

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202293368 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.05.29(22) Дата подачи заявки
2021.05.20

(51) Int. Cl. A61K 39/00 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 45/00 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)
A61P 1/04 (2006.01)
A61P 17/06 (2006.01)

(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ КИШЕЧНИКА С ПРИМЕНЕНИЕМ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ АНТИТЕЛАМИ К ИЛ-23 И ФНО-АЛЬФА

(31) 63/028,219; 63/116,383

(32) 2020.05.21; 2020.11.20

(33) US

(86) PCT/IB2021/054390

(87) WO 2021/234634 2021.11.25

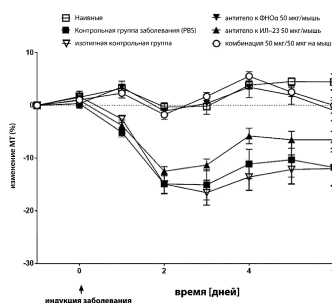
(71) Заявитель:
ЯНССЕН БАЙОТЕК, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Джерминаро Мэттью, О'Брайен
Кристофер, Перригуэ Жаклин, Веттер
Марион (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) Способ лечения воспалительных заболеваний кишечника, таких как язвенный колит, включает в себя введение ингибитора ИЛ-23, такого как антитело к ИЛ-23p19 (например, гуселкумаб), и ингибитора ФНО-α, такого как антитело к ФНО-α (например, голимумаб).

Изменение массы тела / 50 мкг антител



A1

202293368

202293368

A1

СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ КИШЕЧНИКА С
ПРИМЕНЕНИЕМ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ АНТИТЕЛАМИ К ИЛ–23 И
ФНО–АЛЬФА

Ссылка на перечень последовательностей, поданный в электронном виде

Данная заявка содержит перечень последовательностей, представленный в электронном виде посредством EFS-Web как перечень последовательностей в формате ASCII, название файла JBI6317WOPCT1SEQLIST.txt, дата создания 20 мая 2021 г., размер 18 КБ. Перечень последовательностей, представленный посредством EFS-Web, является частью описания и полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

Предпосылки создания изобретения

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), включая болезнь Крона (БК) и язвенный колит (ЯК), характеризуются идиопатическим воспалением кишечника, нарушением эпителиального барьера и дисбиозом микробиоты. В то время как применение биологических агентов, таких как антитела к ФНО– α , изменило клиническое ведение пациентов с ВЗК, многие пациенты не достигают клинического ответа при применении индукционной терапии, и методы лечения с применением биологических агентов в форме монотерапии приводят к краткосрочной ремиссии менее чем в 20% случаев. (2)

Роль ИЛ–23 в стимуляции воспаления кишечника была продемонстрирована на нескольких мышиных моделях, когда у мышей, получавших нейтрализующие антитела к ИЛ–23p19, или у мышей с генетической делецией субъединицы p19 ИЛ–23 наблюдались ослабленные проявления колита. (1, 3-5) Полногеномные исследования ассоциаций (GWAS) выявили полиморфизмы в гене рецептора ИЛ–23 (IL-23R), связанные как с риском развития ВЗК, так и с защитой от этого заболевания. (6) Недавно сообщили о результатах исследования фазы 2 с участием пациентов с умеренной или тяжелой формой болезни Крона. Эти результаты демонстрируют эффективность двух препаратов антител к ИЛ–23: рисанкизумаба (BI 655066) и бразикизумаба (MEDI2070, AMG-139). Несмотря на возможную роль методов лечения

ВЗК с применением антител к ИЛ-23, предполагается, что не все пациенты в популяции будут в полной мере отвечать на лечение только антителом к ИЛ-23, как это отмечалось при применении антител к ФНО- α .

5 Существует потребность в усовершенствовании лечения ВЗК, в особенности среди пациентов, которые не отвечают на лечение, основанное на применении только антител к ФНО- α , либо только антител к ИЛ-23.

Изложение сущности изобретения

10 Один аспект изобретения представляет собой способ лечения воспалительного заболевания, например, воспалительного заболевания кишечника у пациента (субъекта). Способ включает введение сначала ингибитора ИЛ-23 в количестве, терапевтически эффективном и клинически безопасном при совместном введении, и
15 затем введение ингибитора ФНО- α в количестве, терапевтически эффективном и клинически безопасном при совместном введении. Способ эффективен для лечения воспалительного заболевания кишечника, при этом количества как первого, так и второго препарата, терапевтически эффективные и клинически безопасные при совместном введении, одинаковы или различаются.

В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание кишечника
20 представляет собой язвенный колит (ЯК). В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание кишечника представляет собой болезнь Крона. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание кишечника представляет собой колит неустановленной этиологии. В некоторых вариантах осуществления субъект ранее получал лечение только ингибитором ФНО- α , и
25 ремиссии воспалительного заболевания кишечника после предыдущего лечения не наступало. В некоторых вариантах осуществления субъект ранее получал лечение только ингибитором ИЛ-23, и ремиссии воспалительного заболевания кишечника после предыдущего лечения не наступало.

В различных вариантах осуществления ингибитор ИЛ-23 содержит
30 фармацевтическую композицию, включающую антитело к ИЛ-23p19 (также называемого в настоящем документе антитело к p19 или антитело к ИЛ-23) или его антигенсвязывающий фрагмент. В различных вариантах осуществления ингибитор ФНО- α включает фармацевтическую композицию, содержащую антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления

антитело к ИЛ-23p19 включает человеческое или гуманизированное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело к ФНО- α включает человеческое или гуманизированное антитело.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор ИЛ-23 включает антитело гуселкумаб (также называемое CNTO1959) (продается компанией Janssen Biotech, Inc. под названием Tremfya®) или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий последовательности CDR гуселкумаба: (i) аминокислотные последовательности CDR тяжелой цепи SEQ ID NO: 1 (CDRH1), SEQ ID NO: 2 (CDRH2) и SEQ ID NO: 3 (CDRH3); и (ii) последовательности аминокислот CDR легкой цепи SEQ ID NO: 4 (CDRL1), SEQ ID NO: 5 (CDRL2) и SEQ ID NO: 6 (CDRL3) в концентрации 100 мг/мл; 7,9% (масс./об.) сахарозы, 4,0 мМ гистидина, 6,9 мМ L-гистидина моногидрохлорида моногидрата; 0,053% (масс./об.) полисорбата 80 в фармацевтической композиции; причем разбавитель представляет собой воду в стандартном состоянии.

Другой аспект способа по изобретению содержит введение фармацевтической композиции, содержащей выделенное антитело к ИЛ-23, которое имеет последовательность аминокислот вариабельной области тяжелой цепи гуселкумаба SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи гуселкумаба SEQ ID NO: 8 в концентрации 100 мг/мл; 7,9% (масс./об.) сахарозы, 4,0 мМ гистидина, 6,9 мМ L-гистидина моногидрохлорида моногидрата; 0,053% (масс./об.) полисорбата 80 в фармацевтической композиции; причем разбавитель представляет собой воду в стандартном состоянии.

Дополнительный аспект способа по изобретению включает введение фармацевтической композиции, содержащей выделенное антитело к ИЛ-23, которое имеет последовательность аминокислот тяжелой цепи гуселкумаба SEQ ID NO: 9 и аминокислотную последовательность легкой цепи гуселкумаба SEQ ID NO: 10 в концентрации 100 мг/мл; 7,9% (масс./об.) сахарозы, 4,0 мМ гистидина, 6,9 мМ L-гистидина моногидрохлорида моногидрата; 0,053% (масс./об.) полисорбата 80 в фармацевтической композиции; причем разбавитель представляет собой воду в стандартном состоянии.

Последовательности гуселкумаба являются следующими:

SEQ ID NO:	Описание	Последовательность
1	HCDR1	NYWIG
2	HCDR2	IIDPSNSYTR YSPSFQG
3	HCDR3	WYYKPFDV
4	LCDR1	TGSSSNIGSG YDVH
5	LCDR2	GNSKRPS
6	LCDR3	ASWTDGLSLV V
7	VH	EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFS NYWIGWVRQM PGKGLEWMGI IDPSNSYTRY SPSFQGQVTI SADKSISTAY LQWSSLKASD TAMYYCARWY YKPFDVWGQG TLVTVSS
8	VL	QSVLTQPPSV SGAPGQRVTI SCTGSSSNIG SGYDVHWYQQ LPGTAPKLLI YGNSKRPSGV PDRFSGSKSG TSASLAITGL QSEDEADYYC ASWTDGLSLV VFGGGTKLTV L
9	Тяжелая цепь	EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFS NYWIGWVRQM PGKGLEWMGI IDPSNSYTRY SPSFQGQVTI SADKSISTAY LQWSSLKASD TAMYYCARWY YKPFDVWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVTPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSPGK
10	Легкая цепь	QSVLTQPPSV SGAPGQRVTI SCTGSSSNIG SGYDVHWYQQ LPGTAPKLLI YGNSKRPSGV PDRFSGSKSG TSASLAITGL QSEDEADYYC ASWTDGLSLV VFGGGTKLTV LGQPKAAPSV TLFPPSSEEL QANKATLVCL ISDFYPGAVT VAWKADSSPV KAGVETTTTPS KQSNNKYAAS SYLSLTPEQW KSHRSYSCQV THEGSTVEKT VAPTECS

В различных вариантах осуществления ингибитор ФНО- α содержит голимумаб (продаваемый компанией Janssen Biotech, Inc. под названием Simponi®) или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий последовательности, показанные в SEQ ID NO:

**Пример последовательностей антитела к ФНО- α , например SIMPONI®
(голимумаб)**

Область, определяющая комплементарность, по Кабату

5 Аминокислотная последовательность определяющей комплементарность области тяжелой цепи 1 (CDRH1) антитела к ФНО- α : (SEQ ID NO:11)

SYAMH

Аминокислотная последовательность определяющей комплементарность области тяжелой цепи 2 (CDRH2) антитела к ФНО- α : (SEQ ID NO:12)

10 FMSYDGSNKKYADSVKG

Аминокислотная последовательность определяющей комплементарность области тяжелой цепи 3 (CDRH3) антитела к ФНО- α : (SEQ ID NO:13)

DRGIAAGGNYYYYGMDV

15 Аминокислотная последовательность определяющей комплементарность области легкой цепи 1 (CDRL1) антитела к ФНО- α : (SEQ ID NO:14)

RASQSVYSYLA

Аминокислотная последовательность определяющей комплементарность области легкой цепи 2 (CDRL2) антитела к ФНО- α : (SEQ ID NO:15)

DASNRAT

20 Аминокислотная последовательность определяющей комплементарность области легкой цепи 3 (CDRL3) антитела к ФНО- α : (SEQ ID NO:16)

QQRSNWPPFT

25 Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи антитела к ФНО- α (подчеркнуты определяющие комплементарность области): (SEQ ID NO:17)

1 QVQLVESGGG VVQPGRLRL SCAASGFIFS SYAMHWVRQA PGNLEWVAF
MSYDGSNKKY

61 ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARDR GIAAGGNYYY
YGMDVWGQGT

30 121 TVTVSS

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи антитела к ФНО- α (подчеркнуты определяющие комплементарность области): (SEQ ID NO:18)

1 EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVY SYLAWYQQKP GQAPRLLIYD
ASNRATGIPA

61 RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ RSNWPPFTFG PGTKVDIKRT V

Аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела к ФНО- α

5 (подчеркнуты определяющие комплементарность области): (SEQ ID NO:19)

1 QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFIFS SYAMHWVRQA PGNGLEWVAF
MSYDGSNKKY

61 ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARDR GIAAGGNYYY
YGMDVWGQGT

10 121 TVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG
 ALTSGVHTFP

181 AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD
 KTHTCPPCPA

15 241 PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG
 VEVHNAKTKP

301 REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNAKALPAP IEKTISKAKG
 QPREPQVYTL

361 PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDSD
 GSFFLYSKLT

20 421 VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK 456

Аминокислотная последовательность легкой цепи антитела к ФНО- α

(подчеркнуты определяющие комплементарность области): (SEQ ID NO:20)

1 EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVY SYLAWYQQKP GQAPRLLIYD
ASNRATGIPA

25 61 RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ RSNWPPFTFG PGTKVDIKRT
 VAAPSVFIFP

121 PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK
 DSTYLSSTL

181 TLSKADYEKH KVIACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC

30

В некоторых вариантах осуществления ингибитор ФНО- α содержит антитело голиумаб или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий последовательности CDR голиумаба, представленные выше, последовательности переменных областей, представленные выше, или последовательности тяжелой и легкой цепей,

представленные вышепри 100 мг/мл в водном растворе в фармацевтической композиции при 100 мг/мл; 4,1% (масс./об.) сорбита, 5,6 мМ L-гистидина и L-гистидина моногидрохлорида моногидрата; 0,015% (масс./об.) полисорбата 80 в композиции;

5 В альтернативных вариантах осуществления ингибитор ИЛ-23 представляет собой антитело к ИЛ-23p19, включая, без ограничений, рисанкизумаб или рисанкизумаб-gzaa (Skyrizi® от Abbvie Inc.), дилпростизумаб или тилдракизумаб-asmn (Ilumya® от Sun Pharmma) и миракизумаб (Eli Lilly and Co.), а ингибитор ФНО-α представляет собой антитело к ФНО-α адалимумаб (Humira® от Abbvie Inc.), антитело
10 к ФНО-α инфликсимаб (Remicade® от Janssen Biotech, inc.), цертолизумаб пегол (Cimzia® от UCB Inc.) и этанерцепт (Enbrel® от Amgen и Immunex Corporation). В качестве потенциальных ингибиторов ФНО-α, которые являются частью данного изобретения, включены продукты, содержащие антитела, которые являются биоаналогичными продуктами вышеупомянутых ингибиторов ФНО-α, например,
15 продукты, одобренные в соответствии с положениями § 262(f) 42 U.S.C. или аналогичных законов и правил по всему миру. Примеры биоаналогов ингибиторов ФНО-α представляют собой биоаналоги инфликсимаба, продаваемые как Inflixa® и Renflexis®, и биоаналог этанерцепта SB4 (Benepal®).

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к ФНО-α и
20 антитело к ИЛ-23p19 вводят в соотношении от 1 : 2 до 2 : 1 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления антитело к ФНО-α и антитело к ИЛ-23p19 вводят в соотношении от 15 : 1 до 400 : 1 (масс./масс.) или в диапазоне от 2 : 1 до 14 : 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к ИЛ-23p19 и антитело к ФНО-α вводятся одновременно или в один и тот же день в виде начальной
25 дозы, а последующие последовательные дозы двух антител вводятся в шахматном порядке в интервале от двух или более недель. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к ИЛ-23p19 и антитело к ФНО-α вводятся последовательно. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к ИЛ-23p19 и антитело к ФНО-α вводят с интервалом в один день.

30 В другом аспекте предложен способ уменьшения воспаления толстой кишки у субъекта с воспалительным заболеванием кишечника. Способ включает введение сначала антитела к ИЛ-23p19 в количестве, эффективно снижающем воспаление при совместном введении, а затем введение антитела к ФНО-α в количестве, эффективно снижающем воспаление при совместном введении. Способ эффективен для

уменьшения воспаления толстой кишки субъекта до уровня, сопоставимого с состоянием толстой кишки здорового субъекта. Первая и вторая дозы препаратов в количестве, эффективно снижающем воспаление при совместном введении, одинаковы или различаются.

5 В некоторых вариантах осуществления воспаление незначительно или отсутствует в образце ткани толстой кишки пациента после введения антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α . В некоторых вариантах осуществления потеря желез в образце, взятом из толстой кишки субъекта после введения антител к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α , незначительна или отсутствует. В некоторых вариантах
10 осуществления эрозия в образце, взятом из толстой кишки субъекта после введения антител к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α , незначительна или отсутствует. В некоторых вариантах осуществления толщина слизистой оболочки и гиперплазия в образце, взятом из толстой кишки субъекта после введения антител к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α , независимо являются незначительными или отсутствуют. В некоторых
15 вариантах осуществления после введения антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α результаты гистопатологического исследования тканей толстой кишки приблизительно идентичны (или идентичны) показателям здоровой ткани.

В другом аспекте предложен способ как лечения воспалительного заболевания кишечника, так и уменьшения потери массы тела у субъекта. Способ включает: (а)
20 введение сначала антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента в количестве, терапевтически эффективном при совместном введении и эффективным для снижения потери массы тела; и (b) введение второй дозы, включающей антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающего фрагмента, которая терапевтически эффективна при совместном введении и эффективна для снижения потери массы тела; причем
25 указанные первая и вторая дозы препаратов в количестве, терапевтически эффективном при совместном введении и эффективным для снижения потери массы тела, одинаковы или различаются.

В другом аспекте предложен способ лечения воспалительного заболевания кишечника у человека. Способ включает: (а) введение от 0,0005 мг/кг до 0,002 мг/кг
30 антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента; и (b) введение от 0,020 мг/кг до 0,125 мг/кг антитела к ФНО- α или его антигенсвязывающего фрагмента.

В различных вариантах осуществления способ эффективен для лечения воспалительного заболевания кишечника. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание кишечника представляет собой язвенный колит. В

некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание кишечника представляет собой болезнь Крона. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание кишечника представляет собой колит неустановленной этиологии. В некоторых вариантах осуществления способ эффективен для снижения

5 потери массы тела (например, потери массы тела, связанной с воспалительным заболеванием кишечника).

В другом аспекте предложен способ предотвращения воспаления толстой кишки у субъекта с воспалительным заболеванием кишечника, включающий: (а) введение первой дозы, включающей ингибитор ИЛ-23, которая является эффективной для

10 устранения воспаления при совместном введении; и (b) введение второй дозы, включающей ингибитор ФНО- α , которая является эффективной для устранения воспаления при совместном введении; способ эффективен для уменьшения воспаления толстой кишки субъекта до уровня, сопоставимого с состоянием толстой кишки здорового пациента. Первая и вторая дозы препаратов в количестве, эффективно

15 снижающем воспаление при совместном введении, одинаковы или различаются.

В одном варианте осуществления гуселкумаб вводят пациентам с ЯК внутривенно в начальной дозе 200 мг, внутривенно в дозе 200 мг на неделе 4 и неделе 8 с последующим подкожным введением в дозе 100 мг каждые 8 недель; голимумаб вводят подкожно в начальной дозе 200 мг с последующим подкожным введением в

20 дозе 100 мг на неделе 2, неделе 6 и неделе 10. Оценка состояния пациента с ЯК будет проводиться с помощью шкалы Майо для определения клинического ответа или ремиссии. Клинический ответ, измеренный на неделе 12 определяется как уменьшение балла по шкале Майо по сравнению с исходным уровнем на $\geq 30\%$ и ≥ 3 балла с уменьшением показателей по подшкале ректального кровотечения (RBS) ≥ 1 или

25 количеством баллов по подшкале RBS, равным 0 или 1. Клиническая ремиссия определяется как ≤ 2 баллов по шкале Майо и отсутствие > 1 балла по какой-либо из отдельных подшкал на неделе 12. Дополнительные меры определения клинического ответа используются в рамках объема изобретения.

В другом варианте осуществления пациент с воспалительным заболеванием

30 кишечника (например, ЯК), получающий лечение комбинацией антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α , отвечает на комбинированную терапию достижением одной или более клинических конечных точек, как описано в данном документе (например, снижение балла по шкале Майо по сравнению с исходным уровнем), но было

предсказано отсутствие ответа на одну или обе из монотерапии антителом к ИЛ-23p19 или антителом к ФНО- α , например, по исходным измерениям биомаркеров.

В еще одном варианте осуществления данное изобретение включает фармацевтический продукт, содержащий комбинацию ингибитора антитела к ИЛ-23 (например, антитела к ИЛ-23p19) и ингибитора антитела к ФНО- α (например, антитела к ФНО- α), вводимых в соответствии со способами, описанными в данном документе.

Краткое описание графических материалов

На Фиг. 1А и 1Б показаны результаты анализа потери массы тела мышами после введения малых доз (Фиг. 1А в точке 50 мкг) и высоких доз (Фиг. 1Б в точке 500 мкг) антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 отдельно или в комбинации. Каждая линия представляет собой среднее значение по группе с планками погрешностей для стандартной ошибки ($n = 9$, введение антитела; $n = 5$; контрольная группа, введение PBS; $n = 3$, интактные животные контрольной группы), показанные в виде процентного изменения относительно дня -1 (пунктирная линия). Некоторые планки погрешностей имеют размер символа и не отражены на рисунке. Заболевание индуцировали путем введения антитела к CD40 (BioXCell, кат. №BE0016-2, агонист CD40 Ab, клон FGK4.55, партия №5345/0515).

На Фиг. 2А и 2Б представлены результаты гистопатологического исследования, проведенного на толстой кишке мышей, получавших низкие дозы (Фиг. 2Б, 50 мкг/мышь) антитела к ФНО- α и/или антитела к ИЛ-23p19 и высокие дозы (Фиг. 2Б, 500 мкг/мышь) антитела к ФНО- α и/или антитела к ИЛ-23p19, соответственно. Заболевание индуцировали введением антитела к CD40.

На Фиг. 3А показаны сигнатуры гуманизированной монотерапии антителом к ФНО- α или антителом к ИЛ-23p19 из модели колита у мышей с введением антитела к CD40, применявшейся для оценки ответа сети экспрессии генов ВЗК человека на устекинумаб и антитело к интерлейкину-12/23 для индукции (CERTIFI). На Фиг. 3А показано перекрытие между генами, присутствующими в подсетях антител к ФНО- α и антител к ИЛ-23p19, как показано на диаграмме Венна. На Фиг. 3Б показан наибольший подключенный компонент общих подсетей с антителом к ФНО- α и антителом к ИЛ-23p19.

На Фиг. 4А, 4Б, 4В и 4Г показаны результаты анализа потери массы тела, проведенного у самок мышей RAG2^{-/-}, которым в/б вводили антитело изотипического

контроля (Фиг. 4А) или антитело к ИЛ-23p19 (Фиг. 4Б) в концентрации 50, 15, 5, 1,5, 0,5, 0,15µг/мышь или антитело к ФНОα (ФИГ. 4В) в концентрации 150 и 15 µг/мышь. Заболевание индуцировали введением антитела к CD40. Как показано на Фиг. 4Г, были получены статистические данные для сравнения каждой группы с изотипическим контролем.

На Фиг. 5А, 5Б и 5В показаны результаты гистопатологического исследования, проведенного на образце из толстой кишки самок мышей RAG2^{-/-}, которым в/б вводили антитело изотипического контроля (ФИГ. 5А), антитело к ИЛ-23p19 в концентрации 50, 15, 5, 1,5, 0,5, 0,15µг/мышь (ФИГ. 5Б) или антитело к ФНОα в концентрациях 150 и 15 µг/мышь (ФИГ. 5В). Заболевание индуцировали введением антитела к CD40.

На Фиг. 6А, 6Б, 6В и 6Г показаны результаты анализа снижения потери массы тела, проведенного для мышей, получавших контрольное антитело (Фиг. 6А), только антитело к ФНО-α в дозе 500 µг/мышь (Фиг. 6Б), только антитело к ИЛ-23p19 в дозе 1,5, 5 или 25 µг/мышь (Фиг. 6В) или комбинацию антитела к ФНО-α в дозе 500 µг/мышь с антителом к ИЛ-23p19 в дозе 1,5, 5 или 25 µг/мышь (Фиг. 6Г). Заболевание индуцировали введением антитела к CD40. На Фиг. 6Д показаны обобщенные данные для различных групп.

На Фиг. 7А, 7Б и 7В представлены результаты гистопатологического исследования толстой кишки мышей, которым вводили только антитело к ФНО-α в дозе 500 µг/мышь, только мышинное антитело к ИЛ-23p19 или комбинацию антитела к ФНО-α в дозе 500 µг/мышь и мышинного антитела к ИЛ-23p19 в концентрации антитела к ИЛ-23p19: 1,5 µг (ФИГ. 7А), 5 µг (ФИГ. 7Б) или 25 µг (ФИГ. 7В). Заболевание индуцировали введением антитела к CD40.

На Фиг. 8 показаны результаты сетевого анализа, основанного на сигнатурах экспрессии гуманизированных генов толстой кишки при монотерапии антителом к ФНО-α (500µг) или высокой дозы антитела к ИЛ-23p19 (25µг, которые пересекались с сигнатурой экспрессии генов комбинированной терапии (антитело к ФНО-α в дозе 500 µг и антитело к ИЛ-23p19 в дозе 1,5µг). Целью анализа было определить, был ли молекулярный ответ на комбинированное лечение антителом к ФНОα и низкой дозой антитела к ИЛ-23p19 опосредованным или уникальным по сравнению с любой монотерапией. Была выявлена уникальная подсеть из около 200 генов; подсеть была обогащена фибробластами, а также была выявлена организация внеклеточного

матрикса, типы клеток и пути, участвующие в восстановлении и заживлении слизистой оболочки.

Подробное описание

5

Определения

Если не указано иное, технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют общепринятое значение, понятное любому специалисту в области, к которой относится данное изобретение.

10

Используемые в настоящем описании, включая прилагаемую формулу, формы единственного числа включают соответствующие ссылки на формы множественного числа, если иное не следует явно из контекста.

15

Термин «около» 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 конкретного 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.

20

25

Термины «введение» и «лечение» в отношении животного, человека, экспериментального субъекта, клетки, ткани, органа или биологической жидкости относятся к контакту экзогенного фармацевтического, терапевтического, диагностического агента или композиции с животным, человеком, субъектом, клеткой, тканью, органом или биологической жидкостью. Термины «введение» и «лечение» могут относиться, например, к терапевтическим, фармакокинетическим, диагностическим, исследовательским и экспериментальным способам. Лечение клетки включает в себя контакт реагента с клеткой, а также контакт реагента с жидкостью, причем жидкость находится в контакте с клеткой. Термины «введение» и «лечение» также означают методы лечения *in vitro* и *ex vivo*, например, клетки, с помощью реагента, диагностики, связывающей композиции или другой клетки. Термин «лечение» в отношении человека, животного или субъекта исследования относится к терапевтическим методам лечения, профилактики или превентивного лечения в

30

исследовательских и диагностических сферах применения. Термин «лечение» в отношении человека, животного или субъекта исследования, или клетки, ткани или органа, охватывает приведение препарата в контакт с животным, клеткой, тканью, физиологическим компартментом или физиологической жидкостью. Термин «обработка клетки» также охватывает ситуации, когда препарат контактирует с мишенью, такой как рецептор к ИЛ-23, например, в жидкой или коллоидной фазе, а также ситуации, когда агонист или антагонист не контактирует с клеткой или рецептором.

Термины «лечить» или «лечение» также могут относиться к терапевтическому агенту, такому как композиция, описанная в настоящем документе, для введения внутрь или наружного применения пациенту, нуждающемуся в таком лечении. Как правило, агент вводят в количестве, эффективном для предотвращения или ослабления одного или более симптомов заболевания или одного или более неблагоприятных эффектов, вызванных другим терапевтическим агентом, либо путем предотвращения развития заболевания, индуцирования регрессии или подавления прогрессирования такого(-их) симптома(-ов) или неблагоприятного(-ых) эффекта(-ов) в любой клинически измеряемой степени. Количество терапевтического средства, которое эффективно для ослабления любого конкретного симптома заболевания или неблагоприятного эффекта (также называемое «терапевтически эффективным количеством»), может варьироваться в зависимости от таких факторов, как стадия заболевания, возраст и вес пациента, способность терапевтического агента вызывать желаемый ответ у пациента, общее состояние здоровья пациента, способ, путь и доза введения, а также тяжесть побочных эффектов.

Используемый в настоящем документе термин «ингибитор» означает любой агент, который снижает активность целевой молекулы. В частности, антагонист ИЛ-23 или ФНО- α представляет собой агент, который снижает биологическую активность ИЛ-23 или ФНО- α , например, путем блокирования связывания ИЛ-23 или ФНО- α с его рецептором или иного снижения его активности (например, по результатам биологического анализа).

В контексте настоящего документа термины «специфичное к ИЛ-23 антитело», «антитело к ИЛ-23», «участок антитела» или «фрагмент антитела» и/или «вариант антитела» и т. п. включают любой белок или пептид, который содержит по меньшей мере часть молекулы иммуноглобулина, такую как, без ограничений, по меньшей мере одна определяющая комплементарность (CDR) область тяжелой или легкой цепи, либо

ее связывающий лиганд участок, вариабельная область тяжелой цепи или легкой цепи, константная область тяжелой цепи или легкой цепи, каркасная область или любая их часть, либо, по меньшей мере, один участок рецептора или связывающего белка ИЛ-23, который можно встраивать в антитело настоящего изобретения. Необязательно такое антитело дополнительно воздействует на специфичный лиганд, например, без ограничений, такое антитело модулирует, снижает, повышает, выступает антагонистом, выступает агонистом, уменьшает, ослабляет, блокирует, ингибирует, уничтожает и/или препятствует по меньшей мере одной активности или связыванию ИЛ-23, либо активности или связыванию рецептора ИЛ-23 *in vitro*, *in situ* и/или *in vivo*. В качестве не имеющего ограничительного характера примера приемлемое антитело к ИЛ-23, его определенный участок или вариант настоящего изобретения может связываться с по меньшей мере одной молекулой ИЛ-23 или ее определенными участками, вариантами или доменами. Приемлемое антитело к ИЛ-23, его определенный участок или вариант также может необязательно влиять на по меньшей мере один вид активности или функции ИЛ-23, например, без ограничений, синтез РНК, ДНК или белка, высвобождение ИЛ-23, сигнализацию рецептора ИЛ-23, расщепление мембранного ИЛ-23, активность ИЛ-23, продукцию и/или синтез ИЛ-23.

Предполагается, что термин «антитело» будет дополнительно охватывать антитела, фрагменты расщепления, их определенные участки и варианты, включая миметики антител, или содержать участки антител, которые имитируют структуру и/или функцию антитела или его определенного фрагмента или участка, включая одноцепочечные антитела и их фрагменты. Функциональные фрагменты включают антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с ИЛ-23 млекопитающего. Например, изобретение охватывает фрагменты антитела, способные связываться с ИЛ-23 или его участками, включая без ограничений фрагменты Fab (например, после расщепления папаином), Fab' (например, после расщепления пепсином и частичного восстановления) и F(ab')₂ (например, после расщепления пепсином), Fabc (например, после расщепления плазмином), pFc' (например, после расщепления пепсином или плазмином), Fd (например, после расщепления пепсином, частичного восстановления и агрегации), Fv или scFv (например, полученные способами молекулярной биологии).

Такие фрагменты можно получать путем ферментативного расщепления, способами синтеза или рекомбинации, известными в данной области и/или описанными в настоящем документе. Антитела можно также продуцировать в различных укороченных формах с помощью генов антител, в которых один или более стоп-

кодонов были введены выше естественного сайта терминации. Например, возможно создание комбинационного гена, кодирующего часть тяжелой цепи $F(ab')_2$, содержащего последовательности ДНК, кодирующие домен СН1 и/или шарнирный участок тяжелой цепи. Различные участки антител можно химически соединять стандартными способами или получать в виде единого белка способами генной инженерии.

Термин «гуманизированное антитело» относится к антителу, в котором антигенсвязывающие участки получены из видов, отличных от человека, а каркасные области вариабельной области получены из последовательностей иммуноглобулинов человека. Гуманизированное антитело может содержать замены в каркасных областях, в результате чего каркасная область может не являться точной копией экспрессируемого человеческого иммуноглобулина или генных последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека.

Термин «антитело человека» относится к антителу, имеющему вариабельные области тяжелой и легкой цепей, в которых как каркасные, так и антигенсвязывающие сайты получены из последовательностей человеческого происхождения. Если антитело содержит константную область или часть константной области, константная область также получена из последовательностей человеческого происхождения.

Используемые на взаимозаменяемой основе термины «субъект» или «пациент» относятся к любому человеку или любому не относящемуся к человеку животному («не относящееся к человеку животное»), включая всех позвоночных, например млекопитающих и немлекопитающих, таких как приматы, овцы, собаки, кошки, лошади, коровы, куры, амфибии, рептилии и т. д.

