(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202390782 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.07.03

(22) Дата подачи заявки
2021.09.10

(51) Int. Cl. ***A61K 39/395*** (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(54) БИСПЕЦИФИЧЕСКОЕ АНТИТЕЛО ПРОТИВ CD3 И CD20 В КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ЛИМФОМЫ

(31) **63/076,792**
(32) **2020.09.10**
(33) **US**
(86) **PCT/EP2021/075020**
(87) **WO 2022/053656 2022.03.17**

(71) Заявитель:
ГЕНМАБ А/С (DK)

(72) Изобретатель:
Эллиотт Брайан, Ахмади Тахамтан, Цзю Кристофер (US), Брей Эстер С.В. (NL)

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

(57) В изобретении предложены способы клинического лечения фолликулярной лимфомы (например, рецидивирующей и/или рефрактерной фолликулярной лимфомы) у человека с использованием биспецифического антитела, связывающегося с CD3 и CD20, в комбинации со стандартной схемой лечения ритуксимабом и бендамустином.

202390782 A1

202390782 A1

БИСПЕЦИФИЧЕСКОЕ АНТИТЕЛО ПРОТИВ CD3 И CD20 В КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ЛИМФОМЫ

Область техники

Настоящее изобретение относится к биспецифическим антителам, нацеленным как на CD3, так и на CD20, и к применению таких антител в сочетании со стандартной схемой лечения ритуксимабом и бендамустином для лечения фолликулярной лимфомы, например ранее нелеченой фолликулярной лимфомы. Также предусмотрены полезные схемы лечения.

Предшествующий уровень техники

Фолликулярная лимфома — неизлечимое заболевание, характеризующееся вялотекущим клиническим течением с частой необходимостью применения нескольких линий лечения. Приблизительно у 2-3% пациентов в год происходит гистологическая трансформация в агрессивную лимфому, часто в диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (ДКВКЛ; трансформация примерно 20% через 5 лет и примерно 30% через 10 лет). Прогноз после гистологической трансформации крайне плохой (медиана общей выживаемости (ОВ) от 1 до 2 лет) (Relander с соавт., *J Clin Oncol* 2010;28:2902-13; Wagner-Johnston с соавт., *Blood* 2015;126:851-857).

Наиболее распространенными препаратами первой линии при распространенной фолликулярной лимфоме являются R-CHOP или ритуксимаб и бендамустин (BR) (Hiddemann с соавт., *Blood* 2005;106:3725-3732; Rummel с соавт., *Lancet* 2013;381:1203-10). Лечение рецидивирующей или рефрактерной (P/P) фолликулярной лимфомы зависит от предыдущих схем терапии, продолжительности ремиссии и общего состояния. Независимо от выбора терапии первой линии (включая R-CHOP/обинутузумаб-CHOP, BR), прогрессирование заболевания через 24 месяца происходит у 20% пациентов и является надежным прогностическим фактором плохой ОВ, причем только от 35% до 50% пациентов выживают в течение 5 лет. Режим спасения без перекрестной резистентности обычно применяют при прогрессировании заболевания через 24 месяца, а HDT-ASCT рассматривают для соответствующих

пациентов (Casulo с соавт., *Biol Blood Marrow Transplant* 2018;24:1163-1171; Jurinovic с соавт., *Biol Blood Marrow Transplant* 2018;24:1172-1179).

Несколько вариантов лечения одобрены для второго или более позднего рецидива фолликулярной лимфомы. Комбинация ритуксимаб + леналидомид (R^2) продемонстрировала впечатляющие результаты, но с 2-летней выживаемостью без прогрессирования (ВБП) всего от 50 до 60% (Leonard с соавт., *J Clin Oncol* 2019;37:1188-1199). Варианты лечения для пациентов, у которых была определена неэффективность нескольких линий терапии, включающих моноклональные анти-CD20-антитела и алкилирующие агенты, ограничены. Хотя иделалисиб одобрен для лечения случаев двойной рефрактерности, он продемонстрировал 1-летнюю ВБП только у 43% и несколько тяжелых токсических эффектов, которые закончились прекращением лечения (Salles с соавт., *Haematologica* 2017; e156).

Учитывая ограниченную эффективность и реакцию субъектов на доступные в настоящее время методы лечения фолликулярной лимфомы, весьма желательны новые методы лечения пациентов из такой популяции.

Краткое описание изобретения

В настоящем изобретении предусматривают способы лечения людей с фолликулярной лимфомой, например, ранее нелеченой фолликулярной лимфомой, путем введения биспецифического антитела, которое связывается с CD3 и CD20, в комбинации со стандартной схемой лечения ритуксимабом и бендамустином, в частности, преимущественные клинические схемы лечения.

В одном объекте настоящего изобретения предусматривают способ лечения фолликулярной лимфомы у человека, включающий введение субъекту комбинации эпкоритамаба с ритуксимабом и бендамустином, например, способ, включающий введение субъекту эффективного количества ритуксимаба, бендамустина и эпкоритамаба.

В одном объекте настоящего изобретения предусматривают способ лечения фолликулярной лимфомы, например, ранее нелеченой фолликулярной лимфомы у человека, включающий введение субъекту биспецифического антитела и эффективного количества ритуксимаба и бендамустина, причем биспецифическое антитело содержит:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит

вариабельную область тяжелой цепи (VH) и вариабельную область легкой цепи (VL), где VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VH-области SEQ ID NO: 6, и VL-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VL-области SEQ ID NO: 7; и

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит VH-область и VL-область, где VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VH-области SEQ ID NO: 13, и VL-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VL-области SEQ ID NO: 14,

где биспецифическое антитело вводят в дозе 24 мг или 48 мг, и где ритуксимаб, бендамустин и биспецифическое антитело вводят 28-дневными циклами.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе (или в примерной дозе) 24 мг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе (или в примерной дозе) 48 мг.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят один раз в неделю в дозе 24 мг или 48 мг (еженедельное введение), например, в течение двух с половиной 28-дневных циклов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят один раз каждые две недели после еженедельного введения (введение раз в две недели), например, в течение шести 28-дневных циклов. В других некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят один раз каждые четыре недели после введения раз в две недели, например, в течение общей продолжительности лечения биспецифическим антителом до двух лет с начала применения ритуксимаба и бендамустина (т.е. с 1-го цикла). В другом варианте осуществления настоящего изобретения начальную дозу (например, 0,16 мг или примерно 0,16 мг) биспецифического антитела вводят за две недели до введения первой еженедельной дозы 24 мг или 48 мг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения после введения начальной дозы и до введения еженедельной дозы 24 мг или 48 мг вводят промежуточную дозу

(например, 0,8 мг или примерно 0,8 мг) биспецифического антитела. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения начальную дозу вводят за одну неделю до промежуточной дозы, а промежуточную дозу вводят за одну неделю до первой недельной дозы 24 мг или 48 мг.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ритуксимаб вводят в 28-дневном цикле один раз каждые четыре недели, например, в течение шести 28-дневных циклов. В некоторых вариантах осуществления ритуксимаб вводят в дозе 375 мг/м^2.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения бендамустин вводят один раз в день с 1-го дня по 2-й день 28-дневных циклов, например, в течение шести 28-дневных циклов. В некоторых вариантах осуществления бендамустин вводят в дозе 90 мг/м^2.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ритуксимаб, бендамустин и биспецифическое антитело вводят в один и тот же день (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й), например, как показано в табл. 2.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения введение осуществляют 28-дневными циклами, причем

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в 1-ом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 24 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) в циклах 2-й и 3-й дозу 24 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й вводят дозу 24 мг в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах дозу 24 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й; и

(в) бендамустин вводят в 1-й и 2-й дни в циклах с 1-го по 6-й.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения введение осуществляют 28-дневными циклами, причем

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в 1-ом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) в циклах 2-й и 3-й дозу 48 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й вводят дозу 48 мг в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах дозу 48 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й; и

(в) бендамустин вводят в 1-й и 2-й дни в циклах с 1-го по 6-й.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ритуксимаб, бендамустин и биспецифическое антитело эпкоритамаб вводят в один и тот же день (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й), например, как показано в табл. 2.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения введение осуществляют 28-дневными циклами, причем

(а) биспецифическое антитело эпкоритамаб вводят следующим образом:

(i) в 1-ом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 24 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) в циклах 2-й и 3-й дозу 24 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й вводят дозу 24 мг в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах дозу 24 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й; и

(в) бендамустин вводят в 1-й и 2-й дни в циклах с 1-го по 6-й.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения введение осуществляют 28-дневными циклами, причем

(а) биспецифическое антитело эпкоритамаб вводят следующим образом:

(i) в 1-ом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) в циклах 2-й и 3-й дозу 48 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й вводят дозу 48 мг в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах дозу 48 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й; и

(в) бендамустин вводят в 1-й и 2-й дни в циклах с 1-го по 6-й.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят подкожно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ритуксимаб вводят внутривенно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения бендамустин вводят внутривенно.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело, ритуксимаб и бендамустин вводят последовательно. Например, при введении в один и тот же день (а) ритуксимаб вводят перед

введением биспецифического антитела (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й); (б) бендамустин вводят перед введением биспецифического антитела (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й); (в) ритуксимаб вводят до бендамустина (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й); или (г) ритуксимаб вводят первым, бендамустин вводят вторым и биспецифическое антитело вводят последним (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения при введении в один и тот же день (а) ритуксимаб вводят перед введением биспецифического антитела (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й); (б) бендамустин вводят перед введением биспецифического антитела (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й); (в) бендамустин вводят перед ритуксимабом (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й); или (г) первым вводят бендамустин, вторым вводят ритуксимаб и последним вводят биспецифическое антитело (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у субъекта имеется фолликулярная лимфома 1-й, 2-й степени или степени 3а, ранее не подвергавшаяся лечению. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у субъекта имеется ранее нелеченая фолликулярная лимфома стадии II, III или IV.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекта подвергают профилактике синдрома высвобождения цитокинов (СВЦ). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения профилактика включает введение кортикостероида (например, преднизолона в дозе, например, 100 мг или эквивалентной ей дозе, включая пероральную дозу), например, в тот же день, что и биспецифическое антитело. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кортикостероид дополнительно вводят во второй, третий и четвертый день после введения биспецифического антитела.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения проводят премедикацию субъекта, например, антигистаминным препаратом (например, дифенгидрамином, внутривенно или перорально в дозе, например, 50 мг или эквивалентной ей дозе) и/или жаропонижающим средством (например, ацетаминофеном в дозе, например, 560-1000 мг), для уменьшения реакций на инъекции. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения

премедикацию осуществляют в тот же день, когда вводят биспецифическое антитело.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения проводят профилактику или премедикацию в течение первого цикла. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения профилактику осуществляют во время 2-го цикла, когда у субъекта СВЦ выше 1-й степени после последнего введения биспецифического антитела в 1-м цикле. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения профилактику продолжают в последующем цикле, когда при последнем введении биспецифического антитела предыдущего цикла у субъекта наблюдают СВЦ более высокой степени, чем первая. В другом варианте осуществления настоящего изобретения премедикацию вводят во время 2-го цикла. В варианте осуществления настоящего изобретения премедикацию проводят во время последующих циклов.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту вводят антибиотики, если у субъекта развивается СВЦ 1-й степени. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту вводят вазопрессор, если у субъекта развивается СВЦ 2-й или 3-й степени. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту вводят по меньшей мере два вазопрессора, если у субъекта развивается СВЦ 4-й степени.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту вводят тоцилизумаб, если у субъекта развивается СВЦ 2-й, 3-й или 4-й степени. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту дополнительно вводят стероид (например, дексаметазон или метилпреднизолон). В некоторых других вариантах осуществления настоящего изобретения тоцилизумаб заменяют на анти-IL-6 антитело (например, силтуксимаб) или антагонист IL-1R (например, анакинру), если субъект невосприимчив к тоцилизумабу.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения осуществляют для субъекта профилактику синдрома лизиса опухоли (СЛО). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения профилактика СЛО включает введение одного или нескольких агентов, снижающих уровень мочевой кислоты, перед введением биспецифического антитела. В некоторых других вариантах осуществления настоящего изобретения расбуриказу и/или аллопуринол вводят в качестве агента, снижающего уровень мочевой кислоты. В

некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, если у субъекта проявляются признаки СЛО, может использоваться поддерживающая терапия, такая как применение расбуриказы.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у субъекта, получающего лечение способами, описанными в настоящем изобретении, достигают полного ответа, частичного ответа или стабилизации заболевания, например, согласно критериям Lugano или LYRIC.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 4, последовательности GTN и SEQ ID NO: 5 соответственно; и вторая антигенсвязывающая область содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 8, 9 и 10, соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 11, последовательность DAS и SEQ ID NO: 12, соответственно.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и вторая антигенсвязывающая область содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения первое связывающее плечо биспецифического антитела получено из гуманизированного антитела, предпочтительно из полноразмерного антитела IgG1,λ (лямбда) (например, SEQ ID NO: 22). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения второе связывающее плечо биспецифического антитела получено из антитела человека, предпочтительно из полноразмерного антитела IgG1,κ (каппа) (например, SEQ ID NO: 23). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело представляет собой полноразмерное антитело с константной областью IgG1 человека.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит инертную Fc-область, например, Fc-область, в которой аминокислоты находятся в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15. F, E и A, соответственно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит замены, которые способствуют образованию биспецифического антитела, например, где в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляет собой L , и где во второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляет собой R или наоборот. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит как инертную Fc-область (например, замены в L234, L235 и D265 (например, L234F, L235E и D265A)) и замены, которые способствуют образованию биспецифического антитела (например, F405L и K409R). В другом варианте осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит константные области тяжелой цепи, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 19 и 20.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и первую легкую цепь, содержащие (или состоящие из) аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 24 и 25, соответственно, и вторую тяжелую цепь и вторую легкую цепь. содержащие (или состоящие из) аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело представляет собой эпкоритамаб или его биоаналог.

Краткое описание фигур

Фигуры 1А-1Г. Влияние бендамустина на индуцированную эпкоритамабом активацию Т-клеток и опосредованную Т-клетками цитотоксичность. Т-клетки инкубировали с клетками Raji (левые панели) или SU-DHL-4 (правые панели) в присутствии эпкоритамаба с бендамустином или без него. Представленные данные показывают процент активированных CD8+ Т-клеток (фиг. 1А: CD69; фиг. 1Б: CD25; фиг. 1В: LAMP-1) и процент опосредованной Т-клетками

цитотоксичности (фиг. 1Г). Показанные результаты получены от одного репрезентативного донора из трех исследованных доноров.

Фигура 2. Схема общей разработки клинического испытания.

Фигура 3. Схема повышения дозы.

Подробное описание

Определения

Используемый в настоящем изобретении термин «иммуноглобулин» относится к классу структурно родственных гликопротеинов, состоящих из двух пар полипептидных цепей – одной пары легких (L) цепей (низкой молекулярной массы) и одной пары тяжелых (H) цепей, причем все четыре соединены между собой дисульфидными связями. Структура иммуноглобулинов известна (см., например, «Fundamental Immunology», 1989, глава 7 (под ред. Paul W., 2e изд., изд-во Raven Press, Нью-Йорк). Вкратце, каждая тяжелая цепь обычно состоит из вариабельной области тяжелой цепи (обозначаемой здесь VH или V_H) и константной области тяжелой цепи (обозначаемой здесь CH или C_H). Константная область тяжелой цепи обычно состоит из трех доменов: CH1, CH2 и CH3. Шарнирная область представляет собой область между доменами CH1 и CH2 тяжелой цепи и обладает высокой степенью гибкости. Дисульфидные связи в шарнирной области являются частью взаимодействия между двумя тяжелыми цепями в молекуле IgG. Каждая легкая цепь обычно состоит из вариабельной области легкой цепи (обозначаемой как VL или V_L) и константной области легкой цепи (обозначаемой как CL или C_L). Константная область легкой цепи обычно состоит из одного домена, CL. Области VH и VL могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности (или гипервариабельные области, которые могут быть гипервариабельными по последовательности и/или форме структурно определенных петель), также называемые областями, определяющими комплементарность (CDR – complementarity determining region), перемежающиеся с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR – framework region). Каждая VH и VL обычно состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от амино-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4 (см. также Chothia и Lesk *J Mol Biol* 1987; 196:90117). Если не указано иное или нет противоречия контексту, последовательности CDR в настоящем изобретении идентифицируют в

соответствии с правилами IMGT (Brochet X., *Nucl Acids Res* 2008;36:W503-508; Lefranc MP., *Nucl Acids Res* 1999;27:209-212; www.imgt.org/). Если не указано иное или нет противоречия контексту, ссылки на положения аминокислот в константных областях соответствуют нумерации EC (Edelman с соавт., *PNAS.* 1969; 63:78-85; Kabat с соавт., кн.: «Sequences of Proteins of Immunological Interest», 5е изд., 1991 NIH Publication No. 91-3242). Например, SEQ ID NO: 15 содержит положения аминокислот 118-447 согласно нумерации EC константной области тяжелой цепи IgG1.

Термин «аминокислота, соответствующая положению...», используемый в настоящем изобретении, относится к номеру положения аминокислоты в тяжелой цепи IgG1 человека. Соответствующие положения аминокислот в других иммуноглобулинах могут быть найдены путем сопоставления с IgG1 человека. Таким образом, аминокислота или сегмент в одной последовательности, которая «соответствует» аминокислоте или сегменту в другой последовательности, представляет собой аминокислоту или сегмент, который выравнивается с другой аминокислотой или сегментом с использованием стандартной программы выравнивания последовательностей, такой как ALIGN, ClustalW или аналогичной, обычно в значения по умолчанию и имеет не менее 50%, не менее 80%, не менее 90% или не менее 95% идентичности с тяжелой цепью IgG1 человека. Специалист в данной области может выровнять последовательность или сегмент в последовательности и, таким образом, определить положение в последовательности, соответствующее положению аминокислоты согласно настоящему изобретению.

Термин «антитело» (Ab – antibody), используемый в настоящем изобретении, относится к молекуле иммуноглобулина, которая обладает способностью специфически связываться с антигеном в типичных физиологических условиях с периодом полужизни в течение значительных периодов времени, например, по меньшей мере примерно 30 мин, по меньшей мере примерно 45 мин, по меньшей мере примерно 1 ч, по меньшей мере примерно 2 ч, по меньшей мере примерно 4 ч, по меньшей мере примерно 8 ч, по меньшей мере примерно 12 ч, примерно 24 ч или более, примерно 48 ч или более, примерно 3, 4, 5, 6, 7 или более дней и т.д., или любого другого соответствующего функционально определенного периода (например, времени, достаточного для индукции, стимуляции, усиления и/или модуляции

физиологического ответа, связанного со связывание антитела с антигеном и/или времени, достаточного для того, чтобы антитело приобрело эффекторную активность). Вариабельные области тяжелой и легкой цепей молекулы иммуноглобулина содержат связывающий домен, взаимодействующий с антигеном. Термин антитело, если не указано иное, также включает поликлональные антитела, моноклональные антитела (mAb – monoclonal antibody), антителоподобные полипептиды, химерные антитела и гуманизированные антитела.

Термин «фрагмент антитела» или «антигенсвязывающий фрагмент», используемый в настоящем изобретении, относится к фрагменту молекулы иммуноглобулина, который сохраняет способность специфически связываться с антигеном и может быть получен любым известным методом, таким как ферментативное расщепление, синтез пептидов и рекомбинантные методики. Примеры фрагментов антител включают (i) фрагмент Fab' или Fab, моновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, CL и CH1, или моновалентное антитело, как описано в WO2007059782 (фирма Genmab); (ii) фрагменты $F(ab')_2$, бивалентные фрагменты, содержащие два фрагмента Fab, связанные дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) фрагмент Fd, состоящий по существу из доменов VH и CH1; (iv) фрагмент Fv, состоящий в основном из доменов VL и VH одного плеча антитела, (v) фрагмент dAb (Ward с соавт., *Nature* 1989; 341: 54446), который состоит в основном из домена VH и также называемые доменными антителами (Holt с соавт., *Trends Biotechnol* 2003; 21:484-490); (vi) верблюдовые или нанотела (Revets с соавт., *Expert Opin Biol Ther* 2005; 5:111-124) и (vii) выделенную область, определяющую комплементарность (CDR – complementarity determining region). Более того, хотя два домена фрагмента Fv, VL и VH, кодируются отдельными генами, они могут быть соединены с помощью рекомбинантных методов синтетическим линкером, что позволяет сделать их единой белковой цепью, в которой VL- и VH-области соединяются, образуя моновалентные молекулы (известные как одноцепочечные антитела или одноцепочечные фрагменты Fv (scFv – single chain Fv), см., например, Bird с соавт., *Science* 1988;242:42326; Huston с соавт., *PNAS* 1988;85:587983. Такие одноцепочечные антитела обозначают термином «фрагмент антитела», если не указано иное или явно не указано в контексте.

Термин «область, связываемая антителом» или «антигенсвязывающая область», используемый в настоящем изобретении, относится к области, которая взаимодействует с антигеном и включает как VH-области, так и VL-области. Термин «антитело», используемый в настоящем изобретении, относится не только к моноспецифическим антителам, но также и к мультиспецифическим антителам, которые содержат множество, например, два или более, например, три или более различных антигенсвязывающих областей. Термин «антигенсвязывающая область», если не указано иное или явно не противоречит контексту, включает фрагменты антитела, которые являются антигенсвязывающими фрагментами, т.е. сохраняют способность специфически связываться с антигеном.

В настоящем изобретении термин «изотип» относится к классу иммуноглобулинов (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE или IgM), который кодируется генами константной области тяжелой цепи. Когда упоминают конкретный изотип, например, IgG1, термин не ограничивается конкретной последовательностью изотипа, например, конкретной последовательностью IgG1, но используется для обозначения того, что антитело ближе по своей последовательности к этому изотипу, например IgG1, чем к другим изотипам. Так, например, антитело IgG1 может представлять собой вариант последовательности встречающегося в природе антитела IgG1, который может включать вариации константных областей.

Термин «биспецифическое антитело (bispecific antibody)» или «bs» или «bsAb», используемый в настоящем изобретении, относится к антителу, имеющему две разные антигенсвязывающие области, определяемые разными последовательностями антител. Биспецифическое антитело может быть любого формата.

Термины «половина молекулы», «Fab-плечо» и «плечо» в настоящем изобретении относятся к одной паре тяжелая цепь-легкая цепь.

Когда биспецифическое антитело описывают как содержащее полумолекулярное антитело, «производное» от первого родительского антитела, и полумолекулярное антитело, «производное» от второго родительского антитела, термин «производное от» указывает на то, что биспецифическое антитело было получено путем рекомбинации любым известным способом, указанные половины каждого из указанных первого и второго родительских

антител превращают в полученное биспецифическое антитело. В этом контексте «рекомбинация» не ограничивается каким-либо конкретным методом рекомбинации и, таким образом, включает все способы получения биспецифических антител, описанные в настоящем изобретении, в том числе, например, рекомбинацию путем обмена половинными молекулами (также известную как «контролируемая Fab-плечевой обмен»), а также рекомбинации на уровне нуклеиновых кислот и/или посредством ко-экспрессии двух полумолекул в одних и тех же клетках.

Термин «полноразмерный» или «полной длины», используемый в настоящем изобретении применительно к антителам, указывает на то, что антитело не является фрагментом, а содержит все домены конкретного изотипа, обычно обнаруживаемые для этого изотипа в природе, например, домены VH, CH1, CH2, CH3, шарнирный, VL и CL для антитела IgG1. Полноразмерное антитело может быть сконструировано. Примером «полноразмерного» антитела является эпкоритамаб.

Термин «Fc-область», используемый в настоящем изобретении, относится к области антитела, состоящей из последовательностей Fc двух тяжелых цепей иммуноглобулина, где указанные последовательности Fc содержат по меньшей мере шарнирную область, домен CH2 и домен CH3.

Термин «гетеродимерное взаимодействие между первой и второй областями CH3», используемый в настоящем изобретении, относится к взаимодействию между первой областью CH3 и второй областью CH3 в гетеродимерном белке первый-CH3/второй-CH3.

Термин «гомодимерные взаимодействия первой и второй областей CH3», используемый в настоящем изобретении, относится к взаимодействию между одним первым доменом CH3 и другим первым доменом CH3 в гомодимерном белке первый-CH3/первый-CH3, а также к взаимодействию между вторым доменом CH3 и другим вторым доменом CH3 в гомодимерном белке второй-CH3/второй-CH3.

