

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202390878 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.07.24(51) Int. Cl. A61K 39/395 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2021.09.14

(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ АМИЛОИДОЗА

(31) 63/078,258; 63/116,100; 63/176,015

(32) 2020.09.14; 2020.11.19; 2021.04.16

(33) US

(86) PCT/US2021/050316

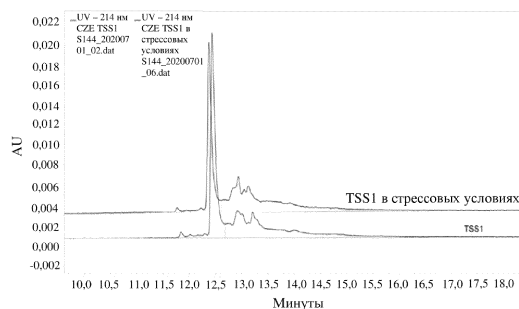
(87) WO 2022/056484 2022.03.17

(71) Заявитель:
КЭЛЕМ БАЙОСАЙЕНСИЗ, ИНК.
(US)

(72) Изобретатель:

Спектор Майкл, Соболев-Джейнс
Сьюзан Б., Кахсай Майкл,
Лубиницки Энтони С., Рэйвивонг
Джессика Дж. (US)(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) В данном документе предусмотрены способы лечения амилоидозного заболевания и нарушения у субъекта, а также способы снижения количества амилоидных отложений в органе. Предусмотренные в данном документе способы включают введение антитела отдельно или в комбинации с другим средством терапии. В одном аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения амилоидозного заболевания или нарушения у субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по настоящему изобретению и дополнительного средства терапии, за счет чего осуществляется лечение амилоидозного заболевания или нарушения у субъекта.



A1

202390878

202390878

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-577512EA/061

СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ АМИЛОИДОЗА

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[1] Настоящая заявка испрашивает преимущество предварительной заявки на патент США № 63/176015, поданной 16 апреля 2021 года, № 63/116100, поданной 19 ноября 2020 года, и № 63/078258, поданной 14 сентября 2020 года, которые включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ВКЛЮЧЕНИЕ ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[2] Материал прилагаемого перечня последовательностей настоящим включен в настоящую заявку посредством ссылки. Текстовый файл прилагаемого перечня последовательностей под названием CAEL2000_3WO_SL.txt был создан 24 августа 2021 года и имеет размер 10 кБ. Работа с файлом возможна с применением Microsoft Word на компьютере, на котором используется OS Windows.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[3] Настоящее изобретение относится в целом к амилоидозу и более конкретно к способам лечения амилоидозных заболеваний и нарушений с применением антител, которые связываются с неправильно свернутыми легкими цепями.

ИНФОРМАЦИЯ ИЗ УРОВНЯ ТЕХНИКИ

[4] Амилоидоз или амилоидное заболевание представляет собой редкое заболевание, которое возникает, когда амилоид накапливается в органах и мешает их нормальному функционированию. Амилоид обычно не встречается в организме, но он может образовываться из нескольких различных типов белка. Органы, которые могут быть поражены, включают сердце, почки, печень, селезенку, нервную систему, кожу и пищеварительный тракт. Амилоидоз легких цепей амилоида (AL-амилоидоз, AL или ALA), также называемый первичным амилоидозом, является наиболее распространенной формой системного амилоидоза в Соединенных Штатах Америки и составляет около 70% диагностированных случаев амилоидоза в развитых странах. Однако термин "амилоидоз" относится к кластеру заболеваний, которые характеризуются общим признаком, т. е. внеклеточным отложением патологических нерастворимых фибриллярных белков в органах и тканях. AL-амилоидоз вызывается нарушением функции клеток, продуцирующих антитела, что приводит к образованию аномальных белковых волокон, которые агрегируются с формированием нерастворимых амилоидных отложений в органах и тканях. При первичном амилоидозе фибриллы включают интактные фрагменты легких цепей иммуноглобулинов или фрагмент легких цепей, а при вторичном амилоидозе фибриллы включают белок амилоид А. Современная классификация амилоидоза основана на природе белков-предшественников плазмы крови, которые образуют отложение фибрилл.

[5] Белки-предшественники плазмы крови разнообразны и не родственны друг

другу. При этом из всех белков-предшественников образуются амилоиды, которые характеризуются фибриллярной морфологией с диаметром 7-13 нм, β -листовой вторичной структурой и способностью окрашиваться определенными красителями, такими как конго красный. Конечной стадией развития амилоидоза является отложение амилоидных фибрилл в органах пациента. Смертность при амилоидозе высока, в настоящее время пятилетняя выживаемость составляет приблизительно 28%.

[6] Наиболее эффективным лечением AL-амилоидоза является аутологичная трансплантация костного мозга со спасением стволовых клеток. Для пациентов, не подходящих для трансплантации стволовых клеток, используют нацеливающиеся химиотерапевтические средства для устранения первопричинной плазмоклеточной дисплазии (PCD) и остановки продуцирования неправильно свернутых легких цепей. Такие виды лечения основаны на обычной или высокодозной цитотоксической химиотерапии, такой как применяемая при множественной миеломе (например, комбинация мелфалана и дексаметазона, а также комбинация бортезомиба и дексаметазона). Однако поскольку фибриллярные отложения часто являются бессимптомными до тех пор, пока не образуется значительное отложение, маловероятно, что цитотоксическая химиотерапия будет проводиться до того, как образуются значительные отложения. Кроме того, поскольку цитотоксическая химиотерапия в лучшем случае эффективна только для остановки дальнейшего образования аномального белка-предшественника, но не для удаления имеющихся отложений, прогноз для пациентов с амилоидозом остается крайне неблагоприятным вследствие персистенции (или прогрессирования) патологических отложений и отсутствия улучшения и/или устранения дисфункции органов.

[7] В-клеточные лимфопролиферативные нарушения могут быть ассоциированы с системным AL-амилоидозом. AL-амилоидоз, ассоциированный с лимфопролиферативными нарушениями, по-видимому, вызывается легкими цепями моноклональных иммуноглобулинов, продуцируемых неопластическими В-клетками, которые возникают при этих нарушениях. Пациенты с системным амилоидозом характеризуются высокими уровнями М-белка, полиорганым поражением с частым поражением сердца и нефротическим синдромом. Среди описанных лимфопролиферативных нарушений, которые вызывают Ig-моноклональные гаммапатии, описаны макроглобулинемия Вальденстрема (также называемая лимфоплазмочитарной лимфомой), хронический лимфоцитарный лейкоз и другие лимфомы, ассоциированные с амилоидозом (типы неходжкинской лимфомы).

[8] Нативные антитела представляют собой молекулы иммуноглобулинов, которые содержат антигенсвязывающий сайт, который иммуноспецифически связывается с антигенами. Нативные антитела обычно представляют собой гетеротетрамерные гликопротеины, состоящие из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. Легкие цепи могут быть отнесены к подгруппам каппа (κ) и лямбда (λ) на основании аминокислотных последовательностей их константных доменов. В

зависимости от аминокислотной последовательности константного домена их тяжелых цепей иммуноглобулины могут представлять собой IgA, IgD, IgE, IgG или IgM. Химерное антитело представляет собой генетически химерный гетеродимер, в котором константные области тяжелой и легкой цепей получены от одного вида (обычно человека или примата, отличного от человека), а переменные области тяжелой и легкой цепей получены от другого вида (обычно мыши).

[9] Был разработан мышиний-человеческий химерный иммуноглобулин G1 к-изотипа, который специфически взаимодействует с амилоидными фибриллами человеческих легких цепей, независимо от их к- или λ -изотипа, но, что примечательно, не с нативными формами легкой цепи каппа или лямбда. Было показано, что антитело связывается с криптическим эпитопом на N-конце белков легких цепей, которые принимают ненативную β -листовую структуру, которая консервативна в неправильно свернутых легких цепях к и λ . Терапевтическое нацеливание на амилоидные отложения и их клиренс представляет собой область большого интереса для медицины, в которой до сих пор не существует одобренной терапии, и, следовательно, имеется значительная неудовлетворенная медицинская потребность. Композиции и способы, раскрытые в данном документе, удовлетворяют эту потребность.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[10] Настоящее изобретение основано на открытии того, что описанное в данном документе антитело, отдельно или в комбинации с дополнительной терапией, является эффективным для лечения амилоидных отложений, таких как амилоидозные заболевания и нарушения, включая амилоидозные отложения у пациентов с плазмоклеточным заболеванием или нарушением. Настоящее изобретение иллюстрируется без ограничения раскрытием в примерах в данном документе.

[11] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая антитело, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:2, и которое связывается с легкими цепями (также известное как CAEL101), одно или несколько изотонических средств, буфер и неионогенное поверхностно-активное вещество.

[12] В одном аспекте антитело связывается с неправильно свернутыми легкими цепями каппа и лямбда. В другом аспекте композиция содержит антитело, ацетат натрия, хлорид натрия, маннит и полисорбат 80. В некоторых аспектах антитело включает смесь молекул антитела, содержащую нативную фракцию, восстановленную фракцию и гликозилированную или дегликозилированную фракцию, любая из которых характеризуется гетерогенным зарядом. В других аспектах антитело включает смесь, содержащую интактные антитела, фрагменты полумера, фрагменты неполного антитела, другие фрагменты и/или их агрегаты.

[13] В другом варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ снижения количества амилоидных отложений у субъекта, включающий введение субъекту приблизительно 1000 мг/м^2 антитела, содержащего вариабельный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO:1, и вариабельный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO:2.

[14] В одном аспекте антитело вводят один раз в неделю в течение по меньшей мере 2, 3 или 4 недель. В других аспектах после этого субъекту дополнительно вводят поддерживающую дозу антитела. В различных аспектах поддерживающую дозу вводят один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в месяц через первые 2, 3, 4 или больше недель. В одном аспекте у субъекта впервые диагностировано амилоидозное заболевание или нарушение до введения антитела. В других аспектах субъект ранее получал лечение амилоидозного заболевания до введения антитела. В одном аспекте амилоидозное заболевание или нарушение выбрано из группы, состоящей из амилоидоза легких цепей (AL), аутоиммунного (AA) амилоидоза и наследственного (TTR) амилоидоза.

[15] В дополнительном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения амилоидозного заболевания или нарушения у субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по настоящему изобретению и дополнительного средства терапии.

[16] В одном аспекте вводимая доза антитела составляет от приблизительно 500 мг/м^2 до 1000 мг/м^2 . Во многих аспектах доза выбрана из приблизительно 500 мг/м^2 , приблизительно 750 мг/м^2 и приблизительно 1000 мг/м^2 . В одном аспекте недельная доза приблизительно 500 мг/м^2 антитела содержит приблизительно $12,5 \text{ мг/кг}$ антитела, недельная доза приблизительно 750 мг/м^2 антитела содержит приблизительно $18,75 \text{ мг/кг}$ антитела, и недельная доза 1000 мг/м^2 антитела содержит приблизительно 25 мг/кг антитела. В других аспектах введение приблизительно 500 мг/м^2 антитела включает введение приблизительно 1375 мг антитела, введение приблизительно 750 мг/м^2 антитела включает введение приблизительно 2065 мг антитела, и введение приблизительно 1000 мг/м^2 антитела включает введение приблизительно 2750 мг антитела. В одном аспекте при введении доз 500 мг/м^2 , 750 мг/м^2 и 1000 мг/м^2 достигается занятость сайта целевого рецептора, составляющая по меньшей мере 90%.

[17] В одном аспекте у субъекта имеется гематологическое заболевание. В одном аспекте антитело вводят до введения дополнительного средства терапии, одновременно с его введением или после его введения. В других аспектах антитело вводят путем внутривенной (IV) инфузии, подкожной инъекции или внутримышечной инъекции. В некоторых аспектах амилоидные отложения содержат агрегаты фибрилл легкой λ -цепи и/или фибрилл легкой κ -цепи. Во многих аспектах введение фармацевтической композиции индуцирует удаление амилоидных отложений, присутствующих в органе или ткани. В различных аспектах орган или ткань выбраны из группы, состоящей из сердца,

почки, печени, легкого, желудочно-кишечного тракта, нервной системы, скелетно-мышечной системы, мягкой ткани, кожи и любой их комбинации.

[18] В другом варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения амилоидозного заболевания или нарушения, поражающего почку, желудочно-кишечный тракт или сердце, у субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции, описанной в данном документе.

[19] В различных аспектах способ дополнительно включает введение субъекту дополнительного средства терапии. В некоторых аспектах дополнительная терапия включает циклофосфамид, бортезомиб, дексаметазон, даратумумаб, мелфалан, леналидомид, изатуксимаб, венетоклакс, трансплантацию стволовых клеток или их комбинацию.

[20] В другом варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения одного или нескольких симптомов амилоидозного заболевания или нарушения, поражающего кожу, у субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции, описанной в данном документе.

[21] В одном аспекте один или несколько симптомов амилоидоза, поражающего кожу, выбраны из выпадения волос, выпадения волос на лице и выпадения волос на теле.

[22] В дополнительном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ ингибирования и/или снижения агрегации легких цепей и амилоидных фибрилл у субъекта, включающий введение субъекту приблизительно 1000 мг/м² антитела, содержащего вариабельный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO:1, и вариабельный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO:2.

[23] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения амилоидозного заболевания или нарушения у субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции, описанной в данном документе.

[24] В одном аспекте введение фармацевтической композиции делает субъекта подходящим для трансплантации стволовых клеток. В другом аспекте субъекту дополнительно осуществляют трансплантацию стволовых клеток.

[25] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения амилоидоза у субъекта, у которого имеется множественная миелома, включающий введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее вариабельный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:1, и вариабельный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:2, и которое связывается с легкими цепями, за счет чего осуществляется лечение амилоидоза у субъекта.

[26] В одном аспекте антитело связывается с неправильно свернутыми легкими цепями каппа и лямбда. В другом аспекте фармацевтическая композиция дополнительно

содержит: (a) одно или несколько изотонических средств; (b) буфер и (c) неионогенное поверхностно-активное вещество. В некоторых аспектах изотоническое средство представляет собой ацетат натрия; буфер представляет собой хлорид натрия, и неионогенное поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 80. В других аспектах фармацевтическая композиция содержит 30 мг/мл антитела; приблизительно 25 мМ ацетата натрия; приблизительно 50 мМ хлорида натрия; приблизительно 1% маннита и приблизительно 0,01-0,05% полисорбата 80. В некоторых аспектах вводимая доза антитела составляет от приблизительно 500 мг/м² до 1000 мг/м². В различных аспектах доза выбрана из приблизительно 500 мг/м², приблизительно 750 мг/м² и приблизительно 1000 мг/м². В некоторых аспектах недельная доза приблизительно 500 мг/м² антитела содержит приблизительно 12,5 мг/кг антитела, недельная доза приблизительно 750 мг/м² содержит приблизительно 18,75 мг/кг антитела, и недельная доза приблизительно 1000 мг/м² антитела содержит приблизительно 25 мг/кг антитела. В одном аспекте введение приблизительно 500 мг/м² антитела включает введение приблизительно 1375 мг антитела, введение приблизительно 750 мг/м² антитела включает введение приблизительно 2065 мг антитела, и введение приблизительно 1000 мг/м² антитела включает введение приблизительно 2750 мг антитела. В другом аспекте при введении доз 500 мг/м², 750 мг/м² и 1000 мг/м² достигается занятость сайта мишени, составляющая по меньшей мере 90%. В одном аспекте антитело вводят один раз в неделю в течение по меньшей мере 2, 3 или 4 недель. В другом аспекте способ дополнительно включает последующее введение субъекту поддерживающей дозы антитела. В некоторых аспектах поддерживающую дозу вводят один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в месяц через первые 2, 3, 4 или больше недель. В других аспектах фармацевтическую композицию вводят путем внутривенной (IV) инфузии, подкожной инъекции или внутримышечной инъекции. В одном аспекте субъект на данный момент получает лечение множественной миеломы или ранее получал лечение множественной миеломы. В некоторых аспектах лечение множественной миеломы выбрано из группы, состоящей из химиотерапии, кортикостероида, иммуномодулирующего средства, ингибитора протеасом, ингибитора гистондеацетилазы (HDCA), иммунотерапии, ингибитора ядерного экспорта, трансплантации стволовых клеток, лучевой терапии, хирургического вмешательства и любой их комбинации.

[27] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения амилоидоза у субъекта, у которого имеется В-клеточное лимфопролиферативное нарушение, включающий введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:2, и которое связывается с легкими цепями, за счет чего осуществляется лечение плазмоклеточного заболевания у субъекта.

[28] В одном аспекте В-клеточное лимфопролиферативное нарушение выбрано из

группы, состоящей из множественной миеломы, макроглобулинемии Вальденстрема, хронического лимфоцитарного лейкоза, неходжкинской лимфомы и лимфом, ассоциированных с амилоидозом. В одном аспекте В-клеточное лимфопролиферативное нарушение представляет собой множественную миелому. В другом аспекте субъект на данный момент получает лечение В-клеточного лимфопролиферативного нарушения или ранее получал лечение В-клеточного лимфопролиферативного нарушения. В одном аспекте лечение В-клеточного лимфопролиферативного нарушения включает химиотерапию.

[29] В другом варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения амилоидоза у субъекта, у которого имеется плазмоклеточное заболевание, включающий введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:2, и которое связывается с легкими цепями, за счет чего осуществляется лечение плазмоклеточного заболевания у субъекта.

[30] В одном аспекте плазмоклеточное заболевание выбрано из группы, состоящей из В-клеточной лимфомы низкой степени злокачественности, моноклональной гаммапатии неясного генеза (MGUS) и множественной миеломы. В другом аспекте вводимая доза антитела составляет от приблизительно 500 мг/м² до 1000 мг/м². В некоторых аспектах доза выбрана из приблизительно 500 мг/м², приблизительно 750 мг/м² и приблизительно 1000 мг/м². В других аспектах антитело вводят один раз в неделю в течение по меньшей мере 2, 3 или 4 недель. В некоторых аспектах способ дополнительно включает последующее введение субъекту поддерживающей дозы антитела. В других аспектах фармацевтическую композицию вводят путем внутривенной (IV) инфузии, подкожной инъекции или внутримышечной инъекции. В некоторых аспектах субъект на данный момент получает лечение плазмоклеточного заболевания или ранее получал лечение плазмоклеточного заболевания. В других аспектах лечение плазмоклеточного заболевания включает химиотерапию.

[31] В дополнительном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ идентификации субъекта, у которого имеется множественная миелома, как кандидата для противоамилоидозного лечения, включающий идентификацию фибрилл при амилоидозе легких цепей (AL) и/или отложения амилоидного белка-предшественника у субъекта, где идентификация фибрилл при AL-амилоидозе и/или отложения амилоидного белка-предшественника у субъекта свидетельствует о вероятности ответа субъекта на противоамилоидозное лечение, и где противоамилоидозное лечение предусматривает применение антитела, содержащего переменный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ

ID NO:2, и которое связывается с легкими цепями, с идентификацией таким образом субъекта как кандидата для противоамилоидозного лечения.

[32] В одном аспекте субъект на данный момент получает лечение множественной миеломы или ранее получал лечение множественной миеломы. В другом аспекте способ дополнительно включает введение субъекту средства лечения множественной миеломы. В некоторых аспектах лечение множественной миеломы выбрано из группы, состоящей из химиотерапии, кортикостероида, иммуномодулирующего средства, ингибитора протеасом, ингибитора гистондеацетилазы (HDCA), иммунотерапии, ингибитора ядерного экспорта, трансплантации стволовых клеток, лучевой терапии, хирургического вмешательства и любой их комбинации.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[33] На **фигурах 1А-1С** проиллюстрированы результаты определения характеристик гетерогенности антител по заряду, оцененных тремя независимыми способами. На **фигуре 1А** показаны результаты определения характеристик гетерогенности антител по заряду посредством разделения методом капиллярного зонального электрофореза (CZE). На **фигуре 1В** показаны результаты определения характеристик гетерогенности антител по заряду посредством разделения методом капиллярного изоэлектрического фокусирования (сIEF). На **фигуре 1С** показаны результаты определения характеристик гетерогенности антител по заряду посредством катионообменной хроматографии (СЕХ).

[34] На **фигурах 2А-2В** проиллюстрировано сравнение концентраций отдельных антител в исследовании фазы 2 по сравнению с исследованием фазы 1b. На **фигуре 2А** представлен линейный график, демонстрирующий концентрации антител у пациентов. На **фигуре 2В** представлен линейный график, демонстрирующий концентрации антител у пациентов в полулогарифмическом масштабе.

[35] На **фигурах 3А-3В** проиллюстрировано сравнение средних концентраций отдельных антител в исследовании фазы 2 по сравнению с исследованием фазы 1b. На **фигуре 3А** представлен линейный график, демонстрирующий средние концентрации антител у пациентов в линейном масштабе. На **фигуре 3В** представлен линейный график, демонстрирующий средние концентрации антител у пациентов в полулогарифмическом масштабе.

[36] На **фигуре 4** представлен линейный график, иллюстрирующий средние концентрации антител в исследовании фазы 1b и определение C_{min} .

[37] На **фигуре 5** представлена гистограмма, иллюстрирующая оценку пропорциональности дозы для $C_{max}/\text{доза}$.

[38] На **фигуре 6** представлена гистограмма, иллюстрирующая оценку пропорциональности дозы для $C_{min}/\text{доза}$.

[39] На **фигуре 7** представлена гистограмма, иллюстрирующая оценку пропорциональности дозы для $AUC_t/\text{доза}$.

[40] На **фигурах 8A-8B** показаны последовательности тяжелой и легкой цепей антитела, включая области CDR. На **фигуре 8A** показана последовательность тяжелой цепи (SEQ ID NO:1). На **фигуре 8B** показана последовательность легкой цепи, включая области CDR (SEQ ID NO:2).

[41] На **фигуре 9** представлен график, иллюстрирующий глобальную продольную деформацию (GLS), % изменения от исходного уровня до 12 недель.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[42] Настоящее изобретение относится к открытию того, что описанные в данном документе антитела, отдельно или в комбинации дополнительной терапией, эффективны для лечения амилоидозных заболеваний и нарушений, включая амилоидозное отложение у пациентов, у которых имеется плазмоклеточное заболевание или нарушение. В некоторых аспектах амилоидозные заболевания могут быть рецидивирующими или рефрактерными.

[43] Перед описанием композиций и способов по настоящему изобретению следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается конкретными описанными композициями, способами и экспериментальными условиями, поскольку такие композиции, способы и условия могут варьироваться. Также следует понимать, что терминология, используемая в данном документе, предназначена исключительно для описания конкретных вариантов осуществления и не является ограничивающей, поскольку объем настоящего изобретения будет ограничиваться только прилагаемой формулой изобретения.

[44] Как используется в настоящем описании и прилагаемой формуле изобретения, формы единственного числа предусматривают ссылки на множественное число, если в контексте явно не указано иное. Так, например, ссылки на "способ" включают один или несколько способов и/или стадий описанного в данном документе типа, которые станут очевидными для специалистов в данной области техники после прочтения настоящего раскрытия и т. д.

[45] Все публикации, патенты и заявки на патенты, упомянутые в настоящем описании, включены в данный документ посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент или заявка на патент были специально и индивидуально указаны как включенные посредством ссылки.

[46] Если не определено иное, все технические и научные термины в контексте настоящего документа имеют аналогичное значение, которое обычно понимает рядовой специалист в данной области техники, к которой принадлежит настоящее изобретение. Хотя любые способы и материалы, аналогичные или эквивалентные описанным в данном документе, могут быть использованы в осуществлении на практике или тестировании настоящего изобретения, следует понимать, что модификации и вариации охватываются сущностью и объемом настоящего изобретения. Далее описаны предпочтительные способы и материалы.

[47] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрена композиция, содержащая антитело, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:2, и которое связывается с легкими цепями, одно или несколько изотонических средств, буфер и неионогенное поверхностно-активное вещество.

[48] Антитело по настоящему изобретению используют для лечения амилоидозных заболеваний и нарушений. Антитело состоит из четырех полипептидов: двух идентичных копий полипептида тяжелой (H) цепи и двух копий полипептида легкой (L) цепи. Существует 5 типов тяжелых цепей: IgG, IgM, IgA, IgD или IgE, и две возможных легких цепи: каппа (κ) или лямбда (λ). Каждая тяжелая цепь содержит одну N-концевую переменную (V_H) область и три C-концевые константные (CH1, CH2 и CH3) области, и каждая легкая цепь содержит одну N-концевую переменную (V_L , или V_{κ} , или V_{λ} , или V_{κ}) область и одну C-концевую константную (CL) область. Каждый переменный домен легкой и тяжелой цепи в антителе также содержит три сегмента, называемые определяющими комплементарность областями ("CDR") или гиперпеременными областями. Каждая CDR в легкой цепи вместе с соответствующей CDR в соседней тяжелой цепи образуют антигенсвязывающий сайт антитела. Переменные области каждой пары легкой и тяжелой цепей образуют антигенсвязывающий сайт антитела, в то время как константная область обеспечивает структурную поддержку и модулирует иммунный ответ, инициированный связыванием антигена.

[49] Описанное в данном документе антитело содержит область V_{κ} (SEQ ID NO: 2) и область V_H (SEQ ID NO: 1), как показано в таблице 1 ниже и на **фигуре 8**. Последовательности CDR тяжелой и легкой цепей представлены в таблице 2 и на **фигуре 8**.

[50] Таблица 1. Переменные последовательности моноклонального антитела

SEQ NO:2	ID	Область V_{κ} :
		DVVMTQTPLSLPVS LGDQASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWYLQKPGQ SPKLLIYKVS NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGLYFCFQT TYVPNTFGGGTKLEIK
SEQ NO:1	ID	Область V_H :
		QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLSSYGVS WVRQPPGKGLEWL GVIWGDGSTNYHPNLSRLSISKDISKSQVLFKLNSLQTDDTATYYC VTLDYWGQGTSTVTVSS

[51] Таблица 2. Последовательности CDR моноклонального антитела

SEQ ID NO:3	CDRL1
	SSQSLVHRNGNTYLHWY
SEQ ID NO:4	CDRL2
	KVSNRF
SEQ ID NO:5	CDRL3
	QTTYVP
SEQ ID NO:6	CDRH1
	SYGVSWV
SEQ ID NO:7	CDRH2
	PNLMSRLSISKD
SEQ ID NO:8	CDRH3
	DYWGQG

[52] Гены, кодирующие области V_H и V_K , могут быть клонированы для получения химерного антитела с применением известных последовательностей C_H и C_K человеческого антитела. Считается, что антитело по настоящему изобретению связывается с эпитопом, экспрессируемым β -складчатой листовой конфигурацией амилоидов, а также с AL-амилоидными фибриллами.