Термины «фактор некроза опухоли», «ФНО» или «ФНО- α » относятся к хорошо изученному фактору некроза опухоли человека (ФНО- α) — многофункциональному провоспалительному цитокину. ФНО- α запускает провоспалительный ответ, который приводит к повреждению тканей, такому как деградация хряща и кости, к индукции молекул адгезии, индукции прокоагулянтной активности на клетках эндотелия сосудов, повышению адгезии нейтрофилов и лимфоцитов и стимулированию высвобождения фактора активации тромбоцитов из макрофагов, нейтрофилов и клеток эндотелия сосудов.

ФНО- α обнаруживается в виде растворимого белка, а также в форме предшественника, известного как трансмембранный ФНО- α , который экспрессируется в виде полипептида II типа, присутствующего на поверхности клетки.

Трансмембранный ФНО- α обрабатывается металлопротеиназами, такими как ФНО- α -конвертирующий фермент (ТАСЕ) между остатками Ala76 и Val77, что приводит к высвобождению растворимой формы ФНО- α из 157 аминокислотных остатков. Растворимый ФНО- α представляет собой гомотример расщепленных мономеров массой 17 кДа. Трансмембранный ФНО- α также существует в виде гомотримера нерасщепленных мономеров массой 26 кДа.

В первом аспекте предложен способ лечения воспалительного заболевания кишечника у субъекта. Способ включает введение сначала ингибитора ИЛ-23 в количестве, терапевтически эффективном при совместном введении, и затем введение ингибитора ФНО- α в количестве, терапевтически эффективном при совместном введении. Способ эффективен для лечения воспалительного заболевания кишечника, при этом количества как первого, так и второго препарата, терапевтически эффективные при совместном введении, одинаковы или различаются.

Комбинация антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 может оказывать системное, а также локальное воздействие на кишечник или толстую кишку. Комбинация может обеспечивать более выраженное системное воздействие, чем при лечении только антителом к ФНО- α или только антителом к ИЛ-23p19. Комбинация может обеспечивать превосходную противовоспалительную активность при лечении ВЗК у человека. Антитело к ИЛ-23p19 может быть высокоэффективным в отношении защиты от развития ВЗК (например, колита и болезни Крона), но не в отношении защиты от потери массы тела, индуцированной антителом к CD40, тогда как антитело к ФНО- α может обеспечивать существенную защиту от потери массы тела, индуцированной антителом к CD40, с некоторой степенью защиты от ВЗК. Каждое антитело и их комбинация могут обеспечивать дифференциальное воздействие на локальное воспаление по сравнению с системным воспалением.

Можно применять различные антитела к ИЛ-23, такие как любое из антител к ИЛ-23, описанных в патенте США №7,491,391, выданном 17 февраля 2009 г., и публикации патента США №2018/0094052, опубликованной 5 апреля 2018 г., оба из которых включены в настоящий документ путем ссылки.

Можно использовать различные антитела к ФНО- α . Например, можно использовать любое из антител к ИЛ-23, описанных в патенте США №7,250,165, выданном 31 июля 2007 г., и публикации патента США №2017/0218092, опубликованной 3 августа 2017 г. Оба этих источника включены в настоящий документ путем ссылки.

Для получения антител к ФНО- α можно использовать различных животных-хозяев. Например, для получения мышинных антител к человеческому ФНО- α можно использовать мышей Balb/c. Антитела, полученные от мышей линии Balb/c и от других животных, отличных от человека, могут быть гуманизированы с применением разнообразных технологий для создания последовательностей, имеющих большее сходство с человеческими последовательностями.

Антитела к ИЛ-23 необязательно характеризуются высокой аффинностью связывания с ИЛ-23 и необязательно связаны с низкой токсичностью. Антитела к ФНО- α необязательно характеризуются высокой аффинностью связывания с ФНО- α и необязательно имеют низкую токсичность. В частности, используют антитело, определенный фрагмент или вариант изобретения, причем отдельные компоненты, такие как вариабельная область, константная область и каркас, по отдельности и/или в совокупности, необязательно и предпочтительно имеют низкую иммуногенность. Низкая или допустимая иммуногенность и/или высокая аффинность, а также другие приемлемые свойства могут способствовать достижению терапевтических результатов. Под «низкой иммуногенностью» в настоящем документе понимают индукцию значимых ответов антител НАНА, НАСА или НАМА у менее чем около 75% или предпочтительно у менее чем около 50% получающих лечение пациентов и/или индукцию низких титров у получающих лечение пациентов (менее чем около 300, предпочтительно менее чем около 100, по результатам измерения иммуноферментным анализом с двойным антигеном) (см. публикацию Elliott et al., Lancet 344:1125–1127 (1994), которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки). Для антител к ИЛ-23 термин «низкая иммуногенность» также можно определить как появление титруемых уровней антител к антителу к ИЛ-23 у пациентов, получавших лечение антителом к ИЛ-23, у менее 25% получавших лечение пациентов, предпочтительно у менее 10% пациентов, получавших лечение рекомендованной дозой в течение рекомендованного курса терапии в период лечения. Для антител к ФНО термин «низкая иммуногенность» также можно определить как возникновение поддающихся титрованию уровней антител против антитела к ФНО- α у пациентов, которых лечили антителом к ФНО- α , встречающееся у менее чем 25% получающих лечение пациентов, предпочтительно у менее чем 10% получающих лечение пациентов, при рекомендованной дозе в течение рекомендованного курса терапии в период лечения.

По меньшей мере одно антитело к ИЛ-23 и одно антитело к ФНО- α , применяемое в способе настоящего изобретения, может быть получено в клеточной линии, смешанной клеточной линии, immortalized клетке или клональной популяции immortalized клеток, как хорошо известно специалистам в данной области. См., например, публикации Ausubel, et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., NY (1987–2001); Sambrook, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989); Harlow and Lane, Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989); Colligan, et al., eds., Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994–2001); Colligan et al., Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY (1997–2001), каждая из которых полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

Антитело к ИЛ-23 и/или антитело к ФНО- α также можно генерировать путем иммунизации трансгенного животного (например, мыши, крысы, хомяка, примата (исключая человека) и т. п.), способных продуцировать набор человеческих антител, как описано в настоящем документе и/или как известно специалистам в данной области. Клетки, которые продуцируют человеческие антитела к ИЛ-23, можно выделять из организма таких животных и immortalize с использованием приемлемых способов, таких как описаны в настоящем документе.

Антитела к ИЛ-23, применяемые в способе настоящего изобретения, также можно получать с использованием по меньшей мере одного антитела к ИЛ-23, кодирующего нуклеиновую кислоту, для создания трансгенных животных или млекопитающих, таких как козы, коровы, лошади, овцы, кролики и т. п., которые продуцируют такие антитела в своем молоке. Антитела к ФНО- α , применяемые в способе, описанном в данном документе, можно также получать с использованием по меньшей мере одного антитела к ФНО- α , кодирующего нуклеиновую кислоту, для создания трансгенных животных или млекопитающих, таких как козы, коровы, лошади, овцы и т. п., которые продуцируют такие антитела в своем молоке. Таких животных можно создавать с помощью известных способов. См., например, без ограничений, патенты США № 5,827,690; 5,849,992; 4,873,316; 5,849,992; 5,994,616; 5,565,362; 5,304,489 и т. п., причем каждый из них полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

Антитела к ИЛ-23 настоящего изобретения могут связываться с человеческим ИЛ-23 в широком интервале аффинностей (K_D). В предпочтительном варианте осуществления mAb человека необязательно может связываться с человеческим ИЛ-23

с высокой аффинностью. Например, мАт человека может связываться с человеческим ИЛ-23 с показателем K_D , равным или меньшим около 10^{-7} М, например, без ограничений, $0,1-9,9$ (или в любом интервале, или с любым значением в нем) $\times 10^{-7}$, 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , 10^{-13} , или в любом интервале, или с любым значением в нем.

Антитела к ФНО могут связываться с человеческим ФНО- α в широком интервале аффинностей (K_D). В предпочтительном варианте осуществления мАт человека необязательно может связываться с человеческим ФНО- α с высокой аффинностью. Например, мАт человека может связываться с человеческим ФНО- α с показателем K_D , равным около 10^{-7} М или менее, например, без ограничений, $0,1-9,9$ (или в любом интервале, или с любым значением в нем) $\times 10^{-7}$, 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , 10^{-13} , или в любом интервале, или с любым значением в нем.

Антитела к ИЛ-23 могут относиться к изотипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. Антитела к ФНО могут относиться к изотипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

Без ограничений, накладываемых какой-либо теорией, преимущества комбинации антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α могут быть связаны с различными изменениями экспрессии генов, которые индуцируются каждым антителом. Как описано в Примере 1 и по меньшей мере на Фиг. 2А и 2Б, в дозах, в которых каждое антитело обеспечивало аналогичную защиту от воспаления толстой кишки (Фиг. 2 в точке 50 мкг антитела к ИЛ-23p19 и 500 мкг антитела к ФНО- α), при блокировании ИЛ-23p19 у мышей наблюдали различные изменения экспрессии генов в кишечнике по сравнению с блокированием ФНО- α . Эти изменения экспрессии генов также могут применяться к заболеванию человека. Благодаря интеграции сигнатур генов «гуманизированного» мышинового антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 в сеть генов в биоптатах кишечника человека можно фокусироваться только на генах, которые экспрессировались и варьировались в тканях кишечника человека. Дополнительный контекст для потенциального молекулярного воздействия каждого антитела на ВЗК человека можно получить путем создания подсетей лечения, включающих в себя гены, удаленные на один этап (т. е., сильно коррелированные) в сети, из генов в пределах каждой сигнатуры. Отдельные подсети антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 демонстрируют уникальные генные признаки одиночных антител, что позволяет понять биологические процессы, на которые направлены оба механизма.

Эффективность лечения в соответствии со способами, описанными в настоящем документе, можно определить, например, путем оценки степени потери массы тела и всасывания питательных веществ, а также гистопатологических исследований образцов ткани. Гистопатологические исследования могут включать в себя измерение одного или более признаков, таких как отек подслизистой оболочки, воспаление, потеря кишечных желез, эрозия, толщина слизистой оболочки и гиперплазия. Отек подслизистой оболочки можно оценить количественно путем измерения толщины от мышечного слоя слизистой оболочки до внутренней границы наружного мышечного слоя (например, в области нетангенциального сплетения мышечных волокон, которая, как считается, лучше всего отражает тяжесть такого изменения). Оценка воспаления может отражать степень воспалительной инфильтрации слизистой оболочки толстой кишки макрофагами, лимфоцитами и нейтрофилами. Потерю желез эпителиальных крипт и процент сохраненного железистого эпителия можно оценить количественно путем вычисления процента площади пораженной слизистой оболочки. Эрозия отражает потерю поверхностного эпителия и может быть оценена путем вычисления процента площади пораженной слизистой оболочки (например, площади слизистой оболочки с кровоизлиянием). Толщину слизистой оболочки можно оценить путем измерения площади области нетангенциального сплетения мышечных волокон, которая лучше всего отражает толщину мышечного слоя. Увеличение толщины говорит об утолщении слоя железистого эпителия и гиперплазии слизистой оболочки.

Общая гистопатологическая оценка может включать в себя измерение одного или более признаков, таких как отек подслизистой оболочки, воспаление, потеря кишечных желез, эрозия, толщина слизистой оболочки и гиперплазия. Пример системы оценки для мышей описан в Примере 1. Аналогичную систему можно использовать для проведения оценки у людей и других млекопитающих.

В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание кишечника представляет собой колит (например, язвенный колит). Колит может включать раздражение, отек и другие признаки воспаления толстой кишки. При язвенном колите отмечаются кровоподтеки и язвы.

В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание кишечника представляет собой болезнь Крона. Болезнь Крона может ограничиваться толстой кишкой, но также может присутствовать в других тканях, таких как тонкий кишечник. Болезнь Крона может включать воспаление как толстого, так и тонкого кишечника.

Также может отмечаться воспаление ротовой полости, ануса, кожи, глаз, суставов и/или печени.

В некоторых вариантах осуществления субъект ранее получал лечение только ингибитором ФНО- α , и ремиссии воспалительного заболевания кишечника после
5 предыдущего лечения не наступало. В некоторых вариантах осуществления субъект ранее получал лечение только ингибитором ИЛ-23, и ремиссии воспалительного заболевания кишечника после предыдущего лечения не наступало. Способы, описанные в настоящем документе, могут быть полезны для субъектов, которые не отвечали на монотерапию ингибитором ФНО- α (например, антителом к ФНО- α) или
10 ингибитором ИЛ-23 (например, антителом к ИЛ-23p19). На основании результатов, описанных в настоящем документе, которые демонстрируют существенное улучшение гистопатологической оценки состояния толстой кишки при введении как антитела к ФНО- α , так и антитела к ИЛ-23p19 (по сравнению с введением любого отдельно взятого антитела), у субъектов отмечается значительно лучший ответ на комбинацию
15 ингибитора ФНО- α (например, антитела к ИЛ-23p19) и ингибитора ИЛ-23 (например, антитела к ИЛ-23p19).

В различных вариантах осуществления ингибитор ИЛ-23 содержит антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент. Каждый из этих элементов может связываться с субъединицей p19 ИЛ-23.

В различных вариантах осуществления ингибитор ФНО- α содержит антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛ-23p19 включает человеческое или гуманизированное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело к ФНО- α включает человеческое или гуманизированное антитело.

Антитела к ИЛ-23 и/или антитела к ФНО- α можно также гуманизировать или получить посредством конструирования человеческих антител с сохранением высокой аффинности к антигену и иных благоприятных биологических свойств. Гуманизированные (или человеческие) антитела можно необязательно получать в процессе анализа исходных последовательностей и различных концептуальных
25 гуманизированных продуктов с помощью трехмерных моделей исходных и гуманизированных последовательностей. Трехмерные модели иммуноглобулина являются общедоступными и известными специалистам в данной области. Существуют компьютерные программы, демонстрирующие и отображающие вероятные трехмерные конформационные структуры выбранных потенциальных последовательностей
30

иммуноглобулина. Исследование этих изображений позволяет анализировать вероятную роль остатков в функционировании иммуноглобулиновой последовательности кандидата, т. е. проводить анализ остатков, которые влияют на способность иммуноглобулина кандидата связывать свой антиген. Таким образом, из типичных совпадающих и импортированных последовательностей можно выбирать и комбинировать остатки каркасной области (FR) так, чтобы получить требуемую характеристику антитела, например повышенную аффинность к целевому (-ым) антигену (-ам).

Гуманизацию или конструирование антител настоящего изобретения можно выполнять с помощью любого известного способа, такого как, без ограничений, способ, описанный в: Winter (Jones et al., Nature 321:522 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323 (1988); Verhoeyen et al., Science 239:1534 (1988)), Sims et al., J. Immunol. 151:2296 (1993); Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901 (1987), Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol. 151:2623 (1993), патентах США №: 5723323, 5976862, 5824514, 5817483, 5814476, 5763192, 5723323, 5 766 886, 5714352, 6204023, 6180370, 5693762, 5530101, 5585089, 5225539; 4 816 567, каждая публикация полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

В другом аспекте предложен способ уменьшения воспаления толстой кишки у субъекта с воспалительным заболеванием кишечника. Способ включает введение сначала ингибитора ИЛ-23 в количестве, эффективно снижающем воспаление при совместном введении, а затем введение ингибитора ФНО- α в количестве, эффективно снижающем воспаление при совместном введении. Способ эффективен для уменьшения воспаления толстой кишки субъекта до уровня, сопоставимого с состоянием толстой кишки здорового пациента. Первая и вторая дозы препаратов в количестве, эффективно снижающем воспаление при совместном введении, одинаковы или различаются. Предотвращение или уменьшение воспаления можно измерить путем проведения гистопатологического анализа, а также по степени потери массы тела и воспаления.

В некоторых вариантах осуществления при гистопатологическом исследовании образца ткани толстой кишки пациента после введения ингибитора ИЛ-23 и ингибитора ФНО- α оценка, присвоенная воспалению, является незначительной или соответствует таковой для здоровой ткани. Незначительная оценка воспаления может говорить о наличии только одного или двух маленьких очагов, при этом

мононуклеарные воспалительные клетки (MNIC), вероятно, являются фоновыми скоплениями лимфоидной ткани слизистой оболочки.

В некоторых вариантах осуществления при гистопатологическом исследовании образца ткани толстой кишки пациента после введения ингибитора ИЛ-23 и ингибитора ФНО- α оценка потери кишечных желез является незначительной или соответствует таковой для здоровой ткани. Незначительная потеря желез может включать только один или два фокальных участка потери желез.

В некоторых вариантах осуществления в гистопатологическом исследовании образца ткани толстой кишки пациента после введения ингибитора ИЛ-23 и ингибитора ФНО- α оценка эрозии является незначительной или соответствует таковой для здоровой ткани. Незначительная эрозия может включать только один или два фокальных участка эрозии слизистой оболочки.

В некоторых вариантах осуществления в гистопатологическом исследовании образца ткани толстой кишки пациента после введения ингибитора ИЛ-23 и ингибитора ФНО- α оценка толщины слизистой оболочки и гиперплазии независимо является незначительной или соответствует таковой для здоровой ткани. Незначительная толщина слизистой оболочки может предполагать увеличение толщины слизистой оболочки менее чем на 25% по сравнению с толщиной здоровой слизистой ткани.

В некоторых вариантах осуществления после введения ингибитора ИЛ-23 и ингибитора ФНО- α результаты гистопатологического исследования тканей толстой кишки приблизительно идентичны (или идентичны) показателям здоровой ткани. Гистопатологическая оценка может включать в себя измерение одного или более признаков, таких как отек подслизистой оболочки, воспаление, потеря кишечных желез, эрозия, толщина слизистой оболочки и гиперплазия. Любой из этих параметров или все параметры можно измерить и оценить. Пример системы оценки описан в Примере 1.

В различных вариантах осуществления ингибитор ИЛ-23 представляет собой антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент. Примеры антител к ИЛ-23p19 и их фрагментов описаны в патенте США №7,491,391, выданном 17 февраля 2009 г. и полностью включенном в настоящий документ путем ссылки. В различных вариантах осуществления ингибитор ФНО- α представляет собой антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к ФНО- α и антитело к ИЛ-23p19 вводят в соотношении от 1 : 2 до 2 : 1 (масс./масс.). Соотношение может быть рассчитано на основании дозы одного антитела, вводимой пациенту, в мг/кг и дозы другого антитела, вводимой тому же пациенту, в мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к ФНО- α и антитело к ИЛ-23p19 вводят в соотношении от 15 : 1 до 400 : 1 (масс./масс.). Соотношение может быть рассчитано на основании дозы одного антитела, вводимой пациенту, в мг/кг и дозы другого антитела, вводимой тому же пациенту, в мг/кг.

Введение пациенту (например, человеку) антитела к ФНО- α и антитела ИЛ-23p19 в соотношении от 1 : 2 до 2 : 1 (масс./масс.) может обеспечить лучший результат лечения ВЗК (например, колита и болезни Крона) у пациента. В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1:2 до 1:1,8 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1 : 1,9 до 1 : 1,7 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1:1,8 до 1:1,6 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1 : 1,7 до 1 : 1,5 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1 : 1,6 до 1 : 1,4 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1 : 1,5 до 1 : 1,3 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1 : 1,4 до 1 : 1,2 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1 : 1,3 до 1 : 1,1 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1 : 1,2 до 1 : 1 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1 : 1,1 до 1 : 1 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1 : 1 до 1,2 : 1 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1 : 1 до 1,3 : 1 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1,2 : 1 до 1,4 : 1 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1,3 : 1 до 1,5 : 1 (масс./масс.). В некоторых вариантах

осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1,4 : 1 до 1,6 : 1 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1,5 : 1 до 1,7 : 1 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1,6 : 1 до 1,8 : 1 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1,7 : 1 до 1,9 : 1 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 составляет от 1,8 : 1 до 2 : 1 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет примерно 1 : 2, 1 : 1,8, 1 : 1,5, 1 : 1,2, 1 : 1, 1,2 : 1, 1,5 : 1, 1,8 : 1 или 2 : 1 (масс./масс.).

Минимально активную дозу антитела к ИЛ-23p19 можно вводить субъекту (например, человеку) с большей дозой антитела к ФНО- α для предотвращения развития воспалительного заболевания кишечника (например, колита и болезни Крона). Отношение минимально активной дозы антитела к ИЛ-23p19 к большей дозе антитела к ФНО- α может находиться в диапазоне от 1 : 400 до 1 : 15 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 400 до 1 : 350 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 370 до 1 : 320 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 350 до 1 : 300 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 300 до 1 : 250 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 280 до 1 : 230 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 250 до 1 : 200 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 220 до 1 : 170 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 170 до 1 : 120 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 150 до 1 : 100 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 120 до 1 : 80 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления

соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 100 до 1 : 60 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 80 до 1 : 40 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 60 до 1 : 30 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 50 до 1 : 25 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 40 до 1 : 20 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 35 до 1 : 15 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет примерно 1:400, 1:300, 1:200, 1:150, 1:100, 1:75, 1:50, 1:25 или 1:15 (масс./масс.).

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к ФНО- α и антитело к ИЛ-23p19 вводят в соотношении от 15 : 1 до 400 : 1 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления а) антитело к ИЛ-23p19 или его антиген-связывающий фрагмент и б) антитело к ФНО- α или его антиген-связывающий фрагмент вводят одновременно. В некоторых вариантах осуществления а) антитело к ИЛ-23p19 или его антиген-связывающий фрагмент и б) антитело к ФНО- α или его антиген-связывающий фрагмент вводят последовательно. а) Антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент и б) антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент можно вводить с интервалом один час, два часа, три часа, шесть часов, 12 часов, один день, два дня, три дня или четыре дня.

В некоторых вариантах осуществления комбинация а) антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента и б) антитела к ФНО- α или антигенсвязывающего фрагмента эффективна для лечения субъекта, который ранее получал лечение только антителом к ФНО- α без существенной ремиссии воспалительного заболевания кишечника. В некоторых вариантах осуществления комбинация а) антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента и б) антитела к ФНО- α или антигенсвязывающего фрагмента эффективна для лечения субъекта, который ранее получал лечение только антителом к ИЛ-23p19 без существенной ремиссии воспалительного заболевания кишечника.

В другом аспекте предложен способ лечения воспалительного заболевания кишечника у человека. Способ включает: (а) введение от 0,0005 мг/кг до 0,002 мг/кг

антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента; и (b) введение от 0,020 мг/кг до 0,125 мг/кг антитела к ФНО- α или его антигенсвязывающего фрагмента.

В различных вариантах осуществления способ эффективен для лечения воспалительного заболевания кишечника. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание кишечника представляет собой колит. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание кишечника представляет собой болезнь Крона. В некоторых вариантах осуществления способ эффективен для снижения потери массы тела (например, потери массы тела, связанной с воспалительным заболеванием кишечника).

(a) Антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент и (b) антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент вводят одновременно, последовательно или с интервалом в один день.

В различных вариантах осуществления введение субъекту (например, человеческому индивиду) от 0,020 мг/кг до 0,125 мг/кг антитела к ФНО- α и от 0,020 мг/кг до 0,125 мг/кг антитела к ИЛ-23p19 может обеспечить более эффективное лечение ВЗК (например, колита и болезни Крона) у субъекта. Начальные результаты оценки комбинации антитела ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 в дозе по 50 мкг каждое у мышей свидетельствуют о том, что такая комбинация обеспечивает повышенную защиту от колита по сравнению с вариантами лечения каждым из указанных антител в отдельности в той же дозе. См. Пример 1. В некоторых вариантах осуществления человеку вводят от 0,020 мг/кг до 0,040 мг/кг антитела к ФНО- α и от 0,020 мг/кг до 0,040 мг/кг антитела к ИЛ-23p19. В некоторых вариантах осуществления человеку вводят от 0,030 мг/кг до 0,050 мг/кг антитела к ФНО- α и от 0,030 мг/кг до 0,050 мг/кг антитела к ИЛ-23p19. В некоторых вариантах осуществления человеку вводят от 0,040 мг/кг до 0,060 мг/кг антитела к ФНО- α и от 0,040 мг/кг до 0,060 мг/кг антитела к ИЛ-23p19. В некоторых вариантах осуществления человеку вводят от 0,050 мг/кг до 0,070 мг/кг антитела к ФНО- α и от 0,050 мг/кг до 0,070 мг/кг антитела к ИЛ-23p19. В некоторых вариантах осуществления человеку вводят от 0,060 мг/кг до 0,080 мг/кг антитела к ФНО- α и от 0,060 мг/кг до 0,080 мг/кг антитела к ИЛ-23p19. В некоторых вариантах осуществления человеку вводят от 0,070 мг/кг до 0,090 мг/кг антитела к ФНО- α и от 0,070 мг/кг до 0,090 мг/кг антитела к ИЛ-23p19. В некоторых вариантах осуществления человеку вводят от 0,080 мг/кг до 0,100 мг/кг антитела к ФНО- α и от 0,080 мг/кг до 0,100 мг/кг антитела к ИЛ-23p19. В некоторых вариантах осуществления человеку вводят от 0,090 мг/кг до 0,110 мг/кг антитела к ФНО- α и от 0,090 мг/кг до

0,110 мг/кг антитела к ИЛ-23p19. В некоторых вариантах осуществления человеку вводят от 0,100 мг/кг до 0,125 мг/кг антитела к ФНО- α и от 0,100 мг/кг до 0,125 мг/кг антитела к ИЛ-23p19.

В различных вариантах осуществления антитело к ИЛ-23p19 вводят субъекту (например, человеку) ежедневно, каждые два дня, каждые три дня, каждые четыре дня, каждые пять дней, каждые шесть дней или один раз в неделю. В различных вариантах осуществления антитело к ФНО- α вводят субъекту (например, человеку) ежедневно, каждые два дня, каждые три дня, каждые четыре дня, каждые пять дней, каждые шесть дней или один раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления как антитело к ИЛ-23p19, так и антитело к ФНО- α вводят ежедневно, каждые два дня, каждые три дня, каждые четыре дня, каждые пять дней, каждые шесть дней или один раз в неделю.

Антитело к ИЛ-23p19 и антитело к ФНО- α можно вводить субъекту (например, человеку) одновременно. В альтернативном варианте осуществления антитело к ИЛ-23p19 и антитело к ФНО- α можно вводить субъекту отдельно. При раздельном введении антитела можно вводить с интервалом три часа, шесть часов, двенадцать часов, один день, два дня, три дня или четыре дня.

В некоторых вариантах осуществления комбинация а) антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента и б) антитела к ФНО- α или антигенсвязывающего фрагмента эффективна для лечения субъекта, который ранее получал лечение только антителом к ФНО- α без существенной ремиссии воспалительного заболевания кишечника. В некоторых вариантах осуществления комбинация а) антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента и б) антитела к ФНО- α или антигенсвязывающего фрагмента эффективна для лечения субъекта, который ранее получал лечение только антителом к ИЛ-23p19 без существенной ремиссии воспалительного заболевания кишечника.

В другом аспекте минимально активную дозу антитела к ИЛ-23p19 можно вводить с большей дозой антитела к ФНО- α для предотвращения рецидива воспалительного заболевания кишечника (например, язвенного колита, колита неустановленной этиологии и/или болезни Крона), когда у субъекта отмечается ремиссия воспалительного заболевания кишечника. Отношение минимально активной дозы антитела к ИЛ-23p19 к большей дозе антитела к ФНО- α может находиться в диапазоне от 1 : 400 до 1 : 15 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 400 до 1 : 350

(масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 370 до 1 : 320 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 350 до 1 : 300 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 300 до 1 : 250 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 280 до 1 : 230 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 250 до 1 : 200 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 220 до 1 : 170 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 170 до 1 : 120 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 150 до 1 : 100 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 120 до 1 : 80 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 100 до 1 : 60 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 80 до 1 : 40 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 60 до 1 : 30 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 50 до 1 : 25 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 40 до 1 : 20 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет от 1 : 35 до 1 : 15 (масс./масс.). В некоторых вариантах осуществления соотношение антитела к ИЛ-23p19 и антитела к ФНО- α составляет примерно 1:400, 1:300, 1:200, 1:150, 1:100, 1:75, 1:50, 1:25 или 1:15 (масс./масс.).

В различных вариантах осуществления антитело к ИЛ-23p19 вводят ежедневно, каждые два дня, каждые три дня, каждые четыре дня, каждые пять дней, каждые шесть дней или один раз в неделю. В различных вариантах осуществления антитело к ФНО- α вводят ежедневно, каждые два дня, каждые три дня, каждые четыре дня, каждые пять дней, каждые шесть дней или один раз в неделю. В некоторых вариантах

осуществления как антитело к ИЛ-23p19, так и антитело к ФНО- α вводят ежедневно, каждые два дня, каждые три дня, каждые четыре дня, каждые пять дней, каждые шесть дней или один раз в неделю.

Антитело к ИЛ-23p19 и антитело к ФНО- α можно вводить субъекту
5 одновременно. В альтернативном варианте осуществления антитело к ИЛ-23p19 и антитело к ФНО- α можно вводить раздельно.

Лечение комбинацией антитела к ФНО- α (500 μ г/мышь) и минимально активной дозы антитела к ИЛ-23p19 может обеспечить превосходную эффективность в отношении предотвращения развития колита по сравнению с введением любого из
10 антител отдельно в тех же дозах. См., например, ПРИМЕР 5. Анализ сигнатур генов толстой кишки при данной комбинированной терапии в сравнении с монотерапией антителом к ФНО- α или антителом к ИЛ-23p19 позволил выявить уникальный набор генов, модулированных в результате комбинированной терапии, обогащенный фибробластами, а также организацию внеклеточного матрикса, типы клеток и пути,
15 влияющие на заживление. Этот новый вывод указывает на то, что комбинированное лечение с введением антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 может обеспечить превосходную эффективность при лечении колита и синдрома раздраженного кишечника. Кроме того, комбинированное лечение с введением антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 может иметь синергетические эффекты за счет модуляции
20 конкретных генных сетей, участвующих в заживлении слизистой оболочки.

Данные в Примере 5 демонстрируют, что комбинированная терапия антителами к ФНО- α и антителами к ИЛ-23p19 может обеспечивать превосходную защиту от колита по сравнению с лечением любым из антител в форме монотерапии. Колит может представлять собой острый колит. Без ограничений, накладываемых какой-либо
25 теорией, анализы транскриптомики и генной сети выявили как сходства, так и различия в эффективности на молекулярном уровне для каждого вида монотерапии, а также выявили уникальный набор генов, которые участвуют в процессе заживления ран и на которые влияет комбинированная терапия. В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что комбинированная терапия антителами к ФНО- α и
30 антителами к ИЛ-23p19 может оказывать синергетическое воздействие на ослабление воспаления кишечника. Синергетическое воздействие может возникать при направленном воздействии на обычные воспалительные пути. Синергетическое воздействие может возникать при лечении различных типов клеток, участвующих в

патогенезе ВЗК, при этом отмечается влияние на гены, участвующие в восстановлении тканей.

В некоторых вариантах осуществления комбинация а) антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента и б) антитела к ФНО- α или антигенсвязывающего фрагмента эффективна для лечения субъекта, который ранее получал лечение только антителом к ФНО- α без существенной ремиссии воспалительного заболевания кишечника. В некоторых вариантах осуществления комбинация а) антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента и б) антитела к ФНО- α или антигенсвязывающего фрагмента эффективна для лечения субъекта, который ранее получал лечение только антителом к ИЛ-23p19 без существенной ремиссии воспалительного заболевания кишечника.

