

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202390291 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.04.28

(51) Int. Cl. A61K 39/395 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2017.04.27

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ И РЕЖИМЫ ДОЗИРОВАНИЯ ДЛЯ
КЛИНИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АНТИТЕЛ ПРОТИВ АНТИГЕНА 2
ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК КРОВИ

(31) 62/328,959

(32) 2016.04.28

(33) US

(62) 201892443; 2017.04.27

(71) Заявитель:
БАЙОДЖЕН МА ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

Кребс Марк Р.Х., Дай Дэвид, Сьюл
Шантану, Рабах Даниа, Мартин Дэвид
(US)

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

(57) Предлагаются препараты и режимы дозирования антител против антигена 2 дендритных клеток крови (BDCA2). Эти препараты и режимы дозирования находят применение при лечении связанных с BDCA2 расстройств/заболеваний, таких как системная красная волчанка, кожная красная волчанка и дискоидная красная волчанка, а также синдром высвобождения цитокинов.

A1

202390291

202390291

A1

**ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ И РЕЖИМЫ ДОЗИРОВАНИЯ ДЛЯ
КЛИНИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АНТИТЕЛ ПРОТИВ АНТИГЕНА 2 ДЕНДРИТНЫХ
КЛЕТОК КРОВИ**

ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Данная заявка заявляет приоритет по предварительной заявке США № 62/328959, поданной 28 апреля 2016 года, содержание которой в полном объеме включено в данный документ посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Данная заявка в целом относится к фармацевтическим композициям и режимам дозирования для клинического использования антител против антигена 2 дендритных клеток крови.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Антиген 2 дендритных клеток крови (BDCA2) представляет собой лектин С-типа, экспрессируемый на плазмоцитоидных дендритных клетках человека (pDCs) (Dzionic et al., *J. Immunol.*, 165: 6037-6046 (2000)), специализированной популяции клеток, имеющих происхождение из костного мозга, которые секретируют интерфероны (IFN) I типа в ответ на лиганды толл-подобных рецепторов (TLR). BDCA2 состоит из одного С-концевого внеклеточного домена распознавания углеводов (CRD), который относится к группе лектинов типа II С-типа, трансмембранной области и короткого цитоплазматического хвоста на его N-конце, который не содержит сигнальный мотив. BDCA2 передает внутриклеточные сигналы через соответствующий трансмембранный адаптер FcεR1γ и индуцирует каскад подобный каскаду передачи сигнала В-клеточного рецептора (BCR).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное раскрытие относится, в частности, к композициям и режимам дозирования антител против BDCA2 или их BDCA2-связывающих фрагментов и их применению при лечении связанных с BDCA2 расстройств, таких как системная красная волчанка (СКВ), кожная красная волчанка (ККВ) и дискоидная красная волчанка (ДКВ).

В одном из аспектов изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент, сахарозу и гидрохлорид аргинина (Arg.HCl).

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, при этом VH и VL содержат CDR В1В059. В некоторых случаях шесть CDR В1В059 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO:1 или 17; SEQ ID NO:2; SEQ ID NO:3; SEQ ID NO:4; SEQ ID NO:5; и SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент в концентрации от 50 мг/мл до 225 мг/мл. В других вариантах осуществления изобретения композиция содержит антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент в концентрации от 125 мг/мл до 175 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент в концентрации 150 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит сахарозу в концентрации от 0,05 до 10%. В других вариантах осуществления изобретения композиция содержит сахарозу в концентрации от 1 до 5%. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит сахарозу в концентрации 3%.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит Arg.HCl в концентрации от 50 мМ до 250 мМ. В других вариантах осуществления изобретения композиция содержит Arg.HCl в концентрации от 75 мМ до 125 мМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит Arg.HCl в концентрации 100 мМ.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция дополнительно содержит Полисорбат-80 (PS80). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит PS80 в концентрации от 0,01 до 0.1%. В других вариантах осуществления изобретения композиция содержит PS80 в концентрации от 0,03 до 0.08%. В некоторых вариантах осуществления изобретения

композиция содержит PS80 в концентрации 0,05%.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция дополнительно содержит гистидин. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит гистидин в концентрации от 5 мМ до 50 мМ. В других вариантах осуществления изобретения композиция содержит гистидин в концентрации от 15 мМ до 25 мМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит гистидин в концентрации 20 мМ.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция имеет pH от 5,3 до 5,7. В других вариантах осуществления изобретения композиция имеет pH 5,5.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция дополнительно содержит метионин. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит метионин в концентрации от 1 мМ до 20 мМ. В других вариантах осуществления изобретения композиция содержит метионин в концентрации от 5 мМ до 15 мМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит метионин в концентрации 10 мМ.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция дополнительно содержит глутаминовую кислоту. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит глутаминовую кислоту в концентрации от 50 мМ до 100 мМ. В других вариантах осуществления изобретения композиция содержит глутаминовую кислоту в концентрации от 50 мМ до 80 мМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит глутаминовую кислоту в концентрации 70 мМ.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент в концентрации от 125 мкг/мл до 175 мкг/мл; сахарозу в концентрации от 1% до 5%; гистидин в концентрации от 15 мМ до 25 мМ; Arg.HCl в концентрации от 75 мМ до 125 мМ; и PS80 в концентрации от 0,03% до 0,08%. Композиция имеет pH от 5,3 до 5,7. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция дополнительно содержит метионин в концентрации от 5 мМ до 15 мМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция дополнительно содержит

глутаминовую кислоту в концентрации от 60 мМ до 80 мМ.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент в концентрации 150 мг/мл; сахарозу в концентрации 3%; гистидин в концентрации 20 мМ; Arg.HCl в концентрации 100 мМ; и PS80 в концентрации 0,05%. Композиция имеет pH 5,5. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция дополнительно содержит метионин в концентрации 10 мМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция дополнительно содержит глутаминовую кислоту в концентрации 70 мМ.

В некоторых вариантах осуществления изобретения VH содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере на 80% с SEQ ID NO:7, и VL содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере, на 80% с SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления изобретения VH содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере на 90% с SEQ ID NO:7, и VL содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере, на 90% с SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления изобретения VH содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO:7, и VL содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO:8.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 содержит тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина. В некоторых случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере на 80% с SEQ ID NO:9, а легкая цепь содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере, на 80% с SEQ ID NO:10. В других случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере на 90% с SEQ ID NO:9, а легкая цепь содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере, на 90% с SEQ ID NO:10. В других случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO:9, а легкая цепь содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO:10.

В еще одном варианте осуществления относится к способу

лечения состояния, выбранного из группы, состоящей из системной красной волчанки, кожной красной волчанки, дискоидной красной волчанки, синдрома Шегрена, дерматополимиозита, склеродермии и синдрома высвобождения цитокинов у субъекта-человека, нуждающегося в этом. Способ включает введение субъекту-человеку фармацевтической композиции, описанной в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическую композицию вводят субъекту-человеку подкожно.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент фармацевтической композиции вводят субъекту-человеку в дозировке 50 мг каждые четыре недели.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент фармацевтической композиции вводят субъекту-человеку в дозировке 150 мг каждые четыре недели.

В других вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент фармацевтической композиции вводят субъекту-человеку в дозировке 450 мг каждые четыре недели.

В еще одном варианте осуществления предлагает способ лечения состояния, выбранного из группы, состоящей из системной красной волчанки, кожной красной волчанки, дискоидной красной волчанки, синдрома Шегрена, дерматополимиозита, склеродермии и синдрома высвобождения цитокинов у субъекта-человека, нуждающегося в этом. Способ включает введение подкожно субъекту-человеку антитела против BDCA2 или его связывающего BDCA2 фрагмента в дозировке 50 мг каждые четыре недели. Антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина. VH и VL, соответственно, содержат:

Определяющие комплементарность области VH (CDR), где H-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1; H-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:2; и H-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в

SEQ ID NO:3; и CDR VL, где L-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:4; L-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:5; и L-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту-человеку вводят нагрузочную дозу антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента через две недели после первого введения антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых случаях нагрузочная доза составляет 50 мг.

В еще одном варианте осуществления предлагает способ лечения состояния, выбранного из группы, состоящей из системной красной волчанки, кожной красной волчанки, дискоидной красной волчанки, синдрома Шегрена, дерматополимиозита, склеродермии и синдрома высвобождения цитокинов у субъекта-человека, нуждающегося в этом. Способ включает введение подкожно субъекту-человеку антитела против BDCA2 или его связывающего BDCA2 фрагмента в дозировке 150 мг каждые четыре недели. Антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина. VH и VL, соответственно, содержат:

Определяющие комплементарность области VH (CDR), где H-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1; H-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:2; и H-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:3; и

CDR VL, где L-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:4; L-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:5; и L-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту-человеку вводят нагрузочную дозу антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента через две недели после первого

введения антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых случаях нагрузочная доза составляет 150 мг.

В еще одном варианте осуществления предлагает способ лечения состояния, выбранного из группы, состоящей из системной красной волчанки, кожной красной волчанки, дискоидной красной волчанки, синдрома Шегрена, дерматополимиозита, склеродермии и синдрома высвобождения цитокинов у субъекта-человека, нуждающегося в этом. Способ включает введение подкожно субъекту-человеку антитела против BDCA2 или его связывающего BDCA2 фрагмента в дозировке 450 мг каждые четыре недели. Антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина. VH и VL, соответственно, содержат: Определяющие комплементарность области VH (CDR), где H-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1; H-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:2; и H-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:3; и CDR VL, где L-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:4; L-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:5; и L-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту-человеку вводят нагрузочную дозу антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента через две недели после первого введения антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых случаях нагрузочная доза составляет 450 мг.

Эти варианты реализации изобретения применимы ко всем способам, описанным выше. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту-человеку вводят по меньшей мере 4 дозы антитела против BDCA2 или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту-человеку вводят по меньшей мере 7 доз антитела против BDCA2 или его

антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту-человеку вводят по меньшей мере 10 доз антитела против BDCA2 или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления изобретения VH содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере на 80% с SEQ ID NO:7, и VL содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере, на 80% с SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления изобретения VH содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере на 90% с SEQ ID NO:7, и VL содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере, на 90% с SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления изобретения VH содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO:7, и VL содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 содержит тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина. В некоторых случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере на 80% с SEQ ID NO:9, а легкая цепь содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере, на 80% с SEQ ID NO:10. В других случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере на 90% с SEQ ID NO:9, а легкая цепь содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере, на 90% с SEQ ID NO:10. В других случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO:9, а легкая цепь содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления изобретения состоянием является системная красная волчанка. В других вариантах осуществления изобретения состоянием является кожная красная волчанка (с СКВ или без нее). В некоторых вариантах осуществления изобретения состоянием является дискоидная красная волчанка (с СКВ или без нее). В некоторых вариантах осуществления изобретения состоянием является синдром освобождения цитокинов.

В еще одном варианте осуществления относится к шприцу, инъектору (например, автоинъектору, подкожному инъектору

большого объема) или насосу, содержащему стерильный препарат фармацевтической композиции, описанной в данном документе, адаптированный для подкожного введения антитела против BDCA2 или его связывающего BDCA2 фрагмента при фиксированной дозе 50 мг, 150 мг или 450 мг.

В другом аспекте данное изобретение предлагает шприц, инъектор или насос, содержащий стерильный препарат антитела против BDCA2 или его связывающего BDCA2 фрагмента. Шприц или насос приспособлены для подкожного введения антитела против BDCA2 или его связывающего BDCA2 фрагмента в фиксированной дозе 50 мг, 150 мг или 450 мг. Антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина. VH и VL, соответственно, содержащие: Определяющие комплементарность области VH (CDR), где H-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1; H-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:2; и H-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:3; и CDR VL, где L-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:4; L-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:5; и L-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах осуществления изобретения VH содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере на 80% с SEQ ID NO:7, и VL содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере, на 80% с SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления изобретения VH содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере на 90% с SEQ ID NO:7, и VL содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере, на 90% с SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления изобретения VH содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO:7, и VL содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против

BDCA2 содержит тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина. В некоторых случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере на 80% с SEQ ID NO:9, а легкая цепь содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере, на 80% с SEQ ID NO:10. В других случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере на 90% с SEQ ID NO:9, а легкая цепь содержит или состоит из последовательности, идентичной по меньшей мере, на 90% с SEQ ID NO:10. В других случаях тяжелая цепь содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO:9, а легкая цепь содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO:10.

В еще одном варианте осуществления предлагает фармацевтическую композицию, содержащую антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент, сахарозу и гидрохлорид аргинина (Arg.HCl), причем фармацевтическая композиция имеет pH от 5,0 до 6,5. В некоторых вариантах осуществления данного аспекта сахароза не является частью фармацевтической композиции.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, при этом VH и VL содержат CDR BIIB059. В некоторых случаях шесть CDR BIIB059 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO:1 или 17; SEQ ID NO:2; SEQ ID NO:3; SEQ ID NO:4; SEQ ID NO:5; и SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент в концентрации от 50 мг/мл до 225 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент в концентрации от 125 мг/мл до 175 мг/мл. В других вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент в концентрации 150 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая

композиция содержит антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент в концентрации 200 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент в концентрации 225 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит сахарозу в концентрации от 1 до 10%. В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит сахарозу в концентрации от 1 до 5%. В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит сахарозу в концентрации 1%. В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит сахарозу в концентрации 3%.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит Arg.HCl в концентрации от 50 мМ до 250 мМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит Arg.HCl в концентрации от 50 мМ до 200 мМ. В других вариантах осуществления изобретения композиция содержит Arg.HCl в концентрации от 75 мМ до 150 мМ. В других вариантах осуществления изобретения композиция содержит Arg.HCl в концентрации от 75 мМ до 125 мМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит Arg.HCl в концентрации от 100 мМ до 250 мМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит Arg.HCl в концентрации от 100 мМ до 200 мМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит Arg.HCl в концентрации 100 мМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит Arg.HCl в концентрации 250 мМ.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит Полисорбат-80. В некоторых случаях композиция содержит PS80 в концентрации от 0,02% до 0,08%. В других случаях композиция содержит PS80 в концентрации от 0,03% до 0,08%. В других случаях композиция содержит PS80 в концентрации 0,05%.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит гистидин. В некоторых

случаях композиция содержит гистидин в концентрации от 10 мМ до 30 мМ. В других случаях композиция содержит гистидин в концентрации от 15 мМ до 25 мМ. В других случаях композиция содержит гистидин в концентрации 20 мМ.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция имеет рН от 5,3 до 6,5. В некоторых случаях композиция имеет рН от 5,3 до 6,0. В некоторых случаях композиция имеет рН 5,5. В некоторых случаях композиция имеет рН 6,0.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит тиол-содержащий антиоксидант. В некоторых случаях тиол-содержащий антиоксидант представляет собой GSH, GSSG, комбинацию GSH и GSSG, цистина, цистеина или комбинацию цистеина и цистина. В одном случае тиол-содержащим антиоксидантом является GSH. В одном случае тиол-содержащим антиоксидантом является GSSG. В еще одном случае тиол-содержащий антиоксидант представляет собой комбинацию GSH и GSSG. В одном случае тиол-содержащим антиоксидантом является цистеин. В еще одном случае тиол-содержащий антиоксидант представляет собой комбинацию цистеина и цистина. В некоторых случаях тиол-содержащий антиоксидант присутствует в фармацевтической композиции в концентрации от 0,02 мМ до 2 мМ. В некоторых случаях тиол-содержащий антиоксидант присутствует в фармацевтической композиции в концентрации 0,2 мМ. В других случаях тиол-содержащий антиоксидант присутствует в фармацевтической композиции в концентрации 0,4 мМ. В некоторых случаях тиол-содержащий антиоксидант присутствует в фармацевтической композиции в концентрации от 1,0 мМ. В некоторых случаях GSH и GSSG присутствуют в фармацевтической композиции в концентрациях 0,4 мМ и 0,2 мМ соответственно. В других случаях цистеин и цистин присутствуют в фармацевтической композиции в концентрациях 0,4 мМ и 0,2 мМ соответственно.

В еще одном варианте осуществления предлагает фармацевтическую композицию, содержащую антитело против антигена 2 дендритных клеток крови (BDCA2) или его BDCA2-связывающий фрагмент и гистидин в концентрации от 10 мМ до 30 мМ, Arg.HCl в

концентрации от 50 мМ до 250 мМ и PS80 в концентрации от 0,02% до 0,08%, причем композиция имеет pH от 5,0 до 6,5.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, VH и VL, соответственно, содержащие определяющие комплементарность области VH (CDR), где VH-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1 или 17; VH-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:2; и VH-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:3; и CDR VL, где VL-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:4; VL-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:5; и VL-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент в концентрации от 50 мг/мл до 225 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит сахарозу в концентрации от 1% до 10%.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит тиол-содержащий антиоксидант. В некоторых случаях тиол-содержащий антиоксидант представляет собой GSH, GSSG, комбинацию GSH и GSSG, цистина, цистеина или комбинацию цистеина и цистина. В одном случае тиол-содержащим антиоксидантом является GSH. В одном случае тиол-содержащим антиоксидантом является GSSG. В еще одном случае тиол-содержащий антиоксидант представляет собой комбинацию GSH и GSSG. В одном случае тиол-содержащим антиоксидантом является цистеин. В еще одном случае тиол-содержащий антиоксидант представляет собой комбинацию цистеина и цистина. В некоторых случаях тиол-содержащий антиоксидант присутствует в

фармацевтической композиции в концентрации от 0,02 мМ до 2 мМ. В некоторых случаях тиол-содержащий антиоксидант присутствует в фармацевтической композиции в концентрации 0,2 мМ. В других случаях тиол-содержащий антиоксидант присутствует в фармацевтической композиции в концентрации 0,4 мМ. В некоторых случаях тиол-содержащий антиоксидант присутствует в фармацевтической композиции в концентрации от 1,0 мМ. В некоторых случаях GSH и GSSG присутствуют в фармацевтической композиции в концентрациях 0,4 мМ и 0,2 мМ соответственно. В других случаях цистеин и цистин присутствуют в фармацевтической композиции в концентрациях 0,4 мМ и 0,2 мМ соответственно.

В одном варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент в концентрации 150 мг/мл, сахарозу в концентрации 3%, гистидин в концентрации 20 мМ, Arg.HCl в концентрации 100 мМ, PS80 в концентрации 0,05%, и GSH или цистеин в концентрации 0,4 мМ. Композиция имеет pH 5,5. В некоторых случаях антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, VH и VL, соответственно, содержащие определяющие комплементарность области VH (CDR), где VH-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1 или 17; VH-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:2; и VH-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:3; и CDR VL, где VL-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:4; VL-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:5; и VL-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:6. В некоторых случаях сахароза не является частью данной композиции.

В другом варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент в концентрации 150 мг/мл, сахарозу в концентрации 3%, гистидин в концентрации 20 мМ, Arg.HCl в концентрации 100

мМ, PS80 в концентрации 0,05%, и GSSG или цистин в концентрации 0,2 мМ. Композиция имеет pH 5,5. В некоторых случаях антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, VH и VL, соответственно, содержащие области определения комплементарности VH (CDR), где VH-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1 или 17; VH-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:2; и VH-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:3; и CDR VL, где VL-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:4; VL-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:5; и VL-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:6. В некоторых случаях сахара не являются частью данной композиции.

В еще одном варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент в концентрации 150 мг/мл, сахарозу в концентрации 3%, гистидин в концентрации 20 мМ, Arg.HCl в концентрации 100 мМ, PS80 в концентрации 0,05%, и GSH (или цистеин) в концентрации 0,4 мМ и GSSG (или цистин) в концентрации 0,2 мМ. Композиция имеет pH 5,5. В некоторых случаях антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, VH и VL, соответственно, содержащие определяющие комплементарность области VH (CDR), где VH-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1 или 17; VH-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:2; и VH-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:3; и CDR VL, где VL-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:4; VL-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:5; и VL-CDR3 состоит из

аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:6. В некоторых случаях сахара не является частью данной композиции.

В еще одном варианте осуществления относится к фармацевтической композиции, содержащей антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент в концентрации 200 мг/мл, сахарозу в концентрации 3%, гистидин в концентрации 20 мМ, Arg.HCl в концентрации 250 мМ, и PS80 в концентрации 0,05%. Композиция имеет pH 6,0. Данная фармацевтическая композиция особенно подходит для подкожного введения субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых случаях антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, VH и VL, соответственно, содержащие определяющие комплементарность области VH (CDR), где VH-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1 или 17; VH-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:2; и VH-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:3; и CDR VL, где VL-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:4; VL-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:5; и VL-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:6. В некоторых случаях сахара не является частью данной композиции.

В еще одном аспекте раскрытие относится к фармацевтической композиции, содержащей антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент в концентрации 225 мг/мл, сахарозу в концентрации 1%, гистидин в концентрации 20 мМ, Arg.HCl в концентрации 250 мМ, и PS80 в концентрации 0,05%. Композиция имеет pH 6,0. Данная фармацевтическая композиция особенно подходит для подкожного введения субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых случаях антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, VH и VL, соответственно, содержащие определяющие комплементарность

области VH (CDR), где VH-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1 или 17; VH-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:2; и VH-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:3; И CDR VL, где VL-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:4; VL-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:5; и VL-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:6. В некоторых случаях сахара не является частью данной композиции.

В некоторых вариантах осуществления вышеуказанных двух аспектов фармацевтическая композиция содержит тиол-содержащий антиоксидант. В некоторых случаях тиол-содержащий антиоксидант представляет собой GSH, GSSG, комбинацию GSH и GSSG, цистина, цистеина или комбинацию цистеина и цистина. В одном случае тиол-содержащим антиоксидантом является GSH. В одном случае тиол-содержащим антиоксидантом является GSSG. В еще одном случае тиол-содержащий антиоксидант представляет собой комбинацию GSH и GSSG. В одном случае тиол-содержащим антиоксидантом является цистеин. В еще одном случае тиол-содержащий антиоксидант представляет собой комбинацию цистеина и цистина. В некоторых случаях тиол-содержащий антиоксидант присутствует в фармацевтической композиции в концентрации от 0,02 mM до 2 mM. В некоторых случаях тиол-содержащий антиоксидант присутствует в фармацевтической композиции в концентрации 0,2 mM. В других случаях тиол-содержащий антиоксидант присутствует в фармацевтической композиции в концентрации 0,4 mM. В некоторых случаях тиол-содержащий антиоксидант присутствует в фармацевтической композиции в концентрации 1,0 mM. В некоторых случаях GSH и GSSG присутствуют в фармацевтической композиции в концентрациях 0,4 mM и 0,2 mM соответственно. В других случаях цистеин и цистин присутствуют в фармацевтической композиции в концентрациях 0,4 mM и 0,2 mM соответственно.

Эти варианты реализации изобретения применимы ко всем аспектам, описанным выше. В некоторых вариантах осуществления

изобретения антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент содержит VH и VL, причем VH состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной, по меньшей мере на 90% идентичной, по меньшей мере на 95% идентичной, по меньшей мере на 96% идентичной, по меньшей мере на 97% идентичной, по меньшей мере на 98% идентичной, по меньшей мере на 99% идентичной или на 100% идентичной с SEQ ID NO:7; и VL состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной, по меньшей мере на 90% идентичной или по меньшей мере на 95% идентичной, по меньшей мере на 96% идентичной, по меньшей мере на 97% идентичной, по меньшей мере на 98% идентичной, по меньшей мере на 99% идентичной, или на 100% идентичной с SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент содержит тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина, причем тяжелая цепь состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной, по меньшей мере на 90% идентичной, по меньшей мере на 95% идентичной, по меньшей мере на 96% идентичной, по меньшей мере на 97% идентичной, по меньшей мере на 98% идентичной, по меньшей мере на 99% идентичной или на 100% идентичной с SEQ ID NO:9; и легкая цепь состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной, по меньшей мере на 90% идентичной, по меньшей мере на 95% идентичной, по меньшей мере на 96% идентичной, по меньшей мере на 97% идентичной, по меньшей мере на 98% идентичной, по меньшей мере на 99% идентичной, или на 100% идентичной с SEQ ID NO:10.

В еще одном варианте осуществления относится к способу лечения состояния, выбранного из группы, состоящей из системной красной волчанки, кожной красной волчанки, дискоидной красной волчанки, синдрома Шегрена, дерматополимиозита, склеродермии и синдрома высвобождения цитокинов у субъекта-человека, нуждающегося в этом. Способ включает введение субъекту-человеку фармацевтической композиции, содержащей антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент, описанные в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция вводится субъекту-человеку подкожно.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент фармацевтической композиции вводят субъекту-человеку в дозировке 25 мг каждые четыре недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент фармацевтической композиции вводят субъекту-человеку в дозировке 50 мг каждые четыре недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент фармацевтической композиции вводят субъекту-человеку в дозировке 150 мг каждые четыре недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент фармацевтической композиции вводят субъекту-человеку в дозировке 450 мг каждые четыре недели. В некоторых случаях антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент фармацевтической композиции вводят субъекту-человеку в дозировке, соответствующей массе субъекта-человека, как указано ниже:

Масса Доза

10-18 кг 18 мг каждые четыре недели

18,1-25 кг 22 мг каждые четыре недели

25,1-48 кг 28 мг каждые четыре недели

более 48 кг 50 мг каждые четыре недели

В некоторых случаях антитело против BDCA2 или его связывающий BDCA2 фрагмент фармацевтической композиции вводят субъекту-человеку в дозировке, соответствующей массе субъекта-человека, как указано ниже:

Масса Доза

10-18 кг 40 мг каждые четыре недели

18,1-25 кг 56 мг каждые четыре недели

25,1-48 кг 80 мг каждые четыре недели

более 48 кг 150 мг каждые четыре недели

В еще одном варианте осуществления предлагает способ лечения состояния, выбранного из группы, состоящей из системной красной волчанки, кожной красной волчанки, дискоидной красной волчанки, синдрома Шегрена, дерматополимиозита, склеродермии и синдрома высвобождения цитокинов у субъекта-человека, нуждающегося в

этом. Способ включает введение подкожно субъекту-человеку антитела против BDCA2 или его связывающего BDCA2 фрагмента в дозировке, соответствующей массе субъекта-человека, как указано ниже:

Масса Доза

10-18 кг 18 мг каждые четыре недели

18,1-25 кг 22 мг каждые четыре недели

25,1-48 кг 28 мг каждые четыре недели

более 48 кг 50 мг каждые четыре недели

В некоторых случаях антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, VH и VL, соответственно, содержащие определяющие комплементарность области VH (CDR), где VH-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1 или 17; VH-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:2; и VH-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:3; и CDR VL, где VL-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:4; VL-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:5; и VL-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:6. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент содержит VH и VL, причем VH состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной, по меньшей мере на 90% идентичной, по меньшей мере на 95% идентичной, по меньшей мере на 96% идентичной, по меньшей мере на 97% идентичной, по меньшей мере на 98% идентичной, по меньшей мере на 99% идентичной или на 100% идентичной с SEQ ID NO:7; и VL состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной, по меньшей мере на 90% идентичной или по меньшей мере на 95% идентичной, по меньшей мере на 96% идентичной, по меньшей мере на 97% идентичной, по меньшей мере на 98% идентичной, по меньшей мере на 99% идентичной, или на 100% идентичной с SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления

изобретения антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент содержит тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина, причем тяжелая цепь состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной, по меньшей мере на 90% идентичной, по меньшей мере на 95% идентичной, по меньшей мере на 96% идентичной, по меньшей мере на 97% идентичной, по меньшей мере на 98% идентичной, по меньшей мере на 99% идентичной или на 100% идентичной с SEQ ID NO:9; и легкая цепь состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной, по меньшей мере на 90% идентичной, по меньшей мере на 95% идентичной, по меньшей мере на 96% идентичной, по меньшей мере на 97% идентичной, по меньшей мере на 98% идентичной, по меньшей мере на 99% идентичной, или на 100% идентичной с SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 20 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 18 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 16 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 14 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 12 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 10 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 8 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 6 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 4 года или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 2 года или менее.