Термин «связывание», используемый в настоящем изобретении в контексте связывания антитела с заранее определенным антигеном, обычно относится к связыванию с аффинностью, соответствующей K_D примерно 10^{-6} М или менее, например, 10^{-7} М или менее, таким как примерно 10^{-8} М или менее, например, примерно 10^{-9} М или менее, примерно 10^{-10} М или менее, или примерно 10^{-11} М

или даже менее, при определении, например, методом BioLayer Interferometry (BLI) с помощью системы анализа Octet HTX с использованием антитела в качестве лиганда и антигена в качестве анализируемого вещества, где антитело связывается с заданным антигеном с аффинностью, соответствующей K_D, которая по меньшей мере в десять раз ниже, например, по меньшей мере в 100 раз ниже, например, при по меньшей мере в 1000 раз ниже, например, по меньшей мере в 10000 раз ниже, например, по меньшей мере в 100000 раз ниже, чем его K_D связывания с неспецифическим антигеном (например, БСА, казеином), отличным от предварительно определенного антигена или близкородственного антиген. Величина, при которой K_D связывания ниже, зависит от K_D антитела, поэтому, когда K_D антитела очень низкая, тогда величина, при которой K_D связывания с антигеном ниже, чем K_D связывания с неспецифическим антигеном может быть по крайней мере в 10000 раз больше (т. е. антитело является высокоспецифичным).

Термин «выделенное антитело» в настоящем изобретении относится к антителу, которое практически не содержит других антител, обладающих другой антигенной специфичностью. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения выделенное биспецифическое антитело, которое специфически связывается с CD20 и CD3, кроме того практически не содержит моноспецифических антител, которые специфически связываются с CD20 или CD3.

В настоящем изобретении используемый термин «CD3» относится к белку 3 кластера дифференцировки человека, который является частью белкового комплекса ко-рецептора Т-клеток и состоит из четырех отдельных цепей. CD3 также обнаружен у других видов, поэтому термин «CD3» не ограничивается CD3 человека, если это не противоречит контексту. У млекопитающих комплекс содержит цепь CD3γ (гамма) (цепь CD3γ человека UniProtKB/Swiss-Prot № P09693 или CD3γ яванского макака UniProtKB/Swiss-Prot № Q95LI7), цепь CD3δ (дельта) (CD3δ человека UniProtKB/Swiss-Prot No. Prot No P04234, или CD3δ яванского макака UniProtKB/Swiss-Prot № Q95LI8), две цепи CD3ε (эпсилон) (CD3ε человека UniProtKB/Swiss-Prot № P07766, SEQ ID NO: 28); CD3ε яванского макака UniProtKB/Swiss-Prot No Q95LI5; или CD3ε макака резус UniProtKB/Swiss-Prot № G7NCB9) и цепь CD3ζ (дзета) (CD3ζ человека UniProtKB/Swiss-Prot № P20963, CD3ζ яванского макака UniProtKB/Swiss-Prot №

Q09TK0). Эти цепи связываются с молекулой, известной как Т-клеточный рецептор (TCR – T-cell receptor), и генерируют сигнал активации в Т-лимфоцитах. Молекулы TCR и CD3 вместе составляют комплекс TCR.

Термин «антитело к CD3» или «анти-CD3 антитело» в настоящем изобретении относится к антителу, которое специфически связывается с антигеном CD3, в частности с CD3ε (эпсилон) человека.

Термин «CD20 человека» или «CD20» относится к CD20 человека (UniProtKB/Swiss-Prot No P11836, SEQ ID NO: 29) и включает любые варианты, изоформы и видовые гомологи CD20, которые естественным образом экспрессируются клетками, включая опухолевые клетки, или экспрессируются на клетках, трансфецированных геном CD20 или кДНК. Гомологи видов включают CD20 макака резус (*Macaca mulatta*; UniProtKB/Swiss-Prot No H9YXP1) и CD20 яванского макака (*Macaca fascicularis*; UniProtKB No G7PQ03).

Термин «антитело к CD20» или «анти-CD20 антитело» в настоящем изобретении относится к антителу, которое специфически связывается с антигеном CD20, в частности, с CD20 человека.

Термин «антитело к CD3xCD20» или «анти-CD3xCD20 антитело», «антитело CD20xCD3» или «антитело анти-CD20xCD3», используемый в настоящем изобретении, относится к биспецифическому антителу, которое содержит две разные антигенсвязывающие области, одна из которых специфически связывается с антигеном CD20 и другая специфически связывается с CD3.

Термин «DuoBody-CD3xCD20», используемый в настоящем изобретении, относится к биспецифическому антителу IgG1 CD3xCD20, содержащему первую пару тяжелой и легкой цепей, представленных в SEQ ID NO: 24 и SEQ ID NO: 25, соответственно, и содержащему вторую пару тяжелой и легкой цепей, представленных в SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27. Первая пара тяжелой и легкой цепей содержит область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека, вторая пара тяжелой и легкой цепи содержит область, которая связывается с CD20 человека. Первая область связывания содержит последовательности VH и VL, представленные в SEQ ID NO: 6 и 7, и вторая область связывания содержит последовательности VH и VL, представленных в SEQ ID NO: 13 и 14. Это биспецифическое антитело может быть получено, как описано в WO 2016/110576.

Антитела, содержащие функциональные варианты тяжелой цепи, легких цепей, областей VL, областей VH или одну или более CDR антител из примеров, также представленных в настоящем изобретении. Функциональный вариант тяжелой цепи, легкой цепи, VL, VH или CDR, используемых применительно к антителу, по-прежнему позволяет антителу сохранять по меньшей мере существенную долю (по меньшей мере примерно 90%, 95% или более) функциональных свойств «эталонного» и/или «родительского» антитела, включая аффинность и/или специфичность/селективность в отношении конкретных эпитопов CD20 и/или CD3, инертность Fc и параметры ФК, такие как период полужизни, Tmax, Cmax. Такие функциональные варианты обычно сохраняют значительную идентичность последовательности с родительским антителом и/или имеют по существу близкую длину тяжелой и легкой цепей. Процентная идентичность между двумя последовательностями является функцией числа идентичных положений, общих для последовательностей (т.е. % гомологии = число идентичных положений/общее число положений × 100), принимая во внимание число пробелов и длину каждого пробел, который необходимо ввести для оптимального выравнивания двух последовательностей. Процентная идентичность между двумя нуклеотидными или аминокислотными последовательностями, например, может быть определена по алгоритму E. Meyers и W. Miller (*Comput. Appl. Biosci* 1988, 4, 11-17), который включен в программу ALIGN (версия 2.0) с использованием таблицы весовых остатков PAM120, штрафа за длину пробела 12 и штрафа за пробел 4. Кроме того, процент идентичности между двумя аминокислотными последовательностями может быть определен с помощью алгоритма Needleman и Wunsch (*J Mol Biol* 1970;48:444-453). Примеры вариантов включают такие, которые отличаются от последовательностей тяжелых и/или легких цепей, VH и/или VL и/или последовательностей областей CDR родительского антитела, главным образом, консервативными заменами; например, заменами 10, например, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 в варианте могут представлять собой замены консервативных аминокислотных остатков.

Консервативные замены могут быть определены заменами внутри классов аминокислот, отраженных в табл. 1.

Таблица 1. Классы аминокислотных остатков для консервативных замен

Кислотные остатки	Asp (D) и Glu (E)
Основные остатки	Lys (K), Arg (R) и His (H)
Гидрофильные незаряженные остатки	Ser (S), Thr (T), Asn (N) и Gln (Q)
Алифатические незаряженные остатки	Gly (G), Ala (A), Val (V), Leu (L) и Ile (I)
Неполярные незаряженные остатки	Cys (C), Met (M) и Pro (P)
Ароматические остатки	Phe (F), Tyr (Y) и Trp (W)

Если не указано иное, для описания мутации используют следующую номенклатуру: i) замена аминокислоты в данном положении записывают, например, как K409R, что означает замену лизина в положении 409 на аргинин; и ii) для конкретных вариантов используют конкретные трехбуквенные или однобуквенные коды, включая коды Xaa и X для обозначения любого аминокислотного остатка. Так, замена лизина на аргинин в положении 409 обозначают как: K409R, а замена лизина на любой аминокислотный остаток в положении 409 обозначают как K409X. Делецию лизина в положении 409 обозначают как K409*.

Термин «гуманизированное антитело» в настоящем изобретении относится к генетически сконструированному антителу, не являющемуся антителом человека, которое содержит константные домены антитела человека и другие вариабельные домены, модифицированные таким образом, чтобы обеспечить высокий уровень гомологии последовательностей с вариабельными доменами человека. Это можно быть получено путем переноса шести CDR антител, не являющихся антителами человека, которые вместе образуют сайт связывания антигена, на гомологичную акцепторную каркасную область человека (FR) (см. WO 92/22653 и EP0629240). Чтобы полностью восстановить аффинность связывания и специфичность исходного антитела, может потребоваться замена остатков каркаса исходного антитела (т.е. антитела, не являющегося антителом человека) каркасными областями человека (обратные мутации). Моделирование структурной гомологии может помочь идентифицировать аминокислотные остатки в каркасных областях, которые важны для связывающих свойств антитела. Таким образом, гуманизированное антитело может содержать последовательности CDR, не являющиеся последовательностями человека, главным образом каркасные области человека, необязательно содержащие одну или более аминокислотных обратных мутаций в аминокислотной

последовательности, не являющейся последовательностью человека и полностью константные области человека. VH и VL в плече CD3, которые используют в настоящем изобретении в DuoBody-CD3xCD20, представляют собой гуманизированную антигенсвязывающую область. Необязательно, для получения гуманизированного антитела с предпочтительными характеристиками, такими как аффинность и биохимические свойства, могут быть применены дополнительные аминокислотные модификации, которые не обязательно являются обратными мутациями.

Термин «антитело человека», используемый в настоящем изобретении, относится к антителам, имеющим вариабельные и константные области, происходящие из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека. Антитела человека могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии человека (например, мутации, введенные случайным или сайт-специфическим мутагенезом *in vitro* или соматической мутацией *in vivo*). Однако термин «антитело человека», используемый в настоящем изобретении, не предназначен для включения антител, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии других видов млекопитающих, таких как мыши, были пересажены к каркасным последовательностям человека. VH и VL плеча CD20, используемого в DuoBody-CD3xCD20, представляют собой антигенсвязывающую область человека. Моноклональные антитела человека по настоящему изобретению могут быть получены различными методами, включая обычную методику получения моноклональных антител, например, стандартную методику гибридизации соматических клеток Kohler и Milstein (*Nature* 1975, 256: 495). Хотя методики гибридизации соматических клеток являются предпочтительными, в принципе, могут быть использованы другие методы получения моноклональных антител, например, вирусная или онкогенная трансформация В-лимфоцитов или методы фагового дисплея с использованием библиотек генов антител человека. Подходящей животной системой для получения гибридом, секретирующих моноклональные антитела человека, является система грызунов. Получение гибридомы у мышей является хорошо отработанной процедурой. Протоколы иммунизации и способы выделения иммунизированных спленоцитов для слияния известны в данной области. Также известны партнеры по слиянию (например, миеломные клетки мыши) и

процедуры слияния. Таким образом, моноклональные антитела человека могут быть получены с использованием, например, трансгенных или трансхромосомных мышей или крыс, несущих части иммунной системы человека, а не системы мыши или крысы. Соответственно, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения антитело человека получают от трансгенного животного, такого как мышь или крыса, несущего последовательности иммуноглобулинов зародышевой линии человека вместо последовательностей иммуноглобулинов животных. В таких вариантах осуществления настоящего изобретения антитело происходит из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека, введенных животному, но окончательная последовательность антител является результатом дальнейшей модификации указанных последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека за счет соматических гипермутаций и созревания аффинности эндогенным аппаратом антител животных (см., например, Mendez с соавт. *Nat Genet* 1997;15:146-156). Участки VH и VL плеча CD20, используемого в DuoBody-CD3xCD20, представляют собой антигенсвязывающий участок человека.

Термин «биоаналог» (например, применимый к утвержденному эталонному продукту/биологическому лекарственному средству), используемый в настоящем изобретении, относится к биологическому продукту, сходному с эталонным продуктом на основании данных (а) аналитических исследований, демонстрирующих, что биологический продукт очень похож на эталонный продукт, несмотря на незначительные различия в клинически неактивных компонентах; (б) исследованиях на животных (включая оценку токсичности); и/или (в) клинического исследования или исследований (включая оценку иммуногенности и фармакокинетики или фармакодинамики), которые достаточны для демонстрации безопасности, чистоты и активности в одном или нескольких подходящих условиях применения, для которых эталонный продукт одобрен и предназначен для использования и для которого запрашивают одобрение (например, отсутствие клинически значимых различий между биологическим продуктом и эталонным продуктом с точки зрения безопасности, чистоты и эффективности продукта). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биологический продукт-биоаналог и эталонный продукт используют один и тот же механизм или механизмы действия для состояния или

состояний использования, предписанных, рекомендованных или предложенных в предлагаемом вкладыше, но только в той мере, в какой механизм или механизмы действия известны для эталонного продукта. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения условие или условия использования, предписанные, рекомендованные или предложенные во вкладыше для биологического продукта, были ранее одобрены для эталонного продукта. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения способ введения, лекарственная форма и/или сила действия биологического продукта такие же, как у эталонного продукта. Биоаналогом может быть, например, известное в настоящее время антитело, имеющее ту же первичную аминокислотную последовательность, что и продаваемое антитело, но оно может быть получено в разных типах клеток или с помощью других методов получения, очистки или компоновки продукта.

Термин «условия восстановления» или «восстановительная среда», используемый в настоящем изобретении, относится условиям или среде, при которых субстрат, в данном случае остаток цистеина в шарнирной области антитела, с большей вероятностью восстанавливается, чем окисляется.

Термин «рекомбинантная клетка-хозяин» (или просто «клетка-хозяин»), используемый в настоящем изобретении, предназначен для обозначения клетки, в которую введен вектор экспрессии, например, вектор экспрессии, кодирующий антитело, описанное в настоящем изобретении. Рекомбинантные клетки-хозяева включают, например, трансфектомы, такие как клетки CHO, CHO-S, HEK, HEK293, HEK-293F, Expi293F, PER.C6 или NS0 и лимфоцитарные клетки.

Термин «фолликулярная лимфома» или «ФЛ», используемый в настоящем изобретении, относится к любому из нескольких типов неходжкинской лимфомы, при которой лимфоматозные клетки сгруппированы в узелки или фолликулы. Термин «фолликулярный» используют потому, что клетки имеют тенденцию расти по круговой или узловой схеме в лимфатических узлах. Злокачественные клетки могут характеризоваться активацией онкогена Bcl2, как правило, посредством транслокации t(14;18), включающей ген тяжелой цепи Ig на хромосоме 14 и Bcl-2 на хромосоме 18, а также экспрессией CD10, CD20, BCL2 и BCL6, но не CD5. ФЛ обычно имеет медленное течение заболевания, которое остается практически неизменным в течение многих лет. ФЛ можно классифицировать в соответствии с классификацией ВОЗ, как определено

Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. с соавт., кн.: «WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues», 2008, 4е изд., Лион, Франция, изд-во IARC Press; Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., с соавт., кн.: «WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues», 2017, пересмотренное 4е изд., Лион, Франция, изд-во IARC Press; эти книги включены в настоящее изобретение в виде ссылок.

Термин «рецидив фолликулярной лимфомы» или «рецидив ФЛ», используемый в настоящем изобретении, относится к фолликулярной лимфоме, которая прогрессировала после достижения частичного (ЧО) или полного ответа (ПО) на предшествующее лечение противоопухолевой терапией, такой как иммунохимиотерапия, содержащей анти- антитело к CD20. Термин «рефрактерная фолликулярная лимфома» или «рефрактерная ФЛ», используемый в настоящем изобретении, относится к фолликулярной лимфоме, которую лечили противоопухолевой терапией, но не удалось добиться по крайней мере частичного ответа на терапию. Термин «Р/Р фолликулярная лимфома» или «Р/Р ФЛ», используемый в настоящем изобретении, если не указано иное, означает рецидивирующую и/или рефрактерную фолликулярную лимфому.

Термин «ритуксимаб» (номер в идентификаторе CAS: 174722-31-7; DrugBank - DB00073; запись D02994 в Киотской энциклопедии генов и геномов (KEGG – Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes), используемый в настоящем изобретении, относится к генетически сконструированному химерному гамма-1 константному домену мыши-человека, содержащему моноклональное антитело против CD20 человека. Химерное антитело содержит константные домены гамма-1 человека и упоминается как «C2B8» в патенте US 5736137 (полное содержание которого включено в настоящее изобретение в качестве ссылки). Коммерческим препаратом ретуксимаба являются, например, Rituxan®, MabThera® или Zytux®. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, приведенных в настоящем описании, ритуксимаб может быть замещен его биоаналогом. Соответственно, следует учитывать, что термин «ритуксимаб» охватывает биоаналоги ритуксимаба. Термином «ритуксимаб» также охвачены антитела, которые имеют CDR, вариабельные области или тяжелые и легкие цепи ритуксимаба. Примеры биоаналогов ритуксимаба, которые не ограничивают рамок охвата настоящего изобретения, включают

Truxima® (ритуксимаб-abbs), Ruxience® (ритуксимаб-pvvr) и Rixathon®. Биоаналог можно вводить в соответствии со стандартной лечебной дозой или в дозе, эквивалентной стандартной лечебной дозе, указанной для ритуксимаба.

Используемый в настоящем изобретении термин «бендамустин» относится к алкилирующему агенту с химическим названием 4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-1H-бензо[d]имидазол-2-ил]бутановая кислота с химической формулой $C_{16}H_{21}Cl_2N_3O_2$ (CAS № 3543-75-7). Торговые наименования включают Ribomustin®, Treanda®, Bendeka®). Бендамустин может поставляться в форме гидрохлорида бендамустина. Термин «бендамустин» также предназначен для охвата фирменных и непатентованных версий (генерических эквивалентов) бендамустина, а также фармацевтически приемлемых солей, изомеров, рацематов, сольватов, комплексов и гидратов, его ангидридных форм и любых его полиморфных или аморфных форм или их комбинаций.

Термин «лечение» относится к введению эффективного количества терапевтически активного антитела, описанного в настоящем изобретении, с целью облегчения, улучшения, купирования или ликвидации (излечения) симптомов или болезненных состояний, таких как фолликулярная лимфома. Лечение может привести к полному ответу (ПО), частичному ответу (ЧО) или стабильному заболеванию (СЗ), например, как определено критериями Лугано и/или LYRIC. Лечение может быть продолжено, например, до двух лет общей продолжительности лечения биспецифическим антителом с момента начала применения ритуксимаба и бендамустина, или до прогрессирования заболевания, или до неприемлемой токсичности.

Термин «введение», используемый в настоящем изобретении, относится к физическому введению композиции (или состава), содержащей терапевтический агент, субъекту с использованием любого из различных способов и систем доставки, известных специалистам в данной области. Предпочтительные способы введения антител, описанные в настоящем изобретении, включают внутривенный, внутрибрюшинный, внутримышечный, подкожный, спинальный или другие парентеральные способы введения, например, путем инъекции или инфузии. Понятие «парентеральное введение», используемое в настоящем изобретении, означает способы введения, отличные от энтерального и местного введения, обычно осуществляемые путем инъекции и включает, но ими не ограничивается, внутривенное, внутрибрюшинное, внутримышечное,

внутриартериальное, подоболочечное, внутрилимфатическое введение, введение внутрь очага поражения, введение внутрикапсульное, внутриглазничное, внутрисердечное, внутрикожное, транстрахеальное, подкожное, субкутикулярное, внутрисуставное, субкапсулярное, субарахноидальное, интраспинальное, эпидуральное и интрастернальное путем инъекции и инфузии, а также электропорация *in vivo*. В другом варианте терапевтическое средство, описанное в настоящем изобретении, можно вводить не парентеральным путем, таким как местное, эпидермальное или слизистое введение, например, интраназальное, пероральное, вагинальное, ректальное, сублингвальное или местное. Введение также может выполняться, например, один раз, множество раз и/или в течение одного или более длительных периодов времени. В описанных в настоящем изобретении способах биспецифическое антитело (например, эпкоритамаб) вводят подкожно. Другие агенты, используемые в сочетании со биспецифическим антителом, например, агенты для профилактики синдрома высвобождения цитокинов и/или профилактики синдрома лизиса опухоли (СЛО), могут вводиться другими путями, такими как внутривенное или пероральное введение.

Термин «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического результата. Например, дозы, как определено в настоящем изобретении, для биспецифического антитела (например, эпкоритамаба), т.е. 24 мг или 48 мг, вводимых подкожно, могут быть определены как такое «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество». Терапевтически эффективное количество антитела может варьировать в зависимости от таких факторов, как болезненное состояние, возраст, пол и масса индивидуума и способность антитела вызывать желаемый ответ у индивидуума. Терапевтически эффективным количеством также является такое количество, при котором любые токсические или вредные эффекты антитела или части антитела перевешиваются терапевтически полезными эффектами. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у пациентов, получавших лечение способами, описанными в настоящем изобретении, будет наблюдаться улучшение функционального состояния в соответствии с ECOG. Терапевтически эффективное количество или дозировка лекарственного средства включает

«профилактически эффективное количество» или «профилактически эффективную дозировку», означает любое количество лекарственного средства, которое при введении отдельно или в комбинации с другим терапевтическим средством субъекту с риском развития заболевания или нарушения (например, синдрома высвобождения цитокинов) или страдания от рецидива заболевания, ингибирует развитие или рецидив заболевания.

Термин «ингибирует рост» опухоли, используемый в настоящем изобретении, означает любое измеримое снижение роста опухоли, например, ингибирование роста опухоли по меньшей мере примерно на 10%, например, по меньшей мере примерно на 20%, по меньшей мере примерно на 30%, по меньшей мере примерно на 40%, по меньшей мере примерно на 50%, по меньшей мере примерно на 60%, по меньшей мере примерно на 70%, по меньшей мере примерно на 80%, по меньшей мере примерно на 90%, по меньшей мере примерно на 99% или 100%.

Используемый в настоящем изобретении термин «субъект» относится к пациенту-человеку, например, пациенту-человеку с ДКВКЛ. Термины «субъект» и «пациент» используют в настоящем изобретении взаимозаменяемо.

Термин «буфер», используемый в настоящем изобретении, обозначает фармацевтически приемлемый буфер. Термин «буфер» охватывает те агенты, которые поддерживают значение pH раствора, например, в приемлемом диапазоне, и включает, но не ограничивается ими, ацетат, гистидин, ТРИС® (трис(гидроксиметил)аминометан), цитрат, сукцинат, гликолят и другие подобные соединения. Как правило, используемый в настоящем изобретении «буфер» имеет pKa и буферную емкость, подходящие для диапазона pH от примерно 5 до примерно 6, что составляет примерно 5,5.

«Прогрессирование заболевания» или «ПЗ» в настоящем изобретении относится к ситуации, в которой один или несколько показателей ДКВКЛ означают, что заболевание прогрессирует, несмотря на лечение. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения прогрессирование заболевания определяют на основе критериев ответа Lugano для злокачественной лимфомы («критерии Lugano») и/или Критериев ответа лимфомы на иммуномодулирующую терапию (LYRIC – Lymphoma Response to Immunomodulatory Therapy Criteria). Подробная информация о критериях/классификационной системе Lugano, включая определения полного

ответа (ПО), частичного ответа (ЧО), отсутствия ответа/стабильного заболевания (ОО/СЗ) и прогрессирующего заболевания (ПЗ), представлена в публикации Cheson с соавт. *J Clin Oncol* 2014;32:3059-3068, содержание которого включено в настоящее изобретение посредством ссылки (см., в частности, табл. 3 в публикации Cheson с соавт., 2014). Подробная информация о LYRIC представлена в табл. 8.

«Поверхностно-активное вещество», используемое в настоящем изобретении, представляет собой соединение, которое обычно используют в фармацевтических составах для предотвращения адсорбции лекарственного средства на поверхности и/или агрегации. Кроме того, поверхностно-активные вещества снижают поверхностное натяжение (или межфазное натяжение) между двумя жидкостями или между жидкостью и твердым телом. Например, поверхностно-активное вещество может значительно снизить поверхностное натяжение, если оно присутствует в очень низких концентрациях (например, 5% по массе или менее, например, 3% по массе или менее, например 1% по массе или менее, например 0,4 мас./об.% или менее, например, менее 0,1 мас./об.% или менее, например 0,04 мас./об. %). Поверхностно-активные вещества являются амфифильными, что означает, что они обычно состоят как из гидрофильных, так и из гидрофобных или липофильных групп, таким образом, они способны образовывать мицеллы или подобные самособирающиеся структуры в водных растворах. Известные поверхностно-активные вещества для фармацевтического применения включают моноолеат глицерина, хлорид бензетония, докузат натрия, фосфолипиды, полиэтиленалкиловые эфиры, лаурилсульфат натрия и трикаприлин (анионные поверхностно-активные вещества); хлорид бензалкония, цитримид, хлорид цетилпиридиния и фосфолипиды (катионные поверхностно-активные вещества); альфа-токоферол, моноолеат глицерина, миристиловый спирт, фосфолипиды, полоксамеры, алкиловые эфиры полиоксиэтилена, производные полиоксиэтиленового касторового масла, сложные эфиры полиоксиэтиленсорбинтана и жирных кислот, полиоксиэтиленстерараты, полиоксилгидроксистеарат, полиоксиглицериды, полисорбаты, такие как полисорбат 20 или полисорбат 80, дилаурат пропиленгликоля, монолаурат пропиленгликоля, сложные эфиры сорбитана, пальмитат сахарозы, стеарат сахарозы, трикаприлин и неионогенные и цвиттерионные поверхностно-активные вещества.