[53] Раскрытые антитела могут содержать любые типы человеческих константных областей и/или каркасных областей. Например, раскрытые гуманизированные и химерные антитела могут содержать константные области и/или каркасные области человеческого IgG (включая IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4), IgA, IgE, IgF, IgH или IgM. В одном аспекте раскрытое антитело содержит константную область человеческого IgG1.

[54] Антитела могут быть расщеплены с помощью протеолитического фермента папаина, который вызывает разрыв каждой из тяжелых цепей с получением трех отдельных фрагментов антитела. Две идентичные единицы, которые состоят из легкой цепи и фрагмента тяжелой цепи, примерно равного по массе легкой цепи, называются Fab-фрагментами (т. е. "антигенсвязывающими" фрагментами). Третья единица, состоящая из двух равных сегментов тяжелой цепи, называется Fc-фрагментом. Fc-фрагмент обычно не участвует в связывании антигена с антителом, но важен для последующих процессов, вовлеченных в выведение антигена из организма. "Fv" представляет собой минимальный фрагмент антитела, который содержит полный антигенраспознающий и антигенсвязывающий сайт. Эта область состоит из димера переменного домена одной тяжелой и одной легкой цепей в плотной нековалентной ассоциации. Именно в такой конфигурации три CDR каждого переменного домена взаимодействуют для определения антигенсвязывающего сайта на поверхности димера $VH-VL$. В совокупности шесть CDR придают антителу специфичность связывания антигена. Однако даже один переменный домен (или половина Fv, содержащего только три CDR, специфических в отношении антигена) обладает способностью распознавать и

связывать антиген, хотя и с более низкой аффинностью, чем весь связывающий сайт. "Одноцепочечные Fv"- или "sFv"-фрагменты антител содержат VH- и VL-домены антитела, где эти домены присутствуют в одной полипептидной цепи. Предпочтительно полипептид Fv дополнительно содержит полипептидный линкер между VH- и VL-доменами, который позволяет sFv образовывать требуемую структуру для связывания антигена. Обзор sFv см. в Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).

[55] В некоторых аспектах раскрытые антитела содержат одну или более замен, вставок или делеций, при условии, что антитело сохраняет способность связываться с амилоидными фибриллами (например, фибриллами легкой цепи каппа и/или лямбда). Например, в некоторых аспектах антитело по настоящему изобретению содержит тяжелую и легкую цепи с приблизительно 85%, приблизительно 86%, приблизительно 87%, приблизительно 88%, приблизительно 89%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98%, приблизительно 99% или приблизительно 100% идентичностью по сравнению с соответствующими последовательностями тяжелой и легкой цепей, раскрытыми в данном документе, при условии, что антитело сохраняет способность связываться с амилоидными фибриллами. В других аспектах антитело по настоящему изобретению содержит CDR, которые характеризуются приблизительно 85%, приблизительно 86%, приблизительно 87%, приблизительно 88%, приблизительно 89%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98%, приблизительно 99% или приблизительно 100% идентичностью по сравнению с соответствующими последовательностями CDR, раскрытыми в данном документе, при условии, что антитело сохраняет способность связываться с амилоидными фибриллами.

[56] Раскрытые в настоящем изобретении антитела способны связывать и нейтрализовывать токсичные циркулирующие амилоидные белки, которые еще не образовали отложения или фибриллы, и способны растворять амилоидные отложения. Действительно, было продемонстрировано, что соответствующие мышинные и химерные антитела связываются с фибриллами и растворяют амилоидомы человека у мышей.

[57] Антитело, применимое в композициях и способах по настоящему изобретению, может представлять собой моноклональное антитело, содержащее последовательности CDR под SEQ ID NO: 3-8. Эти антитела связываются с эпитопом, представленным β -складчатой листовой конфигурацией амилоидных фибрилл. В одном аспекте антитело по настоящему изобретению связывается с неправильно свернутыми легкими цепями каппа и лямбда. Как используется в данном документе, "связывание с неправильно свернутыми легкими цепями" относится к специфичности связывания антитела, которое распознает и связывается с аномальными легкими цепями (каппа и лямбда), но не распознает и не связывается с неагрегированными или свободными

легкими цепями, которые правильно свернуты (в нативной и типичной конформации). Нативная легкая цепь или ее фрагменты являются функциональными пептидами, которые обычно подвергаются деградации путем протеолиза. При неправильном сворачивании пептид может потерять свою физиологическую структуру и функцию; конформационное изменение делает пептид нефункциональным и более стабильным, предотвращая его деградацию путем протеолиза. Накопленные неправильно свернутые легкие цепи способны агрегировать друг с другом с образованием амилоидных фибрилл, затем могут продолжать агрегировать друг с другом или с дополнительными неправильно свернутыми легкими цепями. Амилоидные фибриллы представляют собой фиброзные отложения, которые клетки не способны подвергать деградации и которые, накапливаясь в бляшках вокруг клеток, нарушают здоровое функционирование тканей и органов. Амилоидные отложения, как правило, содержат агрегированные неправильно свернутые легкие цепи каппа или неправильно свернутые легкие цепи лямбда у данного пациента, и обычно в агрегате не содержатся оба типа легких цепей каппа и лямбда. Антитело по настоящему изобретению распознает как легкие цепи каппа, так и легкие цепи лямбда в их неправильно свернутой конформации и не распознает цепь каппа или лямбда в ее физиологической конформации (правильно свернутые легкие цепи). Для распознавания антителом не требуется, чтобы агрегат содержал как неправильно свернутые легкие цепи каппа, так и неправильно свернутые легкие цепи лямбда.

[58] Композиция может содержать одно или несколько изотонических средств, например, композиция может содержать 1, 2, 3, 4 или больше изотонических средств. В некоторых аспектах одно или несколько изотонических средств выбраны из сахаров, многоатомных спиртов, таких как маннит, сорбит, или хлорида натрия.

[59] Композиция может содержать буфер, чтобы поддерживать практически постоянное значение pH композиции в широком ряду путей химического применения. В некоторых аспектах буфер представляет собой ацетат натрия.

[60] Композиция может содержать неионогенное поверхностно-активное вещество для снижения поверхностного натяжения или межфазного натяжения. Например, композиция может содержать неионогенное поверхностно-активное вещество, выбранное из этоксилата, этоксилатов жирных спиртов (таких как этоксилат узкого диапазона, монододециловый эфир октаэтиленгликоля и монододециловый эфир пентаэтиленгликоля), этоксилатов алкилфенолов (APE или APEO, таких как ноноксинолы и Triton X-100), этоксилатов жирных кислот, специальных этоксилированных сложных эфиров жирных кислот и масел, этоксилированных аминов и/или амидов жирных кислот (таких как полиэтоксилированный талловый амин, кокамид моноэтаноламин и кокамид диэтаноламин), этоксилатов, блокированных на концах (таких как полуксамеры), сложных эфиров жирных кислот и полигидроксисоединений, сложных эфиров жирных кислот и глицерина (таких как моностеарат глицерина и монолаурат глицерина), сложных эфиров жирных кислот и сорбита (таких как span: монолаурат сорбитана, моностеарат сорбитана и тристеарат сорбитана, а также Tween или полисорбаты: Tween 20, Tween 40, Tween 60 и

Tween 80), сложных эфиров жирных кислот и сахарозы и алкилполиглюкозидов (таких как цецилглюкозид, лаурилглюкозид и октилглюкозид).

[61] В одном аспекте композиция содержит антитело, описанное в данном документе, ацетат натрия, хлорид натрия, маннит и полисорбат 80.

[62] В одном аспекте композиция содержит от приблизительно 20 до 40 мг/мл антитела. В другом аспекте композиция содержит от приблизительно 15 до 35 мМ ацетата натрия. В еще одном аспекте композиция содержит от приблизительно 25 до 75 мМ хлорида натрия. В одном аспекте композиция содержит от приблизительно 0,5 до 5% маннита. В другом аспекте композиция содержит от приблизительно 0,001 до приблизительно 0,1% полисорбата 80. В еще одном аспекте композиция характеризуется рН от приблизительно 5 до 6.

[63] В одном варианте осуществления композиция содержит приблизительно 30 мг/мл антитела; приблизительно 25 мМ ацетата натрия; приблизительно 50 мМ хлорида натрия; приблизительно 1% маннита; приблизительно 0,01-0,05% полисорбата 80 и характеризуется рН приблизительно 5,5.

[64] В одном аспекте композиция содержит 30 мг/мл антитела, приблизительно 25 мМ ацетата натрия, приблизительно 50 мМ хлорида натрия, приблизительно 1% маннита, приблизительно 0,01-0,05% полисорбата 80 и характеризуется рН приблизительно 5,5, например, во флаконе или ампуле.

[65] В другом аспекте антитело представляет собой смесь молекул антитела, содержащую нативную фракцию, восстановленную фракцию и гликозилированную или дегликозилированную фракцию, характеризующуюся гетерогенным зарядом. Смесь молекул антитела может содержать молекулы с нативной структурой (определяющей нативную фракцию), восстановленной структурой (определяющей восстановленную фракцию) и гликозилированной или дегликозилированной структурой (определяющей вариабельно гликозилированную или дегликозилированную фракцию), любые из которых характеризуются гетерогенным зарядом.

[66] Посттрансляционные модификации (РТМ), индуцируемые химическими и ферментативными внутри- и внеклеточными механизмами, могут влиять на микрогетерогенность и гетерогенность рекомбинантных антител по заряду и таким образом влиять на такие важные характеристики качества, как стабильность, растворимость, эффективность, безопасность, фармакодинамика и фармакокинетика. Линия рекомбинантных клеток, культуральная среда и параметры процесса также могут влиять на эти характеристики качества. Распределение вариантов с поверхностным зарядом также является важным показателем гетерогенности антител.

[67] Вариации заряда белков различаются в зависимости от типа модификации; некоторые РТМ непосредственно модифицируют суммарный заряд белков, в то время как другие индуцируют конформационные изменения и вариацию локального распределения заряда. Заряженные разновидности с более низкой изоэлектрической точкой (рI), чем основная фракция продукта, определяются как кислые варианты и образуются в

результате сиаилирования, дезамидирования аспарагина и глутамина, гликирования и других механизмов. Например, гликирование представляет собой неферментативную реакцию, при которой молекула восстанавливающего сахара, чаще всего глюкозы, ковалентно связывается с реакционноспособной аминогруппой. Основные варианты определяются как разновидности с более высокой рI, чем у основной фракции, и образуются в результате неполного отщепления C-концевого лизина тяжелых цепей, а также в результате фрагментации и агрегации. Циклизация N-концевых глутаминов с образованием пироглутаминовых кислот является еще одним примером потери положительного заряда антител путем превращения N-концевого амина в нейтральный амид. Дезамидирование представляет собой общий путь деградации белков, в котором неферментативно модифицируются остатки аспарагина до аспарагиновой кислоты и/или изоаспарагиновых остатков и/или сукцинимидных промежуточных соединений, что приводит к появлению отрицательного заряда. Некоторые другие РТМ влияют на локальное распределение заряда без изменения суммарного заряда белков, например, окисление метионина или изомеризация аспарагиновой кислоты, приводящая к вставке дополнительной метильной группы в остов белка с образованием изоаспарагиновой кислоты. Модификации профилей заряда могут потенциально влиять на структуру и биологическую активность белков. Другие РТМ, которые могут повлиять на функциональность антитела по настоящему изобретению, включают фукулозу и маннозу, которые могут соответственно генерировать фукозилированные и маннозилированные антитела или их фрагменты.

[68] Композиция по настоящему изобретению содержит антитело, которое может присутствовать в нескольких формах, каждая из которых образует определенную фракцию композиции на основе антитела. Например, антитело может присутствовать в нативной форме, которая является основной формой антитела в отсутствие какого-либо стресса и которая представляет собой основную фракцию. Антитело также может присутствовать в восстановленной форме или в восстановленной и дегликозилированной форме, которые представляют собой восстановленную фракцию, а также восстановленную и дегликозилированную фракцию соответственно.

[69] В одном аспекте нативная фракция содержит сиаилированные разновидности, нейтральные разновидности и/или галактозилированные, фукозилированные и/или маннозилированные нейтральные разновидности. Другие гликозилированные формы могут предусматривать фукозилированные и нефукозилированные формы, а также формы с высоким содержанием маннозы. Поскольку интактные антитела являются гетеродимерными и содержат две молекулы тяжелой цепи, гликозилирование каждой цепи в интактном антителе может быть одинаковым или отличаться от гликозилирования другой тяжелой цепи. В другом аспекте восстановленная фракция содержит легкие цепи с гликозилированными лизинами. Подразумевается, что используемая в данном документе фраза "легкая цепь с гликированными лизинами" означает различные уровни

гликирования лизинов. Например, ни один лизин, один лизин, несколько лизинов или все лизины легкой цепи могут быть гликированы.

[70] Анализ распределения поверхностного заряда моноклональных антител предоставляет совокупную информацию об этих модификациях. Общепринятые аналитические методы определения гетерогенности заряда антител включают капиллярное изоэлектрическое фокусирование (сIEF) и ионообменную хроматографию (IEX). Оба способа широко используются, но способы IEX, в которых используется солевое градиентное элюирование, признаны стандартом и используются повсеместно. Основным ограничением IEX является солевая буферная система, которая должна быть адаптирована для каждого антитела. Однако было показано, что применение градиентов pH не зависит от продукта, и для определения гетерогенности антитела по заряду можно также использовать метод катионообменной хроматографии (CEX) с линейным градиентом pH. В этих исследованиях сообщается о влиянии принудительной стрессовой деградации при повышенной температуре или щелочном pH на заряженные варианты mAb. Явления деградации, наблюдаемые при таких стрессах, главным образом приводят к повышению уровня кислых разновидностей, отражающих реакции дезамидирования или окисления белков. Гетерогенность по заряду также может быть определена посредством разделением методом капиллярного зонального электрофореза (CZE).

[71] В одном аспекте антитело представляет собой смесь, содержащую интактные антитела, фрагменты полумера, фрагменты неполного антитела, другие фрагменты и/или их агрегаты. В некоторых аспектах полумер представляет собой молекулу антитела, которая содержит одну или две тяжелые цепи (HC) и одну легкую цепь (LC). В других аспектах неполное антитело представляет собой антитело, в котором отсутствует C-концевая область HC. В некоторых аспектах другой фрагмент содержит HC, сохраняющую C-концевой лизин. В различных аспектах агрегаты антител или фрагменты антител могут сохранять или не сохранять C-концевой лизин.

[72] Композиция может быть составлена для внутривенного, подкожного, внутрибрюшинного, внутримышечного, перорального, назального, легочного, глазного, вагинального или ректального введения. В некоторых вариантах осуществления антитела составляют для внутривенного, подкожного, внутрибрюшинного или внутримышечного введения, например, в виде раствора, суспензии, эмульсии, состава на основе липосом и т. п.

[73] Фармакологически приемлемые носители для различных лекарственных форм известны из уровня техники. Например, известны вспомогательные вещества, смазывающие средства, связующие и разрыхляющие средства для твердых препаратов; известны растворители, солюбилизующие средства, суспендирующие средства, средства, обеспечивающие изотоничность, буферы и смягчающие средства для жидких препаратов. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции содержат один или несколько дополнительных компонентов, таких как один или несколько консервантов, антиоксидантов, стабилизирующих средств и т. п.

[74] Кроме того, раскрытые фармацевтические композиции могут быть составлены в виде раствора, микроэмульсии, липосомы или другой упорядоченной структуры, подходящей для высокой концентрации лекарственного средства. Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, этанол, многоатомный спирт (например, глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль и т. п.) и их подходящие смеси.

[75] Стерильные инъекционные растворы можно получить путем включения активного соединения в необходимом количестве в соответствующий растворитель с одним или комбинацией перечисленных выше ингредиентов, при необходимости с последующей стерилизацией посредством микрофльтрации. Обычно дисперсии получают путем включения активного соединения в стерильную среду-носитель, которая содержит основную дисперсионную среду и другие необходимые ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для получения стерильных инъекционных растворов предпочтительными способами получения являются вакуумное высушивание и сублимация (лиофилизация), которые позволяют получить порошок активного ингредиента плюс любой дополнительный требуемый ингредиент из его раствора, предварительно подвергнутого стерилизующей фильтрации.

[76] В настоящем изобретении антитело вводят субъекту (например, пациенту-человеку), страдающему амилоидозным заболеванием или нарушением, для ускорения деградации и удаления по меньшей мере некоторых амилоидных фибрилл, которые отложились в органах пациента и/или циркулируют в кровотоке пациента. В различных вариантах осуществления в настоящем изобретении предусмотрены способы лечения, включающие введение антитела, описанного в данном документе. В некоторых аспектах вводят терапевтически эффективное количество антитела. Типичным путем введения является парентеральный (например, внутривенный, подкожный или внутримышечный), как хорошо известно специалистам в области медицины. Разумеется, возможны и другие пути введения. Введение может осуществляться в виде одной или нескольких доз, отдельно или в комбинации с дополнительной терапией, как обсуждается ниже. Количество вводимого антитела и частота введения дозы могут быть оптимизированы врачом для конкретного пациента.

[77] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ снижения количества амилоидных отложений у субъекта, включающий введение субъекту приблизительно 1000 мг/м^2 антитела, содержащего переменный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO:2.

[78] Существует множество различных типов амилоидозных заболеваний и нарушений, включая наследственные и спорадические формы, которые вызываются внешними факторами, такими как воспалительные заболевания или длительный диализ. Амилоидоз может поражать разные органы у разных людей, и существуют различные

типы амилоида. Амилоидоз часто поражает сердце, почки, печень, селезенку, нервную систему и пищеварительный тракт. Тяжелый амилоидоз может привести к недостаточности органов, угрожающей жизни. Многие типы поражают несколько органов, в то время как другие поражают только одну часть тела. Признаки и симптомы амилоидоза могут включать без ограничения отек лодыжек и ног; сильную утомляемость и слабость; одышку; онемение, покалывание или боль в руках или ступнях, особенно боль в запястье (синдром запястного канала); диарею, возможно с кровью, или запор; непреднамеренную значительную потерю веса; увеличенный язык; изменения кожи, такие как утолщение или легкое появление синяков и пурпурные пятна вокруг глаз; нерегулярное сердцебиение или затрудненное глотание.

[79] В целом, амилоидоз вызывается накоплением и агрегацией неправильно свернутых белков легких цепей или их фрагментов. Амилоид может образовываться и откладываться в любой ткани или органе. Конкретная причина состояния и пораженные органы зависят от типа амилоидоза. Существует несколько типов амилоидоза или амилоидных заболеваний, включая AL-амилоидоз, AA-амилоидоз, наследственный амилоидоз, амилоидоз дикого типа и локализованный амилоидоз.

[80] AL-амилоидоз (амилоидоз легких цепей иммуноглобулина), или первичный амилоидоз, является наиболее распространенным типом и может поражать сердце, почки, кожу, нервы и печень. AL-амилоидоз возникает, когда костный мозг продуцирует аномальные антитела, которые не могут быть расщеплены. Антитела откладываются в различных тканях в виде амилоидных бляшек, которые препятствуют нормальному функционированию ткани или органа.

[81] AA-амилоидоз, или вторичный амилоидоз, обычно поражает почки, но иногда также поражает пищеварительный тракт, печень, селезенку или сердце. Он часто возникает вместе с хроническими инфекционными или воспалительными заболеваниями, такими как ревматоидный артрит или воспалительное заболевание кишечника. Улучшенные виды лечения тяжелых воспалительных состояний привели к резкому снижению числа случаев AA-амилоидоза в развитых странах.

[82] Наследственный амилоидоз (семейный амилоидоз) представляет собой наследственное нарушение, которое обычно поражает печень, нервы, сердце и/или почки. Многие различные типы генных аномалий, присутствующих при рождении, ассоциированы с повышенным риском развития амилоидного заболевания или наследственного амилоидоза. Тип и расположение генной амилоидной аномалии может влиять на риск развития определенных осложнений, возраст, при котором впервые появляются симптомы, и на то, как заболевание прогрессирует с течением времени. Наиболее часто это происходит при мутации гена, кодирующего белок транстиретин (TTR) печени.

[83] Амилоидоз дикого типа представляет собой подтип амилоидоза, который возникает, когда уровень белка TTR, вырабатываемого печенью, в норме, но по неизвестным причинам продуцируется амилоид. Ранее известный как старческий

системный амилоидоз, амилоидоз дикого типа обычно поражает мужчин старше 70 лет и, как правило, нацеливается на сердце. Он также может вызывать синдром запястного канала.

[84] Локализованный амилоидоз. Этот тип амилоидоза часто характеризуется лучшим прогнозом, чем подтипы, которые поражают несколько систем органов. Типичные участки локализованного амилоидоза включают мочевой пузырь, кожу, горло или легкие.

[85] В различных аспектах антитело, описанное в данном документе, может быть использовано для лечения любых нарушений, связанных с неправильно свернутыми белками, включая AL, AA, TTR, амилоидоз дикого типа и локализованный амилоидоз. В одном аспекте амилоидоз выбран из группы, состоящей из амилоидоза легких цепей (AL), аутоиммунного (AA) амилоидоза и наследственного (TTR) амилоидоза.

[86] Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может быть использована для лечения любого типа амилоидоза. Используемая в данном документе фраза "снижение количества амилоидных отложений" означает либо снижение количества отложений, уменьшение размера отложения, активную деконструкцию амилоидных фибрилл, ингибирование агрегации легких цепей с амилоидными фибриллами, и/или ингибирование образования нового амилоидного отложения у субъекта.

[87] Снижение количества амилоидных отложений обычно основывается на введении "терапевтически эффективного количества" антитела, описанного в данном документе, что означает дозу антитела или концентрацию в плазме крови субъекта соответственно, которая обеспечивает специфический фармакологический эффект, для которого антитело вводят субъекту, нуждающемуся в таком лечении, т. е. для уменьшения, снижения или уменьшения до нуля количества, размера и способности амилоидных фибрилл к агрегации. Следует подчеркнуть, что терапевтически эффективное количество или терапевтический уровень лекарственного средства не всегда будет эффективным в лечении состояний/заболеваний, описанных в данном документе, даже если такая дозировка считается терапевтически эффективным количеством специалистами в данной области техники. Терапевтически эффективное количество может варьироваться в зависимости от пути введения и лекарственной формы, возраста и веса субъекта и/или состояния субъекта, включая тип и стадию амилоидоза на момент начала лечения, среди прочих факторов.

[88] Терапевтически эффективное количество может представлять собой дозу или количество, достаточное для индукции "терапевтического ответа" у субъекта, такого как улучшение по меньшей мере одного показателя амилоидного заболевания, например, уменьшение размера имеющихся амилоидных отложений или бляшек, снижение скорости отложения амилоида или улучшение функции органа, как измерено посредством стандартных методик. Например, у пациентов с амилоидными отложениями в сердце на улучшение функции органа (т. е. терапевтический ответ) может указывать снижение уровня N-концевого натрийуретического пептида типа про b (NT-proBNP) у пациента или

снижение уровня функциональной классификации Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA) у пациента. Улучшение функции сердца также может быть оценено путем измерения уровней сердечного тропонина, путем МРТ-анализа сердца и эхокардиограммы. У пациентов с амилоидными отложениями в почках на улучшение функции органа (т. е. терапевтический ответ) может указывать снижение протеинурии или скорости выведения белка с мочой и расчетной скорости клубочковой фильтрации (eGFR). У пациентов с амилоидными отложениями в печени на улучшение состояния органа может указывать снижение абдоминальной дистензии, гепатомегалии, асцита и/или олигурии. Улучшение состояния печени может быть выявлено по повышению уровней щелочной фосфатазы (ALP) и/или уровней у-глутамилтрансферазы (GGT) в сыворотке крови. Улучшение других показателей, таких как гиперлипидемия, нарушения свертывания крови, тромбоцитопения, протромбиновое время (PT), скорость оседания эритроцитов, уровень аланинаминотрансферазы (ALT) и/или аспартатаминотрансферазы (AST), сывороточного альбумина и уровни фрагментов комплемента, также могут указывать на улучшение функции печени, если эти параметры оценены до какого-либо лечения, поскольку они не характеризуются специфичностью в отношении печеночного амилоидоза. У пациентов с амилоидными отложениями в желудочно-кишечном (GI) тракте на улучшение состояния органа может указывать снижение симптомов, вызываемых отложениями, таких как изменение моторики, желудочно-кишечное кровотечение, мальабсорбция, потеря веса, анорексия, рвота, тошнота, гематомы, эрозии и изъязвления или узелковый гастрит. Такое улучшение может быть оценено с применением традиционной визуализации (например, эхографии, томографа для компьютерной томографии, рентгеновского анализа, эндоскопии и т. п.).

[89] Амилоидные отложения могут также возникать в нервах или в непосредственной близости от них, что может привести к амилоидным нейропатиям, таким как сенсомоторная полинейропатия, характеризующаяся симптомами нейропатической боли, онемения, а в случаях поздней стадии - слабости. Такие симптомы начинают проявляться в стопах и в конечном итоге распространяются на проксимальные отделы ног и рук (включая латеральные части ладони и пальцы). У пациентов с амилоидными нейропатиями улучшение может быть оценено посредством электрофизиологических тестов, таких как исследования нервной проводимости (NCS), электромиография (EMG), тестирование вегетативных функций (AFT) и количественное тестирование судомоторного аксон-рефлекса (QSART).

[90] Используемые в данном документе термины "индивидуум", "пациент" или "субъект" могут использоваться взаимозаменяемо и относятся к отдельному организму, позвоночному, млекопитающему (например, крупному рогатому скоту, собаке, кошке или лошади) или человеку, которому вводят антитело по настоящему изобретению. В предпочтительном варианте осуществления индивидуум, пациент или субъект является человеком.