В еще одном аспекте раскрытие относится к способу лечения состояния, выбранного из группы, состоящей из системной красной волчанки, кожной красной волчанки, дискоидной красной волчанки, синдрома Шегрена, дерматополимиозита, склеродермии и синдрома высвобождения цитокинов у субъекта-человека, нуждающегося в этом. Способ включает введение подкожно субъекта-человеку

антитела против BDCA2 или его связывающего BDCA2 фрагмента в дозировке, соответствующей массе субъекта-человека, как указано ниже:

Масса Доза

10-18 кг 40 мг каждые четыре недели

18,1-25 кг 56 мг каждые четыре недели

25,1-48 кг 80 мг каждые четыре недели

более 48 кг 150 мг каждые четыре недели

В некоторых случаях антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, VH и VL, соответственно, содержащие определяющие комплементарность области VH (CDR), где VH-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1 или 17; VH-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:2; и VH-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:3; и CDR VL, где VL-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:4; VL-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:5; и VL-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:6. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент содержит VH и VL, причем VH состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной, по меньшей мере на 90% идентичной, по меньшей мере на 95% идентичной, по меньшей мере на 96% идентичной, по меньшей мере на 97% идентичной, по меньшей мере на 98% идентичной, по меньшей мере на 99% идентичной или на 100% идентичной с SEQ ID NO:7; и VL состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной, по меньшей мере на 90% идентичной или по меньшей мере на 95% идентичной, по меньшей мере на 96% идентичной, по меньшей мере на 97% идентичной, по меньшей мере на 98% идентичной, по меньшей мере на 99% идентичной, или на 100% идентичной с SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент

содержит тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина, причем тяжелая цепь состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной, по меньшей мере на 90% идентичной, по меньшей мере на 95% идентичной, по меньшей мере на 96% идентичной, по меньшей мере на 97% идентичной, по меньшей мере на 98% идентичной, по меньшей мере на 99% идентичной или на 100% идентичной с SEQ ID NO:9; и легкая цепь состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной, по меньшей мере на 90% идентичной, по меньшей мере на 95% идентичной, по меньшей мере на 96% идентичной, по меньшей мере на 97% идентичной, по меньшей мере на 98% идентичной, по меньшей мере на 99% идентичной, или на 100% идентичной с SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 20 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 18 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 16 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 14 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 12 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 10 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 8 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 6 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 4 года или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения возраст субъекта-человека составляет 2 года или менее.

В еще одном варианте осуществления относится к шприцу или насосу, содержащему стерильный препарат фармацевтической композиции, описанной в данном документе, адаптированный для подкожного введения антитела против BDCA2 или его связывающего BDCA2 фрагмента при фиксированной дозе 18 мг, 22 мг, 25 мг, 28 мг, 40 мг, 50 мг, 56 мг, 80 мг, 150 мг, или 450 мг.

В еще одном варианте осуществления относится к шприцу или

насосу, содержащему стерильный препарат фармацевтической композиции, описанной в данном документе, адаптированный для подкожного введения антитела против BDCA2 или его связывающего BDCA2 фрагмента при фиксированной дозе 18 мг, 22 мг, 25 мг, 28 мг, 40 мг, 50 мг, 56 мг, 80 мг, 150 мг, или 450 мг, причем антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, VH и VL, соответственно, содержащие определяющие комплементарность области VH (CDR), где VH-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1 или 17; VH-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:2; и VH-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:3; И CDR VL, где VL-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:4; VL-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:5; и VL-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:6. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент содержит VH и VL, причем VH состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной, по меньшей мере на 90% идентичной, по меньшей мере на 95% идентичной, по меньшей мере на 96% идентичной, по меньшей мере на 97% идентичной, по меньшей мере на 98% идентичной, по меньшей мере на 99% идентичной или на 100% идентичной с SEQ ID NO:7; и VL состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной, по меньшей мере на 90% идентичной или по меньшей мере на 95% идентичной, по меньшей мере на 96% идентичной, по меньшей мере на 97% идентичной, по меньшей мере на 98% идентичной, по меньшей мере на 99% идентичной, или на 100% идентичной с SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент содержит тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина, причем тяжелая цепь состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной, по меньшей мере на 90% идентичной, по меньшей мере на 95% идентичной, по

меньшей мере на 96% идентичной, по меньшей мере на 97% идентичной, по меньшей мере на 98% идентичной, по меньшей мере на 99% идентичной или на 100% идентичной с SEQ ID NO:9; и легкая цепь состоит из последовательности по меньшей мере на 80% идентичной, по меньшей мере на 90% идентичной, по меньшей мере на 95% идентичной, по меньшей мере на 96% идентичной, по меньшей мере на 97% идентичной, по меньшей мере на 98% идентичной, по меньшей мере на 99% идентичной, или на 100% идентичной SEQ ID NO:10.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в данной области техники, к которой относится данное изобретение. Хотя способы и материалы, аналогичные или эквивалентные описанным в данном документе, могут быть использованы в практике или испытаниях данного изобретения, далее в данном документе описаны типовые способы и материалы. Все публикации, патентные заявки, патенты и другие ссылки, упомянутые в данном документе, включены в полном объеме посредством ссылки. В случае конфликта данная заявка, включая определения, будет иметь приоритет. Материалы, способы и примеры являются только иллюстративными и не должны рассматриваться как ограничивающие.

Другие особенности и преимущества изобретения станут понятны из следующего подробного описания и из формулы изобретения.

Краткое Описание Графических Материалов

ФИГ.1 представляет собой график, на котором изображена вязкость препарата антителя.

ФИГ.2А представляет собой график, на котором изображена агрегация антител против BDCA2, приготовленных в концентрации 150 мг/мл в препарате, содержащем 20 mM буфера, как показано, 140 mM Arg.HCl и 0,05% PS80 после 0-4 недель инкубации при температуре 40 °C. Буферы обозначены символами, изображенными на фигуре.

ФИГ.2В представляет собой график, на котором изображена агрегация антител против BDCA2, приготовленных в концентрации

150 мг/мл в препарате, содержащем 20 мМ буфера, как показано, 140 мМ Arg.HCl и 0,05% PS80 после 0-3 месяцев инкубации при температуре 5 °С. Буферы обозначены с использованием тех же символов, что изображены на Фиг.2А.

ФИГ.2С представляет собой график, на котором изображена агрегация антител против BDCA2, приготовленных в концентрации 200 мг/мл в препарате, содержащем 20 мМ буфера, как показано, 140 мМ Arg.HCl и 0,05% PS80 после 0-3 месяцев инкубации при температуре 5 °С. Буферы обозначены с использованием тех же символов, что изображены на Фиг.2А.

ФИГ.2D представляет собой график, на котором изображена агрегация антител против BDCA2, приготовленных в концентрации 225 мг/мл в препарате, содержащем 20 мМ буфера, как показано, 140 мМ Arg.HCl и 0,05% PS80 после 0-3 месяцев инкубации при температуре 5 °С. Буферы обозначены с использованием тех же символов, что изображены на Фиг.2А.

ФИГ.3 представляет собой гистограмму, на которой изображена вязкость антител против BDCA2 при различных значениях pH (5,5, 6 или 6,5), концентрации (150 мг/мл, 225 мг/мл или 250 мг/мл) и в разных буферах (цитрат или гистидин).

ФИГ.4 представляет собой график, на котором изображена агрегация BDCA2 при 225 нг/мл в указанных препаратах.

ФИГ.5А представляет собой гистограмму, на которой изображено образование не видимых невооруженным глазом частиц (частицы ≥ 2 мкм) в начальный момент времени (первый столбик), через 2 недели при 25°C (второй столбик) или 2 недели при 5°C (третий столбик). Концентрация частиц отображена на логарифмической шкале. Препараты содержали эксципиент(ы), а также 20 мМ цитрата, pH 6,0, 0,05% PS80.

ФИГ.5В представляет собой гистограмму, на которой изображено образование не видимых невооруженным глазом частиц (частицы ≥ 10 мкм) в начальный момент времени (первый столбик), через 2 недели при 25°C (второй столбик) или 2 недели при 5°C (третий столбик). Концентрация частиц отображена на логарифмической шкале. Приготовления содержали указанный(е) эксципиент(ы), а также 20

мМ цитрата, рН 6,0, и 0,05% PS80.

ФИГ. 6 представляет собой гистограмму, на которой изображена агрегация в начальный момент времени (первый столбик), через 2 недели при температуре 25°C (второй столбик) или 2 недели при температуре 5°C (третий столбик). Приготовления содержали указанные эксципиенты, а также 20 мМ цитрата, рН 6,0, и 0,05% PS80.

ФИГ. 7 представляет собой график, на котором проведено сравнение агрегации 150 мг/мл антитела против BDCA2, приготовленного в Препарате 2 (20 мМ His, 100 мМ Arg.HCl, 3% сахарозы, 0,05% PS80, рН 5,5) с Препаратом 1 (20 мМ цитрата, 140 мМ Arg.HCl, 0,05% PS80, рН 6,0). На левой панели изображена агрегация при температуре 50 °C от 0 до 3 месяцев; на правой панели изображена агрегация при температуре 25 °C от 0 до 3 месяцев. На графиках Препарат 1 обозначен как «Cit 150», а Препарат 2 обозначен как «His 150».

ФИГ. 8 представляет собой график, на котором изображена вязкость антитела против BDCA2 в Препарате 2.

ФИГ. 9 представляет собой график, на котором изображен процент высокомолекулярных соединений, которые со временем образуются при температуре 5 °C в десяти тестируемых препаратах. Текст легенды относится к: концентрации белка (мг/мл) / аргинин.HCl (мМ) / сахароза (%) / рН.

ФИГ. 10 представляет собой график, на котором изображен процент высокомолекулярных соединений, которые со временем образуются при температуре 25 °C в десяти тестируемых препаратах. Текст легенды относится к: концентрации белка (мг/мл) / аргинин.HCl (мМ) / сахароза (%) / рН.

ФИГ. 11 представляет собой график, на котором изображен процент высокомолекулярных соединений, которые со временем образуются при температуре 30 °C в десяти тестируемых препаратах. Текст легенды относится к: концентрации белка (мг/мл) / аргинин.HCl (мМ) / сахароза (%) / рН.

ФИГ. 12 представляет собой график, на котором изображен процент высокомолекулярных соединений, которые со временем

образуются при температуре 40 °C в десяти тестируемых препаратах. Текст легенды относится к: концентрации белка (мг/мл) / аргинин.HCl (мМ) / сахароза (%) / pH.

ФИГ.13 представляет собой график, на котором изображен процент основных изоформ, которые со временем образуются при температуре 25 °C в десяти тестируемых препаратах. Текст легенды относится к: концентрации белка (мг/мл) / аргинин.HCl (мМ) / сахароза (%) / pH.

ФИГ.14 представляет собой график, на котором изображен процент основных изоформ, которые со временем образуются при температуре 30 °C в десяти тестируемых препаратах. Текст легенды относится к: концентрации белка (мг/мл) / аргинин.HCl (мМ) / сахароза (%) / pH.

ФИГ.15 представляет собой график, на котором изображен процент основных изоформ, которые со временем образуются при температуре 40 °C в десяти тестируемых препаратах. Текст легенды относится к: концентрации белка (мг/мл) / аргинин.HCl (мМ) / сахароза (%) / pH.

ФИГ.16 представляет собой график, на котором изображен процент основных изоформ, которые со временем образуются при температуре 5 °C в десяти тестируемых препаратах. Текст легенды относится к: концентрации белка (мг/мл) / аргинин.HCl (мМ) / сахароза (%) / pH.

На **ФИГ.17** представлены графики, на которых изображен процент высокомолекулярных (HMW) соединений в препаратах антитела против BCDA2, содержащих сахарозу (150 мг/мл антитела, 20 мМ гистидина, 100 мМ Arg.HCl, 3% сахарозы, 0,05% PS80, pH 5,5) с или без GSH (0,4 мМ) при температурах 25 °C и 40 °C.

На **ФИГ.18** представлено наложение графика Фигуры 17 с графиком, на котором изображен процент высокомолекулярных соединений в препаратах антитела против BDCA2 без сахарозы (150 мг/мл антитела, 20 мМ гистидина, 100 мМ Arg.HCl, 0,05% PS80, pH 5.5) с или без GSH (0,4 мМ) при температурах 25°C и 40°C. Это демонстрирует, что присутствие сахарозы не влияет на действие GSH.

На **ФИГ. 19** представлены графики, на которых изображено процентное содержание высокомолекулярных соединений BENEPAI® (этанерцепт, ссылка на биоаналог Enbrel®) (50 мг/мл SB4, 10 mM фосфата натрия, 140 mM NaCl, 1% сахарозы, pH 6,2) с GSH или без него (0,4 mM) при температурах 25°C и 40°C.

На **ФИГ. 20** представлены графики, на которых изображен процент высокомолекулярных соединений в приготовлениях антитела против $\alpha\nu\beta 5$ (STX200) (50 мг/мл антитела, 20 mM гистидина, 5% сорбита, 0,05% PS80, pH 6,5) с или без GSH (0,4 mM) при температурах 25°C и 40°C.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В данной заявке предложены фармацевтические композиции и режимы дозирования антител против BDCA2 и их связывающих BDCA2 фрагментов и их применение при лечении связанных с BDCA2 расстройств (например, СКВ, ККВ и ДКВ).

BDCA2

BDCA2 представляет собой лектин типа C типа II, который специфически экспрессируется на плазмоцитоидных дендритных клетках (pDCs). BDCA2 состоит из одного внеклеточного домена распознавания углеводов (CRD), на его C-конце, трансмембранной области и короткого цитоплазматического хвоста на его N-конце, который не содержит сигнальный мотив. BDCA2 передает внутриклеточные сигналы через соответствующий трансмембранный адаптер, Fc ϵ RI γ . Антитело-опосредованное лигирование BDCA2 приводит к рекрутированию тирозинкиназы селезенки (SYK) к фосфорилированному тирозиновому мотиву активации иммунорецептора (ITAM) Fc ϵ RI γ . Активация SyK приводит к активации B-клеточного линкера (Blnk), тирозинкиназы Bruton (BTK) и фосфолипазы C $\gamma 2$ (PLC $\gamma 2$), что приводит к мобилизации Ca²⁺.

Далее показана аминокислотная последовательность белка BDCA2 человека (Genbank® номер доступа NP_569708.1) (трансмембранный домен выделен курсивом, эктодомен подчеркнут).

```
1 MVPEEEEPQDR EKGLWWFQLK VWSMAVVSIL LLSVCFTVSS VVPHNFMYSK
51 TVKRLSKLRE YQQYHPSLTC VMEGKDIEDW SCCPTPWTSF QSSCYFISTG
```

101 MQSWTKSQKN CSVMGADLVV INTREEQDFI IQNLKRNSSY FLGLSDPGGR
 151 RHWQWVDQTP YNENVTFWHS GEPNNLDERC AIINFRSSEE WGWNDIHCNV
 201 PQKSICKMKK IYI* (SEQ ID NO:29)

Далее показана аминокислотная последовательность человеческого FcεRIγ (Genbank® номер доступа NP_004097.1).

1 MIPAVVLLLL LLVEQAAALG EPQLCYILDA ILFLYGIVLT LLYCRLKIQV
 51 RKAAITSYEK SDGVYTGLST RNQETYETLK HEKPPQ* (SEQ ID NO:30)

Антитела против BDCA2

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент, используемый в композициях и способах, описанных в данном документе, содержит три определяющие комплементарность области переменного домена тяжелой цепи (CDR) антитела, обозначенного как «BIIIB059». В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит три CDR переменного домена легкой цепи BIIIB059. В других вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит три CDR переменного домена тяжелой цепи и три CDR переменного домена легкой цепи BIIIB059. CDR могут быть основаны на любом определении CDR в данной области техники, например, определениях Kabat, Chothia, Chothia от Abysis, улучшенной Chothia/AbM или на основе определения контакта. CDR последовательности BIIIB059 в соответствии с этими типовыми определениями CDR приведены в Таблице 1 ниже.

Таблица 1: Последовательности CDR BIIIB059

Домен	Kabat	Chothia, от Abysis	Улучшенная Chothia/AbM	Контакт
VH CDR1	TYTMS (SEQ ID NO:1)	GFTFSTY (SEQ ID NO:11)	GFTFSTYTMS (SEQ ID NO:17)	STYTMS (SEQ ID NO:23)
VH CDR2	TISPGDSFGYYYPI G (SEQ ID NO:2)	SPGDSFG (SEQ ID NO:12)	TISPGDSFGYY (SEQ ID NO:18)	WVATISPGDSFGYY (SEQ ID NO:24)
VH CDR3	DIYNYGAWFAY (SEQ ID NO:3)	DIYNYGAWFAY (SEQ ID NO:13)	DIYNYGAWFAY (SEQ ID NO:19)	TRDIYNYGAWFA (SEQ ID NO:25)
VL CDR1	KASQSVDYDGDSYM (SEQ ID NO:4)	KASQSVDYDGDSYMN (SEQ ID NO:14)	KASQSVDYDGDSYMN (SEQ ID NO:20)	DYDGDSYMNWY (SEQ ID NO:26)
VL CDR2	AASTLES (SEQ ID NO:5)	AASTLES (SEQ ID NO:15)	AASTLES (SEQ ID NO:21)	LLIYAASTLE (SEQ ID NO:27)

VL CDR3	QQANEDPRT (SEQ ID NO:6)	QQANEDPRT (SEQ ID NO:16)	QQANEDPRT (SEQ ID NO:22)	QQANEDPR (SEQ ID NO:28)
---------	----------------------------	-----------------------------	-----------------------------	----------------------------

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит VH CDR1, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1 или 17, VH CDR2, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:2; и VH CDR3, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:3. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит VL CDR1, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:4, VL CDR2, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:5; и VL CDR3, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит CDR, содержащие или состоящие из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO:1-6. В других вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит CDR, содержащие или состоящие из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO:11-16. В других вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит CDR, содержащие или состоящие из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO:17-22. В других вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит CDR, содержащие или состоящие из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO:23-28. В одном варианте реализации изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит VH CDR1, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1 или 17, VH CDR2, содержащий или состоящий из аминокислотной

последовательности, представленной в SEQ ID NO:2; и VH CDR3, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:3; и VL CDR1, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:4, VL CDR2, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:5; и VL CDR3, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:6.

BIIB059 представляет собой типовое антитело против BDCA2, которое может быть использовано в композициях и способах, описанных в данном документе. BIIB059 представляет собой гуманизированное антитело, имеющее две гликозилированные тяжелые цепи IgG1 человека и две легкие цепи каппа человека, которые специфически связываются с BDCA2 на поверхности плазматоидных дендритных клеток. Последовательность IgG1 дикого типа содержит один N-опосредованный сайт гликозилирования и связывается с Fc-рецепторами с аффинностью, характерной для этого класса молекул. Это моноклональное антитело IgG1, специфичное для Fc, обладает высокой аффинностью к BDCA2 и одинаково хорошо связывается с природным BDCA2 человека и макака-крабоеда (яванского макака). BIIB059 является сильным ингибитором всех TLR9-индуцированных интерферонов I типа (IFN), а также других цитокинов и хемокинов с помощью pDC. BIIB059 одинаково эффективен при ингибировании TLR9-индуцированного интерферона I типа с помощью pDC от здоровых доноров-людей и пациентов с СКВ. BIIB059 специфически ингибирует TLR9-индуцированный IFN типа I с помощью pDC и не влияет на продукцию IFN другими типами клеток, вызванную другим лигандом TLR. BIIB059 также вызывает быструю интернализацию BDCA2 с поверхности клетки. При стимуляции BDCA2 локализуется совместно с TLR9 в эндосомальном/лизосомальном компартменте, что является, по-видимому, необходимым для его ингибирования передачи сигналов TLR9. Было также обнаружено, что BIIB059 вызывает отделение CD62L с поверхности pDC человека. Исследования *in vitro* антитело-зависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (ADCC) и комплементарно-зависимой цитотоксичности (CDC) показывают, что BIIB059 может иметь

активность элиминации клеток в клеточных линиях, сверхэкспрессирующих BDCA2.

Вариабельная тяжелая цепь (VH) B1IB059 содержит или состоит из следующей аминокислотной последовательности:

DVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS TYTMSWVRQA PGKGLEWVAT
ISPGDSFGYY YPDSVQGRFT ISRDNAKNSL YLQMNSLRAE DTAVYYCTRD
IYYNYGAWFA YWGQGTTLVTV SS (SEQ ID NO:7)

Вариабельная легкая цепь (VL) B1IB059 содержит или состоит из следующей аминокислотной последовательности:

DIQLTQSPSS LSASVGDRVIT ITCKASQSVD YDGDSYMNWY QQKPGKAPKL
 LIYAASTLES GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLQPEDFATY YCQQANEDPR
TFGQGTKVEI K (SEQ ID NO:8)

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит VH, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:7. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его антигенсвязывающий фрагмент избирательно связывается с эктодоменом BDCA2 человека и содержит домен VH, который имеет по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичности с аминокислотной последовательностью VH-домена B1IB059 (SEQ ID NO:7) или отличается по меньшей мере на 1-5 аминокислотных остатков, но не более чем на 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO:7. В некоторых случаях эти антитела (i) связываются с BDCA2 человека или макака-крабоеда, но не связываются в значительной степени с BDCA2 видов, филогенетически находящихся ниже приматов; и/или (ii) ингибируют TLR7/TLR9-индуцированное производство интерферона типа I и других цитокинов или хемокинов человеческими pDC; и/или (iii) опосредуют интернализацию BDCA2 с поверхности pDC; и/или (iv) снижает количество CD32a и/или CD62L на поверхности pDC; и/или (v) снижают количество pDC *in vitro* посредством ADCC или CDC.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит VL, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления изобретения

антитело против BDCA2 или его антигенсвязывающий фрагмент избирательно связывается с эктодоменом BDCA2 человека и содержит домен VL, который имеет по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичности с аминокислотной последовательностью VL-домена BIIIB059 (SEQ ID NO:8) или отличается по меньшей мере на 1-5 аминокислотных остатков, но не более чем на 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO:8. В некоторых случаях эти антитела (i) связываются с BDCA2 человека или макака-крабоеда, но не связываются в значительной степени с BDCA2 видов, филогенетически находящихся ниже приматов; и/или (ii) ингибируют TLR7/TLR9-индуцированное производство интерферона типа I и других цитокинов или хемокинов человеческими pDC; и/или (iii) опосредуют интернализацию BDCA2 с поверхности pDC; и/или (iv) снижает количество CD32a и/или CD62L на поверхности pDC; и/или (v) снижают количество pDC *in vitro* посредством ADCC или CDC.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит VH, имеющий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:7, и VL, имеющий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его антигенсвязывающий фрагмент избирательно связывается с эктодоменом BDCA2 человека и содержит (i) домен VH, который имеет по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичности с аминокислотной последовательностью VH-домена BIIIB059 (SEQ ID NO:7) и (ii) домен VL, который имеет по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичности с аминокислотной последовательностью VL-домена BIIIB059 (SEQ ID NO:8); или отличается, по меньшей мере, на 1-5 аминокислотных остатков, но не более, чем на 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO:7 и/или SEQ ID NO:8. В некоторых случаях эти антитела (i) связываются с BDCA2 человека или макака-крабоеда, но не связываются с BDCA2 видов, филогенетически находящихся ниже приматов; и/или (ii) ингибируют

TLR7/TLR9-индуцированное производство интерферона типа I и других цитокинов или хемокинов человеческими pDC; и/или (iii) опосредуют интернализацию BDCA2 с поверхности pDC; и/или (iv) снижает количество CD32a и/или CD62L на поверхности pDC; и/или (v) снижают количество pDC *in vitro* посредством ADCC или CDC.

Антитело, состоящее из зрелой тяжелой цепи (SEQ ID NO:9) и зрелой легкой цепи (SEQ ID NO:10), указанное ниже, имеет название «BIIIB059», как используется в данном документе.

