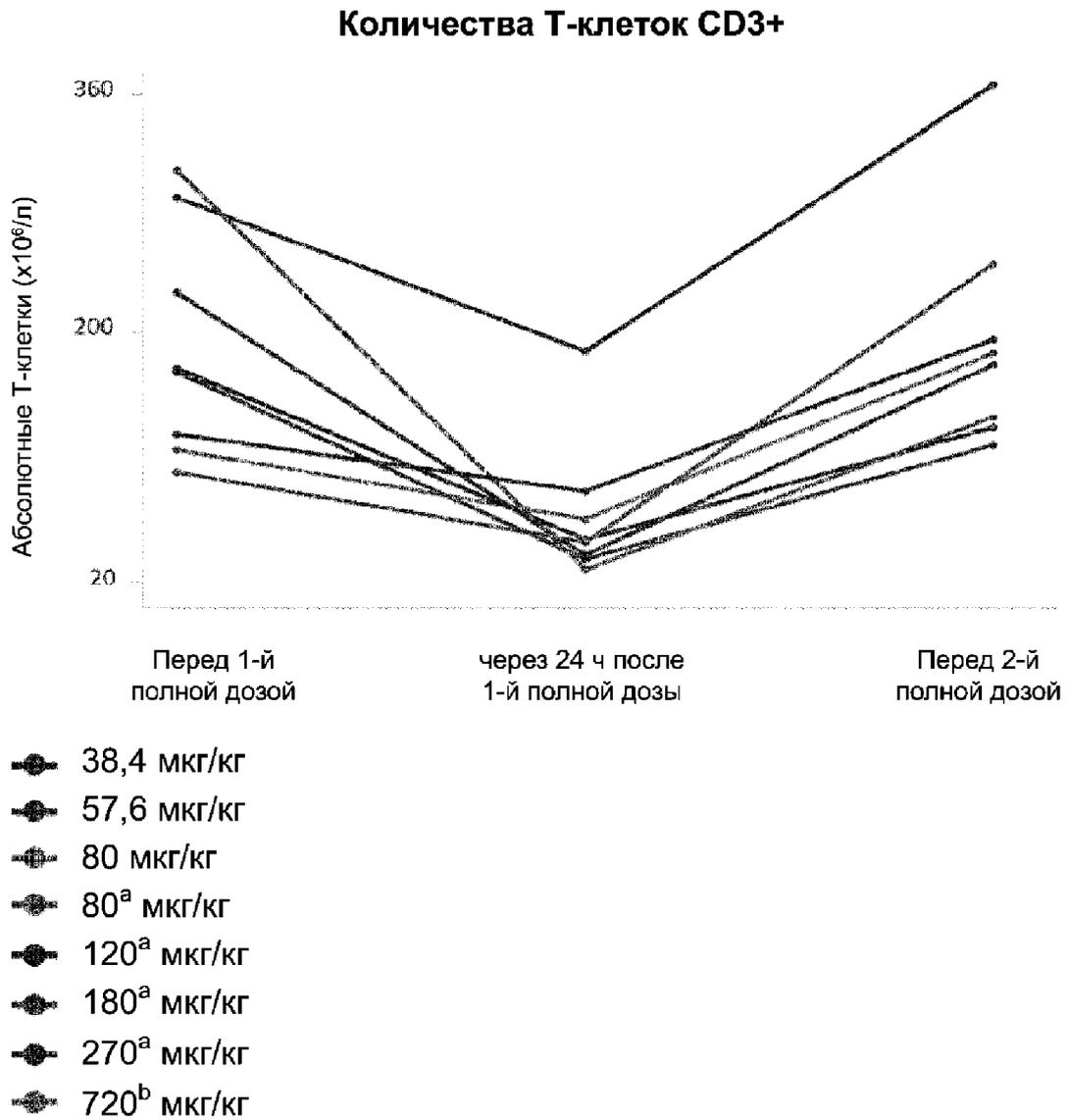


ФИГ. 11В



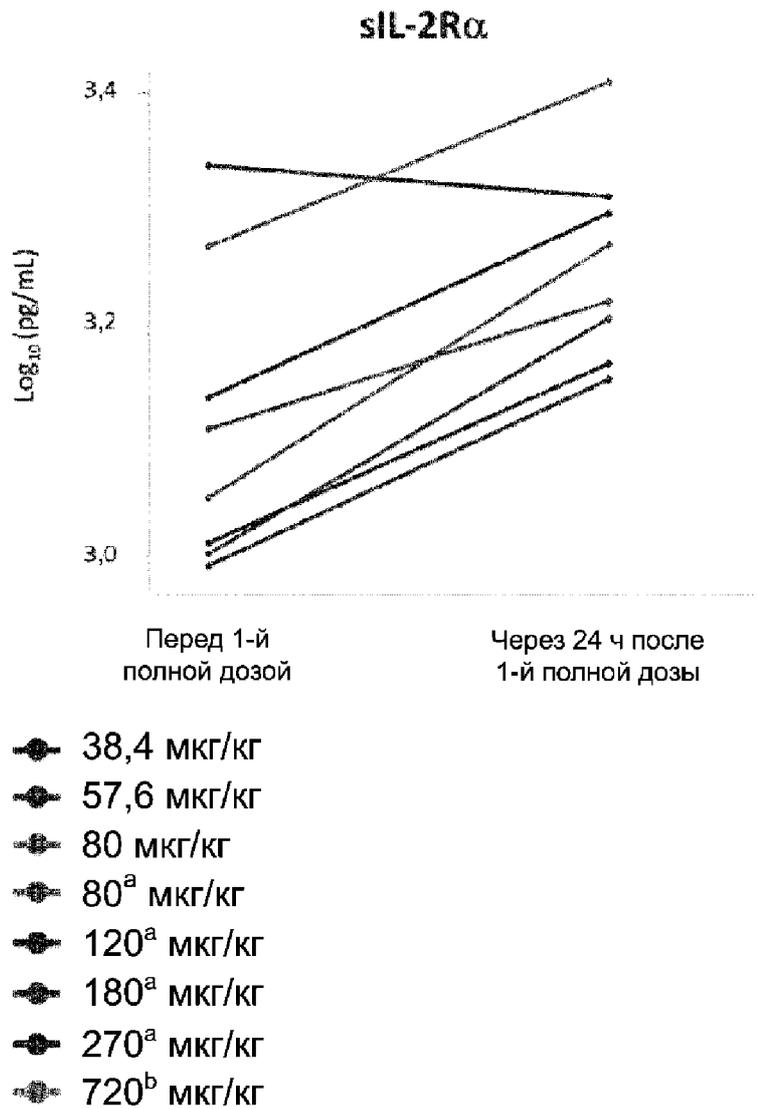
IV = внутривенно; QW = еженедельно; Q2W = один раз в две недели