[91] Антитело по настоящему изобретению может быть введено любому субъекту,

у которого имеется амилоидоз, независимо от лечения, полученного ранее, если таковое имело место, до введения описанного в данном документе антитела. Антитело можно вводить независимо от того, лечили ли амилоидозное заболевание или нарушение ранее или никогда не лечили.

[92] В одном аспекте у субъекта впервые диагностировано амилоидозное заболевание или нарушение до введения антитела. В других аспектах субъект ранее получал лечение амилоидозного заболевания или нарушения до введения антитела.

[93] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения амилоидозного заболевания или нарушения у субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по настоящему изобретению и дополнительного средства терапии.

[94] Термины "лечение" или "осуществление лечения" означают уменьшение, снижение или устранение одного или нескольких симптомов или эффектов амилоидоза, включая без ограничения клиренс или деградацию амилоидных бляшек или отложений, улучшение функции органов, пораженных заболеванием (например, сердца, почки, печени и т. п.), и увеличение продолжительности жизни пациента или 5-летней выживаемости. Используемая в данном документе фраза "лечение амилоидоза" означает лечение любого заболевания или нарушения, которое характеризуется накоплением амилоидного отложения в ткани или органе. Такое лечение может быть эффективным для удаления существующих амилоидных отложений, облегчения очистки органов и тканей от амилоидных отложений, ингибирования агрегации амилоидных фибрилл с неправильно свернутыми легкими цепями, предотвращения агрегации амилоидных фибрилл и предупреждения будущего амилоидного отложения в органах и тканях.

[95] Термины "введение" и "осуществление введения" следует понимать как предоставление антитела по настоящему изобретению в терапевтически эффективном количестве субъекту, нуждающемуся в лечении. Пути введения включают без ограничения внутрисердечное, подкожное, внутривенное, внутрибрюшинное, внутриартериальное, интратекальное, внутрикапсульное, интраорбитальное, внутрисердечное, интрадермальное, трансдермальное, транстрахеальное, подкожное, внутриартикулярное, подкапсульное, субарахноидальное, внутриспинальное и интрастернальное, пероральное, подязычное, буккальное, ректальное, вагинальное, назальное, глазное введение, а также инфузию, ингаляцию и небулизацию.

[96] В одном аспекте антитело вводят путем внутривенной (IV) инфузии, подкожной инъекции или внутримышечной инъекции.

[97] В некоторых аспектах введение может осуществляться в комбинации с одной или несколькими дополнительными средствами терапии. Фразы "комбинированная терапия", "в комбинации с" и подобные относятся к применению более чем одного лекарственного препарата или средства лечения одновременно для усиления ответа. Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может, например, использоваться в комбинации с другими лекарственными средствами или лечением,

применяемыми для лечения амилоидоза. В частности, введение фармацевтической композиции, содержащей антитело по настоящему изобретению, субъекту может осуществляться в комбинации с терапией, направленной на плазматические клетки, такой как циклофосфамид, бортезомиб, дексаметазон, даратумумаб, мелфалан, леналидомид, изатуксимаб, венетоклакс, трансплантация стволовых клеток или их комбинация. Такие средства терапии могут быть введены до введения антитела или композиции на основе антитела по настоящему изобретению, одновременно с их введением или после их введения.

[98] Циклофосфамид представляет собой химиотерапевтическое средство, которое подавляет иммунную систему. Циклофосфамид может индуцировать образование сшивок ДНК как между нитями ДНК, так и внутри них в положениях N-7 гуанина в клетках, которые характеризуются низкими уровнями ALDH. Сшивки ДНК необратимы и приводят к апоптозу клеток. Циклофосфамид индуцирует благоприятные иммуномодулирующие эффекты в адаптивной иммунотерапии, в частности путем устранения регуляторных Т-клеток (CD4+ CD25+ Т-клеток).

[99] Бортезомиб представляет собой противораковый лекарственный препарат, который с высокой аффинностью и специфичностью связывает каталитический сайт 26S протеасомы. Ингибируя протеасому, бортезомиб предотвращает деградацию проапоптотических факторов, запуская таким образом запрограммированную клеточную смерть в неопластических клетках.

[100] Дексаметазон представляет собой лекарственный препарат на основе кортикостероида, используемый в лечении многих состояний, включая ревматические проблемы, ряд кожных заболеваний, тяжелые аллергии, астму, хроническую обструктивную болезнь легких, круп, отек головного мозга, боль в глазах после хирургического вмешательства на глазах, а также вместе с антибиотиками при туберкулезе.

[101] СуVorD представляет собой комбинацию циклофосфамида, бортезомиба и дексаметазона, которую обычно используют в лечении множественной миеломы.

[102] Даратумумаб представляет собой моноклональное антитело IgG1k, направленное против CD38, который сверхэкспрессируется в клетках множественной миеломы. Даратумумаб связывается с CD38 и индуцирует апоптоз посредством антителозависимой клеточной цитотоксичности, комплементзависимой цитотоксичности или антителозависимого клеточного фагоцитоза.

[103] Мелфалан представляет собой химиотерапевтическое средство, используемое для лечения множественной миеломы, рака яичника, меланомы и амилоидоза. Он вводится перорально или внутривенно и химически изменяет нуклеотид ДНК гуанин путем алкилирования. Алкилирование вызывает образование связей между нитями ДНК, что в свою очередь ингибирует синтез ДНК и синтез РНК и вызывает цитотоксичность как в делящихся, так и в неделящихся опухолевых клетках. Частый побочный эффект мелфалана включает подавление костного мозга, что является благоприятным для лечения

амилоидоза.

[104] Леналидомид используется для лечения множественной миеломы (ММ) и миелодиспластических синдромов (MDS) и может вводиться с по меньшей мере одним другим средством лечения, и, как правило, вместе с дексаметазоном.

[105] Изатуксимаб представляет собой моноклональное антитело, используемое для лечения множественной миеломы. Изатуксимаб селективно связывается с CD38, экспрессируемым на поверхности гемопоэтических клеток и клеток множественной миеломы, что индуцирует апоптоз опухолевых клеток и активирует иммунные эффекторный механизмы, такие как комплементзависимая цитотоксичность (CDC), антителозависимый клеточный фагоцитоз (ADCP) и антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность (ADCC).

[106] Венетоклакс представляет собой ВНЗ-миметик, который блокирует антиапоптотический белок В-клеточной лимфомы-2 (Bcl-2), что приводит к запрограммированной клеточной смерти клеток CLL.

[107] Используемая в данном документе фраза "терапия, направленная на плазматические клетки" относится к любой направленной или нацеливающейся терапии, которая может быть использована для специфического ингибирования плазматических клеток (плазматической В-клетки или клеток, продуцирующих антитело). Средства терапии, направленные на плазматические клетки, включают без ограничения леналидомид, бортезомиб, дексаметазон, ингибитор протеасом и их комбинацию.

[108] В одном аспекте антитело вводят до введения дополнительного средства терапии, одновременно с его введением или после его введения. В других аспектах антитело вводят до введения дополнительного средства терапии.

[109] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения амилоидоза у субъекта, у которого имеется В-клеточное лимфопролиферативное нарушение, включающий введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:2, и которое связывается с легкими цепями, за счет чего осуществляется лечение плазмоклеточного заболевания у субъекта.

[110] В-клеточные лимфопролиферативные нарушения могут быть ассоциированы с системным AL-амилоидозом. AL-амилоидоз, ассоциированный с лимфопролиферативными нарушениями, по-видимому, вызывается легкими цепями моноклональных иммуноглобулинов, продуцируемых неопластическими В-клетками, которые возникают при этих нарушениях. Пациенты с системным амилоидозом характеризуются высокими уровнями М-белка, полиорганным поражением с частым поражением сердца и нефротическим синдромом. Среди описанных лимфопролиферативных нарушений, которые вызывают Ig-моноклональные гаммапатии, описаны макроглобулинемия Вальденстрема (также называемая лимфоплазмочитарной

лимфомой), хронический лимфоцитарный лейкоз и другие лимфомы, ассоциированные с амилоидозом (типы неходжкинской лимфомы).

[111] Множественная миелома представляет собой клональное злокачественное новообразование из терминально дифференцированных В-лимфоцитов, характеризующееся экспансией клональных плазматических клеток в костном мозге, что приводит к подавлению нормального гемопоэза, продуцированию моноклональных иммуноглобулинов или их фрагментов (легкой или тяжелой цепи), иммуносупрессии, нефропатии и нейропатии. Эти проявления часто являются результатом прямого повреждения или накопления иммуноглобулинов (тяжелой или легкой цепи) в различных органах. Токсические эффекты и дисфункция органов, вызванные отложением иммуноглобулинов, однако, отличаются по степени тяжести, клинической картине и прогнозу от тех, которые вызваны отложением "амилоидогенных" легких цепей, как это наблюдается при AL-амилоидозе.

[112] Наличие системного амилоидоза в виде состояния, сопутствующего миеломе и лимфоме, и поражение органов ассоциируются с худшими исходами.

[113] В одном аспекте В-клеточное лимфопролиферативное нарушение выбрано из группы, состоящей из множественной миеломы, макроглобулинемии Вальденстрема, хронического лимфоцитарного лейкоза, неходжкинской лимфомы и лимфом, ассоциированных с амилоидозом.

[114] В различных аспектах В-клеточное лимфопролиферативное нарушение представляет собой множественную миелому.

[115] В другом аспекте субъект на данный момент получает лечение В-клеточного лимфопролиферативного нарушения или ранее получал лечение В-клеточного лимфопролиферативного нарушения. В одном аспекте лечение В-клеточного лимфопролиферативного нарушения включает химиотерапию.

[116] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения амилоидоза у субъекта, у которого имеется множественная миелома, включающий введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:2, и которое связывается с легкими цепями, за счет чего осуществляется лечение амилоидоза у субъекта.

[117] Множественная миелома (ММ), также известная как плазмноклеточная миелома и просто миелома, представляет собой рак из плазматических клеток, типа белых кровяных клеток, которые обычно продуцируют антитела. Первоначально ММ часто протекает бессимптомно, а по мере прогрессирования заболевания появляются боль в костях, анемия, дисфункция почек и инфекции. Причина ММ неизвестна, но ожирение, воздействие ионизирующего излучения, семейный анамнез и определенные химические вещества считаются факторами риска.

[118] В-лимфоциты образуются в костном мозге и после созревания перемещаются в лимфатические узлы. По мере своего развития они созревают и презентуют различные белки на своих клеточных поверхностях. Когда они активируются для секреции антител, их называют плазматическими клетками. Множественная миелома развивается из В-лимфоцитов после того, как они покидают зародышевый центр лимфатического узла. Нормальная линия клеток, наиболее тесно ассоциированная с клетками ММ, обычно считается либо активированной В-клеткой памяти, либо предшественником плазматических клеток, плазмобластом. Иммунная система держит пролиферацию В-клеток и секрецию антител под жестким контролем. Генетические явления, такие как мутации или транслокация, могут быть ответственны за важную модуляцию пролиферации В-клеток, которая может привести к развитию ММ.

[119] Множественная миелома развивается из моноклональной гаммапатии неясного генеза, которая прогрессирует до вялотекущей миеломы. Аномальные плазматические клетки продуцируют аномальные антитела и/или моноклональные свободные легкие цепи, что может вызвать проблемы с почками и чрезмерное сгущение крови. Плазматические клетки также могут формировать массу в костном мозге или мягкой ткани. Когда присутствует одна опухоль, она называется плазмоцитомой; при наличии более одной опухоли название меняется на множественную миелому. Множественную миелому диагностируют на основании анализов крови или мочи, посредством которых обнаруживают аномальные антитела, биопсии костного мозга, посредством которой обнаруживают раковые плазматические клетки, и медицинской визуализации, посредством которой обнаруживают поражения костей. Другим распространенным признаком являются высокие уровни кальция в крови. Поскольку миелома может поражать многие органы, симптомы и признаки сильно варьируются. Утомляемость и боль в костях являются наиболее распространенными симптомами при присутствии заболевания. Вследствие различных эффектов, индуцируемых ММ, существуют различные пути диагностики этого заболевания. ММ может быть диагностирована посредством анализов крови, гистопатологического анализа, медицинской визуализации или применения диагностических критериев.

[120] Анализ крови обычно основывается на выявлении наличия парапротеина (моноклонального белка или М-белка и/или моноклональных свободных легких цепей); повышенных уровней всех классов иммуноглобулинов, особенно парапротеинов IgG, IgA и IgM; повышенных уровней выделенных легких и или тяжелых цепей (κ- или λ-легких цепей или любых из пяти типов тяжелых цепей α-, γ-, δ-, ε- или μ-тяжелых цепей); повышенного уровня кальция (когда остеокласты разрушают кость, высвобождая его в кровоток) и/или повышенного уровня креатинина в сыворотке крови вследствие снижения функции почек.

[121] Гистопатологический анализ можно использовать для оценки процента костного мозга, занятого плазматическими клетками, путем проведения биопсии костного мозга. Определение характеристик конкретных типов клеток на основании экспрессии

поверхностных белков можно использовать для выявления плазматических клеток, которые экспрессируют иммуноглобулин в цитоплазме и иногда на поверхности клетки. Клетки миеломы часто являются CD56-, CD38-, CD138- и CD319-положительными и CD19-, CD20- и CD45-отрицательными. Морфология клеток также может быть изучена и использована в качестве отличительной характеристики клеток миеломы.

[122] Диагностическое обследование человека с подозрением на множественную миелому обычно включает исследование скелета или PET-СТ. Если исследование скелета или PET-СТ являются отрицательными, проводят МРТ всего тела для выявления поражений костей.

[123] Для облегчения диагностики ММ были разработаны диагностические критерии. Диагноз симптоматической миеломы утверждается, когда пациент отвечает по меньшей мере одному из следующих критериев: клональные плазматические клетки составляют больше 10% в биоптате костного мозга или (в любом количестве) в биоптате из других тканей (плазмочитома); моноклональный белок (миеломный белок) выявляется в сыворотке или моче и его уровень превышает 3 г/дл (за исключением случаев истинной несекретирующей миеломы), а также обнаруживаются признаки ишемического повреждения органов, связанного с плазмоклеточным нарушением (связанного поражения органа или ткани, CRAB).

[124] Критерии CRAB охватывают наиболее распространенные признаки множественной миеломы:

[125] кальций: уровень кальция в сыворотке крови более чем на 0,25 ммоль/л (более чем на 1 мг/дл) выше верхней границы нормы или больше 2,75 ммоль/л (больше 11 мг/дл);

[126] почечная недостаточность: клиренс креатинина меньше 40 мл в минуту, или уровень креатинина в сыворотке крови больше 1,77 моль/л (больше 2 мг/дл);

[127] анемия: значение уровня гемоглобина более чем на 2 г/дл ниже нижней границы нормы, или значение уровня гемоглобина составляет меньше 10 г/дл;

[128] поражения костей: одно или несколько остеолитических поражений при рентгенографии скелета, СТ, PET/СТ или МРТ.

[129] При множественной миеломе стадирование помогает в прогнозировании, но не определяет решения о лечении. ММ может быть классифицирована как стадия I-III. Стадия I: уровень $\beta 2$ микроглобулина ($\beta 2M$) меньше 3,5 мг/л, уровень альбумина составляет 3,5 г/дл или больше, нормальная цитогенетика, уровень LDH не повышен. Стадия II: не классифицируется при стадии I или стадии III. Стадия III: уровень $\beta 2M$ составляет 5,5 мг/л или больше и либо повышенный уровень LDH, либо цитогенетика высокого риска [t(4,14), t(14,16) и/или del(17p)].

[130] Миеломный белок представляет собой аномальное антитело (иммуноглобулин) или (чаще) его фрагмент, такой как легкая цепь иммуноглобулина, которая продуцируется в избытке аномальной моноклональной пролиферирующей плазматической клеткой. Другие термины для обозначения такого белка включают M-

белок, М-компонент, М-пик, пиковый белок, моноклональный белок или парапротеин. Повышение уровня миеломного белка оказывает на организм несколько вредоносных эффектов, включая нарушение функции иммунной системы, аномально высокую вязкость крови ("густоту" крови) и повреждение почек.

[131] Миелома представляет собой злокачественное новообразование из плазматических клеток. Плазматические клетки продуцируют иммуноглобулины, каждый из которых состоит из пар тяжелых и легких цепей. При множественной миеломе злокачественный клон, уклоняющаяся от иммунной системы плазматическая клетка неконтролируемо размножается, приводя к сверхпродуцированию специфического антитела, для продуцирования которого образовывалась исходная клетка, что приводит к "пику" при нормальном распределении, который называется М-пиком (или моноклональным пиком). Выявление парапротеинов в моче или крови наиболее часто ассоциировано с моноклональной гаммапатией неясного генеза (MGUS), предшественницей множественной миеломы, и с множественной миеломой. Избыток в крови известен как парапротеинемия. В отличие от антител, представляющих собой нормальные иммуноглобулины, парапротеины не способны бороться с инфекцией.

[132] В настоящее время пациентов с ММ лечат химиотерапией, направленной на новообразование, без каких-либо средств против отложения в органе при AL-амилоидозе, однако их клинические симптомы и прогноз ассоциированы с амилоидным отложением в их органах. Ожидается, что антитела, описанные в данном документе, удалят амилоид из органов, поскольку весь амилоид при этих сопутствующих лимфопролиферативных нарушениях возникает из неправильно свернутых легких цепей иммуноглобулина, являющихся мишенью антител.

[133] В одном аспекте субъект на данный момент получает лечение множественной миеломы или ранее получал лечение множественной миеломы. В некоторых аспектах лечение множественной миеломы выбрано из группы, состоящей из химиотерапии, кортикостероида, иммуномодулирующего средства, ингибитора протеасом, ингибитора гистондеацетилазы (HDCA), иммунотерапии, ингибитора ядерного экспорта, трансплантации стволовых клеток, лучевой терапии, хирургического вмешательства и любой их комбинации.

[134] Используемый в данном документе термин "химиотерапия" или "химиотерапевтическое средство" относится к любому терапевтическому средству, используемому для лечения рака. Химиотерапевтическое средство может предусматривать любое вещество или средство, оказывающее токсическое действие на клетки, приводящее к клеточной смерти или снижению пролиферации и особенно к смерти раковых клеток, независимо от клеточного пути, ведущего к этому. Средство химиотерапии, которое можно использовать для лечения множественной миеломы, может предусматривать мелфалан (химиотерапевтическое средство, используемое для лечения множественной миеломы, рака яичника, меланомы и амилоидоза), винкристин (онковин), циклофосфамид (цитоксан, химиотерапевтическое средство, которое подавляет иммунную

систему), этопозид (vp-16), доксорубицин (адриамицин), липосомальный доксорубицин (доксил) или бендамустин (треанду).

[135] Циклофосфамид может индуцировать образование сшивок ДНК как между нитями ДНК, так и внутри них в положениях N-7 гуанина в клетках, которые характеризуются низкими уровнями ALDH. Сшивки ДНК необратимы и приводят к апоптозу клеток. Циклофосфамид индуцирует благоприятные иммуномодулирующие эффекты в адаптивной иммунотерапии, в частности путем устранения регуляторных Т-клеток (CD4⁺ CD25⁺ Т-клеток).

[136] Мелфалан вводится перорально или внутривенно и химически изменяет нуклеотид ДНК гуанин путем алкилирования. Алкилирование вызывает образование связей между нитями ДНК, что в свою очередь ингибирует синтез ДНК и синтез РНК и вызывает цитотоксичность как в делящихся, так и в неделящихся опухолевых клетках. Частый побочный эффект мелфалана включает подавление костного мозга, что является благоприятным для лечения амилоидоза.

[137] Кортикостероиды представляют собой класс стероидных гормонов, которые продуцируются в коре надпочечников позвоночных, а также синтетические аналоги этих гормонов. Два основных класса кортикостероидов, глюкокортикоиды и минералокортикоиды, участвуют в широком спектре физиологических процессов, включая ответ на стресс, иммунный ответ и регуляцию воспаления, метаболизма углеводов, катаболизма белков, уровней электролитов в крови и поведения. Некоторыми распространенными встречающимися в природе стероидными гормонами являются кортизол, кортикостерон и кортизон. Другие примеры кортикостероидов включают преднизон, преднизолон, дексаметазон, будесонид, дипропионат беклометазона, ацетонид триамцинолона, пропионат флутиказона, фуруат флутиказона, флунизолид, метилпреднизон и гидрокортизон.

[138] Кортикостероиды, такие как дексаметазон и преднизон, являются важной частью лечения множественной миеломы. Они могут использоваться отдельно или в комбинации с другими лекарственными средствами как часть лечения. Кортикостероиды также используются для снижения тошноты и рвоты, которые может вызвать химиотерапия. Дексаметазон представляет собой лекарственный препарат на основе кортикостероида, используемый в лечении многих состояний, включая ревматические проблемы, ряд кожных заболеваний, тяжелые аллергии, астму, хроническую обструктивную болезнь легких, круп, отек головного мозга, боль в глазах после хирургического вмешательства на глазах, а также вместе с антибиотиками при туберкулезе.

[139] Используемый в данном документе термин "иммуномодулятор" или "иммуномодулирующее средство" относится к любому терапевтическому средству, которое модулирует иммунную систему. Примеры иммуномодуляторов включают эйкозаноиды, цитокины, простагландины, интерлейкины, хемокины, регуляторы контрольных точек иммунного ответа, представителей суперсемейства TNF,

представителей суперсемейства рецепторов TNF и интерфероны. Конкретные примеры иммуномодуляторов включают PGI₂, PGE₂, PGF₂, CCL14, CCL19, CCL20, CCL21, CCL25, CCL27, CXCL12, CXCL13, CXCL-8, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL11, CXCL10, IL1, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL7, IL8, IL9, IL10, IL11, IL12, IL13, IL15, IL17, IL17, INF- α , INF- β , INF- ε , INF- γ , G-CSF, TNF- α , CTLA, CD20, PD1, PD1L1, PD1L2, ICOS, CD200, CD52, LT α , LT $\alpha\beta$, LIGHT, CD27L, 41BBL, FasL, O_x40L, April, TL1A, CD30L, TRAIL, RANKL, BAFF, TWEAK, CD40L, EDA1, EDA2, APP, NGF, TNFR1, TNFR2, LT β R, HVEM, CD27, 4-1BB, Fas, O_x40, AITR, DR3, CD30, TRAIL-R1, TRAIL-R2, TRAIL-R3, TRAIL-R4, RANK, BAFFR, TACI, BCMA, Fn14, CD40, EDAR XEDAR, DR6, DcR3, NGFR-p75 и Taj. Другие примеры иммуномодуляторов включают тоцилизумаб (actemra®), CDP870 (cimzia®), энтерацепт (enbrel®), адалимумаб (humira®), kineret®, абатацепт (orencia®), инфликсимаб (remicade®), ритузумаб (rituxan®), голимумаб (simponi®), avonex®, rebif®, recigen®, plegridy®, betaseron®, copaxone®, novatrone®, натализумаб (tysabri®), финголимод (gilenya®), терифлуномид (aubagio®), BG12, tecfidera® и алемтузумаб (campath®, lemtrada®).

[140] Иммуномодулирующие средства, которые можно использовать для лечения множественной миеломы, включают талидомид, леналидомид и помалидомид.

[141] Талидомид (thalomid®) впервые использовали несколько десятилетий назад как седативное средство и средство лечения утренней тошноты у беременных женщин. Когда было обнаружено, что он вызывает врожденные дефекты, его сняли с продажи, но он снова стал доступен в качестве средства лечения множественной миеломы. Побочные эффекты талидомида могут включать сонливость, утомляемость, сильный запор и болезненное повреждение нервов (нейропатию). Нейропатия может быть тяжелой и может не проходить после прекращения приема лекарственного средства. Также существует повышенный риск образования значительных тромбов, которые начинают формироваться в ноге и могут попасть в легкие.

[142] Леналидомид (revlimid®) сходен с талидомидом. Он хорошо действует при лечении множественной миеломы. Наиболее распространенными побочными эффектами леналидомида являются тромбоцитопения (низкий уровень тромбоцитов) и низкие количества белых кровяных клеток. Он также может вызвать болезненное повреждение нервов. Риск образования тромбов не так высок, как при применении талидомида, но все же повышен. Пациентам, у которых миелома находится в ремиссии после трансплантации стволовых клеток или первоначального лечения, леналидомид может назначаться для поддерживающей терапии, чтобы продлить ремиссию.

[143] Помалидомид (pomalyst®) также является родственником талидомиду и используется для лечения множественной миеломы. К распространенным побочным эффектам относятся низкие количества красных кровяных клеток (анемия) и низкие количества белых кровяных клеток. Риск повреждения нервов не такой высокий, как при применении других иммуномодулирующих лекарственных средств, но он также связан с повышенным риском образования тромбов.

[144] Ингибиторы протеасом действуют посредством остановки в клетках расщепления белков ферментными комплексами (протеасомами), важных для контроля деления клеток. Похоже, что они воздействуют на опухолевые клетки сильнее, чем на нормальные клетки, но они не лишены побочных эффектов. Ингибитор протеасом, который можно использовать для лечения множественной миеломы, включает бортезомиб, карфилзомиб и иксазомиб.

[145] Бортезомиб (velcade®) был первым одобренным лекарственным средством этого типа и часто используется для лечения множественной миеломы. Он может быть особенно полезен при лечении пациентов с миеломой, у которых проблемы с почками. Пациентам, у которых миелома перешла в ремиссию после трансплантации стволовых клеток или первоначального лечения, бортезомиб может также назначаться для поддерживающей терапии, чтобы продлить ремиссию.

[146] Карфилзомиб (kyprolis®) представляет собой более новый ингибитор протеасом, который можно использовать для лечения множественной миеломы у пациентов, которые уже получали лечение другими лекарственными средствами, которые не работали. Для предотвращения таких проблем, как аллергические реакции во время инфузии, перед введением каждой дозы в первом цикле часто назначают стероидное лекарственное средство дексаметазон.

[147] Иксазомиб (ninlaro®) представляет собой ингибитор протеасом, который представляет собой капсулу, принимаемую перорально, как правило, один раз в неделю в течение 3 недель с последующим недельным перерывом. Это лекарственное средство обычно назначается после того, как были испробованы другие лекарственные средства.