Зрелая тяжелая цепь BIIIB059 (HC)

DVQLVESGGG	LVKPGGSLRL	SCAAS	<u>GFTFS</u>	<u>TYTMSWVRQA</u>	PGKGLEWVAT
<u>ISPGDSFGYY</u>	<u>YPDSVQGRFT</u>	ISRDN	AKNSL	YLMNSLRAE	DTAVYYCTRD
<u>IYYNYGAWFA</u>	<u>YWGQGT</u> LVTV	SSAST	KGPSV	FPLAPSSKST	SGGTAAALGCL
VKDYFPEPVT	VSWNSGALTS	GVHTF	PAVLQ	SSGLYSLSSV	VTVPSSSLGT
QTYICNVNHK	PSNTKVDKKV	EPKSCDKTHT		CPPCPAPELL	GGPSVFLFPP
KPKDTLMISR	TPEVTCVVVD	VSHEDPEVKF		NWYVDGVEVH	NAKTKPREEQ
YNSTYRVVSV	LTVLHQDWLN	GKEYKCKVSN		KALPAPIEKT	ISKAKGQPRE
PQVYTLPPSR	DELTKNQVSL	TCLVKGFYPS		DIAVEWESNG	QPENNYKTTTP
PVLDS	DGSFF	LYSKLTVDKS	RWQQGNVFSC	SVMHEALHNH	YTQKSLSLSP

G (SEQ ID NO:9)

Зрелая легкая цепь BIIIB059 (LC)

DIQLTQSPSS	LSASVGDRVT	ITC	<u>KASQ</u> SVD	<u>YDGDSYMNWY</u>	QQKPGKAPKL
LIY	<u>AASTLES</u>	GVPSR	FSGSG	SGTDFTLTIS	SLQPEDFATY
<u>TFGQ</u> GTKVEI	KRTVAAPSVF	IFPPS	DEQLK	SGTASVVCLL	NNFYPPREAKV
QWKVDNALQS	GNSQESVTEQ	DSKDSTYSLS		STLTLSKADY	EKNHKVYACEV

THQGLSSPVT KSFNRGEC (SEQ ID NO:10)

В приведенных выше последовательностях VH, VL, HC и LC, CDR 1, 2 и 3 на основе определения Kabat выделены подчеркиванием и жирным шрифтом. Выделенная курсивом и жирным шрифтом последовательность в VH и HC представляет собой дополнительную N-концевую последовательность, обнаруженную в CDR1, на основе определения усовершенствованной Chothia/AbM.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит HC, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:9. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его антигенсвязывающий фрагмент

избирательно связывается с эктодоменом BDCA2 человека и содержит HC, который имеет по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:9, или отличается по меньшей мере на 1-5 аминокислотных остатков, но не более чем на 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO:9.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит LC, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его антигенсвязывающий фрагмент избирательно связывается с эктодоменом BDCA2 человека и содержит LC, который имеет по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:10, или отличается по меньшей мере на 1-5 аминокислотных остатков, но не более чем на 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO:10.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит HC, имеющий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:9, и LC, имеющий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его антигенсвязывающий фрагмент избирательно связывается с эктодоменом BDCA2 человека и содержит (i) HC, который имеет по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:9 и (ii) LC, который имеет по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:10; или отличается, по меньшей мере, на 1-5 аминокислотных остатков, но не более, чем на 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO:9 и/или SEQ ID NO:10.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 представляет собой антитело IgG. В конкретных вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 имеет

константную область тяжелой цепи, выбранную, например, из IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE. В одном варианте реализации изобретения антитело против BDCA2 относится к изотипу IgG1. В другом варианте реализации изобретения антитело против BDCA2 относится к изотипу IgG2. В еще одном варианте реализации изобретения антитело против BDCA2 относится к изотипу IgG3. В других вариантах осуществления изобретения антитело имеет константную область легкой цепи, выбранную, например, из легкой цепи каппа или лямбда человека. В определенном варианте реализации изобретения антитело против BDCA2 представляет собой антитело IgG1/каппа. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 содержит область Fc человека, которая связывается с FcγRIIa (CD32a) с EC₅₀ от 7 до 15 мкг/мл. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит область Fc человека, которая связывается с FcγRIIa (CD32a) с EC₅₀ 10 мкг/мл. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит область Fc человека, которая связывается с FcγRIIa (CD32a) с EC₅₀ 11 мкг/мл. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит область Fc человека, которая связывается с FcγRIIa (CD32a) с EC₅₀ 12 мкг/мл. В некоторых случаях константная область тяжелой цепи представляет собой область человека или модифицированную форму константной области человека. В некоторых случаях константная область человека может содержать по меньшей мере 1 и до 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, или 20 замен. В конкретном варианте реализации изобретения модифицированная область Fc человека представляет собой модифицированную область Fc IgG1 человека. В некоторых случаях константная область антитела против BDCA2 может быть модифицирована путем мутации одного или нескольких аминокислотных остатков для придания желаемого функционального свойства (например, измененной эффекторной функции или периода полураспада, сниженного гликозилирования). Например, сайт N-связанного гликозилирования может быть замещен, чтобы предотвратить или снизить уровень N-связанного гликозилирования Fc-области (например, область Fc

человеческого IgG1).

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 представляет собой полноразмерное (цельное) антитело или, в значительной степени, полноразмерное. Белок может содержать по меньшей мере одну и предпочтительно две полные тяжелые цепи и по меньшей мере одну, а предпочтительно две полные легкие цепи. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 представляет собой BDCA2-связывающий фрагмент. В некоторых случаях BDCA2-связывающий фрагмент представляет собой Fab, Fab', F(ab')₂, Facb, Fv, одноцепочечный Fv (scFv), sc (Fv)₂ или диатело.

Антитела, такие как BIIB059 или BDCA2-связывающие фрагменты, могут быть получены, например, путем получения и экспрессии синтетических генов, которые кодируют указанные аминокислотные последовательности или посредством мутагенеза генов человеческой зародышевой линии, чтобы получить ген, который кодирует указанные аминокислотные последовательности. Кроме того, данное антитело и другие антитела против BDCA2 могут быть получены, например, с использованием одного или нескольких из следующих способов.

Способы получения антител

Антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающие фрагменты могут быть получены в бактериальных или эукариотических клетках. Некоторые антитела, например, Fab, могут быть получены в бактериальных клетках, например, клетках *E. coli*. Антитела также могут быть получены в эукариотических клетках, таких как трансформированные клеточные линии (например, CHO, 293E, COS). Кроме того, антитела (например, scFv) могут быть экспрессированы в дрожжевой клетке, такой как *Pichia* (см., например, Powers et al., *J Immunol Methods*. 251:123-35 (2001)), *Hansenula*, или *Saccharomyces*. Для получения целевого антитела полинуклеотид, кодирующий антитело, конструируют, вводят в экспрессирующий вектор и затем экспрессируют в подходящих клетках-хозяевах. Полинуклеотиды, кодирующие антитело против BDCA2, содержащее VH и/или VL, HC и/или LC антител BDCA2, описанных в данном

документе, могут быть легко поняты специалистом в данной области техники. Стандартные способы молекулярной биологии используются для получения рекомбинантного вектора экспрессии, трансфекции клеток-хозяев, отбора трансформантов, культивирования клеток-хозяев и извлечения антитела.

Если антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающие фрагменты должны экспрессироваться в бактериальных клетках (например, *E. coli*), вектор экспрессии должен иметь характеристики, которые позволяют амплифицировать вектор в бактериальных клетках. Кроме того, когда в качестве хозяина используют *E. coli*, такую как JM109, DH5 α , HB101 или XL1-Blue, вектор должен иметь промотор, например, промотор lacZ (Ward et al., 341:544-546 (1989)), промотор araB (Better et al., *Science*, 240:1041-1043 (1988)) или промотор T7, который может обеспечивать эффективную экспрессию в *E. coli*. Примеры таких векторов включают, например, векторы серии M13, векторы серии pUC, pBR322, pBluescript, pCR-Script, pGEX-5X-1 (Pharmacia), «QIAexpress system» (QIAGEN), pEGFP и pET (когда этот экспрессирующий вектор используется, хозяин предпочтительно представляет собой BL21, экспрессирующий T7 РНК-полимеразу). Вектор экспрессии может содержать сигнальную последовательность для секреции антитела. Для выделения в периплазму *E. coli* сигнальная последовательность pelB (Lei et al., *J. Bacteriol.*, 169:4379 (1987)) может быть использована в качестве сигнальной последовательности для секреции антител. Для экспрессии в бактериях для введения экспрессирующего вектора в бактериальную клетку можно использовать способы с применением хлорида кальция или способы электропорации.

Если антитело экспрессируется в клетках животного, таких как клетки CHO, COS и NIH3T3, вектор экспрессии содержит промотор, необходимый для экспрессии в этих клетках, например, промотор SV40 (Mulligan et al., *Nature*, 277:108 (1979)), промотор MMLV-LTR, промотор EF1 α (Mizushima et al., *Nucleic Acids Res.*, 18:5322 (1990)) или промотор CMV. В дополнение к последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей иммуноглобулин или его домен, рекомбинантные векторы экспрессии

могут нести дополнительные последовательности, такие как последовательности, которые регулируют репликацию вектора в клетках-хозяевах (например, точки начала репликации) и селективные маркерные гены. Селективный маркерный ген облегчает отбор клеток-хозяев, в которые был введен вектор (см., например, патенты США № 4,399,216, 4,634,665 и 5,179,017). Например, обычно селективный маркерный ген обеспечивает устойчивость к лекарственным средствам, таким как G418, гигромицин или метотрексат, в клетке-хозяине, в которую был введен вектор. Примеры векторов с селективными маркерами включают pMAM, pDR2, pBK-RSV, pBK-CMV, pOPRSV и pOP13.

В одном варианте реализации изобретения антитела продуцируются в клетках млекопитающих. Типовые клетки-хозяева млекопитающих для экспрессии антитела включают клетки яичника китайского хомячка (клетки CHO) (включая клетки *dhfr* CHO, описанные в Urlaub and Chasin (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220, используемые с селективным маркером DHFR, например, как описано в Kaufman and Sharp (1982) *Mol. Biol.* 159:601-621), эмбриональные клетки почек 293 человека (например, 293, 293E, 293T), клетки COS, клетки NIH3T3, лимфоцитарные клеточные линии, например, клетки миеломы NS0 и клетки SP2, и клетки от трансгенного животного, например, трансгенного млекопитающего. Например, клетка представляет собой клетку эпителия молочной железы.

В типовой системе экспрессии антитела рекомбинантный вектор экспрессии, кодирующий как тяжелую цепь антитела, так и легкую цепь антитела против BDCA2 (например, B1B059), вводят в клетки *dhfr* CHO посредством трансфекции, опосредованной фосфатом кальция. Внутри рекомбинантного экспрессирующего вектора гены тяжелой и легкой цепей антитела функционально связаны с регуляторными элементами энхансер/промотор (например, полученными из SV40, CMV, аденовируса и т.п., такими как регуляторный элемент энхансер CMV/промотор AdMLP или регуляторный элемент энхансер SV40/промотор AdMLP) для обеспечения высокого уровня транскрипции генов. Рекомбинантный вектор экспрессии также несет ген *DHFR*, который позволяет

отбирать клетки CHO, которые были трансфицированы вектором, с использованием селекции в присутствии метотрексата/амплификации. Выбранные клетки-хозяева трансформанта культивируются, чтобы обеспечить экспрессию тяжелой и легкой цепей антител, и антитело извлекают из культуральной среды.

Антитела также могут продуцироваться трансгенным животным. Например, в патенте США № 5,849,992 описан способ экспрессии антитела в молочной железе трансгенного млекопитающего. Трансген сконструирован таким образом, что он содержит специфичный для молочной железы промотор и нуклеиновые кислоты, кодирующие антитело, представляющее интерес и сигнальную последовательность для секреции. Молоко, вырабатываемое самками таких трансгенных млекопитающих, содержит в себе секретируемое в него антитело, представляющее интерес. Антитело может быть выделено из молока или, в некоторых применениях, использовано непосредственно. Также предлагаются животные, содержащие одну или несколько нуклеиновых кислот, описанных в данном документе.

Антитела согласно данному изобретению могут быть выделены из внутренней или внешней среды (например, питательной среды) клетки-хозяина и очищены в виде по существу чистых и гомогенных антител. Способы выделения и очистки, обычно используемые для очистки антител, могут быть использованы для выделения и очистки антител и не ограничиваются каким-либо конкретным способом. Антитела могут быть выделены и очищены путем надлежащего выбора и комбинирования, например, колоночной хроматографии, фильтрации, ультрафильтрации, высаливания, осаждения растворителем, экстракции растворителем, дистилляции, иммунопреципитации, электрофореза в SDS-полиакриламидном геле, изоэлектрической фокусировки, диализа и перекристаллизации. Хроматография включает, например, аффинную хроматографию, ионообменную хроматографию, гидрофобную хроматографию, гелефильтрацию, хроматографию с обращенной фазой и адсорбционную хроматографию (Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual. Ed Daniel R. Marshak et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996). Хроматографию можно проводить с использованием жидкофазной

хроматографии, такой как ВЭЖХ и ЖЭХБ (FPLC). Колонки, используемые для аффинной хроматографии, включают колонку с белком А и колонку с белком G. Примеры колонок с использованием колонки с белком А, включают Hyper D, POROS и Sepharose FF (GE Healthcare Biosciences). Данное раскрытие также включает антитела, которые очищены до высокой степени чистоты с использованием этих способов очистки.

Композиции антител против BDCA2

Данное раскрытие также предлагает композиции (например, фармацевтические композиции), содержащие антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающие фрагменты, описанные в данном документе. Например, композиции антител против BDCA2 содержат антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент, содержащий переменный домен тяжелой цепи иммуноглобулина (VH) и переменный домен легкой цепи иммуноглобулина (VL), где VH содержит H-CDR и VL содержит L-CDR B1IB059. В некоторых случаях H-CDR содержат или состоят из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO:1 или 17, SEQ ID NO:2 и SEQ ID NO:3; и L-CDR содержат или состоят из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5 и SEQ ID NO:6. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции антител против BDCA2 содержат антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент, содержащий (i) VH, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, которая имеет по меньшей мере 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью, представленной в SEQ ID NO:7; и (ii) VL, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, которая имеет по меньшей мере 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью, представленной в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции антител против BDCA2 содержат антитело против BDCA2, содержащее (i) тяжелую цепь, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, которая имеет по меньшей мере 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности с

аминокислотной последовательностью, представленной в SEQ ID NO:9; и (ii) легкую цепь, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, которая имеет по меньшей мере 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью, представленной в SEQ ID NO:10.

В некоторых вариантах осуществления изобретения данные композиции представляют собой композицию антител против BDCA2 с высокой концентрацией. Под «композицией антител против BDCA2 с высокой концентрацией» подразумевается композиция, содержащая антитела против BDCA2 или их BDCA2-связывающие фрагменты с концентрацией более 50 мг/мл и менее 300 мг/мл. В некоторых случаях композиция антител против BDCA2 содержит антитела против BDCA2 или их BDCA2-связывающие фрагменты в концентрации от 50 мг/мл до 240 мг/мл. В некоторых случаях композиция антител против BDCA2 содержит антитела против BDCA2 или их BDCA2-связывающие фрагменты в концентрации от 50 мг/мл до 225 мг/мл. В других случаях композиция антител против BDCA2 содержит антитела против BDCA2 или их BDCA2-связывающие фрагменты в концентрации от 75 мг/мл до 225 мг/мл. В других случаях композиция антител против BDCA2 содержит антитела против BDCA2 или их BDCA2-связывающие фрагменты в концентрации от 100 мг/мл до 225 мг/мл. В других случаях композиция антител против BDCA2 содержит антитела против BDCA2 или их BDCA2-связывающие фрагменты в концентрации от 125 мг/мл до 225 мг/мл. В других случаях композиция антител против BDCA2 содержит антитела против BDCA2 или их BDCA2-связывающие фрагменты в концентрации от 125 мг/мл до 175 мг/мл. В некоторых случаях композиция антител против BDCA2 содержит антитела против BDCA2 или их BDCA2-связывающие фрагменты в концентрации 240 мг/мл. В некоторых случаях композиция антител против BDCA2 содержит антитела против BDCA2 или их BDCA2-связывающие фрагменты в концентрации 225 мг/мл. В некоторых случаях композиция антител против BDCA2 содержит антитела против BDCA2 или их BDCA2-связывающие фрагменты в концентрации 200 мг/мл. В некоторых случаях композиция антител против BDCA2 содержит антитела против BDCA2 или их BDCA2-

связывающие фрагменты в концентрации 175 мг/мл. В некоторых случаях композиция антител против BDCA2 содержит антитела против BDCA2 или их BDCA2-связывающие фрагменты в концентрации 150 мг/мл. В других случаях композиция антител против BDCA2 содержит антитела против BDCA2 или их BDCA2-связывающие фрагменты в концентрации 125 мг/мл. В некоторых случаях композиция антител против BDCA2 содержит антитела против BDCA2 или их BDCA2-связывающие фрагменты в концентрации 100 мг/мл.

Композиция (например, фармацевтическая композиция), содержащая антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент, описанный в данном документе, может быть в любой из множества форм. К ним относятся, например, жидкие растворы (например, инъекционные растворы и растворы для инфузий), дисперсии или суспензии. Предпочтительная форма может зависеть от предполагаемого способа введения и терапевтического применения. В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция, описанная в данном документе, находится в форме стерильного инъекционного раствора или раствора для инфузий.

Стерильные растворы для инъекций могут быть получены путем объединения антитела, описанного в данном документе, в требуемом количестве с одним или комбинацией ингредиентов с последующей стерилизацией посредством фильтрации. Как правило, дисперсии получают путем добавления антитела, описанного в данном документе, в стерильный носитель, который содержит основную дисперсионную среду и требуемые другие ингредиенты. В случае стерильных порошков для получения стерильных растворов для инъекций типовой способ получения представляет собой вакуумную сушку и сушку вымораживанием, что приводит к получению порошка антитела, описанного в данном документе, с добавлением любого дополнительного желаемого ингредиента из полученного ранее посредством фильтрации стерильного раствора. Правильную текучесть раствора можно поддерживать, например, путем использования покрытия, такого как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и с использованием поверхностно-активных веществ.

Композиции антител против BDCA2 (например, фармацевтические

композиции) могут дополнительно содержать один или несколько эксципиентов.

В одном варианте реализации изобретения эксципиент снижает/уменьшает агрегацию и/или вязкость антитела в композиции по сравнению с агрегацией и/или вязкостью антитела в фармацевтической композиции без этого эксципиента. В некоторых вариантах осуществления изобретения такой эксципиент представляет собой аргинин. В одном случае эксципиент представляет собой гидрохлорид аргинина. Аргинин (например, аргинина гидрохлорид) может быть включен в композицию в концентрации от 50 мМ до 250 мМ, от 50 мМ до 200 мМ, от 50 мМ до 150 мМ, от 50 мМ до 125 мМ, от 50 мМ до 100 мМ, от 75 мМ до 250 мМ, от 75 мМ до 200 мМ, от 75 мМ до 150 мМ или от 75 мМ до 100 мМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения аргинин (например, Arg.HCl) присутствует в композиции в концентрации от 50 мМ до 250 мМ. В других вариантах осуществления изобретения аргинин (например, Arg.HCl) присутствует в композиции в концентрации от 50 мМ до 200 мМ. В некоторых случаях аргинин (например, аргинина гидрохлорид) может быть включен в состав в концентрации 100 мМ, 120 мМ, 125 мМ, 130 мМ, 135 мМ, 140 мМ, 145 мМ или 150 мМ. В конкретном случае аргинин (например, аргинина гидрохлорид) может быть включен в композицию в концентрации 100 мМ. В другом конкретном случае аргинин (например, аргинина гидрохлорид) может быть включен в композицию в концентрации 250 мМ.

Иногда растворы, содержащие аргинин, образуют видимые частицы после инкубации при комнатной температуре или более высоких температурах (например, 40 °C). Неожиданно было обнаружено, что добавление сахарозы может уменьшить или предотвратить образование видимых частиц. Кроме того, неожиданно было обнаружено, что сахароза снижает количество не видимых невооруженным глазом частиц. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция антитела против BDCA2 содержит сахарозу в концентрации от 0,05 до 15%, от 0,05 до 10%, от 0,05 до 5%, от 1% до 15%, от 1% до 10%, от 1% до 5%, от 2% до 8%, от 2% до 6%

или от 2% до 4%. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция антитела против BDCA2 содержит сахарозу в концентрации 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, 4,5%, 5%, 5,5%, 6%, 6,5%, 7%, 7,5%, 8%, 8,5%, 9%, 9,5% или 10%. В конкретном варианте реализации изобретения композиция антитела против BDCA2 содержит сахарозу в концентрации 3%. В другом конкретном варианте реализации изобретения композиция антитела против BDCA2 содержит сахарозу в концентрации 1%.

Производство антител является сложным процессом, который может включать в себя несколько стадий, таких как, например, приготовление лекарственного вещества и получение нерасфасованной лекарственной формы, фильтрация, доставка, объединение, наполнение, лиофилизация, инспекция, упаковка и хранение. На этих стадиях антитела могут подвергаться воздействию многих различных форм воздействия, например, перемешиванию, температуры, воздействию света и окисления. Эти типы воздействий могут приводить к денатурации и агрегации антитела, что ставит под угрозу качество продукта и может даже привести к потере производственной партии. Перемешивание является одной из распространенных физических воздействий, которым подвергаются терапевтические средства, представляющие собой антитела в ходе производственного процесса. Перемешивание происходит, например, во время смешивания, ультрафильтрации/диафильтрации, прокачки, транспортировки и наполнения. Чтобы защитить композицию антитела от вызванного перемешиванием воздействия, композиция может содержать полисорбат. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит полисорбат-80 в концентрации от 0,01% до 0,5%, от 0,01% до 0,1%, от 0,01 до 0,09%, от 0,01 до 0,08%, от 0,01 до 0,07%, от 0,01 до 0,06% От 0,01% до 0,05%, от 0,01% до 0,04% или от 0,01% до 0,03%. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит полисорбат-80 в концентрации от 0,02% до 0,08%. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит полисорбат-80 в концентрации 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%, 0,06%, 0,07%, 0,08%, 0,09% или 0,1%. В конкретном варианте реализации изобретения композиция содержит

полисорбат-80 в концентрации 0,05%.

Выгодным является содержание любой композиции антител в буфере, который обеспечивает хорошую буферную способность. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция антител содержит гистидин в качестве буферного агента. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит гистидин в концентрации от 5 мМ до 50 мМ, от 5 мМ до 40 мМ, от 5 мМ до 30 мМ, от 5 мМ до 25 мМ, от 10 мМ до 50 мМ, от 10 мМ до 40 мМ, 10 мМ до 30 мМ, от 10 мМ до 25 мМ, от 15 мМ до 50 мМ, от 15 мМ до 40 мМ, от 15 мМ до 30 мМ или от 15 мМ до 25 мМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит гистидин в концентрации от 10 мМ до 30 мМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит гистидин в концентрации 5 мМ, 10 мМ, 15 мМ, 20 мМ, 25 мМ или 30 мМ. В конкретном варианте реализации изобретения композиция содержит гистидин в концентрации 20 мМ.

pH композиции антитела может составлять от 5,0 до 6,5. В некоторых случаях pH композиции антитела может составлять от 5,0 до 6,0. В некоторых случаях pH композиции антитела составляет 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4 или 6,5. В конкретном варианте реализации изобретения pH композиции антитела составляет 5,5. В другом конкретном варианте реализации изобретения pH композиции антитела составляет 6,0. В еще одном конкретном варианте реализации изобретения pH композиции антитела составляет 6,5.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит тиол-содержащий антиоксидант (например, восстановленный глутатион (GSH), окисленный глутатион (GSSG), GSH+GSSG, цистеин, цистин, цистеин+цистин) в концентрации от 0,02 мМ до 2 мМ (например, 0,02, 0,03, 0,05, 0,06, 0,08, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9 или 2,0 мМ). Такие тиол-содержащие антиоксиданты могут расщеплять нежелательные или несовпадающие дисульфидные связи и способствовать образованию благоприятных или должным образом совпадающих дисульфидных связей. Это приведет к стабилизации нативной конформации антитела или его фрагмента и замедлению

скорости агрегации. Антиоксидантные свойства данных молекул могут замедлять окислительные процессы, приводящие к агрегации. В некоторых случаях композиция содержит GSH в концентрации 0,4 мМ. В некоторых случаях композиция содержит GSSG в концентрации 0,2 мМ. В некоторых случаях композиция содержит GSH в концентрации 0,4 мМ и GSSG в концентрации 0,2 мМ. В некоторых случаях композиция содержит цистеин в концентрации 0,4 мМ. В некоторых случаях композиция содержит цистин в концентрации 0,2 мМ. В некоторых случаях композиция содержит цистеин в концентрации 0,4 мМ и цистин в концентрации 0,2 мМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит метионин в концентрации от 5 мМ до 15 мМ (например, 10 мМ). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит глутаминовую кислоту в концентрации от 50 мМ до 80 мМ (например, 70 мМ).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция (например, фармацевтическая композиция) содержит антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент в концентрации от 50 до 225 мг/мл, сахарозу в концентрации от 0,05 до 10%, аргинин (например, аргинина гидрохлорид) в концентрации от 50 мМ до 250 мМ, полисорбат-80 в концентрации от 0,01% до 0,1% и гистидин в концентрации от 10 мМ до 30 мМ. Композиция имеет pH от 5,0 до 6,0. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент композиции содержит VH и VL, содержащие CDR BIIB059 (например, SEQ ID NO:1 или 17, 2, 3, 4, 5 и 6). В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент композиции содержит VH и VL, содержащие SEQ ID NO:7 и 8 соответственно. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент композиции содержит тяжелую цепь и легкую цепь, содержащие SEQ ID NO:9 и 10 соответственно. В одном варианте реализации изобретения композиция имеет pH 5,5 и содержит BIIB059 или его BIIB059-связывающий фрагмент в концентрации 150 мг/мл, сахарозу в концентрации 3%, аргинина гидрохлорид в концентрации 100 мМ, полисорбат-80 в концентрации 0,05% и гистидин в концентрации 20

мМ. Этот вариант реализации изобретения может быть осуществлен, например, путем растворения в 1833,50 мг стерильной воды (например, деионизированной воды, полученной с помощью обратного осмоса (RODI)) 285 мг ВІІВ059, 6,69 мг моногидрата гистидина гидрохлорида, 0,94 мг свободного основания гистидина, 40,03 мг гидрохлорида аргинина, 57,0 мг сахарозы и 0,95 мг полисорбата-80. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция дополнительно содержит тиол-содержащий антиоксидант (например, GSH, GSSG, GSH+GSSG, цистеин, цистин, цистеин+цистин) в концентрации от 0,02 мМ до 2 мМ.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция (например, фармацевтическая композиция) содержит антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент, аргинин (например, аргинина гидрохлорид) в концентрации от 50 мМ до 250 мМ, полисорбат-80 в концентрации от 0,02% до 0,08% и гистидин в концентрации от 10 мМ до 30 мМ. Композиция имеет рН от 5,0 до 6,5. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент присутствует в композиции в концентрации от 50 мг/мл до 225 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент композиции содержит VH и VL, содержащие CDR ВІІВ059 (например, SEQ ID NO:1 или 17, 2, 3, 4, 5 и 6). В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент композиции содержит VH и VL, содержащие SEQ ID NO:7 и 8 соответственно. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент композиции содержит тяжелую цепь и легкую цепь, содержащие SEQ ID NO:9 и 10 соответственно. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит сахарозу в концентрации от 1% до 10%. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит тиол-содержащий антиоксидант (например, GSH, GSSG, GSH+GSSG, цистеин, цистин, или цистеин+цистин) в концентрации от 0,02 мМ до 2 мМ. В одном варианте реализации изобретения композиция имеет рН 5,5 и содержит ВІІВ059 или его ВІІВ059-связывающий фрагмент в концентрации 150 мг/мл, сахарозу в

концентрации 3%, аргинина гидрохлорид в концентрации 100 мМ, полисорбат-80 в концентрации 0,05% и гистидин в концентрации 20 мМ. В другом варианте реализации изобретения вышеописанная композиция дополнительно содержит тиол-содержащий антиоксидант (например, GSH, GSSG, GSH+GSSG, цистеин, цистин, или цистеин+цистин) в концентрации от 0,02 мМ до 2 мМ. В конкретном варианте реализации изобретения тиол-содержащий антиоксидант представляет собой GSH в концентрации 0,4 мМ.