Используемый в настоящем изобретении термин «разбавитель» является фармацевтически приемлемым (безопасным и нетоксичным для введения человеку) и пригодным для приготовления разведений фармацевтической композиции или фармацевтического состава (термины «композиция» и «препарат» используют взаимозаменяемо). Желательно, такие разведения композиции разбавляют только концентрацию антител, но не буфер и стабилизатор. Соответственно, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения разбавитель содержит те же концентрации буфера и стабилизатора, что и в фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Другие примеры разбавителей включают стерильную воду, бактериостатическую воду для инъекций (BWFI – bacteriostatic water for injection), pH-буферный раствор, который представляет собой ацетатный буфер, стерильный физиологический раствор, такой как вода для инъекций, раствор Рингера или раствор декстрозы. В одном варианте осуществления настоящего изобретения разбавитель содержит или состоит по существу из ацетатного буфера и сорбита.

Используемый в настоящем изобретении термин «примерно» относится к значению, которое не более чем на 10% выше и не более чем на 10% ниже определенного значения.

Режимы лечения фолликулярной лимфомы

В настоящем изобретении предусматривают способы лечения фолликулярной лимфомы у человека с использованием биспецифического антитела, которое связывается с CD3 и CD20 («анти-CD3xCD20 антитела»), например, выделенного анти-CD3xCD20 антитела, такого как эпкоритамаб, которое связывается с CD3 человека и CD20 человека, в сочетании со стандартной схемой лечения ритуксимабом и бендамустином. Способы применимы для лечения, например, недавно диагностированной, ранее нелеченой фолликулярной лимфомы. Понятно, что способы лечения фолликулярной лимфомы (например, недавно диагностированной, ранее нелеченой фолликулярной лимфомы) с помощью биспецифического антитела, которое связывается как с CD3, так и с CD20, описанные в настоящем изобретении, также охватывают соответствующие применения биспецифического антитела для лечения фолликулярной лимфомы (например, недавно диагностированная, ранее нелеченая фолликулярная лимфома) у человека.

Соответственно, одним из объектов настоящего изобретения является способ лечения фолликулярной лимфомы у человека, включающий введение биспецифического антитела и эффективного количества ритуксимаба (например, внутривенно) и бендамустина (например, внутривенно), где биспецифическое антитело включает:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) и вариабельную область легкой цепи (VL), где VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VH-области SEQ ID NO: 6, и область VL содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VL SEQ ID NO: 7; и

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит VH-область и VL-область, где VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VH SEQ ID NO: 13, и VL-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VL SEQ ID NO: 14;

в котором биспецифическое антитело вводят в дозе 24 мг или 48 мг, причем ритуксимаб, бендамустин и биспецифическое антитело вводят 28-дневными циклами.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе (или в примерной дозе) 24 мг. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе (или в примерной дозе) 48 мг.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело является антителом полной длины (полноразмерным). В других вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело представляет собой антитело с инертной Fc-областью. В других вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело представляет собой полноразмерное антитело с инертной областью Fc.

Что касается дозы (или примерной дозы) 24 мг или 48 мг биспецифического антитела, которая должна быть введена, или любой другой определенной дозы,

следует учитывать, что это количество относится к количеству биспецифического антитела, соответствующему количеству полноразмерного антитела, такого как эпкоритамаб, как определено в разделе «Примеры». Следовательно, введение дозы биспецифического антитела 24 мг можно рассматривать как введение дозы биспецифического антитела, описанного в настоящем изобретении, при этом доза соответствует дозе эпкоритамаба 24 мг. Специалист в данной области может легко определить количество вводимого антитела, когда, например, применяемое антитело существенно отличается по молекулярной массе от молекулярной массы полноразмерного антитела, такого как эпкоритамаб. Например, количество антитела можно рассчитать путем деления молекулярной массы антитела на массу полноразмерного антитела, такого как эпкоритамаб, и умножения полученного результата на указанную дозу, как описано в настоящем изобретении.

Поскольку биспецифическое антитело (например, функциональный вариант DuoBody CD3xCD20) имеет очень схожие характеристики с DuoBody CD3xCD20 в отношении времени полужизни в плазме, инертности Fc и/или свойств связывания для CD3 и CD20, т.е. в отношении CDR и связывания эпитопа, такие антитела подходят для использования в способах, предусмотренных в настоящем изобретении в дозе, описанной для полноразмерного антитела, такого как эпкоритамаб.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения дозу биспецифического антитела вводят один раз в неделю (еженедельное введение) в циклах по 28 дней. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения недельную дозу 24 мг или 48 мг вводят в течение 2,5 циклов длительностью 28 дней (т.е. 10 раз: в 15-й и 22-й дни первого цикла и 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни 2-го и 3-го циклов). В других вариантах осуществления настоящего изобретения после еженедельного введения можно сократить интервал введения до одного раза в две недели (введение раз в две недели). В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения введение раз в две недели осуществляют в течение шести 28-дневных циклов (т.е. 12 раз). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения после введения раз в две недели можно сократить интервал введения до одного раза в четыре недели. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения введение один раз каждые четыре недели может осуществляться в течение длительного

периода, например, в течение по меньшей мере 1 цикла, по меньшей мере 2 циклов, по меньшей мере 3 циклов, по меньшей мере 4 циклов, по меньшей мере 5 циклов, по меньшей мере 6 циклов, по меньшей мере 7 циклов, не менее 8 циклов, не менее 9 циклов, не менее 10 циклов, не менее 11 циклов, не менее 12 циклов, не менее 13 циклов, не менее 14 циклов, не менее 15 циклов, не менее 16 циклов, не менее 17 циклов, например, между 1-20 циклами, 1-19 циклами, 1-18 циклами, 1-17 циклами, 1-16 циклами, 1-15 циклами, 1-14 циклами, 1-13 циклами, 1-12 циклами, 1-10 циклами, 1-5 циклами, 5-20 циклами, 5-15 циклами или 5-10 циклами из 28-дневных циклов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят в виде монотерапии (т. е. без ритуксимаба или бендамустина) с 7-го из 28-дневных циклов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят в виде монотерапии с 7 по 26 цикл из 28-дневных циклов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят в виде монотерапии, начиная с цикла 7 из 28-дневных циклов, в течение общей продолжительности лечения биспецифическим антителом до двух лет с начала применения ритуксимаба и бендамустина или до прогрессирования заболевания (например, по критериям Lugano или LYRIC) или из-за неприемлемой токсичности.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения недельную дозу биспецифического антитела вводят в 28-дневных циклах в циклах с 1-го по 3-й (которые могут включать начальную и промежуточную дозы, как описано ниже), двухнедельную дозу биспецифического антитела вводят в циклах с 4-го по 9-й, и дозу один раз в течение четырех недель вводят с 10-го цикла и далее, например, в циклы с 10-го по 15-й, циклы с 10-го по 20-й, циклы с 10-го по 25-й, циклы с 10-го по 30-й или более циклов, до двух лет общей продолжительности лечения биспецифическим антителом с момента начала применения ритуксимаба и бендамустина или до тех пор, пока у субъекта не будет наблюдаться прогрессирование заболевания или неприемлемая токсичность. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения дозу вводят один раз в четыре недели в циклы с 10-го по 26-й.

Следует отметить, что приводимые в настоящем изобретении дозы можно также назвать полными или фиксированными дозами в описанных выше вариантах, где, например, еженедельная доза, доза раз в две недели и/или доза,

вводимая каждые четыре недели, находятся на одном уровне. Соответственно, когда выбрана доза 48 мг, предпочтительно последовательно при каждом еженедельном введении, при каждом введении раз в две недели и при каждом введении каждые четыре недели вводить такую же дозу 48 мг. Перед введением дозы можно вводить начальную или начальную и последующую промежуточную (вторую начальную) дозу. Это может быть полезным, поскольку может способствовать снижению риска и тяжести синдрома высвобождения цитокинов (СВЦ), побочного эффекта, который может возникнуть во время лечения биспецифическим анти-CD3xCD20-антителом, описанным в настоящем изобретении. Такие первичные или первичные и промежуточные дозы ниже по сравнению с фиксированной или полной дозой.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения перед введением недельной дозы 24 мг или 48 мг первичная доза биспецифического антитела может быть введена. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения начальную дозу вводят за две недели до введения первой недельной дозы 24 мг или 48 мг в 1-м цикле. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения первичная доза составляет 0,16 мг (или примерно 0,16 мг) биспецифического антитела полной длины.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения после введения начальной дозы и перед введением недельной дозы 24 мг или 48 мг вводят промежуточную дозу указанного биспецифического антитела. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения начальную дозу вводят за неделю до промежуточной дозы (т.е. в первый день 1-го цикла) и промежуточную дозу вводят за неделю до первой недельной дозы 24 мг или 48 мг (т.е. в 8-й день 1-го цикла). В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения промежуточная доза составляет 800 мкг (0,8 мг) или примерно 800 мкг (0,8 мг) биспецифического антитела полной длины.

Описанные в настоящем изобретении способы включают лечение субъектов-людей с фолликулярной лимфомой биспецифическим антителом, которое связывается с CD3 и CD20, в сочетании со стандартной схемой лечения ритуксимабом и бендамустином.

Описанные в настоящем изобретении способы включают лечение субъектов-людей с фолликулярной лимфомой биспецифическим антителом,

которое связывается с CD3 и CD20, в сочетании со стандартной схемой лечения ритуксимабом и бендамустином.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ритуксимаб и бендамустин вводят в стандартных дозах, например, в соответствии с клиническими исследованиями, в соответствии с местными руководствами и/или в соответствии с соответствующими местными инструкциями.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ритуксимаб вводят в соответствии с этикеткой продукта или совокупностью характеристик продукта (см., например, информацию о назначении RITUXAN® (ритуксимаба), приведенную по адресу www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/103705s5414lbl.pdf). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вместо ритуксимаба в описанных способах используют биоаналог ритуксимаба.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения бендамустин вводят в соответствии с этикеткой продукта или краткими характеристиками продукта (см., например, TREANDA® (бендамустин гидрохлорид) для получения информации о назначении инъекций, доступной по адресу: www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2008/022303lbl.pdf; информация о назначении инъекций BENDEKA® (бендамустина гидрохлорида) доступна по адресу: www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2015/208194s000lbl.pdf. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения бендамустин находится в форме бендамустина гидрохлорида. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения бендамустин находится в форме раствора. В других вариантах осуществления настоящего изобретения бендамустин находится в форме лиофилизированного порошка.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения ритуксимаб вводят в соответствии с местными рекомендациями и местными инструкциями. В некоторых вариантах осуществления ритуксимаб вводят в дозе (или в примерной дозе) 375 мг/м^2. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ритуксимаб вводят внутривенно.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения ритуксимаб вводят один раз в четыре недели в 28-дневных циклах. В других некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения введение ритуксимаба один

раз каждые четыре недели проводят в течение шести 28-дневных циклов (т.е. 6 раз).

В одном варианте осуществления настоящего изобретения бендамустин вводят в соответствии с местными рекомендациями и местными этикетками. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения бендамустин вводят в дозе (или в примерной дозе) 90 мг/м^2. В других вариантах осуществления настоящего изобретения бендамустин вводят внутривенно.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения бендамустин вводят два дня подряд (т.е. в 1-й и 2-й дни) в 28-дневных циклах. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения бендамустин вводят в течение шести 28-дневных циклов (т.е. в 1-й и 2-й дни циклов с 1-го по 6-й из 28-дневных циклов).

В одном варианте осуществления настоящего изобретения введение бендамустина откладывают, если у субъекта проявляется связанная с бендамустином токсичность (гематологическая токсичность 3 степени или негематологическая токсичность ≥2 степени) во время цикла лечения в соответствии со стандартными рекомендациями по уходу, например, как указано в этикетка продукта. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения бендамустин возобновляют после окончания негематологической токсичности (например, до ≤ степени 1) и/или улучшения показателей крови (АЧН ≥1,0 × 10^9/л при количестве тромбоцитов ≥75 × 10^9/л). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения при гематологической токсичности 3-й степени, продолжающейся более 2 дней, дозу бендамустина снижают до 70 мг/м^2 в 1-й и 2-й дни каждого цикла. В другом варианте осуществления настоящего изобретения при гематологической токсичности 4-й степени дозу бендамустина снижают до 60 мг/м^2 в 1-й и 2-й дни каждого цикла. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения при негематологической токсичности ≥3-й степени дозу бендамустина снижают до 60 мг/м^2 в 1-й и 2-й дни каждого цикла.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело, ритуксимаб и/или бендамустин вводят одновременно.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело, ритуксимаб и/или бендамустин вводят

последовательно. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения ритуксимаб вводят перед введением биспецифического антитела, если ритуксимаб и биспецифическое антитело вводят в один (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й из 28-дневных циклов). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения бендамустин вводят перед введением биспецифического антитела, если бендамустин и биспецифическое антитело если бендамустин и биспецифическое антитело вводят в один день (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й из 28-дневных циклов). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ритуксимаб вводят до бендамустина, если ритуксимаб и бендамустин вводят в один день (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й из 28-дневных циклов). В другом варианте осуществления настоящего изобретения ритуксимаб вводят первым, бендамустин вводят вторым, а биспецифическое антитело вводят последним, если ритуксимаб, бендамустин и биспецифическое антитело вводят в один день (например, в день 1 циклов 1-6 28-дневной терапии). дневные циклы). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения при введении в один (а) ритуксимаб вводят перед введением биспецифического антитела (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й); (б) бендамустин вводят перед введением биспецифического антитела (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й); (в) бендамустин вводят перед ритуксимабом (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й); или (г) первым вводят бендамустин, вторым вводят ритуксимаб и последним вводят биспецифическое антитело (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту проводят премедикацию и/или профилактику СВЦ перед введением ритуксимаба, бендамустина и биспецифического антитела.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводят ритуксимаб (например, внутривенно), бендамустин (например, внутривенно) и биспецифическое антитело (например, подкожно) в 28-дневных циклах, где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1 день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 24 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 24 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 24 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах (например, в циклах с 10-го по 15-й, в циклах с 10-го по 20-й, циклах с 10-го по 25-й или большем числе циклов) дозу 24 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й; и

(в) бендамустин вводят в дни 1-й и 2-й в циклах с 1-го по 6-й.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводят ритуксимаб (например, внутривенно), бендамустин (например, внутривенно) и биспецифическое антитело (например, подкожно) в 28-дневных циклах, где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1 день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 48 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 48 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах (например, в циклах с 10-го по 15-й, в циклах с 10-го по 20-й, циклах с 10-го по 25-й или большем числе циклов) дозу 48 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й; и

(в) бендамустин вводят в дни 1-й и 2-й в циклах с 1-го по 6-й.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводят ритуксимаб (например, внутривенно), бендамустин (например, внутривенно) и биспецифическое антитело эпкоритамаб (например, подкожно) в 28-дневных циклах, где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1 день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 24 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 24 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 24 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах (например, в циклах с 10-го по 15-й, в циклах с 10-го по 20-й, циклах с 10-го по 25-й или большем числе циклов) дозу 24 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й; и

(в) бендамустин вводят в дни 1-й и 2-й в циклах с 1-го по 6-й.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводят ритуксимаб (например, внутривенно), бендамустин (например, внутривенно) и

биспецифическое антитело эпкоритамаб (например, подкожно) в 28-дневных циклах, где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1 день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 48 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 48 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах (например, в циклах с 10-го по 15-й, в циклах с 10-го по 20-й, циклах с 10-го по 25-й или большем числе циклов) дозу 48 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й; и

(в) бендамустин вводят в дни 1-й и 2-й в циклах с 1-го по 6-й.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводят ритуксимаб (например, внутривенно), бендамустин (например, внутривенно) и биспецифическое антитело (например, подкожно) в 28-дневных циклах, где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1 день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 24 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 24 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 24 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах (например, в циклах с 10-го по 15-й, в циклах с 10-го по 20-й, циклах с 10-го по 25-й или большем числе циклов) дозу 24 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й в дозе 375 мг/м^2; и

(в) бендамустин вводят в дни 1-й и 2-й в циклах с 1-го по 6-й в дозе 90 мг/м^2.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения вводят ритуксимаб (например, внутривенно), бендамустин (например, внутривенно) и биспецифическое антитело (например, подкожно) в 28-дневных циклах, где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1 день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 48 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 48 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах (например, в циклах с 10-го по 15-й, в циклах с 10-го по 20-й, циклах с 10-го по 25-й или большем числе циклов) дозу 48 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й в дозе 375 мг/м^2; и

(в) бендамустин вводят в дни 1-й и 2-й в циклах с 1-го по 6-й в дозе 90 мг/м^2.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводят ритуксимаб (например, внутривенно), бендамустин (например, внутривенно) и биспецифическое антитело эпкоритамаб (например, подкожно) в 28-дневных циклах, где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1 день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 24 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 24 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 24 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах (например, в циклах с 10-го по 15-й, в циклах с 10-го по 20-й, циклах с 10-го по 25-й или большем числе циклов) дозу 24 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й в дозе 375 мг/м^2; и

(в) бендамустин вводят в дни 1-й и 2-й в циклах с 1-го по 6-й в дозе 90 мг/м^2.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводят ритуксимаб (например, внутривенно), бендамустин (например, внутривенно) и биспецифическое антитело эпкоритамаб (например, подкожно) в 28-дневных циклах, где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1 день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 48 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 48 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах (например, в циклах с 10-го по 15-й, в циклах с 10-го по 20-й, циклах с 10-го по 25-й или большем числе циклов) дозу 48 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й в дозе 375 мг/м^2; и

(в) бендамустин вводят в дни 1-й и 2-й в циклах с 1-го по 6-й в дозе 90 мг/м^2.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъектам, которые по оценке предположительно подвержены риску тромбоза, назначают профилактическое антитромботическое лечение, такое как низкие дозы аспирина (например, 70-100 мг в день). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъектам с тромбозом глубоких вен (ТГВ) или легочной эмболией (ТЭЛА) в анамнезе проводят антикоагулянтную терапию.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъект, проходящий лечение способами, описанными в настоящем изобретении, имеет гистологически подтвержденную CD20+ фолликулярную лимфому.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекта с фолликулярной лимфомой степени 1, 2 или 3а ранее не лечили. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекта с фолликулярной лимфомой стадий II, III или IV ранее не лечили.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъект имеет статус работоспособности согласно Восточной кооперативной онкологической группе (ECOG PS – Eastern Cooperative Oncology Group performance status) 0, 1 или 2. Информацию о баллах ECOG PS можно найти, например, в публикации Oken с соавт., *Am J Clin Oncol*, 1982 Dec;5(6):649-655).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у субъекта имеется поддающееся измерению заболевание, определяемое как (а) ≥1 поддающееся измерению узловое поражение (длинная ось >1,5 см и короткая ось >1,0 см) или ≥1 поддающееся измерению экстранодальное поражение (длинная ось >1 см) по данным КТ или МРТ.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у субъекта приемлемая функция органов, определяемая как: (а) АЧН ≥1,0 × 10^9/л, (б) количество тромбоцитов >75×10^9/л или ≥50×10^9/л при инфильтрации костного мозга или спленомегалии, (в) уровень АЛТ в 2,5 раза ниже или равен ВГН, (г) уровень общего билирубина ≤2 × ВГН, (д) eGFR> 50 мл/мин (по формуле Cockcroft-Gault) и (е) ПВ, МНО и АЧТВ ≤ 1,5 х ВГН, международное нормализованное отношение (INR) и активированное частичное тромбопластиновое время (аЧТВ) ≤ 1,5 х ВГН (верхняя граница нормы; если не принимается антикоагулянт).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у субъекта отсутствуют тяжелые аллергические или анафилактические реакции на терапию анти-CD20 антителом, бендамустином или биспецифическим антителом, или установленная аллергия или непереносимость любого компонента или наполнителя ритуксимаба, бендамустина и/или биспецифического антитела.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у субъекта нет клинически значимого сердечного заболевания, включая (а) инфаркт миокарда в течение одного года до введения первой дозы биспецифического антитела, или нестабильное или неконтролируемое заболевание/состояние, связанное с сердечной функцией или влияющее на нее (например, нестабильная стенокардия, застойная сердечная недостаточность, класс III-IV по NYHA), сердечная аритмия (CTCAE версия 4, степень 2 или выше) или клинически значимые отклонения ЭКГ и/или (б) ЭКГ в 12 отведениях, показывающая исходный QTcF >470 мсек.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у субъекта нет противопоказаний к применению бендамустина или ритуксимаба.

Субъект-человек, получающий лечение, описанное в настоящем изобретении, может быть пациентом, имеющим один или несколько критериев включения, изложенных в примере 3, или не имеющим одного или нескольких критериев исключения, изложенных в примере 3.

Описанные в настоящем изобретении способы полезны для лечения фолликулярной лимфомы, такой как ранее нелеченая фолликулярная лимфома. Лечение продолжают непрерывно, используя, например, схемы лечения, описанные в настоящем изобретении. Однако лечение может быть прекращено при прогрессировании заболевания или появлении неприемлемой токсичности. Реакция субъектов с фолликулярной лимфомой на лечение с использованием способов, описанных в настоящем изобретении, может быть оценена в соответствии с Критериями ответа Lugano для злокачественной лимфомы (также называемыми в настоящем изобретении «критериями Lugano») и/или критериями ответа лимфомы на иммуномодулирующую терапию (также обозначаемыми как «LYRIC – Lymphoma Response to Immunomodulatory Therapy Criteria»), как описано в примере 3. В одном варианте осуществления настоящего изобретения полный ответ (ПО), частичный ответ (ЧО) и стабильное заболевание (СЗ) оценивают с использованием критериев Lugano. В некоторых

вариантах осуществления настоящего изобретения пациенты, у которых наблюдается прогрессирование заболевания, также называемое прогрессирующим заболеванием (ПЗ), в соответствии с критериями Lugano, дополнительно оцениваются в соответствии с LYRIC. Подробная информация о критериях/системе классификации Lugano, включая определения полного ответа, частичного ответа, отсутствия ответа/стабильного заболевания и прогрессирующего заболевания, представлена в работе Cheson с соавт. *J Clin Oncol* 2014;32:3059-3068 (см., в частности, табл. 3 в Cheson с соавт., 2014). Подробная информация о LYRIC представлена в табл. 8.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекты проходят лечение способами, описанными в настоящем изобретении, до тех пор, пока у них не проявится прогрессирование заболевания (ПЗ), например, как определено критериями Lugano и/или LYRIC. В одном варианте осуществления настоящего изобретения субъектов лечат способами, описанными в настоящем изобретении, до тех пор, пока у них не проявится прогрессирование заболевания (ПЗ), согласно как критериям Lugano, так и LYRIC. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъектов лечат способами, описанными в настоящем изобретении, в течение общей продолжительности лечения биспецифическим антителом до двух лет с момента начала приема ритуксимаба и бендамустина.

У субъектов, получающих лечение в соответствии со способами, описанными в настоящем изобреетнии, предпочтительно наблюдают улучшение по меньшей мере одного признака фолликулярной лимфомы. В одном варианте осуществления настоящего изобретения улучшение измеряют уменьшением количества и/или размера измеримых опухолевых поражений. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения поражения можно измерять путем визуализации на пленке при использовании методов КТ, ПЭТ-КТ или МРТ. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения для оценки реакции на терапию можно использовать методы цитологии или гистологии. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения аспирация костного мозга и биопсия костного мозга могут быть использованы для оценки ответа на терапию.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения субъект, получающий лечение, проявляет полный ответ (ПО), частичный ответ (ЧО) или

стабильное заболевание (СЗ), как определено критериями Lugano или LYRIC (см., например, табл. 8). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения способы, описанные в настоящем изобретении, обеспечивают по меньшей мере один терапевтический эффект, выбранный из продолжительной выживаемости, такой как выживаемость без прогрессирования или общая выживаемость, необязательно по сравнению с другой терапией или плацебо.