[148] Ингибиторы гистондеацетилазы (HDAC) представляют собой группу лекарственных средств, которые могут влиять на то, какие гены активны или включены внутри клеток. Для этого они взаимодействуют с белками в хромосомах, называемыми гистонами. Ингибитор HDAC, который можно использовать для лечения множественной миеломы, включает панобиностат. Панобиностат (farydak®) представляет собой ингибитор HDAC, который можно использовать для лечения пациентов, которые уже получали лечение бортезомибом и иммуномодулирующим средством. Это капсула, которую обычно принимают 3 раза в неделю в течение 2 недель, после чего следует недельный перерыв. Затем этот цикл повторяют.

[149] Термин "иммунотерапия" относится к любому типу терапии, которая включает модуляцию иммунной системы или иммунного ответа. Модуляция иммунной системы включает индуцирование, стимуляцию или усиление иммунной системы, а также снижение, подавление или ингибирование функций иммунной системы. Иммуноterapia может быть активной или пассивной. Пассивная иммуноterapia основана на введении моноклональных антител, направленных против мишени, подлежащей устранению. Например, моноклональные антитела, нацеливающиеся на опухоль, продемонстрировали клиническую эффективность при лечении рака. Активная иммуноterapia направлена на индуцирование клеточного иммунитета и создание иммунологической памяти против

фактора-мишени. Активная иммунотерапия включает без ограничения вакцинацию и иммуномодуляторы. Иммунотерапия, которая может быть использована для лечения множественной миеломы, включает моноклональные антитела, такие как антитела к CD38 и антитела к SLAMF7, а также конъюгаты антитело-лекарственное средство.

[150] Даратумумаб (darzalex®) представляет собой моноклональное антитело, которое присоединяется к белку CD38, который обнаружен на клетках миеломы. Считается, что это позволяет как непосредственно уничтожать раковые клетки, так и помогать иммунной системе атаковать их. Это лекарственное средство используют главным образом в комбинации с другими типами лекарственных средств, хотя оно также может применяться и самостоятельно пациентами, которые уже получили несколько других средств лечения их миеломы. Более новую форму лекарственного средства, известную как даратумумаб и гиалуронидаза (darzalex® faspro®), можно назначать в виде подкожной (под кожу) инъекции, обычно в область живота в течение нескольких минут. Изатуксимаб (sarclisa®) представляет собой другое моноклональное антитело, которое присоединяется к белку CD38 на клетках миеломы. Считается, что это позволяет как непосредственно уничтожать раковые клетки, так и помогать иммунной системе атаковать их. Это лекарственное средство используют вместе с другими типами лекарственных средств от миеломы, обычно после того, как было испробовано по меньшей мере 2 других средства лечения.

[151] Элотузумаб (empliciti®) представляет собой моноклональное антитело, которое присоединяется к белку SLAMF7, который обнаружен на клетках миеломы. Считается, что это помогает иммунной системе атаковать раковые клетки. Это лекарственное средство используют главным образом у пациентов, которые уже получали другие средства лечения их миеломы.

[152] Используемый в данном документе термин "конъюгат антитело-лекарственное средство" относится к моноклональному антителу, связанному с химиотерапевтическим лекарственным средством. Конъюгат антитело-лекарственное средство для лечения множественной миеломы содержит антитело, нацеливающееся на белок ВСМА на клетках миеломы, и химиотерапевтическое средство. Белантамаб мафодотин-blmf (blenrep®) представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, который может использоваться самостоятельно для лечения миеломы главным образом у людей, которые уже получали по меньшей мере 4 других средства лечения их миеломы (включая ингибиторы протеасом, иммуномодулирующие лекарственные средства и моноклональное антитело к CD38).

[153] "Ингибитор ядерного экспорта" или "селективные ингибиторы ядерного экспорта" (SINE) представляют собой лекарственные средства, которые блокируют экспортин 1 (XPO1 или CRM1), белок, участвующий в транспорте из клеточного ядра в цитоплазму. Это ингибирование вызывает остановку клеточного цикла и смерть клеток посредством апоптоза, и соединения SINE представляют интерес как противораковые лекарственные средства. Селинексор (Xpovio®) был одобрен для лечения множественной

миеломы в качестве лекарственного средства последней возможности лечения. Обычно его используют с дексаметазоном.

[154] Используемые в данном документе термины "трансплантация стволовых клеток" или "трансплантация костного мозга" означают истощение всех клеток костного мозга пациента (включая раковые клетки, такие как клетки миеломы) посредством высокодозной химиотерапии и трансплантацию новых здоровых кроветворных стволовых клеток. Трансплантацию стволовых клеток обычно используют для лечения множественной миеломы. Трансплантация может быть либо аутологичной, с применением собственных стволовых клеток пациента, удаленных из его или ее костного мозга или периферической крови перед трансплантацией, либо аллогенной, с применением кроветворных стволовых клеток от донора, соответствующих типу клеток пациента (такого как близкий родственник пациента, например, брат или сестра). Трансплантация стволовых клеток представляет собой стандартное лечение для пациентов с множественной миеломой. Хотя аутологичная трансплантация может на некоторое время (даже на годы) устранить миелому, она не излечивает рак, и часто миелома возвращается.

[155] Облучение может быть использовано для лечения участков кости, поврежденных миеломой, которые не отвечали на химиотерапию и/или другие лекарственные средства и вызывают боль или могут быть близки к перелому. Это также наиболее распространенное лечение в случае солитарных плазмоцитом.

[156] Для удаления одиночных плазмоцитом иногда используют хирургическое вмешательство, но оно редко применяется для лечения множественной миеломы. Когда сдавливание спинного мозга вызывает паралич, сильную мышечную слабость или онемение, может потребоваться неотложное хирургическое вмешательство. Хирургическое вмешательство для установки металлических стержней или пластин может помочь поддержать ослабленные кости и может потребоваться для предупреждения или лечения переломов.

[157] Все описанное в данном документе дополнительное лечение, которое может быть использовано для лечения множественной миеломы, может применяться отдельно или в различных комбинациях. Среди этих комбинаций для лечения множественной миеломы часто используют следующие комбинации:

- леналидомид (или помалидомид, или талидомид) и дексаметазон;
- карфилзомиб (или иксазомиб, или бортезомиб), леналидомид и дексаметазон;
- бортезомиб (или карфилзомиб), циклофосфамид и дексаметазон;
- элотузумаб (или даратумумаб), леналидомид и дексаметазон;
- бортезомиб, липосомальный доксорубицин и дексаметазон;
- панобиностат, бортезомиб и дексаметазон;
- элотузумаб, бортезомиб и дексаметазон;
- мелфалан и преднизон (MP), с талидомидом или бортезомибом или без них;
- винкристин, доксорубицин (адриамицин) и дексаметазон (называемый VAD);

дексаметазон, циклофосфамид, этопозид и цисплатин (называемый DCEP);
дексаметазон, талидомид, цисплатин, доксорубин, циклофосфамид и этопозид (называемый DT-PACE), с бортезомибом или без него;
селинексор, бортезомиб, дексаметазон;
идекабтаген виклейсел, средство терапии на основе Т-клеток с химерным антигенным рецептором (CAR), направленное на антиген созревания В-клеток.

[158] Выбор и доза терапии с применением лекарственного средства зависят от многих факторов, включая стадию рака, возраст и функцию почек пациента, а также от того, насколько ослаблен пациент. Если планируется трансплантация стволовых клеток, большинство врачей избегают использования определенных лекарственных средств, таких как мелфалан, который может повредить костный мозг.

[159] В другом варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения амилоидоза у субъекта, у которого имеется плазмоклеточное заболевание, включающий введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее вариабельный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:1, и вариабельный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:2, и которое связывается с легкими цепями, за счет чего осуществляется лечение плазмоклеточного заболевания у субъекта.

[160] Плазмоклеточные нарушения представляют собой разнообразную группу нарушений неизвестной этиологии, характеризующихся непропорциональной пролиферацией одного клона В-клеток и присутствием структурно и электрофоретически гомогенного (моноклонального) иммуноглобулина или полипептидной субъединицы в сыворотке крови, моче или и там, и там. После развития в костном мозге недифференцированные В-клетки в норме попадают в периферические лимфоидные ткани, такие как лимфатические узлы, селезенка и кишечник (например, пейеровы бляшки), где они начинают дифференцироваться в зрелые клетки, каждая из которых может отвечать на ограниченное число антигенов. После встречи с соответствующим антигеном некоторые В-клетки подвергаются пролиферации в плазматические клетки. Каждая линия плазматических клеток предназначена для синтеза одного специфического антитела, представляющего собой иммуноглобулин, который состоит из 2 идентичных тяжелых цепей (гамма [γ], мю [μ], альфа [α], дельта [δ] или эпсилон [ϵ]) и 2 идентичных легких цепей (каппа [κ] или лямбда [λ]). В норме продуцируется небольшой избыток легких цепей, и выделение с мочой небольших количеств свободных поликлональных легких цепей (40 мг или больше/24 часа) является нормальным. Плазмоклеточные нарушения имеют неизвестную этиологию и характеризуются непропорциональной пролиферацией одного клона. Результатом является соответствующее повышение уровня в сыворотке крови его продукта - белка, представляющего собой моноклональный иммуноглобулин (М-белок), который может состоять как из тяжелых, так и из легких цепей или только из одного типа цепей.

[161] Плазмоклеточные нарушения можно разделить на 2 категории: (1) моноклональная гаммапатия неясного генеза, которая обычно протекает бессимптомно и ассоциирована с моноклональными В-клетками или плазматическими клетками с хроническими воспалительными и инфекционными состояниями (включая хронический холецистит, остеомиелит, пиелонефрит, ревматоидный артрит и туберкулез) или ассоциирована с другими нарушениями (включая семейную гиперхолестеринемию, болезнь Гоше, саркому Капоши, микседематозный лишай, нарушения функции печени, миастению гравис, пернициозную анемию и гипертиреоз), и (2) злокачественные плазмоклеточные нарушения, которые могут быть либо бессимптомными, такими как (а) вялотекущая множественная миелома, (b) симптоматическая и активная множественная миелома, ассоциированная с продуцированием иммуноглобулина и/или легких цепей, (с) первичный системный амилоидоз, ассоциированный с моноклональными легкими цепями (ненаследственный) или ассоциированный с тяжелыми цепями (болезнь тяжелых цепей IgG, IgA, IgM или IgD), (d) В-клеточная лимфома, ассоциированная с продуцированием моноклонального белка.

[162] Наиболее распространенные плазмоклеточные заболевания включают моноклональную гаммапатию неясного генеза (MGUS, которая наряду с вялотекущей множественной миеломой представляет собой плазмоклеточное заболевание, при котором пациенты еще не больны, поскольку у них очень ограничено повреждение органов, если таковое имеется), множественную миелому и системный амилоидоз легких цепей (AL). Проплиферация плазматических клеток и продуцирование М-белка ассоциированы с различными симптомами этих заболеваний, включая: (1) повреждение органов, и особенно почек, вследствие гиперкальциемии или токсичных легких цепей, секретируемых злокачественной плазматической клеткой, а также вследствие того факта, что некоторые М-белки демонстрируют активность антител против собственных антигенов; (2) ослабленный иммунитет вследствие сниженного продуцирования других иммуноглобулинов; (3) склонность к кровотечениям вследствие способности М-белка покрывать тромбоциты, инактивировать факторы свертывания крови и повышать вязкость крови; (4) амилоидоз вследствие способности М-белка и или легких цепей образовывать фибриллярные отложения в органах (наиболее часто в сердце, почке и печени) и (5) остеопороз, гиперкальциемию, анемию или панцитопению вследствие сверхактивации остеокластов моноклональными плазматическими клетками в костном матриксе и/или костном мозге.

[163] В одном аспекте плазмоклеточное заболевание выбрано из группы, состоящей из В-клеточной лимфомы низкой степени злокачественности, моноклональной гаммапатии неясного генеза (MGUS) и множественной миеломы.

[164] В некоторых аспектах субъект на данный момент получает лечение плазмоклеточного заболевания или ранее получал лечение плазмоклеточного заболевания. В других аспектах лечение плазмоклеточного заболевания включает химиотерапию.

[165] В дополнительном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ идентификации субъекта, у которого имеется множественная миелома, как кандидата для противоамилоидозного лечения, включающий идентификацию фибрилл при амилоидозе легких цепей (AL) и/или отложения амилоидного белка-предшественника у субъекта, где идентификация фибрилл при AL-амилоидозе и/или отложения амилоидного белка-предшественника у субъекта свидетельствует о вероятности ответа субъекта на противоамилоидозное лечение, и где противоамилоидозное лечение предусматривает применение антитела, содержащего переменный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:2, и которое связывается с легкими цепями, с идентификацией таким образом субъекта как кандидата для противоамилоидозного лечения.

[166] Как используется в данном документе, идентификация фибрилл при AL-амилоидозе и/или амилоидного белка-предшественника у субъекта может включать подвергание субъекта любым способам диагностики амилоидоза, известным из уровня техники. Амилоидоз может быть выявлен у субъекта с применением лабораторных тестов, процедур биопсии и/или визуализирующих тестов.

[167] Лабораторные тесты могут предусматривать анализ крови и мочи для выявления аномального белка, который может указывать на амилоидоз. В зависимости от признаков и симптомов могут быть также показаны анализы функции щитовидной железы и печени. Анализы крови и мочи также могут помочь определить, какие органы поражены, и насколько нарушена их функция. Например, 24-часовой сбор мочи для определения уровня белка в вашей моче может указывать на избыток белка в моче, что может быть признаком поражения почек. Анализ крови также может быть использован для тестирования в отношении наличия аномальных белков, представляющих собой антитела (иммуноглобулины), в крови (для оценки уровня легких цепей каппа и лямбда).

[168] Биопсия ткани предусматривает удаление небольшого образца ткани для поиска признаков амилоидных отложений. Любой вид биоптата ткани или органа может быть окрашен "красителем конго красным" и проанализирован для выявления амилоидозных отложений. Менее инвазивные процедуры биопсии включают биопсию жировой ткани (под кожей в брюшной полости); биопсию лабиальной слюнной железы (с внутренней стороны губы) и биопсию кожи или костного мозга. Анализы костного мозга могут включать аспират костного мозга (предусматривающий удаление некоторого количества жидкости костного мозга) и биопсию костного мозга (предусматривающую удаление 1-2 см центральной части ткани костного мозга целиком). Эти образцы могут помочь определить процент плазматических клеток, продуцирующих амилоид, а при тестировании в лаборатории они могут помочь идентифицировать, продуцируют ли аномальные плазматические клетки легкие цепи каппа или лямбда. Более инвазивная биопсия может предусматривать биопсию органа, которую обычно проводят при

подозрении на амилоидоз, если процедуры биопсии костного мозга, жировой ткани, участков губ или кожи были безрезультатными. Затем может быть проведена хирургическая биопсия органа, который указывает на симптомы, - печени, почки, нерва, сердца или кишечника (желудка или кишечника).

[169] Визуализирующий тест может предусматривать эхокардиограмму и другую визуализацию, которая может быть использована для содействия установлению степени заболевания. С применением эхокардиограммы можно выявить амилоидные отложения в сердце, посмотреть при этом их размер и форму, а также расположение и степень какого-либо воздействия амилоида. Другая визуализация может предусматривать МРТ (магнитно-резонансную визуализацию) и CMR (для сердечного магнитного резонанса), сканирование с применением пирофосфата (тест ядерной медицины, также используемый для оценки наличия необычного типа кардиомиопатии). Ядерная визуализация с применением радиоактивных изотопных меток, вводим субъекту путем инъекции, также может быть использована для выявления раннего повреждения сердца, вызванного определенными типами амилоидоза. Она также может помочь различить разные типы амилоидоза, что может помочь в принятии решений о лечении. Антитело, описанное в данном документе, также может быть использовано для целей визуализации при конъюгации с радиоактивной изотопной меткой, такой как ^{124}I , для получения меченого антитела. Такая методика визуализации может обеспечить определение локализации и протяженности отложенных амилоидных фибрилл у субъекта. Таким образом, меченое антитело по настоящему изобретению может быть использовано для выявления наличия заболевания, для которого характерны амилоидные отложения, у пациента с подозрением на наличие такого заболевания, а также для определения эффективности лечения.

[170] В одном аспекте субъект на данный момент получает лечение множественной миеломы или ранее получал лечение множественной миеломы.

[171] В другом аспекте способ дополнительно включает введение субъекту средства лечения множественной миеломы. В некоторых аспектах лечение множественной миеломы выбрано из группы, состоящей из химиотерапии, кортикостероида, иммуномодулирующего средства, ингибитора протеасом, ингибитора гистондеацетилазы (HDCA), иммунотерапии, ингибитора ядерного экспорта, трансплантации стволовых клеток, лучевой терапии, хирургического вмешательства и любой их комбинации.

[172] Антитело по настоящему изобретению можно вводить любому субъекту, у которого имеется амилоидоз, независимо от того, контролируется ли его амилоидоз гематологически или нет. Используемое в данном документе описание "не контролируемый гематологически" в отношении AL-амилоидоза означает, что заболевание не находится ни в полной ремиссии, ни в очень хорошей частичной ремиссии. Например, заболевание является гематологически неконтролируемым, если пациент характеризуется выявляемыми уровнями токсичных амилоидных белков-предшественников в циркулирующей жидкости организма (т. е. в сыворотке крови или

моче), или если разница между пораженными и непораженными свободными легкими цепями составляет больше 40 мг/л в крови или сыворотке крови пациента. Например, у субъекта может быть гематологически контролируемый амилоидоз, и поэтому у него нет гематологического заболевания. У субъекта также может быть гематологически неконтролируемый амилоидоз и поэтому у него имеется гематологическое заболевание. Электрофорез белков сыворотки крови и мочи (SPEP и UPEP соответственно) вместе с иммунофиксацией сыворотки крови и мочи (SIF и UIF соответственно) можно проводить как для диагностики, так и для мониторинга амилоидозного заболевания. Например, в качестве стандарта лечения, результаты SPEP, UPEP, SIF и/или UIF можно оценивать один раз в 3 месяца.

[173] В одном аспекте у субъекта имеется гематологическое заболевание. Гематологическое заболевание может, например, характеризоваться показателем разницы пораженных/непораженных свободных легких цепей (dFLC), показателем SPEP или М-пиком при UPEP.

[174] В одном аспекте гематологическое заболевание характеризуется разницей пораженных/непораженных свободных легких цепей (dFLC), составляющей больше 5 мг/дл, или FLC больше 5 мг с аномальным соотношением.

[175] В другом аспекте гематологическое заболевание характеризуется m-пиком при электрофорезе белков сыворотки крови (SPEP) или электрофорезе белков мочи (UPEP), составляющим больше 0,5 г/дл.

[176] В одном аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения амилоидозного заболевания или нарушения, поражающего почку, желудочно-кишечный тракт, печень или сердце, у субъекта, включающий введение субъекту композиции, описанной в данном документе.

[177] Если амилоидное заболевание поражает сердце, оно может вызывать многочисленные типы осложнений. Поскольку амилоидные отложения или бляшки снижают способность сердца наполняться кровью между ударами сердца, поражение сердца ассоциируется с плохим прогнозом. С каждым ударом перекачивается меньше крови, что может привести к одышке. Амилоидные отложения или бляшки в сердце или вокруг него могут также вызывать нерегулярное сердцебиение и застойную сердечную недостаточность, среди прочих дисфункций органа.

[178] Как используется в данном документе, "лечение амилоидоза с поражением сердца" относится к уменьшению, снижению, улучшению, устранению и т. п. любых симптомов, ассоциированных с отложением амилоидных фибрилл в сердце, или любой сердечной функции или параметра, на которые влияет отложение амилоидных фибрилл в сердце. Используемый в данном документе термин "поражение сердца" означает, что у пациента, страдающего амилоидным заболеванием, имеются амилоидные отложения в сердце. Амилоидные отложения в сердце приводят к высвобождению NT-proBNP и повышению уровней NT-proBNP в крови пациента. В данном случае пациент характеризуется поражением сердца, если уровень NT-proBNP превышает 650 пг/мл.

Поражение сердца пациента также можно оценить по повышенным уровням сердечного тропонина (сTn). Например, пациент характеризуется поражением сердца, если уровень сTnT составляет менее чем 0,035 г/л.

[179] Функцию миокарда и ее улучшение можно измерить посредством применения эхокардиографии для измерения глобальной продольной деформации (GLS), как описано в Smiseth et al. -Eur Heart J, 37:1196. В эхокардиографии применяется ультразвук для измерения среднего значения деформации в сегментах миокарда, и GLS представляет собой среднее значение для этих сегментов как показатель глобальной функции левого желудочка. Амилоидные отложения могут привести к утолщению стенок левого и правого желудочков, а также к тому, что недилатированный желудочек становится жестким и плохо податливым, что приводит к "деформации" сердца и сосудистой системы. В эхокардиографической терминологии термин "деформация" используется для описания деформации миокарда, которая может предусматривать без ограничения локальное укорочение, утолщение и/или удлинение миокарда. Деформацию можно использовать в качестве показателя функции желудочков. Специалист, обладающий обычными навыками в данной области, будет знать как применять эхокардиографию для определения GLS и поймет, что она может быть рассчитана различными путями. Например, по формуле Лагранжа ($\epsilon_L = (L - L_0) / L_0 = \Delta L / L_0$, где L_0 представляет собой исходную длину, и L представляет собой результирующую длину) определяется деформация по отношению к исходной длине как безразмерному показателю, при котором укорочение будет отрицательным, а удлинение будет положительным. Обычно она выражается в процентах. Альтернативное определение, эйлерова деформация, определяет деформацию по отношению к длине в данный момент времени: $\epsilon_E = \Delta L / L$. В случае изменения во времени деформация Лагранжа будет составлять: $\epsilon_L = \Sigma \Delta L / L_0$, и эйлерова деформация будет составлять: $\epsilon_E = \Sigma (\Delta L / L)$. Впервые этот термин был использован Мирским и Пармли при описании региональных различий в деформации между нормальным и ишемизированным миокардом.

[180] Таким образом, в некоторых аспектах пациенты, в отношении которых используется способ, раскрытый в данном документе, демонстрируют улучшение в отношении глобальной продольной деформации (GLS) по сравнению с уровнем GLS перед лечением с введением антитела. В некоторых аспектах пациент с поражением сердца может характеризоваться исходным уровнем NT-proBNP, составляющим по меньшей мере 650 пг/мл, в то время как в других аспектах пациент с поражением сердца может характеризоваться исходным уровнем NT-proBNP, составляющим по меньшей мере 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450, 1500, 1550, 1600, 1650, 1700, 1750, 1800, 1850, 1900, 1950, 2000, 2050, 2100, 2150, 2200, 2250 или 2300 или больше пг/мл.

[181] В некоторых аспектах улучшение в отношении GLS может произойти в течение приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5, приблизительно 6, приблизительно 7, приблизительно 8,

приблизительно 9, приблизительно 10, приблизительно 11, приблизительно 12, приблизительно 13, приблизительно 14 или приблизительно 15 недель после начала лечения. В некоторых вариантах осуществления улучшение в отношении GLS может быть представлено снижением GLS на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или больше процентов по сравнению с исходным уровнем, как рассчитано по формуле Лагранжа. Снижение уровня GLS по сравнению с исходным уровнем на приблизительно 2% или больше считается клинически значимым. В некоторых аспектах раскрытые виды лечения с применением антитела могут снизить уровни N-концевого натрийуретического пептида типа про b (NT-proBNP) у пациента на по меньшей мере приблизительно 30% по сравнению с исходными уровнями, полученным до введения антитела. В некоторых аспектах снижение уровня NT-proBNP может составлять по меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 60% или больше по сравнению с исходными уровнями, полученными до введения антитела. В других аспектах лечение с применением раскрытого антитела может привести к снижению уровня NT-proBNP у пациента до менее чем приблизительно 9100 нг/л после введения антитела. В других вариантах осуществления уровень NT-proBNP у пациента может снизиться до менее чем приблизительно 8000, 7000, 6000, 5000 или 4000 нг/л после введения антитела. В некоторых аспектах до введения антитела пациент может быть первоначально отнесен ко II или III классу функциональной классификации Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA), но после лечения с применением раскрытого антитела пациент может быть отнесен к I классу по шкале классификации NYHA. Однако, если снижается функция почек, например, eGFR составляет менее чем 30, уровень NT-proBNP не используют, а вместо него измеряют уровень BNP.

[182] Иммуноглобулины состоят из четырех белковых цепей: двух легких цепей, либо легких цепей каппа (κ), либо лямбда (λ), и двух тяжелых цепей, которых существует несколько типов. При AL-амилоидозе легкие цепи каппа или легкая цепь лямбда могут быть неправильно свернуты и могут образовывать амилоидные фибриллы или бляшки. Следовательно, у некоторых пациентов могут быть неправильно свернуты как фрагменты каппа, так и фрагменты лямбда. Анализ подгрупп продемонстрировал, что пациенты с поражением сердца с участием как легких цепей лямбда, так и легких цепей каппа демонстрируют улучшение, поскольку характеризуются пониженным уровнем GLS по сравнению с уровнями до лечения. Таким образом, в некоторых аспектах пациент дополнительно характеризуется как имеющий поражение сердца, вызванное амилоидом из легкой цепи лямбда. В других аспектах пациент дополнительно характеризуется как имеющий поражение сердца, вызванное амилоидом из легкой цепи каппа.

[183] Раскрытые способы лечения могут быть особенно полезны для пациентов с заболеванием, которое является гематологически неконтролируемым (т. е. не находится ни в полной ремиссии, ни в очень хорошей частичной ремиссии), поскольку считается, что раскрытые в данном документе антитела способны связываться с токсичными

амилоидными белками-предшественниками в кровотоке и нейтрализовывать их еще до того, как белки агрегируются с образованием амилоидного отложения. Полную ремиссию определяют по отрицательному результату иммунофиксации сыворотки крови и мочи и нормальному соотношению по результатам анализа свободных легких цепей (FLC), в то время как очень хорошую частичную ремиссию определяют как разницу между пораженными и непораженными свободными легкими цепями, составляющую меньше 40 мг/л.