Для подкожного введения композиция (например, фармацевтическая композиция) может содержать более высокую концентрацию антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента. В одном варианте реализации изобретения такая композиция содержит антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент в концентрации 200 мг/мл; аргинин (например, аргинина гидрохлорид) в концентрации 250 мМ; сахарозу в концентрации 3%; полисорбат-80 в концентрации 0,05%; и гистидин в концентрации 20 мМ. В некоторых случаях pH этой композиции составляет 6,0. В некоторых случаях композиция дополнительно содержит тиол-содержащий антиоксидант (например, GSH, GSSG, GSH+GSSG, цистеин, цистин, или цистеин+цистин) в концентрации от 0,02 мМ до 2 мМ. В конкретном случае тиол-содержащий антиоксидант представляет собой GSH в концентрации 0,4 мМ. В другом конкретном случае тиол-содержащий антиоксидант представляет собой GSSG в концентрации 0,2 мМ. В еще одном конкретном случае тиосодержащий антиоксидант представляет собой GSH в концентрации 0,4 мМ и GSSG в концентрации 0,2 мМ. В другом варианте реализации изобретения такая композиция с высокой концентрацией содержит антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент в концентрации 225 мг/мл; аргинин (например, аргинина гидрохлорид) в концентрации 250 мМ; сахарозу в концентрации 1%; полисорбат-80 в концентрации 0,05%, и гистидин в концентрации 20 мМ. В некоторых случаях pH этой композиции составляет 6,0. В некоторых случаях композиция дополнительно содержит тиол-содержащий антиоксидант (например, GSH, GSSG, GSH+GSSG, цистеин, цистин, или цистеин+цистин) в концентрации от 0,02 мМ до 2 мМ. В конкретном случае тиол-

содержащий антиоксидант представляет собой GSH в концентрации 0,4 мМ. В другом конкретном случае тиол-содержащий антиоксидант представляет собой GSSG в концентрации 0,2 мМ. В еще одном конкретном случае тиосодержащий антиоксидант представляет собой GSH в концентрации 0,4 мМ и GSSG в концентрации 0,2 мМ. В другом конкретном случае тиол-содержащий антиоксидант представляет собой цистеин в концентрации 0,4 мМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент композиции содержит VH и VL, содержащие CDR BIIB059 (например, SEQ ID NO:1 или 17, 2, 3, 4, 5 и 6). В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент композиции содержит VH и VL, содержащие SEQ ID NO:7 и 8 соответственно. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент композиции содержит тяжелую цепь и легкую цепь, содержащие SEQ ID NO:9 и 10 соответственно.

Дозирование

Антитело против BDCA2 (например, BIIB059) или BDCA2-связывающий фрагмент, описанный выше, можно вводить субъекту, например, субъекту-человеку, в разных дозировках. Антитело против BDCA2 (например, BIIB059) или его BDCA2-связывающий фрагмент можно вводить в виде фиксированной дозы (то есть независимо от веса пациента) или в дозе мг/кг (то есть дозе, величина которой зависит от массы субъекта). Дозированная лекарственная форма или «фиксированная доза», при использовании в контексте данного документа, относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве унифицированных доз для субъектов, подлежащих лечению; каждая единица дозирования содержит predetermined количество активного соединения, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем и необязательно в сочетании с другим агентом. Могут применяться однократные или множественные дозы. Лечение может продолжаться в течение нескольких дней, недель, месяцев или даже лет.

В одном варианте реализации изобретения для лечения состояния, описанного в данном документе, у взрослого субъекта-

человека, дозировка антитела против BDCA2 (например, ВІІВ059) или его BDCA2-связывающего фрагмента представляет собой фиксированную дозу 25 мг. В другом варианте реализации изобретения дозировка антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента представляет собой фиксированную дозу 50 мг. В другом варианте реализации изобретения дозировка антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента представляет собой фиксированную дозу 150 мг. В еще одном варианте реализации изобретения дозировка антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента представляет собой фиксированную дозу 450 мг.

В одном варианте реализации изобретения для лечения состояния, описанного в данном документе, у субъекта-человека, представляющего собой ребенка или подростка, дозировка антитела против BDCA2 (например, ВІІВ059) или его BDCA2-связывающего фрагмента представляет собой фиксированную дозу 18 мг, причем ребенок имеет массу от 10 до 18 кг. В другом варианте реализации изобретения дозировка антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента представляет собой фиксированную дозу 22 мг, причем ребенок имеет массу от 18,1 кг до 25 кг. В другом варианте реализации изобретения дозировка антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента представляет собой фиксированную дозу 28 мг, причем ребенок имеет массу от 25,1 кг до 48 кг. В другом варианте реализации изобретения дозировка антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента представляет собой фиксированную дозу 50 мг, причем ребенок имеет массу более 48 кг. Эти дозы эквивалентны взрослой дозе 50 мг.

В одном варианте реализации изобретения для лечения состояния, описанного в данном документе, у субъекта-человека, представляющего собой ребенка или подростка, дозировка антитела против BDCA2 (например, ВІІВ059) или его BDCA2-связывающего фрагмента представляет собой фиксированную дозу 40 мг, причем ребенок имеет массу от 10 до 18 кг. В другом варианте реализации изобретения дозировка антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента представляет собой фиксированную дозу 56

мг, причем ребенок имеет массу от 18,1 кг до 25 кг. В другом варианте реализации изобретения дозировка антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента представляет собой фиксированную дозу 80 мг, причем ребенок имеет массу от 25,1 кг до 48 кг. В другом варианте реализации изобретения дозировка антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента представляет собой фиксированную дозу 150 мг, причем ребенок имеет массу более 48 кг. Эти дозы эквивалентны взрослой дозе 150 мг.

Фиксированные дозы, описанные выше, каждая могут вводиться ежедневно, каждую неделю, каждые 2 недели, каждые 4 недели, каждые 6 недель, каждые 8 недель, ежемесячно, раз в две недели, еженедельно или ежедневно, в зависимости от периода времени, который должен охватить по меньшей мере 2 дозы, 3 дозы, 4 дозы, 5 доз, 6 доз, 7 доз, 8 доз, 9 доз, 10 доз, 12 доз, 14 доз, 16 доз, 18 доз, 20 доз, 22 дозы, 24 дозы или более.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фиксированную дозу 25 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента вводят субъекту-человеку каждые 2 недели или каждые 4 недели в течение периода времени, определяемого поставщиком медицинских услуг как полезный для субъекта. В некоторых случаях фиксированную дозу 25 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента вводят субъекту-человеку в течение 4 недель. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту также вводят нагрузочную дозу 25 мг, 50 мг, 150 мг или 450 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента через две недели после введения субъекту первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В одном варианте реализации изобретения нагрузочная доза составляет 25 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента. В другом варианте реализации изобретения нагрузочная доза составляет 50 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту вводят по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9 или по меньшей мере 10 доз

фиксированной дозы 25 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту вводят 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 доз фиксированной дозы 25 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых случаях субъекту вводят от 2 до 24, от 2 до 20, от 2 до 18, от 2 до 16, от 2 до 14, от 2 до 12, от 2 до 10 или от 2 до 8 доз фиксированной дозы 25 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фиксированную дозу 50 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента вводят субъекту-человеку каждые 2 недели или каждые 4 недели в течение периода времени, определяемого поставщиком медицинских услуг как полезный для субъекта. В некоторых случаях фиксированную дозу 50 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента вводят субъекту-человеку в течение 4 недель. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту также вводят нагрузочную дозу 25 мг, 50 мг, 150 мг или 450 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента через две недели после введения субъекту первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В одном варианте реализации изобретения нагрузочная доза составляет 50 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту вводят по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9 или по меньшей мере 10 доз фиксированной дозы 50 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту вводят 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 доз фиксированной дозы 50 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых случаях субъекту вводят от 2 до 24, от 2 до 20, от 2 до 18, от 2 до 16, от 2 до 14, от 2 до 12, от 2 до 10 или от 2 до 8 доз фиксированной дозы 50 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фиксированную дозу 150 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-

связывающего фрагмента вводят субъекту-человеку каждые 2 недели или каждые 4 недели в течение периода времени, определяемого поставщиком медицинских услуг как полезный для субъекта. В некоторых случаях фиксированную дозу 150 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента вводят субъекту-человеку в течение 4 недель. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту также вводят нагрузочную дозу 50 мг, 150 мг или 450 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента через две недели после введения субъекту первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В одном варианте реализации изобретения нагрузочная доза составляет 150 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту вводят по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9 или по меньшей мере 10 доз фиксированной дозы 150 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту вводят 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 доз фиксированной дозы 150 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых случаях субъекту вводят от 2 до 24, от 2 до 20, от 2 до 18, от 2 до 16, от 2 до 14, от 2 до 12, от 2 до 10 или от 2 до 8 доз фиксированной дозы 150 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фиксированная дозу 450 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента вводят субъекту-человеку каждые 2 недели или каждые 4 недели в течение периода времени, определяемого поставщиком медицинских услуг как полезный для субъекта. В некоторых случаях фиксированную дозу 450 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента вводят субъекту-человеку в течение 4 недель. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту также вводят нагрузочную дозу 50 мг, 150 мг или 450 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента через две недели после введения субъекту первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В одном

варианте реализации изобретения нагрузочная доза составляет 450 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту вводят по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9 или по меньшей мере 10 доз фиксированной дозы 450 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту вводят 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 доз фиксированной дозы 450 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых случаях субъекту вводят от 2 до 24, от 2 до 20, от 2 до 18, от 2 до 16, от 2 до 14, от 2 до 12, от 2 до 10 или от 2 до 8 доз фиксированной дозы 450 мг антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента.

Фармацевтическая композиция может содержать «терапевтически эффективное количество» агента, описанного в данном документе. Такие эффективные количества могут быть определены на основе действия вводимого агента или комбинаторного действия агентов, если используется более одного агента. Терапевтически эффективное количество агента также может варьировать в зависимости от таких факторов, как стадия заболевания, возраст, пол и вес человека, а также способность соединения вызывать желаемый ответ у индивидуума. Терапевтически эффективное количество также является таким, при котором любые токсичные или негативные эффекты композиции перевешиваются терапевтически благоприятными эффектами. В одном варианте реализации изобретения терапевтически эффективное количество антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента составляет 25 мг. В другом варианте реализации изобретения терапевтически эффективное количество антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента составляет 50 мг. В другом варианте реализации изобретения терапевтически эффективное количество антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента составляет 150 мг. В еще одном варианте реализации изобретения терапевтически эффективное количество антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента составляет 450 мг. В одном

варианте реализации изобретения терапевтически эффективное количество антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента для субъекта-человека, представляющего собой ребенка или подростка (например, субъекта в возрасте 21 год или менее, субъекта в возрасте 18 лет или менее или субъекта в возрасте 16 лет или менее) составляет 18 мг, 22 мг, 28 мг, 40 мг, 50 мг, 56 мг, 80 мг или 150 мг.

В некоторых случаях композиции антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента, описанные выше, вводят субъекту в дозе 25 мг. В других случаях композиции антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента, описанные выше, вводят субъекту в дозе 50 мг. В других случаях композиции антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента, описанные выше, вводят субъекту в дозе 150 мг. В некоторых случаях композиции антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента, описанные выше, вводят субъекту в дозе 450 мг.

Для субъектов-людей, представляющих собой ребенка или подростка (например, субъект в возрасте 21 года или менее, субъект в возрасте 18 лет или менее или субъект в возрасте 16 лет или менее) для достижения эквивалента дозы 50 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента для взрослого человека, доза определяется в зависимости от массы ребенка следующим образом:

Весовая категория Доза для введения

10-18 кг 18 мг каждые четыре недели

18,1-25 кг 22 мг каждые четыре недели

25,1-48 кг 28 мг каждые четыре недели

более 48 кг 50 мг каждые четыре недели

Для субъектов-людей, представляющих собой ребенка или подростка для достижения эквивалента дозы для взрослого человека 150 мг композиций антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающих композиций, описанных выше, доза определяется в зависимости от массы ребенка следующим образом:

Весовая категория Доза для введения

10-18 кг 40 мг каждые четыре недели

18,1-25 кг 56 мг каждые четыре недели

25,1-48 кг 80 мг каждые четыре недели

более 48 кг 150 мг каждые четыре недели

Путь и/или способ введения антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента могут быть адаптированы для конкретного субъекта. Для многих применений путь введения является одним из следующих: подкожная инъекция (SC), внутривенная инъекция или инфузия (IV), внутрибрюшинное введение (IP) или внутримышечная инъекция. В одном варианте реализации изобретения путь введения представляет собой подкожный путь введения. В другом варианте реализации изобретения путь введения представляет собой внутривенный путь введения.

Фармацевтические композиции, которые содержат антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент, отдельно или в комбинации с агентом(ами), не являющимся антителом против BDCA2, можно вводить с помощью медицинского устройства. Устройство может быть спроектировано с такими признаками, как портативность, хранение при комнатной температуре и простота использования, чтобы его можно было использовать в чрезвычайных ситуациях, например, неподготовленным субъектом или персоналом службы экстренной помощи непосредственно на месте, в удалении от медицинских учреждений и другого медицинского оборудования. Устройство может содержать, например, один или несколько корпусов для хранения фармацевтических препаратов, которые содержат антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент, и может быть сконфигурировано для доставки одной или нескольких однократных доз блокирующего агента.

Например, фармацевтическую композицию можно вводить с помощью устройства для инъекций без иглы для подкожных инъекций, такого как устройства, описанные в патентах США 5399163; 5383851; 5312335; 5064413; 4941880; 4790824; или 4596556. Примеры хорошо известных имплантатов и модулей включают: патент США № 4487603, в котором описан имплантируемый микроинфузионный насос для дозирования лекарственного средства с контролируемой скоростью; патент США № 4486194, в котором описано терапевтическое устройство для введения лекарств через кожу; патент США № 4447233, в котором описан инфузионный насос для

лекарственного средства для доставки лекарственного средства с точной скоростью инфузии; патент США № 4447224, в котором описано устройство для инфузий с регулируемой скоростью потока для непрерывной доставки лекарств; патент США № 4439196, в котором описана осмотическая система доставки лекарственного средства, имеющая многокамерные отсеки; и патент США № 4475196, в котором описана осмотическая система доставки лекарственного средства. Известно также множество других устройств, имплантатов, систем доставки и модулей.

В одном варианте реализации изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент вводят субъекту-человеку с помощью шприца. В другом варианте реализации изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент вводят субъекту-человеку с помощью насоса для подкожного введения. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент вводят субъекту-человеку с помощью автоинжектора. В других вариантах осуществления изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент вводят субъекту-человеку с помощью подкожного инжектора большого объема.

Данное раскрытие предлагает насос или шприц, содержащий стерильный препарат антитела против BDCA2 (например, B1IB059) или его BDCA2-связывающего фрагмента. Шприц или насос могут быть приспособлены для подкожного введения антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых случаях с помощью шприца или насоса вводят фиксированную дозу (дозы) (например, 18 мг, 22 мг, 28 мг, 40 мг, 50 мг, 56 мг, 80 мг, 150 мг, 450 мг) антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента.

В раскрытии также предлагается насос, шприц или инжектор (например, автоинжектор, подкожный инжектор большого объема), содержащий стерильный препарат фармацевтических композиций, описанных выше. Шприц или насос могут быть адаптированы для подкожного введения фармацевтических композиций, содержащих антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент. В некоторых случаях с помощью шприца или насоса вводят фиксированную дозу (дозы) (например, 18 мг, 22 мг, 28 мг, 40 мг,

50 мг, 56 мг, 80 мг, 150 мг, 450 мг) антитела против BDCA2 или его BDCA2-связывающего фрагмента.

Способы Лечения

Антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент, описанные в данном документе, могут быть использованы для лечения или профилактики различных иммунологических нарушений, таких как воспалительные и аутоиммунные расстройства. Антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающие фрагменты могут приводить к потере активности или снижению количества pDC и/или ингибировать воспалительные цитокины и хемокины, продуцируемые pDC, и/или подавлять CD32a, и/или ингибировать стимуляцию иммунного комплекса pDC, и/или подавлять или вызывать шеддинг CD62L. Антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент согласно данному раскрытию могут быть объединены с противомаларийным агентом (например, HCQ) для улучшения терапевтических эффектов при лечении воспалительных и аутоиммунных нарушений. Антитела против BDCA2 могут использоваться для снижения уровня цитокинов и хемокинов, таких как интерфероны I типа, интерфероны III типа, IL-6, TNF- α , MIP1- α и MIP1- β , CCL5 и IP-10. IFN типа I представляют собой семейство цитокинов с множеством представителей, включая 13 подтипов IFN- α , IFN- β , - ϵ , - κ , - ω , - δ и - τ . (Theofilopoulos, *Annu. Rev. Immunol.*, 23:307-36 (2005)). Интерфероны III типа состоят из трех молекул IFN- λ , называемых IFN- λ 1, IFN- λ 2 и IFN- λ 3 (также называемых IL29, IL28A и IL28B соответственно). При снижении и/или ослаблении функции pDC антитела против BDCA2, описанные в данном документе, обеспечивают более надежный подход к лечению, в сравнении с лечением, при котором происходит попытка подавлять определенные подтипы IFN с помощью нейтрализующих антител. Кроме того, pDC-ориентированный подход к лечению с помощью антител против BDCA2 является более избирательным и потенциально более безопасным, чем глобальная блокада ответа IFN. Например, антитела против BDCA2, описанные в данном документе, эффективно устраняют pDC-опосредованные IFN I типа, сохраняя другие источники IFN, которые могут быть необходимы в случае вирусных инфекций.

Данное раскрытие предлагает способы лечения связанных с BDCA2 расстройств с использованием описанных в данном документе антител и композиций. Неограничивающие примеры нарушений, связанных с BDCA2, включают СКВ, ККВ, ДКВ, волчаночный нефрит, системный склероз (склеродермия), морфею, псориаз, ревматоидный артрит, воспалительное заболевание кишечника (ВЗК), дерматомиозит, полимиозит, диабет типа I и синдром высвобождения цитокинов. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела и композиции против BDCA2, описанные в данном документе, могут быть использованы для лечения волчанки (например, СКВ, ККВ и ДКВ).

В одном варианте реализации изобретения раскрытие предлагает способ лечения СКВ (например, умеренной или тяжелой волчанки) у субъекта-человека, нуждающегося в этом. Способ включает введение субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых случаях субъекту вводят описанные в данном документе фармацевтические композиции для получения дозы 50 мг, 150 мг или 450 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых случаях, когда субъектом является ребенок или подросток (например, субъект в возрасте 21 года или менее, субъект в возрасте 18 лет или менее или субъект в возрасте 16 лет или менее), субъекту вводят фармацевтические композиции, описанные в данном документе, для получения дозы 18 мг, 22 мг, 28 мг, 40 мг, 50 мг, 56 мг, 80 мг или 150 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. Доза выбирается исходя из веса ребенка, как указано выше. В некоторых случаях субъекту вводят по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7 по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10 доз, по меньшей мере 11 доз, по меньшей мере 12 доз, или 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 доз. В некоторых случаях субъекту также вводят нагрузочную дозу 50 мг, 150 мг или 450 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента примерно через 2 недели после введения первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В одном варианте

реализации изобретения субъекту с СКВ вводят фиксированную дозу 50 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента и нагрузочную дозу 50 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента через 2 недели после введение первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В другом варианте реализации изобретения субъекту с СКВ вводят фиксированную дозу 150 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента и нагрузочную дозу 150 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента через 2 недели после введение первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В еще одном варианте реализации изобретения субъекту с СКВ вводят фиксированную дозу 450 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента и нагрузочную дозу 450 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента через 2 недели после введение первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента.

Раскрытие также предлагает способ лечения каждой красной волчанки (с или без СКВ) у человека, нуждающегося в этом. Способ включает введение человеку, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых случаях субъекту вводят описанные в данном документе фармацевтические композиции для получения дозы 50 мг, 150 мг или 450 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых случаях, когда субъектом является ребенок или подросток (например, субъект в возрасте 21 года или менее, субъект в возрасте 18 лет или менее или субъект в возрасте 16 лет или менее), субъекту вводят фармацевтические композиции, описанные в данном документе, для получения дозы 18 мг, 22 мг, 28 мг, 40 мг, 50 мг, 56 мг, 80 мг или 150 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. Доза выбирается исходя из веса ребенка, как указано выше. В некоторых случаях субъекту вводят по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7 по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10 доз, по меньшей мере 11 доз, по меньшей мере 12 доз, или 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 доз. В некоторых

случаях субъекту также вводят нагрузочную дозу 50 мг, 150 мг или 450 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента примерно через 2 недели после введения первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В одном варианте реализации изобретения субъекту с ККВ (с или без СКВ) вводят фиксированную дозу 50 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента и нагрузочную дозу 50 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента через 2 недели после введение первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В другом варианте реализации изобретения субъекту с ККВ (с или без СКВ) вводят фиксированную дозу 150 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента и нагрузочную дозу 150 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента через 2 недели после введение первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В еще одном варианте реализации изобретения субъекту с ККВ (с или без СКВ) вводят фиксированную дозу 450 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента и нагрузочную дозу 450 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента через 2 недели после введение первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента.

Раскрытие также предлагает способ лечения дискоидной красной волчанки (с или без СКВ) у субъекта-человека, нуждающегося в этом. Способ включает введение субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых случаях субъекту вводят описанные в данном документе фармацевтические композиции для получения дозы 50 мг, 150 мг или 450 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых случаях, когда субъектом является ребенок или подросток (например, субъект в возрасте 21 года или менее, субъект в возрасте 18 лет или менее или субъект в возрасте 16 лет или менее), субъекту вводят фармацевтические композиции, описанные в данном документе, для получения дозы 18 мг, 22 мг, 28 мг, 40 мг, 50 мг, 56 мг, 80 мг или 150 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. Доза выбирается исходя из веса ребенка,

как указано выше. В некоторых случаях субъекту вводят по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7 по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10 доз, по меньшей мере 11 доз, по меньшей мере 12 доз, или 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 доз. В некоторых случаях субъекту также вводят нагрузочную дозу 50 мг, 150 мг или 450 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента примерно через 2 недели после введения первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В одном варианте реализации изобретения субъекту с дискоидной волчанкой (с или без СКВ) вводят фиксированную дозу 50 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента и нагрузочную дозу 50 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента через 2 недели после введение первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В другом варианте реализации изобретения субъекту с дискоидной волчанкой (с или без СКВ) вводят фиксированную дозу 150 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента и нагрузочную дозу 150 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента через 2 недели после введение первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В еще одном варианте реализации изобретения субъекту с дискоидной волчанкой (с или без СКВ) вводят фиксированную дозу 450 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента и нагрузочную дозу 450 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента через 2 недели после введение первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента.

В одном варианте реализации изобретения раскрытие предлагает способ лечения синдрома высвобождения цитокинов и/или цитокиновых штормов у субъекта-человека, нуждающегося в этом. Синдром высвобождения цитокинов (СВЦ) является обычным непосредственным осложнением, связанным с использованием терапевтических препаратов, использующих Т-клетки (например, терапия с использованием Т-клеток с химерными антигенными рецепторами (CART)). Тяжелые случаи этого расстройства известны как цитокиновые штормы. СВЦ представляет собой комплекс

симптомов, связанный с использованием множества моноклональных антител. Обычно называемая реакцией инфузии, СВЦ является результатом выделения цитокинов из клеток, на которые нацелено антитело, а также иммунных эффекторных клеток, привлеченных в эту область. Антитела связываются с рецептором Т-клеток, активируя Т-клетки до их разрушения. Цитокины, высвобождаемые активированными Т-клетками, приводят к типу системного воспалительного ответа, подобному тому, который наблюдается при тяжелой инфекции. Когда цитокины высвобождаются в кровоток, у субъекта могут развиваться системные симптомы, такие как лихорадка, тошнота, озноб, гипотония, тахикардия, астения, головная боль, сыпь, боль в горле и одышка. В большинстве случаев симптомы представляют собой таковые от легкой до умеренной степени тяжести и могут контролироваться относительно легко. Однако у некоторых пациентов могут наблюдаться тяжелые, опасные для жизни реакции, возникающие в результате массивного высвобождения цитокинов. Тяжелые реакции чаще возникают во время первой инфузии у пациентов с гематологическими злокачественными новообразованиями, которые ранее не подвергались химиотерапии. Тяжелые реакции отмечены их быстрым началом и остротой связанных симптомов. Массивное высвобождение цитокинов является онкологической неотложной ситуацией и может привести к угрожающим жизни осложнениям. Способ лечения СВЦ включает введение субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых случаях субъекту вводят описанные в данном документе фармацевтические композиции для получения дозы 50 мг, 150 мг или 450 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых случаях, когда субъектом является ребенок или подросток (например, субъект в возрасте 21 года или менее, субъект в возрасте 18 лет или менее или субъект в возрасте 16 лет или менее), субъекту вводят фармацевтические композиции, описанные в данном документе, для получения дозы 18 мг, 22 мг, 28 мг, 40 мг, 50 мг, 56 мг, 80 мг или 150 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. Доза выбирается исходя из веса ребенка, как указано выше. В некоторых случаях субъекту вводят по меньшей

мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7 по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10 доз, по меньшей мере 11 доз, по меньшей мере 12 доз, или 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 доз. В некоторых случаях субъекту также вводят нагрузочную дозу 50 мг, 150 мг или 450 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента примерно через 2 недели после введения первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В одном варианте реализации изобретения субъекту с СВЦ вводят фиксированную дозу 50 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента и нагрузочную дозу 50 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента через 2 недели после введение первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В другом варианте реализации изобретения субъекту с СВЦ вводят фиксированную дозу 150 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента и нагрузочную дозу 150 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента через 2 недели после введение первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В еще одном варианте реализации изобретения субъекту с СВЦ вводят фиксированную дозу 450 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента и нагрузочную дозу 450 мг антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента через 2 недели после введение первой дозы антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающего фрагмента. В некоторых случаях, субъект-человек должен пройти или она ему назначена, или проходит терапию CART (например, терапии CART-19). В некоторых случаях субъект-человек должен пройти или она ему назначена, или проходит терапию антителом против Т-клеток (например, ATG, ОКТ3, TGN1412) или биспецифическим антителом (например, блинатумомабом). В некоторых случаях субъект должен пройти или она ему назначена, или проходит терапию антителом против CD20 (например, ритуксимабом). В некоторых случаях субъекту-человеку, который проходи лечение от СВЦ, также вводят кортикостероид (например, гидрокортизон) и/или антигистамин (например, хлорфенамин) одновременно, отдельно или последовательно во время лечения антителом против BDCA2 или

BDCA2 -связывающим фрагментом. В некоторых случаях субъекту также вводится агент, который ингибирует IL-6 одновременно, отдельно или последовательно во время лечения антителом против BDCA2 или его BDCA2-связывающим фрагментом. Агент, который ингибирует IL-6, может представлять собой антитело против IL-6 или его IL-6-связывающий фрагмент, антагонист рецептора IL6 (IL6R) (например, тоцилизумаб или растворимый IL6R).