Синдром выброса цитокинов (СВЦ) может возникать, когда к людям применяют методы, в которых используют подходы на основе иммунных клеток и биспецифических антител, которые функционируют за счет активации иммунных эффекторных клеток, например, за счет вовлечения CD3 (Lee с соавт., *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25:625-638, публикация включена в настоящее описание в виде ссылки). Следовательно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения снижение СВЦ выполняют вместе с методами, описанными в настоящем изобретении. Как часть смягчения СВЦ, выбор первичной дозы и/или промежуточной дозы осуществляют до введения полной дозы (например, 24 или 48 мг), как описано в настоящем изобретении. СВЦ можно классифицировать в соответствии со стандартной практикой (например, как описано в работе Lee с соавт., *Biol Blood Marrow Transplant* 2019;25:625-638, включенной в настоящее описание в виде ссылки). СВЦ может включать чрезмерное высвобождение цитокинов, например, провоспалительных цитокинов, например, IL-6, TNF-альфа или IL-8, что может привести к таким побочным эффектам, как лихорадка, тошнота, рвота и озноб. Таким образом, несмотря на уникальную противоопухолевую активность биспецифических антител, таких как эпкоритамаб, их иммунологический механизм действия может вызывать нежелательные «побочные» эффекты, т.е. индукцию нежелательных воспалительных реакций. Следовательно, пациенты могут дополнительно подвергаться сопутствующему лечению, профилактике и/или премедикации, например, анальгетиками, жаропонижающими средствами и/или противовоспалительными препаратами для смягчения возможных симптомов СВЦ.

Соответственно, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения людей-субъектов лечат методами, описанными в настоящем изобретении, для профилактики СВЦ. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения профилактика включает введение кортикостероида. В

одном варианте осуществления настоящего изобретения профилактику проводят в том же день, когда вводят биспецифическое антитело. Профилактическое введение можно проводить также в последующие сутки, более предпочтительно в последующие 2-й, 3-й и 4-й дни. Очевидно, что во 2-й, 3-й и 4-й дни, когда речь идет о дальнейшем лечении, таком как профилактическое, оно связано с введением биспецифического антитела, которое вводят в первый день. Например, если в цикле антитело вводят в 15-й день и одновременно проводят профилактику, она приходится на 16-й, 17-й и 18-й дни цикла. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения проводят профилактику в тот день, когда вводят биспецифическое антитело и в последующие 2-4 дня. Если указанную профилактику проводят в тот же день, что и введение биспецифического антитела, предпочтительно профилактическое введение проводят за 30-120 мин до введения биспецифического антитела. Примером кортикостероида, подходящего для применения в способах и применениях по настоящему изобретению, является преднизолон. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения преднизолон вводят внутривенно в дозе 100 мг или в эквивалентной ей дозе, включая дозу для перорального введения. Примеры кортикостероидных эквивалентов преднизолона вместе с эквивалентными дозами, которые можно использовать для профилактики СВЦ, показаны в табл. 5.

Кроме того, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекты-люди в способах, изложенных в настоящем описании, получают премедикацию для уменьшения реакций на инъекции. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения премедикация включает введение антигистаминов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения премедикация включает введение жаропонижающих средств. В другом варианте осуществления настоящего изобретения премедикация включает системное введение антигистамнов и жаропонижающих средств.

Типичным антигистаминным средством, пригодным для премедикации, является дифенилгидрамин. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения дифенилгидрамин вводят внутривенно или перорально в дозе 50 мг или в эквивалентной дозе. Примером жаропонижающего средства, применимого в премедикации, является ацетаминофен. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения ацетаминофен вводят перорально в дозе 650-1000 мг

или в эквивалентной дозе. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения премедикацию проводят в тот же день, что и введение биспецифического антитела, например, перед инъекцией биспецифического антитела, например, за 30-120 мин до введения биспецифического антитела.

Премедикацию и/или профилактику СВЦ можно проводить, по крайней мере, на начальном этапе лечения. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения премедикацию и/или профилактику проводят в течение первых четырех введений биспецифического антитела. Например, профилактику можно проводить, как описано в настоящем изобретении, в течение первого 28-дневного цикла введения биспецифического антитела. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения премедикацию вводят во время указанного первого цикла.

Обычно риск развития реакций при начальном лечении снижается после нескольких введений, например, после первых четырех введений (первый цикл). Следовательно, когда у субъекта-человека не возникает СВЦ при четвертом введении, профилактика СВЦ может быть прекращена. Тем не менее, профилактика СВЦ может продолжаться, особенно когда у субъекта-человека наблюдают СВЦ выше 1-й степени. Аналогичным образом, премедикация также необязательно может продолжаться. Оценка СВЦ может быть выполнена, как описано в табл. 6 и 7.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения в методах по настоящему изобретению профилактику СВЦ проводят во время второго 28-дневного цикла, когда у субъекта-человека наблюдают СВЦ выше 1-й степени после четвертого введения биспецифического антитела в 1-м цикле. Кроме того, профилактика может быть продолжена в течение последующего цикла, когда при последнем введении биспецифического антитело предыдущего цикла у субъекта-человека возникает СВЦ более высокой степени, чем 1-я. Любая премедикация может быть необязательно введена во время второго цикла. Дополнительная премедикация также может быть назначена во время последующих циклов.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения проводят премедикацию и профилактику СВЦ, включая введение антигистаминного препарата, такого как дифенилгидрамин (например, внутривенно или перорально в дозе 50 мг или ее эквиваленте), жаропонижающее средство, такое как

ацетаминофен (например, в пероральной дозе 650-1000 мг или ее эквиваленте) и кортикостероид, такой как преднизолон (например, в дозе 100 мг внутривенно или ее эквиваленте). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения премедикацию и профилактику осуществляют за 30-120 мин до введения биспецифического антитела. В последующие 2-й, 3-й и, необязательно, 4-й день проводят дополнительную профилактику, включающую системное введение кортикостероида, такого как преднизолон (например, внутривенно в дозе 100 мг или ее эквивалента). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения схему премедикации и профилактики предпочтительно проводят во время первых четырех введений биспецифического антитела, например, в течение первого 28-дневного цикла введения биспецифического антитела, описанного в настоящем изобретении. Кроме того, последующие циклы, в случае, например, СВЦ более высокой степени, чем 1-я, возникающего во время последнего введения предыдущего цикла, могут применять тот же график введения, при этом премедикация как часть графика введения не является обязательной.

Во время лечения человека с фолликулярной лимфомой с использованием доз и схем лечения, описанных в настоящем изобретении, СВЦ можно хорошо контролировать, в то же время эффективно контролируя и/или проводя лечение фолликулярной лимфомы. Во время лечения субъекта-человека с фолликулярной лимфомой с использованием доз и схем лечения, описанных в настоящем изобретении, можно хорошо контролировать СВЦ, в то же время эффективно контролируя и/или применяя лечение в отношении фолликулярной лимфомы. Как описано в примерах, у субъектов, получавших лечение описанными в настоящем изобретении способами, может наблюдаться управляемый СВЦ. В некоторых случаях у субъектов, получающих лечение, описанное в настоящем изобретении, может развиться СВЦ 1-й степени, как определено в соответствии со стандартной практикой. В других случаях у субъектов может развиться управляемый СВЦ 2-го уровня, как это определено в соответствии со стандартной практикой. . Следовательно, субъекты, получающие лечение, описанное в настоящем изобретении, могут иметь управляемый СВЦ 1-й степени или 2-й степени в течение времени в соответствии со стандартной практикой. В соответствии со стандартной классификацией СВЦ, СВЦ 1-й степени включает лихорадку не ниже 38°C, отсутствие гипотензии, отсутствие гипоксии, и СВЦ 2-

й степени включает лихорадку не менее 38°С плюс гипотензию, не требующую применения вазопрессоров, и/или гипоксию, требующую кислорода с помощью назальной канюли с низким потоком или продувки. Такой управляемый СВЦ может возникать во время 1-го цикла. Субъекты-люди, получающие лечение, описанное в настоящем изобретении, также могут иметь СВЦ выше 2-й степени во время лечения, как определено в соответствии со стандартной практикой. Следовательно, люди, получающие лечение, описанное в настоящем изобретении, также могут иметь СВЦ 3-й степени во время указанного лечения, как определено в соответствии со стандартной практикой. Такой управляемый СВЦ также может быть во время первого и последующих циклов.

Субъекты-люди, получавшие лечение в соответствии со способами, описанными в настоящем изобретении, также могут испытывать лихорадку, усталость и реакции в месте инъекции. Они также могут испытывать нейротоксичность, парциальные припадки, аграфию, связанную с СВЦ, или спутанность сознания, связанную с СВЦ.

Как упоминалось выше, у субъектов может развиться СВЦ во время лечения способами, описанными в настоящем изобретении, несмотря на то, что они получали профилактику СВЦ. Критерии оценки СВЦ описаны в табл. 6 и 7.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения субъектов, у которых развивается СВЦ 1-й степени, лечат антибиотиками, если у них есть инфекция. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения прием антибиотиков продолжают до исчезновения нейтропении, если она присутствует. В некоторых вариантах осуществления субъекты с СВЦ 1-й степени, у которых проявляются конституциональные симптомы, получают лечение нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВП).

В одном варианте осуществления настоящего изобретения субъекты, у которых развивается СВЦ 2й степени, лечат внутривенно болюсами жидкости и/или обогащением кислородом. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъектов, у которых развивается СВЦ 2-й степени, лечат вазопрессорами. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекты с СВЦ 2-й степени и сопутствующими заболеваниями лечат тоцилизумабом (гуманизированное антитело против рецептора IL-6, коммерчески доступное, например, как продукт ACTEMRA®) и/или стероидами (например, дексаметазоном или его эквивалентом метилпреднизолон). В другом

варианте осуществления настоящего изобретения субъекту с одновременным синдромом нейротоксичности, связанным с иммунными эффекторными клетками (ICANS – immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome), вводят дексаметазон. В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения если у субъекта не наблюдают улучшения симптомов СВЦ в течение, например, 6 ч, или если состояние субъекта начинает ухудшаться после первоначального улучшения, то вводят вторую дозу тоцилизумаба вместе с дозой кортикостероидов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, если субъект невосприимчив к тоцилизумабу после трех введений, то ему проводят дополнительную цитокиновую терапию, например, анти-IL-6 антителом (например, силтуксимабом) или антагонистом IL-1R (например, анакинром).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения субъектов, у которых развивается СВЦ 3-й степени, лечат вазопрессорами (например, норэпинефрином) и/или дополнительным кислородом. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъектов с СВЦ 3-й степени лечат тоцилизумабом или тоцилизумабом в комбинации со стероидами (например, дексаметазоном или его эквивалентом метилпренизолоном). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту с одновременным ICANS вводят дексаметазон. В другом варианте осуществления настоящего изобретения если субъект невосприимчив к тоцилизумабу после трех введений, то субъекту проводят дополнительную цитокиновую терапию, например, введением анти-IL-6 антитела (например, силтуксимаба) или антагониста IL-1R (например, анакинра).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения субъектов с развившейся 4-й степенью СВЦ лечат вазопрессором и/или обогащением кислородом (например, через вентиляцию с положительным давлением, такую как CPAP, BiPAP, интубацию или механическую вентиляцию). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту вводят не менее двух вазопрессоров. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту вводят тоцилизумаб и стероид. В другом варианте осуществления настоящего изобретения субъекту с сопутствующим ICANS вводят дексаметазон. В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения если субъект невосприимчив к тоцилизумабу после трех введений,

ему проводят дополнительную цитокиновую терапию, например, введением анти-IL-6 антитела (например, силтуксимаба) или антагониста IL-1R (например, анакинра).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения субъект-человек получает профилактическое лечение синдрома лизиса опухоли (СЛО). Классификацию и оценку синдрома лизиса опухоли можно проводить с использованием методов, известных в данной области, например, как описано в публикации Howard с соавт. *N Engl J Med* 2011;364:1844-1854 и Coiffier с соавт., *J Clin Oncol* 2008;26:2767-2778. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения профилактическое лечение СЛО включает введение агентов, снижающих уровень мочевой кислоты, до введения биспецифического антитела. Примеры агентов, снижающих уровень мочевой кислоты, включают расбуриказу и аллопуринол. Соответственно, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения профилактическое лечение СЛО включает введение расбуриказы перед введением биспецифического антитела. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, когда у субъекта проявляются признаки СЛО, может быть использована поддерживающая терапия, такая как применение расбуриказы.

Субъектов, которым вводят ритуксимаб в соответствии со способами, описанными в настоящем изобретении, можно лечить поддерживающей терапией. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения поддерживающая терапия включает, помимо прочего, (а) премедикацию ацетаминофеном (например, 650 мг перорально), димедролом (например, 50-100 мг внутривенно или перорально) и стероидами, например, 30-60 мин до начала каждой инфузии ритуксимаба, (б) профилактическое лечение пневмоцистной пневмонии, (в) профилактику ЦНС в соответствии со стандартной местной практикой (например, метотрексатом), (г) низкие дозы аспирина (например, 70-100 мг ежедневно) или другое профилактическое антитромботическое лечение для субъектов без предшествующего анамнеза тромбоза глубоких вен (ТГВ) или тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА) в течение 5 лет после начала лечения и со стандартным риском тромбоза, и/или (д) антикоагулянтную терапию для субъектов с предшествующей историей болезни ТГВ или ТЭЛА в течение 5 лет после начала лечения.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело вводят подкожно и поэтому изготавливают в виде фармацевтической композиции, которая совместима с подкожным (п/к) введением, т.е. имеет состав и/или концентрацию, которая обеспечивает фармацевтически приемлемое п/к введение введение в дозах, описанных в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения подкожное введение осуществляют инъекцией. Например, составы для DuoBody CD3xCD20, которые совместимы с подкожным составом и могут быть использованы в выше описанных в настоящем изобретении способах (см., например, WO2019155008, который включен в настоящее изобретение в виде ссылки). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело может быть приготовлено с использованием тригидрата ацетата натрия, уксусной кислоты, гидроксида натрия, сорбита, полисорбата 80 и воды для инъекций и может иметь pH 5,5 или примерно 5,5. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело предусматривают в виде 5 мг/мл или концентрата 60 мг/мл. В других вариантах осуществления настоящего изобретения требуемая доза биспецифического антитела восстанавливается до объема около 1 мл для подкожной инъекции.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения подходящая фармацевтическая композиция для биспецифического антитела может содержать биспецифическое антитело, 20-40 мМ ацетата, 140-160 мМ сорбита и поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат 80, и имеет pH 5,3-5,6. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фармацевтический состав может содержать антитело в концентрации в диапазоне 5-100 мг/мл, например, 48 или 60 мг/мл биспецифического антитело, 30 мМ ацетата, 150 мМ сорбита, 0,04 % (мас./об.) полисорбата 80 и pH 5,5. Такой состав может быть разбавлен, например, буфером для обеспечения надлежащего дозирования и подкожного введения.

Объем фармацевтической композиции выбирают соответствующим образом для обеспечения подкожного введения антитела. Например, вводимый объем находится в диапазоне от примерно 0,3 мл до примерно 3 мл, например, от 0,3 мл до 3 мл. Вводимый объем может составлять 0,5 мл, 0,8 мл, 1 мл, 1,2 мл, 1,5 мл, 1,7 мл, 2 мл или 2,5 мл, или примерно 0,5 мл, примерно 0,8 мл, примерно 1

мл, примерно 1,2 мл, примерно 1,5 мл, примерно 1,7 мл, примерно 2 мл или примерно 2,5 мл. Соответственно, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения вводимый объем составляет 0,5 мл или примерно 0,5 мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводимый объем составляет 0,8 мл или примерно 0,8 мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводимый объем составляет 1 мл или примерно 1 мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводимый объем составляет 1,2 мл или примерно 1,2 мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводимый объем составляет 1,5 мл или примерно 1,5 мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводимый объем составляет 1,7 мл или примерно 1,7 мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводимый объем составляет 2 мл или примерно 2 мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводимый объем составляет 2,5 мл или примерно 2,5 мл.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения ритуксимаб входит в состав фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемые эксципиенты для введения (например, внутривенного введения) в соответствии с местными стандартами медицинской помощи, например, как указано в местных руководствах или прилагаемых этикетках продуктов. Например, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ритуксимаб предоставляют в виде стерильного, прозрачного, бесцветного, не содержащего консервантов жидкого концентрата для внутривенного введения. В одном варианте осуществления настоящего изобретения ритуксимаб поставляют в концентрации 10 мг/мл либо в одноразовых флаконах по 100 мг/10 мл, либо по 500 мг/50 мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ритуксимаб входит в состав полисорбата 80 (0,7 мг/мл), дигидрата цитрата натрия (7,35 мг/мл), хлорида натрия (9 мг/мл) и воды при pH 6,5 для инъекций.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения бендамустин разрабатывают в составе фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемые эксципиенты, подходящие для введения (например, внутривенного введения), например, в соответствии с местными стандартами медицинской помощи, например, как указано в местных руководствах или прилагаемых этикетках к продуктам. В некоторых вариантах

осуществления настоящего изобретения бендамустин находится в форме гидрохлорида бендамустина.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения бендамустин (например, продукт Treanda®) выпускают в виде лиофилизированного порошка для восстановления. В одном варианте осуществления настоящего изобретения бендамустин поставляется в виде одноразового флакона, содержащего 100 мг бендамустина HCl в виде лиофилизированного порошка. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лиофилизированный порошок восстанавливают водой. В некоторых других вариантах осуществления настоящего изобретения восстановленный лиофилизированный порошок готовят на основе 0,9% хлорида натрия или 2,5% декстрозы и 0,45% хлорида натрия.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения бендамустин представлен в виде раствора. В одном варианте осуществления настоящего изобретения бендамустин предусматривают в концентрации 100 мг/4 мл (25 мг/мл) во флаконе с несколькими дозами. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения бендамустин содержится в 0,9% растворе хлорида натрия. В некоторых вариантах осуществления бендамустин готовят в виде 2,5% декстрозы и 4,5% хлорида натрия. В другом варианте осуществления бендамустин готовят в виде 5% декстрозы.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело, применяемое в способах по настоящему изобретению, содержит:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) и вариабельную область легкой цепи (VL), где VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VH SEQ ID NO: 6, и VL-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VL-области SEQ ID NO: 7; и

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит VH-область и VL-область, где VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VH-области SEQ ID NO: 13, и VL-

область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VL-области SEQ ID NO: 14.

Области CDR1, CDR2 и CDR3 могут быть идентифицированы из вариабельных областей тяжелой и легкой цепи с использованием методов, известных в данной области. Области CDR из указанных вариабельных областей тяжелой и легкой цепи могут быть аннотированы в соответствии с IMGT (см. Lefranc с соавт., *Nucleic Acids Research* 1999;27:209-212] и Brochet. *Nucl Acids Res* 2008;36:W503-508).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антиген-связывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит аминокислотные последовательности VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, указанные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и аминокислотные последовательности VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, указанные в SEQ ID NO: 4, последовательности GTN и SEQ ID NO: 5, соответственно; и

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антиген-связывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 8, 9 и 10, соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, указанные в SEQ ID NO: 11, последовательности DAS и SEQ ID NO: 12, соответственно.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело является антителом полной длины и может иметь инертную область Fc. В некоторых вариантах осуществления настоящего

изобретения первое связывающее плечо для CD3 происходит от гуманизированного антитела, например, антитела полной длины IgG1,λ (лямбда), такого как H1L1, описанного в WO2015001085, которое включено в настоящее изобретение посредством ссылки, и/или второе связывающее плечо для CD20 производное от антитела человека, например, от антитела полной длины IgG1,κ (каппа), такого как клон 7D8, описанный в WO2004035607, который включен в настоящее изобретение в качестве ссылки. Биспецифическое антитело может быть получено из двух половинок молекул антител. Каждая из двух половинок молекул антител (полуантител), содержащих, например, соответствующие первое и второе связывающие плечи, представлены в SEQ ID NO: 24 и 25 и SEQ ID NO: 26 и 27. Полуантитела могут быть получены в клетках CHO и биспецифические антитела образуются, например, путем замены плеча Fab. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело представляет собой функциональный вариант Duobody CD3xCD20.

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело включает:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 6, или VH-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, заменами аминокислот), и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 7, или VL-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, заменами аминокислот); и

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO : 13, или VH-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, замены аминокислот), и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%,

95%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 14, или VL-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, заменами аминокислот).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25; и

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 24, или тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, заменами аминокислот), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 25, или область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, заменами аминокислот); и

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO : 26, или тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, заменами аминокислот), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 27, или область легкой цепи,

содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, заменами аминокислот).

В биспецифическом антителе могут быть использованы различные константные области или их варианты. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антитело содержит константную область IgG, такую как константная область IgG1 человека, например, константная область IgG1 человека, как определено в SEQ ID NO: 15, или любой другой подходящий аллотип IgG1. В одном варианте осуществления настоящего изобретения первое связывающее плечо биспецифического антитела получено из гуманизированного антитела, например, из полноразмерного антитела IgG1,λ (лямбда), и, таким образом, содержит константную область легкой цепи λ. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения первое связывающее плечо содержит константную область легкой цепи λ, как определено в SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения второе связывающее плечо биспецифического антитела получено из антитела человека, предпочтительно из полноразмерного антитела IgG1,κ (каппа), и, таким образом, может содержать константную область легкой цепи κ. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения второе связывающее плечо содержит константную область легкой цепи κ, как определено в SEQ ID NO: 23.

Известно, что часть константной области биспецифического антитела может содержать модификации, которые обеспечивают эффективное образование/продукцию биспецифических антител и/или обеспечивают инертную Fc-область. Такие модификации хорошо известны в данной области техники.

Различные форматы биспецифических антител известны в данной области (обзор Kontermann, *Drug Discov Today* 2015;20:838-847; *MAbs*, 2012;4:182-197). Таким образом, биспецифическое антитело, используемое в способах и применениях, описанных в настоящем изобретении, не ограничиваются каким-либо конкретным биспецифическим форматом или способом его получения. Например, биспецифические антитела могут включать, но не ограничиваться ими, биспецифические антитела с комплементарными доменами CH3 для усиления гетеродимеризации, молекулы выступ-во-впадину (фирма Genentech, WO9850431), CrossMAb (фирма Roche, WO2011117329) или электростатически

соединенные молекулы (фирма Amgen, EP1870459 и WO2009089004; фирма Chugai, US201000155133; фирма Oncomed, WO2010129304).

Предпочтительно биспецифическое антитело содержит область Fc, включающую первую тяжелую цепь с первой последовательностью Fc, включающую первую область CH3, и вторую тяжелую цепь со второй последовательностью Fc, включающую вторую область CH3, причем последовательности первой и второй областей CH3 различаются и являются такими, что гетеродимерное взаимодействие между указанными первой и второй областями CH3 сильнее, чем каждое из гомодимерных взаимодействий указанных первой и второй областей CH3. Более подробная информация об этих взаимодействиях и о том, как их можно достичь, представлена, например, в WO 2011131746 и WO 2013060867 (фирма Genmab), которые включены в настоящее описание в качестве ссылки. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит в первой тяжелой цепи (i) аминокислоту L в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, и содержит во второй тяжелой цепи аминокислоту R в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, или наоборот.