[184] Эхокардиография является неинвазивной и может быть использована для мониторинга улучшения функции миокарда у пациента с диагнозом амилоидоза легких цепей (ALA) с поражением сердца, включая наблюдение улучшения функции миокарда у пациента с диагнозом ALA с поражением сердца в течение приблизительно трех недель после введения указанному пациенту терапевтически эффективного количества антитела. В некоторых аспектах улучшение функции миокарда сохраняется в течение периода времени, продолжающегося по меньшей мере три месяца после введения антитела.

[185] Если амилоидное заболевание поражает почки, оно часто нарушает способность почек к фильтрации, что позволяет белку просачиваться из крови в мочу (т. е. протеинурия). Более того, снижается способность почек удалять продукты жизнедеятельности из организма, что в конечном итоге может привести к почечной недостаточности.

[186] В некоторых аспектах, если заболевание вызывает появление амилоидных отложений или бляшек в почках пациента, лечение с применением раскрытого антитела может снизить протеинурию на по меньшей мере приблизительно 30% по сравнению с исходными уровнями, определенными до введения антитела. В некоторых аспектах снижение уровня белка в моче пациента может составлять по меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 60% или больше по сравнению с исходными уровнями, определенными до введения антитела. В некоторых вариантах осуществления количество белка в моче пациента может снизиться до менее чем приблизительно 7000, менее чем приблизительно 6000, менее чем приблизительно 5000, менее чем приблизительно 4000 или менее чем приблизительно 3000 мг/24 часа после введения антитела.

[187] Как используется в данном документе, "лечение амилоидоза с поражением почки" относится к уменьшению, снижению, улучшению, устранению и т. п. любых симптомов, ассоциированных с отложением амилоидных фибрилл в почке, или любой почечной функции или параметра, на которые влияет отложение амилоидных фибрилл в почке.

[188] Если амилоидное заболевание поражает желудочно-кишечный (GI) тракт, оно часто нарушает способность GI тракта поглощать питательные вещества. Утрата надлежащего функционирования GI тракта вследствие амилоидных отложений может привести к потере веса, диарее, боли в животе, мальабсорбции, пищеводному рефлюксу и различным степеням кровотечения в верхних и нижних отделах GI, включая кровотечение

со смертельным исходом. Симптомы со стороны печени включают желтуху, стеаторею, анорексию и симптомы, связанные с портальной гипертензией, такие как асцит и спленомегалия.

[189] Как используется в данном документе, "лечение амилоидоза с поражением желудочно-кишечного тракта" относится к уменьшению, снижению, улучшению, устранению и т. п. любых симптомов, ассоциированных с отложением амилоидных фибрилл в GI тракте.

[190] Например, если амилоидозное заболевание поражает печень, это может вызывать вздутие живота, гепатомегалию, асцит и/или олигурию. Другие симптомы могут включать без ограничения изменения уровней щелочной фосфатазы (ALP) и/или уровней сывороточной у-глутамилтрансферазы (GGT), гиперлипидемию, нарушения свертывания крови, тромбоцитопению, изменение протромбинового времени (PT), скорости оседания эритроцитов, уровней аланинаминотрансферазы (ALT) и/или аспаратаминотрансферазы (AST), сывороточного альбумина и фрагментов комплемента. Традиционную визуализацию, такую как эхография, применение томографа для компьютерной томографии, рентгеновский анализ, эндоскопия и т. п., в сочетании с анализом крови и физикальным обследованием можно использовать для мониторинга любого изменения, снижения или улучшения симптомов, ассоциированных с амилоидными отложениями в печени.

[191] В различных аспектах субъекту дополнительно вводят дополнительное средство терапии.

[192] В некоторых аспектах дополнительная терапия включает циклофосфамид, бортезомиб, дексаметазон, даратумумаб, мелфалан, леналидомид, изатуксимаб, венетоклакс, трансплантацию стволовых клеток или их комбинацию.

[193] В дополнительном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения одного или нескольких симптомов амилоидозного заболевания или нарушения, поражающего кожу, у субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по настоящему изобретению.

[194] В одном аспекте один или несколько симптомов амилоидозного заболевания или нарушения, поражающего кожу, включают выпадение волос, выпадение волос на лице и выпадение волос на теле.

[195] В одном аспекте субъекту дополнительно вводят дополнительное средство терапии.

[196] В некоторых аспектах дополнительная терапия включает циклофосфамид, бортезомиб, дексаметазон, даратумумаб, мелфалан, леналидомид, изатуксимаб, венетоклакс, трансплантацию стволовых клеток или их комбинацию.

[197] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ ингибирования и/или снижения агрегации легких цепей и амилоидных фибрилл у субъекта, включающий введение субъекту приблизительно 1000 мг/м² антитела, содержащего переменный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся

аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO:2.

[198] Используемая в данном документе фраза "ингибирование и/или снижение агрегации легких цепей и амилоидных фибрилл" может взаимозаменяемо относиться как к облегчению удаления существующего амилоидного отложения, так и к предотвращению образования новых отложений за счет агрегации легких цепей и амилоидных фибрилл de novo.

[199] В другом варианте осуществления в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения амилоидозного заболевания или нарушения у субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции, описанной в данном документе.

[200] В одном аспекте введение фармацевтической композиции делает субъекта подходящим для трансплантации стволовых клеток.

[201] Трансплантация стволовых клеток или трансплантация костного мозга считается наиболее эффективным лечением пациентов, страдающих амилоидозным заболеванием или нарушением, поскольку плазматические клетки в костном мозге, которые продуцируют амилоидный белок, сначала разрушаются высокими дозами химиотерапии, а затем замещаются гемопоэтическими стволовыми клетками от донора, которые развиваются в здоровый костный мозг. Выживаемость может быть значительно улучшена посредством высокодозной химиотерапии и трансплантации стволовых клеток периферической крови. Однако, чтобы быть подходящим для трансплантации стволовых клеток субъект должен характеризоваться нормальной функцией органа; поэтому многие пациенты не могут получить это лечение, так как накопление амилоидного белка повлияло на функцию других органов. Посредством уменьшения количества, размера и/или способности амилоидных фибрилл к агрегации антител по настоящему изобретению способно снизить степень дисфункции органа, которая является одним из основных препятствий для трансплантации стволовых клеток, и поставить пациента в благоприятное положение, чтобы он стал кандидатом в реципиенты для трансплантации стволовых клеток.

[202] В другом аспекте субъекту дополнительно осуществляют трансплантацию стволовых клеток.

[203] Терапевтически эффективные дозы и режимы введения доз согласно вышеописанным способам могут варьироваться, что будет понятно специалистам в данной области техники. Режимы введения доз могут быть скорректированы для обеспечения оптимального требуемого ответа (например, терапевтического ответа в виде клиренса амилоидных бляшек или уменьшения количества отложенных амилоидных фибрилл).

[204] В одном аспекте антитело вводят один раз в неделю в течение по меньшей мере 2, 3 или 4 недель. Введение антитела по настоящему изобретению считается нагрузочной дозой, которая является начальной дозой, вводимой субъекту. За нагрузочной дозой может, например, следовать поддерживающая доза.

[205] В одном аспекте после этого субъекту дополнительно вводят поддерживающую дозу антитела.

[206] Поддерживающую дозу можно вводить при режиме, аналогичном режиму, который соблюдался во время введения нагрузочной дозы, или поддерживающую дозу можно вводить при другом режиме по сравнению с режимом, который соблюдался во время введения нагрузочной дозы. Например, поддерживающую дозу можно вводить менее часто, чем нагрузочную дозу.

[207] В некоторых аспектах поддерживающую дозу вводят один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в месяц через первые 2, 3, 4 или больше недель еженедельного введения.

[208] Различные другие режимы введения могут быть подходящими для способов, описанных в данном документе. Например, в некоторых аспектах может быть введена однократная доза антитела, а в других аспектах могут быть введены несколько разделенных доз с течением времени, или доза может быть пропорционально уменьшена или увеличена при последующем введении доз в зависимости от ситуации. Например, в некоторых аспектах раскрытые антитела можно вводить один раз или два раза в неделю путем подкожной, внутривенной или внутримышечной инъекции. В некоторых аспектах раскрытые антитела можно вводить один раз или два раза в месяц путем подкожной, внутривенной или внутримышечной инъекции. В некоторых аспектах раскрытые антитела можно вводить один раз или два раза в год путем подкожной, внутривенной или внутримышечной инъекции. В других аспектах раскрытые антитела или их антигенсвязывающие фрагменты можно вводить один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в четыре недели, один раз в месяц, один раз в два месяца, один раз в три месяца, один раз в четыре месяца, один раз в пять месяцев, один раз в шесть месяцев, один раз в семь месяцев, один раз в восемь месяцев, один раз в девять месяцев, один раз в десять месяцев, один раз в одиннадцать месяцев, два раза в год или один раз в год, в зависимости от ситуации или состояния пациента.

[209] Как более подробно описано в примерах, лечение антителом является не только продолжительным, но и быстрым. В некоторых аспектах у пациента может наблюдаться терапевтический ответ (т. е. уменьшение размера амилоидных отложений или бляшек, снижение скорости образования бляшек или улучшение функции органа) через одну неделю или меньше, две недели или меньше, три недели или меньше, четыре недели или меньше, пять недель или меньше, шесть недель или меньше, семь недель или меньше, восемь недель или меньше, девять недель или меньше, десять недель или меньше, одиннадцать недель или меньше, двенадцать недель или меньше или в любом временном промежутке между ними. Например, в зависимости от дозы и режима введения доз пациент может испытывать терапевтический ответ через приблизительно одну неделю или приблизительно 4,5 недели.

[210] Терапевтически эффективная доза антитела, вводимого пациенту (независимо от того, вводится ли она в виде однократной дозы или нескольких доз), должна быть

достаточной для снижения количества отложенных амилоидных фибрилл у пациента. Такое терапевтически эффективное количество может быть определено путем оценки симптоматических изменений у пациента или путем оценки изменения количества отложенных амилоидных фибрилл (например, путем радиоиммунного выявления отложенных амилоидных отложений с применением антитела, меченного с помощью ^{124}I). Таким образом, меченое антитело по настоящему изобретению может быть использовано для выявления наличия заболевания, для которого характерны амилоидные отложения, у пациента с подозрением на наличие такого заболевания, а также для определения эффективности лечения.

[211] Иллюстративные дозы могут варьироваться в зависимости от размера и состояния здоровья индивидуума, которого лечат, а также от состояния, которое лечат. В некоторых аспектах терапевтически эффективное количество раскрытого антитела может составлять от приблизительно 500 мг/м^2 до 1000 мг/м^2 ; однако в некоторых ситуациях доза может быть выше. Например, в некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество может составлять приблизительно 1000, приблизительно 975, приблизительно 950, приблизительно 925, приблизительно 900, приблизительно 875, приблизительно 850, приблизительно 825, приблизительно 800, приблизительно 775, приблизительно 750, приблизительно 725, приблизительно 700, приблизительно 675, приблизительно 650, приблизительно 625, приблизительно 600, приблизительно 575, приблизительно 550, приблизительно 525 или приблизительно 500 мг/м^2 .

[212] В одном аспекте вводимая доза антитела составляет от приблизительно 500 мг/м^2 до 1000 мг/м^2 . Во многих аспектах вводимая доза антитела выбрана из приблизительно 500 мг/м^2 , приблизительно 750 мг/м^2 и приблизительно 1000 мг/м^2 .

[213] Сходным образом, в некоторых аспектах эффективное количество антитела составляет приблизительно 2200 мг; однако в некоторых ситуациях доза может быть выше или ниже. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество может составлять от 50 до 5000 мг, от 60 до приблизительно 4500 мг, от 70 до 4000 мг, от 80 до 3500 мг, от 90 до 3000 мг, от 100 до 2500 мг, от 150 до 2000 мг, от 200 до 1500 мг, от 250 до 1000 мг или представлять собой любую дозу в данном диапазоне. Например, в некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество может составлять приблизительно 50, приблизительно 60, приблизительно 70, приблизительно 80, приблизительно 90, приблизительно 100, приблизительно 150, приблизительно 200, приблизительно 250, приблизительно 300, приблизительно 350, приблизительно 400, приблизительно 450, приблизительно 500, приблизительно 550, приблизительно 600, приблизительно 650, приблизительно 700, приблизительно 750, приблизительно 800, приблизительно 850, приблизительно 900, приблизительно 950, приблизительно 1000, приблизительно 1100, приблизительно 1200, приблизительно 1300, приблизительно 1400, приблизительно 1500, приблизительно 1600, приблизительно 1700, приблизительно 1800, приблизительно 1900, приблизительно 2000, приблизительно 2100, приблизительно 2200, приблизительно 2300, приблизительно 2400, приблизительно 2500,

приблизительно 2600, приблизительно 2700, приблизительно 2800, приблизительно 2900, приблизительно 3000, приблизительно 3100, приблизительно 3200, приблизительно 3300, приблизительно 3400, приблизительно 3500, приблизительно 3600, приблизительно 3700, приблизительно 3800, приблизительно 3900, приблизительно 4000, приблизительно 4100, приблизительно 4200, приблизительно 4300, приблизительно 4400, приблизительно 4500, приблизительно 4600, приблизительно 4700, приблизительно 4800, приблизительно 4900, приблизительно 5000 или больше мг.

[214] В одном аспекте введение недельной дозы приблизительно 1000 мг/м^2 антитела предусматривает введение приблизительно 2750 мг антитела.

[215] В других аспектах введение недельной дозы приблизительно 500 мг/м^2 антитела предусматривает введение приблизительно 1375 мг антитела, а введение недельной дозы приблизительно 750 мг/м^2 антитела предусматривает введение приблизительно 2065 мг антитела.

[216] Сходным образом, в некоторых аспектах эффективное количество антитела составляет приблизительно 25 мг/кг; однако в некоторых вариантах осуществления концентрация может быть выше или ниже. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество может составлять приблизительно 1-50 мг/кг, приблизительно 5-40 мг/кг, приблизительно 10-30 мг/кг или приблизительно 15-25 мг/кг или представлять собой любое значение в данном диапазоне. Например, в некоторых вариантах осуществления эффективное количество может составлять 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 26, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 или 50 или больше мг/кг. Как показано в примере 11, результаты исследования фазы 3 предусматривали диапазон (мин./макс.) и медианные дозы, например, медианная доза составляла 25,6 мг/кг, находясь в диапазоне от 19,8 до 31,1 мг/кг, при этом подавляющее большинство пациентов получали от 22 до 28 мг/кг. (См. таблицу 17).

[217] В одном аспекте введение приблизительно 1000 мг/м^2 антитела предусматривает введение приблизительно 25 мг/кг антитела.

[218] В других аспектах введение дозы приблизительно 500 мг/м^2 антитела предусматривает приблизительно 12,5 мг/кг антитела, и введение дозы приблизительно 750 мг/м^2 предусматривает приблизительно 18,75 мг/кг антитела.

[219] Раскрытые способы лечения также можно комбинировать с другими известными способами лечения, как того может потребовать ситуация. Текущий стандарт лечения AL-амилоидоза, например, обычно предусматривает аутологичную трансплантацию стволовых клеток крови (ASCT) или аутологичную трансплантацию костного мозга. Таким образом, в некоторых аспектах раскрытые антитела можно вводить до введения других известных средств лечения, после их введения или одновременно с их введением. В некоторых аспектах раскрытые антитела можно вводить только после того, как другие варианты лечения оказались безуспешными, или болезнь продолжает прогрессировать. Другими словами, в некоторых вариантах осуществления раскрытые

антитела используют для лечения рефрактерного амилоидного заболевания, такого как рефрактерный AL-амилоидоз.

[220] Как обсуждалось выше, антитело можно вводить в комбинации с дополнительным средством терапии. В одном аспекте антитело вводят до введения дополнительного средства терапии, одновременно с его введением или после его введения.

[221] В различных аспектах антитело вводят перед введением дополнительного средства терапии.

[222] Способы, описанные в данном документе, основаны на введении антитела по настоящему изобретению. В различных аспектах введение антитела субъекту предусматривает введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антитело, ацетат натрия, хлорид натрия, маннит и полисорбат 80.

[223] Помимо своей эффективности при лечении представляющего интерес заболевания терапевтический лекарственный препарат может быть ассоциирован с другими явлениями, не связанными с лечением такого заболевания, которые могут предусматривать побочные эффекты, виды токсичности или нежелательные явления. Например, терапевтический лекарственный препарат может быть ассоциирован с дозолимитирующей токсичностью, когда увеличение дозы ассоциировано с увеличением наблюдаемой токсичности, что может ограничить или способствовать запрету применения терапевтически эффективных доз.

[224] Некоторые виды терапии могут быть ассоциированы с нежелательными явлениями, возникающими во время лечения (TEAE), которые отсутствовали до начала лечения или которые ухудшились по интенсивности или частоте после воздействия лечения. Распространенные TEAE включают без ограничения тошноту, диарею, инфекцию мочевыводящих путей, боль, головокружение, головную боль, утомляемость и бессонницу. Используемый в данном документе термин "серьезное нежелательное явление" означает неблагоприятное медицинское явление, которое приводит к смерти, угрожает жизни, требует госпитализации в стационар или продления существующей госпитализации или приводит к стойкому или значительному увечью или инвалидности.

[225] Например, антитело по настоящему изобретению может быть ассоциировано с явлением, не связанным с лечением амилоидоза.

[226] В одном аспекте вводимые дозы антитела, составляющие 500 мг/м², 750 мг/м² и 1000 мг/м², не индуцируют нежелательные явления, связанные с лекарственным средством.

[227] В другом аспекте дозы антитела, составляющие 500 мг/м², 750 мг/м² и 1000 мг/м², не индуцируют дозолимитирующую токсичность.

[228] Эффективность антитела при лечении амилоидоза также может быть измерена на основании фармакокинетических параметров антитела.

[229] Например, эффективность дозы антитела может быть измерена как его способность связывать свою мишень (например, амилоидное отложение). Амилоидные

отложения могут содержать агрегаты фибрилл легкой λ -цепи и/или фибрилл легкой κ -цепи.

[230] В одном аспекте вводимые дозы 500 мг/м², 750 мг/м² и 1000 мг/м² индуцируют связывание антитела с амилоидными отложениями.

[231] Эффективность дозы антитела может быть измерена как занятость сайта целевого рецептора антителом. Занятость сайта целевого рецептора может указывать для данной дозы антитела, какая часть амилоидных отложений связана с антителом и, следовательно, является активной мишенью для деградации.

[232] Вводимые дозы антитела, описанные в данном документе, могут быть, например, достаточными для индуцирования по меньшей мере 50% занятости мишени. Антитело может индуцировать по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или большую занятость амилоидных отложений у субъекта.

[233] В одном аспекте вводимые дозы антитела, составляющие 500 мг/м², 750 мг/м² и 1000 мг/м², обеспечивают занятость сайта целевого рецептора, составляющую по меньшей мере 90%.

[234] Эффективность дозы антитела может быть измерена как его концентрация, измеренная у субъекта, по сравнению с вводимой дозой.

[235] В одном аспекте концентрация антитела у субъекта увеличивается с увеличением вводимой дозы.

[236] Эффективность дозы антитела может быть измерена как способность эффективно удалять амилоидные отложения у субъекта.

[237] В одном аспекте амилоидные отложения содержат агрегаты фибрилл легкой λ -цепи и/или фибрилл легкой κ -цепи. В других аспектах введение антитела индуцирует удаление амилоидных отложений, присутствующих в органе или ткани. В различных аспектах орган или ткань выбраны из группы, состоящей из сердца, почки, печени, легкого, желудочно-кишечного тракта, нервной системы, скелетно-мышечной системы, мягкой ткани и кожи.

[238] Следующие примеры приведены для иллюстрации настоящего изобретения. Однако следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается конкретными условиями или деталями, описанными в этих примерах. Все печатные публикации, упомянутые в данном документе, специально включены в него посредством ссылки.

[239] Ниже представлены примеры, в которых обсуждается эффективность высоких доз антитела по настоящему изобретению отдельно или в комбинации с терапией, направленной на плазматические клетки, предусмотренной для обсуждаемых путей применения. Следующие примеры приведены для дополнительной иллюстрации вариантов осуществления настоящего изобретения, но не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения. Хотя они являются типичными среди тех, которые могут быть использованы, в качестве альтернативы могут быть использованы другие процедуры, методологии или методики, известные специалистам в данной области техники.

ПРИМЕРЫ

ПРИМЕР 1.**ПОЛУЧЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК АНТИТЕЛА**

[240] Антитело по настоящему изобретению получали путем трансфекции клетки-хозяина плазмидой, кодирующей кодон-оптимизированную последовательность ДНК для повышения эффективности трансляции и повышения эффективности транскрипции, без изменения аминокислотной последовательности антитела.

[241] Клетки культивировали в условиях для достижения высокого титра антитела и плотности клеток. Процесс изготовления предусматривал получение в биореакторе до достижения оптимального баланса клеточного дебриса/выхода и титра антител.

[242] Затем полученные антитела характеризовали путем изучения гетерогенности по заряду в различных стрессовых условиях.

[243] Как проиллюстрировано на **фигуре 1**, анализ нативных, восстановленных и восстановленных и дегликозилированных фракций продемонстрировал, что все фракции представляли собой сложные смеси. Все нативные фракции содержали смеси ожидаемых вариантов гликозилирования.

[244] Фракции AV4 и AV5 содержали сialiлированные разновидности. Фракции основного пика и BV1 обогащали более мелкими нейтральными разновидностями (G0 и G0F). Также было показано, что более кислые фракции были обогащены галактозилированными нейтральными разновидностями (G1F и G2F), и что нативная фракция AV5 была обогащена полумерами (НС/LC), антителом, лишенным N-концевой половины одной НС, и другими неидентифицированными фрагментами. Нативная фракция BV1 была обогащена НС, сохраняющими С-концевой лизин, как и ожидалось, а восстановленные фракции AV3-5 LC были обогащены гликированными лизинами.

[245] Как проиллюстрировано на **фигуре 1**, гетерогенность антител по заряду оценивали посредством разделения методом капиллярного зонального электрофореза (CZE) (**фигура 1А**), посредством разделения методом капиллярного изоэлектрического фокусирования (сIEF) (**фигура 1В**) и посредством катионообменной хроматографии (СЕХ, **фигура 1С**). Результаты продемонстрировали, что кажущаяся гетерогенность не была артефактом данного способа.

ПРИМЕР 2.**ИССЛЕДОВАНИЕ ФАЗЫ 1А/В**

[246] В исследование включали пациентов с рецидивирующим или рефрактерным AL-амилоидозом, которые получали предшествующее лечение, направленное на плазматические клетки. Пациенты получали раскрытое антитело в виде однократной внутривенной инфузии (фаза 1а) или серии инфузий один раз в неделю в течение 4 недель (фаза 1б). Вкратце, раскрытое антитело представляет собой моноклональное антитело IgG1, которое нацеливается на неправильно свернутые легкие цепи AL-амилоидных фибрилл, отличительного признака AL-амилоидоза. Раскрытое антитело специфически связывается с конформационным эпитопом, присутствующим на амилоидных фибриллах, состоящих как из легкой цепи каппа (κ) человека, так и из легкой цепи лямбда (λ)

человека. В обеих фазах 1a и 1b использовали схему повышения дозы "вверх и вниз", при которой вводили последовательные дозы 0,5, 5, 10, 50, 100, 250 и 500 мг/м².

[247] Первичная цель исследования заключалась в установлении максимальной переносимой дозы антитела, а вторичные цели включали: (1) демонстрацию снижения амилоидной нагрузки, о чем свидетельствует снижение степени поражения органомегалией и/или улучшение функции органов; (2) определение фармакокинетики антитела при введении путем однократной IV инфузии (фаза 1a) или путем серии IV инфузий один раз в неделю (фаза 1b) и (3) определение разницы между дозами 250 мг/м² и 500 мг/м².

[248] Основные критерии включения предусматривали возраст 21 год или старше, то, что пациент ранее получал системную терапию, то, что пациенту не требовалась терапия, нацеливающаяся на плазматические клетки, и то, что пациент характеризовался общим состоянием согласно Восточной кооперативной онкологической группе (ECOG), соответствующим 3 или меньше.

[249] Основные критерии исключения предусматривали внутрижелудочковую перегородку больше 2,5 мм, клиренс креатина менее чем 30 см³/мин, уровень щелочной фосфатазы более чем в 3 раза выше институциональной верхней границы нормы и уровень билирубина более чем 3,0 мг/дл.

[250] В исследовании фазы 1a повышение дозы проводили по "схеме вверх и вниз". При переносимости каждый из последующих пациентов получал все более высокие дозы антитела, при этом два пациента были включены для получения дозы 500 мг/м². Даже пациенты, получающие дозу 500 мг/м², не сообщали о какой-либо дозолIMITИРУЮЩЕЙ токсичности. Пациентов оценивали на неделе 0, вводили дозу антитела на неделе 1 и затем повторно оценивали на неделях 2, 3, 4 и 8.

[251] В исследовании фазы 1b инфузии проводили один раз в неделю в течение четырех недель, начиная с 0,5 мг/м². При переносимости каждый из последующих пациентов получал все более высокие дозы антитела, при этом шесть пациентов были включены для получения дозы 500 мг/м².

[252] Результаты

[253] Двадцать семь пациентов лечили антителом. Двадцать шесть пациентов были подходящими для оценки ответа. Восемь пациентов завершили фазу 1a, и девятнадцать пациентов завершили лечение в фазе 1b. Медианный возраст в фазах 1a и 1b составлял 68 лет. Все пациенты переносили вводимую дозу mAb и вплоть до самого высокого уровня дозы 500 мг/м² как в фазе 1a, так и в фазе 1b. Не наблюдали связанных с лекарственным средством нежелательных явлений (AE) 4 или 5 степени (AE 5 степени включают без ограничения случаи смерти, связанные с лекарственным средством) или дозолIMITИРУЮЩЕЙ токсичности. У двух пациентов через 3-4 дня после инфузии развилась сыпь 2 степени. У одного пациента развилась кожная сыпь в фазе 1a (уровень дозы 4) и когда его повторно лечили в фазе 1b. Биопсия кожи с иммуногистохимическим окрашиванием продемонстрировала связывание антител с амилоидными фибриллами с

сопутствующим нейтрофильным инфильтратом. У этого же пациента и еще одного пациента в фазе 1b развилась сходная сыпь, что дополнительно подтверждает клинические и корреляционные данные о том, что антитело непосредственно связывается с амилоидными фибриллами из легких цепей. В целом, 63% (5 из 8) поддающихся оценке пациентов продемонстрировали ответ со стороны органов после одной инфузии антитела в фазе 1a. Медианное время до ответа в фазе 1a составляло 4,5 недели после завершения терапии. В фазе 1b 61% (11 из 18) поддающихся оценке пациентов демонстрировали значительные ответы со стороны органов с медианным временем до ответа, составляющим 1 неделю после начала терапии, с тенденцией к более быстрому ответу при более высоких дозировках. Кроме того, ответ со стороны сердца наблюдался у 67% (8/12), и ответы со стороны почек наблюдались у 33% (4/12) поддающихся оценке пациентов.