ФИГ. 12А

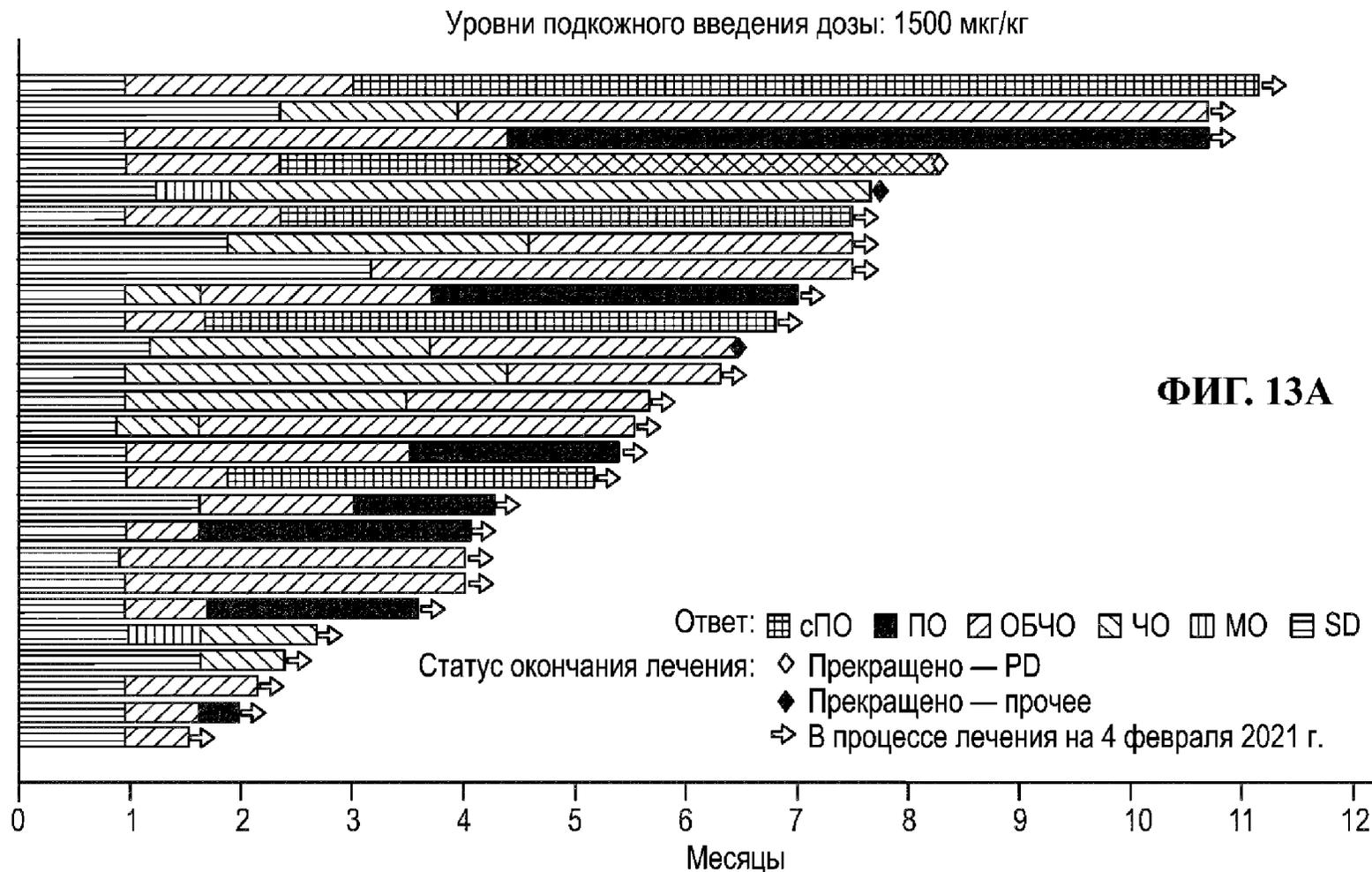


Значения отражают среднее значение на момент времени. ^а2 повышающие дозы, ^б3 повышающие дозы