Биспецифические антитела могут содержать модификации в области Fc, чтобы сделать область Fc инертной или неактивирующей. Таким образом, в описанных в настоящем изобретении биспецифических антителах одна или обе тяжелые цепи могут быть модифицированы таким образом, что антитело индуцирует Fc-опосредованную эффекторную функцию в меньшей степени по сравнению с биспецифическим антителом, которое не имеет модификации. Fc-опосредованную эффекторную функцию можно измерить путем определения Fc-опосредованной экспрессии CD69 на Т-клетках (т.е. экспрессии CD69 в результате перекрестного связывания CD3, опосредованного антителами к CD3 и зависимого от рецептора Fcγ), путем связывания с рецепторами Fcγ, путем связывания с C1q, или путем индукции Fc-опосредованного перекрестного связывания FcγR. В частности, последовательность константной области тяжелой цепи может быть модифицирована таким образом, чтобы Fc-опосредованная экспрессия CD69 снижалась по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 99% или на 100% по сравнению с

антителом дикого типа (не модифицированным), в котором указанная Fc-опосредованная экспрессия CD69 определяется в функциональном анализе на основе мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК), например, как описано в примере 3 в WO 2015001085. Модификации последовательностей константных областей тяжелой и легкой цепей также могут приводить к уменьшению связывания C1q с указанным антителом. По сравнению с не модифицированным антителом снижение может составлять не менее 70%, не менее 80%, не менее 90%, не менее 95%, не менее 97% или 100%, и связывание C1q можно определить, например, методом ELISA. Кроме того, область Fc, которая может быть модифицирована таким образом, чтобы антитело опосредовало снижение Fc-опосредованной пролиферации Т-клеток по сравнению с не модифицированным антителом по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 99% или на 100%, когда указанную Т-клеточную пролиферацию измеряют в функциональном анализе на основе МКПК. Примеры положений аминокислот, которые могут быть модифицированы, например, в антителе изотипа IgG1, включают положения L234 и L235. Таким образом, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело может содержать первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, а также как в первой тяжелой цепи, так и во второй тяжелой цепи аминокислотные остатки в положениях, соответствующих положениям L234 и L235 в тяжелой цепи IgG1 человека в соответствии с нумерацией EC, являются F и E, соответственно. Кроме того, аминокислотная замена D265A может снижать связывание со всеми рецепторами Fcγ и предотвращать ADCC (Shields с соавт., JBC 2001; 276:6591-6604). Таким образом, биспецифическое антитело может содержать первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, при этом как в первой тяжелой цепи, так и во второй тяжелой цепи аминокислотный остаток в положении, соответствующем положению D265 в тяжелой цепи IgG1 человека согласно нумерация EC, представлен A.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения в первой тяжелой цепи и второй тяжелой цепи биспецифического антитела аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в тяжелой цепи IgG1 человека, представляют собой F, E и A, соответственно. Антитело,

имеющее эти аминокислоты в указанных положениях, является примером антитела, имеющего инертную Fc-область или неактивирующую Fc-область.

Что касается биспецифических антител, описанных в настоящем изобретении, тех, которые имеют комбинацию трех аминокислотных замен L234F, L235E и D265A и, кроме того, мутацию K409R или F405L, как описано выше, могут обозначаться с суффиксом «FEAR» или « FEAL», соответственно.

Аминокислотная последовательность константной области тяжелой цепи IgG1 дикого типа может быть идентифицирована в настоящем изобретении как SEQ ID NO: 15. В соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения, описанными выше, биспецифическое антитело может содержать константную область тяжелой цепи IgG1, несущую замену F405L, и может иметь аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17, и/или константную область тяжелой цепи IgG1, содержащую замену K409R, и может иметь аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 18, и дополнительные замены, которые делают область Fc инертной или неактивной. Следовательно, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит комбинацию константных областей тяжелой цепи IgG1 с аминокислотной последовательностью одной из константных областей тяжелой цепи IgG1, несущей замены L234F, L235E, D265A и F405L (например, как указано в SEQ ID NO: 19), и аминокислотной последовательности другой константной области тяжелой цепи IgG1, несущей замены L234F, L235E, D265A и K409R (например, как указано в SEQ ID NO: 20).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело, используемое в способах и применениях, описанных в настоящем изобретении, содержит первое связывающее плечо, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, как представлено в SEQ ID NO: 24 и 25, соответственно, и второе связывающее плечо, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, как представлено в SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно. Такое антитело упоминается в настоящем изобретении как DuoBody CD3xCD20. Кроме того, предполагается использование вариантов таких антител в способах и применениях, описанных в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическим антителом является эпкоритамаб (CAS 2134641-34-0) или его биоаналог.

Наборы

Также в настоящем изобретении предусматривают наборы, которые включают фармацевтическую композицию, содержащую биспецифическое антитело, которое связывается с CD3 и CD20 в соответствии с изобретением, такое как DuoBody CD3xCD20 или эпкоритамаб, и фармацевтически приемлемый носитель в терапевтически эффективном количестве, адаптированном для применения в методах, описанные в настоящем изобретении. Наборы могут также включать фармацевтическую композицию, содержащую ритуксимаб (например, для внутривенного введения) и/или бендамустин (например, для внутривенного введения в виде раствора или лиофилизированного порошка). Наборы необязательно также могут включать инструкции, например, содержащие схемы введения, позволяющие практикующему врачу (например, врачу, медсестре или пациенту) вводить композицию или содержащиеся в ней композиции пациенту с фолликулярной лимфомой. В комплект также может входить шприц или шприцы.

Необязательно, наборы включают несколько упаковок однодозовых фармацевтических композиций, каждая из которых содержит эффективное количество биспецифического антитела для однократного введения в соответствии с описанными в настоящем изобретении способами. Они также могут включать несколько упаковок фармацевтических композиций в разовой дозой, содержащих дозу ритуксимаба и/или бендамустина, в соответствии со стандартной схемой лечения. Инструменты или устройства, необходимые для введения фармацевтической композиции (композиций), также могут быть включены в наборы.

Другие варианты осуществления настоящего изобретения

1. Биспецифическое антитело, включающее:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) и вариабельную область легкой цепи (VL), где VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VH-области SEQ ID NO: 6, и VL-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VL-области SEQ ID NO: 7; и

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит VH-область и VL-область, где VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VH-области SEQ ID NO: 13, и VL-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VL-области SEQ ID NO: 14,

для применения в лечении фолликулярной лимфомы (ФЛ) у субъекта-человека, где лечение включает введение биспецифического антитела и эффективного количества ретуксимаба и бендасмутина субъекту-человеку, где биспецифическое антитело вводят в дозе 24 мг или 48 мг, и где ритуксимаб, бендамустин и биспецифическое антитело вводят 28-дневными циклами.

2. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 1, причем биспецифическое антитело вводят в дозе 24 мг.

3. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 1, причем биспецифическое антитело вводят в дозе 48 мг.

4. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-3, причем биспецифическое антитело вводят один раз каждую неделю (еженедельное введение).

5. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 4, причем еженедельное введение 24 мг или 48 мг осуществляют в течение дух с половиной 28-дневных циклов.

6. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 4 или 5, причем после еженедельного введения биспецифическое антитело вводят один раз в две недели (введение раз в две недели).

7. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 6, причем введение раз в две недели осуществляют в течение шести 28-дневных циклов.

8. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 6 или 7, причем после введения раз в две недели биспецифическое антитело вводят один раз каждые четыре недели.

9. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 8, в котором введение осуществляют один раз каждые четыре недели в течение до двух лет общей продолжительности лечения

биспецифическим антителом с момента начала применения ритуксимаба и бендамустина.

10. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 4-9, причем перед еженедельным введением 24 мг или 48 мг начальную дозу биспецифического антитела вводят в первом цикле 28-дневных циклов.

11. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 10, причем начальную дозу вводят за две недели до введения первой еженедельной дозы 24 мг или 48 мг.

12. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 10 или 11, причем начальная доза составляет 0,16 мг.

13. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 10-12, причем после введения начальной дозы и до введения первой недельной дозы 24 мг или 48 мг вводят промежуточную дозу биспецифического антитела.

14. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 13, причем начальную дозу вводят в 1-й день и промежуточную дозу вводят в 8-й день до первой недельной дозы 24 мг или 48 мг в 15-й и 22-й дни первого цикла.

15. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 13 или 14, причем промежуточная доза составляет 0,8 мг.

16. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-15, причем ритуксимаб вводят один раз каждые четыре недели.

17. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 16, причем ритуксимаб вводят один раз каждые четыре недели в течение шести 28-дневных циклов.

18. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-17, причем ритуксимаб вводят в дозе 375 мг/м^2.

19. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-18, причем бендамустин вводят один раз в день с 1-го по 2-й день 28-дневных циклов.

20. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-19, причем бендамустин вводят один раз в день с 1-го по 2-й день в течение шести 28-дневных циклов.

21. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-20, причем бендамустин вводят в дозе 90 мг/м^2.

22. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-21, причем ритуксимаб, бендамустин и биспецифическое антитело вводят в один и тот же день (например, в 1-е дни в циклах с 1-го по 6-й).

23. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-22, причем схема дозирования биспецифического антитела, ритуксимаба и бендамустина показана в табл. 2.

24. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1, 2 и 4-23, в которых введение осуществляют 28-дневными циклами и где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 24 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 24 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 24 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах дозу 24 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й; и

(в) бендамустин вводят в 1-й и 2-й дни в циклах с 1-го по 6-й.

25. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1 и 3-24, причем введение осуществляют 28-дневными циклами, где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 48 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 48 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах дозу 48 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й; и

(в) бендамустин вводят в 1-й и 2-й дни в циклах с 1-го по 6-й.

26. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-25, причем биспецифическое антитело вводят подкожно.

27. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-26, причем ритуксимаб вводят внутривенно.

28. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-27, причем бендамустин вводят внутривенно.

29. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-28, причем биспецифическое антитело, ритуксимаб и бендамустин вводят последовательно.

30. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-29, причем

(а) ритуксимаб вводят перед введением биспецифического антитела, если ритуксимаб и биспецифическое антитело вводят в один день (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й);

(б) бендамустин вводят перед биспецифическим антителом, если бендамустин и биспецифическое антитело вводят в один день (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й);

(в) ритуксимаб вводят до бендамустина, если ритуксимаб и бендамустин вводят в один день (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й); или

(г) ритуксимаб вводят первым, бендамустин вводят вторым, а биспецифическое антитело вводят последним, если ритуксимаб, бендамустин и биспецифическое антитело вводят в один день (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й).

31. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-30, причем фолликулярная лимфома представляет собой ранее нелеченую фолликулярную лимфому.

32. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 31, причем у субъекта имеется нелеченая фолликулярная лимфома степени 1-й, 2-й или 3а.

33. Биспецифическое антитело по вариантам осуществления настоящего изобретения 31 или 32, причем у субъекта имеется нелеченая фолликулярная лимфома стадии II, III или IV.

34. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-33, причем субъект получает профилактику синдрома выброса цитокинов (СВЦ).

35. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 34, причем профилактика включает введение субъекту кортикостероида.

36. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 35, причем кортикостероид вводят в тот же день, что и биспецифическое антитело.

37. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 36, причем кортикостероид дополнительно вводят на второй, третий и четвертый дни после введения биспецифического антитела.

38. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 35-37, причем кортикостероид представляет собой преднизолон.

39. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 38, причем преднизолон вводят внутривенно в дозе 100 мг или в эквивалентной дозе, включая пероральную дозу.

40. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-39, причем субъекту проводят премедикацию для уменьшения реакций на инъекции.

41. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 40, причем премедикация включает антигистаминный препарат.

42. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 41, причем антигистаминным средством является дифенгидрамин.

43. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 42, причем дифенгидрамин вводят внутривенно или перорально в дозе 50 мг или в эквивалентной дозе.

44. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 40-43, причем премедикация включает жаропонижающее средство.

45. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 44, причем жаропонижающим средством является ацетаминофен.

46. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 45, причем ацетаминофен вводят перорально в дозе от 650 мг до 1000 мг или в эквивалентной дозе.

47. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 40-46, причем премедикацию проводят в тот же день, что и биспецифическое антитело.

48. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 34-47, причем профилактику проводят в 1-м цикле из 28-дневных циклов.

49. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 40-48, причем премедикацию проводят в 1-м цикле из 28-дневных циклов.

50. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 34-49, причем профилактику проводят во время 2-го цикла 28-дневных циклов, когда у субъекта наблюдают СВЦ выше 1-й степени после последнего введения биспецифического антитела в 1-м цикле 28-дневных циклов.

51. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 50, причем профилактику продолжают в последующем цикле, и при последнем введении биспецифического антитела из предыдущего цикла у субъекта наблюдают СВЦ больше степени 1.

52. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 40-51, причем премедикацию проводят во время 2-го цикла из 28-дневных циклов.

53. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 52, причем премедикацию проводят во время последующих циклов.

54. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-53, причем субъекту вводят антибиотики, если у субъекта развивается СВЦ 1-й степени.

55. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-53, причем субъекту вводят вазопрессор если у субъекта развивается СВЦ 2-й или 3-й степени.

56. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-53, в которых субъекту вводят по меньшей мере два вазопрессора, если у субъекта развивается СВЦ 4-й степени.

57. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-56, в котором субъекту вводят тоцилизумаб, если у субъекта развивается СВЦ 2-й, 3-й или 4-й степени.

58. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 57, в котором субъекту дополнительно вводят стероид.

59. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 58, в котором стероидом является дексаметазон.

60. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 58, в котором стероидом является метилпреднизолон.

61. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 57-60, причем тоцилизумаб заменяют на анти-IL-6 антитело (например, силтуксимаб), если субъект невосприимчив к тоцилизумабу.

62. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 57-60, причем тоцилизумаб заменяют на антагониста IL-1R (например, анакинра), если субъект невосприимчив к тоцилизумабу.

63. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-62, в котором проводят профилактику синдрома лизиса опухоли (СЛО) у субъекта.

64. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 63, в котором профилактика СЛО включает введение одного или нескольких агентов, снижающих уровень мочевой кислоты, перед введением биспецифического антитела.

65. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 64, в котором один или несколько агентов, снижающих уровень мочевой кислоты, включают расбуриказу и/или аллопуринол.

66. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-65, в котором субъект достигает полного ответа, частичного ответа или стабилизации заболевания.

67. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-66, причем:

(i) первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, включающие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 4, последовательности GTN и SEQ ID NO: 5, соответственно; и

(ii) вторая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, включающие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 8, 9 и 10, соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, последовательности DAS и SEQ ID NO: 12, соответственно.

68. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-67, в котором:

(i) первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и

(ii) вторая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13 и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

69. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-68, причем первое связывающее плечо биспецифического антитела происходит от гуманизированного антитела, предпочтительно антитела полной длины IgG1, λ (лямбда).

70. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 69, причем первое связывающее плечо биспецифического антитела содержит константную область легкой цепи λ, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 22.

71. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-70, причем второе связывающее плечо биспецифического антитела происходит от антитела человека, предпочтительно антитела полной длины IgG1,κ (каппа).

72. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 71, в котором второе связывающее плечо содержит константную область легкой цепи к, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 23.

73. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-72, причем биспецифическое антитело представляет собой антитело полной длины с константной областью IgG1 человека.

74. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-73, причем биспецифическое антитело содержит инертную область Fc.

75. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-74, причем биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, и как в первой, так и во второй тяжелых цепях аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, являются F, E и A, соответственно.

76. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-75, причем биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, и в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, является L, и где во второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15 является R, или наоборот.

77. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-76, причем биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, где

(i) как в первой, так и во второй тяжелых цепях аминокислотами в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, являются F, E и A, соответственно, и

(ii) в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, является L, и во второй тяжелой цепи аминокислота в положении,

соответствующем K409 в константная область тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, является R, или наоборот.

78. Биспецифическое антитело по варианту осуществления настоящего изобретения 77, причем биспецифическое антитело содержит константные области тяжелой цепи, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 19 и 20.

79. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-78, причем биспецифическое антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 24 и 25, соответственно, и тяжелую цепь и легкую цепь, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно.

80. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-79, причем биспецифическое антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 24 и 25, соответственно, и тяжелую цепь и легкую цепь, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно.

81. Биспецифическое антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-80, где биспецифическое антитело является эпкоритамабом или его биоаналогом.

1a. Способ лечения фолликулярной лимфомы (ФЛ) у субъекта-человека, включающий введение субъекту биспецифического антитела и эффективного количества ритуксимаба и бендамустина, причем биспецифическое антитело включает:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) и вариабельную область легкой цепи (VL), где VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VH-области SEQ ID NO: 6, и VL-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности области VL SEQ ID NO: 7; и

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит VH-область и VL-

область, где VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VH-области SEQ ID NO: 13, и VL-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VL-области SEQ ID NO: 14;

где биспецифическое антитело вводят в дозе 24 мг или 48 мг и где ритуксимаб, бендамустин и биспецифическое антитело вводят 28-дневными циклами.

2a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 1a, в котором биспецифическое антитело вводят в дозе 24 мг.

3a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 1a, в котором биспецифическое антитело вводят в дозе 48 мг.

4a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-3a, в котором биспецифическое антитело вводят один раз каждую неделю (еженедельное введение).

5a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 4a, в котором еженедельное введение 24 мг или 48 мг осуществляют в течение 2,5 циклов из 28-дневных циклов.

6a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 4a или 5a, в котором после еженедельного введения биспецифическое антитело вводят один раз каждые две недели (введение раз в две недели).

7a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 6a, в котором введение раз в две недели осуществляют на протяжении шести 28-дневных циклов.

8a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 6a или 7a, в котором после введения раз в две недели биспецифическое антитело вводят один раз каждые четыре недели.

9a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 8a, в котором введение осуществляют один раз каждые четыре недели в течение до двух лет общей продолжительности лечения биспецифическим антителом с начала применения ритуксимаба и бендамустина.

10a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 4a-9a, в котором перед еженедельным введением 24 мг или 48 мг, начальную дозу биспецифического антитела вводят в 1-м цикле 28-дневных циклов.

11a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 10a, в котором начальную дозу вводят за две недели до введения первой еженедельной дозы 24 мг или 48 мг.

12a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 10a или 11a, в котором начальная доза составляет 0,16 мг.

13a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 10a-12a, в котором после введения начальной дозы и перед введением первой еженедельной дозы 24 мг или 48 мг вводят промежуточную дозу биспецифического антитела.

14a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 13a, в котором начальную дозу вводят в 1-й день и промежуточную дозу вводят в 8-й день перед первой еженедельной дозой 24 мг или 48 мг в 15-й и 22-й дни первого цикла.

15a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 13a или 14a, в котором промежуточная доза составляет 0,8 мг.

16a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-15a, в котором ритуксимаб вводят один раз каждые две недели.

17a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 16a, в котором введение ритуксимаба осуществляют раз в четыре недели на протяжении шести 28-дневных циклов.

18a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-17a, в котором ритуксимаб вводят в дозе 375 мг/м^2.

19a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-18a, в котором бендамустин вводят один раз в день с 1-го по 2-й день 28-дневных циклов.

20a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-19a, в котором бендамустин вводят один раз в день с 1-го по 2-й день в течение шести 28-дневных циклов.

21a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-20a, в котором бендамустин вводят в дозе 90 мг/м^2.

22a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-21a, в котором ритуксимаб, бендамустин и биспецифическое антитело вводят в один и тот же день (например, в 1-е дни в циклах с 1-го по 6-й).

23a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-22a, в котором схема дозирования биспецифического антитела, ритуксимаба и бендамустина показана в табл. 2.

24a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a, 2a и 4a-23a, в котором введение осуществляют 28-дневными циклами и где:

(a) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 24 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 24 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 24 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах дозу 24 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й; и

(в) бендамустин вводят в 1-й и 2-й дни в циклах с 1-го по 6-й.

25a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1 и 3a-24a, в котором введение осуществляют 28-дневными циклами, где:

(a) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й дни;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 48 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й дни;

(iii) в циклах с 4-го по 9-й дозу 48 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и последующих циклах дозу 48 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й; и

(в) бендамустин вводят в 1-й и 2-й дни в циклах с 1-го по 6-й.

26a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-25a, в котором биспецифическое антитело вводят подкожно.

27a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-27a, в котором ритуксимаб вводят внутривенно.

28a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-27a, в котором бендамустин вводят внутривенно.

29a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-28a, в котором биспецифическое антитело, ритуксимаб и бендамустин вводят последовательно.

30a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-29a, в котором:

(а) ритуксимаб вводят перед введением биспецифического антитела, если ритуксимаб и биспецифическое антитело вводят в один день (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й);

(б) бендамустин вводят перед биспецифическим антителом, если бендамустин и биспецифическое антитело вводят в один день (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й);

(в) ритуксимаб вводят до бендамустина, если ритуксимаб и бендамустин вводят в один день (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й); или

(г) ритуксимаб вводят первым, бендамустин вводят вторым и биспецифическое антитело вводят последним, если ритуксимаб, бендамустин и биспецифическое антитело вводят в один день (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й).

31a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-30, в котором фолликулярная лимфома представляет собой ранее нелеченую фолликулярную лимфому.

32a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 31a, в котором у субъекта имеется нелеченая фолликулярная лимфома степени 1-й, 2-й или 3a.

33a. Способ по вариантам осуществления настоящего изобретения 31a или 32a, в котором у субъекта имеется нелеченая фолликулярная лимфома стадии II, III или IV.

34a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-33a, в котором субъекту проводят профилактику синдрома выброса цитокинов (СВЦ).

35a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 34a, в котором профилактика включает введение субъекту кортикостероида.

36a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 35a, в котором кортикостероид вводят в тот же день, что и биспецифическое антитело.

37a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 36a, в котором кортикостероид дополнительно вводят на второй, третий и четвертый дни после введения биспецифического антитела.

38a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 35a-37a, в котором кортикостероид представляет собой преднизолон.

39a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 38a, в котором преднизолон вводят внутривенно в дозе 100 мг или в эквивалентной дозе, включая пероральную дозу.

40a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-39a, в котором субъекту проводят премедикацию для уменьшения реакций на инъекции.

41a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 40a, в котором премедикация включает антигистаминный препарат.

42a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 41a, в котором антигистаминным средством является дифенгидрамин.

43a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 42a, в котором дифенгидрамин вводят внутривенно или перорально в дозе 50 мг или в эквивалентной дозе.

44a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 40a-43a, в котором премедикация включает жаропонижающее средство.

45a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 44a, в котором жаропонижающим средством является ацетаминофен.

46a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 45a, в котором ацетаминофен вводят перорально в дозе от 650 мг до 1000 мг или в эквивалентной дозе.

47a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 40a-46a, в котором премедикацию проводят в тот же день, что и биспецифическое антитело.

48a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 34a-47a, в котором профилактику проводят в 1-м цикле из 28-дневных циклов.

49a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 40a-48a, в котором премедикацию проводят в 1-м цикле из 28-дневных циклов.

50a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 34a-49a, в котором профилактику проводят во время 2-го цикла 28-дневных циклов, когда у субъекта наблюдают СВЦ выше 1-й степени после последнего введения биспецифического антитела в 1-м цикле 28-дневных циклов.

51a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 50a, в котором профилактику продолжают в последующем цикле, и при последнем введении биспецифического антитела из предыдущего цикла у субъекта наблюдают СВЦ больше степени 1.

52a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 40a-51a, в котором премедикацию проводят во время 2-го цикла из 28-дневных циклов.

53a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 52a, в котором премедикацию проводят во время последующих циклов.

54a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-53a, в котором субъекту вводят антибиотики, если у субъекта развивается СВЦ 1-й степени.

55a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-53a, в котором субъекту вводят вазопрессор, если у субъекта развивается СВЦ 2-й или 3-й степени.

56a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-53a, в которых субъекту вводят по меньшей мере два вазопрессора, если у субъекта развивается СВЦ 4-й степени.

57a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-56a, в котором субъекту вводят тоцилизумаб, если у субъекта развивается СВЦ 2-й, 3-й или 4-й степени.

58a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 57a, в котором субъекту дополнительно вводят стероид.

59a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 58a, в котором стероидом является дексаметазон.

60a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 58a, в котором стероидом является метилпреднизолон.

61a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 57a-60a, причем тоцилизумаб заменяют на анти-IL-6 антитело (например, силтуксимаб), если субъект невосприимчив к тоцилизумабу.

62a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 57a-60a, причем тоцилизумаб заменяют на антагониста IL-1R (например, анакинра), если субъект невосприимчив к тоцилизумабу.

63a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-62a, в котором проводят профилактику у субъекта синдрома лизиса опухоли (СЛО).

64a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 63a, в котором профилактика СЛО включает введение одного или нескольких агентов, снижающих уровень мочевой кислоты, перед введением биспецифического антитела.

65a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 64a, в котором один или несколько агентов, снижающих уровень мочевой кислоты, включают расбуриказу и/или аллопуринол.

66a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-65a, в котором субъект достигает полного ответа, частичного ответа или стабилизации заболевания.

67a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-66a, в котором:

(i) первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, включающие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 4, последовательности GTN и SEQ ID NO: 5, соответственно; и

(ii) вторая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, включающие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 8, 9 и 10, соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные

последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, последовательности DAS и SEQ ID NO: 12, соответственно.

68a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-67a, в котором:

(i) первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и

(ii) вторая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13 и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

69a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1-68, в котором первое связывающее плечо биспецифического антитела происходит от гуманизированного антитела, предпочтительно антитела полной длины IgG1, λ (лямбда).

70a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 69, в котором первое связывающее плечо биспецифического антитела содержит константную область легкой цепи λ, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 22.

71a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-70a, в котором второе связывающее плечо биспецифического антитела происходит от антитела человека, предпочтительно антитела полной длины IgG1,κ (каппа).

72a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 71a, в котором второе связывающее плечо содержит константную область легкой цепи κ, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 23.

73a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-72a, в котором биспецифическое антитело представляет собой антитело полной длины с константной областью IgG1 человека.