[254] Характеристики пациентов из подгруппы поддающихся оценке пациентов показаны в таблице 3 ниже.

[255] ТАБЛИЦА 3.

Характеристики пациентов в фазе 1a/b						
Характеристика	Медианное значение					
Возраст (N=21 пациент)	67 лет (диапазон: 34-77)					
Пол		Мужской	N=15	(68%)		
		Женский	N=6	(32%)		
Тип легкой цепи		λ	N=13	(52%)		
		K	N=8	(48%)		
Стадия согласно пересмотренной шкале Мейо	II (диапазон: I-IV)					
Поражение органов (число)	2 (диапазон: 1-4)	Сердце	N=11	(52%)		
		Почка	N=11	(52%)		
		Кожа/мягкая ткань	N=10	(48%)		
		GI	N=8	(38%)		
		Нервная система	N=4	(19%)		
		Печень	N=3	(14%)		
		Легкое	N=2	(10%)		
		Скелетно-мышечная система	N=1	(5%)		
		Наилучший		CR	N=3	(14%)

гематологический ответ на терапию				
		VGPR	N=15	(71%)
		PR	N=2	(10%)
		NR	N=1	(5%)
Предыдущий режим (число)	2 (диапазон: 1-6)			
Исходный уровень NT-proBNP (нг/л) ^a	2359 (диапазон: 894-13131)			
Исходный уровень белка в моче за 24 ч (мг/24 ч) ^b	4998 (диапазон: 1078-10170)			
Время с момента последнего воздействия химиотерапии (мес.)	6 (диапазон 1-51)			
^a Исходный уровень NT-proBNP у пациентов с поражением сердца, которые были подходящими для оценки ответа (исходный уровень NT-proBNP составляет 650 пг/мл или больше). ^b Исходный уровень белка в моче за 24 часа у пациентов с поражением почек, которые были подходящими для оценки ответа (исходный уровень белка в моче за 24 часа составляет больше 500 мг/24 ч).				

[256] После завершения исследований фазы 1a/b 18 пациентов характеризовались ответами, поддающимися оценке (у N=1 отсутствовало определяемое заболевание, N=2 не завершили лечение). Двенадцать из 18 пациентов (67%) демонстрировали улучшенный ответ со стороны органов. В частности, в фазе 1a 63% пациентов (5 из 8) с измеримой нагрузкой заболевания демонстрировали ответ со стороны органов после одной инфузии антитела (2 ответа со стороны почек, 2 ответа со стороны сердца и 1 ответ со стороны GI). В исследовании фазы 1b 70% пациентов (7 из 10) с измеряемой нагрузкой заболевания демонстрировали ответ со стороны органов: 3 из 4 пациентов, у которых оценивали ответ при поражении сердца, демонстрировали ответ со стороны сердца; 4 из 4 пациентов, у которых оценивали ответ при поражении почек, демонстрировали ответ со стороны почек; у 1 пациента оценивали ответ со стороны GI и 1 пациент с ответом со стороны мягких тканей демонстрировал улучшение в отношении артрита с °3→4° 1.

[257] Ответ со стороны сердца

[258] У восьми пациентов оценивали ответ со стороны сердца. Среди показателей, которые оценивали, были уровень NT-proBNP и критерии класса согласно NYHA. Исходный уровень у всех этих пациентов составлял 650 пг/мл. Пять пациентов (63%) демонстрировали значительно улучшенный ответ (т. е. снижение уровня NT-proBNP на

30% или больше и/или переход из III класса в I класс согласно NYHA), у 2 пациентов состояние было стабильным, и только один демонстрировал какой-либо признак прогрессирования заболевания.

[259] Ответ со стороны почек

[260] У восьми пациентов оценивали ответ со стороны почек, при этом протеинурия была основным показателем для определения способности к ответу. Шесть пациентов (75%) демонстрировали значительно улучшенный ответ (т. е. снижение протеинурии на 30% или больше или снижение до менее чем 0,5 г/24 часа в отсутствие прогрессирования симптомов со стороны почек), и состояние двух пациентов оставалось стабильным. Ни один из пациентов не демонстрировал признаков прогрессирования заболевания со стороны почек (ухудшение eGFR на более чем 25%).

[261] Обзор результатов исследования

[262] Лечение антителом хорошо переносилось и было безопасным. Нежелательные явления (AE) 4 или 5 степени, связанные с лекарственным средством, или дозолимитирующую токсичность не наблюдали вплоть до MTD 500 мг/м². Более того, антитело является клинически эффективным. У большинства пациентов наблюдали ранний и устойчивый ответ со стороны органов даже при однократной инфузии или инфузии один раз в неделю в течение 4 недель. Улучшенные ответы наблюдали во всех тканях/органах, включая ответ со стороны сердца, почек, GI, кожи и мягких тканей. Действительно, антитело безопасно способствует устранению амилоида у 67% пациентов и приводит к улучшению функции органов уже после введения однократной дозы, даже у пациента с отложениями AL λ . Ответ пациентов на антитело был быстрым и устойчивым. Действительно, при медианном времени до ответа, составляющем 4,5 недели в испытании фазы 1a, и всего одну неделю в испытании фазы 1b антитело обеспечивает положительный ответ быстрее, чем любое другое известное терапевтическое средство, нацеливающееся на амилоидные фибриллы. Быстрое разрушение амилоидных фибрилл антителом может улучшить функцию органов и, в более широком смысле, значительно снизить смертность пациентов с этим неизменно смертельным заболеванием.

ПРИМЕР 3.

ОТВЕТ СО СТОРОНЫ СЕРДЦА НА ХИМЕРНОЕ МОНОКЛОНАЛЬНОЕ АНТИТЕЛО, РЕАКТИВНОЕ В ОТНОШЕНИИ ФИБРИЛЛ, У ПАЦИЕНТОВ С AL-АМИЛОИДОЗОМ С ГЛОБАЛЬНОЙ ПРОДОЛЬНОЙ ДЕФОРМАЦИЕЙ: РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЯ ФАЗЫ 1B

[263] Открытое клиническое испытание фазы 1b описанного данном документе антитела было завершено с многообещающими результатами. Это исследование проводили для оценки ответа функции миокарда на введение mAb с применением глобальной продольной деформации (GLS).

[264] В испытание было включено девятнадцать пациентов с рецидивирующим или рефрактерным AL-амилоидозом (возраст \pm SD, 63 \pm 12; 68% мужчин). Пятьдесят три процента характеризовались амилоидом из легкой цепи каппа, и 52% характеризовались

поражением сердца, определенным по уровню NTpro-BNP больше 650 пг/мл. Результаты скрининга уровня NTpro-BNP и исходные уровни девятнадцати пациентов показаны в таблице 9 ниже. В число этих кардиологических пациентов вошли 2 пациента, которые не участвовали в первичном клиническом анализе сердца, подлежащем оценке, вследствие различий в значениях исходного уровня NT-proBNP по сравнению со значениями уровня NT-proBNP после скрининга.

[265] mAb вводили один раз в неделю в течение 4 недель с последовательными дозами 0,5, 5, 10, 50, 100, 250 и 500 мг/м² по схеме повышения дозы. Сравнивали клинические эхокардиографические (ЕЧО) обследования на исходном уровне и через 12 недель после терапии. Получали несколько эхокардиографических переменных, включая фракцию выброса левого желудочка (LVEF) (рассчитанную с применением бипланового метода по Симпсону) и глобальную продольную деформацию (GLS). GLS измеряли с применением спекл-трекинга (TomTec-Arena 1.2, Германия) и рассчитывали как среднее значение из измерений 4, 2 и 3 камер. Для сравнения эхокардиографических переменных на исходном уровне и через 12 недель после терапии с помощью mAb использовали парный t-критерий Стьюдента. Анализ параметров эхокардиограммы продемонстрирован в таблице 4 ниже.

[266] ТАБЛИЦА 4

Анализ эхокардиографических параметров			
	Скрининг	Неделя 12	P-значение
Количество пациентов	10	10	
lvidd_cm (среднее значение (sd))	4,38 (0,93)	4,32 (0,91)	0,319
ivs_cm (среднее значение (sd))	1,29 (0,22)	1,21 (0,18)	0,119
pwt_cm (среднее значение (sd))	1,12 (0,27)	1,14 (0,25)	0,217
lved_mass_g (среднее значение (sd))	187,86 (43,37)	179,30 (42,87)	0,197
ef_percent (среднее значение (sd))	51,95 (9,92)	52,28 (11,59)	0,856
mcf (среднее значение (sd))	0,37 (0,11)	0,38 (0,13)	0,626
mv_e_m_s (среднее значение (sd))	8,53 (24,18)	0,94 (0,37)	0,347
mv_a_m_s (среднее значение (sd))	13,45 (34,05)	0,72 (0,23)	NA
gls_percent (среднее значение (sd))	15,68 (4,14)	17,37 (3,53)	0,004

[267] Новые виды терапии, направленные на плазматические клетки, продолжают появляться с улучшениями гематологических ответов. Ответ со стороны органов даже после установления гематологического ответа остается непредсказуемым. Сохраняющаяся дисфункция органов независимо от гематологического ответа остается проблемой. Сохраняется потребность в видах терапии, нацеливающих на удаление амилоидных фибрилл, чтобы предотвратить и устранить повреждение органов.

[268] В то время как в общей когорте не произошло значительного изменения ни LVEF ($56,2 \pm 8,6\%$ против $56,2 \pm 9,5\%$, $p=0,985$), ни GLS ($-19,04 \pm -5,11\%$ против $-19,73 \pm$

-4,1%, $p=0,119$) от исходного уровня до 12 недель обследований, пациенты с поражением сердца демонстрировали улучшение GLS ($-15,58 \pm -4,14\%$ до и $-17,37 \pm -3,53\%$ после, $p=0,004$). Иллюстративная эхокардиограмма пациента с поражением сердца до лечения и на неделе 12 после лечения антителом демонстрировала исходный уровень NT-proBNP 2549 пг/мл и значение GLS $-9,58$ до лечения. Через 12 недель лечения с помощью mAb пациент демонстрировал снижение GLS до $-13,39$ и снижение уровня NT-proBNP до 1485 пг/мл. Анализ подгрупп демонстрировал улучшение GLS у пациентов с поражением сердца амилоидом из цепей лямбда ($-14,3 \pm -4,38\%$ до и $-16,17 \pm -3,74\%$ после, $p=0,02$) и тенденцию к улучшению при поражении сердца амилоидом из цепей каппа ($-16,60 \pm -4,10\%$ до и $-18,16 \pm -3,48\%$ после, $p=0,07$). Кроме того, в популяции, подходящей для кардиологической оценки, как определено в клиническом анализе исследования (с применением исходных значений уровня NT-proBNP, а не скрининговых значений), также наблюдали статистически значимое снижение % GLS (p -значение 0,0163) с численно сходным снижением ($-1,71$), как и в анализе, представленном в группе ЭХО ($-1,69$). В таблице 5 ниже показаны результаты анализа снижения GLS у кардиологических пациентов по сравнению с пациентами, которые являются подходящими для кардиологической оценки, и некардиологическими пациентами.

[269] ТАБЛИЦА 5

Сравнение кардиологических пациентов, прошедших скрининг, с определенными исходными значениями, поддающимися оценке, и некардиологическими пациентами.				
	Количество пациентов	Исходный уровень	Последующее наблюдение	P-значение
Среднее значение % GLS (стандарт. откл.)	10 (кардиологические пациенты, прошедшие скрининг уровня NT-proBNP)	-15,68 (4,14)	-17,37 (3,53)	0,004
	8 (кардиологические пациенты, оцениваемые по исходному уровню: NT-proBNP)	-14,95 (4,32)	-16,66 (3,55)	0,0163
	9 (некардиологические пациенты, прошедшие скрининг уровня NT-proBNP)	22,77 (3,12)	-22,36 (3,02)	0,4829

[270] В заключение, данное испытание демонстрирует значительное улучшение

GLS после воздействия раскрытого антитела, специфического mAb к фибриллам, у субъектов с поражением сердца AL-амилоидом. Введение раскрытого антитела в фазе 1 привело к улучшению GLS у кардиологических пациентов при наблюдении в течение 12 недель, как проиллюстрировано на **фигуре 9**. У 9 из 10 пациентов с поражением сердца улучшился % GLS. Вероятность улучшения у 9 или больше пациентов при нулевой гипотезе об отсутствии эффекта лекарственного средства составляет $\sim 0,0107$, что свидетельствует о том, что наблюдение улучшения у 9 из 10 пациентов является крайне маловероятным исходом, за исключением случаев, когда лекарственное средство действительно является эффективным.

ПРИМЕР 4.

ОТВЕТ СО СТОРОНЫ ОРГАНОВ НА ХИМЕРНОЕ МОНОКЛОНАЛЬНОЕ АНТИТЕЛО, РЕАКТИВНОЕ В ОТНОШЕНИИ ФИБРИЛЛ, У ПАЦИЕНТОВ, НЕ КОНТРОЛИРУЕМЫХ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИ

[271] Пациенту, прошедшему 6 курсов лечения с химиотерапией и достигшему гематологического частичного ответа на эти курсы лечения без ответа со стороны органов, вводили моноклональное антитело (mAb), реактивное в отношении амилоидных фибрилл, описанное в данном документе. В течение трех последовательных периодов после введения дозы наблюдали устойчивое снижение уровня NT-proBNP после получения антитела, и у пациента достигался ответ со стороны органов. Но после отмены антитела уровень свободных легких цепей повышался, и состояние пациента ухудшалось. После завершения испытания наблюдали прогрессирование симптомов со стороны органов. Профиль ответа этого пациента позволил исследователям сделать вывод, что ответ со стороны органов был вызван лечением антителом и не зависел от гематологического ответа, индуцированного химиотерапией.

ПРИМЕР 5.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАЗЫ 2 ПЕРЕНОСИМОСТИ АНТИТЕЛА У ПАЦИЕНТОВ С AL-АМИЛОИДОЗОМ, ПОЛУЧАЮЩИХ ОДНОВРЕМЕННО

ЦИКЛОФОСФАМИД-БОРТЕЗОМИБ-ДЕКСАМЕТАЗОН (CYBORO)

[272] Антитело по настоящему изобретению исследовали в качестве монотерапии в открытом исследовании фазы 1 с повышением дозы, где было показано, что оно является безопасным, переносимым при дозах до 500 мг/м^2 и ассоциировано с ранним ответом со стороны органов. Дозолимитирующая токсичность (DLT) не наблюдалась, и PK профиль, по-видимому, не достигал линейности. Была выдвинута гипотеза, что раскрытое антитело будет модифицировать течение заболевания AL-амилоидоза, способствуя удалению амилоида, отложенного в тканях.

[273] Цель многоцентрового открытого исследования (3+3) с последовательными когортами для подбора дозы антитела у пациентов с AL-амилоидозом I, II и IIIa стадии по Мейо заключалась в определении безопасности и переносимости антитела в комбинации с циклофосфамид-бортезомиб-дексаметазоном (CyBoRD) в качестве стандартной терапии

(SOC) плазмноклеточной дисплазии (PCD) в течение 27-дневного периода лечения, а также в определении рекомендуемой дозы для последующих исследований фазы 3.

[274] Исследование было разделено на две части со следующими целями: в части А определяли безопасность и переносимость раскрытого антитела в комбинации с SoC CyVorD и определяли рекомендуемую дозу раскрытого антитела для фазы 3 (RP3D); в части В оценивали безопасность и переносимость раскрытого антитела в комбинации с Soc CyVorD и даратумумабом.

[275] У пациента имелось поддающееся измерению гематологическое заболевание, определяемое по меньшей мере по одному из:

FLC больше 5 мг/дл с аномальным соотношением или

m-пика при электрофорезе белков сыворотки крови (SPEP) больше 0,5 г/дл.

[276] Пациенты наблюдались в клинике один раз в неделю в течение 4 недель для получения IV инфузии антитела продолжительностью 2 ч, а также для проведения оценок безопасности и переносимости. Впоследствии пациенты получали инфузии антитела примерно один раз в две недели в качестве постоянной поддерживающей дозы.

[277] Фактическую дозу определяли по площади поверхности тела пациента в квадратных метрах. При введении в один день антитело вводили сначала перед химиотерапией с применением CyVorD.

[278] ЧАСТЬ А

[279] В части А исследования использовали схему повышения дозы 3+3, начиная с дозы 500 мг/м². Пациентов наблюдали в отношении дозолIMITИРУЮЩЕЙ токсичности (DLT). Период наблюдения в отношении DLT для первой когорты составлял 14 дней после первой инфузии. Для последующих когорт этот период составлял 27 дней. Включение в новую когорту со следующей более высокой дозой антитела начинали только после завершения периода наблюдения в отношении DLT у последнего пациента, включенного в предыдущую когорту, при этом последующим когортам вводили дозы 750 и 1000 мг/м². В каждую когорту дозы включали по меньшей мере 3 пациента, при этом когорте 1 (n=4) вводили дозу 500 мг/м², когорте 2 (n=3) вводили дозу 750 мг/м² и когорте 3 (n=6) вводили дозу 1000 мг/м² (см. таблицу 6). Период наблюдения в отношении DLT был еженедельным в течение четырех недель. Оценка безопасности включала показатели жизненно важных функций, физикальные обследования, электрокардиограммы (ECG), оценки иммуногенности (ADA), клинические лабораторные параметры (гематология, биохимический анализ сыворотки крови, анализ мочи) и TEAE. Также оценивали фармакокинетический (PK) профиль антитела.

[280] Как проиллюстрировано в таблице 6, средний возраст 13 пациентов составлял 65,2 года (диапазон от 47,6 до 79,6 лет). Большинство пациентов были мужчинами (76,9%), белыми (84,6%) и не испанцами (100%). Стадии I (7,7%), II (69,2%) и III (23,1%) по Мейо отражали широкий диапазон степени тяжести заболевания у включенных пациентов. Все пациенты успешно прошли лечение до 4-й дозы, при этом когорта с самой высокой дозой (1000 мг/м²) включала 6 пациентов. DLT не наблюдали, и антитело хорошо

переносилось всеми пациентами. Наиболее распространенными ТЕАЕ были диарея и тошнота (по 30,8% каждое) (таблица 7). Нормализованные по дозе РК концентрации лучше всего описывались линейной двухкомпонентной моделью, и конечный период полужизни составлял 28 дней.

[281] Таблица 6

	500 мг/м ² антитела+ CyBorD N=4	750 мг/м ² антитела+С yBorD N=3	1000 мг/м ² антитела+С yBorD N=6	1000 мг/м ² антитела+CyBorD +Dara (промежуточные данные) N=2	Все пациенты N=15
Медианный возраст, лет (диапазон)	55 (49-62)	7- (48-70)	75 (62-80)	63 (63-64)	64 (48-80)
Пол, n (% мужчин)	4 (100%)	2 (66,7%)	4 (66,7%)	2 (100%)	12 (80%)
Диапазон количеств предыдущих курсов лечения PCD	3-4	0-4	0-4	Пока недоступно	0-4
Время с момента постановки диагноза (месяцы), медианное значение (диапазон)	46 (19- 163)	13 (3-23)	12 (3-23)	3 (2-3)	13 (2-163)
Стадия по Мейо, n (%)					
I	1 (25)	0	0	0	1 (6,7)
II	2 (50)	2 (66,7)	5 (83,3)	2 (100)	11 (73,3)
III	1 (25)	1 (33,3)	1 (16,7)	0	3 (20)
AL-	2 (50)	3 (100)	3 (50)	2 (100)	10 (66,7)

амилоидоз в сердце, (уровень NTproBNP больше 650 пг/мл, %)					
Медианное значение уровня NT-ProBNP (пг/мл) (диапазон)	928 (50-3712)	752 (612-1002)	2926 (545-18696)	1799 (823-2774)	1002 (50-18696)
Медианное значение уровня cTnT (нг/мл) (диапазон)	0,034 (0,010-0,041)	0,018 (0,010-0,047)	0,012 (0,010-0,106)	0,019 (0,013-0,024)	0,016 (0,010-0,106)
Исходный уровень, eGFR, медианное значение (диапазон)	45 (34-54)	60 (44-60)	33 (22-60)	101 (84-118)	47 (22-118)

[282] Это исследование демонстрировало, что описанное в данном документе антитело при дозах до 1000 мг/м², вводимое вместе с CyBoGD, хорошо переносилось в популяции с AL-амилоидозом. Были начаты два исследования эффективности/безопасности 3 фазы, в одно из которых были включены пациенты со стадией IIIa по Мейо, а в другое были включены пациенты со стадией IIIb, и на основании результатов этого исследования 2 фазы для лечения в этих исследованиях использовали дозу антитела, составляющую 1000 мг/м².

[283] Таблица 7.

Предпочтительный термин по MedDRA	Когорта 1: 500 мг/м ² N=4	Когорта 2: 750 мг/м ² N=3	Когорта 3: 1000 мг/м ² N=6	Всего N=13
По меньшей мере одно TEAE	4 (100.)	3 (100,0)	6 (100,0)	13 (100,0)
По меньшей мере одно SAE	2 (50,0)	1 (33,3)	1 (16,7)	4 (30,8)

считалось по меньшей мере возможно связанным с лечением ¹				
По меньшей мере одно TEAE 3 степени или выше	0	0	1 (16,7)	1 (7,7)
По меньшей мере одно SAE, возникающее во время лечения	0	0	2 (33,3)	2 (15,4)
TEAE, приводящие к прекращению участия в исследовании	0	0	0	0
TEAE, приводящие к смерти	0	0	0	0
По меньшей мере одно TEAE, связанное с DLT	0	0	0	0
Наиболее распространенные TEAE (больше 10% в столбце "Всего")				
Диарея	0	1 (33,3)	3 (50,0)	4 (30,8)
Тошнота	2 (50,0)	1 (33,3)	1 (16,7)	4 (30,8)
Бессонница	2 (50,0)	0	1 (16,7)	3 (23,1)
Утомляемость	1 (25,0)	0	1 (16,7)	2 (15,4)
Гиперкалиемия	1 (25,0)	0	1 (16,7)	2 (15,4)
Анемия	0	0	2 (33,3)	2 (15,4)
Головная боль	1 (25,0)	1 (33,3)	0	2 (15,4)
Сыпь	1 (25,0)	0	1 (16,7)	2 (15,4)
Сокращения: TEAE представляет собой нежелательное явление, возникающее во время лечения. TEAE определяли как нежелательное явление, возникающее во время или после введения исследуемого dmg. SAE представляет собой серьезное TEAE. DLT представляет собой дозолимитирующую токсичность.				
¹ TEAE, по меньшей мере возможно связанные с лечением, определяли как TEAE, которые вероятно, возможно или определенно были связаны между собой. Примечание: Пациентов, испытывающих более чем 1 TEAE, учитывали только один раз при наибольшей тяжести и причинности.				

[284] ЧАСТЬ В

[285] В части В исследования пациентов (N=2) лечили с помощью CyBoRD в комбинации с даратумумабом (dara) и раскрытым антителом при 1000 мг/м². Период наблюдения в отношении DLT был еженедельным в течение четырех недель, затем наблюдение осуществляли один раз в две недели.

[286] 1,3 мг/м² бортезомиба для подкожного введения, 300 мг/м² циклофосфамида

(доза ограничена 500 мг) для IV введения и 20 мг дексаметазона для IV введения (CyBoRD) вводили один раз в неделю в дни 1, 8, 15 35-дневного цикла в первом цикле для согласования средств лечения с раскрытым антителом, а затем один раз в неделю в дни 1, 8, 15 28-дневного цикла в течение в общей сложности до 6 циклов. После завершения введения CyBoRD раскрытое антитело продолжали вводить один раз в две недели. Во время фазы повышения дозы не проводили корректировки дозы раскрытого антитела. Корректировки дозы CyBoRD вследствие токсичности осуществляли по усмотрению лечащего врача. Если было доказано, что рекомендуемая доза для фазы 3 составляет 1000 мг/м², то пациентам с более низкими уровнями дозы разрешалось увеличить их дозу до 1000 мг/м².

[287] Основные критерии включения и исключения были следующими: допускались пациенты с впервые диагностированным заболеванием и рецидивом; исключались пациенты с множественной миеломой и AL-амилоидозом и исключалась стадия Шв по Мейо.

[288] Краткое описание безопасности и дозирования

[289] Раскрытое антитело вводили от 40 до 276 дней (сбор данных прекращали 11/01/2020). Было показано, что раскрытое антитело является безопасным и хорошо переносится в комбинации с CyBoRD при 1000 мг/м², дозы, установленной в качестве рекомендуемой в фазе 3 для текущих испытаний CARES. Не наблюдали дозопонижающей токсичности или прекращения участия в исследовании, связанного с лечением. 2 пациентам с дозой, повышенной до 1000 мг/м², дозу снижали до 750 мг/м² вследствие диареи и рвоты соответственно. Лечение продолжали 40% пациентов с по меньшей мере 15 инфузиями раскрытого антитела. При премедикации с помощью 1 грамма ацетаминофена перорально и 25 мг дифенгидрамина перорально инфузионных реакций не наблюдали.

[290] Наиболее распространенные ТЕАЕ, по меньшей мере возможно связанные с исследуемым лечением, показаны в таблице 10. Наиболее распространенными ТЕАЕ, независимо от связи с раскрытым антителом, были диарея и тошнота, что сходно с фазой 1. Два пациента, которым снижали дозу с 1000 мг/м² до 750 мг/м² (вследствие диареи и рвоты соответственно), в дальнейшем демонстрировали устранение ТЕАЕ.