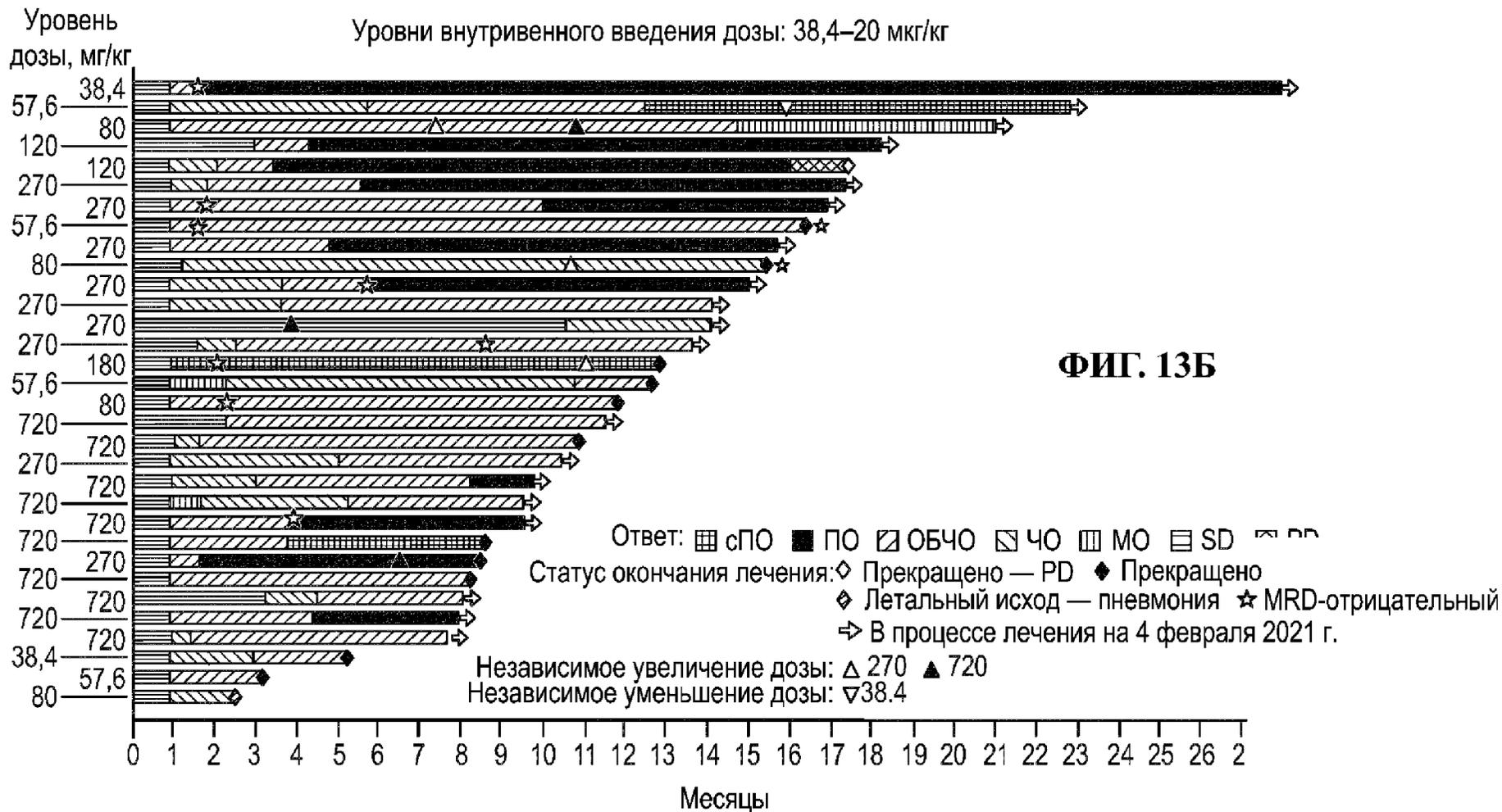
ФИГ. 12Б



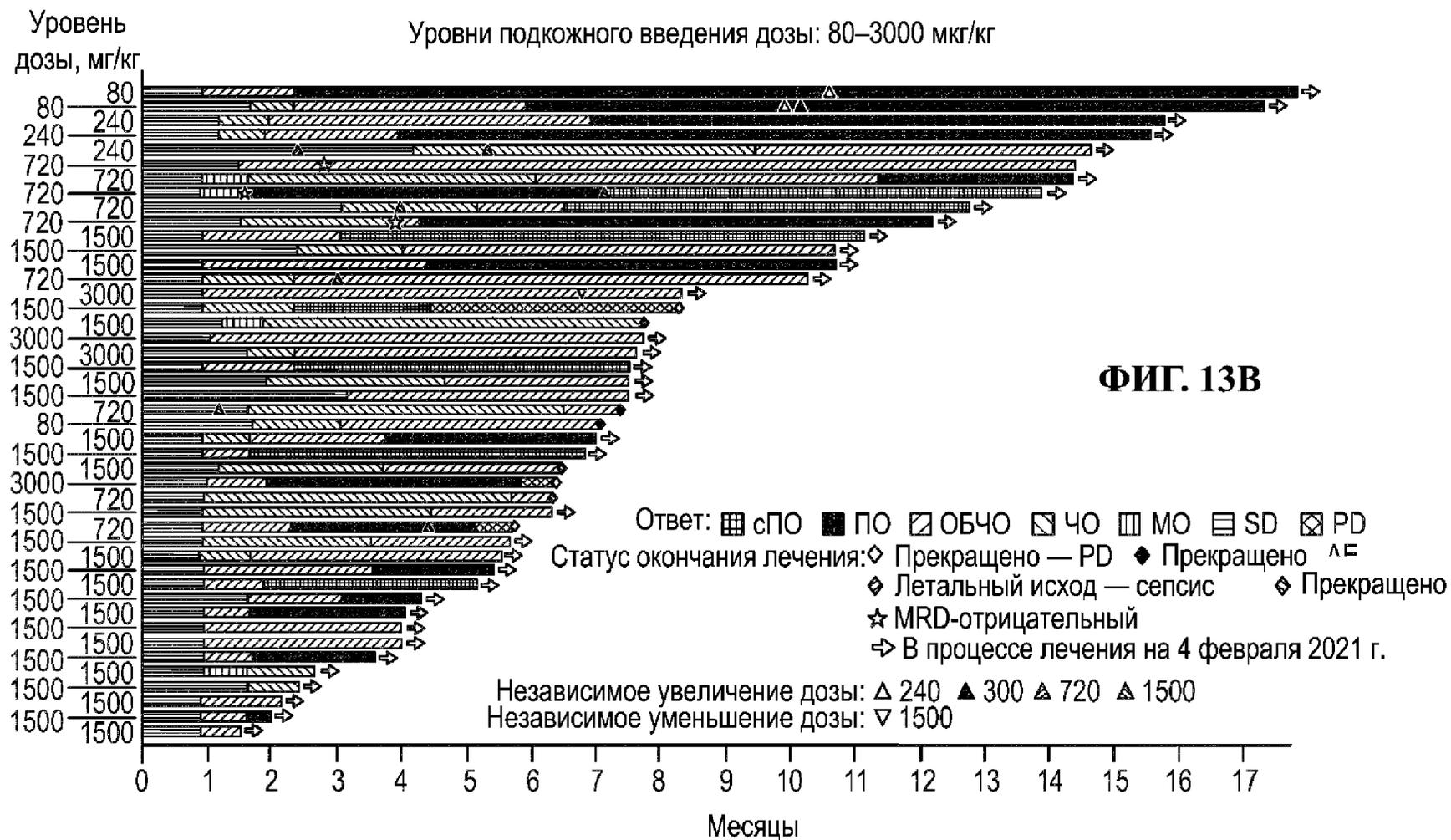
Значения отражают среднее значение на момент времени. ^a2 повышающие дозы, ^b3 повышающие дозы



НЯ — нежелательное явление; ПО — полный ответ; МО — минимальный ответ;
 PD — прогрессирующее заболевание; RP2D — рекомендованная доза для фазы 2;
 сПО — строгий полный ответ; SD — стабильное заболевание;
 ОБЧО — очень благоприятный частичный ответ.