74a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-73a, в котором биспецифическое антитело содержит инертную область Fc.

75a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-74a, в котором биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, и как в первой, так и во второй тяжелых цепях аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляют собой F, E и A, соответственно.

76a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-75a, в котором биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, и в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, является L, и где во второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15 является R, или наоборот.

77a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-76a, в котором биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, где

(i) как в первой, так и во второй тяжелых цепях аминокислотами в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, являются F, E и A, соответственно, и

(ii) в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, является L, и во второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в константная область тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, является R, или наоборот.

78a. Способ по варианту осуществления настоящего изобретения 77a, в котором биспецифическое антитело содержит константные области тяжелой цепи, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 19 и 20.

79a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-78a, в котором биспецифическое антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 24 и 25, соответственно, и тяжелую цепь и легкую цепь, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно.

80a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-79a, в котором биспецифическое антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 24 и 25, соответственно, и тяжелую цепь и легкую цепь, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно.

81a. Способ по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения 1a-80a, где биспецифическое антитело является эпкоритамабом или его биоаналогом.

Настоящее изобретение дополнительно проиллюстрировано приводимыми ниже примерами, которые не следует рассматривать как варианты, ограничивающие область его охвата. Сущность всех фигур и ссылок, последовательностей Genbank, журнальных публикаций, патентов и опубликованных патентных заявок, цитируемых в настоящем описании, прямо включена в него в виде ссылок.

ПРИМЕРЫ

DuoBody-CD3xCD20

DuoBody-CD3xCD20 представляет собой биспецифическое антитело (bsAb), распознающее Т-клеточный антиген CD3 и В-клеточный антиген CD20. DuoBody-CD3xCD20 запускает мощное опосредованное Т-клетками уничтожение клеток, экспрессирующих CD20. DuoBody-CD3xCD20 имеет обычную структуру IgG1.

Два родительских антитела, IgG1-CD3-FEAL, гуманизированное IgG1λ, CD3ε-специфическое антитело, имеющее последовательности тяжелой и легкой цепей, указанные в SEQ ID NO: 24 и 25, соответственно, и IgG1-CD20-FEAR, полученное из человеческого IgG1κ CD20- специфического антитела 7D8, имеющее последовательности тяжелой и легкой цепей, указанные в SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно, получают как отдельные биологические промежуточные продукты. Каждое родительское антитело содержит одну из комплементарных мутаций в домене CH3, необходимых для образования молекул DuoBody (F405L и K409R, соответственно). Родительские антитела содержат три дополнительные мутации в области Fc (L234F, L235E и D265A; FEA). Родительские антитела получены в клеточных линиях млекопитающих, а именно яичника китайского хомячка (CHO), с использованием стандартных технологий культивирования и очистки суспензионных клеток. Впоследствии

DuoBody-CD3xCD20 получают с помощью процесса контролируемого обмена Fab-ARM (cFAE) (Labrijn с соавт. 2013, Labrijn с соавт. 2014, Gramer с соавт. 2013). Исходные антитела смешивают и помещают в контролируемые восстанавливающие условия. Это приводит к разделению родительских антител, которые при повторном окислении вновь собираются. Таким образом получены высокочистые препараты DuoBody-CD3xCD20 (~93-95%). После дополнительной полировки/очистки получен конечный продукт с чистотой близкой к 100%. Концентрацию DuoBody-CD3xCD20 измеряли по поглощению при 280 нм с использованием теоретического коэффициента экстинкции ε = 1,597 мл·мг$^{-1}$см$^{-1}$. Конечный продукт хранят при 4°C. Продукт имеет международное патентованное название эпкоритамаб.

Эпкоритамаб готовят (5 мг/мл или 60 мг/мл) в виде стерильного прозрачного раствора от бесцветного до слегка желтого цвета, поставляемого в виде концентрата для приготовления раствора для подкожной (п/к) инъекции. Эпкоритамаб содержит буферные и тонизирующие вещества. Все эксципиенты и их количества в готовом продукте являются фармацевтически приемлемыми в качестве продуктов для подкожных инъекций. Соответствующие дозы разводят до объема около 1 мл для подкожной инъекции.

Пример 1. Противоопухолевая активность эпкоритамаба в присутствии анти-CD20-антитела *in vivo* и в образцах, полученных от пациентов с неходжкинской лимфомой (НХЛ), после лечения анти-CD20

Влияние анти-CD20-антитела на противоопухолевую активность эпкоритамаба в модели ксенотрансплантата гуманизированной мыши ранее было описано в публикации Engelberts с соавт., *EBioMedicine* 2020; 52:10265, и обобщено ниже.

Было обнаружено, что эпкоритамаб эффективно снижает рост опухоли в модели ксенотрансплантата (мыши NOD-SCID, которым вводили CD20-экспрессирующие опухолевые клетки Raji-luc и МНПК) даже в присутствии избытка варианта ритуксимаба с инертным доменом Fc (IgG1- RTX-FEAR с мутациями L234F, L235E, D265A и K409R). Ритуксимаб и IgG1-CD20, из которого получено плечо CD20 эпкоритамаба, конкурируют за связывание с CD20, даже если они связываются с другим эпитопом, что указывает на то, что эпкоритамаб способен индуцировать эффективную противоопухолевую

активность в присутствии циркулирующих анти-CD20 антител, которые могут конкурировать за связывание с мишенью.

Кроме того, эпкоритамаб индуцировал опосредованную Т-клетками цитотоксичность в биоптатах пациентов с первичной диффузной в-клеточной крупноклеточной лимфомой (ДВККЛ) и фолликулярной лимфомой, взятых через определенное время после введения анти-CD20-антитела (Van der Horst с соавт., *Blood* (2019) 134 (Supplement_1): 4066). Даже при биопсии, взятой через 2 недели после введения анти-CD20-антитела, эпкоритамаб смог вызвать гибель до 40% опухолевых клеток.

Пример 2. Влияние бендамустина на противоопухолевую активность эпкоритамаба *in vitro.*

Бендамустин, алкилирующий агент, который вызывает внутри- и межцепочечные поперечные связи между основаниями ДНК, одобрен для лечения хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) и индолентной В-НХЛ. Этот эксперимент был проведен, чтобы определить, влияет ли бендамустин на противоопухолевую активность эпкоритамаба, с использованием анализов активации Т-клеток и цитотоксичности *in vitro*.

Вкратце, использовали клеточные линии лимфомы Беркитта человека (Raji [ATCC, кат. № CCL-86]) и DLBCL (SU-DHL-4 [Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen — DSMZ, кат. № ACC-495]) в качестве клеток-мишеней. Клетки культивируют в культуральной среде (RPMI 1640 с HEPES и L-глютамином с добавлением 10% инактивированной нагреванием донорской бычьей сыворотки с железом и 1% [об./об.] пенициллина/стрептомицина), к которой добавляют 2 мМ L-глутамина и 1 мМ пирувата натрия, при 37°C, 5% CO_2. В качестве эффекторных клеток используют Т-клетки, которые были выделены из лейкоцитарных пленок здоровых доноров путем негативной селекции с использованием коктейля для обогащения Т-клеток человека RosetteSep™ (фирма Stemcell Technologies) с последующим центрифугированием в градиенте плотности фиколла, в соответствии с инструкциями производителя. Выделенные клетки дважды промывают фосфатно-солевым буфером (ФСБ) и подсчитывают с использованием раствора для окрашивания жизнеспособных клеток акридинового оранжевого/пропидия йодида (AO/PI) (фирма Nexcelom Bioscience) на счетчике жизнеспособности клеток Cellometer® Auto 2000. Т-клетки (100000 клеток/лунку) инкубируют с

клетками Raji или SU-DHL-4 (50000 клеток/лунку) в культуральной среде в присутствии эпкоритамаба (0,033 мкг/мл – 333 нг/мл) и бендамустина (0–20 мкМ) при 37°C, 5% CO_2 в течение 48 ч. Жизнеспособность B-клеток и активацию T-клеток измеряют с помощью жидкостной цитометрии (количество CD22-положительных клеток; экспрессия маркеров активации CD69, CD25 и CD107 [LAMP-1] на CD4+ и CD8+ T-клетках). Процент цитотоксичности рассчитывают следующим образом:

$$\text{Цитотоксичность (\%)} = 100 - ([\text{число клеток}_{\text{в образце}}/\text{число клеток}_{\text{без антитела}}] \times 100\%)$$

Как показано на фиг. 1A-1B, эпкоритамаб индуцирует зависимую от концентрации активацию CD8+ T-клеток, о чем свидетельствует усиление экспрессии маркеров активации T-клеток CD69, CD25 и LAMP-1 (лизосомально-ассоциированный мембранный белок 1) на CD8+ T-клетках (фиг. 1A-1B, соответственно, левая панель: в присутствии клеток Raji, правая панель: в присутствии клеток SU-DHL-4). Сходным образом на активацию маркеров активации TR-клеток эпкоритамабом на CD4+ T-клетках бендамустин не влияет (данные не представлены). На индуцированную эпкоритамабом активацию T-клеток не влияло присутствие бендамустина во всех исследованных концентрациях. Инкубация только с бендамустином снижает количество жизнеспособных B-клеток дозозависимым образом (фиг. 1Г, начало кривых при более высоком проценте цитотоксичности при увеличении концентрации бендамустина). Индуцированная эпкоритамабом зависимая от концентрации цитотоксичность, опосредованная T-клетками, измеряемая по уменьшению количества жизнеспособных B-клеток, клеток Raji и SU-DHL-4, не зависела от присутствия бендамустина, поскольку наклоны сходны для разных концентраций (фиг. 1Г, левая панель: Raji, правая панель: SU-DHL-4). Эти данные свидетельствуют о том, что индуцированная эпкоритамабом T-клеточная цитотоксичность и активация T-клеток не зависят от присутствия бендамустина.

Пример 3. Фаза 1b, открытое исследование безопасности и эффективности эпкоритамаба в комбинации со стандартным лечением ритуксимабом и бендамустином для лечения ранее нелеченой фолликулярной лимфомы

Открытое многонациональное многоцентровое интервенционное исследование, состоящее из 2 частей (повышение дозы и расширение), проводят для оценки безопасности, переносимости, фармакокинетики, фармакодинамики/биомаркеров, иммуногенности и предварительной эффективности эпкоритамаба в сочетании со стандартной схемой лечения ритуксимабом и бендамустином (BR) у пациентов с ранее нелеченой фолликулярной лимфомой.

Основные положения текущих клинических испытаний эпкоритамаба

Эпкоритамаб в качестве монотерапии в настоящее время проходит клиническое испытание для лечения рецидивирующей/рефрактерной (P/P) B-НХЛ (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03625037). Предварительные данные свидетельствуют о том, что препарат хорошо переносится в дозах не менее 48 мг, включая 60 мг, у пациентов с P/P B- НХЛ, при этом не сообщалось о дозолимитирующей токсичности.

Задачи

Повышение дозы

Основная задача, касающаяся повышения дозы, состоит в том, чтобы оценить безопасность и переносимость эпкоритамаба в комбинации с BR (конечные точки: частота дозолимитирующей токсичности (ДЛТ), частота и тяжесть побочных явлений, частота и тяжесть изменений лабораторных значений и частота перерывов и задержек дозирования).

Вторичные задачи, касающиеся повышения дозы, включают описание фармакокинетических свойств эпкоритамаба (конечные точки: фармакокинетические параметры, включая клиренс, объем распределения, AUC0-last, AUC0-x, Cmax, Tmax, значения до введения дозы и период полужизни), оценку фармакодинамических маркеров, связанных с эффективностью и механизмом действия эпкоритамаба (конечные точки: фармакодинамические маркеры в образцах крови и в опухоли), оценку иммуногенности (конечная точка: частота анти-лекарственных антител (АЛА) к эпкоритамабу) и оценку предварительной противоопухолевой активности эпкоритамаба в комбинации с BR (конечные точки: частота объективного ответа

(ЧОО) по критериям Lugano и LYRIC, продолжительность ответа по критериям Lugano и LYRIC, время до ответа (ВДО) по критериям Lugano и LYRIC, выживаемость без прогрессирования (ВБП) по критериям Lugano и LYRIC, общая выживаемость (ОВ), время до следующей антилимфомной терапии (ВСАТ), а также частота и продолжительность отрицательной реакции на минимальную остаточную болезнь (МОБ).

Исследование, касающиеся повышения дозы, включают задачи по оценке потенциальных биомаркеров, прогнозирующих клинический ответ на эпкоритамаб (конечные точки: CD3, CD20 и другие молекулярные/фенотипические маркеры до лечения и во время лечения, статус мутации ДНК и генный профиль).

Расширение

Основной задачей расширенной части является оценка предварительной противоопухолевой активности эпкоритамаба в сочетании с BR (конечная точка: частота объективного ответа (ЧОО) по критериям Lugano).

Вторичные цели части расширения включают оценку предварительной противоопухолевой активности эпкоритамаба в комбинации с BR (конечные точки: длительность ответа (ДО) по критериям Lugano и LYRIC, ВДО по критериям Lugano и LYRIC, ВБП по критериям Lugano и LYRIC, ЧОО по критериям LYRIC, ОВ, ВСАТ, время до следующей терапии, а также частота и продолжительность отрицательного результата минимальной остаточной болезни (МОБ), дальнейшая оценка безопасности и переносимости эпкоритамаба в комбинации с BR (конечные точки: частота и тяжесть изменений лабораторных показателей и частота перерывов и задержек введения дозы), характеризующих фармакокинетические свойства эпкоритамаба (фармакокинетические параметры, включая клиренс, объем распределения, AUC0-last, AUC0-x, Cmax, Tmax, значения до введения дозы и период полужизни), оценку фармакодинамических маркеров, связанных с эффективностью и механизмом действия эпкоритамаба (конечные точки : фармакодинамические маркеры в образцах крови и внутри опухоли) и оценка иммуногенности (конечная точка: частота антител к лекарственному препарату (ADA – anti-drug antibodies) эпкоритамабу).

Исследовательские цели части расширения включают оценку потенциальных биомаркеров, предсказывающих клинический ответ на эпкоритамаб (конечные точки: экспрессия CD20 в опухолях, оценка

молекулярных и генетических опухолевых маркеров, иммунные популяции, фенотип и функции в опухолях и крови, статус мутаций ДНК и генный профиль) и оценку результатов по мнению пациентов (конечная точка: изменения симптомов лимфомы и общего состояния здоровья по оценке FACT-Lym).

Обзор схемы исследования

Испытание проводят в двух частях: увеличение дозы (часть 1) и расширение участников исследования (часть 2). Субъекты принимают участие только в одной части. Схема общего дизайна исследования показана на фиг. 2. Обе части состоят из периода скрининга, периода лечения, периода наблюдения за безопасностью и периода наблюдения за выживаемостью.

Повышение дозы (часть 1) и расширение (часть 2)

В 1-й части повышения дозы оценивают первоначальную безопасность, переносимость и клиническую активность эпкоритамаба в комбинации с BR. Эпкоритамаб первоначально вводят в комбинации с BR в группе из трех субъектов. Дозолимитирующую токсичность (ДЛТ) оценивают в течение первых 28 дней. В зависимости от количества ДЛТ, наблюдаемого у первых 3 субъектов, введение эпкоритамаба (полная доза: 48 мг или 24 мг) в сочетании с BR проводят еще у дополнительных 3 пациентов, как показано на фиг. 3.

Во 2-й части вводят эпкоритамаб (с режимом дозирования, установленным в части, касающейся повышения дозы) в комбинации с BR. Расширение может включать 20 субъектов для оценки предварительной клинической активности комбинации, в дополнение к данным по безопасности, переносимости, фармакокинетике, фармакодинамическим и иммуногенным данным.

Как в 1-й части 1, так и во 2-й части эпкоритамаб вводят в виде подкожной (п/к) инъекции (24 мг или 48 мг; ступенчатое дозирование) на срок до двух лет общей продолжительности лечения биспецифическим антителом с начала циклов ритуксимаба и бендамустина в комбинации с ритуксимабом (внутривенно) и бендамустином (внутривенно), следующим образом:

Таблица 2. Схема дозирования

Номера 28-дневных циклов	Эпкоритамаб	Ритуксимаб	Бендамустин
1	Раз в неделю, ступенчатое дозирование	Раз в четыре недели	1-й и 2-й день
2-3	Раз в неделю	Раз в четыре недели	1-й и 2-й день

Номера 28-дневных циклов	Эпкоритамаб	Ритуксимаб	Бендамустин
4-6	Раз в две недели	Раз в четыре недели	1-й и 2-й день
7-9	Раз в две недели	-	-
10+	Раз в четыре недели	-	-

Раз в неделю (в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й день); раз в две недели (в 1-й и 8-й день); раз в четыре недели (в 1-й день).

Для эпкоритамаба используют метод ступенчатого дозирования для снижения возможности возникновения СВЦ: начальная доза (0,16 мг) в 1-й день 1-го цикла, затем промежуточная доза (0,8 мг) в 1-й день 8-го цикла, полная доза (24 мг или 48 мг) на 15-й и 22-й день 1-го цикла, и полную дозу вводят в последующих циклах. Ритуксимаб (375 мг/м^2) вводят внутривенно один раз каждые четыре недели в циклах с 1-го по 6-й. Бендамустин (90 мг/м^2) вводят внутривенно раз в день в 1-й и 2-й дни циклов с 1-го по 6-й. Если бендамустин начинают вводить позже 1-го дня цикла, то запланированный 1-й день следующего цикла рассчитывают с того дня, когда бендамустин фактически начали применять, чтобы сохранить регулярный интервал цикла в 28 дней.

Порядок лечения следующий:

Таблица 3. Порядок введения лекарственных средств.

Назначенная доза	Лечение	Доза
Премедикация	Средства премедикации	Как описано в табл. 4
1	Ритуксимаб	375 мг/м^2
2	Бендамустин	90 мг/м^2
3	Эпкоритамаб	24 мг или 48 мг (как описано в табл. 2)

Критерии включения пациентов в схему лечения

1. Субъекту должно быть не менее 18 лет.

2. Оценка общего состояния ECOG составляет 0, 1 или 2.

3. CD20-положительные НХЛ при репрезентативной биопсии опухоли.

4. Поддающееся измерению заболевание, определяемое как ≥1 измеримое узловое поражение (длинная ось >1,5 см и короткая ось >1,0 см) или ≥1 измеримое экстранодальное поражение (длинная ось >1,0 см) на КТ или МРТ.

5. Приемлемую функцию органов при скрининге определяют как:

а. Абсолютное число нейтрофилов (АЧН) ≥1,0 × 10^9/л (разрешено использование фактора роста).

б. Число тромбоцитов >75 × 10^9/л, или ≥50 × 10^9/л при инфильтрации в костный мозг или спленомегалии.

в. Уровень ALT равен или менее в 2,5 раза чем ВГН.

г. Общий уровень билирубина ≤2 × ВГН.

д. eGFR >50 мл/мин (по формуле Cockcroft-Gault).

е. PT, INR и aPTT ≤ 1,5 × ВГН, если нет приема антикоагулянтов.

6. Гистологически подтвержденная CD20+ фолликулярная лимфома (ФЛ) в соответствии с классификацией ВОЗ 2016 года.

7. Впервые диагностированная, ранее нелеченая фолликулярная лимфома, степень 1, 2 или 3а, стадия II, III или IV.

8. Отсутствие предшествующей терапии лимфомы, кроме кортикостероидов, не превышающей порог, указанный в критерии исключения 9.

9. Необходимость в начале лечения на основании симптомов и/или тяжести болезни.

10. Право на получение BR.

Критерии, не допускающие включения пациентов в схему лечения

1. Фолликулярная лимфома (ФЛ) степени 3b.

2. Гистологические признаки трансформации в агрессивную лимфому.

3. Противопоказания к применению ретуксимаба или бендамустина.

4. История тяжелых аллергических или анафилактических реакций на терапию анти-CD20 mAb или известная аллергия или непереносимость любого компонента или эксципиента эпкоритамаба.

5. Предварительное лечение биспецифическим антителом, нацеленным на CD3 и CD20.

6. Химиотерапия, лучевая терапия или обширное хирургическое вмешательство в течение 4 недель до первой дозы эпкоритамаба.

7. Лечение исследуемым препаратом в течение 4 недель или 5 периодов полужизни, в зависимости от того, что дольше, до первой дозы эпкоритамаба.

8. Терапия CAR-T в течение 30 дней до первой дозы эпкоритамаба.

9. Кумулятивная доза кортикостероидов ≥ 140 мг преднизолона или эквивалента в течение 2-недельного периода до первой дозы эпкоритамаба.

10. Вакцинация живыми вакцинами в течение 28 дней до введения первой дозы эпкоритамаба.

11. Клинически значимое заболевание сердца, в том числе:

а. Инфаркт миокарда в течение одного года до введения первой дозы эпкоритамаба или нестабильное или неконтролируемое заболевание/состояние, связанное с функцией сердца или влияющее на нее (например, нестабильная стенокардия, застойная сердечная недостаточность класса III-IV согласно Нью-Йоркской кардиологической ассоциации), сердечная аритмия (CTCAE версия 4, степень 2 или выше) или клинически значимые отклонения на ЭКГ.

б. Скрининг ЭКГ в 12 отведениях, показывающий исходный QTcF >470 мсек.

12. Доказательства значительных, неконтролируемых сопутствующих заболеваний, которые могут повлиять на соблюдение протокола или интерпретацию результатов.

13. Известная активная бактериальная, вирусная, грибковая, микобактериальная, паразитарная или другая инфекция (за исключением грибковых инфекций ногтевых лож) при включении в исследование или серьезные инфекции в течение 2 недель до первой дозы эпкоритамаба.

14. Лимфома ЦНС или известное поражение ЦНС лимфомой при скрининге, подтвержденное МРТ/КТ головного мозга и, при наличии клинических показаний, люмбальной пункцией.

15. Активные положительные тесты на вирус гепатита B или вирус гепатита C, указывающие на острую или хроническую инфекцию.

16. Положительный результат на антитела к ВИЧ в анамнезе или положительный результат теста на ВИЧ при скрининге.

17. Положительные результаты теста на вирус Т-клеточной лимфомы взрослых (ТЛВЧ-**1**).

18. Подозрение на активный или скрытый туберкулез.

19. Прошлое или текущее злокачественное новообразование, отличное от диагноза включения, кроме:

а. Рак шейки матки стадии 1B или менее.

б. Неинвазивная базальноклеточная или плоскоклеточная карцинома кожи.

в. Неинвазивный, поверхностный рак мочевого пузыря

г. Рак предстательной железы с текущим уровнем простатического антигена (PSA) < 0,1 нг/мл

д. Любой излечимый рак с полным ответом (ПО) продолжительностью > 2 лет

20. Невропатия >1 степени

21. Женщина, которая беременна, кормит грудью или планирует забеременеть во время участия в этом исследовании или в течение 12 месяцев после последней дозы эпкоритамаба.

22. Мужчина, который планирует стать отцом во время участия в этом испытании или в течение 12 месяцев после последней дозы эпкоритамаба.

23. Субъект, у которого есть какое-либо состояние, участие в котором не отвечает интересам субъекта (например, ставит под угрозу благополучие) или которое может помешать, ограничить или исказить оценки, указанные в протоколе.

Профилактика СВЦ

Введение кортикостероидов в течение четырех дней проводят для уменьшения/предупреждения тяжести симптомов потенциального СВЦ для каждой дозы эпкоритамаба. При применении эпкоритамаба во 2-ом цикле и далее профилактика СВЦ кортикостероидами необязательна. Введение кортикостероидов может осуществляться как внутривенно, так и перорально в рекомендуемой дозе или ее эквиваленте.

Поддерживающая терапия, рекомендуемая для лечения, включающего ритуксимаб, предусматривает:

- Премедикация ацетаминофеном (650 мг перорально), дифенгидрамином (от 50 до 100 мг внутривенно или перорально) и стероидами за 30–60 мин до начала каждой инфузии ритуксимаба для ослабления связанных с инфузией реакций.
- Профилактическое лечение пневмоцистной пневмонии
- Профилактика центральной нервной системы (ЦНС); субъекты с 1) поражением 2 экстранодальных участков и повышенным уровнем лактатдегидрогеназы (LDH) или 2) лимфоматозным поражением костного мозга, яичка или параменингеального участка считаются подверженными высокому риску развития заболевания ЦНС и должны получать профилактику ЦНС.

Профилактика ЦНС внутривенным метотрексатом разрешена после завершения периода ДЛТ (28 дней после первой дозы исследуемого лечения).

Таблица 4. Премедикация и профилактика СВЦ.