[291] Таблица 8

Предпочтительный термин согласно СТСАЕ	Антитело 500 мг/м²+CyBo rD N=4	Антитело 750 мг/м²+CyBo rD N=3	Антитело 1000 мг/м²+CyBo rD N=6	Антитело 1000 мг/м²+CyBo rD+Dara N=2	Все пациенты N=15
По меньшей мере одно ТЕАЕ, по меньшей мере	2 (50,0)	1 (33,3)	2 (33,3)	0	5 (33,3)

возможно связанное с лечением					
Сыпь	1 (25,0)	1 (33,3)	1 (16,7)	0	3 (20,0)
Диарея	1 (25,0)	0	0	0	1 (6,7)
Тошнота	1 (25,0)	0	0	0	1 (6,7)
Диспноэ	1 (25,0)	0	1 (16,7)	0	1 (6,7)
Анемия	0	0	1 (16,7)	0	1 (6,7)
	Сокращения: ТЕАЕ представляет собой нежелательное явление, возникающее во время лечения. ТЕАЕ определяли как нежелательное явление, возникающее во время или после введения исследуемого dmg. В эту таблицу включены все ТЕАЕ, которые, по мнению исследователя, по меньшей мере возможно связаны с исследуемым лечением.				

[292] Наиболее распространенные ТЕАЕ, по меньшей мере возможно связанные с исследуемым лечением, показаны в таблице 8.

ПРИМЕР 6

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА АНТИТЕЛА В ФАЗЕ 2

[293] Цели предварительного анализа фармакокинетических (РК) данных фазы 2 заключались в (1) оценке дозопропорциональности при РК воздействиях от 500 до 1000 мг/м²; (2) оценке наименьшей дозы/наименьшего количества доз для достижения целевого значения C_{trough} , составляющего 130 мкг/мл, и (3) оценке рекомендации по дозе и режиму для фазы 3 с учетом частичных данных по РК из фазы 2.

[294] Таблица 9. Сравнение исследования фазы 2 с исследованием фазы 1b

	Фаза 1b	Фаза 2
Пациент	Пациенты с AL-амилоидозом, которые ранее получали лечение	Аналогично
Материал для получения антитела	Не оптимально	Новая линия клеток с более высоким продуцированием
		Новый производитель с процессом, основанном на платформенном производстве для масштабируемости
		Удаление любых компонентов животного происхождения

		Сопоставимо с материалом для фазы 1 по аналитическим оценкам и оценкам воздействия на животных (РК)
CyVorD	Некоторые проходили химиотерапию перед введением дозы	Добавлен CyVorD: химиотерапия для применения при введении доз в фазе 3
РК анализ	ELISA в KCAS без валидации на уровне исследования LLOQ=0,5 мкг/мл	

[295] Индивидуальную РК антитела по настоящему изобретению оценивали с течением времени и сравнивали с данными исследования фазы 1b. Как проиллюстрировано на **фигурах 2А и 2В**, в исследовании фазы 2 дозы 500, 750 и 1000 мг/м² характеризовались полным пиком (самая высокая концентрация антитела в кровотоке пациента) и минимумом (самая низкая концентрация в кровотоке пациента перед введением) согласно данным для дозы 6, 4 и 3 соответственно) и демонстрировали увеличение РК воздействия с 500 до 1000 мг/м². Это контрастирует с данными исследования фазы 1b, где концентрации были ниже, а вариабельность выше.

[296] Как дополнительно показано на **фигурах 3А и 3В**, в исследовании среднее значение РК параметров антитела оценивали с течением времени и сравнивали с данными исследования фазы 1b. В фазе 2 дозы 500, 750 и 1000 мг/м² характеризовались данными с полным пиком и минимумом для доз 6, 4 и 3 соответственно, и показано увеличение РК воздействия при дозе от 500 до 1000 мг/м². Это контрастирует с данными исследования фазы 1b, где концентрации были ниже, а вариабельность выше, особенно после введения доз 2-4.

[297] Далее оценивали исследование пикового воздействия антитела при C_{\max} (мкг/мл) в зависимости от дозы. Как показано в таблице 10, при 500 мг/м² пиковые воздействия в целом были сопоставимы между исследованиями фазы 2 и фазы 1b. Наблюдали перекрывание значений C_{\max} после введения доз 1 и 4, а также сходный коэффициент накопления доза 3/доза 1, составляющий от приблизительно 1,43 до 2-кратного. В фазе 2 значение C_{\max} после введения доз 2 и 3 было на примерно 50% выше по сравнению с фазой 1b.

[298] В этом исследовании фазы 2 наблюдали вариабельность от низкой до умеренной. При 1000 мг/м² последние 3 точки данных добавили вариабельности (более низкие РК параметры; немного более тяжелый статус заболевания). При 750 мг/м² наиболее высокое значение %CV было обусловлено точкой данных 1003-0005, субъект с симптомами со стороны сердца, стадия 2 по Мейо, который был переведен на

даратумумаб.

[299] Таблица 10.

C_{\max}	Доза 1			Доза 2			Доза 3			Доза 4			Доза 5			Доза 6		
	500 мг	750 мг	1000 мг	500 мг	750 мг	1000 мг	500 мг	750 мг	1000 мг	500 мг	750 мг	1000 мг	500 мг	750 мг	1000 мг	500 мг	750 мг	1000 мг
N	4	3	6	4	3	6	4	3	3	4	3	3	4	3	3	4	2	0
Среднее значение	126	255	244	194	387	363	253	387	468	244	514	633	263	510	613	262		
SD	16,7	136,5	92,8	9,8	153,3	140,5	14,3	147,0	81,7	102,3	212,1	105,3	98,1	200,5	96,0	62,5		
Минимальное значение	113	154	134	182	210	210	236	220	374	138	283	533	184	302	517	192		
Медианное значение	120	200	267	196	472	339	254	444	505	245	559	624	231	526	613	258		
Максимальное значение	150	410	367	204	479	586	267	497	524	349	700	743	405	702	709	340		
CV%	13%	54%	38%	5%	40%	39%	6%	38%	17%	42%	41%	17%	37%	39%	16%	24%		
Среднее геометрическое значение	125,0	232,9	227,1	194,1	362,1	341,5	252,4	364,8	462,6	227,1	480,2	627,5	250,6	481,3	607,9	256,2		
GeoCV%	12,7%	54,1%	44,4%	5,1%	49,9%	39,8%	5,7%	46,4%	18,7%	46,9%	49,9%	16,7%	35,0%	44,9%	15,9%	24,4%		

[300] Как проиллюстрировано на **фигуре 4**, системное воздействие антитела оказалось немного более дозопропорциональным в диапазоне доз от 0,5 до 500 мг/м² (исследование фазы 1b). Среднее значение $T_{1/2}$ составляло 10 дней и 16 дней соответственно для 250 и 500 мг/м² в исследовании фазы 1b, а модель с QuantPharm демонстрировала значение $T_{1/2}$ ближе к 24 дням. C_{\min} устанавливали на уровне в среднем менее 3 цифр, и оно составляло 130 мкг/мл. Уровень NTproBNP начинал повышаться через 1 неделю после введения последней дозы (880 ч), когда значение C_{\min} для 500 мг/м² снижалось до примерно 100 мкг/мл (N=7 пациентов). Другие биомаркеры характеризовались высокой вариабельностью.

[301] Полумаксимальная эффективная концентрация (EC50) для амилоида с

наиболее высокой степенью связывания (in vitro) составляла примерно 157 мкг/мл, значение EC 90 по Михаэлису-Ментен (ММ) (расчетное) составляло примерно 36,5 мкг/мл (95 CI 5-134 мкг/мл).

[302] Моделирование и имитация фазы 1a/1b указывали на то, что минимальное прогнозируемое значение C_{minSS} в стабильном состоянии (среди пациентов из набора данных для анализа) достигало данного уровня после применения режимов введения доз 250 мг/м² QW, 750 мг/м² Q2W или 1000 мг/м² Q3W. При введении доз Q4W даже при дозе 1000 мг/м² достигалась лишь 82,7% целевая занятость при C_{minSS} у пациента с самым низким воздействием.

[303] Минимальное воздействие исследуемого антитела при C_{min} (C_{trough} , мкг/мл) оценивали в зависимости от дозы. Как показано в таблице 11, при 500 мг/м² в целом минимальные значения воздействий перекрывались между фазой 2 и фазой 1b, при этом в фазе 2 они были выше. Между фазами 2 и 1b коэффициент накопления доза 3/доза 1 составлял 2,3 по сравнению с 4,4-кратным. В этой фазе 2 наблюдалась вариабельность от низкой до умеренной.

[304] Минимальное значение C_{trough} для 90% занятости рецепторов было достигнуто при более 130 мкг/мл после введения 2-й недельной дозы ниже 1000 мг/м²; 3-й недельной дозы ниже 750 мг/м²; 6-й недельной дозы ниже 500 мг/м². Целевой показатель 130 мкг/мл был основан на исследовании фазы 1a/1b и, вероятно, может измениться с получением новых данных фазы 2.

[305] Таблица 11.

C_{min}	Доза 1			Доза 2			Доза 3			Доза 4			Доза 5			Доза 6		
	500 мг	750 мг	1000 мг	500 мг	750 мг	1000 мг	500 мг	750 мг	1000 мг	500 мг	750 мг	1000 мг	500 мг	750 мг	1000 мг	500 мг	750 мг	1000 мг
N	4	3	6	4	3	3	4	3	3	4	3	3	4	2	0	4	2	0
Среднее значение	57	102	119	104	222	324	139	274	353	129	330	396	136		193			
SD	8,5	43,3	75,8	31,2	124,5	37,6	35,1	130,7	66,2	17,9	163,2	31,3	41,3		38,4			
Минимальное значение	48	55	26	73	91	281	108	127	277	105	147	360	76		139			
Медианное значение	55	111	113	101	238	340	135	316	388	132	381	411	152		203			
Максимальное значение	68	140	241	141	338	351	179	378	395	148	461	417	167		228			

CV%	15%	42%	64%	30%	56%	12%	25%	48%	19%	14%	49%	8%	30%	20%
Среднее геометриче- ское значение	56,0	94,8	95,9	100, 5	193, 8	322, 5	135, 7	247, 5	348, 8	128, 3	295, 6	395, 1	130, 4	189, 8
GeoCV%	14,7 %	51,9 %	92,7 %	30,9 %	77,0 %	12,1 %	25,7 %	63,9 %	20,2 %	14,5 %	67,4 %	8,1 %	38,0 %	22,0 %

[306] AUC_T (мкг × ч/мл) исследуемого антитела оценивали в зависимости от дозы. Как показано в таблице 14, при 500 мг/м² кумулятивные воздействия в целом были сопоставимы между исследованиями фазы 2 и фазы 1b. Значения AUC_T после введения доз 1 и 4 перекрывались. В исследовании фазы 2 коэффициент накопления доза 3/доза 1 составлял 3,3-4 против 2-кратного в фазе 1b.

[307] В исследовании фазы 2 значение AUC_T было на примерно 100% выше после введения доз 2 и 3 по сравнению с исследованием фазы 1b, и вариабельность была от низкой до умеренной.

[308] Таблица 12.

AUC _T	Доза 1			Доза 2			Доза 3			Доза 4		
	500 мг	750 мг	1000 мг	500 мг	750 мг	1000 мг	500 мг	750 мг	1000 мг	500 мг	750 мг	1000 мг
N	4	3	6	4	3	3	4	3	3	4	3	2
Среднее значение	15240	29879	30335	25651	51159	67003	32082	55333	68947	62061	14178 0	
SD	1439	14672	12592	1508	22865	5049	4399	23269	12331	14232	60367	
Мини- мальное значение	13773	17545	13430	24286	25133	62988	28302	29046	54721	48016	72328	
Меди- анное значение	14987	25986	34455	25260	60324	65350	31281	63660	75535	62622	17135 7	
Макси- мальное значение	17212	46105	43881	27800	68019	72671	37462	73292	76585	74983	18165	

мальн ое значе ние											5	
CV%	9%	49%	42%	6%	45%	8%	14%	42%	18%	23%	43%	
Средн ее геоме триче ское значе ние	15190,0	27598, ,5	27688, 7	25618, ,8	46894, ,7	66878, 4	31859, ,5	51365, ,2	68152, 4	60818, ,7	13106, 4,9	
GeoC V%	9%	52%	53%	6%	59%	7%	14%	53%	19%	24%	55%	

[309] Осуществляли оценку дозопропорциональности для C_{\max} /доза. Как проиллюстрировано на **фигуре 5** и в таблице 13, в этом исследовании фазы 2 значение C_{\max} увеличивалось примерно пропорционально дозе от 500 до 1000 мг/м². Это было особенно заметно после введения дозы 3, что указывало на насыщение мишень-опосредованного распределения лекарственного средства (TMDD) при 750 мг/м².

[310] Таблица 13.

Линии регрессии	
Доза (N)	<i>t</i>
1 (4, 3, 6)	-0,00002
2 (4, 3, 6)	-0,00005
3 (4, 3, 3)	-0,00008
4 (4, 3, 3)	0,00030
5 (4, 3, 3)	0,00020

[311] Дополнительно осуществляли оценку дозопропорциональности для C_{\min} /доза. Как проиллюстрировано на **фигуре 6** и в таблице 14, в этом исследовании фазы 2 значение C_{\min} увеличивалось примерно пропорционально дозе от 500 до 1000 мг/м². Это было особенно заметно после введения дозы 1, что указывало на насыщение мишень-опосредованного распределения лекарственного средства (TMDD) при 750 мг/м².

[312] Таблица 14.

Линии регрессии	
Доза (N)	<i>t</i>
1 (4, 3, 6)	-0,00004

2 (4, 3, 3)	0,0002
3 (4, 3, 3)	0,0002
4 (4, 3, 3)	0,0003

[313] Кроме того, оценивали дозопропорциональность для AUC_t/доза. Как проиллюстрировано на **фигуре 7** и в таблице 15, значение AUC_t повышалось примерно пропорционально дозе от 750 до 1000 мг/м², что указывает на насыщение мишень-опосредованного распределения лекарственного средства (TMDD) при 750 мг/м².

[314] Таблица 15.

Линии регрессии	
Доза (N)	<i>t</i>
1 (4, 3, 6)	-0,00030
2 (4, 3, 3)	0,03140
3 (4, 3, 3)	0,00960

[315] В заключение, предварительные данные PK исследования описанного в данном документе антитела демонстрировали, что PK воздействия повышались с повышением доз в исследуемом диапазоне доз от 500 до 1000 мг/м², и что TMDD приводило к большему дозопропорциональному повышению PK воздействий от 500 до 750 мг/м² и примерно дозопропорциональному повышению от 750 до 1000 мг/м². Информация свидетельствовала в пользу введения дозы 1000 мг/м², учитывая максимальную переносимую дозу с отсутствием опасений по поводу безопасности, и что все субъекты достигли более желаемого значения C_{min} после введения 2-й дозы (немедленное, полное и устойчивое насыщение мишени). Таким образом, данное исследование позволило выявить P3D (рекомендуемую дозу для фазы 3), определенную в протоколах исследования фазы 3 как нагрузочную дозу 4 QW с последующим введением поддерживающей дозы Q2W; уровень дозы 1000 мг/м².

[316] Полный сбор PK и PD данных в этой фазе 2 при более высоких уровнях доз, обновление модели PK/PD, объединяющей данные фаз 1 и 2, будут использованы для уточнения оптимального режима введения доз в фазе 3 и, возможно, для установления нового целевого значения C_{trough}.

[317] Несмотря на ограничения, связанные с различиями в анализе ВА для PK, тестовом материале и присутствии CyVorD по сравнению с его отсутствием (некоторых пациентов в фазе 1b лечили с применением химиотерапии до исследования), воздействия антител после введения первой дозы (дозы 1) перекрывались между двумя исследованиями, но были на примерно 30-100% выше после введения последующих доз в исследовании фазы 2.

ПРИМЕР 7.

СОСТАВ НА ОСНОВЕ АНТИТЕЛА И ДОЗИРОВКА

[318] **Состав на основе антитела.**

4'6"	77	137	35	1,15	1,17	1,15	1,15	
5'0"	113	152	50	1,45	1,47	1,46	1,45	
6'2"	165	188	75	2	1,98	1,97	1,98	
5'5"	250	165	113	2,17	2,31	2,33	2,28	
5'9"	264	178	120	2,32	2,45	2,47	2,42	
5'4"	170 (среднее значение)		163	1,83	1,83	1,89	1,89	1,87
5'9"	200 (среднее значение)		175	2,07	2,07	2,12	2,13	2,10

[331] Режим с нагрузочными дозами.

[332] Уровни C_{trough} охватывали 30-400 мкг/мл.

[333] Это определяли по значениям степени связывания 5 подтипов амилоида из печени, сердца и селезенки. Использовали данные по биомаркеру NTproBNP из фазы 1b (100 мкг/мл) с данными по GLS (эффект оказывали дозы больше 100 мг/м²): больше 30 мкг/мл.

[334] Было установлено, что нагрузочная доза для быстрого достижения C_{trough} 130 мкг/мл может быть достигнута с помощью:

1 дозы для 1500 мг/м²;

доз 2q_w или 3q_w для 1000 мг/м² или 25 мг/кг;

доз 4q_w для 750 мг/м² или 18,75 мг/кг;

доз 6q_w для 500 мг/м² или 12,5 мг/кг,

что охватывает дозы 4q_w для всех уровней дозы, включая фиксированные дозы.

[335] Режим с поддерживающими дозами

[336] Режим с поддерживающими дозами был установлен для того, чтобы:

охватить дозы q2_w для всех доз на основании BSA и веса

охватить q4_w для 1375 мг/м²

охватить q3_w и q4_w для 1000 мг/м² или 25 мг/кг

охватить q3_w для 750 мг/м² или 18,75 мг/кг

[337] Режим введения доз в комбинации с PCD

[338] Дополнительно было установлено, что дозу антитела можно безопасно вводить в комбинации без влияния на воздействие. Было признано идеальным сначала вводить дозу антитела, а затем модифицировать дозу, основываясь на поддержании нормального уровня нейтрофилов и моноцитов.

[339] Гипотеза, лежащая в основе этого, заключалась в том, что лучший ответ со стороны органов может быть получен при комбинированном введении доз антитела и доксициклина на основании механизма действия. Антитело удаляет токсичные легкие цепи, протофибриллы, фибриллы и амилоид, а амилоид накапливается в органах с внеклеточным матриксом, в то время как доксициклин ингибирует металлопротеазы

матрикса и предохраняет внеклеточный матрикс, обеспечивая большой доступ антитела к амилоиду и N-концевому эпитопу.

[340] Клиническая программа CARES состоит из двух параллельных двойных слепых рандомизированных управляемых событиями глобальных исследований фазы 3, в которых оценивается эффективность и безопасность антитела у пациентов с AL-амилоидозом с впервые поставленным диагнозом и не получавших стандартного лечения (SoC) (химиотерапия с применением циклофосфамид-бортезомиб-дексаметазона (CyBorD)). В одно исследование включают примерно 260 пациентов с заболеванием стадии IIIa по Мейо [антитело+CyBorD (n=178) и плацебо+CyBorD (n=89)], а в другое исследование включают примерно 110 пациентов с заболеванием стадии IIIb по Мейо [антитело+CyBorD (n=74) и плацебо+CyBorD (n=37)]. Исследования будут проводиться в примерно 70 участках в Северной Америке, Соединенном Королевстве, Европе, Израиле, Японии и Австралии. В каждом исследовании участников рандомизируют в соотношении 2:1 для получения либо антитела плюс SoC, либо плацебо плюс SoC один раз в неделю в течение четырех недель. Затем последует введение поддерживающей дозы, вводимой один раз в две недели до тех пор, пока последний включенный пациент не завершит по меньшей мере 50 недель лечения. Пациенты будут продолжать визиты для последующего наблюдения один раз в 12 недель. Первичные цели исследования заключаются в определении общей выживаемости, безопасности и переносимости антитела. Ключевые вторичные цели будут заключаться в оценке функционального улучшения в тесте с шестиминутной ходьбой (6MWT), показателей качества жизни (общего показателя согласно Канзасскому опроснику для пациентов с кардиомиопатией и показателя физического компонента версии 2 короткой формы 36) и улучшения со стороны сердца (глобальная продольная деформация или GLS).

ПРИМЕР 8.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ВЛИЯНИЯ АНТИТЕЛА НА ПЕЧЕНЬ

[341] Введение раскрытого антитела демонстрировало улучшение функции печени, как измерено по уровню печеночных ферментов, включая ALP, ALT, AST, GGT, и уровню билирубина, а также по уменьшению размера печени, демонстрирующему удаление амилоида и улучшение функционирования. Снижение на по меньшей мере 50% изменения уровня биомаркеров (печеночных ферментов) было ассоциировано с ответом и улучшением функционирования печени. Такое влияние на печень наблюдали при дозах антитела больше 500 мг/м². Было обнаружено, что улучшение функции печени, индуцированное введением антитела, не зависит от гематологического ответа.

ПРИМЕР 9

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПО ОТВЕТУ НА АНТИТЕЛО СО СТОРОНЫ ОРГАНОВ

[342] Введение раскрытого антитела демонстрировало некоторое улучшение функции почек. 7 пациентов характеризовались поражением почек, и все они

демонстрировали ответы со стороны органов.

[343] В частности, у одного пациента с частичным ответом (PR) заболевание впоследствии вновь прогрессировало до стабильного (SD). Несмотря на это, пациент характеризовался продолжающимся усиливающимся ответом со стороны почек, в настоящий момент демонстрирующим 76% снижение 24-часовой протеинурии без изменения терапии, направленной на плазматические клетки. Медианное значение составляло 56 дней до ответа со стороны органов.

[344] Введение раскрытого антитела демонстрировало некоторый ответ со стороны сердца. 3 из 8 оцениваемых пациентов впервые был поставлен диагноз, и их уровень NT-proBNP демонстрировал повышение в первые 3 месяца терапии с применением СуVorD. У одного из 8 пациентов был достигнут ответ со стороны сердца по критериям, связанным с уровнем NT-proBNP.

ПРИМЕР 10

[345] Доза раскрытого антитела 1000 мг/м² является рекомендуемой дозой в комбинации с СуVorD для текущих рандомизированных двойных слепых испытаний фазы 3, описанных выше. Ответы со стороны органов, особенно со стороны почек, были частыми даже у пациентов с рецидивом. Только 1 пациент выбыл из исследования вследствие необходимости изменения терапии, направленной на плазматические клетки. Важно отметить, что ответы со стороны органов наблюдались даже без гематологического (частичного ответа) PR.

[346] ПРИМЕР 11

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАЗЫ 3

[347] В таблице 17 представлены демографические и исходные характеристики дальнейшего исследования фазы 3 для оценки дозировки антитела по настоящему изобретению, содержащего вариабельный домен тяжелой цепи (VH), изложенный под SEQ ID NO:1, и вариабельный домен легкой цепи (VL), изложенный под SEQ ID NO:2. Результаты демонстрируют диапазон (мин./макс.) и медианные дозы, например, медианная доза составляла 25,6 мг/кг, находясь в диапазоне от 19,8 до 31,1 мг/кг, при этом подавляющее большинство пациентов получали от 22 до 28 мг/кг.

[348] ТАБЛИЦА 17

Параметры	Стадия ШВ (N=16), n (%)	Стадия ША (N=52), n (%)	Всего (N=68), n (%)
Возраст (лет) на момент подписания согласия			
n	15	48	63
Среднее значение (SD)	66,3 (10,52)	60,6 (17,78)	62,0 (16,44)
Медианное значение	68,0	65,5	66,0

Минимальное значение, максимальное значение	36,0, 78,0	0,0, 81,0	0,0, 81,0
Пол - n (%)			
Мужской	8 (50,0)	32 (61,5)	40(58,8)
Женский	7 (43,8)	16(30,8)	23(33,8)
Информация отсутствует	1 (6,3)	4 (7,7)	5 (7,4)
Раса - n (%)			
Негроиды или афроамериканцы	1(6,3)	4(7,7)	5 (7,4)
Белые или европеоиды	11 (68,8)	35 (67,3)	46 (67,6)
Монголоиды	1 (6,3)	7 (13,5)	8 (11,8)
Другие	2 (12,5)	2 (3,8)	4 (5,9)
Информация отсутствует	1 (6,3)	4 (7,7)	5 (7,4)
Этническая принадлежность - n (%)			
Испанцы или латиноамериканцы	1 (6,3)	1 (1,9)	2 (2,9)
Не испанцы и не латиноамериканцы	13 (1,3)	43 (82,7)	56 (82,4)
Неизвестно	0 (0,0)	1 (1,9)	1 (1,5)
Не сообщается	1 (6,3)	3 (5,8)	4 (5,9)
Информация отсутствует	1 (6,3)	4 (7,7)	5 (7,4)
Детородный потенциал - n (%)			
Нет	14 (87,5)	48 (92,3)	62 (91,2)
Да	1 (6,3)	0 (0,0)	1 (1,5)
Информация отсутствует	1 (6,3)	4 (7,7)	5 (7,4)
Доступен образец ткани, заклученный в парафин - n (%)			

Нет	11 (68,8)	37 (71,2)	48 (70,6)
Да	3 (18,8)	9 (17,3)	12 (17,6)
Информация отсутствует	2 (12,5)	6 (11,5)	8 (11,8)
Вес (кг)			
n	15	48	63
Среднее значение (SD)	72,6 (13,54)	72,1(13,79)	72,2(13,62)
Медианное значение	71,4	71,0	71,0
Минимальное значение, максимальное значение	47,3,95,9	46,0, 111,6	46,0, 111,6
Площадь поверхности тела (м²)			
n	16	52	68
Среднее значение (SD)	1,8(0,20)	1,8 (0,21)	1,8 (0,21)
Медианное значение	1,8	1,8	1,8
Минимальное значение, максимальное значение	1,4, 2,2	1,4, 2,3	1,4, 2,3
Рассчитанный уровень дозы (мг)			
n	16	52	68
Среднее значение (SD)	1841(202,8)	1833(209,6)	1835(206,5)
Медианное значение	1800	1825	1815
Минимальное значение, максимальное значение	1440, 2150	1420, 2270	1420, 2270
Уровень дозы (мг/кг)			
n	15	48	63
Среднее значение (SD)	25,8 (2,22)	25,7 (2,12)	25,7 (2,13)
Медианное значение	25,5	25,7	25,6
Минимальное значение, максимальное значение	22,4, 30,4	19,8, 31,1	19,8, 31,1
Объем (мл)			

n	16	52	68
Среднее значение (SD)	61,4 (6,76)	61,1 (6,99)	61,2 (6,88)
Медианное значение	60,0	60,8	60,5
Минимальное значение, максимальное значение	48,0, 71,7	47,3, 75,7	47,3, 75,7

[0349] Хотя настоящее изобретение описано со ссылкой на приведенные выше примеры, следует понимать, что модификации и вариации охватываются сущностью и объемом настоящего изобретения. Соответственно, настоящее изобретение ограничено только следующей формулой изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция, содержащая:

(а) антитело, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:2, и которое связывается с легкими цепями;

(b) одно или несколько изотонических средств;

(c) буфер и

(d) неионогенное поверхностно-активное вещество.