В одном варианте реализации изобретения во всех вышеописанных способах лечения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит три CDR вариабельного домена тяжелой цепи и три CDR вариабельного домена легкой цепи B1IB059. В другом варианте реализации изобретения антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент содержит аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO:1-6. В другом варианте реализации изобретения антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент содержит аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO:12-16. В еще одном варианте реализации изобретения антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент содержит аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO:18-22. В еще одном варианте реализации изобретения антитело против BDCA2 или BDCA2-связывающий фрагмент содержит аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO:24-28. В одном варианте реализации изобретения антитело против BDCA2 или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит VH CDR1, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:1 или 17, VH CDR2, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:2; и VH CDR3, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:3; и VL CDR1, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:4, VL CDR2, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:5; и VL CDR3, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах осуществления изобретения во всех

вышеописанных способах лечения, антитело против BDCA2 или его антигенсвязывающий фрагмент избирательно связывается с эктодоменом BDCA2 человека и содержит (i) домен VH, который имеет по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичности с аминокислотной последовательностью VH-домена B1IB059 (SEQ ID NO:7) и/или (ii) домен VL, который имеет по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичности с аминокислотной последовательностью VL-домена B1IB059 (SEQ ID NO:8); или отличается, по меньшей мере, на 1-5 аминокислотных остатков, но не более, чем на 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO:7 и/или SEQ ID NO:8. В некоторых случаях эти антитела против BDCA2 или BDCA2-связывающие фрагменты (i) связываются с BDCA2 человека или макака-крабоеда, но не связываются с BDCA2 видов, филогенетически находящихся ниже приматов; и/или (ii) ингибируют TLR7/TLR9-индуцированное производство интерферона типа I и других цитокинов или хемокинов человеческими pDC; и/или (iii) опосредуют интернализацию BDCA2 с поверхности pDC; и/или (iv) снижает количество CD32a и/или CD62L на поверхности pDC; и/или (v) снижают количество pDC *in vitro* посредством ADCC или CDC.

В некоторых вариантах осуществления изобретения во всех вышеописанных способах лечения, антитело против BDCA2 или его антигенсвязывающий фрагмент избирательно связывается с эктодоменом BDCA2 человека и содержит (i) HC, который имеет по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:9 и/или (ii) LC, который имеет по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:10; или отличается, по меньшей мере, на 1-5 аминокислотных остатков, но не более, чем на 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO:9 и/или SEQ ID NO:10.

Ниже приведены примеры практики применения изобретения. Они не должны рассматриваться как ограничивающие объем изобретения каким-либо образом.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Оценка вязкости композиций антител против BDCA2

Для получения высококонцентрированного препарата антитела против BDCA2 была определена самая высокая концентрация антитела, которая могла быть использована. Препарат антитела, используемый в этих исследованиях, содержал BIIB059, цитратный буфер 10 мМ, 140 мМ Arg.HCl и 0,05% PS80. Препарат имеет pH 6,0. Наибольшая концентрация в этих исследованиях ограничивается вязкостью и пределом, налагаемым подкожным насосом большого объема: 50 сП. Вязкость измеряли в препарате с низкой концентрацией (**фигура 1**). Было обнаружено, что пороговая вязкость достигалась в пределах между 225 и 250 мг/мл и концентрация 225 мг/мл была выбрана в качестве самой высокой концентрации для препаратов антител против BDCA2.

Пример 2: Тестирование различных эксципиентов и условий для препаратов антител

Первоначально очень высокие скорости агрегации наблюдались при температуре 40 °C, а также видимые частицы и значительные количества невидимых невооруженным глазом частиц в препарате антитела Примера 1. Было выявлено несколько причинных факторов:

1. Характер изменения при 40°C, по-видимому, не предсказывает характер изменения при 5°C
2. Связанные с процессом стрессовые воздействия, например, во время UF/DF, могут вызвать образование агрегаций. Обработка в присутствии эксципиентов предотвращает это
3. Различные использованные партии лекарственных веществ имели разные начальные уровни HMW, что может влиять на последующую агрегацию
4. Белок проявлял как минимум умеренную чувствительность к свету.
5. Может существовать связь с окислением.

Поэтому материал готовят в присутствии, по меньшей мере, минимальных эксципиентов, перед добавлением каких-либо дополнительных эксципиентов. Приготовления, проверенные на стабильность, показаны в Таблице 2.

Таблица 2: Исходные исследования приготовлений

Исследование	Концентрация белка (мг/мл)	Буфер	pH	Экципиент
1	150, 200 и 225	His, Цитрат	5,5, 6,0, 6,5	140 mM Arg.HCl
2	225	Цитрат	6.0	70 mM Arg 300 mM Arg 7% сахарозы 300 mM Pro 150 mM Arg, 10 mM Met 70 mM Arg, 70 mM Glu 140 mM NaCl 1% гидроксипропил β -циклодекстрина 1% сукцинил β -циклодекстрина

Исследование 1

В Исследовании 1, хотя высокая степень агрегации наблюдалась при температуре 40 °C, высокий уровень стабильности наблюдался при температуре 5 °C без значительного увеличения количества соединений с высокой молекулярной массой (HMW) в течение 3 месяцев при концентрациях до 225 мг/мл. Дальнейший анализ данных показал, что более низкий pH приводит к более низкой агрегации, а гистидин лучше, чем цитрат (**фигура 2**).

Видимые частицы можно было наблюдать после инкубации при температуре 40°C при более высоком pH, тогда как количество невидимых невооруженным глазом частиц, подсчитанное с помощью визуализации микропотока (MFI) оставались приемлемыми. Аналогичная тенденция наблюдалась через 3 месяца при температуре 5 °C, хотя было обнаружено меньшее количество частиц. Вязкость в этих приготовлениях увеличивалась с концентрацией. Слабая зависимость от буфера и pH также может наблюдаться, хотя этот эффект был небольшим (**фигура 3**).

Эксперименты также проводились для определения того, что используемые уровни Tween, 0,05% PS80, были все еще адекватными при высокой концентрации антитела против BDCA2. Оценка внешнего вида, MFI и эксклюзионная хроматография (SEC) показали, что при уровнях 0,02% PS80 и выше никакой дополнительной защиты от воздействия перемешивания не было. Поэтому было установлено, что поддержание целевой концентрации при 0,05% PS80 является адекватным.

Исследование 2

В этом втором исследовании рассматривались различные эксципиенты и некоторые комбинации эксципиентов (см. Таблицу 2).

При температуре 40 °C снова наблюдался высокий уровень агрегации, хотя некоторые эксципиенты, особенно Arg.HCl, обеспечивали явное преимущество зависимым от концентрации образом (Фигура 4).

Рассматривая вязкость этих приготовлений, Arg.HCl опять обеспечивал преимущество, поскольку он снижает вязкость зависимым от концентрации образом. Растворы, содержащие Arg, имели склонность к образованию видимых частиц после инкубации при температуре 40 °C. Неожиданно, сахароза препятствовала образованию видимых частиц (Таблица 3). Сахароза также снизила количество невидимых невооруженным глазом частиц (Фигура 5).

Таблица 3: Вязкость (в стартовый момент времени) и видимые частицы после инкубации при температуре 40 °C в течение 1 месяца. Препараты содержали 20 мМ цитрата, pH 6,0, 0,05% PS80, с дополнительными эксципиентами, как показано.

Эксципиент	Вязкость при 225 мг/мл	Видимые частицы через 1 месяц при 40°C
70 мМ Arg.HCl	47,4	грубые белые/непрозрачные видимые частицы, созданные завихрением
300 мМ Arg.HCl	26,1	грубые видимые частицы, созданные завихрением
7% сахарозы	168	нет видимых частиц
1% гидроксипропил β-циклодекстрина	167	нет видимых частиц
1% сукцинил β-циклодекстрина	202	нет видимых частиц
300 мМ пролин	104	нет видимых частиц
140 мМ NaCl	59,1	нет видимых частиц
70 мМ Arg.HCl/ 70 мМ Glu	45,9	нет видимых частиц
150 мМ Arg.HCl/ 10 мМ Met	33,5	грубые видимые частицы, созданные завихрением

На основании этих результатов было начато исследование стабильности создания с использованием комбинации сахарозы и Arg.HCl, чтобы определить, приведет ли комбинация к более низкой агрегации, хорошей вязкости и отсутствию образования частиц. После инкубации при температуре 40°C наблюдалось отсутствие видимых частиц. Интересно, что комбинация сахарозы и Arg.HCl также значительно уменьшала количество невидимых невооруженным глазом частиц (Фигура 5). Хотя количество частиц при 70 мМ Arg.HCl было довольно низким, добавление сахарозы, что удивительно, еще больше снизило количество частиц (Фигура 5). Присутствие сахарозы существенно не влияло на образование агрегатов (Фигура 6). Дополнительные данные до 6 недель при температуре 5°C продолжали эту тенденцию и показали приемлемую стабильность в приготовлениях с комбинацией Arg.HCl/сахароза. При 200 мг/мл вязкость при 70 мМ Arg.HCl с 3,5% сахарозой составляла 22,5 сП; при 7% сахарозы вязкость составляла 23,5 сП.

Объединив результаты Исследования 1 и Исследования 2, ряд наблюдений привел к предложению нового «лучшего» препарата высокой концентрации (Таблица 4). Это «лучший» препарат называется Препаратом 2 в Примерах 3 и 4.

Таблица 4: Подробная информация о предлагаемом «лучшем» препарате при объединении данных Исследования 1 и Исследования 2

	Оригинальный препарат 50 мг/мл	Предлагаемый новый препарат	Обоснование
Буфер	10 мМ цитрата	20 мМ His	Увеличивает буферную емкость Лучшая стабильность в His
pH	pH 6,0	pH 5,5	Более низкая агрегация при более низком pH
[Arg.HCl]	140 мМ	100 мМ	Баланс осмоляльности с более низкой вязкостью и агрегацией
[Сахароза]	--	3%	Уменьшение образования видимых и невидимых невооруженным глазом частиц
Концентрация PS80	0.05%	0.05%	Никаких изменений не требуется

Поскольку в препаратах антитела против BDCA2 ранее обнаруживалась агрегация, наличие видимых и невидимых невооруженным глазом частиц, было решено, что антитело против BDCA2 должно быть приготовлено при 150 мг/мл.

Пример 3: Сравнение Агрегации в Препаратах Антител Против BDCA2

Препарат 50 мг/мл антитела против BDCA2 (BIIB059), приготовленный в 10 мМ цитрата, 150 мМ Arg.HCl, 0,05% PS80, pH 6,0, подвергали концентрированию с помощью ультрафильтрации/диафильтрации. Были созданы два различных концентрированных препарата: Препарат 1: 150 мг/мл BIIB059, 20 мМ цитрата, 140 мМ Arg.HCl, 0,05% PS80, pH 6,0; и Препарат 2: 150 мг/мл BIIB059, 20 мМ гистидина, 100 мМ Arg.HCl, 3% сахарозы, 0,05% PS80, pH 5,5. В этом формате можно было исследовать высокую концентрацию в двух разных препаратах.

Интересно, что хотя материал Препарата 2 концентрировали и перерабатывали из буфера цитрат/Arg, Препарат 2 (с эксципиентами His/Сахароза/Arg) продемонстрировал более низкие уровни исходного количества агрегаций (**фигура 7**). Скорость агрегации этого материала также была ниже (Таблица 5).

Таблица 5: Скорости агрегации (% увеличения уровня HMW в месяц), при сравнении Препаратов 1 и 2

	Препарат 2	Препарат 1
Препарат	150 мг/мл, His/Arg/Сахароза	150 мг/мл, Cit/Arg
Скорость агрегации при 5°C	0,10	0,20
Скорость агрегации при 25°C	0,40	0,50
Скорость агрегации при 40°C	2,53	2,00

Исходя из наблюдаемого начального % HMW (**фигура 7**), скорость агрегации при 5°C (Таблица 5) и увеличение HMW через 1 месяц при 25°C (**фигура 7**), можно предсказать срок хранения каждого продукта: т. е. время, при прошествии которого достигается 5% HMW, обычный требуемый порог для продуктов ранней стадии.

Предсказанный срок хранения для препарата 1 составлял 9,5 месяцев, тогда как для препарата 2 составлял 26 месяцев (это, вероятно, заниженная оценка, так как расчет скорости агрегации при температуре 5°C основывался на данных о первых трех месяцах, где агрегирование проходило наиболее быстро, и 1 месяце при комнатной температуре, что вероятно, намного превышает тот срок, которому продукт может быть фактически подвергнут). В целом, данные показывают, что Приготовление 2 обеспечивает значительно более высокую стабильность относительно агрегации по сравнению с Приготовлением 1.

Пример 4: Вязкость Препарата 2 антитела против BDCA2

Затем измеряли вязкость Препарата 2. Как можно видеть на **фигуре 8**, профиль вязкости обеспечивает возможность заключения этого препарата в устройство. Порог 10 сП для автоинжектора не достигался до ~155 мг/мл, таким образом предполагается, что материал до 140 мг/мл может быть введен в это устройство. Порог 50 сП не достигался при концентрациях до 200 мг/мл, таким образом предполагается возможность достижения этой концентрации, если требуется подкожный инжектор большого объема.

Пример 5: Обоснование Режимы Дозирования

Режим дозирования выбирали на основе безопасности, фармакокинетики (ФК), интернализации ФК-BDCA2 и экстраполированной ингибиторной способности (концентрация, приводящая к 90% ингибированию [IC90] ответа) производства рDC IFN α .

Единичные внутривенные (IV) дозы BIIB059 до 20 мг/кг включительно у здоровых субъектов продемонстрировали приемлемую переносимость. Связывание с целью BDCA2, измеряемое интернализацией и повторным появлением BDCA2, при наблюдении являлось дозозависимым в диапазоне доз от 0,3 мг/кг до 20 мг/кг. Значения EC90 для интернализации BDCA2 были получены при популяционном моделировании ФК и ФД со средним значением 1,5 мкг/мл. IC90 ингибирования IFN α оценивали при экстраполяции интернализации BDCA2 и ингибирования IFN α *in vitro* на *in vivo*.

Фиксированные дозы BIIB059 50 мг, 150 мг и 450 мг для

подкожного введения (ПК) каждые 4 недели (Q4W) с дополнительной дозой («нагрузочная доза») через две недели после введения первой дозы (неделя 2) обуславливаются следующим:

(1) Низкая доза 50 мг ПК Q4W была выбрана для поддержания интернализации BDCA2 в течение большей части интервала дозирования.

(2) Средняя доза 150 мг ПК Q4W была выбрана для достижения минимальных уровней концентрации (C_{min}), аналогичных рассчитанной IC90 для IFN α .

(3) Верхняя доза 450 мг ПК Q4W была выбрана для достижения уровней C_{min} , аналогичных 3-кратному рассчитанному IC90 для ингибирования IFN α . Кроме того, этот режим дозирования с дополнительной дозой 450 мг на неделе 2, и биодоступностью (F) 0,45, как ожидается, должен приводить к кумулятивному воздействию в течение 3 месяцев, сравнимому с тем, которое достигается однократной дозой IV 20 мг/кг у субъекта массой 65 кг, самой высокой дозой, испытанной на клинически здоровых добровольцах.

Чтобы обеспечить достаточное количество лекарственного средства и концентрацию выше целевых установившихся значений в течение 1 месяца после ПК введения, будет добавлена нагрузочная доза ПК на 2-й неделе (15-й день, т. е. через 15 дней после введения первой дозы).

Данные ФК с использованием скорректированного по массе дозирования показали, что масса тела не является влияющим ковариантом для воздействия BIIB059. Кроме того, популяционное моделирование ФК показало, что как скорректированное по массе дозирование, так и фиксированное дозирование приводят к сопоставимому воздействию BIIB059. Поэтому режимы с фиксированной дозой являются обоснованными.

Высокая доза 450 мг ПК Q4W (в течение 12 недель) и нагрузочная доза на Неделе 2 основана на моделированиях ФК с использованием данных как с режимами ПК и IV Q2W, так и с ожиданием того, что величина дозы 450 мг будет иметь адекватное взаимодействие с целью (BDCA2) для подавления функции pDC,

включая производство IFN типа I, в течение 12 недель.

Пример 6: Исследование Препарата Антител Против BDCA2 Высокой Концентрации Препарат антител против BDCA2 был приготовлен в концентрации 150 мг/мл в 20 мМ гистидина, 100 мМ Arg.HCl, 3% сахарозы, 0,05% полисорбата-80 при pH 5,5. Для обеспечения подкожного введения антитела против BDCA2 в высоких дозах было проведено исследование препарата для изучения стабильности жидких композиций антитела против BDCA2 при концентрациях выше 150 мг/мл. Концентрации 200, 225 и 240 мг/мл были исследованы в этом исследовании. Уровни аргинина и сахарозы также варьировали, чтобы понять роль этих эксципиентов в стабильности препаратов с высокими концентрациями. Кроме того, pH приготовлений был увеличен до 6,0 или 6,5 для уменьшения образования основных соединений. Было испытано в общей сложности десять препаратов (см. Таблицу 6 для композиций приготовлений).

Таблица 6: Протестированные Препараты

Препарат	[Антитело					
	против BDCA2] (мг/мл)	Arg.HCl (мМ)	Сахароз а (%)	pH	His (мМ)	PS 80 (%)
1	200	250	3	6	20	0,05
2	200	100	3	6,5	20	0,05
3	200	250	3	6,5	20	0,05
4	225	100	3	6	20	0,05
5	225	250	1	6	20	0,05
6	225	250	1	6,5	20	0,05
7	240	100	1	6	20	0,05
8	240	250	1	6	20	0,05
9	240	100	1	6,5	20	0,05
10	240	250	1	6,5	20	0,05

Все препараты инкубировали при четырех условиях: (i) 5 °C, (ii) 25 °C/60% относительная влажность, (iii) 30 °C/70% относительная влажность и (iv) 40 °C/75% относительная влажность. В заданные моменты времени отбирались образцы для анализа,

который включал эксклюзионную хроматографию (SEC) для количественной оценки агрегатов и визуализирующего капиллярного изоэлектрического фокусирования (icIEF) для количественной оценки основных изоформ.

При 5 °C Препараты 1 и 5, маркированные 200/250/3/6 и 225/250/1/6 соответственно, имели самую низкую агрегацию во всех исследованных моментах времени (0, 4 и 12 недель) (**фигура 9**). При 25°C (**фигура 10**), 30°C (**фигура 11**) и 40°C (**фигура 12**) Препарат 1 постоянно демонстрировал самое низкое образование агрегатов по сравнению с другими приготовлениями. Таким образом, Препарат 1 был определен как наиболее эффективный препарат в этом исследовании. Линейное моделирование данных агрегации из этого исследования продемонстрировало, что концентрация белка, концентрация аргинина и pH приготовления значительно влияют на агрегацию.

Образование основных соединений сильно зависело от pH: повышенные уровни наблюдались в препаратах при pH 6,0 по сравнению с препаратами при pH 6,5. Эта тенденция была особенно очевидной при 25°C (**фигура 13**), 30°C (**фигура 14**) и 40°C (**фигура 15**). Препараты при pH 6,0 также имели тенденцию к увеличению количества основных изоформ со временем при температуре 25°C (**фигура 13**), 30°C (**фигура 14**) и 40°C (**фигура 15**). При температуре 5°C не было последовательного увеличения основных изоформ в любом из препаратов (**фигура 16**), в отличие от предыдущих результатов в типовом препарате BDCA2 (то есть, где лекарственный препарат против BDCA2 приготовлен в концентрации 150 мг/мл в 20 mM гистидина, 100 mM Arg.HCl, 3% сахарозы, 0,05% полисорбата-80 при pH 5,5).

Пример 7: Оценка воздействия тиол-содержащего окислителя (лей) в препаратах антител против bdca2

Материалы и Способы:

Белки и Реактивы

Антитело против BDCA2 (BIIB059), SB4 (BENEPALI®) и антитело против $\alpha\text{v}\beta 5$ (STX 200) были приготовлены в соответствии с приведенной ниже таблицей:

Молекула	Конц. (мг/мл)	Буфер	pH
BDCA2	150	20 mM His, 100 mM Arg.HCl, 3% сахарозы, 0,05% PS80	5,5
SB4	50	10 mM фосфата натрия, 140 mM NaCl, 1% сахарозы	6,2
STX 200	50	20 mM Гистидина, 5% сорбита, 0,05% PS80	6,5

Восстановленные и окисленные формы L-глутатиона (GSH и GSSG) были получены от Sigma Aldrich (Сент-Луис, Миссури).

Эксклюзионная ВЭЖХ

Эксперименты с эксклюзионной ВЭЖХ (SEC) проводили на приборе Waters Acquity UPLC, оснащенный аналитической колонкой Acquity UPLC BEH200 SEC в сочетании с защитной колонкой. УФ-детектирование проводили при 280 нм. Образец в количестве 20 мкг вводили в колонку с постоянной скоростью потока подвижной фазы 0,35 мл/мин. Каждый образец проходил хроматографию в течение 10 мин.

Исследования Стабильности

SB4 и STX 200 концентрировали до 150 мг/мл в центрифужных фильтрах 10К. Стоковые растворы 20 mM GSH и 10 mM GSSG, приготовленные в соответствующих буферах, добавляли в белковые растворы для получения конечных концентраций 0,4 mM и 0,2 mM, соответственно. Полученные растворы наносили на пластины WebSeal со стеклянными вставками, герметизировали и инкубировали при температуре 25 °C/60% относительной влажности и температуре 40 °C/75% относительной влажности в течение 3 месяцев. Анализ % NMW выполняли с помощью SEC в заданные моменты времени.

Результаты и Обсуждение

Глутатион, трипептид (γ -Glu-Cys-Gly) регулирует образование дисульфидных связей. Восстановленная форма (GSH) расщепляет неправильно сформированные дисульфидные связи, а окисленная форма (GSSG) облегчает их образование. Следовательно, агрегированные белки, инкубированные с окислительно-восстановительной парой (то есть, GSH+GSSG), будут подвергаться рефолдингу до правильной нативной конформации и будут влиять на

кинетику агрегации.

Антитело против BDCA2 в присутствии глутатиона демонстрирует начальную обратимую агрегацию, после чего следует скорость агрегации, которая является более низкой относительно приготовления без глутатиона при 25°C (**фигура 17**, левая панель). Более высокие температуры (40 °C) также делают вклад в разнообразие механизмов агрегации, при этом вступает в действие конформационная стабильность (**фигура 17**, правая панель). Следовательно, с помощью только глутатиона не удастся добиться такого же снижения, как при 25°C.

Сахароза является широко используемым эксципиентом для стабилизации белка. Он предпочтительно удаляется с поверхности белка, что способствует его нативной конформации. Отсутствие сахарозы в приготовлении антитела против BDCA2 не влияло на профиль агрегации (**фигура 18**), что еще больше подчеркивает роль перестановки дисульфидных связей для контроля агрегации в BDCA2.

Добавление глутатиона отрицательно влияет на STX200, где наблюдалось увеличение агрегации (**фигура 20**). STX 200 представляет собой агликозилированную молекулу, демонстрирующую слабую конформационную стабильность при более высоких температурах. Следовательно, разворачивание молекулы делает доступной тиоловую группу, что обеспечивает ее более высокую восприимчивость к соединению с тиолом в глутатионе и способствует дальнейшей агрегации. Глутатион также не оказывал никакого влияния на кинетику агрегации в SB4, слитого белка при 25 °C, но способствовал более быстрой агрегации при 40°C (**фигура 19**).

ДРУГИЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Хотя изобретение было описано вместе с его подробным описанием, приведенное выше описание предназначено для иллюстративных целей и не ограничивает объем изобретения, который определяется объемом прилагаемой формулы изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации находятся в рамках следующей формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения состояния, выбранного из группы, состоящей из системной красной волчанки, кожной красной волчанки, дискоидной красной волчанки, волчаночного нефрита, синдрома Шегрена, дерматомиозита, дерматополимиозита, склеродермии и синдрома высвобождения цитокинов у пациента человека, где способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества анти-BDCA2 антитела или его BDCA2-связывающего фрагмента, где анти-BDCA2 антитело или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи иммуноглобулина (VL), где VH и VL, соответственно, содержат:

(a) области, определяющие комплементарность VH (CDR), где VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:1;

VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2; и

VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3; и

(b) VL CDR, где

VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:4;

VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:5; и

VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:6;

где лечение включает подкожное введение пациенту анти-BDCA2 антитела или его BDCA2-связывающего фрагмента в дозе 450 мг каждые четыре недели.

2. Способ по п.1, где пациенту вводят по меньшей мере 4, 7 или 10 доз анти-BDCA2 антитела или его BDCA2-связывающего фрагмента.

3. Способ по п.1 или 2, где пациенту вводят подкожно нагрузочную дозу анти-BDCA2 антитела или его BDCA2-связывающего фрагмента через две недели после первого введения анти-BDCA2 антитела или его BDCA2-связывающего фрагмента.

4. Способ по п.3, где нагрузочная доза составляет 450 мг.
5. Способ по любому из пп.1-4, где указанное состояние представляет собой системную красную волчанку.
6. Способ по любому из пп.1-4, где указанное состояние представляет собой кожную красную волчанку.
7. Способ по любому из пп.1-4, где указанное состояние представляет собой дискоидную красную волчанку.
8. Способ по любому из пп.1-7, где VH содержит последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и VL содержит последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:8.
9. Способ по любому из пп.1-7, где VH содержит последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и VL содержит последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:8.
10. Способ по любому из пп.1-7, где VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7, и VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:8.
11. Способ по любому из пп.1-7, где анти-BDCA2 антитело содержит тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина, где тяжелая цепь иммуноглобулина содержит последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, и легкая цепь иммуноглобулина содержит последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10.
12. Способ по любому из пп.1-7, где анти-BDCA2 антитело содержит тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина, где тяжелая цепь иммуноглобулина содержит последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, и легкая цепь иммуноглобулина содержит последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10.

13. Способ по любому из пп.1-7, где анти-BDCA2 антитело содержит тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина, где тяжелая цепь иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:9, и легкая цепь иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:10.