			Кортикостероиды	Антигистамины	Жаропонижающие
1 цикл	1^{e} введение эпкоритамаба (начальная доза)	День 01*	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)	Дифенгидрамин 50 мг в/в или перорально (п/о) (или эквивалентную дозу)	Парацетамол (ацетаминофен) от 650 до 1000 мг п/о (или эквивалентную дозу)
		День 02	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
		День 03	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
		День 04	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
	2^{e} введение эпкоритамаба (промежуточная доза)	День 08*	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)	Дифенилгидрамин 50 мг в/в или перорально (п/о) (или эквивалентную дозу)	Парацетамол (ацетаминофен) от 650 до 1000 мг п/о (или эквивалентную дозу)
		День 09	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
		День 10	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
		День 11	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
	3^{e} введение эпкоритамаба (полная доза)	День 15*	По меньшей мере преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)	Дифенилгидрамин 50 мг в/в или перорально (п/о) (или эквивалентную дозу)	Парацетамол (ацетаминофен) от 650 до 1000 мг п/о (или эквивалентную дозу)
		День 16	По меньшей мере преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая		

			Кортикостероиды	Антигистамины	Жаропонижающие
			пероральную дозу)		
		День 17	По меньшей мере преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
		День 18	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
1 цикл	4[e] введение эпкоритамаба (полная доза)	День 22	По меньшей мере преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)	Дифенилгидрамин 50 мг в/в или перорально (п/о) (или эквивалентную дозу)	Парацетамол (ацетаминофен) от 650 до 1000 мг п/о (или эквивалентную дозу)
		День 23	По меньшей мере преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
		День 24	По меньшей мере преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
		День 25	Преднизолон 100 мг в/в (или эквивалентную дозу, включая пероральную дозу)		
2 цикл	5[e] введение эпкоритамаба (полная доза)	29й день*	Если после 4-го введения эпкоритамаба СВЦ выше 1 степени, 4-дневное последовательное введение кортикостероидов продолжают во 2 цикле до регресса СВЦ	Необязательно	Необязательно
		30й день			

*от 30 мин до 2 ч до введения эпкоритамаба.

Примечание: если дозу эпкоритамаба вводят более чем через 24 ч после начала применения BR, премедикацию проводят до введения дозы эпкоритамаба, а профилактику кортикостероидами продолжают в течение 3 дней после введения эпкоритамаба.

Таблица 5. Эквиваленты доз кортикостероидов – таблица преобразования

Кортикостероид	Примерная равноценная доза (мг)
Короткого действия	
Кортизон (п/о)	500
Гидрокортизон (в/в или п/о)	400
Средней продолжительности действия	
Метилпреднизолон (в/в или п/о)	80
Преднизолон (п/о)	100
Преднизон (в/в или п/о)	100
Триамцинолон (в/в)	80
Пролонгированного действия	
Бетаметазон (в/в)	15
Дексаметазон (в/в или п/о)	15

Поддерживающая терапия при синдроме выброса цитокинов

Синдром выброса цитокинов (СВЦ) классифицируют в соответствии с системой ASTCT для СВЦ (табл. 6 и 7) и для лечения СВЦ, при котором субъекты должны получать поддерживающую терапию. Поддерживающая терапия должна включать, но ими не ограничивается:

- Инфузию физиологического раствора
- Системное применение глюкокортикостероида, антигистаминного препарата, жаропонижающего средства
- Поддержку артериального давления (вазопрессин, вазопрессоры)
- Поддержку низкопоточной и высокопоточной вентиляции кислородом и вентиляции с положительным давлением
- Применение моноклонального анти-IL-6R антитела, например, в/в введение тоцилизумаба
- Применение моноклонального анти-IL-6R антитела, например, в/в силтуксимаба, если нет ответа на повторное введение тоцилизумаба.

Таблица 6. Классификация и лечение синдрома выброса цитокинов (СВЦ)

Ниже представлены согласованные определения и критерии классификации СВЦ согласно Американскому обществу трансплантологии и клеточной терапии (ASTCT – American Society for Transplantation and Cellular Therapy), ранее известному как Американское общество трансплантации крови и костного мозга (ASBMT – American Society for Blood and Marrow Transplantation).

Степени синдрома высвобождения цитокинов:

Параметры СВЦ	Степень 1	Степень 2	Степень 3	Степень 4	Степень 5
Лихорадка[1]	≥38,0°C	≥38,0°C	≥38,0°C	≥38,0°C	Смерть от СВЦ, при которой другая причина не является основным фактором, приведшим к данному исходу
С гипотензией	Нет	Не требует вазопрессоров	Требуется 1 вазопрессор с вазопрессином или без него	Требуется ≥ 2 вазопрессоров (за исключением вазопрессина)	
И/или гипоксия[2]	Нет	Требуется назальная канюля с низким потоком (≤6 л/мин) или продувка	Требуется назальная канюля с высоким потоком (> 6 л/мин), лицевая маска, маска без дыхательной системы или маска Вентури	Требование вентиляции с положительным давлением[3] (например, CPAP, BiPAP, интубация и механическая вентиляция)	

Аббревиатуры: BiPAP – Bilevel positive airway pressure (двухуровневое положительное давление в дыхательных путях); CPAP – continuous positive airway pressure (постоянное положительное давление в дыхательных путях); СВЦ – синдром высвобождения цитокина; в/в – внутривенно.

Примечание: органная токсичность или конституциональные симптомы, связанные с СВЦ, могут быть классифицированы в соответствии с CTCAE, но они не влияют на классификацию СВЦ.

1. Лихорадку определяют как температуру тела ≥38,0°C, не связанную с какой-либо другой причиной, с конституциональными симптомами или без них (например, миалгия, артралгия, недомогание). У субъектов с СВЦ, получающих жаропонижающие, антицитокиновую терапию и/или кортикостероиды, лихорадка больше не требуется для оценки тяжести последующего СВЦ. В этом случае классификация СВЦ обусловлена гипотензией и/или гипоксией.

2. Степень СВЦ определяется более тяжелым событием: гипотензией или гипоксией, не связанной с какой-либо другой причиной. Например, субъект с температурой 39,5°C, гипотензией, требующей 1 вазопрессора, и гипоксией, требующей назальной канюли с низким потоком, классифицируется как СВЦ 3 степени. Для измерения артериального давления приемлемы как систолическое артериальное давление, так и среднее артериальное давление. Никаких конкретных ограничений не требуется, но гипотонию следует определять в каждом конкретном случае с учетом возраста и индивидуального исходного

уровня субъекта, то есть артериального давления, которое ниже нормального, ожидаемого для человека в данной среде.

3. Интубация субъекта без гипоксии по поводу возможного неврологического нарушения проходимости дыхательных путей отдельно или для процедуры по определению не является СВЦ 4 степени.

Источник: адаптировано по Lee с соавт., *Biol Blood Marrow Transplant* 2019;25:625-638.

Таблица 7. Классификация и лечение синдрома выброса цитокинов

Степень СВЦ	Лечение
1	Лихорадка: пациенты с новой лихорадкой должны быть госпитализированы, если это еще не сделано. Проведите иссследование на наличие инфекции и быстро начните лечение антибиотиками широкого спектра действия. Продолжение антибактериальной терапии рекомендуется до тех пор, пока потенциальная нейтропения не исчезнет. Конституциональным симптомам могут помочь нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП). Тоцилизумаб: Нет*. Стероиды: Нет.
2	Лихорадка: как при 1-й степени. Гипотензия: требуется немедленная клиническая оценка и вмешательство. При первом подтвержденном снижении систолического, диастолического или среднего артериального давления на ≥ 20% от исходного уровня или признаках ухудшения перфузии вводят болюсно в/в жидкость (от 20 мл/кг до 1 л). Следует рассмотреть возможность назначения вазопрессора и вводить его не позднее, чем после 3-го болюсного в/в введения жидкости из-за вазодилатации и капиллярной утечки, связанной с СВЦ. Гипоксия: при гипоксии и/или тахипноэ рассмотрите рентгенографию или компьютерную томографию. Дайте кислород через назальную канюлю с низким расходом (≤ 6 л/мин) или продувку. Тоцилизумаб: Нет* (да, если у пациента есть сопутствующие заболевания†). Стероиды: Нет (следует рассмотреть, есть ли у пациента сопутствующие заболевания‡).
3	Лихорадка: как при 1-й степени. Гипотензия: требуется немедленная клиническая оценка и вмешательство. Следует назначить вазопрессор (норэпинефрин) с вазопрессином или без него, поскольку у большинства пациентов с СВЦ наблюдают периферическую вазодилатацию. Гипоксия: следует ввести кислород через назальную канюлю с высоким расходом (> 6 л/мин), лицевую маску, маску без дыхания или маску Вентури. Тоцилизумаб: Да†.

	Стероиды: рассмотреть‡.
4	Лихорадка: как при 1й степени. Гипоксия: Положительное давление (например, CPAP, BiPAP, интубация и искусственная вентиляция легких). Тоцилизумаб: Да†. Стероиды: Да‡.

* Сначала рассмотрите возможность вмешательства в конкретных случаях. Например, пожилой пациент с длительной лихорадкой (> 72 ч) или очень высокой лихорадкой (> 40,5°C/104,9°F) может не перенести возникающую в результате синусовую тахикардию, это же может относиться также к более молодому пациенту, поэтому может быть показан тоцилизумаб.

† Тоцилизумаб (анти-IL-6R антитело) остается единственным препаратом первой линии антицитокиновой терапии, одобренным для СВЦ. При отсутствии улучшения симптомов в течение 6 ч или если состояние пациента начинает ухудшаться после первоначального улучшения, следует ввести вторую дозу тоцилизумаба вместе с дозой кортикостероидов. Для пациентов, невосприимчивых к тоцилизумабу (3 введения), можно рассмотреть возможность дополнительной антицитокиновой терапии, такой как силтуксимаб (анти-IL-6R антитело) или анакинра (анти-IL-6R-1P антитело). Однако такое использование является полностью анекдотичным и, как таковое, полностью остается на усмотрение лечащего врача.

‡ Рассмотрите возможность применения дексаметазона вместо метилпреднизолона из-за улучшенного проникновения в ЦНС даже при отсутствии нейротоксичности, так как высокий уровень СВЦ коррелирует с риском одновременного или последующего синдрома нейротоксичности, связанного с иммунными эффекторными клетками (ICANS – immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome). Если наблюдается одновременная ICANS, следует отдать предпочтение дексаметазону.

Источник: (Varadarajan I. С соавт., Management of cytokine release syndrome. В кн.: Chimeric antigen receptor T-cell therapies for cancer (глава 5). Изд-во Elsevier, 2020).

Предупреждение и лечение синдрома лизиса опухоли

Для профилактического лечения синдрома лизиса опухоли субъекты получают гидратацию и средства, снижающие уровень мочевой кислоты, до

введения эпкоритамаба. При появлении признаков синдрома лизиса опухоли (СЛО) применяют поддерживающую терапию, включающую расбуриказу.

Руководство по изменению дозы и контролю безопасностью

Модификации дозы эпкоритамаба не будет (см. фиг. 3 для исключений в группах увеличения дозы), хотя его можно оставить или отменить в зависимости от токсичности (и степени токсичности), которая развивается у субъектов во время их применения.

Для бендамустина миелосупрессия может потребовать задержки дозы и/или последующего снижения дозы, если восстановление до рекомендуемых значений не произошло к первому дню следующего цикла по схеме. До начала следующего цикла терапии АЧН должно быть $\geq 1 \times 10^9$/л, а количество тромбоцитов должно быть $\geq 75 \times 10^9$/л.

Введение бендамустина откладывается в случае гематологической токсичности 3 степени или клинически значимой негематологической токсичности ≥2 степени. После того, как негематологическая токсичность уменьшится до ≤1 степени и/или улучшится анализ крови (абсолютное число нейтрофилов (АЧН) $\geq 1 \times 10^9$/л, тромбоциты $\geq 75 \times 10^9$/л), лечение бендамустином возобновляется по усмотрению лечащего врача. Также может быть рассмотрено снижение дозы.

Изменение дозы при гематологической токсичности: при токсичности 3-й степени, продолжающейся более 2 дней, снизить дозу до 70 мг/м^2 в 1-й и 2-й дни каждого цикла; при токсичности 4-й степени дозу снижают до 60 мг/м^2 в 1-й и 2-й дни каждого цикла; если рецидивирует токсичность 4-й степени, прекратите прием бендамустина.

Изменение дозы при негематологической токсичности: при токсичности 3-й степени или выше дозу снижают до 60 мг/м^2 в 1-й и 2-й дни каждого цикла; если рецидивирует токсичность 3-й степени или выше, прекратите прием бендамустина.

Анализ исследования

Демография и базовые оценки

Собирают демографические данные о субъектах, а также информацию, такую как дата постановки диагноза лимфомы, стадии Ann Arbor при постановке диагноза, включая конституциональные симптомы (симптомы B) и предшествующие доказательства положительности CD20. Также собирают

историю болезни, информацию о предшествующих и сопутствующих лекарствах, сопутствующих процедурах и предшествующих противораковых терапиях и операциях (включая предшествующую противораковую терапию по НХЛ, такую как хирургия, лучевая терапия, химиолучевая терапия и схемы системного лечения).

Оценка эффективности

Подходящие субъекты имеют по крайней мере 1 измеримый участок заболевания (как указано в критериях включения) для оценки заболевания. Поддающиеся измерению участки лимфомы определяют как лимфатические узлы, массы лимфатических узлов или экстранодальные участки. Измерения определяют путем оценки изображения, при этом до 6 измеримых участков исследуют в качестве целевых поражений для каждого субъекта. Участки, не поддающиеся измерению, как определено выше, считают как оцениваемые на основании объективных признаков заболевания (т.е. рентгенографического изображения, медицинского осмотра или других процедур). Примеры поддающихся оценке заболеваний включают, например, поражение костного мозга, поражение костей, выпот или утолщение стенки кишечника.

Биопсия опухоли и костного мозга

Две свежие биопсии центральной опухоли берут до лечения эпкоритамабом (в период скрининга) и 2 свежие биопсии центральной опухоли в начале 2-го цикла в 15-й день (±1 неделя) для всех субъектов с доступными опухолями. Архивная биопсия опухоли, взятая в течение 3 месяцев до включения в исследование, приемлема, если при скрининге невозможно взять свежую биопсию. Биопсия может представлять собой цельный лимфатический узел или пункционную биопсию. Биопсия опухоли должна быть зафиксирована формалином и залита парафином (FFPE). Биопсию опухоли исследуют для оценки минимальной остаточной болезни (МОБ) и поисковых биомаркеров.

Рентгенологические оценки

Сканирование методом ПЭТ-КТ с ФДГ (позитронно-эмиссионная томография с использованием радиофармпрепарата фтордеоксиглюкозы или КТ/МРТ и ПЭТ с ФДГ, если сканирование ПЭТ-КТ недоступно) выполняют во время скрининга. Для субъектов с ФДГ-положительными опухолями при скрининге все последующие оценки заболевания включают ПЭТ с ФДГ с использованием 5-балльной шкалы, описанной в Barrington с соавт. (*J Clin Oncol*

2014; 32:3048-3058; 1 балл: поглощение отсутствует; 2 балла: поглощение ≤ средостения; 3 балла: обновление > средостения, но ≤ печени; 4 балла: поглощение умеренно выше, чем в печени; 5 баллов: поглощение заметно выше чем в печени и/или новые поражения; оценка X: новые области обновления вряд ли связаны с лимфомой). Для субъектов с неавидными или вариабельно авидными по ФДГ опухолями может быть выполнена КТ с в/в контрастированием шеи/грудной клетки/живота/таза/дополнительных известных поражений. Компонент КТ ПЭТ-КТ можно использовать вместо отдельной КТ/МРТ, если компонент КТ имеет такое же диагностическое качество, что и КТ с контрастным усилением, выполненное без ПЭТ. Напротив, если ПЭТ КТ с контрастным усилением недоступна, выполняют отдельную диагностическую КТ/МРТ и стандартную ФДГ ПЭТ. Субъектам с непереносимостью в/в контрастных веществ для КТ проводят КТ с пероральным контрастом.

МРТ можно использовать для оценки участков заболевания, которые не могут быть адекватно визуализированы с помощью КТ, или для пациентов, не переносящих контрастные вещества для КТ. В тех случаях, когда МРТ является предпочтительным методом визуализации, МРТ проводят при скрининге и при всех последующих оценках ответа.

Оценка костного мозга

Биопсию костного мозга (архивная или свежая) с аспиратом или без него берут при скрининге у всех пациентов для подтверждения поражения костного мозга лимфомой. Биопсия костного мозга, полученная в качестве рутинного начала исследования (SOC – Start Of Care), может быть использована, если она сделана за 42 дня до первой дозы эпкоритамаба. При получении аспирата костного мозга определение поражения костного мозга можно подтвердить с помощью жидкостной цитометрии. Биопсию костного мозга берут (1) при скрининге; (2) для субъектов с поражением костного мозга при скрининге, которые позже достигают ПО с помощью визуализации – оценка костного мозга включает морфологическое исследование и либо жидкостную цитометрию, либо иммуногистохимию (ИГХ), если это оправдано, для подтверждения наличия или отсутствия (полная ремиссия) лимфомы; (3) для субъектов с поражением костного мозга, документально подтвержденным при скрининге, которые позже достигают ПО с помощью визуализации — часть аспирата, собранного для

подтверждения ПО, будет использоваться для оценки минимальной остаточной болезни (МОБ).

Оценка минимальной остаточной болезни (МОБ)

МОБ оценивают путем отслеживания наличия ДНК, кодирующей рецептор В-клеток (BCR – B-cell receptor), специфически экспрессируемый раковыми клетками. Последовательность ДНК этого BCR идентифицируют с помощью биопсии опухоли, представленной при скрининге. После начала лечения образцы крови берут в фиксированные моменты времени и во время ПО, чтобы оценить, снижается ли количество раковой ДНК, как потенциальной меры (раннего) ответа и для оценки МОБ. В качестве анализа исследования, когда субъект достигает по метаболической/рентгенологической оценке ПО и у него во время скрининга задокументировано поражение костного мозга, часть аспирата, собранного для подтверждения ПО, используют для оценки МОБ.

Реакция на заболевание и оценка прогрессирующего заболевания

Реакцию на заболевание оценивают в соответствии с обоими критериями Lugano (оценивают в публикации Cheson с соавт., *J Clin Oncol* 2014;32:3059-3068; см., в частности, табл. 3) и LYRIC (табл. 8) для информирования решения о продолжении лечения.

Определения конечной точки следующие:

Частоту объективного ответа (ЧОО) определяют как долю субъектов, достигших частичного ответа (ЧО) или полного ответа (ПО) до начала последующей терапии.

Время до ответа (ВДО) определяют среди респондеров как время между первой дозой (с 1-го дня 1-го цикла) эпкоритамаба и начального фиксирования ЧО или ПО.

Продолжительность ответа определяют среди респондентов как время от первоначального фиксирования ЧО или ПО до даты прогрессирования заболевания или смерти, в зависимости от того, что наступит раньше.

Выживаемость без прогрессирования (ВБП) определяют как время от даты первого введения дозы (с 1-го дня 1-го цикла) эпкоритамаба до даты прогрессирования заболевания или смерти, в зависимости от того, что наступит раньше.

Общую выживаемость (ОВ) определяют как время от даты первого введения дозы (с 1-го дня 1-го цикла) эпкоритамаба до даты смерти.

Время до следующей антилимфомной терапии (BCAT) определяют как количество дней от 1-го дня 1-го цикла до первого задокументированного проведения последующей антилимфомной терапии.

Частоту отрицательных результатов минимальной остаточной болезни (МОБ) определяют как долю субъектов по меньшей мере с 1 неопределяемым результатом МОБ в соответствии с определенным порогом до начала последующей терапии.

Критерии Lugano (см., например, Cheson с соавт., *J Clin Oncol* 2014;32:3059-3068, для определений полного ответа, частичного ответа, отсутствия ответа/стабильного заболевания и прогрессирующего заболевания)

(а) Целевые и нецелевые поражения

Целевые поражения для критериев Lugano включают до 6 крупнейших доминантных узлов, узловых образований или других лимфоматозных поражений, которые можно измерить по двум диаметрам и которые обнаруживаются в разных областях тела, репрезентативных для общего бремени заболевания субъекта, включая медиастинальное и забрюшинное заболевание, где это применимо. На исходном уровне поддающийся измерению узел имеет наибольшую длину >15 мм (LDi – наибольший диаметр). Поддающееся измерению экстранодальное заболевание может быть включено в шесть репрезентативных поражений-мишеней. На исходном уровне поддающиеся измерению экстранодальные поражения должны быть >10 мм в LDi.

Все другие поражения (в том числе узловые, экстранодальные и поддающиеся оценке) могут рассматриваться как нецелевые поражения (например, кожные, желудочно-кишечные, кости, селезенка, печень, почки, плевральный или перикардиальный выпот, асцит, кости, костный мозг).

(б) Раздельные поражения и слитые поражения

Поражения могут разделяться или сливаться со временем. В случае расщепленных поражений индивидуальное произведение перпендикулярных диаметров (ППД) узлов должно быть суммировано, чтобы представить ППД расщепленного поражения; этот ППД добавляется к сумме ППД оставшихся поражений для измерения ответа. Если происходит последующий рост любого или всех этих дискретных узлов, для определения прогрессирования используется надир каждого отдельного узла. В случае сливных поражений, ППД сливающегося образования следует сравнивать с суммой ППД отдельных

узлов, при этом увеличение ППД более чем на 50% сливного образования по сравнению с суммой отдельных узлов необходимо для указания на прогрессирование заболевания (ПЗ). LDi и наименьший диаметр (SDi – smallest diameter) больше не нужны для определения прогрессирования.

LYRIC

Клинические исследования показывают, что иммунотерапия рака может привести к раннему очевидному рентгенологическому прогрессированию (включая появление новых поражений) с последующим отсроченным ответом. Поскольку это первоначальное увеличение размера опухоли может быть вызвано инфильтрацией иммунных клеток в условиях Т-клеточного ответа, это прогрессирование может не свидетельствовать об истинном прогрессировании заболевания и поэтому называется «псевдопрогрессированием» (Wolchok с соавт., *Clin Cancer Res* 2009;15:7412-7420).

Текущие критерии оценки ответа Lugano criteria (Cheson с соавт., *J Clin Oncol* 2014;32:3059-3068) не принимают во внимание псевдопрогрессирование, и существует значительный риск преждевременного прекращения приема потенциально эффективного иммуномодулирующего препарата после наблюдения атипичного ответа. Атипичные ответы характеризуются либо ранним прогрессированием существующих поражений с последующим ответом, либо развитием новых поражений со сморщиванием опухоли в другом месте или без него.

LYRIC – это модификация критериев оценки Lugano, которая была адаптирована для иммунотерапии и вводит новую категорию смягчающего ответа: обозначение «неопределенный ответ» (НО) (Cheson с соавт., *Blood* 2016;128:2489-2496). Обозначение «НО» введено для потенциальной идентификации случаев «атипичного ответа» до тех пор, пока не будет подтверждено как обострение/псевдопрогрессирование или истинное прогрессирование заболевания (ПЗ) либо биопсией, либо последующей визуализацией.

Субъекта, у которого обнаруживается ПЗ в соответствии с критериями/классификацией Lugano, считают имеющим неопределенный ответ (НО) в 1 или более из 3 следующих обстоятельств:

НО (1): Увеличение общей опухолевой массы (по оценке произведения диаметров [ОПД]) на ≥ 50% до 6 поражений-мишеней в течение первых 12 недель терапии без клинического ухудшения.

НО (2): Появление новых поражений или рост одного или нескольких существующих поражений ≥50% в любое время во время лечения; происходящие в контексте отсутствия общего прогрессирования (увеличение СПД <50%) общей опухолевой массы, измеряемой по сумме произведений диаметров (СПД) до 6 очагов в любое время во время лечения.

НО(3): Увеличение потребления ФДГ одним или несколькими повреждениями без увеличения контаминации, выраженной в увеличении размера или числа повреждений.

Возможно, что в один момент времени субъект может соответствовать критериям как для НО(1), так и для НО(2) и НО(3): например, может быть новое поражение, связанное с ФДГ, при отсутствии общего прогрессирования (НО[2]), и, в то же время, увеличение поглощения ФДГ отдельным очагом (НО[3]). В таких случаях назначение НО(1) или НО(2) должно иметь приоритет (например, НО[2] в приведенном выше примере).

Субъекты, классифицированные как имеющие любой из типов НО, получают повторную визуализацию через дополнительные 12 недель (или раньше, если это клинически показано). В это время реакцию следует переоценить, и следует считать, что субъект имеет истинное прогрессирование заболевания (ПЗ) с учетом следующего:

Последующий неопределенный ответ НО(1): В случае НО(1) следует провести сравнение между первым НО(1) и текущим ОПД. НО(1) станет ПЗ, если: (а) оценка произведений диаметров (ОПД) увеличивается на ≥10% от первого НО(1) и (б) увеличение ≥5 мм (в любом измерении) ≥1 поражения для поражений ≤2 см и ≥10 мм для поражений >2 см, чтобы соответствовать критериям Lugano.