Составы

В стабильных составах может присутствовать как антитело к ФНО- α , так и антитело к ИЛ-23 (например, антитело к ИЛ-23p19). Стабильные составы содержат фосфатный буфер с физиологическим раствором или выбранной солью, а также консервированные растворы и составы, содержащие консервант, а также консервированные составы для многократного применения, пригодные для фармацевтического или ветеринарного применения, содержащие по меньшей мере одно антитело к ИЛ-23 (например, антитело к ИЛ-23p19) в фармацевтически приемлемом составе. Консервированные составы могут содержать по меньшей мере один известный консервант или необязательно выбранный из группы, состоящей из по меньшей мере одного фенола, м-крезола, п-крезола, о-крезола, хлоркрезола, бензилового спирта, фенилртути нитрита, феноксиэтанола, формальдегида, хлорбутанола, хлорида магния (например, гексагидрата), алкилпарабена (метил-, этил-, пропил-, бутил- и т. п.), хлорида бензалкония, хлорида бензэтония, дегидроацетата натрия и тимеросала, полимеров или их смесей в водном разбавителе. Можно использовать любую подходящую концентрацию или смесь, например, примерно 0,0015%, или любой диапазон, значение или фракцию в этих пределах. Не имеющие ограничительного характера примеры включают отсутствие консервантов, примерно 0,1–2% м-крезола (например, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,9, 1,0%), примерно 0,1–3% бензилового спирта (например, 0,5, 0,9, 1,1, 1,5, 1,9, 2,0, 2,5%), примерно 0,001–0,5% тимеросала (например, 0,005, 0,01%), примерно 0,001–2,0% фенола (например, 0,05, 0,25, 0,28, 0,5,

0,9, 1,0%), 0,0005–1,0% алкилпарабена (-ов) (например, 0,00075, 0,0009, 0,001, 0,002, 0,005, 0,0075, 0,009, 0,01, 0,02, 0,05, 0,075, 0,09, 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 0,75, 0,9, 1,0%) и т. п.

Дополнительно водный разбавитель может содержать фармацевтически приемлемый консервант. Предпочтительные консерванты включают те, что выбраны из группы, состоящей из фенола, м-крезола, п-крезола, о-крезола, хлоркрезола, бензилового спирта, алкилпарабена (метил-, этил-, пропил-, бутил- и т. п.), хлорида бензалкония, хлорида бензэтония, дегидроацетата натрия и тимеросала, или их смесей. Концентрации консерванта, применяемой в составе, должно быть достаточно для обеспечения противомикробного действия. Такие концентрации зависят от выбранного консерванта, и квалифицированный специалист в данной области без труда определяет ее.

В разбавитель можно добавлять другие эксципиенты, например изотонические агенты, буферы, антиоксиданты и средства, усиливающие консервацию. Изотонические агенты, такие как глицерин, широко используют в известных концентрациях. Для улучшения контроля pH предпочтительно добавляют физиологически приемлемый буфер. Составы могут охватывать широкий диапазон pH, такой как от около pH 4 до около pH 10, с предпочтительным интервалом от около pH 5 до около pH 9 и наиболее предпочтительно от около pH 6,0 до около pH 8,0. Составы настоящего изобретения предпочтительно имеют pH от около 6,8 до около 7,8. Предпочтительные буферы включают фосфатные буферы, наиболее предпочтительно фосфат натрия, в частности фосфатно-солевой буфер (PBS).

Для уменьшения агрегации в составы или композиции можно добавлять другие добавки, такие как фармацевтически приемлемые солюбилизаторы, например твин-20 (полиоксиэтилен (20) сорбитанмонолаурат), твин-40 (полиоксиэтилен (20) сорбитанмонопальмитат), твин-80 (полиоксиэтилен (20) сорбитанмоноолеат), Pluronic F68 (блок-сополимеры полиоксиэтилена и полиоксипропилена) и ПЭГ (полиэтиленгликоль), или неионные поверхностно-активные вещества, такие как полисорбат 20 или 80, либо полуксамер 184 или 188, полиолы Pluronic®, другие блок-сополимеры, и хелатирующие вещества, такие как ЭДТА и ЭГТА. Эти добавки можно использовать, если для введения состава применяют насос или пластиковый контейнер. Наличие фармацевтически приемлемого поверхностно-активного вещества может снизить склонность белка к агрегации.

Составы настоящего изобретения можно получать способом, который включает смешивание по меньшей мере одного антитела к ИЛ-23 или антитела к ФНО- α и

выбранного буфера. Буфер может представлять собой фосфатный буфер, содержащий физиологический раствор или выбранную соль. Смешивание по меньшей мере одного антитела к ИЛ-23 и буфера в водном разбавителе осуществляют с помощью стандартных процедур растворения и смешивания. Например, чтобы получить приемлемый состав, отмеренное количество по меньшей мере одного антитела в воде или буфере соединяют с требуемым буферным агентом в воде в количествах, достаточных для получения требуемых концентраций белка и буфера. Варианты этого процесса понятны специалисту в данной области. Например, для оптимизации с учетом концентрации и применяемого способа введения можно изменять такие факторы, как порядок добавления компонентов, внесение дополнительных добавок, температура и рН, при которых получают состав.

Стабильные или консервированные составы, содержащие одно из антитела к ИЛ-23 или антитела к ФНО- α , либо оба антитела можно предоставлять пациентам в виде прозрачных растворов или двух флаконов, в том числе флакона с по меньшей мере одним лиофилизированным антителом к ФНО, которое разводят содержащимися во втором флаконе консервантом или буфером и эксципиентами в водном разбавителе. Либо один флакон с раствором, либо двойной флакон с составом, предполагающим смешивание, можно использовать многократно, и их достаточно для одного или множества циклов лечения пациента, что может быть более удобным по сравнению с существующим в настоящее время режимом лечения.

Для парентерального введения антитела к ИЛ-23 или антитела к ФНО- α лекарственная форма может представлять собой раствор, суспензию, эмульсию, частицу, порошок или лиофилизированный порошок вместе с фармацевтически приемлемым носителем для парентерального введения или отдельно от носителя. Примерами таких носителей являются вода, физиологический раствор, раствор Рингера, раствор глюкозы и человеческий сывороточный альбумин примерно 1–10%. Кроме того, можно применять липосомы и безводные среды, например нелетучие масла. Носитель или лиофилизированный порошок может содержать добавки, способствующие изотоничности (например, хлорид натрия, маннит) и химической стабильности (например, буферы и консерванты). Состав стерилизуют известными или приемлемыми методиками.

Приемлемые фармацевтические носители описаны в последнем издании Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol, которое является стандартным источником ссылок в данной области.

В соответствии с настоящим изобретением для введения фармацевтически эффективных количеств антитела к ИЛ-23 или антитела к ФНО- α можно применять множество известных и разработанных способов введения. Далее описано введение через легкие, однако в соответствии с настоящим изобретением можно также
5 применять другие способы введения, дающие приемлемые результаты. Антитела к ИЛ-23p19 настоящего изобретения можно доставлять в носителе в виде раствора, эмульсии, коллоида или суспензии, либо в виде сухого порошка с применением любого из множества устройств и способов, приемлемых для введения путем ингаляции или другими способами, описанными в настоящем документе или известными
10 специалистам в данной области.

Составы для парентерального введения могут содержать обычный эксципиент. Стандартные обычные эксципиенты включают, без ограничений, стерильную воду или физиологический раствор, полиалкиленгликоли, такие как полиэтиленгликоль, масла
15 растительного происхождения, гидрогенизированные нафталины и т. п. Водные или масляные суспензии для инъекций можно получать с использованием подходящего эмульгатора или увлажнителя и суспендирующего агента известными способами. Для инъекций можно использовать нетоксичный, пригодный для перорального введения, разбавляющий агент, например водный раствор, стерильный раствор для инъекций или суспензию в растворителе. В качестве пригодной несущей среды или растворителя
20 допустимо использовать воду, раствор Рингера, изотонический раствор и т. п.; в качестве обычного растворителя или суспендирующего растворителя можно использовать стерильное нелетучее масло. Для этого можно использовать нелетучее масло и жирную кислоту любого вида, включая природные или синтетические либо полусинтетические жирные масла или жирные кислоты; природные или синтетические
25 либо полусинтетические моно-, ди- или триглицериды.

Препараты для перорального применения могут включать одновременное введение вспомогательных веществ (например, резорцинов и неионных поверхностно-активных веществ, таких как полиоксиэтиленолеиловый эфир и н-гексадецилполиэтиленовый эфир) для искусственного увеличения проницаемости
30 стенок кишечника, а также одновременное введение ингибиторов ферментов (например, ингибиторов трипсина поджелудочной железы, диизопропилфторфосфата (DFF) и тразилола) для ингибирования ферментативного расщепления. Составы для доставки гидрофильных веществ, включая белки и антитела и комбинацию по меньшей мере двух поверхностно-активных веществ, предназначенных для перорального,

буккального, слизистого, назального, легочного, вагинального трансмембранного и ректального введения, описаны в патенте США №6,309,663. Активное составляющее твердой лекарственной формы для перорального введения можно смешивать с по меньшей мере одной добавкой, включая сахарозу, лактозу, целлюлозу, маннит, трегалозу, рафинозу, мальтит, декстран, крахмалы, агар, аргинаты, хитины, хитозаны, пектины, трагакантовую камедь, гуммиарабик, желатин, коллаген, казеин, альбумин, синтетический или полусинтетический полимер и глицерид. Эти лекарственные формы могут также содержать добавки другого (-их) типа (-ов), например неактивный разбавитель, смазывающее вещество, такое как стеарат магния, парабен, консервант, такой как сорбиновая кислота, аскорбиновая кислота, α -токоферол, антиоксидант, такой как цистеин, дезинтегратор, связующее вещество, загуститель, буферный агент, подсластитель, ароматизатор, отдушка и т. п.

Может потребоваться доставка соединения настоящего изобретения субъекту в течение длительных периодов времени, например в течение периодов от одной недели до одного года, путем однократного введения. Можно использовать различные лекарственные формы с медленным высвобождением, депо или имплантаты. Например, лекарственная форма может содержать фармацевтически приемлемую нетоксичную соль соединений, которая имеет низкую степень растворимости в физиологических жидкостях, например (а) соль присоединения кислоты с многоосновной кислотой, такой как фосфорная кислота, серная кислота, лимонная кислота, винная кислота, дубильная кислота, памовая кислота, альгиновая кислота, полиглутаминовая кислота, нафталинмоно-или дисульфоновая кислота, полигалактуриновая кислота и т. п.; (В) соль многовалентного катиона металла, например цинка, кальция, висмута, бария, магния, алюминия, меди, кобальта, никеля, кадмия и т. п., или с органическим катионом, образованным из, например, N,N'-дибензилэтилендиамином или этилендиамином; или (с) комбинации (а) и (b), например, соль таннат цинка. Кроме того, соединения настоящего изобретения или предпочтительно относительно нерастворимая соль, такая как описанные выше, могут быть получены в виде геля, например, геля моностеарата алюминия с, например, кунжутным маслом, приемлемого для инъекций. Особенно предпочтительными солями являются соли цинка, соли танната цинка, соли памоата цинка и т. п.

Примеры

Настоящее изобретение также описано, а его работа продемонстрирована с помощью следующих примеров. Однако использование этих и других примеров в любом месте описания является только иллюстративным и ни в коей мере не ограничивает объем и значение изобретения или любого приведенного термина. Аналогичным образом, изобретение не ограничено какими-либо конкретными предпочтительными вариантами осуществления, описанными в настоящем документе. Более того, после прочтения настоящего описания специалистам в данной области может быть очевидно существование множества модификаций и вариаций настоящего изобретения, и такие вариации могут быть осуществлены без отступления от настоящего изобретения как в отношении его сути, так и в отношении его объема. Таким образом, изобретение должно быть ограничено только прилагаемой формулой изобретения, а также полным объемом аналогичных модификаций, к которым относятся эти пункты формулы изобретения.

Пример 1. Определение диапазона доз для однократного лечения антителом к ФНО- α или антителом к ИЛ-23p19 и исследования их комбинации в модели колита, индуцированного антителом CD40

Было проведено три отдельных исследования. Во всех трех исследованиях животные были рандомизированы по массе, распределены по группам лечения и помечены конкретным числом от 1 до 10 для каждой группы. Лечение носителем (PBS) и мАт проводили в виде однократной внутрибрюшинной (в/б) инъекции за один день до (день -1) индуцирования заболевания путем инъекции 0,2 мг антитела-агониста CD40 в 0,2 мл PBS на одно животное в/б (день 0).

Интактные контрольные мыши не получали лечения и содержались в отдельной клетке до завершения исследования на 7-й день. Наблюдение за клиническими признаками заболевания проводили ежедневно. Массу тела измеряли и регистрировали ежедневно с дня -1 до прекращения исследования на 7-й день. После завершения исследования (день 7) животных умерщвляли, используя смертельную дозу CO₂, а ткани толстой кишки извлекали и обрабатывали соответствующим образом для гистологического анализа.

После эвтаназии толстую кишку, определяемую как сегмент кишечника между слепой кишкой и прямой кишкой, вырезали и промывали ледяным PBS для удаления фекалий. Один сантиметр проксимального отдела толстой кишки помещали в гистологические кассеты и погружали в фиксирующий раствор (10% нейтральный 5 буферный формалин [NBF]). Через 24 часа кассеты извлекали из фиксатора, переносили в 70% этанол и хранили в холодильнике до обработки. Оставшуюся ткань толстой кишки разделили на три равные части; первую треть заморозили в жидком азоте для ФК анализа; вторую треть заморозили в жидком азоте для анализа на цитокины, а последнюю треть (дистальную, располагавшуюся ближе к прямой кишке) 10 хранили в 1 мл раствора RNeasy (QiagenTM) на льду до умерщвления всех животных, после чего ткани были соответствующим образом извлечены из раствора, а затем заморожены для экстракции РНК и анализа экспрессии генов. Все замороженные образцы хранили при температуре -80°C до дальнейшей обработки.

Во всех трех исследованиях животные были рандомизированы по массе, 15 распределены по группам лечения и помечены конкретным числом от 1 до 10 для каждой группы. Лечение носителем (PBS) и мАт проводили в виде однократной внутрибрюшинной (в/б) инъекции за один день до (день -1) индуцирования заболевания путем инъекции 0,2 мг антитела-агониста CD40 в 0,2 мл PBS на одно животное в/б (день 0). Интактные контрольные мыши не получали лечения и 20 содержались в отдельной клетке до завершения исследования на 7-й день. Наблюдение за клиническими признаками заболевания проводили ежедневно. Массу тела измеряли и регистрировали ежедневно с дня -1 до прекращения исследования на 7-й день. Животных умерщвляли на день 7 используя смертельную дозу CO_2 , а ткани толстой кишки извлекали и обрабатывали соответствующим образом для гистологического 25 анализа.

В первом исследовании (исследование 1) антитело к ФНО- α или антитело к ИЛ-23p19 оценивали на модели колита с применением антитела к CD40. Эти антитела оценивали по отдельности в дозах 500 μg или 50 μg /мышь или в комбинации (т. е., 500 30 μg /мышь и 500 μg /мышь каждого антитела или 50 мкг/мышь + 50 μg /мышь, каждого антитела). Протокол обобщен в таблице 1 ниже.

Таблица 1. Оценка воздействия единичных антител к ФНО- α и ИЛ-23p19 по сравнению с их комбинацией (при равных высоких и низких дозах) в модели

колита с антителами к CD40/исследовании 1, ELN: Иммунофармакологическое исследование WC–2018–00034

Исследуемый препарат	Способ	Доза	Число животных
Наивные клетки		Нет	3
Носитель (PBS)	в/б	10 мл/кг, день –1	5
CNTO 6601	в/б	1000 мкг/мышь, день –1	9
CNTO 5048	в/б	50 мкг/мышь, день –1	9
CNTO 5048	в/б	500 мкг/мышь, день –1	9
CNTO 3723	в/б	50 мкг/мышь, день –1	9
CNTO 3723	в/б	500 мкг/мышь, день –1	9
CNTO 3723 + CNTO 5048	в/б	50 + 50 мкг/мышь, день –1	10
CNTO 3723 + CNTO 5048	в/б	500 + 500 мкг/мышь, день –1	10

5 CNTO 3723 представляет собой мышинное моноклональное антитело к ИЛ–23p19 (нейтрализующее мАт к ИЛ–23p19). CNTO 5048 представляет собой мышинное моноклональное антитело к ФНО– α (нейтрализующее мАт к ФНО– α). CNTO 6601 относится к изотипическому контролю, применяемому в ходе всех экспериментов. CNTO 6601 не связывает специфически ни ФНО– α , ни ИЛ–23p19.

10 Противовоспалительную активность при лечении антителами к ФНО– α и антителами к ИЛ–23p19, отдельно или в комбинации, оценивали в модели колита, индуцированного антителами к CD40. Лигирование рецептора CD40, применяемого для совместной стимуляции, через антитело-агонист вызывает острый врожденный системный и воспалительный ответ или воспалительный ответ со стороны толстой кишки у мышей RAG2^{-/-} с лимфопенией (с дефицитом Т-и В-клеток), причем пик
15 воспалительного ответа в толстом кишечнике наступает на 7-й день, после чего наблюдается разрешение симптомов (ELN, Иммунофармакологическое исследование WC–2015–00008). В данной модели ИЛ–23 вызывает локальное воспаление толстой кишки.

20 Несмотря на то, что экспрессия ФНО– α обеспечивает контроль проявлений системного заболевания (например, потери массы тела), ФНО– α оказывает лишь умеренное влияние на развитие колита. (1) Изобретатели стремились исследовать выраженное молекулярное воздействие антитела к ФНО– α по сравнению с лечением антителом к ИЛ–23p19 на экспрессию генов кишечника и определить, обеспечивает ли
25 комбинированное лечение антителом к ФНО– α и антителом к ИЛ–23p19 повышенную эффективность по сравнению с любой из монотерапий. На день –1 мышам RAG2^{-/-} один раз в сутки в/б вводили 0,5 мг или 0,05 мг антитела к ФНО– α (CNTO5048), 0,5 мг или

0,05 мг антитела к ИЛ-23p19 (CNT03732), комбинацию обоих антител (по 0,5 мг или 0,05 мг каждого), 1,0 мг антитела изотипического контроля (CNT06601) или PBS в концентрации 10 мл/кг. (Мыши RAG2^{-/-}, используемые во всех примерах настоящего изобретения, представляют собой самок мышей в возрасте 8–10 недель, предоставленных компанией Taconic Farms). На следующий день (день 0) всем животным вводили антитело к CD40 (0,2 мг) в/б для индуцирования воспаления.

Анализ потери массы тела проводили после введения низких (50 мкг) и высоких (500 мкг) доз антител. Массу тела отслеживали с дня -1, когда мышам вводили антитело или PBS, до прекращения введения на 7-й день.

Данные представлены на Фиг. 1А и 1Б. Каждая линия представляет собой среднее значение по группе с планками погрешностей для стандартной ошибки (n = 9, введение антитела; n = 5; контрольная группа, введение PBS; n = 3, интактные животные контрольной группы), показанные в виде процентного изменения относительно дня -1 (пунктирная линия). Некоторые планки погрешностей имеют размер символа и не отражены на рисунке. На Фиг. 1А показана низкая доза антитела (50 мкг/мышь), а на Фиг. 1Б показана высокая доза антитела (500 мкг/мышь). Статистическую значимость различий в потере массы тела между группами, получавшими антитела, и группой, получавшей изотипический контроль в качестве препарата сравнения, анализировали с помощью 2-факторного дисперсионного анализа с апостериорным критерием множественных сравнений Даннетта и р-значений для каждой точки времени. Р-значения, указывающие на значимость, выделены жирным шрифтом/курсивом. ELN: Иммунофармакологическое исследование WC-2018-00034, иммунофармакологическое исследование WC-2018-00033.

Модель колита, индуцированного мАт к CD40, характеризуется двухфазной потерей массы тела с начальной быстрой потерей массы тела в течение 24–48 часов после введения антитела-агониста CD40 с последующим восстановлением и второй фазой снижения потери массы тела с 5-го по 7-й день. Монотерапия антителом к ИЛ-23p19 (0,5 мг и 0,05 мг) не обеспечило защиту мышей от начальной быстрой потери массы тела, но способствовало более быстрому восстановлению после 2-го дня с общей дозозависимой частичной защитой от потери массы тела во время второй фазы заболевания, как показано на Фиг. 1А и 1Б.

Напротив, монотерапия антителом к ФНО-α (0,5 мг и 0,05 мг) полностью защищала мышей от потери массы тела на протяжении всего исследования при обеих дозах. Как и монотерапия только антителом к ФНО-α, комбинированное лечение

приводило к полной защите от потери массы тела при обеих дозах (Фиг. 1А и 1В). При использовании комбинации антител к ФНО- α /ИЛ-23p19 неблагоприятных эффектов не наблюдалось.

По завершении исследования (день 7) определяли гистопатологические показатели толстой кишки в группах, получавших антитела в низкой и высокой дозе. Проксимальные срезы толстой кишки окрашивали гематоксилином и эозином и исследовали на предмет гистопатологических изменений патологом в заслепленном режиме с оценкой тяжести от 0 до 20 в соответствии со следующим протоколом.

Для исследования проксимальных отделов толстой кишки делали срезы 2 (двух) их фрагментов, которые затем заливали в парафин. Срезы (5 мкм) разрезали и окрашивали гематоксилином и эозином (H&E). Два сегмента толстой кишки, полученные от каждого животного, оценивали по отдельности гистопатологически, а в групповом анализе использовали средние значения для каждого животного. Для каждого фрагмента, окрашенного гематоксилином и эозином, отек подслизистой оболочки оценивали количественно путем измерения толщины от мышечного слоя слизистой оболочки до внутренней границы наружного мышечного слоя в области нетангенциального сплетения мышечных волокон, которая, как считается, лучше всего отражает тяжесть такого изменения.

Оценка оценки воспаления отражала степень инфильтрации макрофагами, лимфоцитами и нейтрофилами (PMN). Оценку тяжести присваивали в соответствии со следующими критериями:

0 – здоровая ткань;

0,5 – незначительная степень; один или два маленьких участка — мононуклеарные воспалительные клетки (MNIC), вероятно, фоновые агрегаты лимфоидов слизистой оболочки. Однако, если агрегаты представляют собой пейеровы бляшки, то они не считаются патологией.

1 – минимальная степень; большой участок инфильтрации MNIC и нейтрофилами или минимальная диффузная, без разделения желез, в основном находит в области отека подслизистой или брыжейки

2 = легкая степень; диффузное легкое или мультифокальное поражение 11–25% слизистой оболочки с незначительным фокальным или мультифокальным разделением желез, без разделения в большинстве областей

3 – умеренная степень; поражение 26–50% слизистой оболочки с минимальным или легким местным разделением желез инфильтратом воспалительных клеток,

более легкая в остальных областях слизистой оболочки, причем некоторые области не имеют разделения желез из-за воспаления

4 – выраженная степень; поражение 51–75% слизистой оболочки с легким или умеренным разделением желез инфильтратом воспалительных клеток, при этом в остальных областях слизистой оболочки отмечается поражение минимальной или легкой степени,

но все железы отделяются инфильтратом

5 – тяжелая степень; поражение 76–100% слизистой оболочки с умеренным или выраженным разделением желез инфильтратом воспалительных клеток, при этом в остальных областях слизистой оболочки отмечается поражение легкой или умеренной степени.

Проводили оценку потери кишечных желез. Состояние эпителиальных крипт и остаточную потерю эпителиальных клеток желез оценивают на основании приблизительного расчета процента площади пораженной слизистой оболочки следующим образом:

0 = отсутствует

0,5 – незначительная степень; 1 или 2 маленькие фокальные зоны потери желез или эрозии слизистой оболочки

1 – минимальная степень; поражено 1–10% площади слизистой оболочки

2 – легкая степень, поражено 11–25% площади слизистой оболочки

3 – умеренная степень; поражено 26–50% площади слизистой оболочки

4 – выраженная степень; поражено 51–75% площади слизистой оболочки

5 – тяжелая степень; поражено 76–100% площади слизистой оболочки

Проводили оценку эрозии. Потерю поверхностного эпителия оценивали на основании приблизительного процента площади слизистой оболочки, на которую воздействовали способом, описанным ниже. Как правило, такая оценка связана с кровотечением в слизистой оболочке (которое отражает кровотечение, наблюдаемое клинически и при вскрытии):

0 = отсутствует

0,5 – незначительная степень; 1 или 2 маленькие фокальные зоны потери желез или эрозии слизистой оболочки

1 – минимальная степень; поражено 1–10% площади слизистой оболочки

- 2 – легкая степень, поражено 11–25% площади слизистой оболочки
- 3 – умеренная степень; поражено 26–50% площади слизистой оболочки
- 4 – выраженная степень; поражено 51–75% площади слизистой оболочки
- 5 – тяжелая степень; поражено 76–100% площади слизистой оболочки

5

Проводили оценку толщины слизистой оболочки и гиперплазии. Толщину слизистой оболочки оценивали путем измерения площади области нетангенциального сплетения мышечных волокон, которая лучше всего отражает толщину мышечного слоя. Этот параметр указывает на удлинение желез и гиперплазию слизистой оболочки.

10 Количество баллов для гиперплазии получают на основании результатов измерения следующим образом:

- 0 = ≤ 200 мкм = здоровая ткань
- 0,5 = 201–250 мкм = незначительная степень
- 1 = 251–350 мкм = минимальная степень
- 15 2 = 351–450 мкм = легкая степень
- 3 = 451–550 мкм = умеренная степень
- 4 = 551–650 мкм = выраженная
- 5 = > 650 мкм = тяжелая

20 Гистопатологическая оценка представляет собой сумму баллов воспаления, потери желез, эрозии и гиперплазии. Диапазон составляет от 0 до 20. Гистопатологическая оценка показана на Фиг. 2А и 2Б. На этих рисунках каждый столбик представляет собой среднее по группе со стандартной ошибкой. Гистопатологическое исследование не выявило отклонений у интактных животных. На 25 Фиг. 2А показана оценка при введении антитела в низкой дозе (50 мкг/мышь). На Фиг. 2Б представлены результаты для группы лечения высокой дозой антитела (500 мкг/мышь). Проводили анализ различий между экспериментальными группами и соответствующими контрольными группами (носитель и изотоп) для оценки значимости с помощью однофакторного дисперсионного анализа и критерия 30 множественных сравнений Сидака. ELN: Иммунофармакологическое исследование WC–2018–00034, иммунофармакологическое исследование WC–2018–00033.

Результаты лечения, проведенного с помощью изотипического антитела (1000 мкг/мышь), в проксимальном отделе толстой кишки демонстрировали тенденцию к снижению гистопатологических отклонений по сравнению с контрольной группой,

получавшей PBS, но это различие не достигло статистической значимости. Монотерапия антителом к ФНО- α значительно сокращала воспаление толстой кишки при высокой дозе (500 μ г, Фиг. 2Б) по сравнению с контрольной группой, получавшей изотипический контроль, однако этого не отмечалось при низкой дозе (50 μ г, Фиг. 2А).

5 Однократная доза антитела к ИЛ-23p19 была высокоэффективной при высокой дозе (500 μ г, Фиг. 2Б) и полностью предотвращала развитие колита. При низкой дозе (50 μ г, Фиг. 2А) монотерапия значительно снижала гистопатологические отклонения по сравнению с группой, получавшей изотипический контроль, но не полностью предотвращала развитие колита. Высокая доза комбинации обоих антител (500 μ г антитела к ФНО- α + 500 μ г антитела к ИЛ-23p19/мышь, Фиг. 2Б) полностью предотвращала развитие колита в модели заболевания, сходно с монотерапией антителом к ИЛ-23p19 в высокой дозе.

10 Комбинированное лечение низкой дозой (антитело к ФНО- α в дозе 50 μ г/мышь + антитело к ИЛ-23p19 50 μ г/мышь, Фиг. 2А) продемонстрировало значительно более выраженный эффект, чем при монотерапии антителом к ФНО- α , а также тенденцию к улучшенной защите по сравнению с монотерапией ИЛ-23p19. Это указывает на потенциально более высокую эффективность комбинированного лечения.

20 **Пример 2. Методы лечения с применением антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 влияют на уникальные гены в кишечнике**

25 Методы лечения с применением антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 демонстрируют различное влияние на параметры системного и локального воспаления. В данном примере была проведена оценка того, оказывают ли методы лечения из Примера 1 выше различные эффекты на экспрессию генов кишечника на молекулярном уровне. Для получения сигнатур генов кишечника из дистального отдела толстой кишки выделяли мРНК и подвергали образец микроматричному анализу.

30 Для экстракции РНК образцы ткани размораживали на льду и переносили в новые пробирки, содержащие 900 μ кл Qiazol (Qiagen) и одну металлическую накладку, с последующим лизированием с помощью гомогенизатора TissueLyser II для разрушения и гомогенизации ткани путем ее обработки в течение 1 мин с частотой 30 сек⁻¹. Для разделения смеси на органическую и водную фазы к каждому образцу добавляли 180 μ кл хлороформа, встряхивали в течение 30 секунд, инкубировали в течение двух минут при комнатной температуре и центрифугировали при 14000 об/мин

в течение 15 минут при 4 °C. 150 мкл водной фазы использовали для экстракции РНК с помощью 96-луночного планшета RNeasy (Qiagen), включая стадию расщепления дезоксирибонуклеазой на колонке в полном соответствии с протоколами производителя. Качество и количество выделенной РНК определяли с помощью спектрометра Nanodrop на приборе Nanodrop 8000 (ThermoScientific) и с помощью анализатора LabChip GX (DNA 5K/RNA/CZE Chip для использования с GXTouch/GXII Touch HT) на устройстве Caliper (Life Science) в соответствии с протоколами производителя. Для анализа на устройстве Caliper аликвоты РНК толстой кишки разводили сверхчистой водой в соотношении 1 : 4.

Для отбора образцов для проведения микроматричного анализа экспрессии генов использовали следующие критерии невключения. Поглощение 260/280 (соотношение белка и нуклеиновой кислоты), измеренное на спектрометре Nanodrop, должно быть выше 1,8. Поглощение 260/230 (соотношение соли и нуклеиновой кислоты), измеренное на спектрометре Nanodrop, должно стремиться к 2. Если степень поглощения 260/230, измеренного на спектрометре Nanodrop, была меньше 1,5, то проводили повторную очистку. Оценка чистоты РНК (RIN), измеренная с помощью анализатора Caliper, должна составлять 5–10. Если оценка менее 5, это может повлиять на точность микроматричного анализа. Для проведения микроматричного анализа РНК передали компании BioStorage Technologies (г. Индианаполис, штат Индиана, США).

Анализ дифференциальной экспрессии генов проводили путем сравнения эффекта при применении антитела к ФНО- α или антитела к ИЛ-23p19 с эффектом при применении изотипического контроля. Поскольку лечение путем введения или 50 мкг антитела к ИЛ-23p19, или 500 мкг антитела к ФНО- α по данным гистологического анализа приводило к аналогичной степени снижения воспаления (Фиг. 2), авторы изобретения выбрали эти сигнатуры экспрессии генов в толстой кишке для проведения дальнейшей оценки с целью сократить влияние потенциальных затрудняющих интерпретацию эффектов при дифференциальной экспрессии генов клеточных инфильтратов.

Сигнатуры генов мышей для каждого вида лечения оценивали на предмет перекрывания результатов и усиления эффекта в отношении обогащения биологическими путями (Enrichr: <http://amp.pharm.mssm.edu/Enrichr/>). Перекрывание отдельных сигнатур генов, полученных при лечении антителом к ФНО- α или антителом к ИЛ-23p19, было относительно небольшим, при этом лишь 11% генов были общими для этих сигнатур. Таким образом, специфического обогащения путей не

отмечалось. Сигнатура генов при лечении антителом к ФНО- α (267 генов, $FDR < 0,05$; $FC > 1,2$) была обогащена метаболическими путями и взаимодействиями цитокиновых рецепторов, тогда как сигнатура генов при лечении антителом к ИЛ-23p19 (765 генов, $FDR < 0,05$; $FC > 1,2$) была обогащена циркадным ритмом и сигнализацией p53.