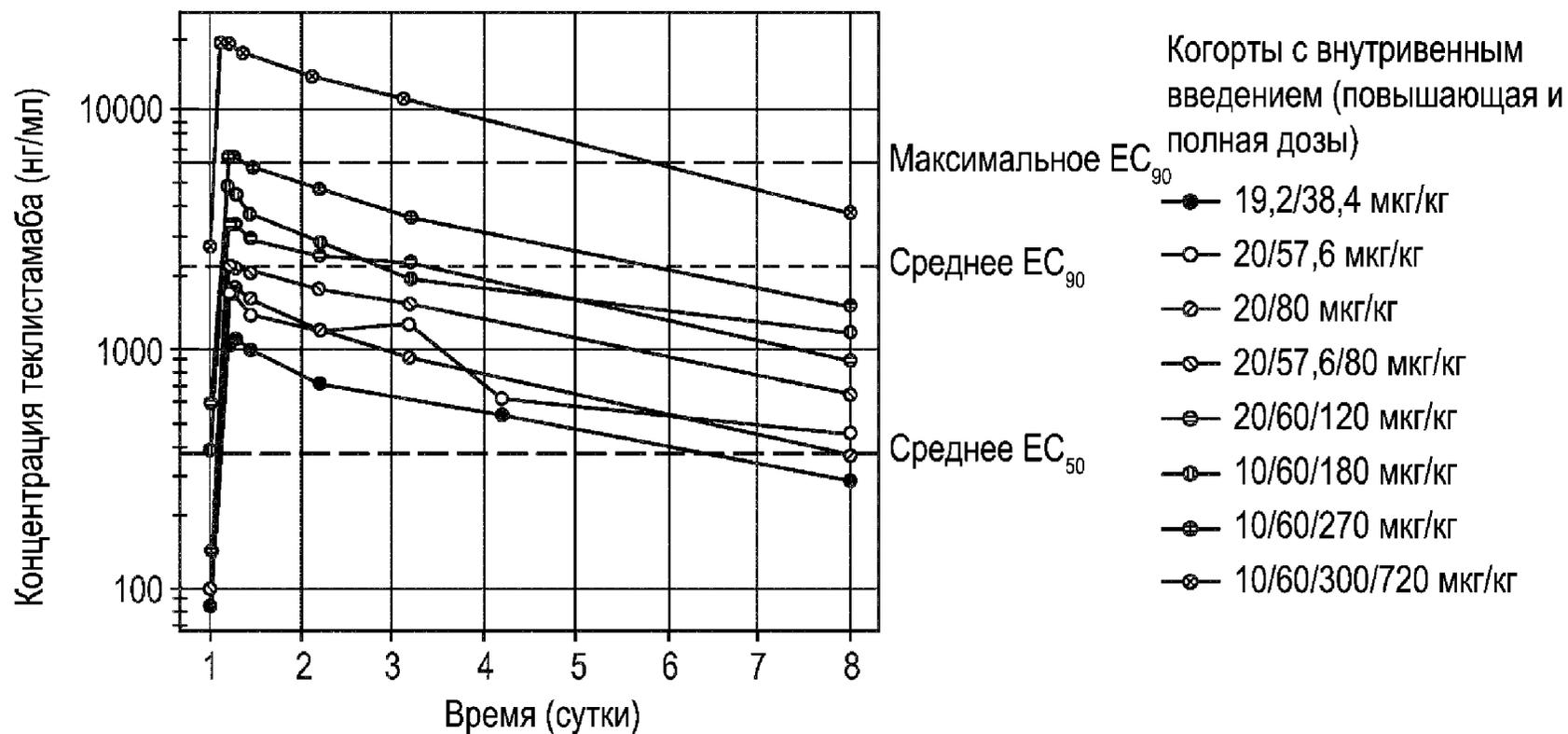
НЯ — нежелательное явление; ПО — полный ответ; МО — минимальный ответ;
 PD — прогрессирующее заболевание; RP2D — рекомендованная доза для фазы 2;
 сПО — строгий полный ответ; SD — стабильное заболевание;
 ОБЧО — очень благоприятный частичный ответ.



ФИГ. 13В

НЯ — нежелательное явление; ПО — полный ответ; МО — минимальный ответ;
 PD — прогрессирующее заболевание; RP2D — рекомендованная доза для фазы 2;
 сПО — строгий полный ответ; SD — стабильное заболевание;
 ОБЧО — очень благоприятный частичный ответ.