Последующий неопределенный ответ НО(2): В случае НО(2) новое или растущее поражение(я) добавляют к целевому поражению, до общего количества не более 6 поражений. НО(2) станет прогрессирующим заболеванием (ПЗ), если: (а) ≥50% увеличение ОПД (новый определенный набор целевых поражений) от уровня крайнего упадка надирного значения.

Последующий неопределенный ответ НО(3): НО(3) станет прогрессированием заболевания (ПЗ), если поражение с повышенным поглощением ФДГ также увеличивается в размере.

Таблица 8. LYRIC

LYRIC	Полный ответ (ПО)	Частичный ответ (ЧО)	Стабилизация заболевания (СЗ)	Прогрессирование заболевания (ПЗ)
	То же, что и классификация Lugano	То же, что и классификация Lugano	То же, что и классификация Lugano	То же, что и классификация Lugano, но со следующими исключениями: Категории неопределенного ответа (НО): НО (1): повышение на ≥50% в сумме произведений диаметров (СПД) в первые 12 недель терапии НО (2): повышение на <50% в СПД с а) Новые повреждения (повреждение), или б) повышение ≥50% одного повреждения или набор повреждений в любое время лечения НО (3): повышение потребления ФДГ без увеличения контаминации без сопутствующего увеличения размера поражения, отвечающего критериям ПЗ

Клинические оценки безопасности

Безопасность оценивается путем измерения нежелательных явлений, результатов лабораторных анализов, ЭКГ, измерений основных показателей жизнедеятельности, результатов физикального обследования и состояния работоспособности по шкале ECOG. Также оценивают синдром нейротоксичности, связанный с иммунными эффекторными клетками (например, как описано Lee с соавт., *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25:625-638), конституциональные симптомы (симптомы B), реакцию вспышки опухоли и выживаемость.

Результаты, о которых сообщают пациенты

Результаты, о которых сообщают пациенты, оценивают с использованием опросника качества жизни, связанного со здоровьем (FACT-Lym), по которому оценивают качество жизни у пациентов с лимфомой.

Предварительные результаты

По состоянию на 8 сентября 2021 г. дозировку получили 17 пациентов. Фаза расширения дозировки 48 мг была начата 28 июня 2021 г. В фазе

повышения дозы наблюдали 5 респондеров и 1 респондент в фазе расширения. Наиболее частыми связанными побочными явлениями были СВЦ и тошнота. Все СВЦ относились к степени 1/2. Эти данные являются предварительными и непроверенными, а недостоверные данные и данные ответов не были полностью зафиксированы на месте.

Таблица 9. Перечень последовательностей

SEQ ID	Описание	Последовательность
1	huCD3 VH CDR1	GFTFNTYA
2	huCD3 VH CDR2	IRSKYNNYAT
3	huCD3 VH CDR3	VRHGNFGNSYVSWFAY
4	huCD3 VL CDR1	TGAVTTSNY
-	huCD3 VL CDR2	GTN
5	huCD3 VL CDR3	ALWYSNLWV
6	huCD3 VH1	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPG KGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKSSLYLQM NNLKTEDTAMYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS
7	huCD3 VL1	QAVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQTPG QAFRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQADDESI YFCALWYSNLWVFGGGTKLTVL
8	VH CD20 – 7D8 CDR1	GFTFHDYA
9	VH CD20 – 7D8 CDR2	ISWNSGTI
10	VH CD20 – 7D8 CDR3	AKDIQYGNYYYGMDV
11	VL CD20 – 7D8 CDR1	QSVSSY
-	VL CD20 – 7D8 CDR2	DAS
12	VL CD20 – 7D8 CDR3	QQRSNWPIT
13	VH CD20 – 7D8	EVQLVESGGGLVQPDRSLRLSCAASGFTFHDYAMHWVRQAPG KGLEWVSTISWNSGTIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTALYYCAKDIQYGNYYYGMDVWGQGTTVTVSS
14	VL CD20 – 7D8	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQ QRSNWPITFGQGTRLEIK
15	IgG1 константная область тяжелой цепи – WT (положения аминокислот 118-447 соответствуют нумерации ЕС) *CH3-область показана курсивом*	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAK*GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
16	IgG1-LFLEDA константная область тяжелой цепи (положения аминокислот 118-447 соответствуют нумерации ЕС)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**FE**GGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVV**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID	Описание	Последовательность
17	IgG1 F405L (положения аминокислот 118-447 соответствуют нумерации EC)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF**L**LYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
18	IgG1-K409R (положения аминокислот 118-447 соответствуют нумерации EC)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS**R**LTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
19	IgG1 -LFLEDA-F405L (FEAL) (положения аминокислот 118-447 соответствуют нумерации EC)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**FE**GGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVV**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF**L**LYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
20	IgG1 -LFLEDA-K409R (FEAR) (положения аминокислот 118-447 соответствуют нумерации EC)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**FE**GGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVV**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS**R**LTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
21	CH3-область IgG1	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
22	Константная область LC лямбда человека	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS
23	Константная область LC каппа человека	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
24	huCD3-LFLEDA-huCD3-LFLEDA-F405L (FEAL) тяжелая цепь	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPG KGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKSSLYLQM NNLKTEDTAMYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**FE**GGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVV**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF**L**LYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
25	huCD3 VL+CL легкая цепь	QAVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQTPG QAFRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQADDESI YFCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQA NKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNN KYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
26	CD20-7D8-LFLEDA-	EVQLVESGGGLVQPDRSLRLSCAAS<u>GFTFHDYA</u>MHWVRQAPG

SEQ ID	Описание	Последовательность
	K409R (FEAR) тяжелая цепь	KGLEWVSTISWNSGTIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTALYYCAKDIQYGNYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**FE**GGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVV**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS**R**LTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
27	CD20 – 7D8 VL+CL легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQ QRSNWPITFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
28	CD3 (эпсилон) человека	MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWGQDGNEEMGGITQTPYKVSISG TTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKE FSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVM SVATIVIVDICITGGLLLLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGR QRGQNKERPPPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRRI
29	CD20 человека	MTTPRNSVNGTFPAEPMKGPIAMQSGPKPLFRRMSSLVGPTQSF FMRESKTLGAVQIMNGLFHIALGGLLMIPAGIYAPICVTVWYPL WGGIMYIISGSLLAATEKNSRKCLVKGKMIMNSLSLFAAISGMI LSIMDILNIKISHFLKMESLNFIRAHTPYINIYNCEPANPSEKNSPS TQYCYSIQSLFLGILSVMLIFAFFQELVIAGIVENEWKRTCSRPKS NIVLLSAEEKKEQTIEIKEEVVGLTETSSQPKNEEDIEIIPIQEEEE EETETNFPEPPQDQESSPIENDSSP

Выделены жирным шрифтом и подчеркнуты FE; A; L и R, соответствующие положениям 234 и 235; 265; 405 и 409 по нумерации ЕС. В вариабельных областях подчеркнуты указанные CDR-области, которые были аннотированы в соответствии с определениями IMGT.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения фолликулярной лимфомы у субъекта-человека, включающий введение субъекту биспецифического антитела и эффективного количества ритуксимаба и бендамустина, причем биспецифическое антитело включает:

(i) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD3ε (эпсилон) человека и содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) и вариабельную область легкой цепи (VL), где VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VH-области SEQ ID NO: 6, и VL-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VL-области SEQ ID NO: 7; и

(ii) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с CD20 человека и содержит VH-область и VL-область, где VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VH-области SEQ ID NO: 13, и VL-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VL-области SEQ ID NO: 14,

где биспецифическое антитело вводят в дозе 24 мг или 48 мг, и где ритуксимаб, бендамустин и биспецифическое антитело вводят 28-дневными циклами.

2. Способ по п. 1, в котором биспецифическое антитело вводят в дозе 24 мг.

3. Способ по п. 1, в котором биспецифическое антитело вводят в дозе 48 мг.

4. Способ по любому из п.п. 1-3, в котором биспецифическое антитело вводят один раз каждую неделю (еженедельное введение).

5. Способ по п. 4, в котором еженедельное введение 24 мг или 48 мг осуществляют в течение двух с половиной 28-дневных циклов.

6. Способ по п.п. 4 или 5, в котором после недельного введения биспецифическое антитело вводят один раз каждые две недели (введение раз в две недели).

7. Способ по п. 6, в котором введение раз в две недели осуществляют в течение шести 28-дневных циклов.

8. Способ по п.п. 6 или 7, в котором после введения один раз в две недели биспецифическое антитело вводят один раз каждые четыре недели.

9. Способ по п. 8, в котором введение один раз каждые четыре недели осуществляют в течение общей продолжительности лечения биспецифическим антителом до двух лет с начала применения ритуксимаба и бендамустина.

10. По любому из п.п. 4-9, в котором перед еженедельным введением 24 мг или 48 мг вводят начальную дозу биспецифического антитела в первом цикле из 28-дневных циклов.

11. Способ по п. 10, в котором начальную дозу вводят за две недели перед введением первой еженедельной дозы 24 мг или 48 мг.

12. Способ по п.п. 10 или 11, в котором начальная доза составляет 0,16 мг.

13. Способ по любому из п.п. 10-12, в котором после введения начальной дозы и до введения первой еженедельной дозы 24 мг или 48 мг вводят промежуточную дозу биспецифического антитела.

14. Способ по п. 13, в котором начальную дозу вводят в 1-й день и промежуточную дозу вводят в 8-й день перед первой еженедельной дозой 24 мг или 48 мг в 15-й и 22-й день первого цикла.

15. Способ по п.п. 13 или 14, в котором промежуточная доза составляет 0,8 мг.

16. Способ по любому из п.п. 1-15, в котором ритуксимаб вводят один раз каждые четыре недели.

17. Способ по п. 16, в котором введение ритуксимаба один раз каждые четыре недели осуществляют в течение шести 28-дневных циклов.

18. Способ по любому из п.п. 1-17, в котором ритуксимаб вводят в дозе 375 мг/м^2.

19. Способ по любому из п.п. 1-18, в котором бендамустин вводят один раз в день с 1-го по 2-й день 28-дневных циклов.

20. Способ по любому из п.п. 1-19, в котором бендамустин вводят один раз в день с 1-го по 2-й день в течение шести 28-дневных циклов.

21. Способ по любому из п.п. 1-20, в котором бендамустин вводят в дозе 90 мг/м^2.

22. Способ по любому из п.п. 1-21, в котором ритуксимаб, бендамустин и биспецифическое антитело вводят в один день (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й).

23. Способ по любому из п.п. 1–22, причем схема дозирования биспецифического антитела, ритуксимаба и бендамустина показана в таблице 2.

24. Способ по любому из п.п. 1, 2 и 4-23, в котором введение осуществляют 28-дневными циклами, где:

(a) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 24 мг вводят в 15-й и 22-й день;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 24 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й день;

(iii) в циклы с 4-го по 9-й дозу 24 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и в последующих циклах дозу 24 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й; и

(в) бендамустин вводят в 1-й и 2-й дни в циклах с 1-го по 6-й.

25. Способ по любому из п.п. 1 и 3-24, в котором введение осуществляют 28-дневными циклами, где:

(а) биспецифическое антитело вводят следующим образом:

(i) в первом цикле начальную дозу 0,16 мг вводят в 1-й день, промежуточную дозу 0,8 мг вводят в 8-й день и дозу 48 мг вводят в 15-й и 22-й день;

(ii) во 2-м и 3-м циклах дозу 48 мг вводят в 1-й, 8-й, 15-й и 22-й день;

(iii) в циклы с 4-го по 9-й дозу 48 мг вводят в 1-й и 15-й дни; и

(iv) в 10-м цикле и в последующих циклах дозу 48 мг вводят в 1-й день;

(б) ритуксимаб вводят в 1-й день в циклах с 1-го по 6-й; и

(в) бендамустин вводят в 1-й и 2-й дни в циклах с 1-го по 6-й.

26. Способ по любому из п.п. 1-25, в котором биспецифическое антитело вводят подкожно.

27. Способ по любому из п.п. 1-26, в котором ритуксимаб вводят внутривенно.

28. Способ по любому из п.п. 1-27, в котором бендамустин вводят внутривенно.

29. Способ по любому из п.п. 1-28, в котором биспецифическое антитело, ритуксимаб и бендамустин вводят последовательно.

30. Способ по любому из п.п. 1-29, в котором:

(а) ритуксимаб вводят перед введением биспецифического антитела, если ритуксимаб и биспецифическое антитело вводят в один день (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й);

(б) бендамустин вводят перед биспецифическим антителом, если бендамустин и биспецифическое антитело вводят в один день (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й);

(в) ритуксимаб вводят до бендамустина, если ритуксимаб и бендамустин вводят в один день (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й); или

(г) ритуксимаб вводят первым, бендамустин вводят вторым и биспецифическое антитело вводят последним, если ритуксимаб, бендамустин и биспецифическое антитело вводят в один и тот же день (например, в 1-й день циклов с 1-го по 6-й).

31. Способ по любому из п.п. 1-30, в котором фолликулярная лимфома представлена нелеченой фолликулярной лимфомой.

32. Способ по п. 31, в котором у субъекта имеется нелеченая фолликулярная лимфома степени 1, 2 или 3а.

33. Способ по п. 31 или 32, в котором у субъекта имеется нелеченая фолликулярная лимфома стадии II, III или IV.

34. Способ по любому из п.п. 1-33, в котором:

(i) первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 4, последовательности GTN и SEQ ID NO: 5, соответственно; и

(ii) вторая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 8, 9 и 10, соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO:11, последовательности DAS и SEQ ID NO:12, соответственно.

35. Способ по любому из п.п. 1-34, в котором:

(i) первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ

ID NO: 6, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и

(ii) вторая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

36. Способ по любому из п.п. 1-35, в котором первое связывающее плечо биспецифического антитела получено из гуманизированного антитела, предпочтительно из полноразмерного антитела IgG1,λ (лямбда).

37. Способ по п. 36, в котором первое связывающее плечо биспецифического антитела содержит константную область легкой цепи λ, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 22.

38. Способ по любому из п.п. 1-37, в котором второе связывающее плечо биспецифического антитела получено из антитела человека, предпочтительно из полноразмерного антитела IgG1,κ (каппа).

39. Способ по п. 38, в котором второе связывающее плечо содержит константную область легкой цепи κ, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 23.

40. Способ по любому из п.п. 1-39, в котором биспецифическое антитело представляет собой полноразмерное антитело с константной областью IgG1 человека.

41. Способ по любому из п.п. 1-40, в котором биспецифическое антитело содержит инертную Fc-область.

42. Способ по любому из п.п. 1-41, в котором биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, причем в обеих, первой и второй, тяжелых цепях аминокислоты в положениях, соответствующих

положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15 являются F, E и A, соответственно.

43. Способ по любому из п.п. 1-42, в котором биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, причем в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляет собой L, и во второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляет собой R, или наоборот.

44. Способ по любому из п.п. 1-43, в котором биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, причем

(i) в обеих, первой и второй, тяжелых цепях аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15 являются F, E и A, соответственно, и

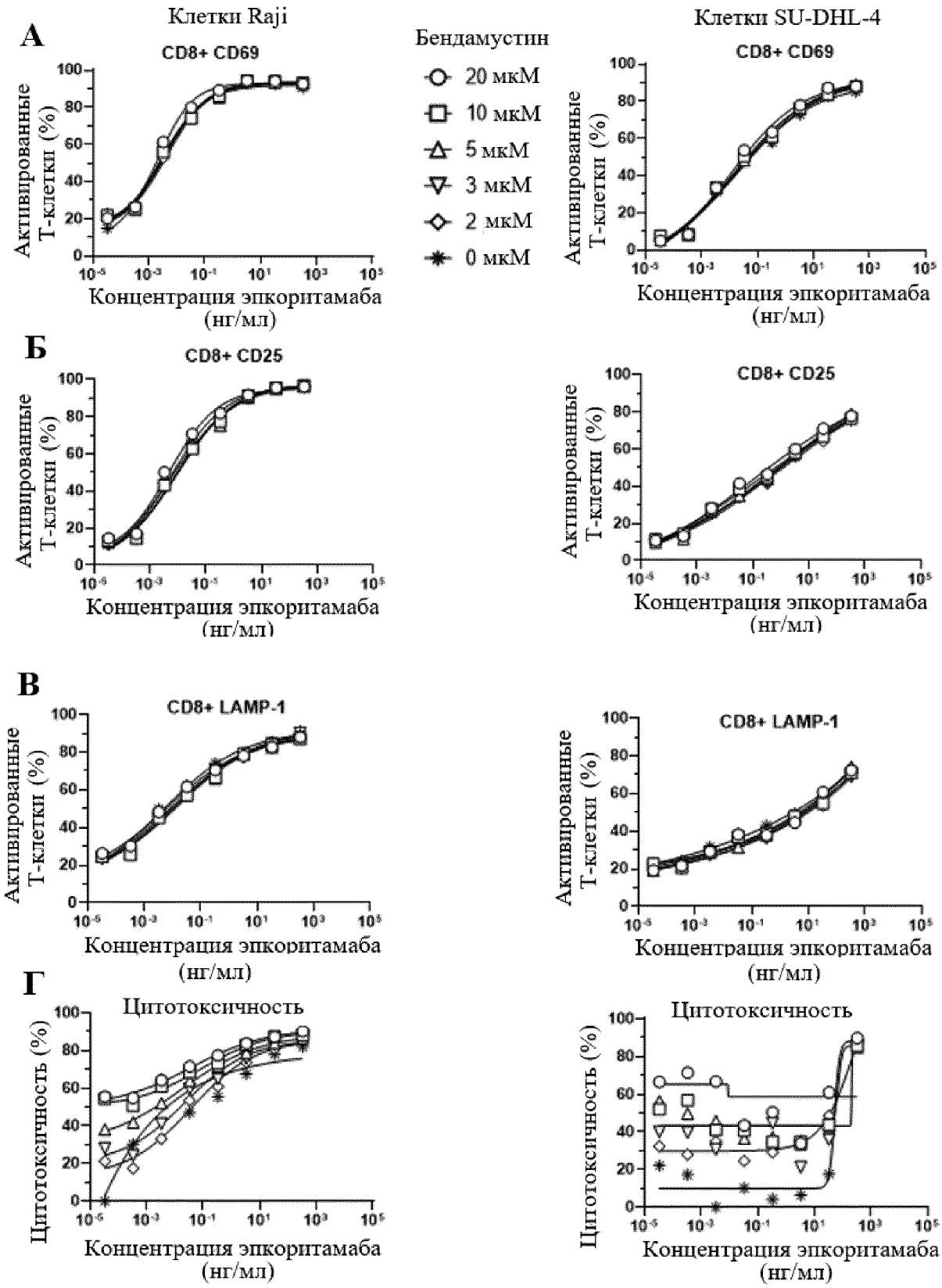
(ii) в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека SEQ ID NO: 15, представляет собой L, и во второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи IgG1 человека в SEQ ID NO: 15, представляет собой R, или наоборот.

45. Способ по п. 44, в котором биспецифическое антитело содержит константные области тяжелой цепи, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 19 и 20.

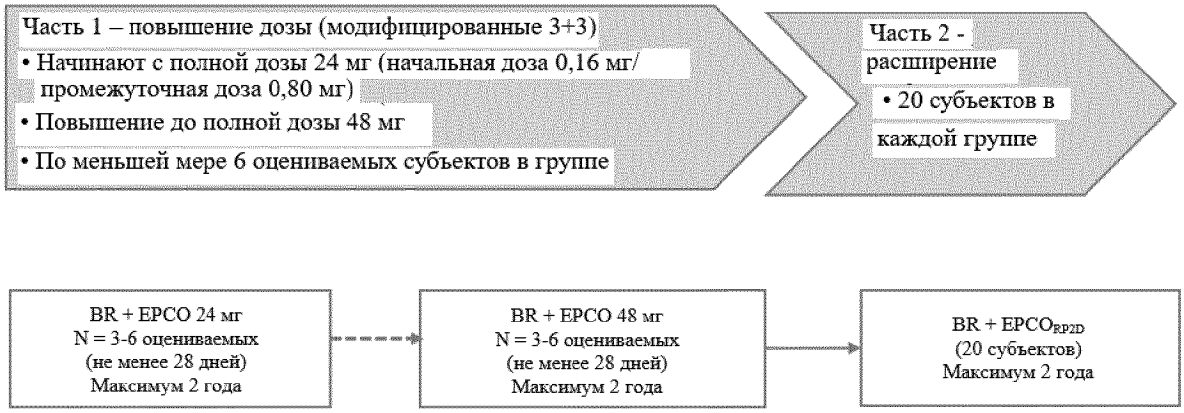
46. Способ по любому из п.п. 1-45, в котором биспецифическое антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, включающие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 24 и 25, соответственно, и тяжелую цепь и легкую цепь, включающие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно.

47. Способ по любому из п.п. 1-46, в котором биспецифическое антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, состоящие из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 24 и 25, соответственно, и тяжелую цепь и легкую цепь, состоящие из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно.

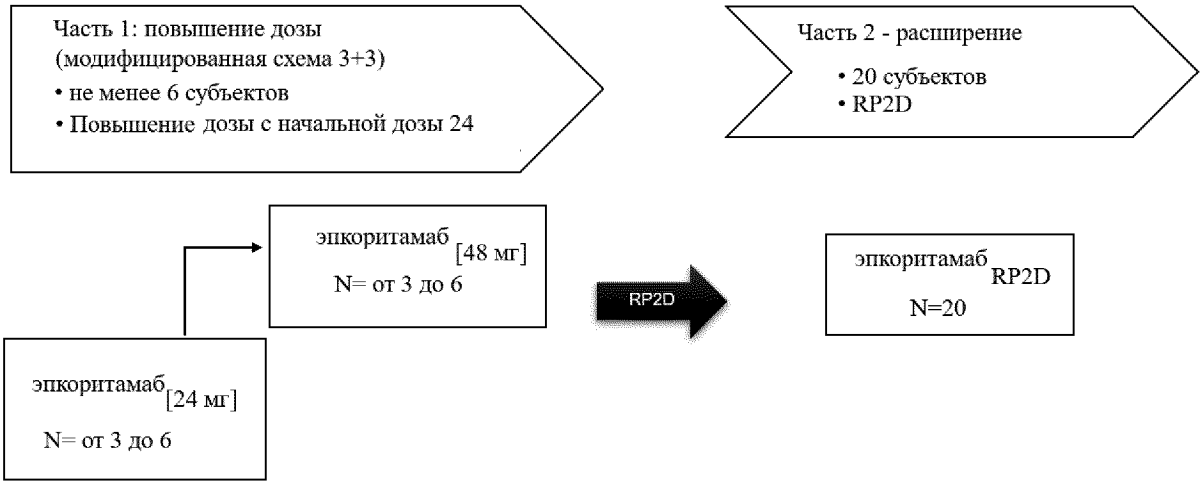
48. Способ по любому из п.п. 1-47, в котором биспецифическим антителом является эпкоритамаб или его биоаналог.


А
Клетки Raji
CD8+ CD69
Активированные Т-клетки (%)
Концентрация эпкоритамаба (нг/мл)
Бендамустин
20 мкМ
10 мкМ
5 мкМ
3 мкМ
2 мкМ
0 мкМ
Клетки SU-DHL-4
CD8+ CD69
Б
CD8+ CD25
В
CD8+ LAMP-1
Г
Цитотоксичность
Цитотоксичность (%)

Фигура 1.


Часть 1 – повышение дозы (модифицированные 3+3)
• Начинают с полной дозы 24 мг (начальная доза 0,16 мг/ промежуточная доза 0,80 мг)
• Повышение до полной дозы 48 мг
• По меньшей мере 6 оцениваемых субъектов в группе
Часть 2 - расширение
• 20 субъектов в каждой группе
BR + EPCO 24 мг
N = 3-6 оцениваемых
(не менее 28 дней)
Максимум 2 года
BR + EPCO 48 мг
N = 3-6 оцениваемых
(не менее 28 дней)
Максимум 2 года
BR + EPCO$_{RP2D}$
(20 субъектов)
Максимум 2 года

Фигура 2.


Часть 1: повышение дозы
(модифицированная схема 3+3)
• не менее 6 субъектов
• Повышение дозы с начальной дозы 24
Часть 2 - расширение
• 20 субъектов
• RP2D
эпкоритамаб [48 мг]
N= от 3 до 6
эпкоритамаб [24 мг]
N= от 3 до 6
RP2D
эпкоритамаб RP2D
N=20

Фигура 3.