5

Пример 3. Монотерапия антителом к ФНО- α и монотерапия антителом к ИЛ-23p19 влияет на перекрывающиеся и отличающиеся участки сетей при ВЗК человека

10 В результате совместной работы со Школой медицины на горе Синай (г. Нью-Йорк, штат Нью-Йорк, США) была создана прогнозная модель Байесовской сети для интегрирования транскрипционных и генетических данных, полученных из биоптатов кишечника в рамках клинического исследования болезни Крона CERTIFI (847 биоптатов от пациентов с ВЗК, 28 биоптатов от субъектов контрольной группы без ВЗК; 7 796 генных узлов). (7, 10) Данный тип молекулярной интегрирующей сети
15 обеспечивает основанную на данных сеть для изучения межгенных взаимодействий в контексте заболевания. Для преобразования сигнатур генов антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19, полученных в мышинных моделях колита, в клиническое заболевание, сигнатуры мышинных генов интегрировали в сеть генов человека с ВЗК.
20 Как указано выше, антитело к ИЛ-23p19 в дозе 50 μ г и антитело к ФНО- α в дозе 500 μ г были выбраны для оценки на основании сходного влияния на воспаление, выявленного гистологически.

Для передачи данных мышинной модели в сеть ВЗК человека сначала создали «гуманизированную» версию каждой сигнатуры гена лечения путем картирования мышинных генов с их ортологами человека (767 генов для антитела к ИЛ-23p19 и 274 гена для антитела к ФНО- α). Мышиные гены картировали с их ортологами человека с использованием базы данных NCBI HomoloGene (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/homologene>) (Build 68, 04/14/2014). Идентификатор
25 каждого гена NCBI для каждого мышинного гена соответствовал всем соответствующим идентификаторам человеческих генов, относящихся к тому же кластеру предполагаемых ортологов.
30

Элемент базы данных считали значимым, если его одностороннее значение точного Е-критерия Фишера (р-значение с корректировкой Бонферрони) составляло менее 0,05.

Для определения обогащения генов локусов при исследованиях ВЗК, ассоциированных с изучением всего генома (исследование GWAS) в подсетях генов был проведен гипергеометрический тест в Excel (функция HYPGEOM.DIST). Список генов, используемых для обогащения локусов при изучении ВЗК в исследовании GWAS, был взят из работы Jostins et al, *Nature* 2012(8) и Liu et al, *Nature Genetics* 2015(9).

Используя эти сигнатуры гуманизированных генов, анализ обогащения отдельных сигнатур лечения был расширен таким образом, чтобы захватить пути человека. Сигнатура генов для лечения антителом к ФНО- α была обогащена клеточным ответом на стресс, липидами, метаболизмом активных форм кислорода, генами воспалительного ответа и повышением экспрессии генов в биоптатах пациентов. Сигнатура лечения антителом к ИЛ-23p19 была обогащена клеточным метаболизмом, регуляцией пролиферации и снижением экспрессии генов экспрессии генов в биоптатах пациентов с ВЗК.

Затем эти гуманизированные сигнатуры генов картировали на байесовскую сеть CERTIFI и создавали подсети лечения с использованием инструмента визуализации, базирующегося на интернет-технологиях. Списки генов создали в виде текстовых файлов с разделителями табуляции и внесли в базу данных. Списки генов применяли к байесовской сети T26 для оценки всего кишечника (сеть CERTIFI (7)), а их первых соседей (гены в пределах 1 этапа от выбранного гена, в восходящем или нисходящем направлении) использовали для создания подсети.

Эти подсети по типу лечения содержат гены, модифицированные антителом к ФНО- α или антителом к ИЛ-23p19 в мышинной модели, которые отражаются в ткани человека с ВЗК и непосредственно в соседних с ними генах в сети. Таким образом, анализ обогащения этих подсетей может дать представление о биологических путях, нацеленных на каждое терапевтическое средство в контексте пораженной ткани человека.

На Фиг. 3А и 3Б показаны сигнатуры гуманизированного лечения при монотерапии антителом к ФНО- α или антителом к ИЛ-23p19 из модели мышинного колита, индуцированного антителами к CD40 и проецируемого на сеть CERTIFI экспрессии гена у пациентов с ВЗК. Для получения подсетей по типу лечения извлекали первых соседей генов в пределах сети пациентов с ВЗК. Перекрывание между генами, присутствующими в подсетях лечения антителом к ФНО- α и антителом к ИЛ-23p19, показано на диаграмме Венна в центре. Наибольший подключенный

компонент общей подсети лечения антителом к ФНО- α и антителом к ИЛ-23p19 показан на Фиг. 3Б.

Несмотря на то, что при анализе перекрывания исходных сигнатур генов не отмечалось обогащения специфическими биологическими путями, целевой анализ
 5 самого большого подключенного компонента подсети как для лечения антителом в ФНО- α , так и антителом к ИЛ-23p19 не выявил обогащения генов, регуляция которых нарушена в тканях пациентов с ВЗК, а также в локусах генов ВЗК в исследовании GWAS. Это указывает на то, что эффективность этих отдельных механизмов может
 10 быть частично опосредована направленным воздействием на общие основные пути воспаления. Перекрывание этих двух терапевтических подсетей было существенно обогащено локусами генов ВЗК в исследовании GWAS ($p = 0,001$) и генами с повышенной экспрессией в ткани пациентов с ВЗК (множественные сигнатуры; высшее Е-значение сигнатуры $7.25e-27$) (Фиг. 3). Уникальный участок подсети при лечении антителом к ФНО, был существенно обогащен сигнатурами генов нейтрофилов и
 15 макрофагов CD11b⁺ (Е-значения $8,28e-10$ и $2,41e-06$, соответственно), в то время как уникальный участок подсети при лечении антителом к ИЛ-23p19 был существенно обогащен эпителиальными клетками толстой кишки (Е-значение $1,27E-32$). Это согласуется с ролью ИЛ-23 в стимуляции экспрессии цитокинов, таких как ИЛ-17А и ИЛ-22, которые влияют на биологические показатели эпителиальных клеток.
 20 Относительное обогащение миелоидных клеток и эпителиальных клеток в уникальных областях сети при лечении антителом к ФНО- α и антителом к ИЛ-23p19, соответственно, позволило выдвинуть дополнительную гипотезу о том, что комбинированная терапия обоими антителами может обеспечить преимущество за счет направленного воздействия на различные типы клеток, участвующих в патогенезе ВЗК.
 25 В существенной степени аналогичные результаты наблюдались при проведении сетевых анализов того же типа с использованием сигнатур генов, полученных при лечении антителом к ФНО- α или антителом к ИЛ-23p19 в ортогональной мышинной модели воспаления кишечника (модель колита с переносом Т-клеток) (ELN: jperrigo-2016-00002). В совокупности эти сетевые анализы показывают, что механизмы
 30 действия антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 различаются, но при этом имеют схожие молекулярные драйверы воспаления кишечника.

Пример 4. Анализ расширенного диапазона доз при лечении антителами к ФНО- α и антителами к ИЛ-23p19 при колите, индуцированном антителами к CD40 (исследование 2)

5 Для обеспечения дополнительной оценки эффектов комбинированной терапии было проведено расширенное исследование ответа на дозу в модели колита, индуцированного антителом к CD40, для определения минимальной эффективной дозы для каждого вида антител. За один день до индукции заболевания агонистическим антителом к CD40 самкам мышей RAG2^{-/-} в/б вводили антитело к ИЛ-23p19 (CNTO 3723 в концентрации 50, 15, 5, 1,5, 0,5, 0,15 μ г/мышь), антитело к ФНО- α (CNTO 5048 в концентрации 150 μ г/мышь и 15 μ г/мышь) или контроль изотипа (50 μ г/мышь). Протокол обобщен в таблице 2 ниже.

15 **Таблица 2. Оценка более низкого диапазона доз для отдельных антител к ФНО- α и ИЛ-23p19 в модели колита CD40/исследовании 2, ELN: Иммунофармакологическое исследование WC-2016-00038**

Исследуемый препарат	Способ	Доза	Число животных
Наивные клетки		Нет	5
Носитель (PBS)	в/б	10 мл/кг, день -1	5
CNTO 6601	в/б	50 μ г/мышь, день -1	10
CNTO 3723	в/б	50 μ г/мышь, день -1	10
CNTO 3723	в/б	15 μ г/мышь, день -1	10
CNTO 3723	в/б	5 μ г/мышь, день -1	10
CNTO 3723	в/б	1,5 μ г/мышь, день -1	10
CNTO 3723	в/б	0,5 μ г/мышь, день -1	10
CNTO 3723	в/б	0,15 μ г/мышь, день -1	10
CNTO 5048	в/б	150 μ г/мышь, день -1	10
CNTO 5048	в/б	15 μ г/мышь, день -1	10

20 Массу тела отслеживали с дня -1, когда мышам вводили антитело или PBS, до прекращения введения на 7-й день. Данные приведены на Фиг. 4А-4Г. Каждая линия представляет среднее значение группы со стандартной ошибкой (n = 10; лечение антителом; n = 5; контрольная группа, введение PBS; n = 3, интактные животные контрольной группы), показанные в виде процентного изменения относительно дня -1 (пунктирная линия). В таблице показана значимость различий по сравнению с изотипической контрольной группой анализировали для каждой экспериментальной группы с помощью 2-факторного дисперсионного анализа с апостериорным критерием

множественных сравнений Даннетта и р-значений для каждой точки времени. р-значения, указывающие на значительные различия, выделены жирным шрифтом/курсивом. ELN: Иммунофармакологическое исследование WC-2016-00038, иммунофармакологическое исследование WC-2018-00033.

5 В группе изотипического контроля отмечалось частично значимое увеличение потери массы тела по сравнению с контрольной группой, получавшей носитель. Лечение антителом к ИЛ-23p19 показало частичную дозозависимую защиту от потери массы тела, начиная со 2-го дня при введении двух самых высоких доз (15, 50
10 мкг/мышь). Только при самой низкой дозе антитела к ИЛ-23p19 (0,15 мкг/мышь) защиты от потери массы тела не наблюдалась, как показано на Фиг. 4Б. Лечение антителом к ФНО- α полностью защищало от потери массы тела при более высокой дозе (150 мкг/мышь), но при более низкой дозе (15 мкг/мышь) отмечалась только частичная защита. См. Фиг. 4В.

15 Для определения диапазона доз гистопатологический анализ проксимального отдела толстой кишки после монотерапии антителами проводили следующим образом. По окончании (день 7) проксимальные срезы толстой кишки вынимали, промывали, фиксировали и затем окрашивали гематоксилином и эозином. Окрашенные образцы исследовались на предмет гистопатологических изменений патологом в заслепленном режиме с использованием оценки тяжести от 0 до 20 в соответствии с протоколом,
20 приведенном в Примере 1. Данные приведены на Фиг. 5А-В. Гистопатологическое исследование не выявило отклонений у интактных животных. Различия между группами, получавшими антитела, и соответствующими изотипическими контролями анализировали на значимость с помощью однофакторного дисперсионного анализа (критерия множественных сравнений Сидака). Линией показано медианное значение
25 для группы. ELN: Иммунофармакологическое исследование WC-2016-00038, иммунофармакологическое исследование WC-2018-00033.

Гистопатологическое исследование толстой кишки выявило дозозависимую защиту от колита при лечении антителами к ИЛ-23p19, как показано на Фиг. 5Б. При дозе 50 мкг/мышь введение антитела к ИЛ-23p19 обеспечивало почти полную защиту.
30 Частичную защиту обнаруживали при дозах антител 15 мкг и 5 мкг, а при дозах 1,5 мкг и ниже защиты не наблюдалось. Напротив, для двух уровней дозы антитела к ФНО- α (150, 15 мкг) значимых эффектов лечения на гистопатологические показатели толстой кишки обнаружено не было. См. Фиг. 5В. Эти результаты подтверждают, что

блокирование сигнализации ИЛ–23 в данной модели является высокоэффективным в отношении колита. Несмотря на эффективную защиту от системного воспаления (что подтверждается уменьшением потери массы тела), ингибирование ФНО– α , в данной модели обеспечивает лишь умеренную защиту от колита.

5

Пример 5. Определение противовоспалительной активности комбинации фиксированной дозы антитела к ФНО– α и различных доз антитела к ИЛ–23p19 в модели колита, индуцированного антителом к CD40 (исследование 3)

Исследование комбинации проводили на модели колита, индуцированного антителом к CD40, с использованием фиксированной дозы антитела к ФНО– α (500 μ г/мышь) в комбинации с различными дозами антитела к ИЛ–23p19 (1,5, 5, 25 μ г/мышь). Также оценка включала монотерапию соответствующими дозами антитела к ИЛ–23p19. Протокол обобщен в таблице 3 ниже.

Таблица 3. Оценка монотерапии высокими дозами антитела к ФНО– α и низкими дозами антитела к ИЛ–23p19 по сравнению с их комбинацией в модели колита, индуцированного антителом к CD40/исследовании 3, ELN: Иммунофармакологическое исследование WC–2016–00066

Исследуемый препарат	Способ	Доза	Число животных
Наивные клетки		Нет	5
Носитель (PBS)	в/б	10 мл/кг, день –1	10
CNTO 6601	в/б	525 μ г/мышь, день –1	10
CNTO 5048	в/б	500 μ г/мышь, день –1	10
CNTO 3723	в/б	1,5 μ г/мышь, день –1	10
CNTO 3723	в/б	5 μ г/мышь, день –1	10
CNTO 3723	в/б	25 μ г/мышь, день –1	10
CNTO 3723 + CNTO 5048	в/б	1,5+500 μ г/мышь, день –1	10
CNTO 3723 + CNTO 5048	в/б	5+500 μ г/мышь, день –1	10
CNTO 3723 + CNTO 5048	в/б	25+500 μ г/мышь, день –1	10

Анализ потери массы тела после монотерапии и комбинированного лечения высокой дозой антитела к ФНО– α и низкой дозой антитела к ИЛ–23p19 проводили следующим образом.

Массу тела отслеживали с дня –1, когда мышам вводили антитело (изотипический контроль: 525 μ г; антитело к ФНО– α : 500 μ г; антитело к ИЛ–23p19: 25,

5, 1,5 μ g) или PBS (10 мл/кг) до окончания лечения (7-й день). Данные показаны на Фиг. 6. Каждая линия представляет среднее значение по группе ($n = 10$; антитело и носитель; $n = 5$, интактные животные контрольной группы), показанные в виде процентного изменения относительно дня -1 (пунктирная линия). Значимость различий по сравнению с изотипической контрольной группой анализировали для каждой экспериментальной группы с помощью 2-факторного дисперсионного анализа с апостериорным критерием множественных сравнений Даннетта. Р-значения для каждого дня исследования приведены в таблице и выделены жирным шрифтом/курсивом, если они указывают на значимость. ELN: Иммунофармакологическое исследование WC-2016-00066, иммунофармакологическое исследование WC-2018-00033.

В соответствии с предыдущими исследованиями высокие дозы антитела к ФНО- α полностью защищали от потери массы тела, как показано на Фиг. 6Б. Напротив, монотерапия антителом к ИЛ-23p19 во всех дозах обеспечивала частичную защиту от потери массы тела, особенно на поздней фазе колита, индуцированного антителом к CD40. См. Фиг. 6В. Комбинация антитела к ФНО α и антитела к ИЛ-23p19 не обеспечила дополнительного обнаруживаемого преимущества в отношении уменьшения потери массы тела по сравнению с монотерапией (Фиг. 6Г). Без ограничений, накладываемых какой-либо теорией, этот эффект может быть обусловлен надежной эффективностью монотерапии антителом к ФНО- α в отношении этого параметра.

Гистопатологический анализ проксимального отдела толстой кишки проводили после монотерапии и комбинированного лечения высокими дозами антитела к ФНО- α и низкими дозами антитела к ИЛ-23p19. После завершения (7-й день) образцы проксимальной ткани толстой кишки извлекали, промывали, фиксировали, затем окрашивали гематоксилином и эозином и исследовали на предмет гистопатологических изменений патологом в заслепленном режиме с оценкой тяжести от 0 до 20 в соответствии с протоколом, приведенном в Примере 1 выше. Данные представлены на Фиг. 7А-7В. Гистопатологическое исследование не выявило отклонений у интактных животных. Различия между группами, получавшими антитела, и соответствующими изотипическими контролями анализировали на значимость с помощью однофакторного дисперсионного анализа (критерия множественных сравнений Сидака). Линией показано медианное значение для группы. ELN: Иммунофармакологическое

исследование WC–2016–00066, иммунофармакологическое исследование WC–2018–00033.

Как показано на Фиг. 7А-7В, антитело к ФНО- α (500 $\mu\text{г}/\text{мышь}$) не обеспечило существенной защиты толстой кишки от патологий, выявляемых при гистопатологическом исследовании, по сравнению с изотипическим контролем. Лечение антителом к ИЛ-23p19 (1,5, 5 и 25 $\mu\text{г}/\text{мышь}$) показало дозозависимую защиту от колита, при этом при самой низкой дозе (1,5 $\mu\text{г}/\text{мышь}$) защиты не наблюдалась. Частичную защиту от колита наблюдали при двух более высоких дозах (5 и 25 $\mu\text{г}/\text{мышь}$).

В связи с малым количеством антитела ИЛ-23p19, используемого для лечения, статистическую значимость для монотерапии антителом к ИЛ-23p19 рассчитывали по отношению к контрольной группе, получавшей носитель, но без учета результатов для высокой дозы (525 $\mu\text{г}/\text{мышь}$) изотипического контроля. Все комбинированные схемы лечения продемонстрировали существенную защиту от воспаления толстой кишки по сравнению с монотерапией антителом к ФНО- α . См. Фиг. 7А-7В. Следует отметить, что в случае самой низкой дозы комбинированного лечения, которое проходило оценку (антитело к ФНО- α в дозе 500 $\mu\text{г}/\text{мышь}$ + антитело к ИЛ-23p19 в дозе 1,5 $\mu\text{г}/\text{мышь}$), оба вида монотерапии не обеспечили какой-либо защиты от нарушений в толстой кишке, выявляемых при гистопатологическом исследовании, однако демонстрировали значительное улучшение гистопатологических показателей при введении в комбинации. См. Фиг. 7А. Непредвиденным открытием стало то, что относительно небольшое количество антитела к ИЛ-23p19 в комбинации с антителом к ФНО- α (например, в соотношении 1 : 333 (масс./масс.)) обеспечило наблюдаемое существенное улучшение гистопатологических показателей толстой кишки. Также непредвиденным открытием было то, что гистопатологические показатели толстой кишки, наблюдаемый в группе, получавшей антитело к ФНО- α в дозе 500 $\mu\text{г}/\text{мышь}$ + антитело к ИЛ-23p19 в дозе 1,5 $\mu\text{г}/\text{мышь}$, статистически не отличается от такового, наблюдаемого в группе изотипического контроля. Эти результаты показывают, что комбинированное лечение фиксированными высокими дозами мАт к ФНО- α и субоптимальной низкой дозой ИЛ-23p19 обеспечивает лучшую защиту по сравнению с монотерапией этими двумя антителами.

Пример 5. Комбинированное лечение антителом к ФНО- α и антителом к ИЛ-23p19 влияет на уникальную подсеть, обогащенную путями заживления ран

Проводилась оценка молекулярного воздействия комбинированной терапии антителом к ФНО- α и антителом к ИЛ-23p19 в сравнении с монотерапией.

5 Гуманизированные сигнатуры экспрессии генов в толстой кишке при монотерапии антителом к ФНО- α (500 μ г) или высокой дозой антитела к ИЛ-23p19 (25 μ г) перекрывались с сигнатурой экспрессии генов при комбинированной терапии (антитело к ФНО- α в дозе 500 μ г/антитело к ИЛ-23p19 в дозе 1,5 μ г) с целью определить, был ли молекулярный ответ на комбинированную терапию антителом к ФНО- α и низкой
10 дозой антитела к ИЛ-23p19 опосредованным или уникальным по сравнению с любой монотерапией.

Для лечения антителом к ИЛ-23p19 была выбрана доза 25 мкг с целью сравнить эффект комбинированного лечения антителом к ФНО- α с эффектом монотерапии антителом к ИЛ-23p19 в субоптимальной дозе, демонстрирующей эффективность в
15 модели.

Как и в исследовании 1, для каждой монотерапии и комбинированного лечения были созданы гуманизированные сигнатуры генов толстой кишки с целью оценки площади перекрывания сигнатур, генерации подсетей лечения и проведения анализов обогащения. Данные представлены на Фиг. 8 слева. Было обнаружено, что двести
20 двадцать генов регулируются уникально и избирательно после комбинированной терапии (500 μ г антитела к ФНО- α /1,5 мкг антитела к ИЛ-23p19) по сравнению с любой монотерапией (500 μ г антитела к ФНО- α или 25 μ г антитела к ИЛ-23p19). Эти гены применяли к байесовской сети для оценки всего кишечника (сеть CERTIFI). Самый большой подключенный компонент полученной индуцированной одноэтапной
25 подсети подвергли анализу обогащения, результаты которого представлены на Фиг. 8, справа. Сетевой анализ этих 220 генов позволил выявить уникальную подсеть (как показано на Фиг. 8) для комбинированного лечения, которая была обогащена фибробластами, организацию внеклеточного матрикса, типы клеток и пути, участвующие в заживлении ран и слизистой оболочки. Таким образом, лечение с
30 применением антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 может обеспечить дополнительное преимущество при использовании в комбинации путем направленного воздействия на общие и уникальные пути, связанные с заболеванием.

Пример 6. Клиническое исследование антитела к ФНО- α и антитела к ИЛ-23p19 в лечении ЯК

Рандомизированное двойное слепое многоцентровое клиническое исследование фазы 2a с активным контрольным препаратом с параллельными группами с целью оценки эффективности и безопасности комбинированной терапии гуселкумабом и голимумабом у участников с активным язвенным колитом умеренной или тяжелой степени

Гуселкумаб (CNTO 1959 или TREMFYA[®]) представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело лямбда иммуноглобулина G1 (мАт), которое с высокой специфичностью и аффинностью связывается с субъединицей p19 интерлейкина (ИЛ)-23 человека. Связывание гуселкумаба с ИЛ-23 блокирует связывание внеклеточного ИЛ-23 с рецептором ИЛ-23 на клеточной поверхности, тем самым ингибируя специфическую к ИЛ-23 внутриклеточную сигнализацию и последующую активацию и продукцию цитокинов. В настоящее время гуселкумаб одобрен в Соединенных Штатах Америки, Европейском союзе, Канаде и нескольких других странах для лечения бляшечного псориаза средней или тяжелой степени. Кроме того, во всем мире также проводят оценку эффективности гуселкумаба при псориатическом артрите (ПСА) и болезни Крона.

Голимумаб (CNTO 148 или SIMPONI[®]) представляет собой полностью человеческое мАт к фактору некроза опухоли альфа (ФНО- α), которое с высокой аффинностью связывается с ФНО- α . Это взаимодействие предотвращает связывание ФНО- α с его рецепторами, таким образом ингибируя биологическую активность ФНО- α . Голимумаб одобрен для лечения активного язвенного колита (ЯК) умеренной или тяжелой степени в более чем 90 странах во всем мире. Кроме того, голимумаб одобрен по 1 или более из следующих показаний по всему миру: ревматоидный артрит (РА), PsA, анкилозирующий спондилит (AS), нерADIOграфический аксиальный спондилоартрит (nr-Axial SpA) и полиартикулярный ювенильный идиопатический артрит (pJIA).

ЦЕЛИ И КОНЕЧНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Это исследование будет состоять из 2 отдельных фаз: фаза комбинированного сравнения продолжительностью 12 недель, за которой следует фаза монотерапии продолжительностью 26 недель.

Цели

Главные цели

Фаза сравнения комбинированного лечения

- Оценить клиническую эффективность комбинированной терапии гуселкумабом и голимумабом у участников с активным язвенным колитом умеренной или тяжелой степени.
- 5 • Оценить безопасность комбинированной терапии гуселкумабом и голимумабом у участников с активным язвенным колитом умеренной или тяжелой степени.

Вторичные цели**Фаза сравнения комбинированного лечения**

- 10 • Оценить влияние комбинированной терапии гуселкумабом и голимумабом на улучшение эндоскопических показателей.
- Оценить влияние комбинированной терапии гуселкумабом и голимумабом на качество жизни, связанное со специфическим для конкретного заболевания состоянием здоровья (HRQOL), включая усталость.
- 15 • Оценить эффективность комбинированной терапии гусцелиумабом и голимумабом по сигнатуре отрицательного ответа на исходном уровне.
- Оценить фармакокинетику (ФК), иммуногенность и фармакодинамику (ФД) комбинированной терапии с гуселкумабом и голимумабом, включая изменения уровня С-реактивного белка (СРБ), фекального кальпротектина и других биомаркеров ФД.

20 Фаза монотерапии

- Оценить клиническую эффективность комбинированной терапии с последующей монотерапией гуселкумабом.
- Оценить безопасность комбинированной терапии с последующей монотерапией гуселкумабом.
- 25 • Оценить эффект комбинированной терапии с последующей монотерапией гуселкумабом в форме улучшения эндоскопических показателей.
- Оценить влияние комбинированной терапии с последующей монотерапией гуселкумабом на качество жизни, связанное со специфическим для конкретного заболевания состоянием здоровья (HRQOL), включая усталость.
- 30 • Оценить эффективность комбинированной терапии с последующей монотерапией гуселкумабом по сигнатуре отрицательного ответа на исходном уровне.

- Оценить ФК, иммуногенность и ФД комбинированной терапии с последующей монотерапией гуселкумабом, включая изменения уровня СРБ, фекального кальпротектина и других биомаркеров ФД.

Поисковые цели

- 5
- Исследовать влияние комбинированной терапии на инструменты для сообщаемых пациентом результатов (PRO) (например, Бристольская шкала стула [BSFS] и общая оценка пациентом изменения тяжести ЯК [PGIC]).

Конечные показатели

Основной конечный показатель

- 10
- Клинический ответ на неделе 12 определяется как снижение относительно исходного уровня количества баллов по шкале Майо на $\geq 30\%$ и на ≥ 3 баллов с уменьшением относительно исходного уровня количества баллов по подшкале ректального кровотечения (RBS) на ≥ 1 балла или количеством баллов по подшкале RBS, равным 0 или 1.

Главный вторичный конечный показатель

- Клиническая ремиссия на неделе 12 определяется как количество баллов по шкале Майо ≤ 2 без оценки по какой-либо из отдельных подшкал > 1 .

Примечание. Можно рассматривать и другие определения ремиссии, которые будут полностью описаны в плане статистического анализа (SAP).

Гипотеза

При комбинированной терапии с использованием гуселкумаба и голимумаба частота клинического ответа на неделе 12 будет выше, чем в обеих группах монотерапии.

ОБЩИЙ ДИЗАЙН

- 25
- Это рандомизированное двойное слепое многоцентровое интервенционное клиническое исследование обоснованности концепции (POC) фазы 2a с активным контрольным препаратом с параллельными группами с целью оценки эффективности и безопасности комбинированной терапии гуселкумабом и голимумабом у взрослых с активным язвенным колитом умеренной или тяжелой степени. Целевой популяцией являются мужчины или женщины в возрасте от 18 до 65 лет с активным ЯК умеренной или тяжелой степени с количеством баллов по шкале Майо от 6 до 12 включительно, включая балл по эндоскопической подшкале ≥ 2 согласно данным, полученным при централизованной оценке видеоэндоскопии. Участие могут принять пациенты, которые
- 30

не принимали антагонисты ФНО, не проходили традиционную терапию пероральными или внутривенными кортикостероидами или иммуномодуляторами (6-меркаптопурин [6-MP] или азатиоприн [AZA]).

Прием иммуномодуляторов (6-MP, AZA и метотрексата [MTX]) необходимо
5 прекратить по меньшей мере за 2 недели до приема первой дозы исследуемого
препарата. Для участников, принимающих пероральные кортикостероиды на исходном
уровне, исследователь должен назначить суточную дозу кортикостероидов на 6-й
неделе. В течение всего исследования все участники будут проходить оценку на
предмет клинического ухудшения симптомов ЯК. В целом, дозы сопутствующих
10 терапевтических средств для лечения ЯК не должны меняться до недели 38 (за
исключением приема пероральных кортикостероидов, начиная с недели 6), а также не
следует начинать прием сопутствующих лекарственных препаратов для лечения ЯК,
если исследователь считает, что их прием необязателен с медицинской точки зрения. В
случае приема запрещенных препаратов пациент будет исключен и не будет
15 продолжать исследуемое лечение.

Плановая эндоскопия с оценкой центрального эксперта будет проводить во
время скрининга/на исходном уровне, на 12-й неделе и на 38-й неделе. Участники,
подписавшие согласие, пройдут дополнительное эндоскопическое обследование на 4-й
неделе, которое также будет оцениваться центральным экспертом. Оценка параметров
20 эффективности, ФК и ФД, уровня биомаркеров и безопасности будет проводиться в
соответствии с графиком мероприятий (SoA). Образец крови для фармакогеномного
исследования будет взят у участников, которые подписали согласие для прохождения
этого исследования согласно протоколу (в случаях, когда это позволяют местные
нормативные требования). Участие в фармакогеномном исследовании является
25 необязательным.

Предполагается, что промежуточный анализ поможет в прогнозировании
клинического развития заболевания. Заккрытие базы данных (DBLE) запланировано на
12-й и 38-й неделях, а окончательное закрытие базы данных планируется после
завершения визита последующего наблюдения для оценки безопасности всеми
30 участниками. Для данного исследования будет рассмотрено создание Независимого
комитета по мониторингу данных (DMC).

КОЛИЧЕСТВО УЧАСТНИКОВ

В данное исследование будут включено целевое количество участников,
составляющее 210 субъектов, по 70 участников в каждой группе лечения.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ГРУППЫ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ

Это исследование будет состоять из 2 отдельных фаз: фаза комбинированного сравнения продолжительностью 12 недель, за которой следует фаза монотерапии продолжительностью 26 недель. На неделе 0 целевое количество участников, составляющее 210 субъектов, будет рандомизировано в соотношении 1 : 1 : 1 для получения комбинированной терапии гуселкумабом и голимумабом, монотерапии гуселкумабом или монотерапии голимумабом с одновременной стратификацией по сопутствующему применению кортикостероидов на исходном уровне (Да/Нет). После 12-й недели участники, рандомизированные в группу комбинированной терапии, будут получать монотерапию гуселкумабом. Участники, рандомизированные в группу монотерапии, продолжают курс монотерапии, рандомизированно назначенной на исходном уровне, после 12-й недели. Для облегчения научной интерпретации результатов в группе комбинированной терапии будут использоваться те же схемы дозирования гуселкумаба и голимумаба, что и в группах соответствующей монотерапии. Ниже приведено описание 3 экспериментальных групп:

- **Комбинированная терапия:** гуселкумаб в дозе 200 мг в/в и голимумаб в дозе 200 мг подкожно (п/к) на неделе 0; голимумаб в дозе 100 мг п/к на 2-й, 6-й и 10-й неделях; гуселкумаб дозе 200 мг в/в на 4-й и 8-й неделях с последующим введением гуселкумаба в дозе 100 мг п/к 1 р/8 нед.
- **Монотерапия гуселкумабом:** гуселкумаб в дозе 200 мг в/в на 0 неделе и 4-й и 8-й неделях с последующим введением гуселкумаба в дозе 100 мг п/к 1 р/8 нед.
- **Монотерапия голимумабом:** голимумаб в дозе 200 мг п/к на неделе 0 с последующим введением голимумаба в дозе 100 мг на 2-й неделе, а затем введением голимумаба в дозе 100 мг каждые 4 недели (1 р/4 нед.)

Кроме того, при необходимости будет вводиться плацебо (в/в или п/к) с целью сохранения заслепленного режима на протяжении всего исследования.

Общая продолжительность участия составит до 58 недель (скрининг: до 8 недель; продолжительность лечения: 38 недель [12 недель для фазы сравнения комбинированного лечения; 26 недель для фазы монотерапии]; последующее наблюдение для оценки безопасности: приблизительно 16 недель после введения последней дозы исследуемого препарата 34-й неделе). Исследование будет считаться окончанным после того, как последний участник завершит заключительный визит последующего наблюдения для оценки безопасности.

ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ (конечные точки)

Оценка эффективности будет включать следующее:

- Количества баллов по шкале Майо и количество баллов по частичной шкале Майо
- Эндоскопический показатель тяжести язвенного колита (UCEIS)
- 5 • ФД маркеры воспаления, включая маркеры СРБ и фекальный калпротектин
- Сообщаемые пациентом результаты для оценки качества жизни, связанного со специфическим для конкретного заболевания состоянием здоровья (HRQOL), а также усталости (т. е., согласно опроснику по определению качества жизни пациентов с воспалительным заболеванием кишечника [IBDQ], цифровой рейтинговой шкале боли из 29 пунктов [PROMIS-29] и краткому опроснику по оценке усталости из 7 пунктов [7a])
- 10 • Поисковые сообщаемые пациентом показатели симптома, включая шкалу BSFS и шкалу PGIC при ЯК тяжелой степени.

ДРУГИЕ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ (конечные точки)

- 15 Оценка эффективности будет включать следующее:

Фаза сравнения комбинаций (т. е., до недели 12)

- Заживление, выявленное в ходе эндоскопии на неделе 12 (количество баллов 0 или 1 по эндоскопической подшкале Майо).
- Эндоскопически подтвержденная нормализация внешнего вида слизистой оболочки (количество баллов 0 по эндоскопической подшкале Майо).
- 20 • Излечение по данным гистологии на 12-й неделе.
- Заживление слизистой оболочки на 12-й неделе (эндоскопически подтвержденное заживление по шкале Майо и гистологически подтвержденное заживление).
- Изменение относительно исходного общего балла согласно опроснику по определению качества жизни пациентов с воспалительным заболеванием кишечника (шкала IBDQ) на 6-й и 12-й неделях.
- 25 • Улучшение по более чем 20 пунктам по шкале IBDQ на 6-й и 12-й неделях.
- Изменение относительно исходного уровня по 7 пунктам и 29 пунктам цифровой рейтинговой шкалы боли на основании анкеты в рамках клинического исследования (PROMIS) с оценками результатов, полученных от пациента, на 6-й и
- 30 12-й неделях.

- Ответ на пункт относительно утомляемости на 6-й и 12-й неделях (на основании краткой формы 7а для оценки утомляемости в рамках анкеты PROMIS; требует определения в SAP).
- 5 • Клиническая реакция, клиническая ремиссия и заживление по данным эндоскопии на неделе 12 по состоянию отрицательной сигнатуры ответа на исходном уровне.
- Изменение относительно исходного уровня количества баллов по шкале Майо на 12-й неделе.
- Изменение относительно исходного уровня количества баллов по частичной шкале Майо на 12-й неделе.
- 10 • Изменение относительно исходного уровня CRP до 12-й недели.
- Изменение концентрации фекального кальпротектина относительно исходного уровня до 12-й недели.
- Нормализация концентрации СРБ на 12-й неделе среди участников с не соответствующей норме концентрацией СРБ на исходном уровне.
- 15 • Нормализация концентрации фекального кальпротектина на 12-й неделе среди участников с не соответствующей норме концентрацией фекального кальпротектина на исходном уровне.
- Индекс тяжести язвенного колита (UCEIS) на 0 и 12 неделях согласно эндоскопически подтвержденному уровню по шкале Майо при соответствующем визите.
- 20 • Изменение относительно исходного уровня количества баллов по шкале UCEIS на 12-й неделе.
- Оценка по шкале UCEIS ≤ 4 на 12-й неделе.
- Визиты в отделение неотложной помощи, связанные с ЯК, госпитализации и хирургические вмешательства до 12-й недели.
- 25

Фаза монотерапии (т. е., после недели 12)

- Клиническая ремиссия на 38-й неделе.
- Клинический ответ на 38-й неделе.
- Поддержание клинического эффекта на 38-й неделе среди участников, которые достигли клинического ответа на 12-й неделе.
- 30 • Заживление по данным эндоскопии на 38-й неделе.
- Нормализация внешнего вида слизистой оболочки по данным эндоскопии на 38-й неделе.

- Излечение по данным гистологии на 38-й неделе.
 - Заживление слизистой оболочки по данным эндоскопии на 38-й неделе;
 - Клиническая ремиссия и отсутствие сопутствующего приема кортикостероидов на 38-й неделе;
- 5
- Поддержание клинической ремиссии на 38-й неделе среди участников, которые достигли клинического ответа на 12-й неделе.
 - Изменение относительно исходного общего балла согласно шкале IBDQ на 24-й и 38-й неделях.
 - Улучшение по более чем 20 пунктам по шкале IBDQ на 24-й и 38-й неделях.
- 10
- Изменение относительно исходного уровня по 7 пунктам и по 29 пунктам цифровой рейтинговой шкалы боли (PROMIS) на 24-й и 38-й неделях.
 - Ответ на пункт относительно утомляемости на 24-й и 38-й неделях.
 - Клиническая реакция, клиническая ремиссия и заживление по данным эндоскопии на неделе 38 по состоянию отрицательной сигнатуры ответа на исходном уровне.
- 15
- Изменение относительно исходного уровня количества баллов по шкале Майо на 38-й неделе.
 - Изменение относительно исходного уровня количества баллов по частичной шкале Майо на 38-й неделе.
 - Изменение относительно исходного уровня СРБ до 38-й недели.
- 20
- Изменение концентрации фекального кальпротектина относительно исходного уровня до 38-й недели.
 - Нормализация концентрации СРБ на 38-й неделе среди участников с не соответствующей норме концентрацией СРБ на исходном уровне.
 - Нормализация концентрации фекального кальпротектина на 38-й неделе среди
- 25
- участников с не соответствующей норме концентрацией фекального кальпротектина на исходном уровне.
 - Оценка по шкале UCEIS на 38-й неделе согласно эндоскопически подтвержденному уровню по шкале Майо на 38-й неделе.
 - Изменение относительно исходного уровня количества баллов по шкале UCEIS на
- 30
- 38-й неделе.
 - Оценка по шкале UCEIS ≤ 4 на 38-й неделе.

- Визиты в отделение неотложной помощи, связанные с ЯК, госпитализации и хирургические вмешательства до 38-й недели.

Поисковые конечные показатели

- Зависимость оценки по шкале BSFS от времени.
- 5 • Распределение баллов по шкале PGIC для степени тяжести ЯК в динамике.

ОЦЕНКИ ПО ФАРМАКОКИНЕТИКЕ И ИММУНОГЕННОСТИ

Образцы сыворотки будут проанализированы для определения концентраций гуселкумаба и голимумаба и выявления антител к гуселкумабу и голимумабу, соответственно, с помощью прошедших валидацию, специфических и чувствительных

10 способов иммуноанализа спонсором или под его наблюдением.

ОЦЕНКИ ФАРМАКОДИНАМИКИ И УРОВНЯ БИОМАРКЕРОВ

Будут проведены оценки уровня биомаркеров для изучения биологического ответа на лечение и идентификации биомаркеров, которые относятся к лечению ЯК гуселкумабом и/или голимумабом. Оценки будут включать оценку уровня

15 соответствующих биомаркеров в образцах сыворотки, кала, цельной крови и биоптатов слизистой оболочки (выявление РНК [рибонуклеиновой кислоты], гистологическое исследование и выделение одиночных клеток).

ОЦЕНКА ФАРМАКОГЕНОМИКИ (ДНК)

Будут собраны образцы цельной крови объемом примерно 5 мл для

20 исследования фармакогеномики (если это согласуется с местными стандартами и правилами) для генетических анализов, как указано в SoA. Отбор образцов цельной крови, собранных для изучения дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), будет проводиться только среди участников, подписавших форму согласия для участия в генетической оценке. Участие в фармакогеномном подисследовании является

25 необязательным.

ОЦЕНКИ БЕЗОПАСНОСТИ

Мероприятия по оценке безопасности, проводимые при каждом визите в рамках исследования, будут включать в себя оценку нежелательных явлений (НЯ, во время визита и между визитами), оценку на наличие туберкулеза (ТВ) и другой инфекции,

30 клинические лабораторные анализы крови (общий и биохимический анализ), измерение основных показателей жизнедеятельности, оценка суицидальных наклонностей, пересмотр сопутствующих лекарственных препаратов, наблюдение за реакциями в

месте введения, а также оценку реакций, время возникновения которого не исключает связи с инфузией, и/или оценку реакции гиперчувствительности.

СТАТИСТИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ

Определение размера выборки

5 Размер выборки, составляющий 210 участников (по 70 субъектов в каждой экспериментальной группе) определяли на основании статистической мощности для обнаружения существенного различия в доле участников в отношении клинического ответа на 12-й неделе (первичная конечная точка) между группами комбинированной терапии и двумя группами монотерапий с использованием одностороннего критерия хи-квадрат с уровнем значимости 0,1 для каждого сравнения. Исследование проводили
10 таким образом, чтобы статистическая мощность комбинированной терапии составляла примерно 80% на основании данных, полученных в моделях, для сравнения комбинированной терапии с монотерапией в отношении первичной конечной точки. Предполагается, что доля участников с клиническим ответом на 12-й неделе составит
15 75% для группы комбинированной терапии, что опосредовано суммарным эффектом обеих монотерапий (улучшение на 20% в каждой группе монотерапии по сравнению с предыдущим ответом на плацебо, который отмечался у 35% участников).

Анализ эффективности

20 Все рандомизированные участники, которые получили по меньшей мере 1 дозу исследуемого препарата, будут включены в анализы эффективности. Таким образом, участников будут анализировать в соответствии с группой лечения, в которую они были рандомизированы, независимо от полученного ими лечения.

25 Для тестирования первичной конечной точки будут сравнивать показатель эффективности комбинированной терапии с показателем эффективности для каждого вида монотерапии. Для обоих статистических сравнений в качестве первичной конечной точки будет использоваться критерий Кохрана-Мантеля-Гензеля хи-квадрат (CMH) с одновременной стратификацией по сопутствующему применению
30 кортикостероидов на исходном уровне (Да/Нет). Испытание будет проводиться одновременно с оценкой 1-стороннего уровня значимости 0,1 для каждого сравнения. Результат исследования будет считаться положительным, если данные в группе комбинированной терапии будут существенно отличаться от данных в обеих группах монотерапии при оценке первичной конечной точки.

Если результат обоих исследований первичной конечной точки является положительным, то для сравнения эффективности комбинированной терапии и каждой

из монотерапий относительно основной вторичной конечной точки будет использоваться критерий Кохрана-Мантеля-Гензеля (СМН) хи-квадрат (1-сторонний) с одновременной стратификацией по применению кортикостероидов на исходном уровне (Да/Нет). Испытание будет проводиться одновременно с оценкой 1-стороннего уровня

5 значимости 0,1 для каждого сравнения.

Анализы для других конечных точек эффективности будут проводиться без внесения корректировок для множественных сравнений, а приведенные р-значения будут номинальными.

Анализы безопасности

10 Сводные данные по безопасности, включая, без ограничений, НЯ, серьезные нежелательные явления (СНЯ), инфекции, серьезные инфекции, изменения лабораторных показателей и изменения в основных показателях жизнедеятельности. Связанные с лечением НА будут обобщены по группам лечения и согласно Медицинскому словарю терминологии для регуляторной деятельности (MedDRA), а

15 также по предпочтительным терминам.

Прочие виды анализов

Фармакокинетические анализы

Для каждой группы лечения в динамике будут суммироваться сывороточные концентрации гуселкумаба и голимумаба с использованием описательной статистики.

20 При необходимости можно создать популяционную ФК модель. Если такие анализы популяционной ФК были проведены, то результаты этих анализов будут представлены в отдельном отчете.

Анализы иммуногенности

Частота появления антител к гуселкумабу и голимумабу будет обобщенно

25 представлена для всех участников, получивших по меньшей мере 1 дозу исследуемого препарата и имеющих подходящие образцы для определения антител к гуселкумабу и голимумабу (т. е. для участников, у которых по меньшей мере 1 проба была получена после введения первой дозы гуселкумаба или голимумаба, соответственно).

Фармакокинетический/фармакодинамический анализы

30 Взаимосвязь между концентрациями гуселкумаба и голимумаба в сыворотке и мерами эффективности и/или уровню соответствующего(-их) биомаркера(-ов) при необходимости можно исследовать графически. В случае необходимости можно провести дополнительный анализ.

Анализы биомаркеров

Изменения в анализе сывороточного белка, уровнях фекальных биомаркеров, результатах биопсии, а также данные по РНК цельной крови, полученные в динамике, будут обобщены по экспериментальным группам. Будут изучены взаимосвязи между исходными и изменившимися уровнями отдельных маркеров и ответов на лечение.

5 Анализ уровня биомаркеров будет обобщен в отдельном техническом отчете.

Фармакогеномные анализы

10 Генетические (ДНК) анализы будут проводиться только у участников, подписавших форму согласия для участия в фармакогеномном подисследовании. Эти анализы считаются поисковыми, и их результаты будут обобщены в отдельном техническом отчете.

Клинические результаты

15 Исследуемая популяция включала 214 рандомизированных участников с умеренно-тяжелым активным ЯК (~ 70 в группе). Исследуемая популяция включает участников, ранее не получавших ФНО, которые не смогли или не перенесли стандартную терапию пероральными или внутривенными (в/в) кортикостероидами или иммуномодуляторами (6-MP или AZA). Исследование включало 12 недель комбинированной индукции, а затем 26 недель поддерживающей монотерапии. Комбинированные индукционные дозы гуселкумаба (GUS) 200 мг внутривенно на 0, 4 и 8 неделе и голимумаба (GOL) 200 мг подкожно (п/к) на 0 неделе с последующим
20 введением 100 мг подкожно на 2, 6 и 10 неделе. После комбинированной индукции проводилась монотерапия GUS 100 мг подкожно каждые 8 дней. Те же режимы дозирования, что и выше, используются для групп монотерапии GUS и GOL соответственно.

Первичные и основные вторичные конечные точки

25 Первичная конечная точка клинического ответа на неделе 12 определяется как снижение относительно исходного уровня количества баллов по шкале Майо на $\geq 30\%$ и на ≥ 3 баллов с уменьшением относительно исходного уровня количества баллов по суббаллу ректального кровотечения (RBS) на ≥ 1 балла или количеством баллов по суббаллу RBS, равным 0 или 1. Основной вторичной конечной точкой была
30 клиническая ремиссия на 12-й неделе, определяемая как оценка по баллу Майо < 2 без индивидуального суббалла > 1 . Включены другие конечные точки эффективности (выберите конечные точки с отмеченными доступными данными): (i) эндоскопическое заживление на 12-й неделе (эндоскопический суббалл Майо 0 или 1), (ii) нормализация эндоскопического внешнего вида слизистой оболочки (эндоскопический суббалл Майо

0), (iii) изменение балла Майо по сравнению с исходным уровнем на 12-й неделе, (iv) изменение частичного балла Майо по сравнению с исходным уровнем до 12-й недели, (v) изменение СРБ по сравнению с исходным уровнем до 12-й недели, (vi) изменение фекального кальпротектина по сравнению с исходным уровнем до 12-й недели и нормализация СРБ на 12-й неделе среди участников с аномальными концентрациями СРБ на исходном уровне (то же самое для фекального кальпротектина).

Балл Майо включен в различные определения клинического ответа и ремиссии и рассчитывается как сумма 4 суббаллов (частота стула, ректальное кровотечение [RBS], эндоскопия и общая оценка врача). Клинический ответ определяется как снижение по сравнению с исходным уровнем балла Майо $>30\%$ и >3 баллов, с уменьшением по сравнению с исходным уровнем суббалла ректального кровотечения (RBS) >1 или RBS 0 или 1. Клиническая ремиссия определяется как балл Майо <2 без индивидуального суббалла >1 . Клиническая ремиссия (определение органа здравоохранения) определяется как суббалл частоты стула 0 или 1, RBS 0 и суббалл эндоскопии 0 или 1 при отсутствии рыхлости при эндоскопии, где суббалл частоты стула не увеличился по сравнению с исходным уровнем. Симптоматическая ремиссия определяется как 0 баллов или 1 балл по суббалу частоты стула Майо и 0 баллов по суббаллу RBS. Эндоскопическое заживление (т. е. улучшение эндоскопического вида слизистой оболочки) определяется как суббалл эндоскопии, равный 0 или 1. Эндоскопическое заживление будет оцениваться на основании наличия рыхлости, когда наблюдается суббалл эндоскопии 1.

Выводы

12-недельные и 24-недельные данные показаны в таблицах 4–18 ниже. Эти данные свидетельствуют о том, что комбинированная терапия превосходит любую монотерапию. Частота клинической ремиссии по определению органа здравоохранения (более строгое) и эндоскопического заживления на 12-й неделе была почти вдвое выше при комбинированной терапии, чем при любой монотерапии. При комбинированной терапии наблюдалось быстрое улучшение многих параметров. В контексте других доступных в настоящее время передовых методов лечения в аналогичных биологически наивных популяциях комбинированная терапия обеспечивает численно более высокую частоту клинической ремиссии после индукции (с многочисленными предостережениями относительно сравнения между исследованиями). На момент анализа комбинированная терапия имеет приемлемый профиль безопасности.

Таблица 4 – Сводка демографических данных на исходном уровне; Основная выборка для анализа (CNT01959UCO2002)

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинирован- ная терапия	В общей сумме
N, Основная выборка для анализа	72	71	71	214
Средний возраст (SD), лет	38,1 (10,47)	39,1 (13,67)	37,8 (11,69)	38,4 (11,96)
Пол, n (%)				
Женщины	30 (41,7%)	31 (43,7%)	37 (52,1%)	98 (45,8%)
Мужчины	42 (58,3%)	40 (56,3%)	34 (47,9%)	116 (54,2%)
Расовая принадлежность, европеиды, n (%)	67 (93,1%)	71 (100,0%)	70 (98,6%)	208 (97,2%)
Этническая принадлежность, не латиноамериканец, n (%)	68 (94,4%)	65 (91,5%)	66 (93,0%)	199 (93,0%)
Регион ^a n (%)				
Восточная Европа ^a	61 (84,7%)	58 (81,7%)	60 (84,5%)	179 (83,6%)
Латинская Америка	4 (5,6%)	6 (8,5%)	7 (9,9%)	17 (7,9%)
Другие страны	7 (9,7%)	7 (9,9%)	4 (5,6%)	18 (8,4%)
Средняя масса (SD), кг	73,9 (17,11)	69,6 (16,72)	69,8 (18,79)	71,1 (17,59)
Средний ИМТ (SD), кг/м ²	25,0 (5,07)	23,5 (4,71)	23,5 (5,05)	24,0 (4,97)
^a Восточная Европа Польша, Россия, Украина; Латинская Америка: Аргентина, Мексика, Бразилия; Другие страны: США, Германия, Австралия				

Таблица 5 – Краткое описание характеристик заболевания ЯК на исходном уровне (балл Майо); Основная выборка для анализа (CNT01959UCO2002)

5

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинирован- ная терапия	В общей сумме
N	72	71	71	214
Продолжительность ЯК, лет (среднее [SD])	4,7 (4,48)	5,4 (5,70)	4,6 (4,61)	4,9 (4,95)
Балл Майо (0-12) (средний [SD])	8,7 (1,44)	8,9 (1,33)	8,8 (1,37)	8,8 (1,38)
Балл Майо (0-9) (средний [SD])	6,2 (1,24)	6,3 (1,21)	6,2 (1,13)	6,2 (1,19)
Тяжесть ЯК, n (%)				
Умеренно активный (6 ≤ баллов по шкале Майо ≤ 10)	63 (87,5%)	64 (90,1%)	62 (87,3%)	189 (88,3%)
Высокоактивный (балл по Майо > 10)	9 (12,5%)	7 (9,9%)	9 (12,7%)	25 (11,7%)
Суббалл эндоскопии Майо (0-3), n (%)				
Суббалл 2 (умеренная)	35 (48,6%)	24 (33,8%)	28 (39,4%)	87 (40,7%)
Суббалл 3 (тяжелая)	37 (51,4%)	47 (66,2%)	43 (60,6%)	127 (59,3%)
Суббалл частоты стула Майо (0-3), n (%)				
Суббалл 1	12 (16,7%)	7 (9,9%)	8 (11,3%)	27 (12,6%)
Суббалл 2	27 (37,5%)	31 (43,7%)	24 (33,8%)	82 (38,3%)
Суббалл 3	33 (45,8%)	33 (46,4%)	39 (54,9%)	105 (49,1%)

Таблица 6 – Количество участников с клиническим ответом на 12-й неделе (первичная конечная точка); основная выборка для анализа (CNT01959UCO2002)

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия
N	72	71	71
Участники с клиническим ответом ^{a, b, c}	44 (61,1%)	53 (74,6%)	59 (83,1%)
Скорректированная разница результатов лечения (80 % 2-сторонний CI) ^d	22,1 (12,9, 31,3)	8,5 (-0,2, 17,1)	
p-значение ^e	0,003	0,215	

^a Клинический ответ определяется как снижение относительно исходного уровня количества баллов по шкале Майо на $\geq 30\%$ и на ≥ 3 баллов с уменьшением относительно исходного уровня количества баллов по подшкале ректального кровотечения на ≥ 1 балла или количеством баллов по подшкале ректального кровотечения, равным 0 или 1.

^b Участники, перенесшие интеркуррентное событие (наложение стомы или колэктомии (частичную или тотальную), прекращение исследуемого лечения из-за отсутствия терапевтического эффекта или из-за НЯ в виде ухудшения течения ЯК, запрещенное протоколом изменение сопутствующего(их) лекарственного средства против ЯК, прекращение исследуемого лечения по причинам, отличным от отсутствия эффективности или нежелательного явления в виде ухудшения ЯК, смерть) до визита на 12-й неделе считались не достигшими клинического ответа на 12-й неделе.

^c После учета интеркуррентных событий участники, у которых отсутствуют какие-либо или все суббаллы Майо на 12-й неделе, будут считаться не достигшими клинического ответа на 12-й неделе.

^d Доверительные интервалы для разницы в лечении доли участников, достигших клинического ответа между комбинированной терапией и каждой монотерапией, были основаны на статистике Вальда.

^e Значения p были основаны на одностороннем тесте Кохрана-Мантеля-Хензеля (CMH), стратифицированном по сопутствующему применению кортикостероидов на исходном уровне (да/нет).

Таблица 7 - Количество участников в клинической ремиссии на 12-й неделе;
5 основная выборка для анализа (CNT01959UCO2002)

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия
N	72	71	71
Участники в клинической ремиссии ^{a, b, c}	16 (22,2%)	15 (21,1%)	26 (36,6%)
Скорректированная разница результатов лечения (80 % 2-сторонний CI) ^d	14,5 (4,9, 24,0)	15,5 (6,0, 25,0)	
p-значение ^e	0,058	0,041	

^a Клиническая ремиссия определяется как балл Майо ≤ 2 без индивидуального суббалла >1 .

10 ^b Участники, перенесшие интеркуррентное событие (наложение стомы или колэктомии (частичную или тотальную), прекращение исследуемого лечения из-за отсутствия терапевтического эффекта или из-за НЯ в виде ухудшения течения ЯК, запрещенное протоколом изменение сопутствующего(их) лекарственного средства против ЯК, прекращение исследуемого лечения по причинам, отличным от отсутствия эффективности или нежелательного явления в виде ухудшения ЯК, смерть) до визита на 12-й неделе считались не достигшими клинической ремиссии на 12-й неделе.

15

^c После учета интеркуррентных событий участники, у которых отсутствуют какие-либо или все суббаллы Майо, будут считаться не достигшими клинической ремиссии на 12-й неделе.

5 ^d Доверительные интервалы для разницы в лечении доли участников, достигших клинической ремиссии между комбинированной терапией и каждой монотерапией, были основаны на статистике Вальда.

^e Значения *p* были основаны на одностороннем тесте Кохрана-Мантеля-Хензеля (СМН), стратифицированном по сопутствующему применению кортикостероидов на исходном уровне (да/нет).

10

Таблица 8 – Количество участников с эндоскопическим заживлением на 12 неделе; Основная выборка для анализа (CNT01959UCO2002)

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия
N	72	71	71
Участники с эндоскопическим заживлением ^{a, b, c}	18 (25,0%)	21 (29,6%)	35 (49,3%)
Скорректированная разница результатов лечения (80 % 2-сторонний CI) ^d	24,4 (14,5, 34,3)	19,7 (9,6, 29,9)	
<i>p</i> -значение ^e	0,003	0,016	

^a Эндоскопическое заживление определяется как суббалл эндоскопии 0 или 1.

^b Участники, перенесшие интеркуррентное событие (наложение стомы или колэктомия (частичную или тотальную), прекращение исследуемого лечения из-за отсутствия терапевтического эффекта или из-за НЯ в виде ухудшения течения ЯК, запрещенное протоколом изменение сопутствующего(их) лекарственного средства против ЯК, прекращение исследуемого лечения по причинам, отличным от отсутствия эффективности или нежелательного явления в виде ухудшения ЯК, смерть) до визита на 12-й неделе считались не достигшими эндоскопического заживления на 12-й неделе.

^c После учета интеркуррентных событий считалось, что участники, у которых отсутствовал суббалл эндоскопии на 12-й неделе, не достигли эндоскопического заживления на 12-й неделе.

^d Доверительные интервалы для разницы в лечении доли участников, достигших эндоскопического заживления между комбинированной терапией и каждой монотерапией, были основаны на статистике Вальда.

^e Значения *p* были основаны на одностороннем тесте Кохрана-Мантеля-Хензеля (СМН), стратифицированном по сопутствующему применению кортикостероидов на исходном уровне (да/нет).

Таблица 9 - Количество участников с ответом согласно модифицированной шкале Майо на 12-й неделе; основная выборка для анализа (CNT01959UCO2002)

15

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия
N ^a	42	43	41
Участники с ответом согласно модифицированной шкале Майо ^{b, c, d}	24 (57,1%)	28 (65,1%)	33 (80,5%)
Скорректированная разница результатов лечения (80 % 2-сторонний CI) ^e	23,1 (10,8, 35,4)	15,4 (3,1, 27,6)	
<i>p</i> -значение ^f	0,023	0,119	

^a Промежуточные данные от подмножества участников.

^b Ответ согласно модифицированной шкале Майо определяется как снижение по сравнению с исходным уровнем балла по модифицированной шкале Майо на ≥ 2 и ≥ 30 % плюс снижение суббалла ректального кровотечения на ≥ 1 или абсолютного суббалла ректального кровотечения на ≤ 1 . Число баллов по модифицированной шкале Майо, которая представляет собой шкалу Майо без подшкалы PGA, рассчитывают как сумму баллов по подшкалам частоты стула, ректального кровотечения и результатов эндоскопии, и оно может находиться в диапазоне от 0 до 9.

^c Участники, перенесшие интеркуррентное событие (наложение стомы или колэктомия (частичную или тотальную), прекращение исследуемого лечения по причинам, отличным от отсутствия эффективности или нежелательного явления в виде ухудшения ЖК, запрещенное протоколом изменение сопутствующего(их) лекарственного средства против ЖК, прекращение исследуемого лечения по причинам, отличным от отсутствия эффективности или нежелательного явления в виде ухудшения ЖК, смерть) до визита на 12-й неделе считались не достигшими ответа по шкале Майо на 12-й неделе.

^d После учета интеркуррентных событий участники, у которых отсутствуют какие-либо или все суббаллы Майо, которые ухудшают модифицированную оценку Майо (т. е. частота стула, ректальное кровотечение и суббаллы эндоскопии), будут считаться не достигшими ответа по модифицированной шкале Майо на 12-й неделе.

^e Доверительные интервалы для разницы в лечении доли участников, достигших ответа по модифицированной шкале Майо между комбинированной терапией и каждой монотерапией, были основаны на статистике Вальда.

^f Значения p были основаны на одностороннем тесте Кохрана-Мантеля-Хензеля (СМН), стратифицированном по сопутствующему применению кортикостероидов на исходном уровне (да/нет).

Таблица 10 – Количество участников в клинической ремиссии по определению органов здравоохранения на 12-й неделе; основная выборка для анализа (CNT01959UCO2002)

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия
N	72	71	71
Участники в клинической ремиссии по определению органов здравоохранения ^{a,b,c}	18 (25,0%)	17 (23,9%)	33 (46,5%)

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия
Скорректированная разница результатов лечения (80 % 2-сторонний CI) ^d	21,6 (11,7, 31,4)	22,5 (12,7, 32,4)	
p-значение ^e	0,007	0,005	

Клиническая ремиссия, определение органа здравоохранения, определяется как суббалл ректальных кровотечений 0 или 1, RBS 0 и суббалл эндоскопии 0 или 1 при отсутствии рыхлости при эндоскопии, где суббалл частоты стула не увеличился по сравнению с исходным уровнем.

^b Участники, перенесшие интеркуррентное событие (наложение стомы или колэктомии (частичную или тотальную), прекращение исследуемого лечения из-за отсутствия терапевтического эффекта или из-за НЯ в виде ухудшения течения ЯК, запрещенное протоколом изменение сопутствующего(их) лекарственного средства против ЯК, прекращение исследуемого лечения по причинам, отличным от отсутствия эффективности или нежелательного явления в виде ухудшения ЯК, смерти) до визита на 12-й неделе считались не достигшими клинической ремиссии по определению органа здравоохранения на 12-й неделе.

^c После учета интеркуррентных событий участники, у которых отсутствуют какие-либо или все компоненты клинической ремиссии по определению органов здравоохранения на 12-й неделе, будут считаться не достигшими клинической ремиссии по определению Управления здравоохранения на 12-й неделе.

^d Доверительные интервалы для разницы в лечении доли участников, достигших клинической ремиссии по определению органа здравоохранения между комбинированной терапией и каждой монотерапией, были основаны на статистике Вальда.

^e Значения p были основаны на одностороннем тесте Кохрана-Мантеля-Хензеля (CMH), стратифицированном по сопутствующему применению кортикостероидов на исходном уровне (да/нет).

Таблица 11 - Обобщенная информация по возникшим в ходе лечения нежелательным явлениям на 12 неделе; основная выборка для анализа (CNTO1959UCO2002)

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия
N, Основная выборка для анализа	72	71	71
Средняя продолжительность последующего наблюдения (недели)	12,0	12,1	12,4
Средний уровень воздействия (количество введений) ^a	5,8	5,8	5,9
Участники с ≥ 1 , n (%)			
Нежелательные явления (НЯ)	38 (52,8%)	31 (43,7%)	29 (40,8%)
Серьезные НЯ (СНЯ)	1 (1,4%)	2 (2,8%)	1 (1,4%)
НЯ, приведшие к прекращению исследуемого вмешательства	3 (4,2%)	1 (1,4%)	2 (2,8%)
Инфекция	16 (22,2%)	10 (14,1%)	10 (14,1%)
Серьезная инфекция ^b	0	0	1 (1,4%)
НЯ, приведшие к смерти	0	0	0
Одно или более НЯ, связанных с инфекцией COVID-19	0	0	1 (1,4%)

Обозначения: НЯ = нежелательное явление, сред. = среднее.

Примечание. Участников, перенесших любое конкретное явление, учитывают только один раз независимо от количества случаев, когда они фактически перенесли это явление. Нежелательные явления закодированы с помощью MedDRA, версия 21.1.

^a Среднее количество посещений, когда проводилось исследуемое вмешательство.

^b Инфекция по оценке исследователя.