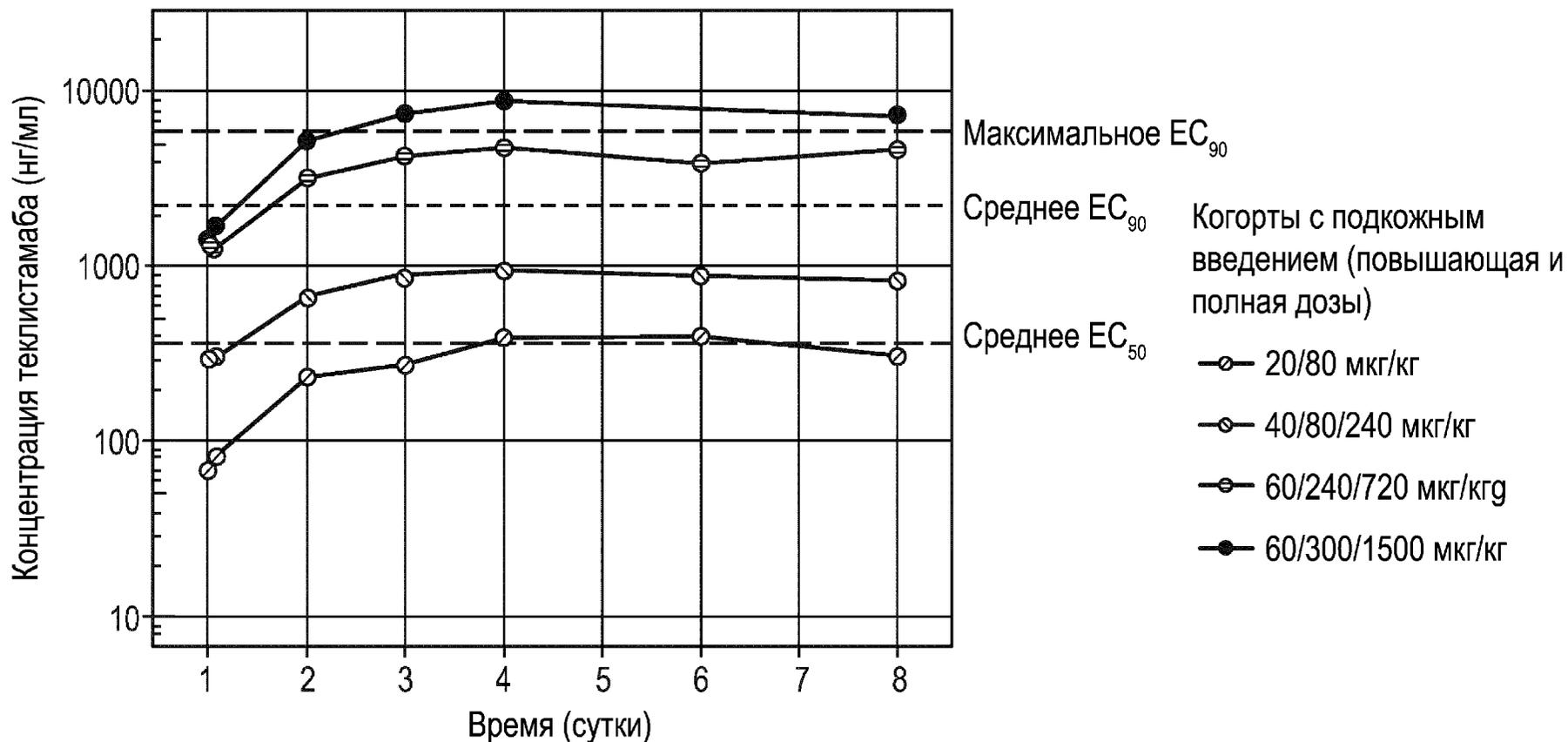
ФИГ. 14А



EC_{50} — полумаксимальная эффективная концентрация; EC_{90} — 90%-я эффективная концентрация.

* Значения EC_{90} из анализа цитотоксичности *ex vivo* с применением мононуклеарных клеток костного мозга пациентов с множественной миеломой (Girgis S, Lin SSX, Pillarissetti K, et al. Translational Approach of using Ex Vivo Cytotoxicity and Early Clinical Data to Predict Teclistamab Efficacious Therapeutic Range in Multiple Myeloma Patients. Blood 2020; 136 (Supplement 1):35)