14. Шприц или насос, содержащий стерильный препарат анти-BDCA2 антитело или его BDCA2-связывающего фрагмента, где шприц или насос приспособлен для подкожного введения анти-BDCA2 антитело или его BDCA2-связывающего фрагмента в фиксированной дозе 450 мг, и где анти-BDCA2 антитело или его BDCA2-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменный домен легкой цепи (VL) иммуноглобулина, где VH и VL, соответственно, содержат:

(a) области, определяющие комплементарность VH (CDR), где VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:1;

VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2; и

VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3; и

(b) VL CDR, где

VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:4;

VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:5; и

VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:6.

15. Шприц или насос по п.14, где VH содержит последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и VL содержит последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:8.

16. Шприц или насос по п.14, где VH содержит последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:7, и VL содержит

последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:8.

17. Шприц или насос по п. 14, где VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7, и VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:8.

18. Шприц или насос по п.14, где анти-BDCA2 антитело содержит тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина, где тяжелая цепь иммуноглобулина содержит последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, и легкая цепь иммуноглобулина содержит последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10.

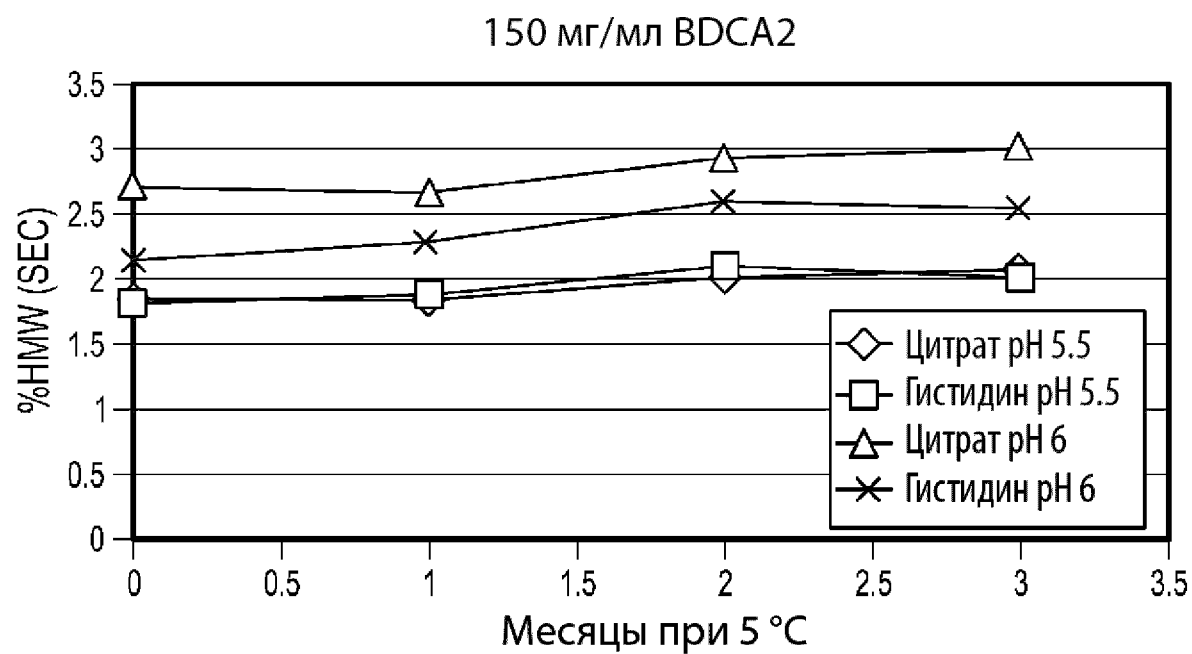
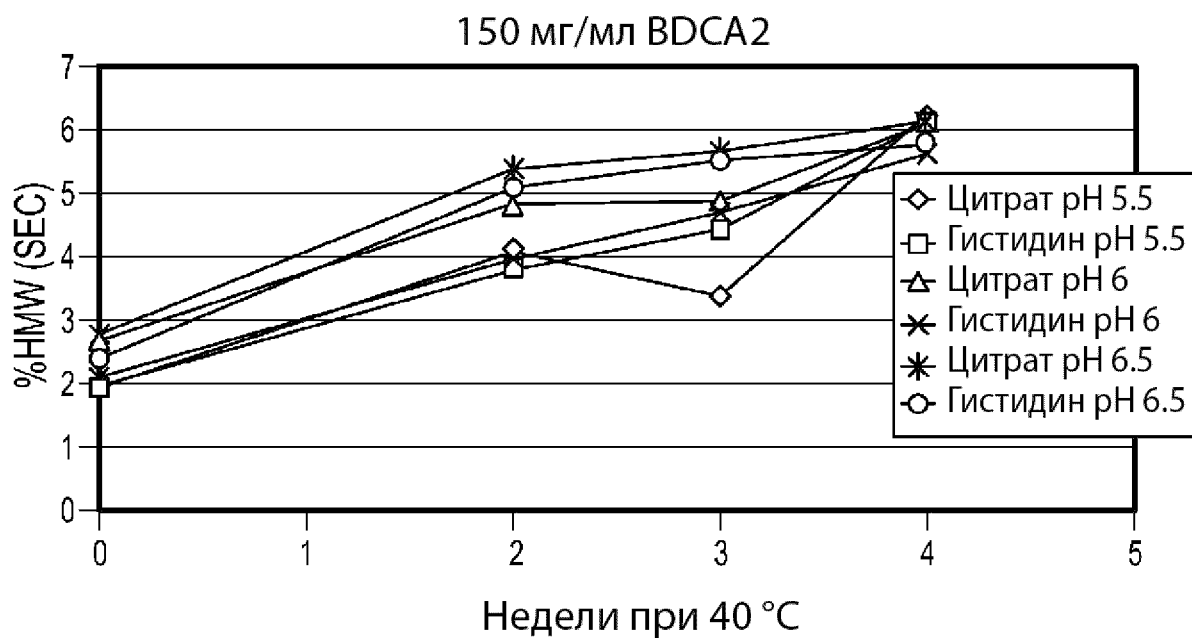
12. Шприц или насос по п.14, где анти-BDCA2 антитело содержит тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина, где тяжелая цепь иммуноглобулина содержит последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, и легкая цепь иммуноглобулина содержит последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10.

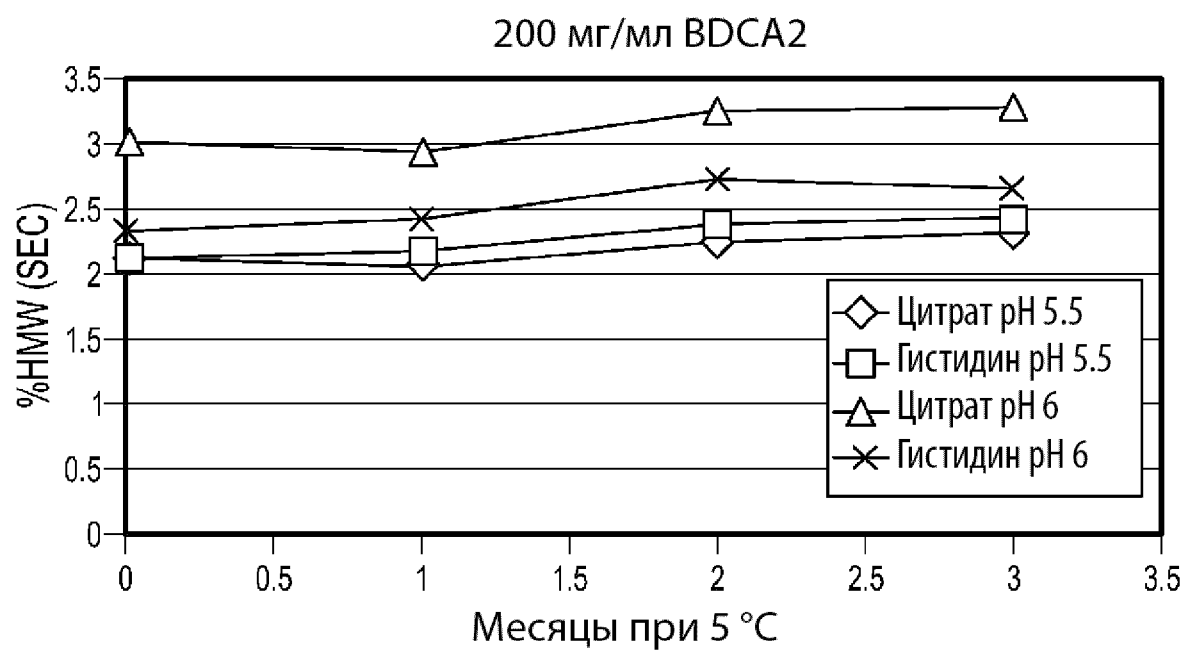
20. Шприц или насос по п.14, где анти-BDCA2 антитело содержит тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина, где тяжелая цепь иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:9, и легкая цепь иммуноглобулина содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:10.

По доверенности

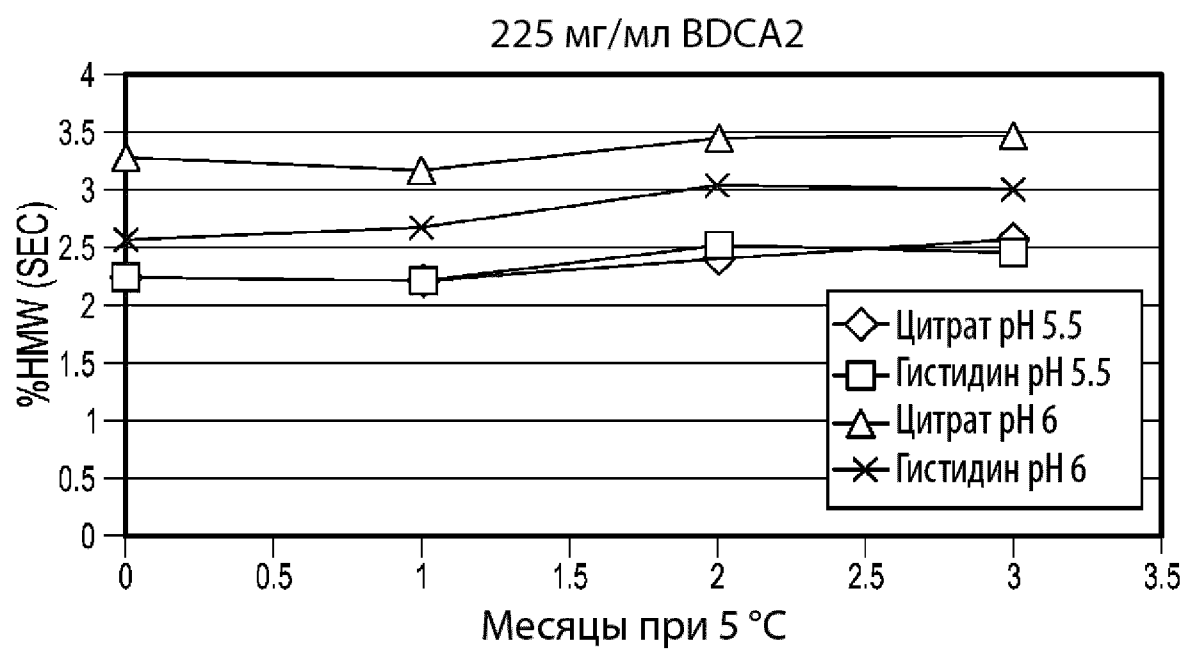


Фиг. 1

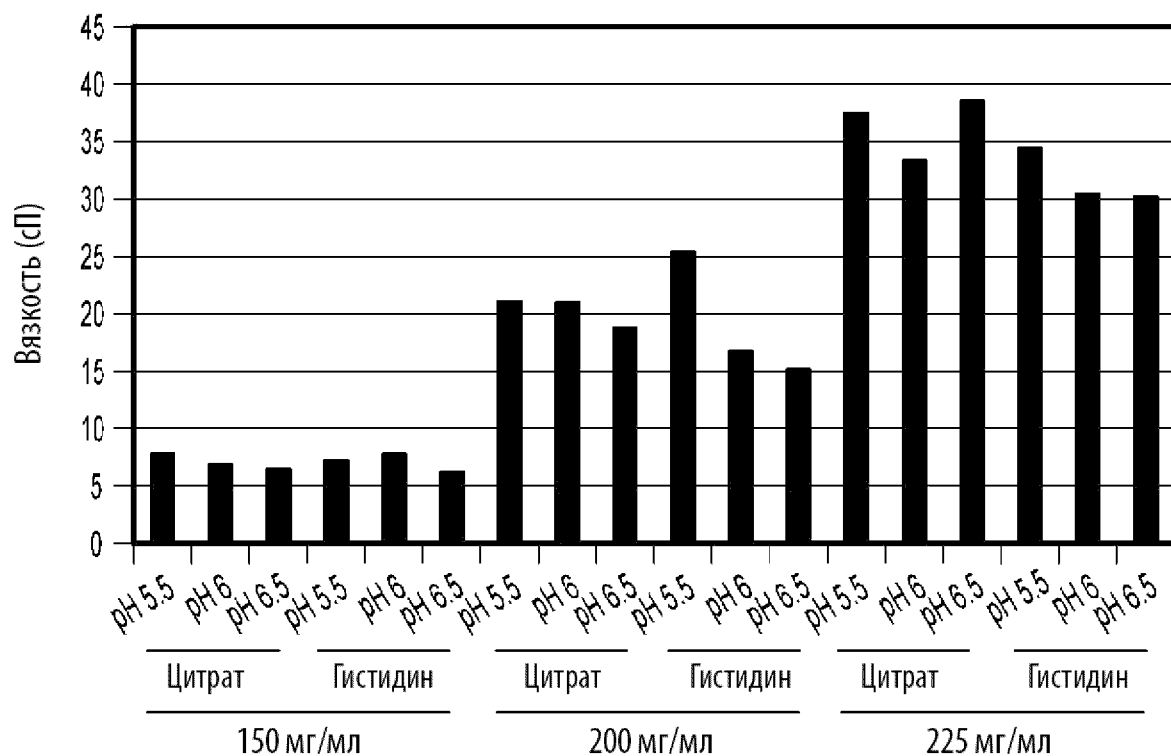




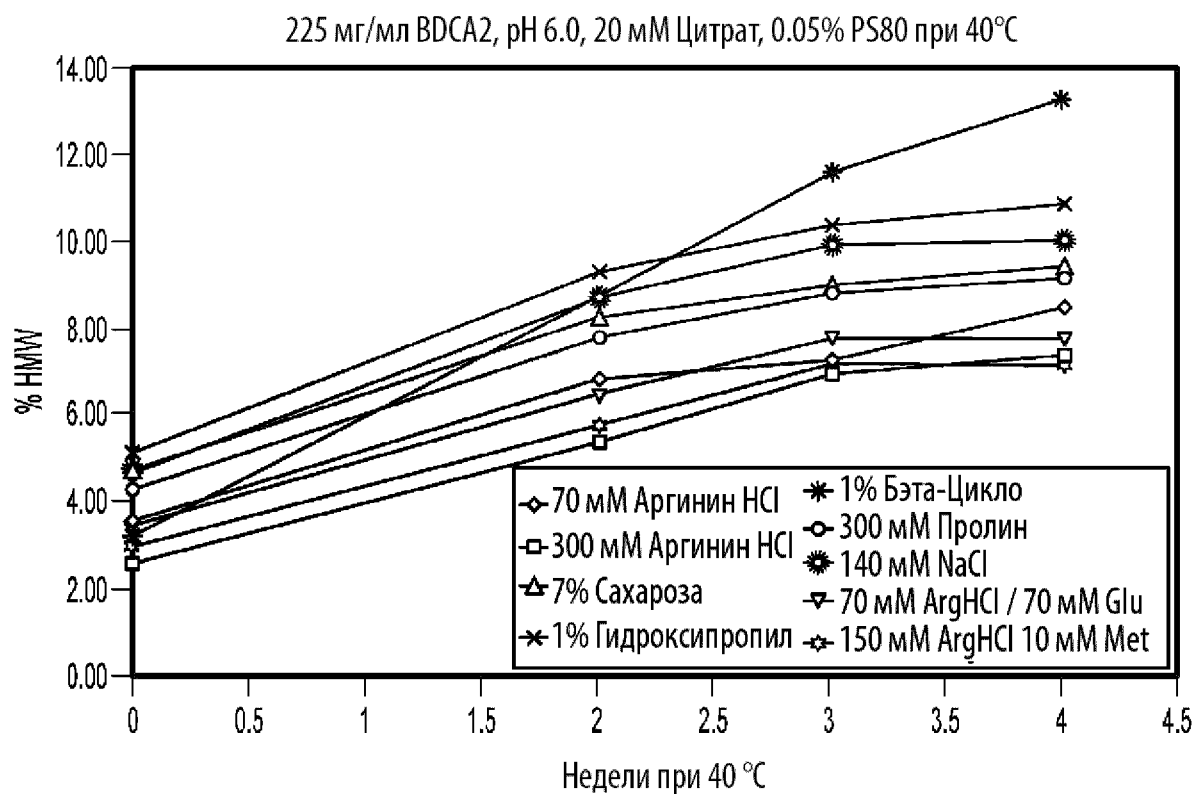
Фиг. 2С



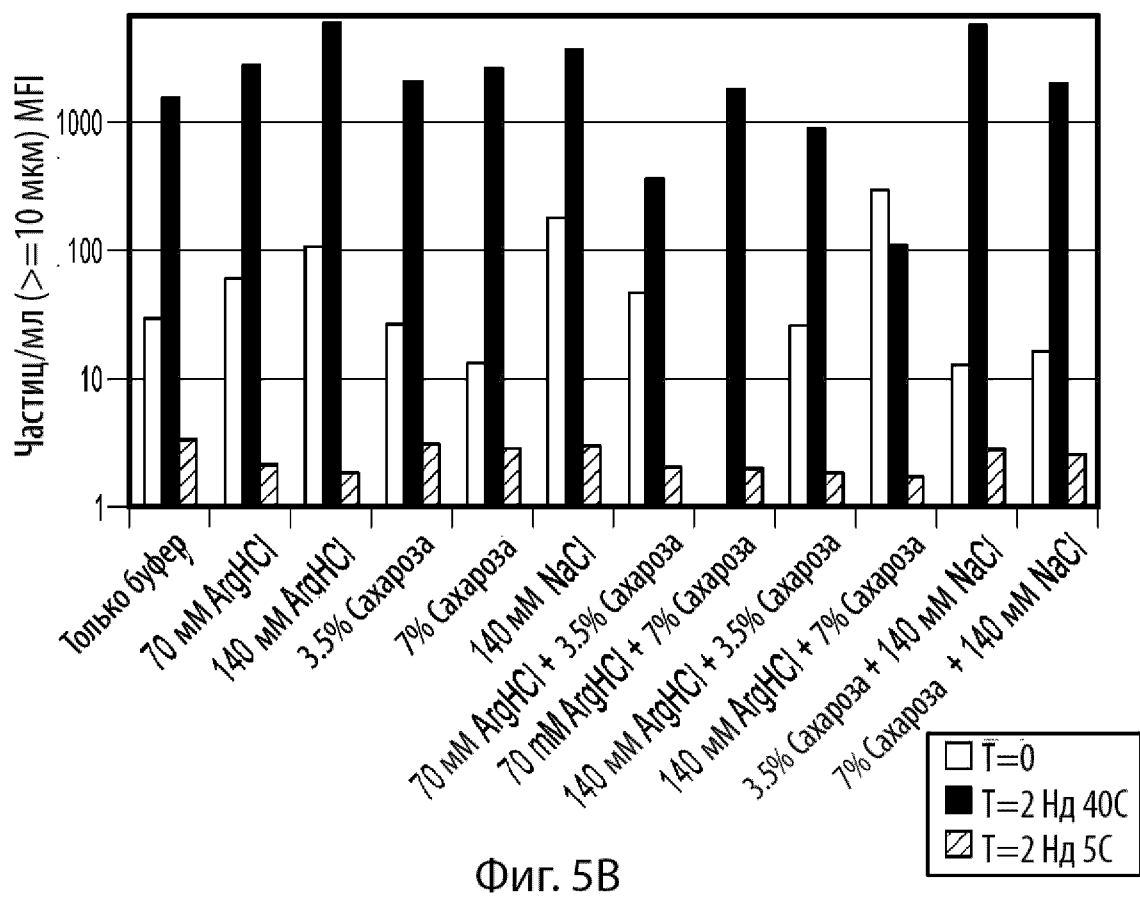
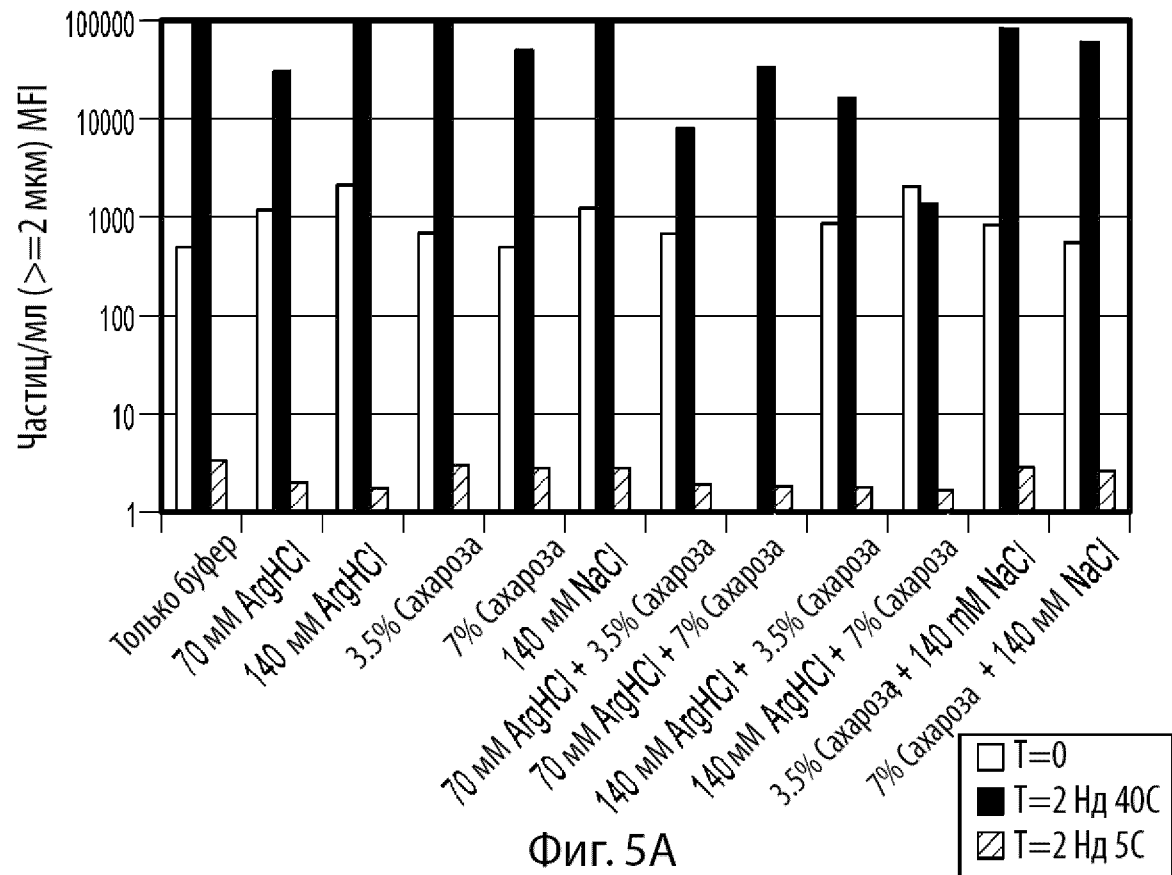
Фиг. 2D