Таблица 12 – Сводная информация о нежелательных явлениях, возникших в результате лечения, в течение 12 недель по системно-органным классам MedDRA и предпочтительным терминам; Основная выборка для анализа (CNT01959UCO2002)

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия
Выборка для анализа ^a : Основная выборка для анализа	42	43	41
Средняя продолжительность последующего наблюдения (недели)	12,1	12,1	12,2
Средний уровень воздействия (количество введений) ^b	6,0	6,0	6,0
Субъекты с 1 или более НЯ	21 (50,0%)	22 (51,2%)	14 (34,1%)
Система MedDRA – системно- органный класс/предпочтительный термин			
Инфекции и инвазии	10 (23,8%)	9 (20,9%)	5 (12,2%)
Назофарингит	3 (7,1%)	2 (4,7%)	2 (4,9%)
Грибковая кожная инфекция	0	0	1 (2,4%)
Грипп	1 (2,4%)	1 (2,3%)	1 (2,4%)
Фарингит	0	0	1 (2,4%)
Сыпь гнойничковая	0	0	1 (2,4%)
Сепсис	0	0	1 (2,4%)
Инфекция верхних дыхательных путей	2 (4,8%)	3 (7,0%)	1 (2,4%)
Амебиаз	1 (2,4%)	0	0
Бронхит	1 (2,4%)	0	0
Опоясывающий герпес	1 (2,4%)	0	0
Импетиго	0	1 (2,3%)	0
Инфекция дыхательных путей	0	1 (2,3%)	0
Ринит	1 (2,4%)	0	0
Трахит	0	2 (4,7%)	0
Заболевания кровеносной и лимфатической системы	5 (11,9%)	7 (16,3%)	4 (9,8%)
Анемия	3 (7,1%)	4 (9,3%)	2 (4,9%)
Железодефицитная анемия	0	0	1 (2,4%)
Лейкопения	1 (2,4%)	2 (4,7%)	1 (2,4%)
Нейтропения	0	4 (9,3%)	1 (2,4%)
Лимфопения	2 (4,8%)	0	0
Заболевания желудочно- кишечного тракта	5 (11,9%)	6 (14,0%)	4 (9,8%)
Язвенный колит	5 (11,9%)	1 (2,3%)	2 (4,9%)
Боль в животе	0	0	1 (2,4%)
Боли в верхней части живота	0	1 (2,3%)	1 (2,4%)
Кровотечение из десны	0	0	1 (2,4%)
Геморрой	0	0	1 (2,4%)
Тошнота	0	1 (2,3%)	1 (2,4%)
Рвота	0	1 (2,3%)	1 (2,4%)
Зубной кариес	0	1 (2,3%)	0

	Монотерапия голимуабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия
Диспепсия	0	1 (2,3%)	0
Гипестезия полости рта	0	1 (2,3%)	0
Непроходимость тонкого кишечника	0	1 (2,3%)	0
Общие заболевания и реакции в месте введения	2 (4,8%)	1 (2,3%)	2 (4,9%)
Эритема в месте инъекции	0	0	1 (2,4%)
Боль в грудной клетке, не связанная с сердцем	0	0	1 (2,4%)
Утомляемость	1 (2,4%)	0	0
Припухлость в месте инъекции	0	1 (2,3%)	0
Пирексия	1 (2,4%)	0	0
Заболевания нервной системы	2 (4,8%)	4 (9,3%)	2 (4,9%)
Головная боль	1 (2,4%)	1 (2,3%)	1 (2,4%)
Предобморочное состояние	0	0	1 (2,4%)
Головокружение	0	1 (2,3%)	0
Дисгевзия	0	1 (2,3%)	0
Сонливость	1 (2,4%)	1 (2,3%)	0
Заболевания кожи и подкожной ткани	0	0	2 (4,9%)
Аллергический дерматит	0	0	1 (2,4%)
Гангренозная пиодермия	0	0	1 (2,4%)
Эндокринные расстройства	0	0	1 (2,4%)
Надпочечниковая недостаточность	0	0	1 (2,4%)
Нарушения со стороны иммунной системы	0	1 (2,3%)	1 (2,4%)
Сезонная аллергия	0	0	1 (2,4%)
Гиперчувствительность к лекарственным препаратам	0	1 (2,3%)	0
Заболевания скелетно- мышечной и соединительнотканной систем	2 (4,8%)	2 (4,7%)	1 (2,4%)
Артралгия	1 (2,4%)	0	1 (2,4%)
Боль в спине	0	1 (2,3%)	0
Костные боли	1 (2,4%)	0	0
Мышечные спазмы	0	1 (2,3%)	0
Миалгия	1 (2,4%)	0	0
Остеоартрит	1 (2,4%)	0	0
Заболевания психики	0	0	1 (2,4%)
Ночной кошмар	0	0	1 (2,4%)
Заболевания репродуктивной системы и молочных желез	0	0	1 (2,4%)
Эндометриоз	0	0	1 (2,4%)
Заболевания сердца	0	1 (2,3%)	0
Фибрилляция предсердий	0	1 (2,3%)	0
Заболевания зрения	0	1 (2,3%)	0
Гиперемия глаза	0	1 (2,3%)	0
Заболевания печени и желчевыводящих путей	1 (2,4%)	0	0
Склерозирующий холангит	1 (2,4%)	0	0
Травмы, отравления и процедурные осложнения	1 (2,4%)	1 (2,3%)	0
Ушиб	0	1 (2,3%)	0
Травма головы	1 (2,4%)	0	0

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия
Лабораторные исследования	1 (2,4%)	4 (9,3%)	0
Повышение аланинаминотрансферазы	1 (2,4%)	0	0
Повышение аспартатаминотрансферазы	1 (2,4%)	0	0
Повышенный уровень щелочной фосфатазы в крови	0	1 (2,3%)	0
Повышенное артериальное давление	0	1 (2,3%)	0
Повышенные печеночные ферменты	0	1 (2,3%)	0
Повышенные уровни трансаминаз	0	1 (2,3%)	0
Расстройство метаболизма и питания	0	1 (2,3%)	0
Гипофосфатемия	0	1 (2,3%)	0
Заболевания органов дыхания, грудной клетки и средостения	1 (2,4%)	1 (2,3%)	0
Кашель	1 (2,4%)	0	0
Боль в ротоглотке	0	1 (2,3%)	0

Обозначения: НЯ = нежелательное явление, сред. = среднее.

Примечание. Участников, перенесших любое конкретное явление, учитывают только один раз независимо от количества случаев, когда они фактически перенесли это явление.

Нежелательные явления закодированы с помощью MedDRA, версия 21.1.

^a Промежуточные данные от подмножества участников.

^b Среднее количество посещений, когда проводилось исследуемое вмешательство.

5 Таблица 13 - Количество участников с нежелательными явлениями, возникшими в связи с лечением, которые привели к прекращению исследуемого вмешательства в течение 12 недель, по системно-органным классам MedDRA и предпочтительным терминам; основная выборка для анализа (CNT01959UCO2002)

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия
Выборка для анализа ^a : Основная выборка для анализа	42	43	41
Средняя продолжительност ь последующего наблюдения (недели)	12,1	12,1	12,2
Средний уровень воздействия (количество введений) ^b	6,0	6,0	6,0

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия
Участники с нежелательными явлениями, возникшими на фоне лечения, которые привели к прекращению исследуемого вмешательства.	2 (4,8%)	1 (2,3%)	2 (4,9%)
Система MedDRA – системно-органный класс/предпочтительный термин			
Заболевания желудочно-кишечного тракта	2 (4,8%)	1 (2,3%)	2 (4,9%)
Язвенный колит	2 (4,8%)	0	2 (4,9%)
Непроходимость тонкого кишечника	0	1 (2,3%)	0

Обозначения: Средн. = среднее значение

Примечание. Участников, перенесших любое конкретное явление, учитывают только один раз независимо от количества случаев, когда они фактически перенесли это явление. Нежелательные явления закодированы с помощью MedDRA, версия 21.1.

^a Промежуточные данные от подмножества участников.

^b Среднее количество посещений, когда проводилось исследуемое вмешательство.

Таблица 14 – Количество участников с 1 или более серьезными инфекциями, возникшими после лечения, в течение 12-й недели в разбивке по системно-органному классам MedDRA и предпочтительным терминам; Основная выборка для анализа (CNT01959UCO2002)

5

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия
Выборка для анализа ^a : Основная выборка для анализа	42	43	41
Средняя продолжительность последующего наблюдения (недели)	12,1	12,1	12,2
Средний уровень воздействия (количество введений) ^b	6,0	6,0	6,0
Участники с 1 или более НЯ в виде тяжелой инфекции ^c	0	0	1 (2,4%)

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия
Система MedDRA – системно-органный класс/предпочтительный термин			
Инфекции и инвазии	0	0	1 (2,4%)
Грипп	0	0	1 (2,4%)
Сепсис	0	0	1 (2,4%)

Обозначения: Средн. = среднее значение

Примечание. Участников, перенесших любое конкретное явление, учитывают только один раз независимо от количества случаев, когда они фактически перенесли это явление. Нежелательные явления закодированы с помощью MedDRA, версия 21.1.

^a Промежуточные данные от подмножества участников.

^b Среднее количество посещений, когда проводилось исследуемое вмешательство.

^c Серьезная инфекция по оценке исследователя.

Таблица 15 - Обобщенная информация по возникшим в ходе лечения нежелательным явлениям на 24 неделе; Полная выборка для анализа (CNT01959UCO2002)

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия ^d
Выборка для анализа ^a : полная выборка для анализа	55	55	58
Средняя продолжительность последующего наблюдения (недели)	19,3	19,6	18,5
Средний уровень воздействия (количество введений) ^b	8,9	9,1	8,4
Субъекты с 1 или более НЯ	31 (56,4%)	29 (52,7%)	28 (48,3%)
Субъекты с 1 или более серьезными НЯ	2 (3,6%)	2 (3,6%)	2 (3,4%)
Участники с 1 или более НЯ, приведшими к прекращению исследуемого вмешательства	3 (5,5%)	1 (1,8%)	5 (8,6%)
Участники с 1 или более НЯ в виде инфекции ^c	15 (27,3%)	12 (21,8%)	11 (19,0%)

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия ^d
Участники с 1 или более НЯ в виде тяжелой инфекции ^c	0	0	2 (3,4%)

Обозначения: НЯ = нежелательное явление, сред. = среднее.

Примечание. Участников, перенесших любое конкретное явление, учитывают только один раз независимо от количества случаев, когда они фактически перенесли это явление. Нежелательные явления закодированы с помощью MedDRA, версия 21.1.

^a Промежуточные данные от подмножества участников.

^b Среднее количество посещений, когда проводилось исследуемое вмешательство.

^c Инфекция по оценке исследователя

^d Участники группы комбинированной терапии перешли на монотерапию гуселькумабом, начиная с 12-й недели.

Таблица 16 – Число субъектов, со связанными с лечением нежелательными явлениями, приводящими к прекращению введения исследуемого агента, по неделе 24, по системно-органным классам MedDRA и предпочтительным терминам; Полная выборка для анализа (CNT01959UCO2002)

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия ^c
Выборка для анализа ^a : полная выборка для анализа	55	55	58
Средняя продолжительность последующего наблюдения (недели)	19,3	19,6	18,5
Средний уровень воздействия (количество введений) ^b	8,9	9,1	8,4
Участники с нежелательными явлениями, возникшими на фоне лечения, которые привели к прекращению исследуемого вмешательства.	3 (5,5%)	1 (1,8%)	5 (8,6%)
Система MedDRA – системно-органный класс/предпочтительный термин			
Заболевания желудочно-кишечного тракта	2 (3,6%)	1 (1,8%)	3 (5,2%)
Язвенный колит	2 (3,6%)	0	3 (5,2%)
Непроходимость тонкого кишечника	0	1 (1,8%)	0
Инфекции и инвазии	0	0	2 (3,4%)
Цитомегаловирусный колит	0	0	1 (1,7%)

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия ^c
Внелегочный туберкулез	0	0	1 (1,7%)
Заболевания органов дыхания, грудной клетки и средостения	1 (1,8%)	0	0
Легочная эмболия	1 (1,8%)	0	0

Обозначения: Средн. = среднее значение

Примечание. Участников, перенесших любое конкретное явление, учитывают только один раз независимо от количества случаев, когда они фактически перенесли это явление. Нежелательные явления закодированы с помощью MedDRA, версия 21.1.

^a Промежуточные данные от подмножества участников.

^b Среднее количество посещений, когда проводилось исследуемое вмешательство.

^c Участники группы комбинированной терапии перешли на монотерапию гуселькумабом, начиная с 12-й недели.

Таблица 17 - **Количество участников с серьезными нежелательными явлениями, возникшими на фоне лечения, в течение недели 24 по системно-органным классам MedDRA и предпочтительным терминам; полная выборка для анализа (CNT01959UCO2002)**

5

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия ^c
Выборка для анализа ^a : полная выборка для анализа	55	55	58
Средняя продолжительность последующего наблюдения (недели)	19,3	19,6	18,5
Средний уровень воздействия (количество введений) ^b	8,9	9,1	8,4
Участники с 1 или более серьезными нежелательными явлениями, возникшими после лечения	2 (3,6%)	2 (3,6%)	2 (3,4%)
Система MedDRA – системно-органный класс/предпочтительный термин			
Инфекции и инвазии	0	0	2 (3,4%)
Внелегочный туберкулез	0	0	1 (1,7%)
Грипп	0	0	1 (1,7%)
Сепсис	0	0	1 (1,7%)
Заболевания органов дыхания, грудной клетки и средостения	1 (1,8%)	0	1 (1,7%)
Легочная эмболия	1 (1,8%)	0	1 (1,7%)
Заболевания сердца	0	1 (1,8%)	0
Фибрилляция предсердий	0	1 (1,8%)	0
Заболевания желудочно-кишечного тракта	1 (1,8%)	1 (1,8%)	0
Язвенный колит	1 (1,8%)	0	0
Непроходимость тонкого кишечника	0	1 (1,8%)	0

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия ^c
--	----------------------------	------------------------------	---

Обозначения: Средн. = среднее значение

Примечание. Участников, перенесших любое конкретное явление, учитывают только один раз независимо от количества случаев, когда они фактически перенесли это явление. Нежелательные явления закодированы с помощью MedDRA, версия 21.1.

^a Промежуточные данные от подмножества участников.

^b Среднее количество посещений, когда проводилось исследуемое вмешательство.

^c Участники группы комбинированной терапии перешли на монотерапию гуселькумабом, начиная с 12-й недели.

Таблица 18- Количество участников с 1 или более серьезными инфекциями, возникшими после лечения, в течение 24-й недели в разбивке по системно-органному классам MedDRA и предпочтительным терминам; полная выборка для анализа (CNT01959UCO2002)

5

	Монотерапия голимумабом	Монотерапия гуселькумабом	Комбинированная терапия ^d
Выборка для анализа ^a : полная выборка для анализа	55	55	58
Средняя продолжительность последующего наблюдения (недели)	19,3	19,6	18,5
Средний уровень воздействия (количество введений) ^b	8,9	9,1	8,4
Участники с 1 или более НЯ в виде тяжелой инфекции ^c	0	0	2 (3,4%)
Система MedDRA – системно-органный класс/предпочтительн ый термин			
Инфекции и инвазии	0	0	2 (3,4%)
Внелегочный туберкулез	0	0	1 (1,7%)
Грипп	0	0	1 (1,7%)
Сепсис	0	0	1 (1,7%)

Обозначения: Средн. = среднее значение

Примечание. Участников, перенесших любое конкретное явление, учитывают только один раз независимо от количества случаев, когда они фактически перенесли это явление. Нежелательные явления закодированы с помощью MedDRA, версия 21.1.

^a Промежуточные данные от подмножества участников.

^b Среднее количество посещений, когда проводилось исследуемое вмешательство.

^c Инфекция по оценке исследователя

^d Участники группы комбинированной терапии перешли на монотерапию гуселькумабом, начиная с 12-й недели.

В настоящей заявке описан ряд примеров и вариантов осуществления изобретения. Тем не менее необходимо учитывать, что принципе можно разработать различные модификации описанных примеров и вариантов осуществления без отступления от объема и сущности изобретения. С учетом этого другие варианты осуществления включены в объем перечисленных ниже пунктов. При этом все числовые диапазоны, описанные в настоящем документе, включают в себя все содержащиеся в них поддиапазоны, а также любые отдельные значения в пределах объема этих диапазонов. Все публикации, патенты и заявки на патенты, упомянутые в настоящем описании, включены в настоящий документ посредством ссылки.

Изобретение может быть описано ниже со ссылкой на следующие пронумерованные варианты осуществления:

1. Ингибитор ИЛ-23 и ингибитор ФНО- α для применения в лечении воспалительного заболевания у пациента, причем ингибиторы вводятся в количестве, терапевтически эффективном и клинически безопасном при совместном введении, и у пациента наблюдается клинический ответ.

2. Ингибитор ИЛ-23 и ингибитор ФНО- α для применения согласно варианту осуществления 1, в котором воспалительным заболеванием является воспалительное заболевание кишечника и у пациента отмечается клинический ответ на основании клинической конечной точки, выбранной из группы, состоящей из количества баллов по шкале Майо, количества баллов по частичной шкале Майо, эндоскопического показателя тяжести язвенного колита (UCEIS), маркеров СРБ и/или фекального кальпротектина, а также сообщаемого пациентом результата и выраженности симптомов.

3. Ингибитор ИЛ-23 и ингибитор ФНО- α для применения в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления, в котором антитело к ИЛ-23 включает антитело к ИЛ-23p19 или его антиген-связывающий фрагмент, а ингибитор ФНО- α включает антитело к ФНО- α или его антиген-связывающий фрагмент.

4. Ингибитор ИЛ-23 и ингибитор ФНО- α для применения в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления, причем воспалительное заболевание кишечника представляет собой болезнь Крона.

5. Ингибитор ИЛ-23 и ингибитор ФНО- α для применения в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления, причем воспалительное заболевание кишечника представляет собой язвенный колит (ЯК) или колит неустановленной этиологии.

6. Ингибитор ИЛ–23 и ингибитор ФНО– α для применения в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления, причем воспалительное заболевание кишечника представляет собой активный язвенный колит (ЯК) средней или тяжелой степени.
- 5 7. Ингибитор ИЛ–23 и ингибитор ФНО– α для применения в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления, в котором пациент ранее получал лечение только ингибитором ФНО– α и ремиссии ЯК после предыдущего лечения не наступало.
8. Ингибитор ИЛ–23 и ингибитор ФНО– α для применения в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления, в котором пациент ранее получал лечение
- 10 только ингибитором ИЛ–23 и ремиссии ЯК после предыдущего лечения не наступало.
9. Ингибитор ИЛ–23 и ингибитор ФНО– α для применения в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления, причем антитело к ИЛ–23p19 содержит: а) аминокислотные последовательности определяющих комплементарность областей (CDR) тяжелой цепи SEQ ID NO: 1–3 и аминокислотные последовательности CDR
- 15 легкой цепи SEQ ID NO: 4–6; б) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8; или с) аминокислотную последовательность тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 10.
- 20 10. Ингибитор ИЛ–23 и ингибитор ФНО– α для применения в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления, причем антитело к ФНО– α содержит: а) аминокислотные последовательности CDR тяжелой цепи SEQ ID NOS:11-13 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO: 14–16; б) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:
- 25 17 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 18; или с) аминокислотную последовательность тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 19, и аминокислотную последовательность легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 20.
11. Ингибитор ИЛ–23 и ингибитор ФНО– α для применения в соответствии с любым из предшествующих вариантов осуществления, причем антитело к ИЛ–23p19 содержит: а) аминокислотные последовательности определяющих комплементарность областей (CDR) тяжелой цепи SEQ ID NO: 1–3 и аминокислотные последовательности CDR
- 30 легкой цепи SEQ ID NO: 4–6; б) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность

вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8; или с) аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 9 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 10, а антитело к ФНО- α содержит: а) аминокислотную последовательность CDR тяжелой цепи SEQ ID NO: 11–13 и
 5 аминокислотную последовательность CDR легкой цепи SEQ ID NO: 14–16; б) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 17 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 18; или с) аминокислотную последовательность тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 19, и аминокислотную последовательность легкой цепи, включающую SEQ ID
 10 NO: 20.

12. Антитело к ИЛ-23 или его фрагмент и ингибитор ФНО- α или его фрагмент для применения в лечении язвенного колита у пациента, причем антитело к ИЛ-23p19 содержит: (i) аминокислотные последовательности определяющих комплементарность областей (CDR) тяжелой цепи SEQ ID NOS:1-3 и аминокислотные последовательности
 15 CDR легкой цепи SEQ ID NO: 4-6, (ii) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:7 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8, или (iii) тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:9 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:10; и антитело к ФНО- α содержит
 20 (i) аминокислотные последовательности CDR тяжелой цепи SEQ ID NO:11-13 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO: 14-16, (ii) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:17 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO:18 или (iii) аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:19 и
 25 аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:20, при этом антитела присутствуют в количествах, терапевтически эффективных и клинически безопасных при совместном введении, и эффективны для лечения язвенного колита, и у пациента наблюдается клиническая ремиссия на основании клинической конечной точки, выбранной из группы, состоящей из количества баллов по шкале Майо, количества
 30 баллов по частичной шкале Майо, эндоскопического показателя тяжести язвенного колита (UCEIS), маркеров СРБ и/или фекального кальпротектина, а также сообщаемого пациентом результата и выраженности симптома.

13. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с вариантом осуществления 12, в котором антитело к ФНО- α и антитело к ИЛ-23p19 вводят в соотношении от 1 : 2 до 2 : 1 (масс./масс.).
14. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с любым из
5 вариантов осуществления 12–13, в котором антитело к ФНО- α и антитело ИЛ-23p19 вводят в соотношении от 15 : 1 до 400 : 1 (масс./масс.).
15. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 12–14, причем антитело к ИЛ-23p19 и антитело к ФНО- α вводят одновременно.
- 10 16. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 12–14, причем антитело к ИЛ-23p19 и антитело к ФНО- α вводят последовательно.
17. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 12–14 и 16, причем антитело к ИЛ-23p19 и антитело к ФНО-
15 α вводят с интервалом в один день.
18. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 12–17, в котором антитело к ИЛ-23p19 вводят внутривенно в начальной дозе 200 мг, внутривенно в дозе 200 мг на неделе 4 и неделе 8 с
20 последующим подкожным введением в дозе 100 мг каждые 8 недель, а антитело к ФНО- α вводят подкожно в начальной дозе 200 мг с последующим подкожным введением в дозе 100 мг на неделе 2, неделе 6 и неделе 10.
19. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 12–18, в котором у пациента наблюдается клиническая ремиссия на основании клинической конечной точки, выбранной из группы, состоящей
25 из количества баллов по шкале Майо, количества баллов по частичной шкале Майо, эндоскопического показателя тяжести язвенного колита (UCEIS), маркеров СРБ и/или фекального кальпротектина, а также сообщаемого пациентом результата и выраженности симптомов.
20. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с
30 вариантом осуществления 19, в котором клинический конечный показатель измеряют через примерно 12 недель после начала лечения.
21. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с вариантами осуществления 19 или 20, в котором конечная точка клинической оценки основана на оценке по шкале Майо.

22. Антитело к ИЛ-23 или его фрагмент и антитело к ФНО- α или его фрагмент, применяемые для уменьшения воспаления толстой кишки пациента с воспалительным заболеванием кишечника, при этом антитела присутствуют в количествах, терапевтически эффективных при совместном введении, и их применение является

5 эффективным и клинически безопасным для уменьшения воспаления толстой кишки субъекта до уровня, сопоставимого с состоянием толстой кишки здорового пациента.

23. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с вариантом осуществления 22, в котором воспаление незначительно или отсутствует в образце ткани толстой кишки пациента после введения антитела к ИЛ-23p19 или его

10 антигенсвязывающего фрагмента и антитела к ФНО- α его антигенсвязывающего фрагмента.

24. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с вариантом осуществления 22, в котором потеря желез в образце, взятом из толстой кишки пациента, после введения антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего

15 фрагмента и антитела к ФНО- α или его антигенсвязывающего фрагмента является незначительной или отсутствует.

25. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с вариантом осуществления 22, в котором эрозия в образце ткани толстой кишки субъекта после введения антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего

20 фрагмента и антитела к ФНО- α или его антигенсвязывающего фрагмента незначительна или отсутствует.

26. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с вариантом осуществления 22, в котором толщина слизистой оболочки и гиперплазия в образце, взятом из толстой кишки пациента, после введения антитела к ИЛ-23p19 или

25 его антигенсвязывающего фрагмента и антитела к ФНО- α или его антигенсвязывающего фрагмента, независимо незначительны или отсутствуют.

27. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с вариантом осуществления 22, в котором после введения антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента и антитела к ФНО- α или его антигенсвязывающего

30 фрагмента результат гистопатологического исследования толстой кишки идентичен таковому в здоровой ткани.

28. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 22–27, в котором антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: а) аминокислотные последовательности

CDR тяжелой цепи SEQ ID NO:1–3 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO: 4–6; b) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:7 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8; или c) тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:9 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10; и антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент содержит d) аминокислотные последовательности CDR тяжелой цепи SEQ ID NO:11-13 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO:14-16; e) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:17 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO:18; или f) тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:19 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:20.

29. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 22–28, в котором антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент и антитело к ИЛ-23p19 или его антиген-связывающий фрагмент вводят в соотношении от 1 : 2 до 2 : 1 (масс./масс.).

30. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 22–28, в котором антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент и антитело ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в соотношении от 15 : 1 до 400 : 1 (масс./масс.).

31. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 22–30, причем антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент и антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент вводят одновременно.

32. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 22–30, причем а) антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент и б) антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент вводят последовательно.

33. Антитело к ИЛ-23 и антитело к ФНО- α для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 22–30, причем антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент и антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент вводят с интервалом в один день.

34. Антитело к ИЛ-23 или его фрагмент и антитело к ФНО- α или его фрагмент для применения в лечении воспалительного заболевания кишечника у пациента и для уменьшения потери массы тела у пациента, которое являются клинически безопасными.
- 5 35. Антитело к ИЛ-23 или его антигенсвязывающий фрагмент и антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в соответствии с вариантом осуществления 34, в котором антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент и антитело ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в соотношении от 15 : 1 до 400 : 1 (масс./масс.).
- 10 36. Антитело к ИЛ-23 или его антигенсвязывающий фрагмент и антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 34-35, причем антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент и антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент вводят одновременно.
- 15 37. Антитело к ИЛ-23 или его антигенсвязывающий фрагмент и антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 34-35, в котором а) антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент и б) антитело ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят последовательно.
- 20 38. Антитело к ИЛ-23 или его антигенсвязывающий фрагмент и антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 34, 35 или 37, причем а) антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент и б) антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент вводят с интервалом в один день.
- 25 39. Антитело к ИЛ-23 или его антигенсвязывающий фрагмент и антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 34-38, в котором антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: а) аминокислотные последовательности CDR тяжелой цепи SEQ ID NO:1-3 и аминокислотные последовательности CDR легкой
- 30 цепи SEQ ID NO: 4-6; б) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:7 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8; или с) тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:9 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10; и антитело к ФНО- α или его

антигенсвязывающий фрагмент содержит d) аминокислотные последовательности CDR тяжелой цепи SEQ ID NO:11-13 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO:14-16; е) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:17 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO:18; или f) тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:19 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:20.

40. Антитело к ИЛ-23 или его фрагмент и антитело к ФНО- α или его фрагмент для применения в лечении активного язвенного колита умеренной или тяжелой степени, причем антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент вводится в дозе от 0,0005 мг/кг до 0,002 мг/кг и содержит (i) аминокислотные последовательности CDR тяжелой цепи SEQ ID NO:1-3 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO: 4-6; (ii) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:7 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8; или (iii) аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:9 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:10, и антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент вводится в дозе от 0,020 мг/кг до 0,125 мг/кг и содержит: (iv) аминокислотную последовательность CDR тяжелой цепи SEQ ID NO:11-13 и аминокислотную последовательность CDR легкой цепи SEQ ID NO:14-16; (v) аминокислотной последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:17 и аминокислотной последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO:18; или (vi) тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:19 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:20;

41. Антитело к ИЛ-23 или его антигенсвязывающий фрагмент и антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в соответствии с вариантом осуществления 40, причем способ эффективен и клинически безопасен при лечении язвенного колита.

42. Антитело к ИЛ-23 или его антигенсвязывающий фрагмент и антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 40-41, в котором у пациента наблюдается клиническая ремиссия на основании клинической конечной точки, выбранной из группы, состоящей из количества баллов по шкале Майо, количества баллов по частичной шкале Майо, эндоскопического показателя тяжести язвенного колита (UCEIS), маркеров СРБ и/или

фекального кальпротектина, а также сообщаемого пациентом результата и выраженности симптомов.

43. Антитело к ИЛ-23 или его антигенсвязывающий фрагмент и антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 40-42, при этом антитело к ИЛ-23p19 представляет собой водный раствор в фармацевтической композиции в концентрации 100 мг/мл; 7,9% (масс./об.) сахарозы, 4,0 мМ гистидина, 6,9 мМ L-гистидина моногидрохлорида моногидрата; 0,053% (масс./об.) полисорбата 80 композиции и антитело к ФНО- α находится в водном растворе в фармацевтической композиции в концентрации 100 мг/мл; 4,1% (масс./об.) сорбита, 5,6 мМ L-гистидина и L-гистидина моногидрохлорида моногидрата; 0,015% (масс./об.) полисорбата 80 в композиции;

44. Антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент для применения при лечении язвенного колита у пациента, при этом вводят терапевтически эффективное и клинически безопасное количество антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента.

45. Антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент для применения согласно варианту осуществления 44, причем антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: а) аминокислотные последовательности определяющей комплементарности области тяжелой цепи (CDR) SEQ ID NO: 1-3 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO: 4-6; б) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8; или с) аминокислотную последовательность тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 10.

46. Антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент для применения согласно варианту осуществления 44 или 45, причем антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гуселькумаб.

47. Антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 44-46, причем антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в начальной дозе 200 мг, 600 мг или 1200 мг и в дозе 100 мг через 2 недели после начальной дозы, через 6 недель после начальной дозы, через 10 недель после начальной дозы и каждые 4 или 8 недель после дозы в 10 недель.

48. Антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в соответствии с любым из вариантов осуществления 44–47, в котором у пациента наблюдается клинический ответ на основании клинической конечной точки, выбранной из группы, состоящей из количества баллов по шкале Майо, количества баллов по частичной шкале Майо, эндоскопического показателя тяжести язвенного колита (UCEIS), маркеров СРБ и/или фекального кальпротектина, а также сообщаемого пациентом результата и выраженности симптомов.
- 5

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения воспалительного заболевания у пациента, включающий:

а) введение первого совместно терапевтически эффективного и клинически
5 безопасного количества ингибитора ИЛ-23; и

б) введение второго терапевтически эффективного и клинически безопасного
при совместном введении количества ингибитора ФНО- α , причем способ является
эффективным для лечения воспалительного заболевания, а у пациента наблюдается
клинический ответ.

10

2. Способ по п. 1, в котором воспалительным заболеванием является воспалительное
заболевание кишечника и у пациента отмечается клинический ответ на основании
клинической конечной точки, выбранной из группы, состоящей из количества баллов
по шкале Майо, количества баллов по частичной шкале Майо, эндоскопического
15 показателя тяжести язвенного колита (UCEIS), маркеров СРБ и/или фекального
кальпротектина, а также сообщаемого пациентом результата и выраженности
симптома.

20

3. Способ по п. 2, в котором антитело к ИЛ-23 включает антитело к ИЛ-23p19 или его
антиген-связывающий фрагмент, а ингибитор ФНО- α включает антитело к ФНО- α или
его антиген-связывающий фрагмент.

25

4. Способ по п. 3, в котором воспалительное заболевание кишечника представляет
собой болезнь Крона.

5. Способ по п. 3, в котором воспалительное заболевание кишечника представляет
собой язвенный колит (ЯК) или колит неустановленной этиологии.

30

6. Способ по п. 5, в котором воспалительное заболевание кишечника представляет
собой язвенный колит (ЯК) умеренной или выраженной активности.

7. Способ по п. 6, в котором пациент ранее получал лечение только ингибитором ФНО- α
и ремиссии ЯК после предыдущего лечения не наступало.

8. Способ по п. 6, в котором пациент ранее получал лечение только ингибитором ИЛ-23, и ремиссии ЯК после предыдущего лечения не наступало.

5 9. Способ по п. 6, в котором антитело к ИЛ-23p19 содержит: а) аминокислотные последовательности определяющих комплементарность областей (CDR) тяжелой цепи SEQ ID NO:1-3 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO: 4-6; б) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8; или с) аминокислотную последовательность тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 10.

15 10. Способ по п. 6, в котором антитело к ФНО- α содержит: а) аминокислотные последовательности CDR тяжелой цепи SEQ ID NO:11-13 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO: 14-16; б) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 17 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 18; или с) аминокислотную последовательность тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 19, и аминокислотную последовательность легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 20.