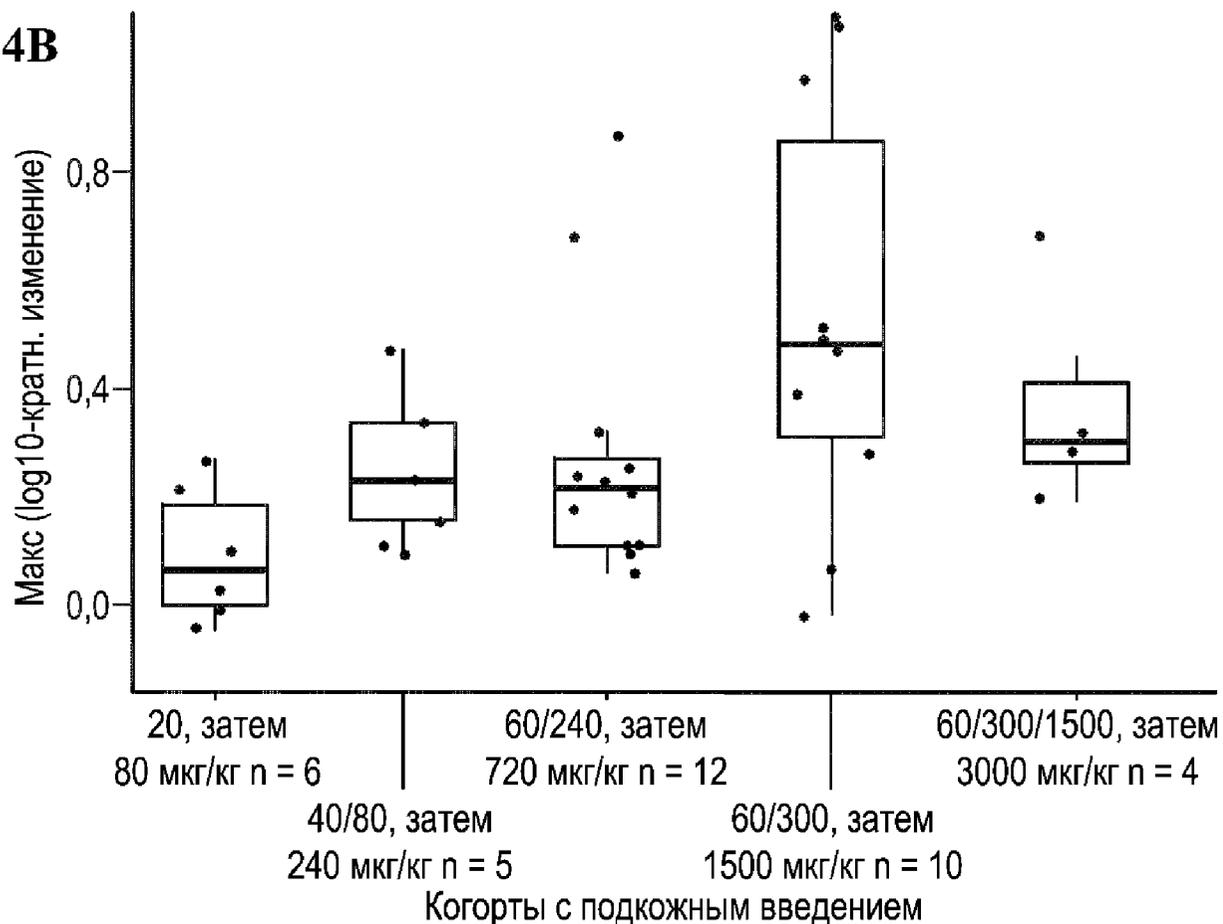
ФИГ. 14Б



EC_{50} — полумаксимальная эффективная концентрация; EC_{90} — 90%-я эффективная концентрация.

* Значения EC_{90} из анализа цитотоксичности *ex vivo* с применением мононуклеарных клеток костного мозга пациентов с множественной миеломой (Girgis S, Lin SSX, Pillarisetti K, et al. Translational Approach of using Ex Vivo Cytotoxicity and Early Clinical Data to Predict Teclistamab Efficacious Therapeutic Range in Multiple Myeloma Patients. Blood 2020; 136 (Supplement 1):35)

ФИГ. 14В



EC50 — полумаксимальная эффективная концентрация; EC90 — 90%-я эффективная концентрация.

* Значения EC90 из анализа цитотоксичности *ex vivo* с применением моноклеарных клеток костного мозга пациентов с множественной миеломой (Girgis S, Lin SSX, Pillarisetti K, et al. Translational Approach of using Ex Vivo Cytotoxicity and Early Clinical Data to Predict Teclistamab Efficacious Therapeutic Range in Multiple Myeloma Patients. Blood 2020; 136 (Supplement 1):35)

ФИГ. 15



RP2D — рекомендованная доза для фазы 2.