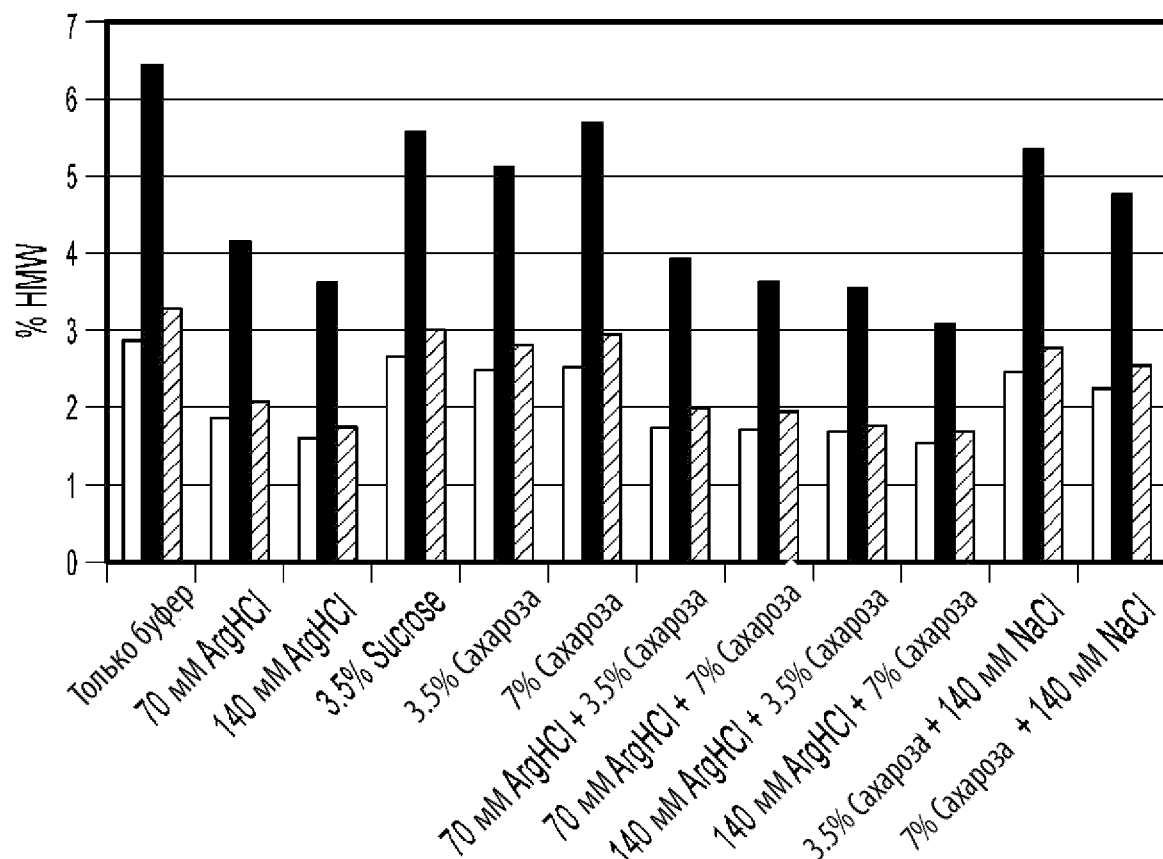


Фиг. 3



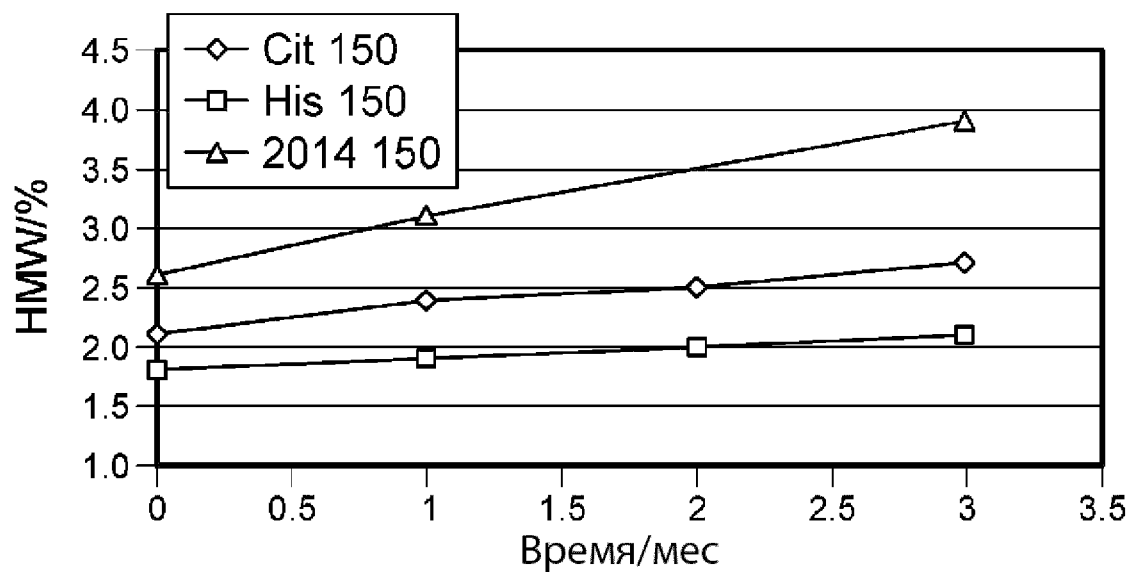
Фиг. 4



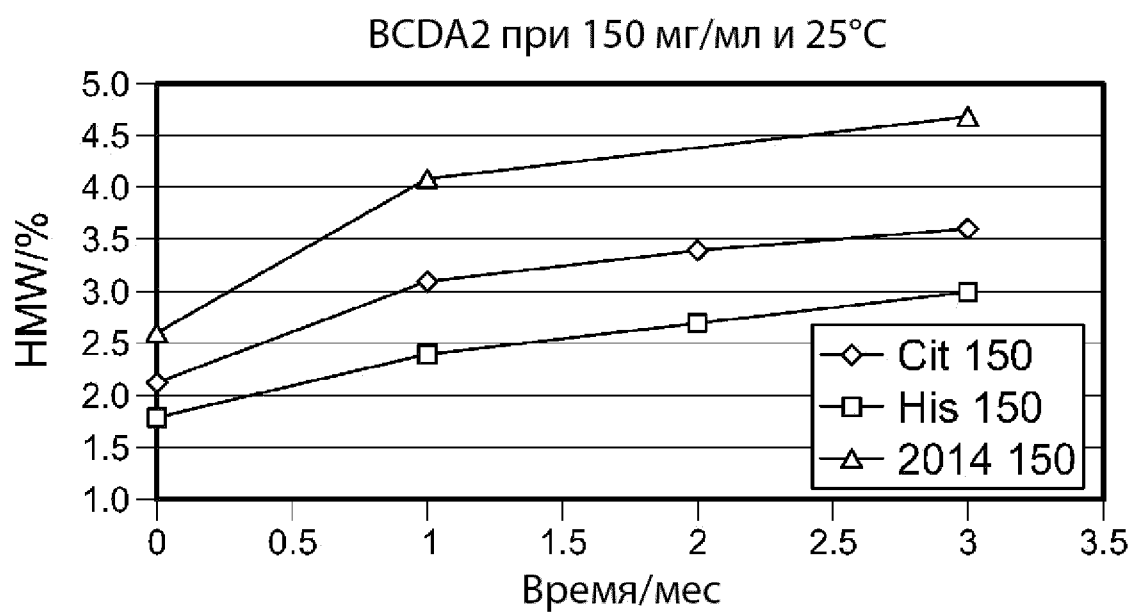


Фиг. 6

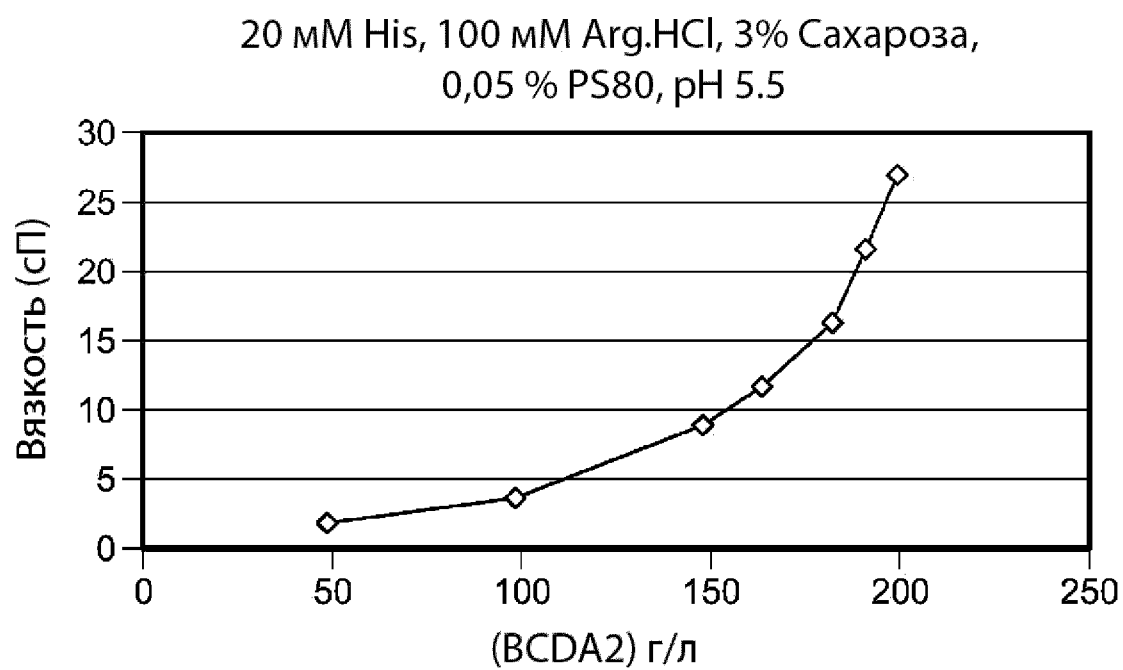
BCDA2 при 150 мг/мл и 5°C



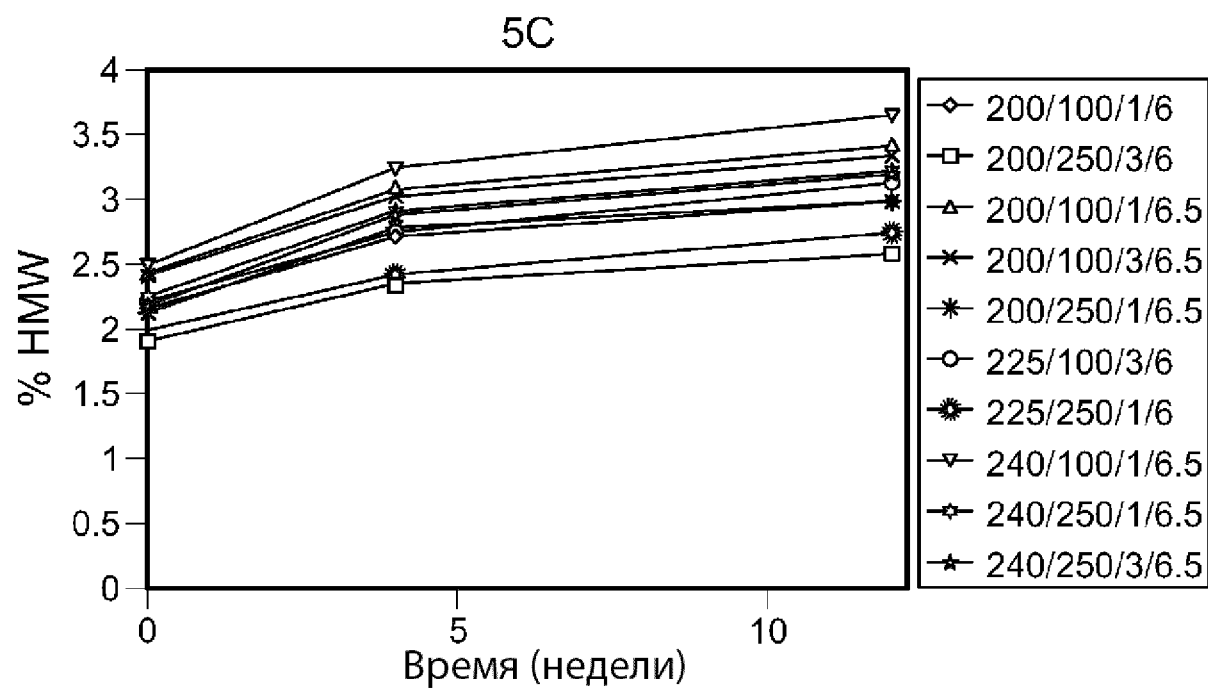
Фиг. 7А



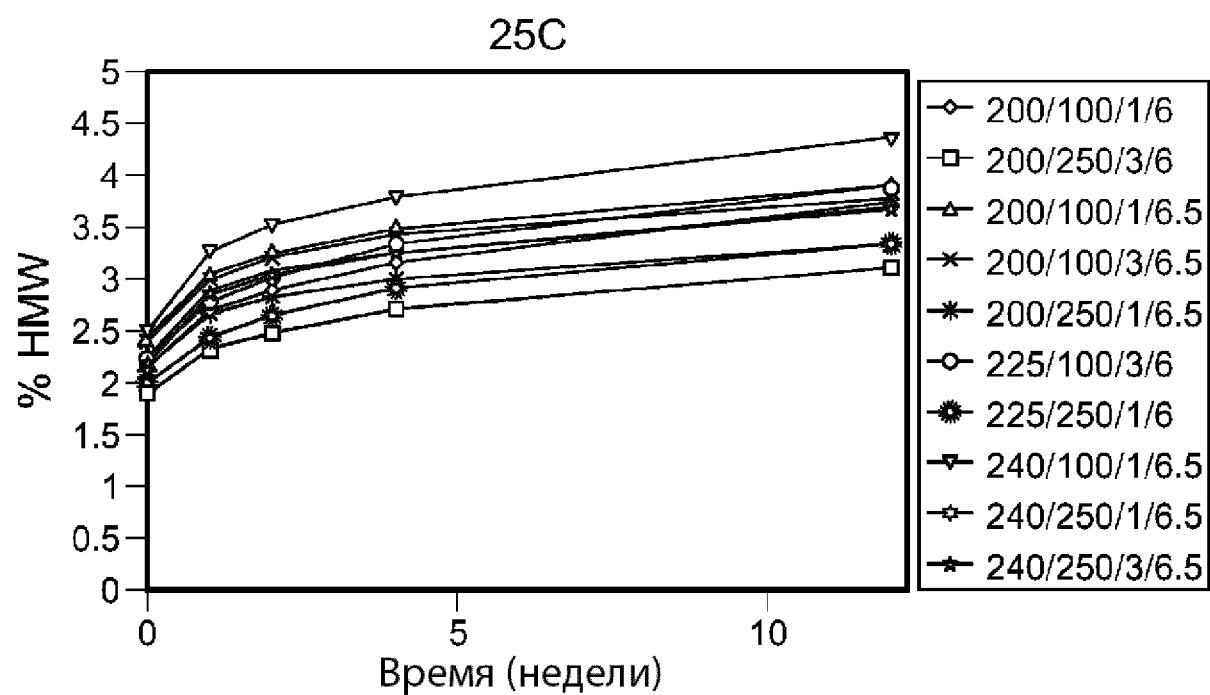
Фиг. 7 В



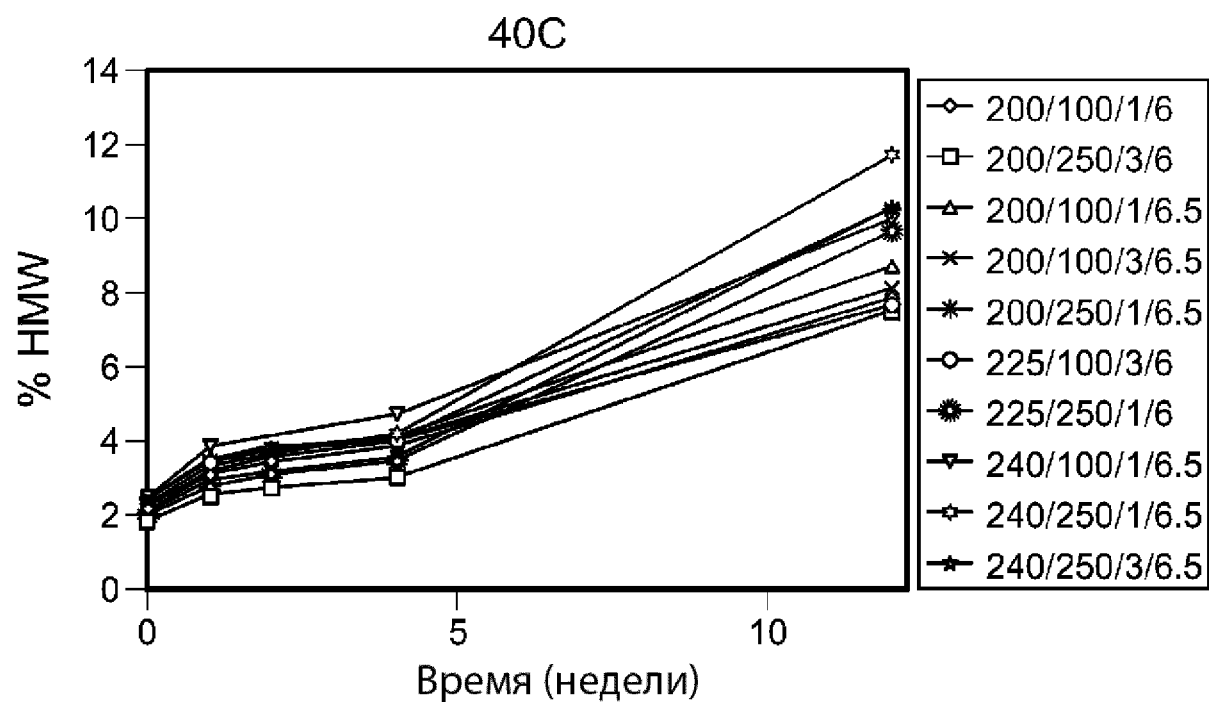
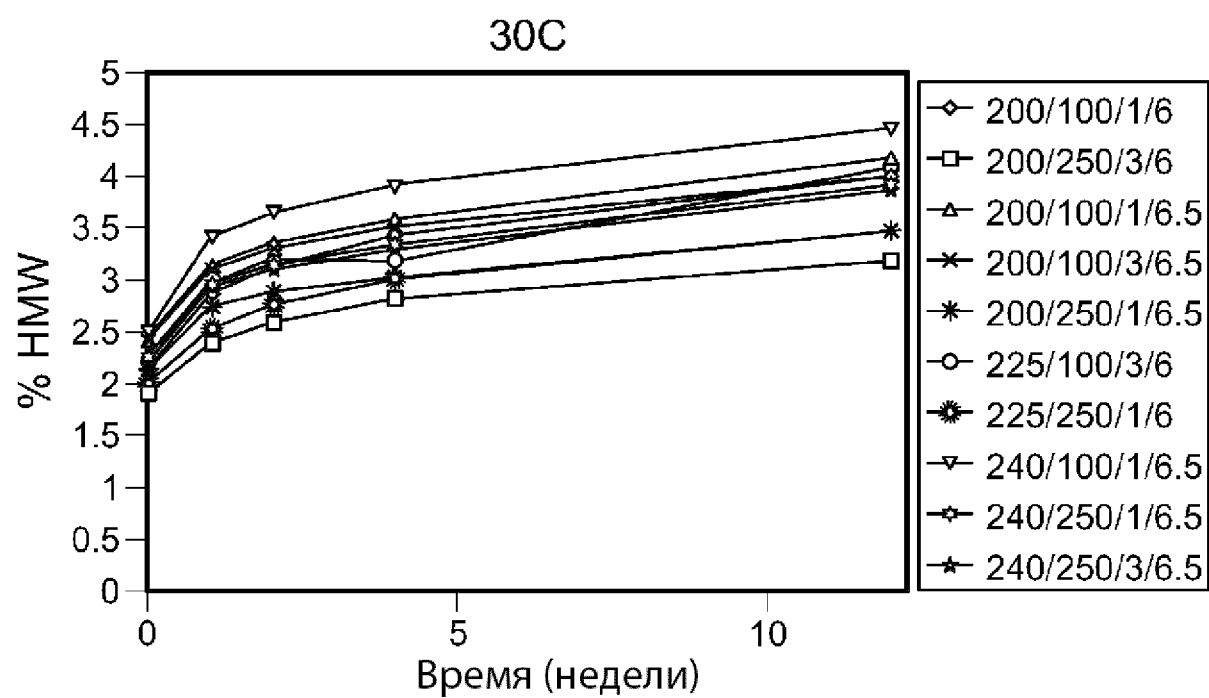
Фиг. 8