25 11. Способ по п. 6, в котором антитело к ИЛ-23p19 содержит: а) аминокислотные последовательности определяющих комплементарность областей (CDR) тяжелой цепи SEQ ID NO:1-3 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO: 4-6; б) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8; или с) аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 9 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 10, а антитело к ФНО- α содержит: а) аминокислотную последовательность CDR тяжелой цепи SEQ ID NO: 11-13 и аминокислотную последовательность CDR легкой цепи SEQ ID NO: 14-16; б) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 17 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 18; или с) аминокислотную последовательность тяжелой цепи, включающую SEQ

ID NO: 19, и аминокислотную последовательность легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 20.

12. Способ по п. 2, отличающийся тем, что ингибитор ИЛ-23 включает антитело к ИЛ-23p19, выбранное из группы, состоящей из гуселкумаба, рисанакизумаба, тилдракизумаба и миракизумаба, или их антигенсвязывающий фрагмент, а ингибитор ФНО- α выбран из группы, состоящей из голимумаба, адалимумаба, инфликсимаба, цертолизумаба пэгола и этанерцепта.

13. Способ лечения язвенного колита у пациента, включающий:

а) введение сначала первой терапевтически эффективной при совместном введении дозы антитела к ИЛ-23p19, содержащего (i) аминокислотные последовательности определяющего комплементарность участка тяжелой цепи (CDR) SEQ ID NO:1–3 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO: 4–6, (ii) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:7 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8, или (iii) тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:9 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:10; и

б) а затем введение антитела к ФНО- α в количестве, терапевтически эффективном при совместном введении, содержащего (i) аминокислотные последовательности CDR тяжелой цепи SEQ ID NO:11–13 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO: 14–16, (ii) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:17 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO:18 или (iii) аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:19 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:20, причем способ эффективен и клинически безопасен для лечения язвенного колита, и у пациента наблюдается клиническая ремиссия на основании клинической конечной точки, выбранной из группы, состоящей из количества баллов по шкале Майо, количества баллов по частичной шкале Майо, эндоскопического показателя тяжести язвенного колита (UCEIS), маркеров СРБ и/или фекального кальпротектина, а также сообщаемого пациентом результата и выраженности симптома.

14. Способ по п. 13, в котором антитело к ФНО- α и антитело к ИЛ-23p19 вводят в соотношении от 1 : 2 до 2 : 1 (масс./масс.).
- 5 15. Способ по п. 13, в котором антитело к ФНО- α и антитело ИЛ-23p19 вводят в соотношении от 15 : 1 до 400 : 1 (масс./масс.).
16. Способ по п. 13, в котором антитело к ИЛ-23p19 и антитело к ФНО- α вводят одновременно.
- 10 17. Способ по п. 13, в котором антитело к ИЛ-23p19 и антитело к ФНО- α вводят последовательно.
18. Способ по п. 13, в котором антитело к ИЛ-23p19 и антитело к ФНО- α вводят с интервалом в один день.
- 15 19. Способ по п. 13, в котором антитело к ИЛ-23p19 вводят внутривенно в начальной дозе 200 мг, внутривенно в дозе 200 мг на неделе 4 и неделе 8 с последующим подкожным введением в дозе 100 мг каждые 8 недель, а антитело к ФНО- α вводят подкожно в начальной дозе 200 мг с последующим подкожным введением в дозе 100 мг на неделе 2, неделе 6 и неделе 10.
- 20 20. Способ по п. 19, в котором у пациента наблюдается клиническая ремиссия на основании клинической конечной точки, выбранной из группы, состоящей из количества баллов по шкале Майо, количества баллов по частичной шкале Майо, эндоскопического показателя тяжести язвенного колита (UCEIS), маркеров СРБ и/или фекального кальпротектина, а также сообщаемого пациентом результата и выраженности симптомов.
- 25 21. Способ по п. 20, в котором клинический конечный показатель измеряют через примерно 12 недель после начала лечения.
- 30 22. Способ по п. 20, в котором конечная точка клинической оценки основана на оценке по шкале Майо.

23. Способ уменьшения воспаления толстой кишки у субъекта с воспалительным заболеванием кишечника, включающий:

а) введение сначала антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента в количестве, терапевтически эффективном при совместном введении; и

б) а затем введение антитела к ФНО- α или его антигенсвязывающего фрагмента в количестве, терапевтически эффективном при совместном введении, причем способ является эффективным и клинически безопасным для уменьшения воспаления толстой кишки субъекта до уровня, сопоставимого с состоянием толстой кишки здорового субъекта.

24. Способ по п. 23, в котором воспаление в образце ткани толстой кишки пациента после введения антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента и антитела к ФНО- α его антигенсвязывающего фрагмента незначительно или отсутствует.

25. Способ по п. 23, в котором потеря желез в образце, взятом из толстой кишки субъекта, после введения антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента и антитела к ФНО- α или его антигенсвязывающего фрагмента является незначительной или отсутствует.

26. Способ по п. 23, в котором эрозия в образце ткани толстой кишки пациента после введения антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента и антитела к ФНО- α или его антигенсвязывающего фрагмента незначительна или отсутствует.

27. Способ по п. 23, в котором толщина слизистой оболочки и гиперплазия независимо в образце, взятом из толстой кишки субъекта, после введения антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента и антитела к ФНО- α или его антигенсвязывающего фрагмента является незначительной или отсутствует.

28. Способ по п. 23, в котором после введения антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента и антитела к ФНО- α или его антигенсвязывающего фрагмента результат гистопатологического исследования толстой кишки идентичен таковому в здоровой ткани.

29. Способ по п. 23, в котором антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: а) аминокислотные последовательности CDR тяжелой цепи SEQ ID NO:1–3 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO: 4–6; б) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:7 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8; или с) тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:9 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10; и антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент содержит д) аминокислотные последовательности CDR тяжелой цепи SEQ ID NO:11-13 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO:14-16; е) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:17 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO:18; или ф) тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:19 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:20.
30. Способ по п. 29, в котором антитело к ФНО- α или его антиген-связывающий фрагмент и антитело к ИЛ-23p19 или его антиген-связывающий фрагмент вводят в соотношении от 1 : 2 до 2 : 1 (масс./масс.).
31. Способ по п. 29, в котором антитело к ФНО- α или его антиген-связывающий фрагмент и антитело ИЛ-23p19 или его антиген-связывающий фрагмент вводят в соотношении от 15 : 1 до 400 : 1 (масс./масс.).
32. Способ по п. 29, в котором а) антитело к ИЛ-23p19 или его антиген-связывающий фрагмент и б) антитело к ФНО- α или его антиген-связывающий фрагмент вводят одновременно.
33. Способ по п. 29, в котором а) антитело к ИЛ-23p19 или его антиген-связывающий фрагмент и б) антитело к ФНО- α или его антиген-связывающий фрагмент вводят последовательно.
34. Способ по п. 29, в котором а) антитело к ИЛ-23p19 или его антиген-связывающий фрагмент и б) антитело к ФНО- α или его антиген-связывающий фрагмент вводят с интервалом в один день.

35. Способ лечения воспалительного заболевания кишечника у пациента и уменьшения потери массы тела у пациента, включающий:

(а) введение сначала антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента в количестве, терапевтически эффективном и клинически безопасном, и снижающем потерю веса при совместном введении; и

б) а затем введение второго антитела к ФНО- α или его антигенсвязывающего фрагмента в количестве, терапевтически эффективном и клинически безопасном, и снижающем потерю веса при совместном введении.

10

36. Способ по п. 35, в котором антитело к ФНО- α или его антиген-связывающий фрагмент и антитело ИЛ-23p19 или его антиген-связывающий фрагмент вводят в соотношении от 15 : 1 до 400 : 1 (масс./масс.).

15 37. Способ по п. 35, в котором а) антитело к ИЛ-23p19 или его антиген-связывающий фрагмент и б) антитело к ФНО- α или его антиген-связывающий фрагмент вводят одновременно.

20 38. Способ по п. 35, в котором а) антитело к ИЛ-23p19 или его антиген-связывающий фрагмент и б) антитело к ФНО- α или его антиген-связывающий фрагмент вводят последовательно.

25 39. Способ по п. 35, в котором а) антитело к ИЛ-23p19 или его антиген-связывающий фрагмент и б) антитело к ФНО- α или его антиген-связывающий фрагмент вводят с интервалом в один день.

40. Способ по п. 35, в котором антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: а) аминокислотные последовательности CDR тяжелой цепи SEQ ID NO:1-3 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO: 4-6; б) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:7 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8; или с) тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:9 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10; и антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент содержит д) аминокислотные

30

последовательности CDR тяжелой цепи SEQ ID NO:11-13 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO:14-16; е) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:17 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO:18; или ф) тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:19 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:20.

41. Способ лечения язвенного колита умеренной или выраженной активности у нуждающегося в этом человека, включающий:

10 а) введение от 0,0005 мг/кг до 0,002 мг/кг антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности (i) аминокислотных последовательностей CDR тяжелой цепи SEQ ID NO:1-3 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO: 4-6; (ii) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:7 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8; или (iii) тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:9 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:10; и

20 б) введение от 0,020 мг/кг до 0,125 мг/кг антитела к ФНО- α или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности (i) аминокислотных последовательностей CDR тяжелой цепи SEQ ID NO:11-13 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO:14-16; (v) аминокислотной последовательности вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:17 и аминокислотной последовательности вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO:18; или (vi) тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:19 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:20;

42. Способ по п. 41, отличающийся тем, что является эффективным и клинически безопасным при лечении язвенного колита.

30 43. Способ по п. 42, в котором у пациента наблюдается клиническая ремиссия на основании клинической конечной точки, выбранной из группы, состоящей из количества баллов по шкале Майо, количества баллов по частичной шкале Майо, эндоскопического показателя тяжести язвенного колита (UCEIS), маркеров СРБ и/или

фекального кальпротектина, а также сообщаемого пациентом результата и выраженности симптомов.

44. Способ по п. 41, в котором антитело к ИЛ-23p19 представляет собой водный раствор в фармацевтической композиции в концентрации 100 мг/мл; 7,9% (масс./об.) сахарозы, 4,0 мМ гистидина, 6,9 мМ L-гистидина моногидрохлорида моногидрата; 0,053% (масс./об.) полисорбата 80 композиции и антитело к ФНО- α находится в водном растворе в фармацевтической композиции в концентрации 100 мг/мл; 4,1% (масс./об.) сорбита, 5,6 мМ L-гистидина и L-гистидина моногидрохлорида моногидрата; 0,015% (масс./об.) полисорбата 80 в композиции;

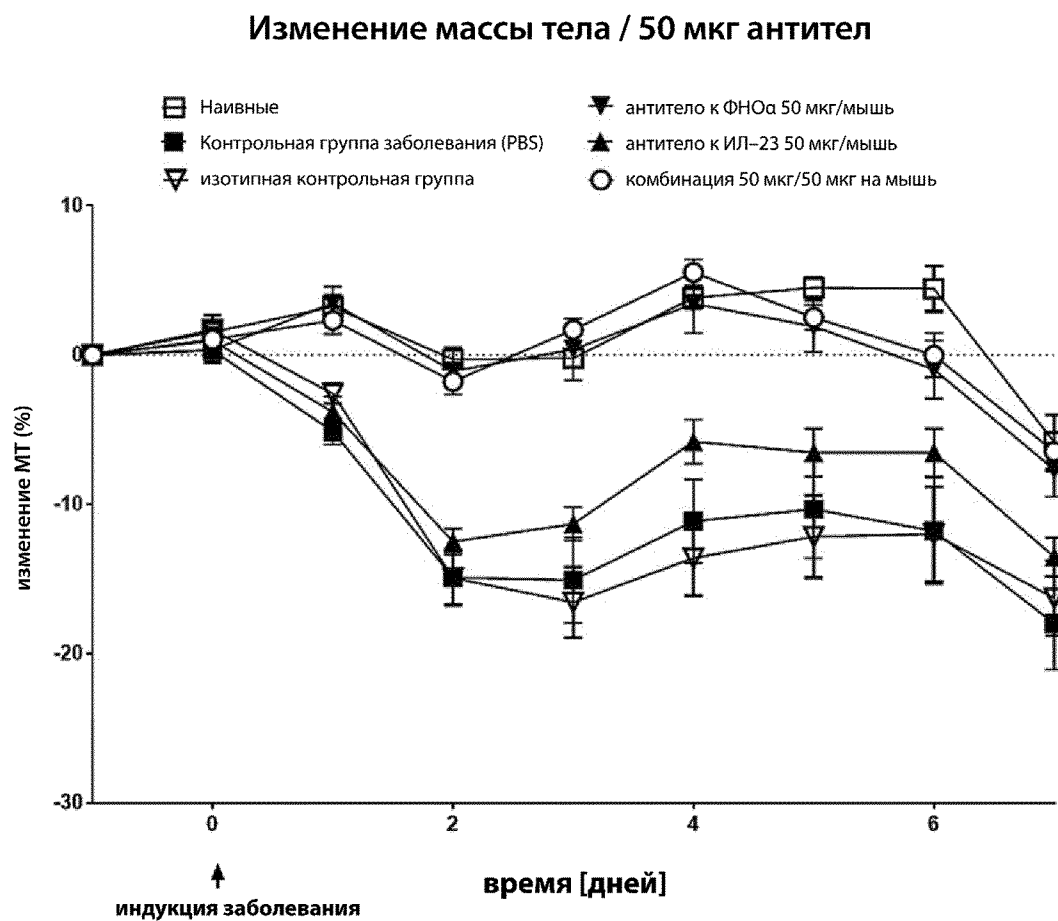
45. Фармацевтический продукт, содержащий композицию: а) ингибитор анти-ИЛ-23 и б) ингибитор анти-ФНО- α для применения в комбинированной терапии для лечения воспалительного заболевания, причем первое совместно терапевтически эффективное и клинически безопасное количество ингибитора ИЛ-23 и второе совместно терапевтически эффективное и клинически безопасное количество ингибитора ФНО- α вводят пациенту, и у пациента наблюдается клинический ответ.

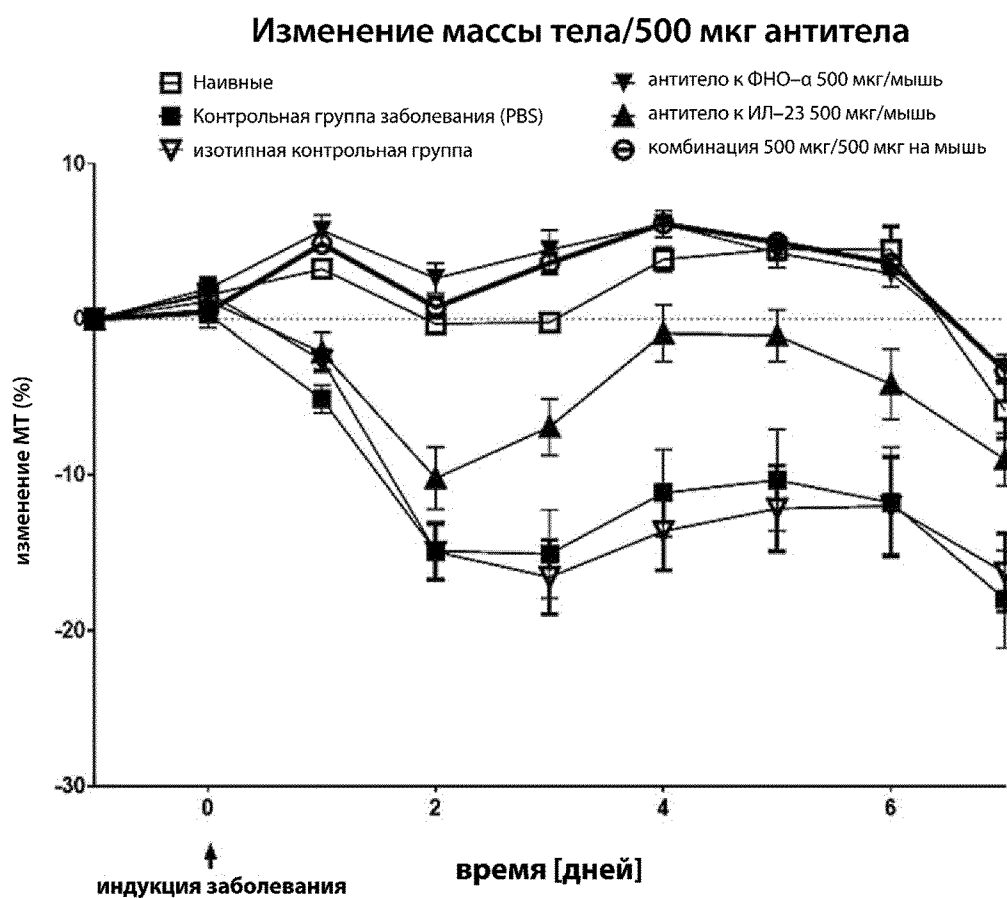
46. Продукт по п. 45, отличающийся тем, что ингибитор анти-ИЛ-23 представляет собой антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент, а ингибитор анти-ФНО- α представляет собой антитело к ФНО- α или его антигенсвязывающий фрагмент, и воспалительное расстройство представляет собой воспалительное заболевание кишечника.

47. Продукт по п. 46, отличающийся тем, что воспалительное заболевание кишечника представляет собой язвенный колит, антитело к ИЛ-23p19 представляет собой гуселкумаб, а антитело к ФНО- α представляет собой голимумаб, а антитело к ИЛ-23p19 и антитело к ФНО- α вводят в соответствии со способами, описанными в данном документе.

48. Способ лечения язвенного колита у пациента, включающий введение терапевтически эффективного и клинически безопасного количества антитела к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента.

49. Способ по п. 48, в котором антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: а) аминокислотные последовательности определяющих комплементарность областей (CDR) тяжелой цепи SEQ ID NO:1-3 и аминокислотные последовательности CDR легкой цепи SEQ ID NO: 4-6; б) аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 8; или с) аминокислотную последовательность тяжелой цепи, включающую SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность легкой цепи, включающую SEQ ID NO: 10.
50. Способ по п. 49, отличающийся тем, что антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гуселькумаб.
51. Способ по п. 49, в котором антитело к ИЛ-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в начальной дозе 200 мг, 600 мг или 1200 мг и в дозе 100 мг через 2 недели после начальной дозы, через 6 недель после начальной дозы, через 10 недель после начальной дозы и каждые 4 или 8 недель после дозы в 10 недель.
52. Способ по п. 49, в котором у пациента наблюдается клинический ответ на основании клинической конечной точки, выбранной из группы, состоящей из количества баллов по шкале Майо, количества баллов по частичной шкале Майо, эндоскопического показателя тяжести язвенного колита (UCEIS), маркеров СРБ и/или фекального кальпротектина, а также сообщаемого пациентом результата и выраженности симптомов.

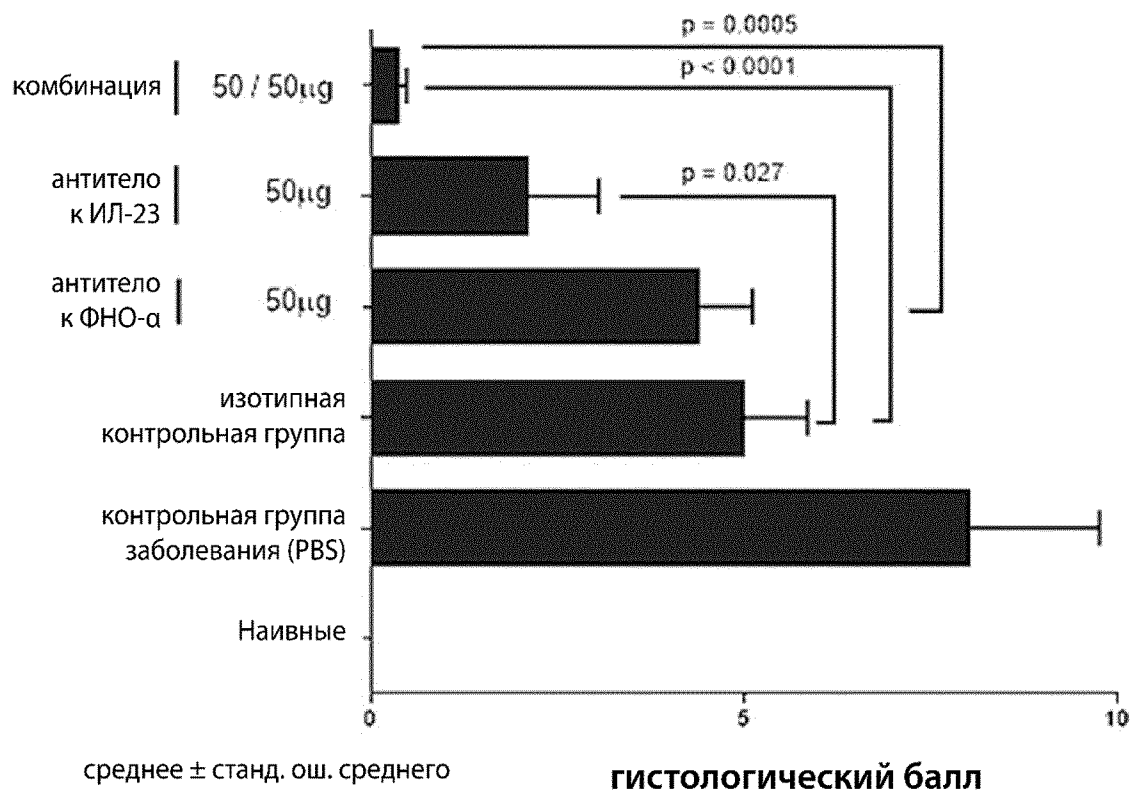
**ФИГ. 1А**



Лечение мАг	День 1	День 0	День 1	День 2	День 3	День 4	День 5	День 6	День 7
50 мкг ФНО-α	0,999	0,957	0,008	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
500 мкг ФНО-α	0,999	0,9998	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
50 мкг ИЛ-23	0,999	0,9979	0,6242	0,6242	0,0302	0,0003	0,0168	0,0219	0,5024
500 мкг ИЛ-23	0,999	0,9995	0,0633	0,0633	0,0001	0,0001	0,0001	0,0003	0,0009
50 мкг ФНО-α + IL-23	0,999	0,9995	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
500 мкг ФНО-α + IL-23	0,999	0,9694	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

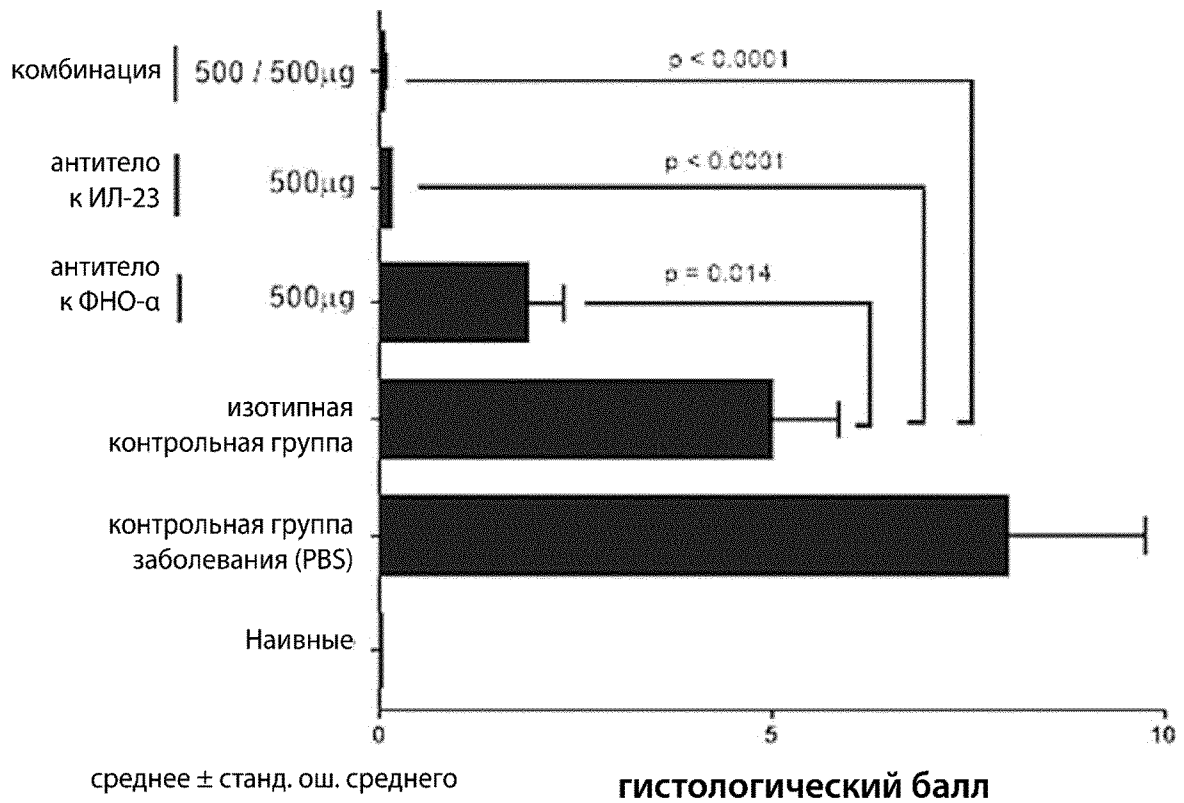
ФИГ. 1Б

Гистопатологическая оценка проксимального отдела толстой кишки, 0,05 мг антитела



ФИГ. 2А

Гистопатологическая оценка проксимального отдела толстой кишки, 0,5 мг антитела



ФИГ. 2Б

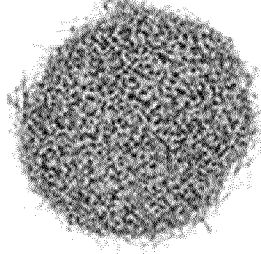
Сигнатуры лечения при
моделировании ВЗК на
мышях