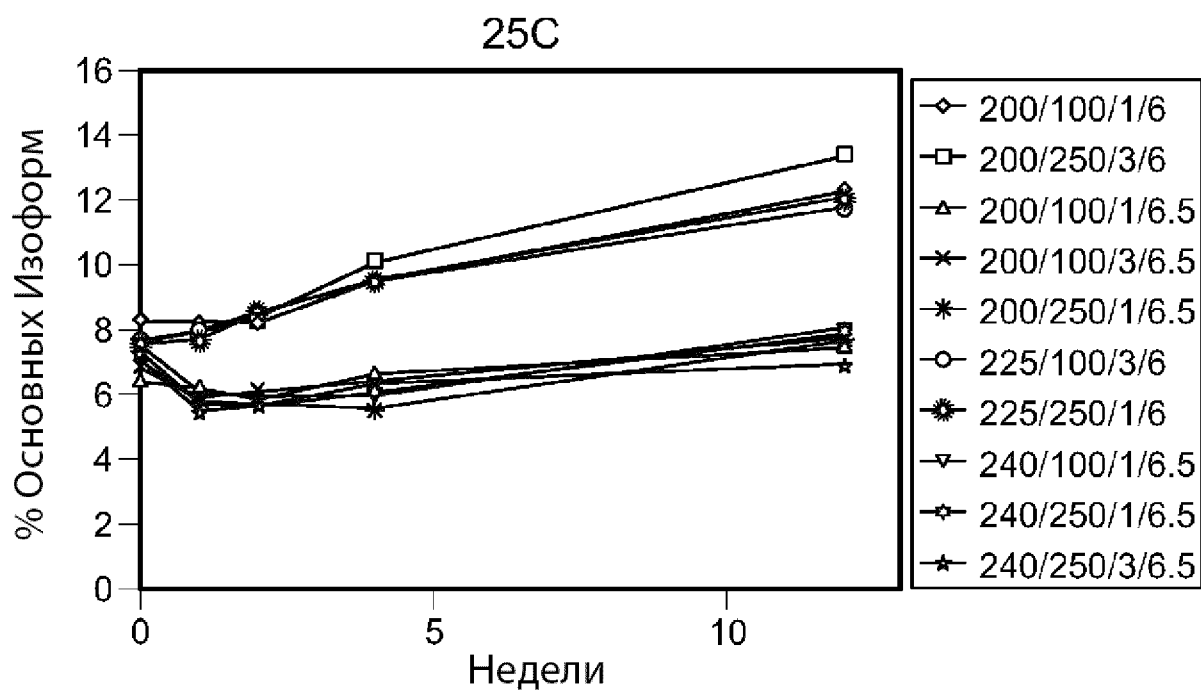


Фиг. 9

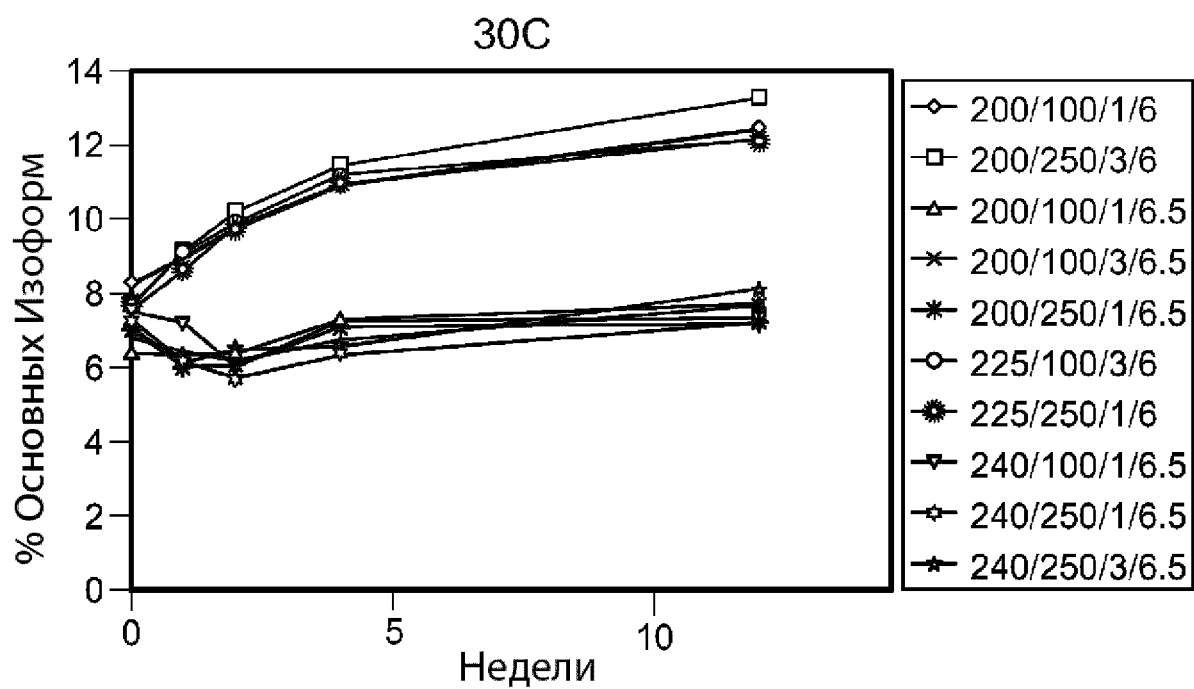


Фиг. 10

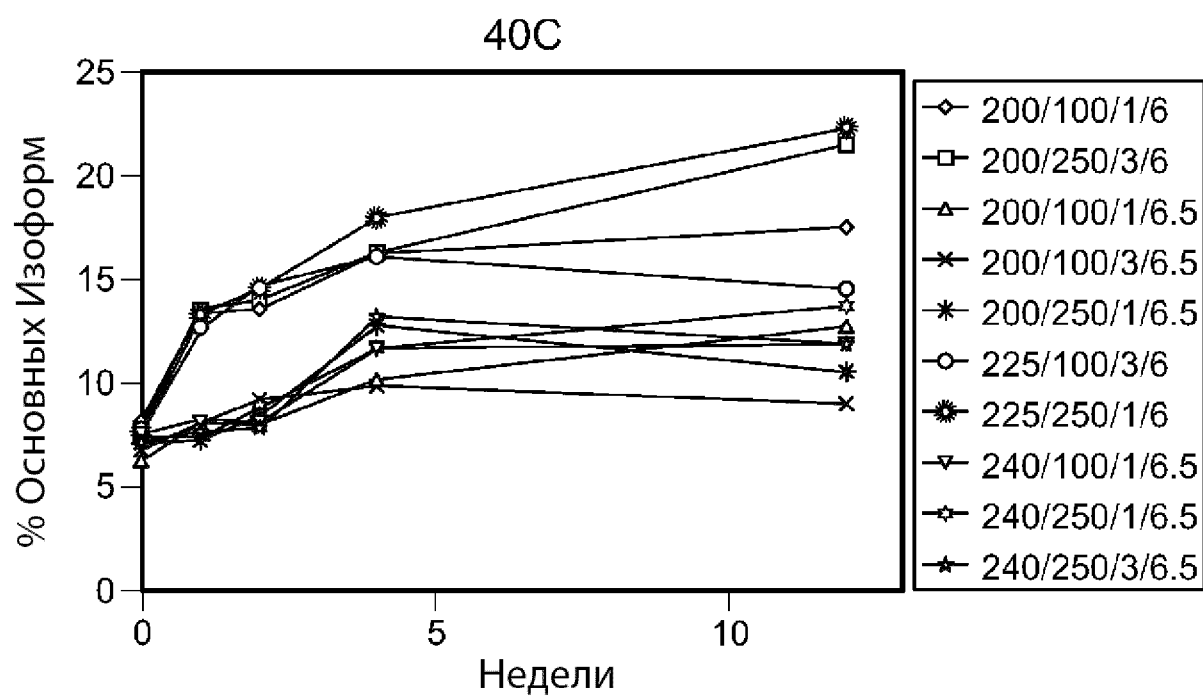




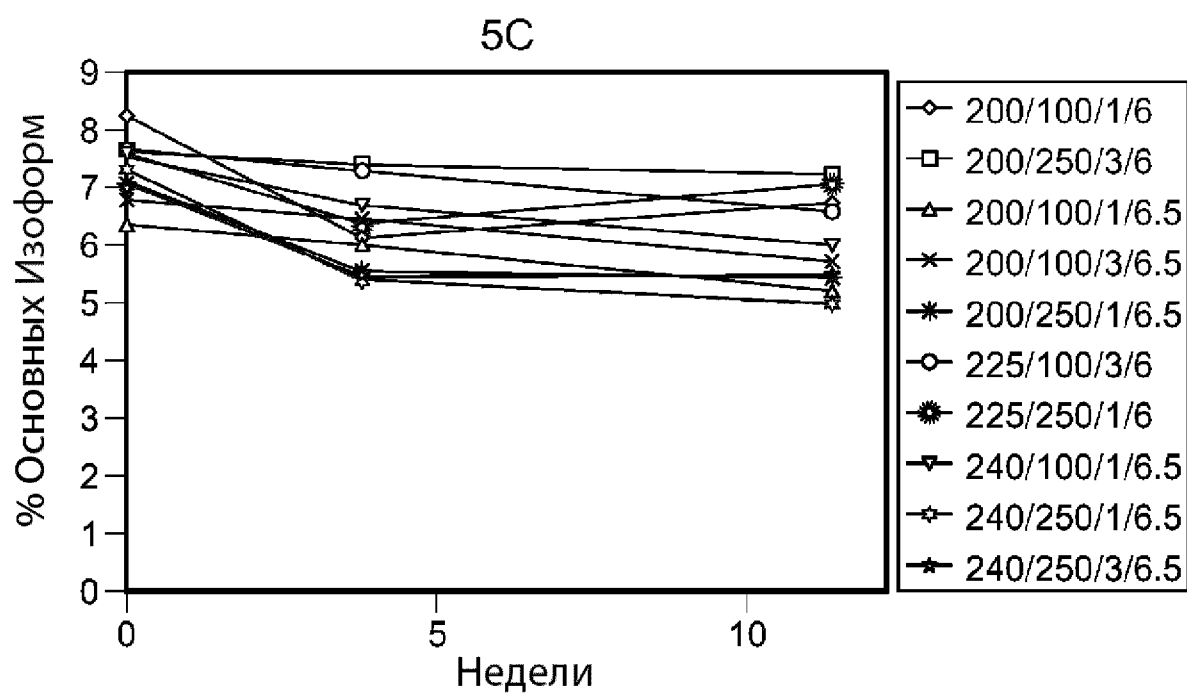
Фиг. 13



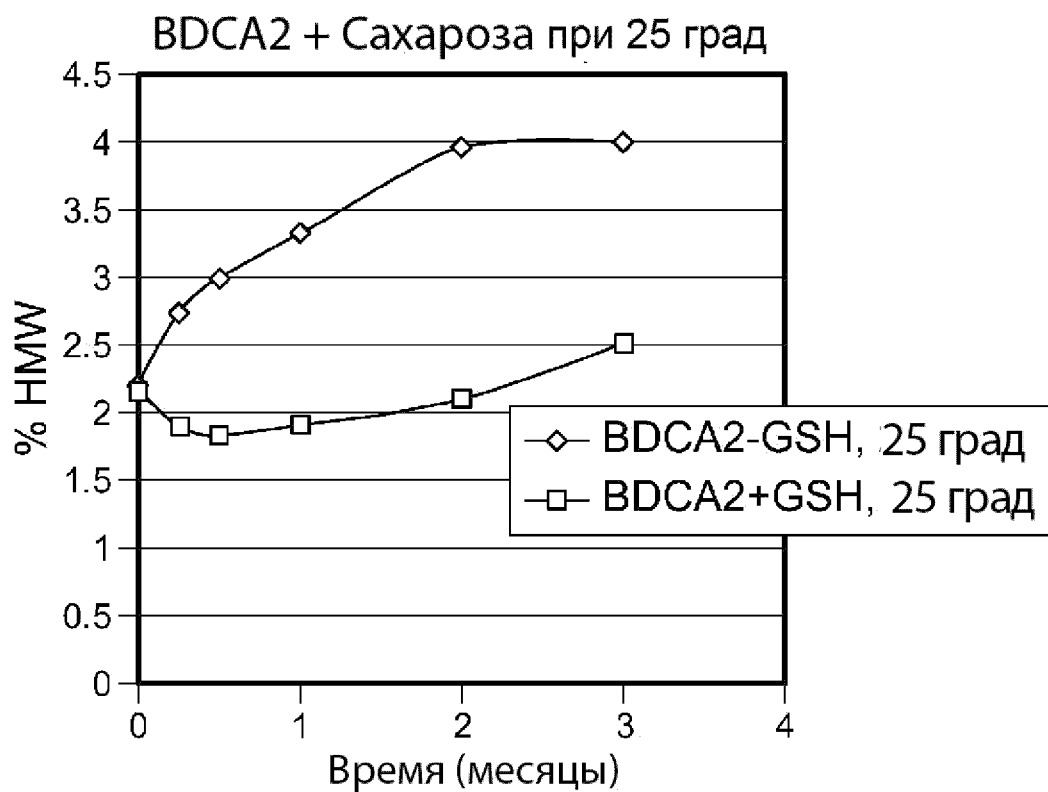
Фиг. 14



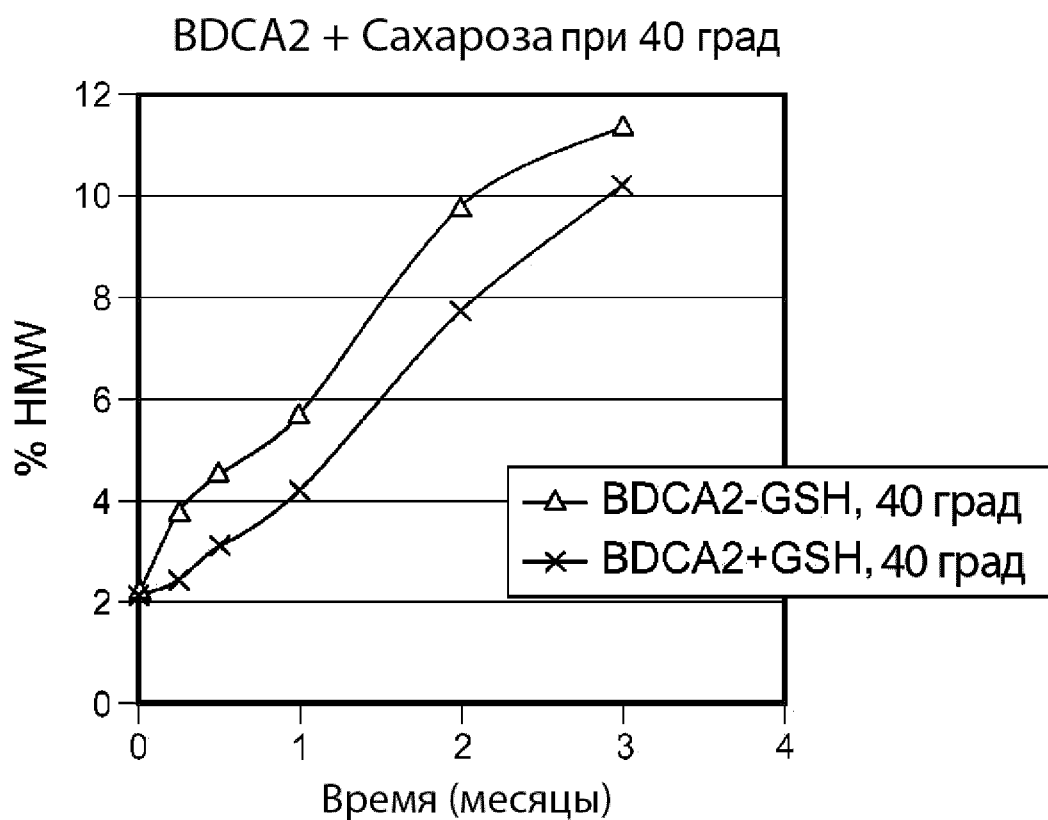
Фиг. 15



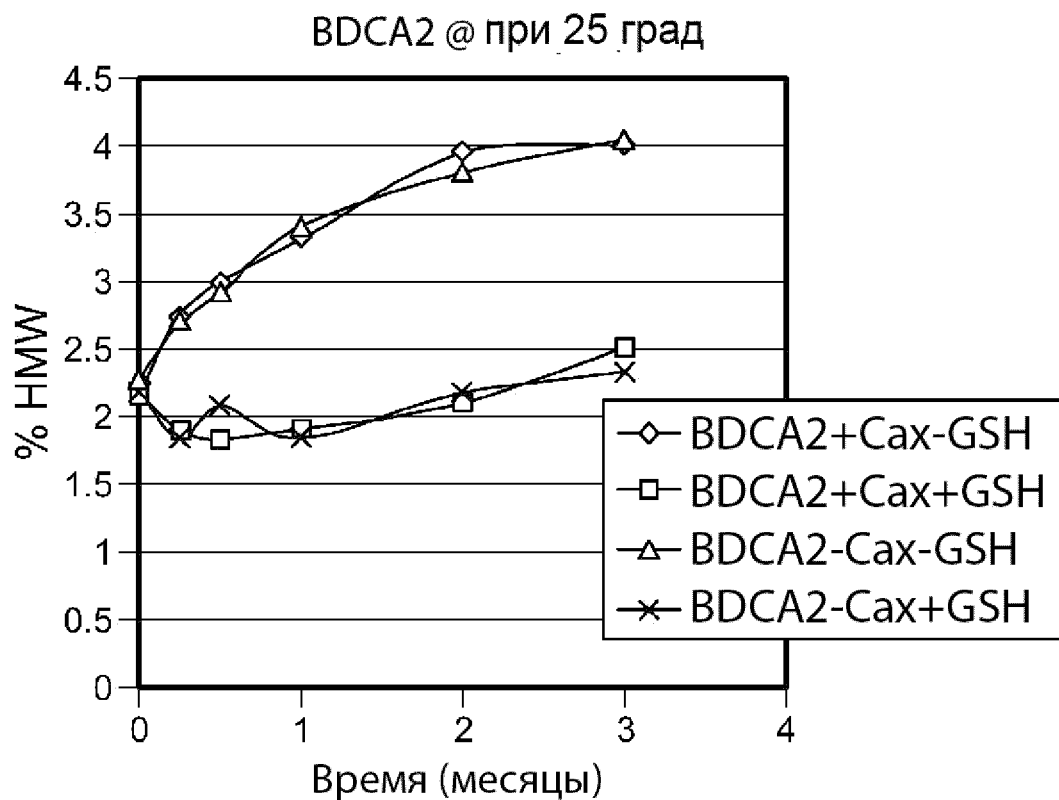
Фиг. 16



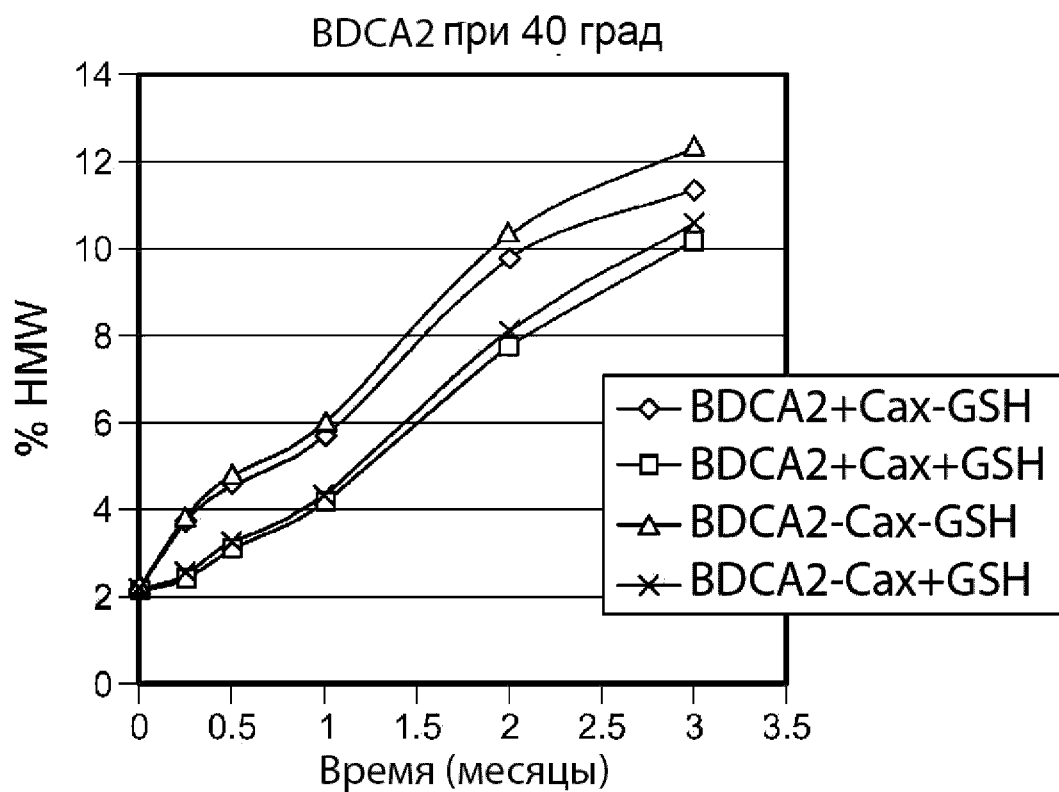
Фиг. 17А



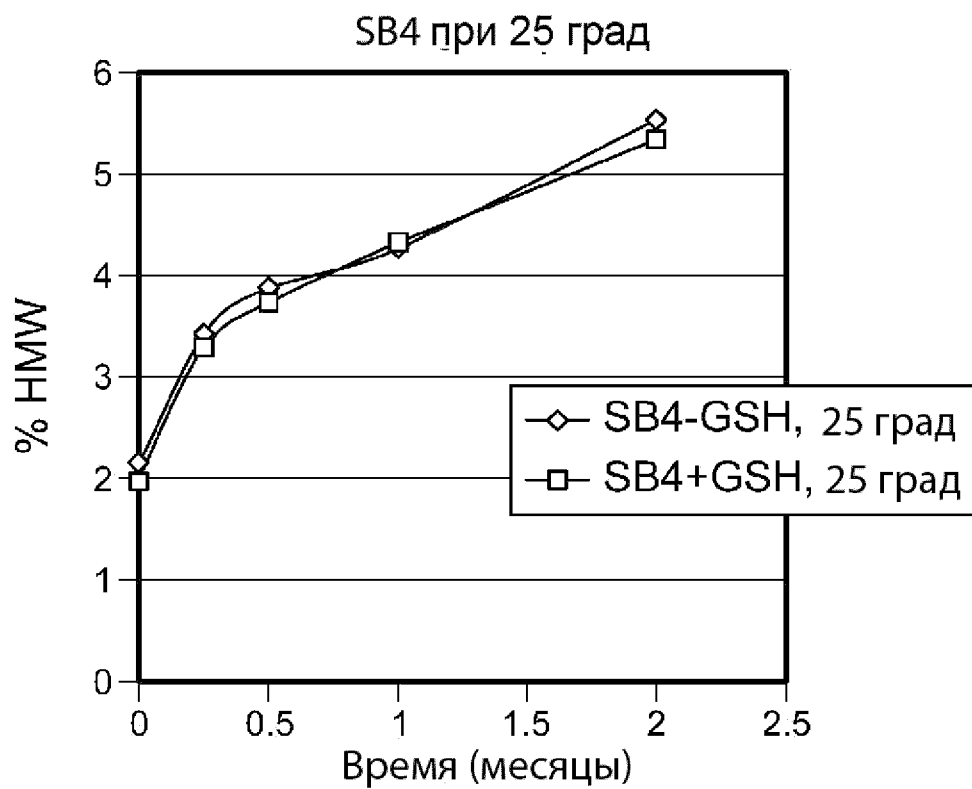
Фиг. 17В



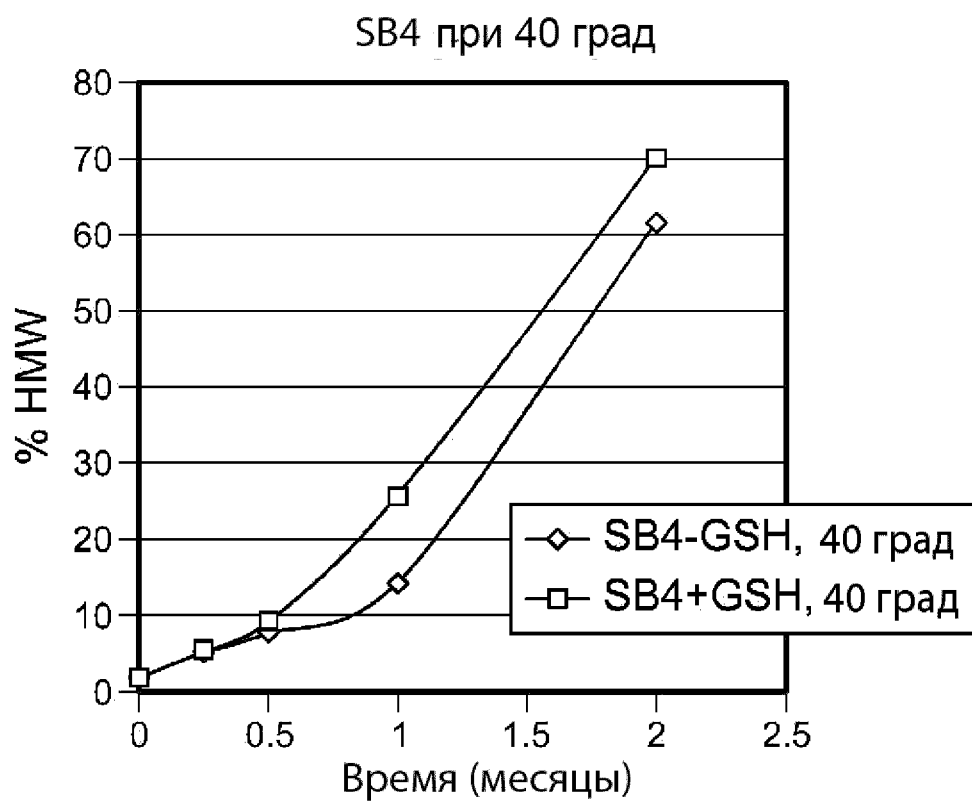
Фиг. 18А



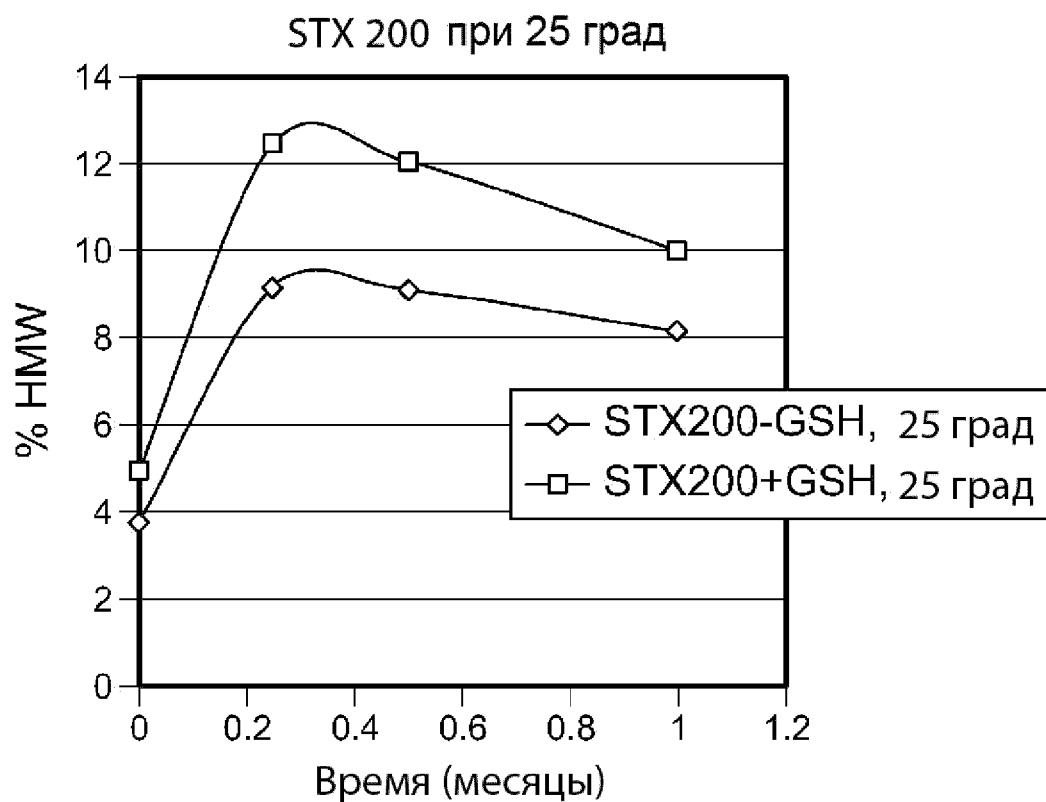
Фиг. 18В



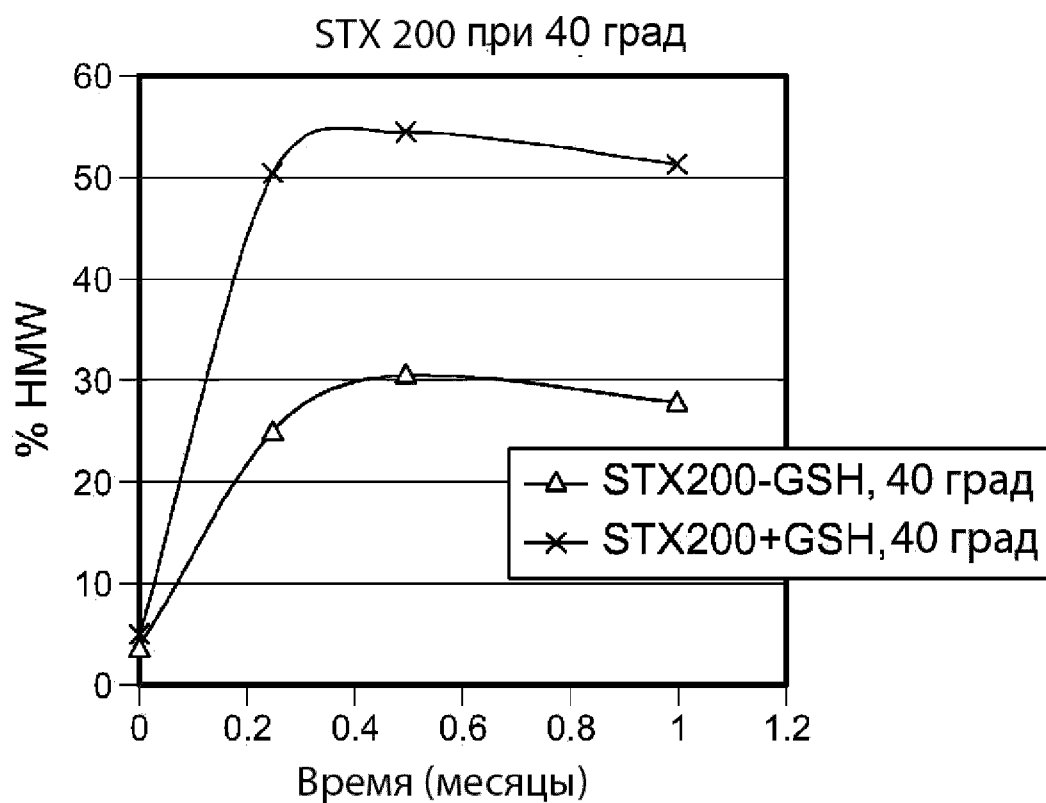
Фиг. 19А



Фиг. 19В



Фиг. 20А



Фиг. 20В

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 137510255WO1	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2017/029802	International filing date (<i>day/month/year</i>) 27 April 2017 (27-04-2017)	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 28 April 2016 (28-04-2016)
Applicant BIOGEN MA INC		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 6 sheets.

☒

It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

☒

the international application in the language in which it was filed

☐

a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐

This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6*bis*(a)).

c. ☒

With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐

Certain claims were found unsearchable (See Box No. II)

3. ☐

Unity of invention is lacking (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

☒

the text is approved as submitted by the applicant

☐

the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

☒

the text is approved as submitted by the applicant

☐

the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. 9

☒

as suggested by the applicant

☐

as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure

☐

as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention

b. ☐

none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2017/029802

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☐ forming part of the international application as filed:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
 - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13~~ter~~.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13~~ter~~.1(a)).
 - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13~~ter~~.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2017/029802

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/395 A61K39/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2014/093396 A1 (BIOGEN IDEC INC [US]) 19 June 2014 (2014-06-19)	1-14, 19, 20, 23-90, 112-129
Y	page 51, last 2 lines; page 79 - page 86; claims 5, 8, 27-38; examples 14-16	15-18, 21, 22, 74-77, 91-111
Y	----- US 2004/197324 A1 (LIU JUN [US] ET AL) 7 October 2004 (2004-10-07) claim 9, [0012, 0013, 0025, 0026, 0287] ----- -/-	15-18, 21, 22, 74-77, 91-111

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 June 2017

Date of mailing of the international search report

17/07/2017

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Klee, Barbara

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/029802

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	RUDIKOFF S ET AL: "Single amino acid substitution altering antigen-binding specificity", PROCEEDINGS NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, US, vol. 79, 1 March 1982 (1982-03-01), pages 1979-1983, XP007901436, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/PNAS.79.6.1979 the whole document -----	1-129

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/029802

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2014093396	A1	19-06-2014	
		AU 2013359419 A1	04-06-2015
		CA 2893375 A1	19-06-2014
		CN 105452295 A	30-03-2016
		EA 201591113 A1	30-09-2015
		EP 2928923 A1	14-10-2015
		HK 1216027 A1	07-10-2016
		JP 2016505556 A	25-02-2016
		KR 20150094658 A	19-08-2015
		US 2015299325 A1	22-10-2015
		WO 2014093396 A1	19-06-2014

US 2004197324	A1	07-10-2004	
		AR 043826 A1	17-08-2005
		AT 480567 T	15-09-2010
		AU 2004229335 A1	28-10-2004
		AU 2010200784 A1	25-03-2010
		BR PI0403964 A	01-03-2005
		CA 2519408 A1	28-10-2004
		CL 2004000731 A1	20-05-2005
		CL 2013000142 A1	01-04-2013
		CN 1798575 A	05-07-2006
		CN 102258464 A	30-11-2011
		CO 5660273 A2	31-07-2006
		CY 1111232 T1	11-06-2015
		DK 1610820 T3	29-11-2010
		DK 2335725 T3	23-01-2017
		EC SP056142 A	19-04-2006
		EP 1610820 A1	04-01-2006
		EP 2335725 A1	22-06-2011
		EP 3178492 A1	14-06-2017
		ES 2349779 T3	11-01-2011
		ES 2609010 T3	18-04-2017
		HK 1085933 A1	08-07-2011
		HR P20050934 A2	30-06-2006
		HU E030579 T2	29-05-2017
		IL 170866 A	30-09-2013
		JP 4869064 B2	01-02-2012
		JP 5449268 B2	19-03-2014
		JP 2007524602 A	30-08-2007
		JP 2011246484 A	08-12-2011
		KR 20060017583 A	24-02-2006
		KR 20110067067 A	20-06-2011
		LT 2335725 T	25-01-2017
		MA 27773 A1	01-02-2006
		MX PA05010555 A	09-03-2006
		NZ 542964 A	30-06-2008
		PE 03942005 A1	19-06-2005
		PL 2335725 T3	28-04-2017
		PT 1610820 E	16-12-2010
		PT 2335725 T	06-01-2017
		RU 2332986 C2	10-09-2008
		SI 2335725 T1	31-01-2017
		TW I357820 B	11-02-2012
		US 2004197324 A1	07-10-2004
		US 2007053900 A1	08-03-2007
		US 2009280129 A1	12-11-2009
		US 2012064086 A1	15-03-2012
		US 2015225485 A1	13-08-2015
		US 2017049888 A1	23-02-2017

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/029802

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		W0 2004091658 A1	28-10-2004
		ZA 200507757 B	31-01-2007