↓
Преобразование
мышинных генов в
ортологи человека



↓
Применение к сети
генов кишечника
человека

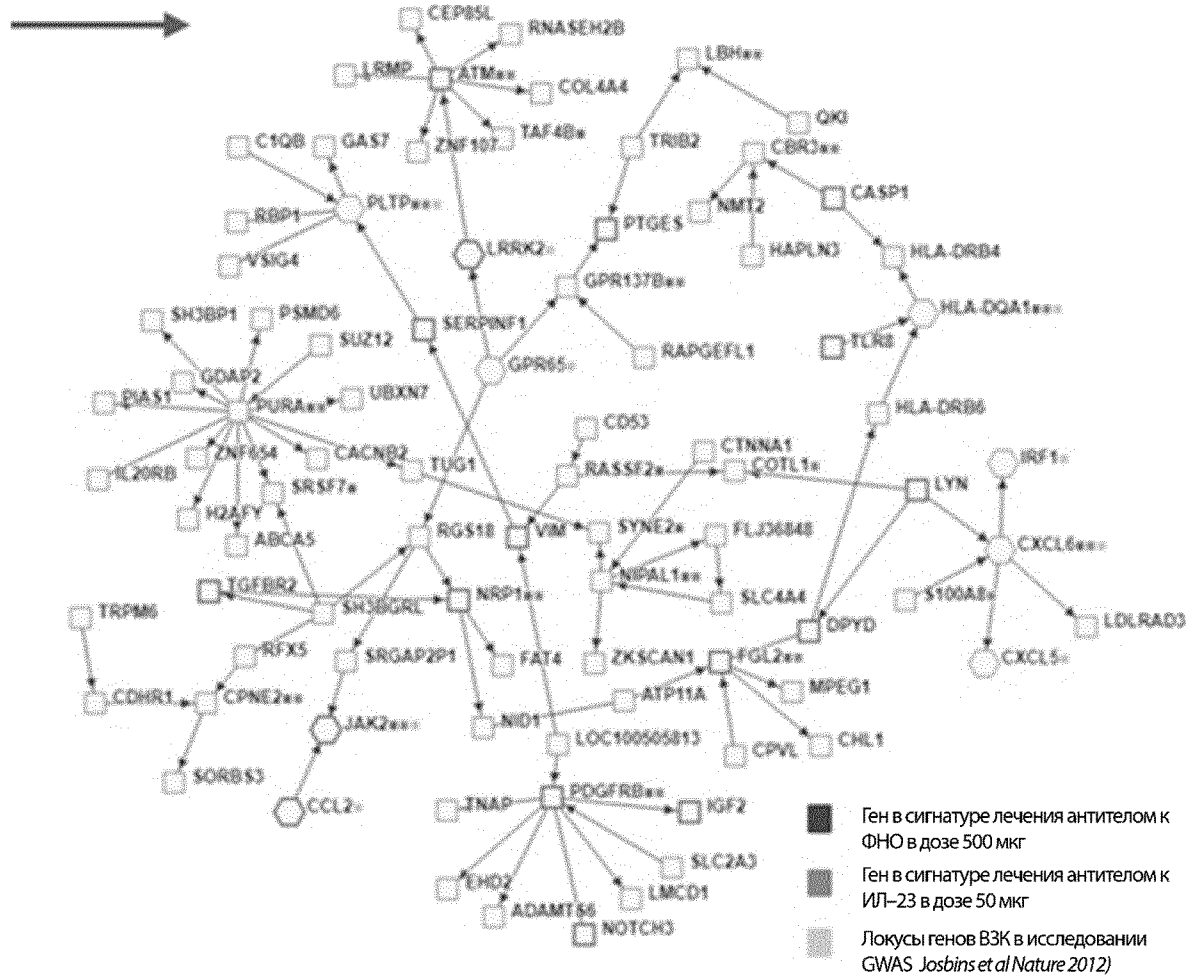


Гены, пересекающиеся с сетью человека, и
их первые соседи

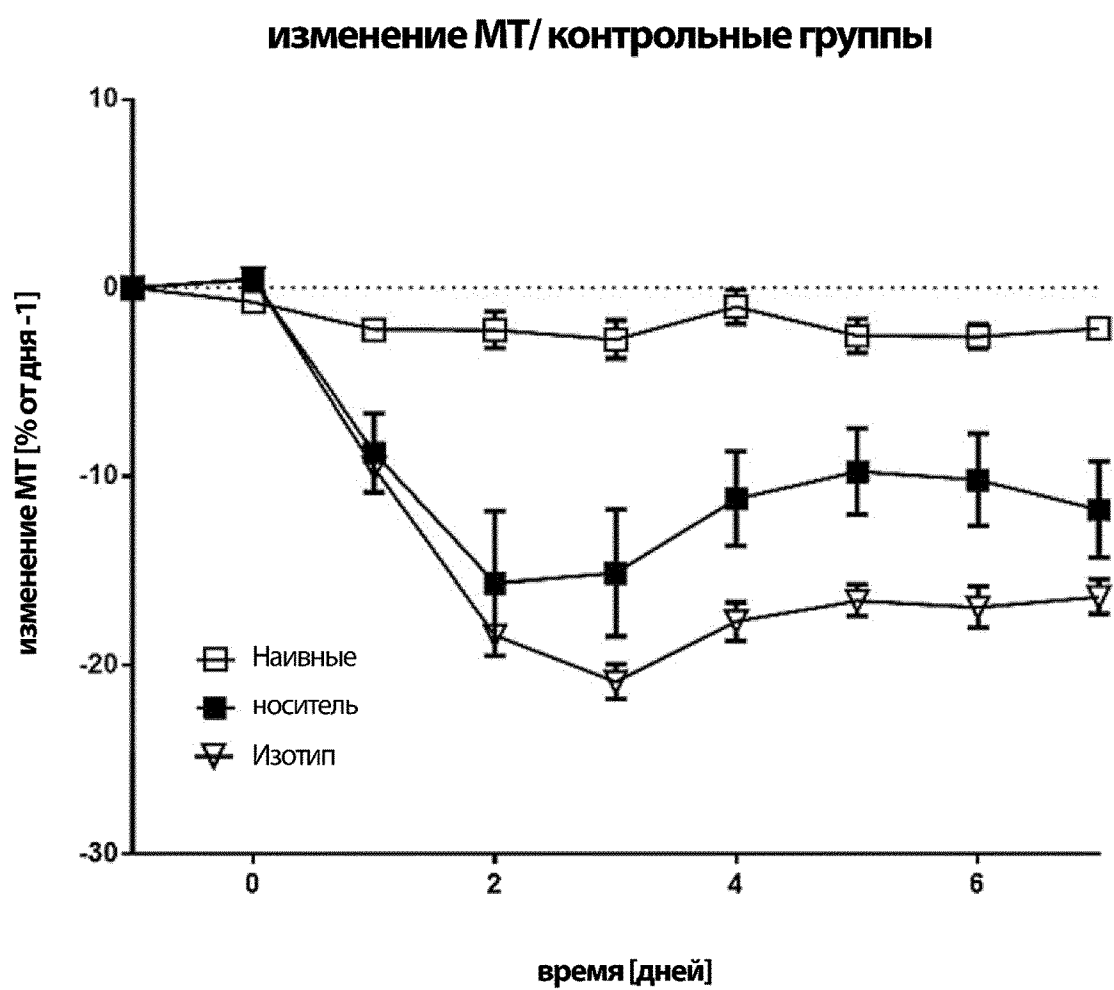


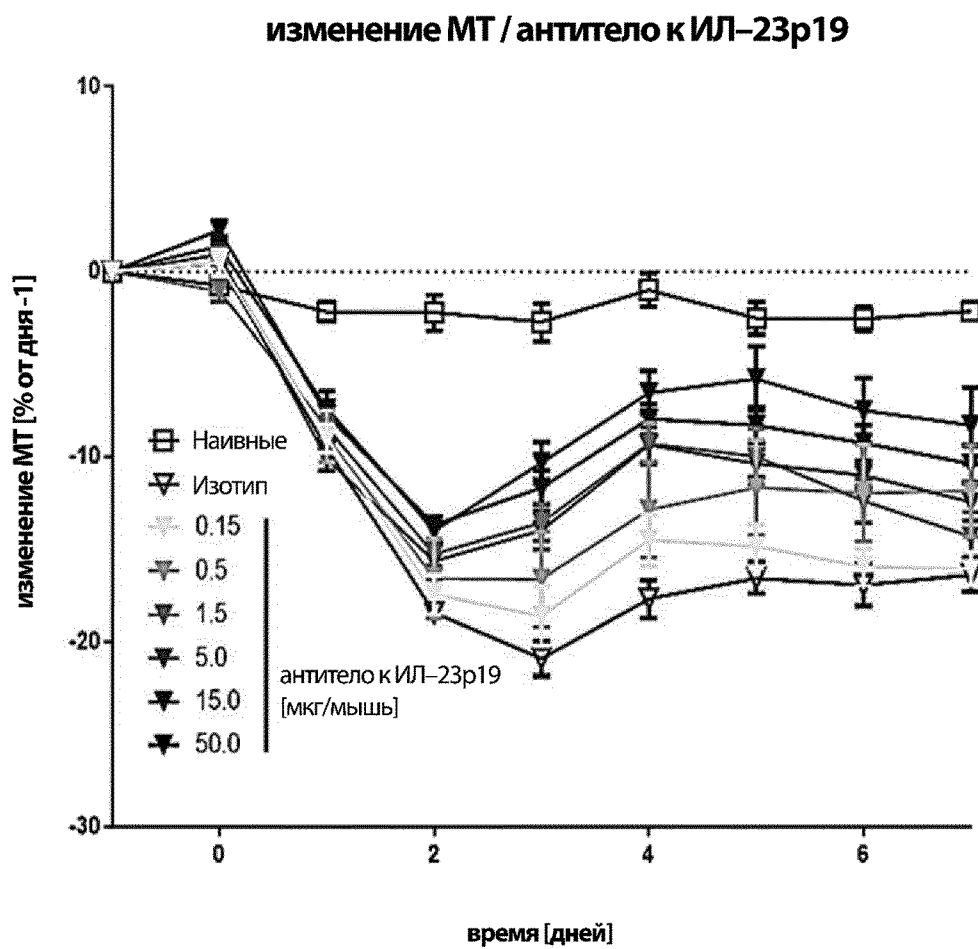
ФИГ. 3А

Наибольший подключенный компонент общих подсетей антител к ФНО и антител к ИЛ-23

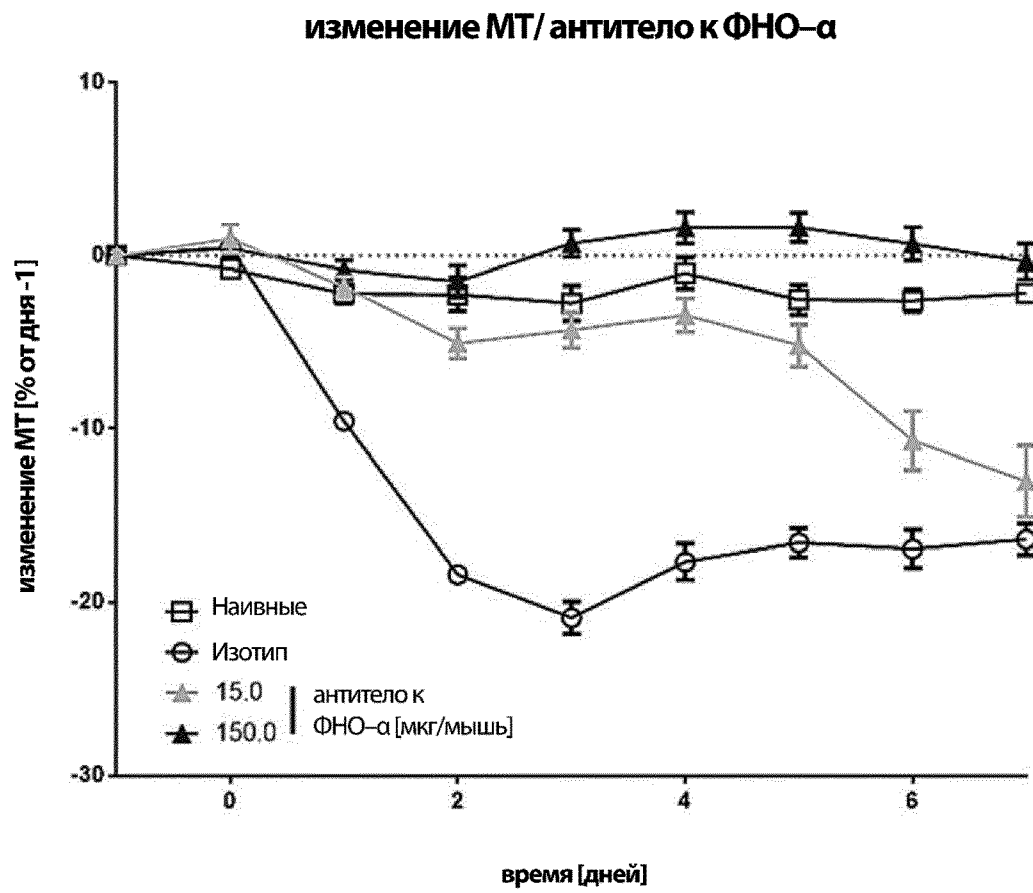


ФИГ.3Б

**ФИГ.4А**

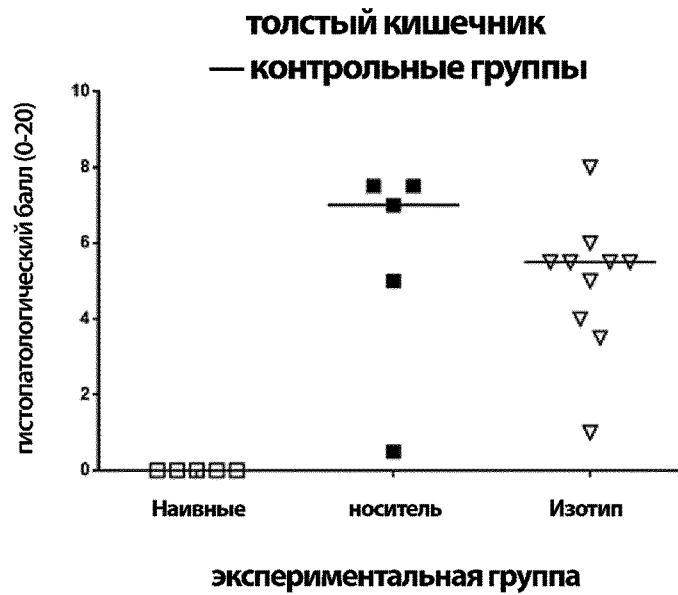


ФИГ. 4Б

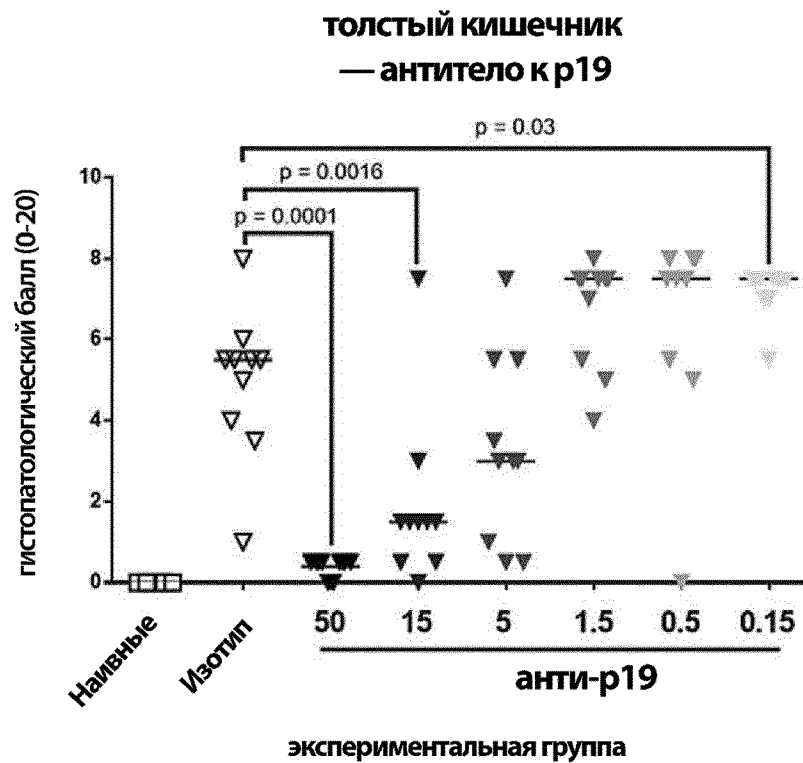
**ФИГ. 4В**

Лечение мАг	День -1	День 0	День 1	День 2	День 3	День 4	День 5	День 6	День 7
носитель	0,9999	0,9999	0,9994	0,6627	<i>0,0286</i>	<i>0,0094</i>	<i>0,0053</i>	<i>0,0061</i>	0,1302
0,15 мг ИЛ-23	0,9999	0,9999	0,9995	0,9962	0,6460	0,2901	0,8859	0,9965	0,9997
0,5 мкг ИЛ-23	0,9999	0,9999	0,9994	0,8608	0,0733	<i>0,0315</i>	<i>0,0262</i>	<i>0,0240</i>	<i>0,0488</i>
1,5 мкг ИЛ-23	0,9999	0,9295	0,9894	0,2940	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0005</i>	<i>0,0400</i>	0,7572
5,0 мкг ИЛ-23	0,9999	0,9996	0,9995	0,2940	<i>0,0002</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0013</i>	<i>0,0025</i>	0,1064
15 мкг ИЛ-23	0,9999	0,9968	0,6920	<i>0,0497</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>
50 мкг ИЛ-23	0,9999	0,8692	0,8394	<i>0,0294</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0021</i>
15 мкг ФНО-α	0,9999	0,9996	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0012</i>	0,2255
150 мкг ФНО-α	0,9999	0,9999	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>	<i>0,0001</i>

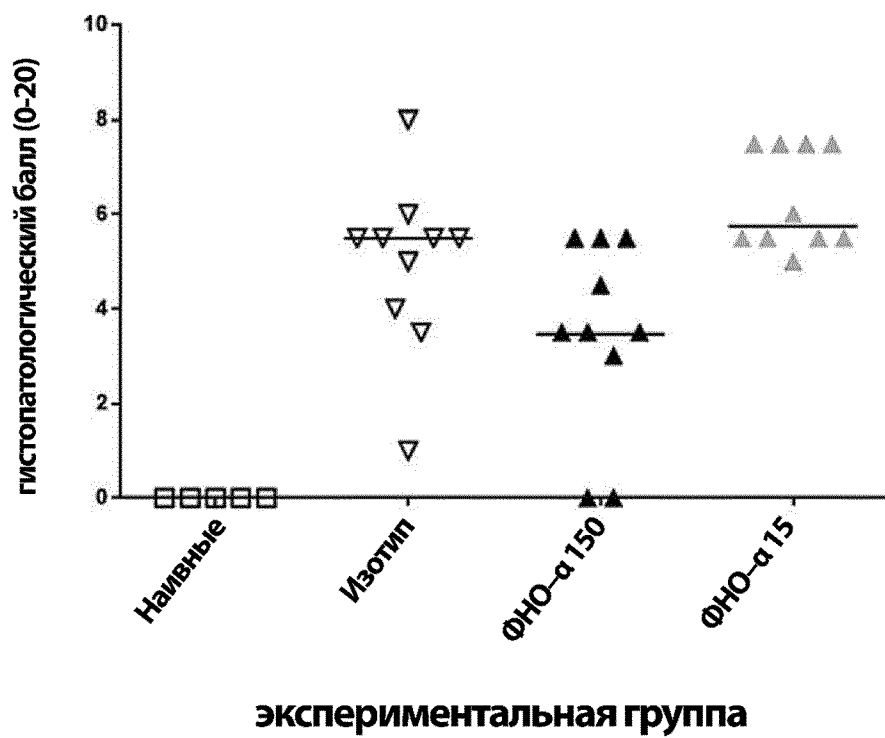
ФИГ. 4Г



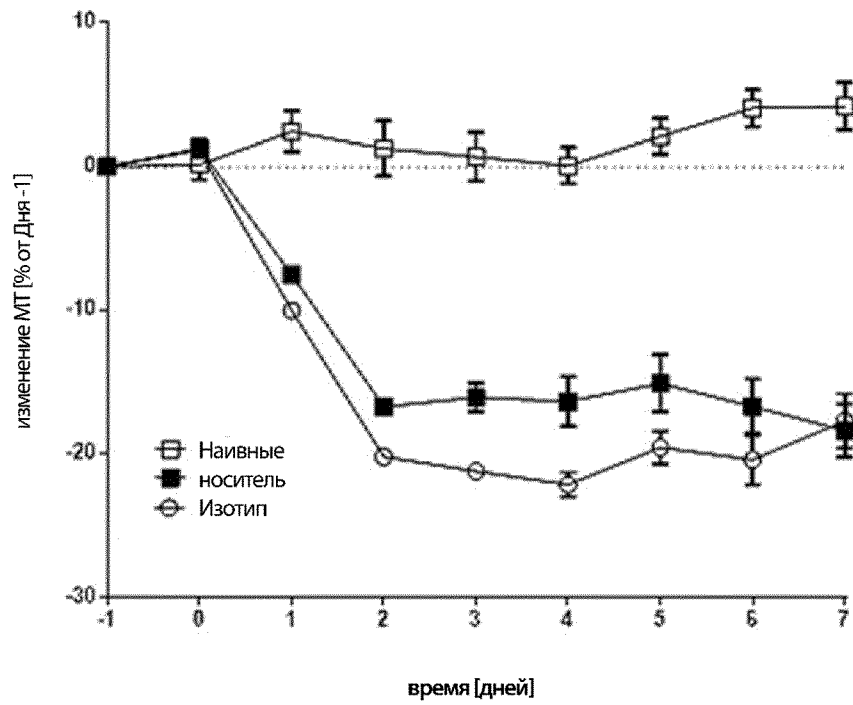
ФИГ. 5А



ФИГ. 5Б

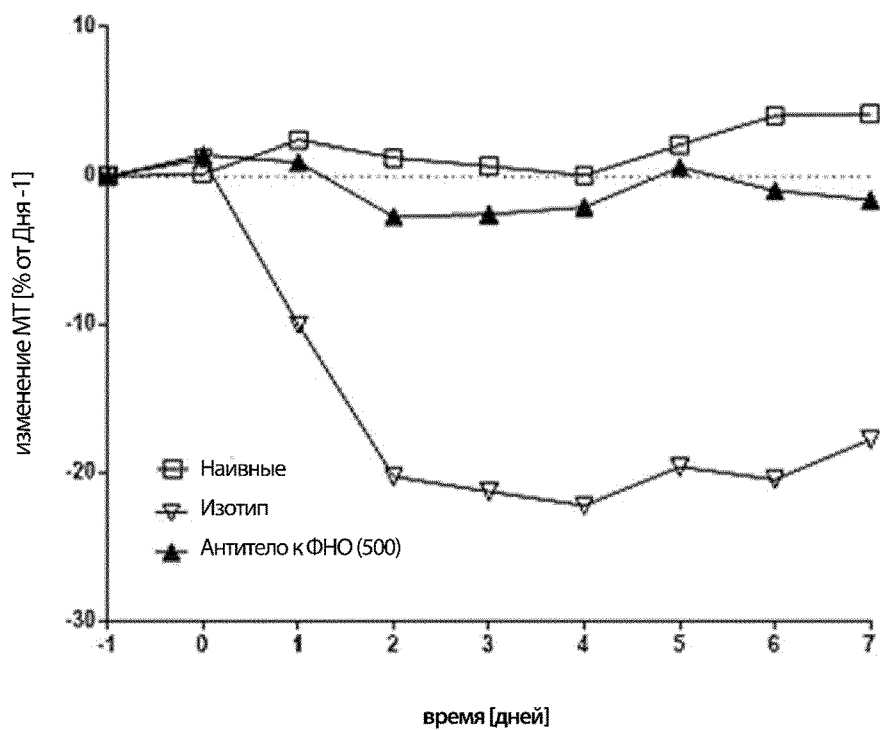
толстый кишечник — антитело к ФНО-α**ФИГ. 5В**

контрольные образцы



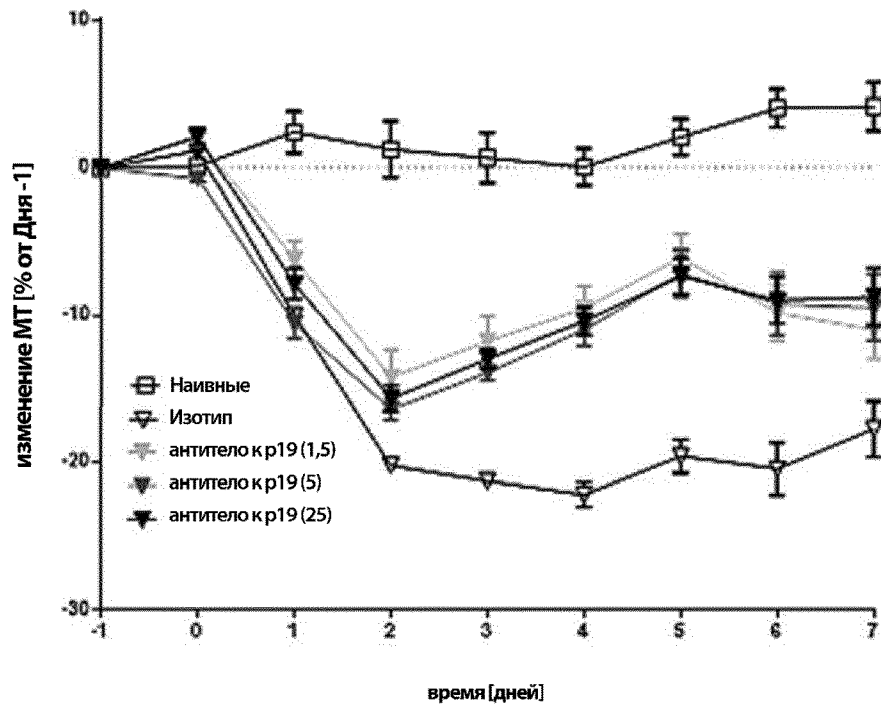
ФИГ. 6А

единичное антитело к ФНО-α



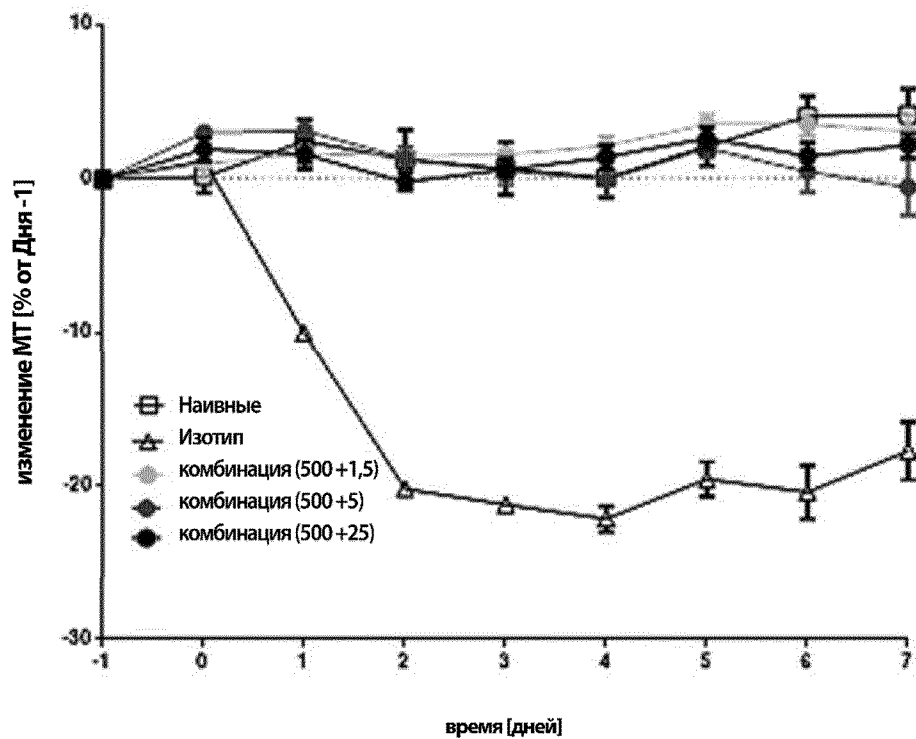
ФИГ. 6Б

единичное антитело к ИЛ-23p19



ФИГ. 6В

комбинации антител

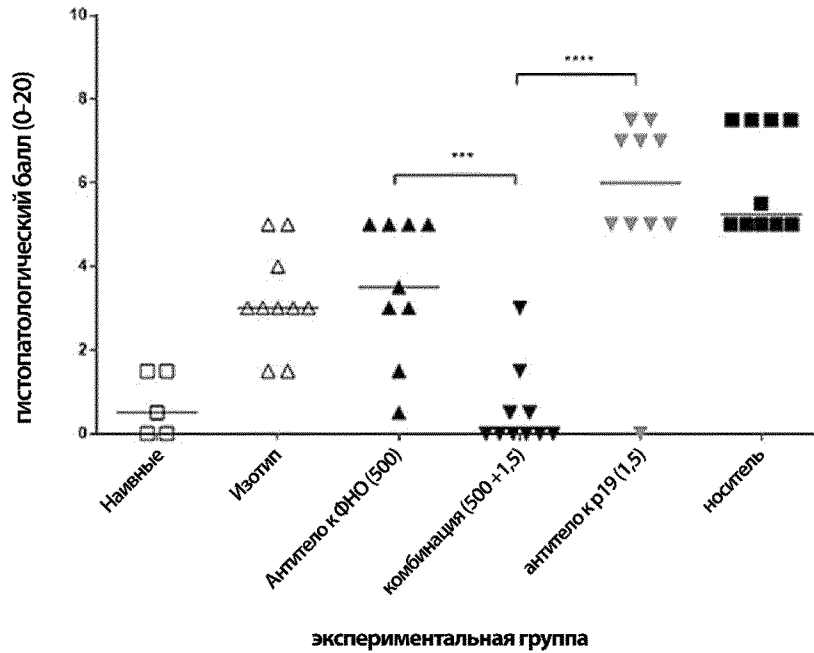


ФИГ. 6Г

время [дней]					время [дней]				
Лечение мАт	День -1	День 0	День 1	День 2	День 3	День 4	День 5	День 6	День 7
PBS	0,9999	0,9999	0,5254	0,1832	0,0129	0,0034	0,0427	0,1373	0,9994
500 мкг ФНО- α	0,9999	0,9997	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,9997
1,5 мкг ИЛ-23	0,9999	0,9938	0,1213	0,0021	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
5 мкг ИЛ-23	0,9999	0,8039	0,9996	0,1162	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0004
25 мкг ИЛ-23	0,9999	0,9936	0,6811	0,0368	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0009
500 мкг ФНО- α + 1,5 мкг ИЛ-23	0,9999	0,9999	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
500 мкг ФНО- α + 5 мкг ИЛ-23	0,9999	0,8292	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
500 мкг ФНО- α + 25 мкг ИЛ-23	0,9999	0,9977	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

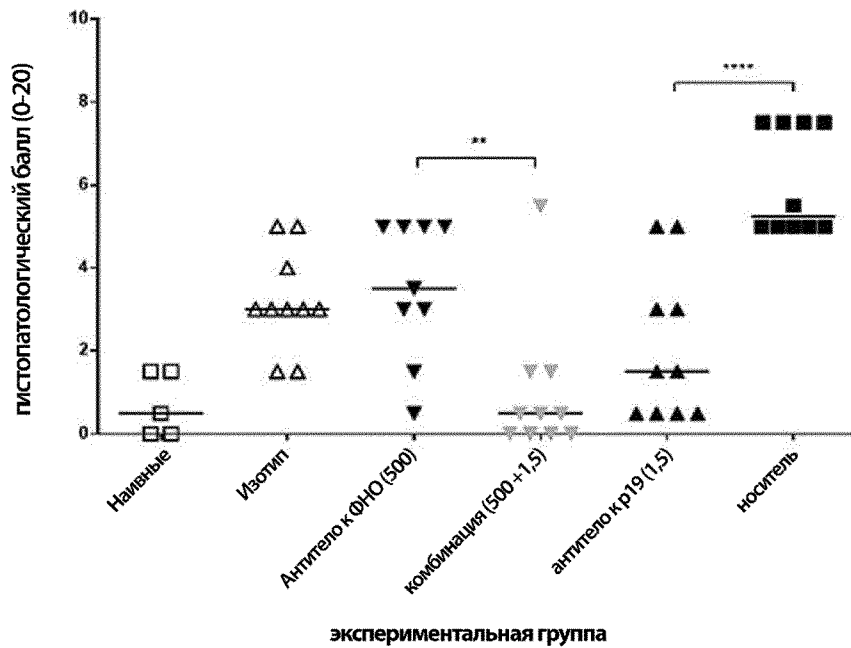
ФИГ. 6Д

гистопатологический балл для толстой кишки/
1,5 мкг антитела к ИЛ-23p19



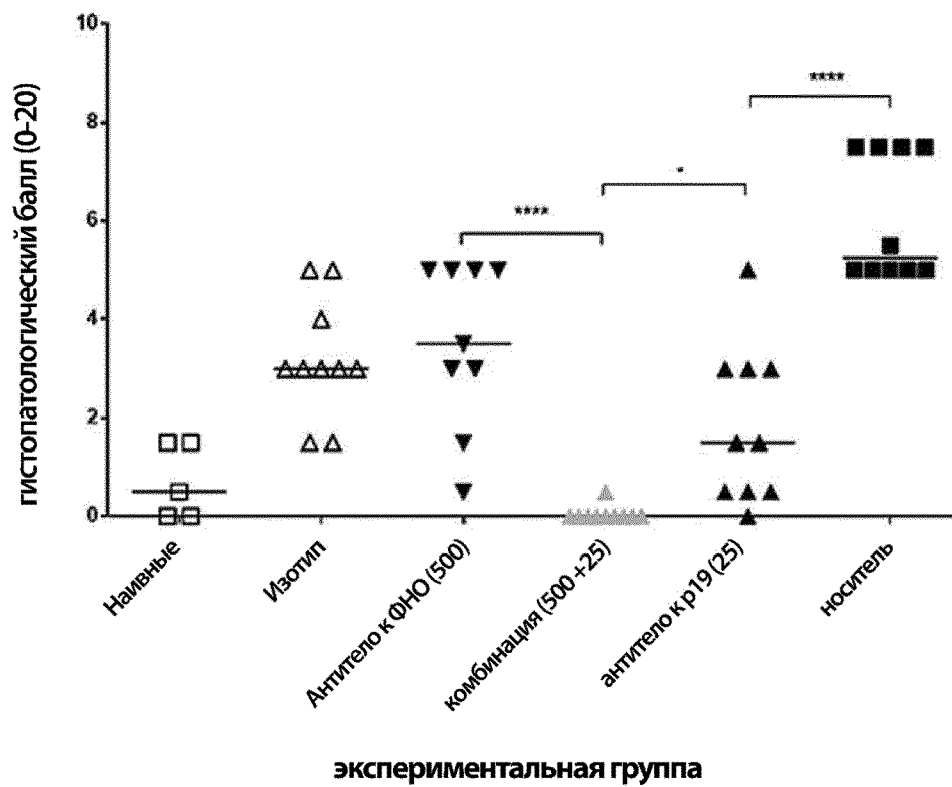
ФИГ. 7А

гистопатологический балл для толстой кишки/
5 мкг антитела к ИЛ-23p19

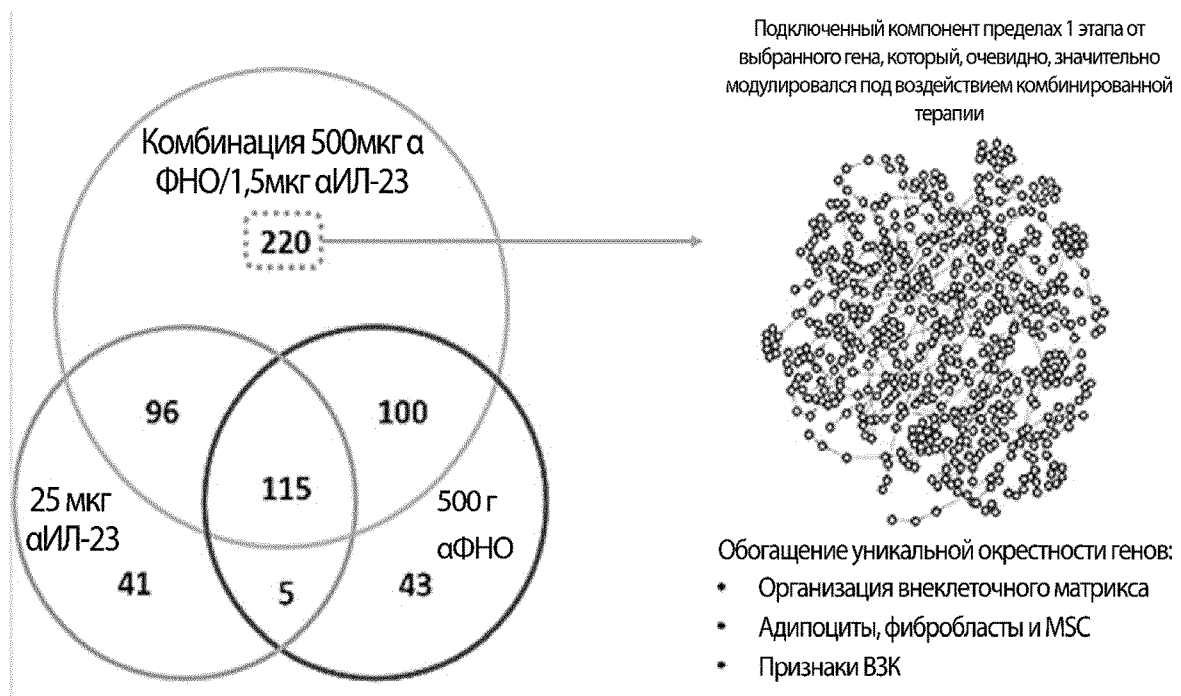


ФИГ. 7Б

**гистопатологический балл для толстой кишки/
2,5 мкг антитела к ИЛ-23p19**



ФИГ. 7В



ФИГ. 8