2. Композиция по п. 1, где антитело связывается с неправильно свернутыми легкими цепями каппа и ламбда.

3. Композиция по п. 1, где изотоническое средство представляет собой ацетат натрия; буфер представляет собой хлорид натрия; неионогенное поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 80.

4. Композиция по п. 1, содержащая от приблизительно 20 до 40 мг/мл антитела.

5. Композиция по п. 1, содержащая от приблизительно 15 до 35 мМ ацетата натрия.

6. Композиция по п. 1, содержащая от приблизительно 25 до 75 мМ хлорида натрия.

7. Композиция по п. 1, содержащая от приблизительно 0,5 до 5% маннита.

8. Композиция по п. 1, содержащая от приблизительно 0,001 до 0,1% полисорбата 80.

9. Композиция по п. 1, где композиция характеризуется рН от приблизительно 5 до 6.

10. Композиция по п. 9, где композиция характеризуется рН приблизительно 5,5.

11. Композиция по п. 1, содержащая

30 мг/мл антитела;

приблизительно 25 мМ ацетата натрия;

приблизительно 50 мМ хлорида натрия;

приблизительно 1% маннита и

приблизительно 0,01-0,05% полисорбата 80.

12. Композиция по п. 1, где антитело представляет собой смесь, содержащую нативную фракцию, восстановленную фракцию и/или гликозилированную или дегликозилированную фракцию, каждая из которых характеризуется гетерогенным зарядом.

13. Композиция по п. 12, где нативная фракция содержит сиалилированные разновидности, нейтральные разновидности и/или галактозилированные, фукозилированные и/или маннозилированные нейтральные разновидности.

14. Композиция по п. 12, где восстановленная фракция содержит легкие цепи с гликированными лизинами.

15. Композиция по п. 1, где антитело представляет собой смесь, содержащую интактные антитела, фрагменты полумера, фрагменты неполного антитела, другие фрагменты и/или их агрегаты.

16. Композиция по п. 15, где полимер представляет собой антитело, содержащее одну или две тяжелые цепи (HC) и одну легкую цепь (LC).

17. Композиция по п. 15, где неполное антитело представляет собой антитело, в котором отсутствует С-концевая область HC.

18. Композиция по п. 15, где фрагменты содержат HC, сохраняющую С-концевой лизин.

19. Способ снижения количества амилоидных отложений у субъекта, включающий введение субъекту от приблизительно 500 до 1000 мг/м² антитела, содержащего переменный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO:2, за счет чего обеспечивается снижение количества амилоидных отложений у субъекта.

20. Способ по п. 19, где антитело вводят один раз в неделю в течение по меньшей мере 2, 3 или 4 недель.

21. Способ по п. 20, дополнительно включающий последующее введение субъекту поддерживающей дозы антитела.

22. Способ по п. 21, где поддерживающую дозу вводят один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в месяц через первые 2, 3, 4 или больше недель.

23. Способ по п. 19, где введение недельной дозы приблизительно 1000 мг/м² антитела предусматривает введение приблизительно 20-25 мг/кг антитела.

24. Способ по п. 19, где введение недельной дозы приблизительно 1000 мг/м² антитела предусматривает введение приблизительно 2750 мг антитела.

25. Способ по п. 19, где у субъекта впервые диагностировано амилоидозное заболевание или нарушение до введения антитела.

26. Способ по п. 19, где субъект ранее получал лечение амилоидозного заболевания или нарушения до введения антитела.

27. Способ по п. 19, где амилоидозное заболевание или нарушение выбрано из группы, состоящей из амилоидоза легких цепей (AL), аутоиммунного (AA) амилоидоза и наследственного (TTR) амилоидоза.

28. Способ по п. 19, где введение антитела предусматривает введение субъекту фармацевтической композиции по любому из пп. 1-18.

29. Способ лечения амилоидозного заболевания или нарушения у субъекта, включающий введение субъекту

(а) фармацевтической композиции по любому из пп. 1-18 и

(b) дополнительного средства терапии,

за счет чего осуществляется лечение амилоидозного заболевания или нарушения у субъекта.

30. Способ по п. 29, где вводимая доза антитела составляет от приблизительно 500 мг/м² до 1000 мг/м².

31. Способ по п. 30, где доза выбрана из приблизительно 500 мг/м², приблизительно 750 мг/м² и приблизительно 1000 мг/м².

32. Способ по п. 30, где недельная доза приблизительно 500 мг/м² антитела содержит приблизительно 12,5 мг/кг антитела, недельная доза приблизительно 750 мг/м² содержит приблизительно 18,75 мг/кг антитела, и недельная доза приблизительно 1000 мг/м² антитела содержит приблизительно 25 мг/кг антитела.

33. Способ по п. 30, где введение приблизительно 500 мг/м² антитела предусматривает введение приблизительно 1375 мг антитела, введение приблизительно 750 мг/м² антитела предусматривает введение приблизительно 2065 мг антитела, и введение приблизительно 1000 мг/м² антитела предусматривает введение приблизительно 2750 мг антитела.

34. Способ по п. 30, где при введении доз 500 мг/м², 750 мг/м² и 1000 мг/м² достигается занятость сайта целевого рецептора, составляющая по меньшей мере 90%.

35. Способ по п. 29, где антитело вводят один раз в неделю в течение по меньшей мере 2, 3 или 4 недель.

36. Способ по п. 35, дополнительно включающий последующее введение субъекту поддерживающей дозы антитела.

37. Способ по п. 36, где поддерживающую дозу вводят один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в месяц через первые 2, 3, 4 или больше недель.

38. Способ по п. 29, где у субъекта имеется гематологическое заболевание.

39. Способ по п. 38, где гематологическое заболевание характеризуется разницей пораженных/непораженных свободных легких цепей (dFLC), составляющей больше 5 мг/дл, или FLC больше 5 мг с аномальным соотношением.

40. Способ по п. 38, где гематологическое заболевание характеризуется m-пиком при электрофорезе белков сыворотки крови (SPEP) или электрофорезе белков мочи (UPEP), составляющим больше 0,5 г/дл.

41. Способ по п. 29, где антитело вводят до введения дополнительного средства терапии, одновременно с его введением или после его введения.

42. Способ по п. 41, где антитело вводят до введения дополнительного средства терапии.

43. Способ по п. 29, где дополнительное средство терапии предусматривает циклофосфамид, бортезомиб, дексаметазон, даратумумаб, мелфалан, леналидомид, изатуксимаб, венетоклакс, трансплантацию стволовых клеток или их комбинацию.

44. Способ по п. 29, где антитело вводят путем внутривенной (IV) инфузии, подкожной инъекции или внутримышечной инъекции.

45. Способ по п. 29, где у субъекта впервые диагностировано амилоидозное заболевание или нарушение до введения антитела.

46. Способ по п. 29, где субъект ранее получал лечение амилоидозного заболевания

или нарушения до введения антитела.

47. Способ по п. 29, где амилоидозное заболевание или нарушение выбрано из группы, состоящей из амилоидоза легких цепей (AL), аутоиммунного (AA) амилоидоза и наследственного (TTR) амилоидоза.

48. Способ по п. 29, где амилоидные отложения содержат агрегаты фибрилл легкой λ -цепи и/или фибрилл легкой κ -цепи.

49. Способ по п. 29, где введение фармацевтической композиции индуцирует удаление амилоидных отложений, присутствующих в органе или ткани.

50. Способ по п. 49, где орган или ткань выбраны из группы, состоящей из сердца, почки, печени, легкого, желудочно-кишечного тракта, нервной системы, скелетно-мышечной системы, мягкой ткани, кожи и любой их комбинации.

51. Способ лечения амилоидозного заболевания или нарушения, поражающего почку, желудочно-кишечный тракт, печень или сердце, у субъекта, включающий введение субъекту композиции по любому из пп. 1-18;

за счет чего осуществляется лечение амилоидозного заболевания или нарушения у субъекта.

52. Способ по п. 51, где доза антитела составляет от приблизительно 500 мг/м^2 до 1000 мг/м^2 .

53. Способ по п. 51, где доза антитела выбрана из приблизительно 500 мг/м^2 , приблизительно 750 мг/м^2 и приблизительно 1000 мг/м^2 .

54. Способ по п. 51, где антитело вводят один раз в неделю в течение по меньшей мере 2, 3 или 4 недель.

55. Способ по п. 54, дополнительно включающий последующее введение субъекту поддерживающей дозы антитела.

56. Способ по п. 55, где поддерживающую дозу вводят один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в месяц через первые 2, 3, 4 или больше недель.

57. Способ по п. 51, дополнительно включающий введение субъекту дополнительного средства терапии.

58. Способ по п. 57, где дополнительное средство терапии предусматривает циклофосфамид, бортезомиб, дексаметазон, даратумумаб, мелфалан, леналидомид, изатуксимаб, венетоклакс, трансплантацию стволовых клеток или их комбинацию.

59. Способ лечения одного или нескольких симптомов амилоидозного заболевания или нарушения, поражающего кожу, у субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по любому из пп. 1-18, за счет чего осуществляется лечение кожи у субъекта.

60. Способ по п. 59, где доза антитела составляет от приблизительно 500 мг/м^2 до 1000 мг/м^2 .

61. Способ по п. 60, где доза антитела выбрана из приблизительно 500 мг/м^2 , приблизительно 750 мг/м^2 и приблизительно 1000 мг/м^2 .

62. Способ по п. 59, где один или несколько симптомов амилоидозного

заболевания или нарушения, поражающего кожу, включают выпадение волос, выпадение волос на теле и выпадение волос на лице.

63. Способ по п. 59, где антитело вводят один раз в неделю в течение по меньшей мере 2, 3 или 4 недель.

64. Способ по п. 63, дополнительно включающий последующее введение субъекту поддерживающей дозы антитела.

65. Способ по п. 64, где поддерживающую дозу вводят один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в месяц через первые 2, 3, 4 или больше недель.

66. Способ по п. 59, дополнительно включающий введение субъекту дополнительного средства терапии.

67. Способ по п. 66, где дополнительное средство терапии предусматривает циклофосфамид, бортезомиб, дексаметазон, даратумумаб, мелфалан, леналидомид, изатуксимаб, венетоклакс, трансплантацию стволовых клеток или их комбинацию.

68. Способ ингибирования и/или снижения агрегации легких цепей и амилоидных фибрилл у субъекта, включающий введение субъекту от приблизительно 500 мг/м² до 1000 мг/м² антитела, содержащего переменный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO:2; за счет чего обеспечивается ингибирование и/или снижение агрегации легких цепей и амилоидных фибрилл у субъекта.

69. Способ по п. 68, где доза антитела составляет приблизительно 1000 мг/м².

70. Способ по п. 68, где доза антитела выбрана из приблизительно 500 мг/м², приблизительно 750 мг/м² и приблизительно 1000 мг/м².

71. Способ по п. 68, где антитело вводят один раз в неделю в течение по меньшей мере 2, 3 или 4 недель.

72. Способ по п. 70, дополнительно включающий последующее введение субъекту поддерживающей дозы антитела.

73. Способ по п. 72, где поддерживающую дозу вводят один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в месяц через первые 2, 3, 4 или больше недель.

74. Способ лечения амилоидозного заболевания или нарушения у субъекта, включающий введение субъекту

фармацевтической композиции по любому из пп. 1-18; за счет чего осуществляется лечение амилоидозного заболевания или нарушения у субъекта.

75. Способ по п. 74, где введение фармацевтической композиции делает субъекта подходящим для трансплантации стволовых клеток.

76. Способ по п. 74, дополнительно включающий осуществление трансплантации стволовых клеток у субъекта.

77. Способ по п. 74, где доза антитела составляет от приблизительно 500 мг/м² до 1000 мг/м².

78. Способ по п. 77, где доза антитела выбрана из приблизительно 500 мг/м²,

приблизительно 750 мг/м² и приблизительно 1000 мг/м².

79. Способ по п. 74, где антитело вводят один раз в неделю в течение по меньшей мере 2, 3 или 4 недель.

80. Способ по п. 79, дополнительно включающий последующее введение субъекту поддерживающей дозы антитела.

81. Способ по п. 80, где поддерживающую дозу вводят один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в месяц через первые 2, 3, 4 или больше недель.

82. Способ лечения амилоидоза у субъекта, у которого имеется множественная миелома, включающий

введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:2, и которое связывается с легкими цепями,

за счет чего осуществляется лечение амилоидоза у субъекта.

83. Способ по п. 82, где антитело связывается с неправильно свернутыми легкими цепями каппа и ламбда.

84. Способ по п. 82, где фармацевтическая композиция дополнительно содержит:

(a) одно или несколько изотонических средств;

(b) буфер и

(c) неионогенное поверхностно-активное вещество.

85. Способ по п. 84, где изотоническое средство представляет собой ацетат натрия; буфер представляет собой хлорид натрия, и неионогенное поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 80.

86. Способ по п. 82, где фармацевтическая композиция содержит

30 мг/мл антитела;

приблизительно 25 мМ ацетата натрия;

приблизительно 50 мМ хлорида натрия;

приблизительно 1% маннита и

приблизительно 0,01-0,05% полисорбата 80.

87. Способ по п. 82, где вводимая доза антитела составляет от приблизительно 500 мг/м² до 1000 мг/м².

88. Способ по п. 87, где доза выбрана из приблизительно 500 мг/м², приблизительно 750 мг/м² и приблизительно 1000 мг/м².

89. Способ по п. 88, где недельная доза приблизительно 500 мг/м² антитела содержит приблизительно 12,5 мг/кг антитела, недельная доза приблизительно 750 мг/м² содержит приблизительно 18,75 мг/кг антитела, и недельная доза приблизительно 1000 мг/м² антитела содержит приблизительно 25 мг/кг антитела.

90. Способ по п. 88, где введение приблизительно 500 мг/м² антитела предусматривает введение приблизительно 1375 мг антитела, введение приблизительно

750 мг/м² антитела предусматривает введение приблизительно 2065 мг антитела, и введение приблизительно 1000 мг/м² антитела предусматривает введение приблизительно 2750 мг антитела.

91. Способ по п. 88, где при введении доз 500 мг/м², 750 мг/м² и 1000 мг/м² достигается занятость сайта мишени, составляющая по меньшей мере 90%.

92. Способ по п. 86, где антитело вводят один раз в неделю в течение по меньшей мере 2, 3 или 4 недель.

93. Способ по п. 92, дополнительно включающий последующее введение субъекту поддерживающей дозы антитела.

94. Способ по п. 93, где поддерживающую дозу вводят один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в месяц через первые 2, 3, 4 или больше недель.

95. Способ по п. 82, где фармацевтическую композицию вводят путем внутривенной (IV) инфузии, подкожной инъекции или внутримышечной инъекции.

96. Способ по п. 82, где субъект на данный момент получает лечение множественной миеломы или ранее получал лечение множественной миеломы.

97. Способ по п. 96, где лечение множественной миеломы выбрано из группы, состоящей из химиотерапии, кортикостероида, иммуномодулирующего средства, ингибитора протеасом, ингибитора гистондеацетилазы (HDCA), иммунотерапии, ингибитора ядерного экспорта, трансплантации стволовых клеток, лучевой терапии, хирургического вмешательства и любой их комбинации.

98. Способ лечения амилоидоза у субъекта, у которого имеется плазмноклеточное заболевание, включающий

введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:2, и которое связывается с легкими цепями,

за счет чего осуществляется лечение плазмноклеточного заболевания у субъекта.

99. Способ по п. 98, где плазмноклеточное заболевание выбрано из группы, состоящей из В-клеточной лимфомы низкой степени злокачественности, моноклональной гаммапатии неясного генеза (MGUS) и множественной миеломы.

100. Способ по п. 98, где вводимая доза антитела составляет от приблизительно 500 мг/м² до 1000 мг/м².

101. Способ по п. 100, где доза выбрана из приблизительно 500 мг/м², приблизительно 750 мг/м² и приблизительно 1000 мг/м².

102. Способ по п. 100, где антитело вводят один раз в неделю в течение по меньшей мере 2, 3 или 4 недель.

103. Способ по п. 100, дополнительно включающий последующее введение субъекту поддерживающей дозы антитела.

104. Способ по п. 100, где фармацевтическую композицию вводят путем

внутривенной (IV) инфузии, подкожной инъекции или внутримышечной инъекции.

105. Способ по п. 100, где субъект на данный момент получает лечение плазмоклеточного заболевания или ранее получал лечение плазмоклеточного заболевания.

106. Способ по п. 105, где лечение плазмоклеточного заболевания включает химиотерапию.

107. Способ идентификации субъекта, у которого имеется множественная миелома, как кандидата для противоамилоидозного лечения, включающий идентификацию фибрилл при амилоидозе легких цепей (AL) и/или отложения амилоидного белка-предшественника у субъекта,

где идентификация фибрилл при AL-амилоидозе и/или отложения амилоидного белка-предшественника у субъекта свидетельствует о вероятности ответа субъекта на противоамилоидозное лечение, и

где противоамилоидозное лечение предусматривает антитело, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:2, и которое связывается с легкими цепями,

за счет чего обеспечивается идентификация субъекта как кандидата для противоамилоидозного лечения.

108. Способ по п. 107, где субъект на данный момент получает лечение множественной миеломы или ранее получал лечение множественной миеломы.

109. Способ по п. 107, дополнительно включающий введение субъекту средства лечения множественной миеломы.

110. Способ по п. 108 или п. 109, где лечение множественной миеломы выбрано из группы, состоящей из химиотерапии, кортикостероида, иммуномодулирующего средства, ингибитора протеасом, ингибитора гистондеацетилазы (HDCA), иммунотерапии, ингибитора ядерного экспорта, трансплантации стволовых клеток, лучевой терапии, хирургического вмешательства и любой их комбинации.

111. Способ лечения амилоидоза у субъекта, у которого имеется В-клеточное лимфопролиферативное нарушение, включающий введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антитело, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (VL), характеризующийся аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:2, и которое связывается с легкими цепями,

за счет чего осуществляется лечение амилоидоза у субъекта.

112. Способ по п. 111, где В-клеточное лимфопролиферативное нарушение выбрано из группы, состоящей из множественной миеломы, макроглобулинемии Вальденстрема, хронического лимфоцитарного лейкоза, неходжкинской лимфомы и лимфом, ассоциированных с амилоидозом.

113. Способ по п. 111, где В-клеточное лимфопролиферативное нарушение представляет собой множественную миелому.

114. Способ по п. 111, где вводимая доза антитела составляет от приблизительно 500 мг/м² до 1000 мг/м².

115. Способ по п. 114, где доза выбрана из приблизительно 500 мг/м², приблизительно 750 мг/м² и приблизительно 1000 мг/м².

116. Способ по п. 114, где антитело вводят один раз в неделю в течение по меньшей мере 2, 3 или 4 недель.

117. Способ по п. 114, дополнительно включающий последующее введение субъекту поддерживающей дозы антитела.

118. Способ по п. 114, где фармацевтическую композицию вводят путем внутривенной (IV) инфузии, подкожной инъекции или внутримышечной инъекции.

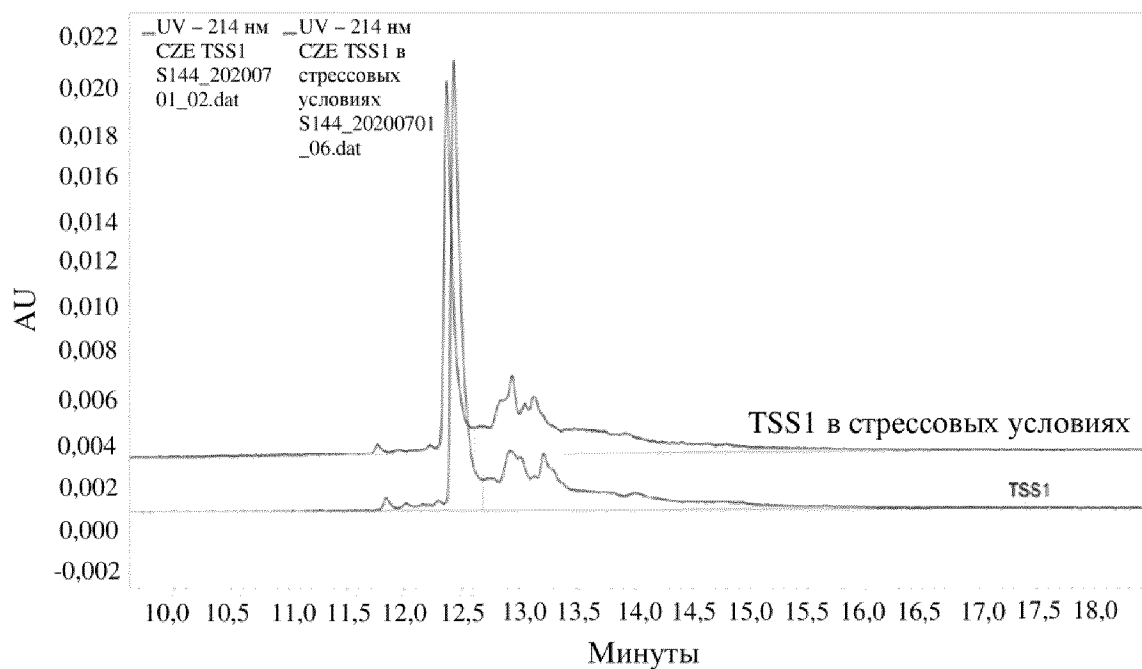
119. Способ по п. 114, где субъект на данный момент получает лечение В-клеточного лимфопролиферативного нарушения или ранее получал лечение В-клеточного лимфопролиферативного нарушения.

120. Способ по п. 119, где лечение В-клеточного лимфопролиферативного нарушения включает химиотерапию.

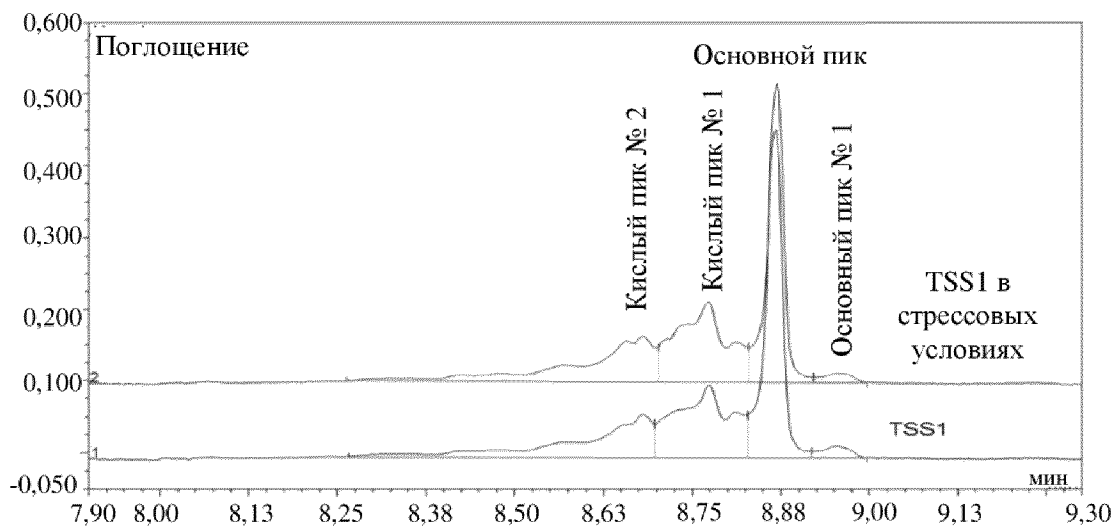
121. Способ по любому из пп. 29, 51, 59, 68, 82, 107 или п. 111, где доза антитела составляет от приблизительно 20 мг/кг до 31 мг/кг.

122. Способ по любому из пп. 29, 51, 59, 68, 82, 107 или п. 111, где доза антитела составляет от приблизительно 22 мг/кг до 28 мг/кг.

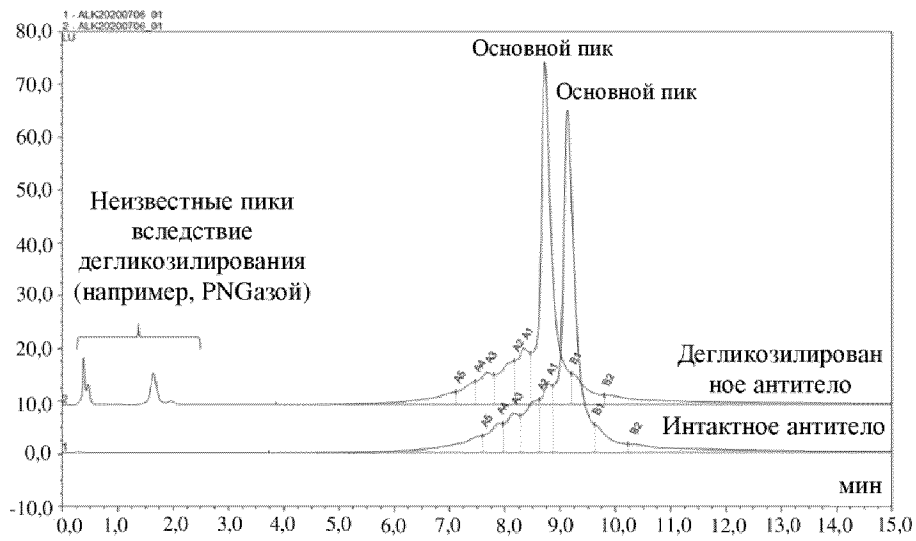
По доверенности



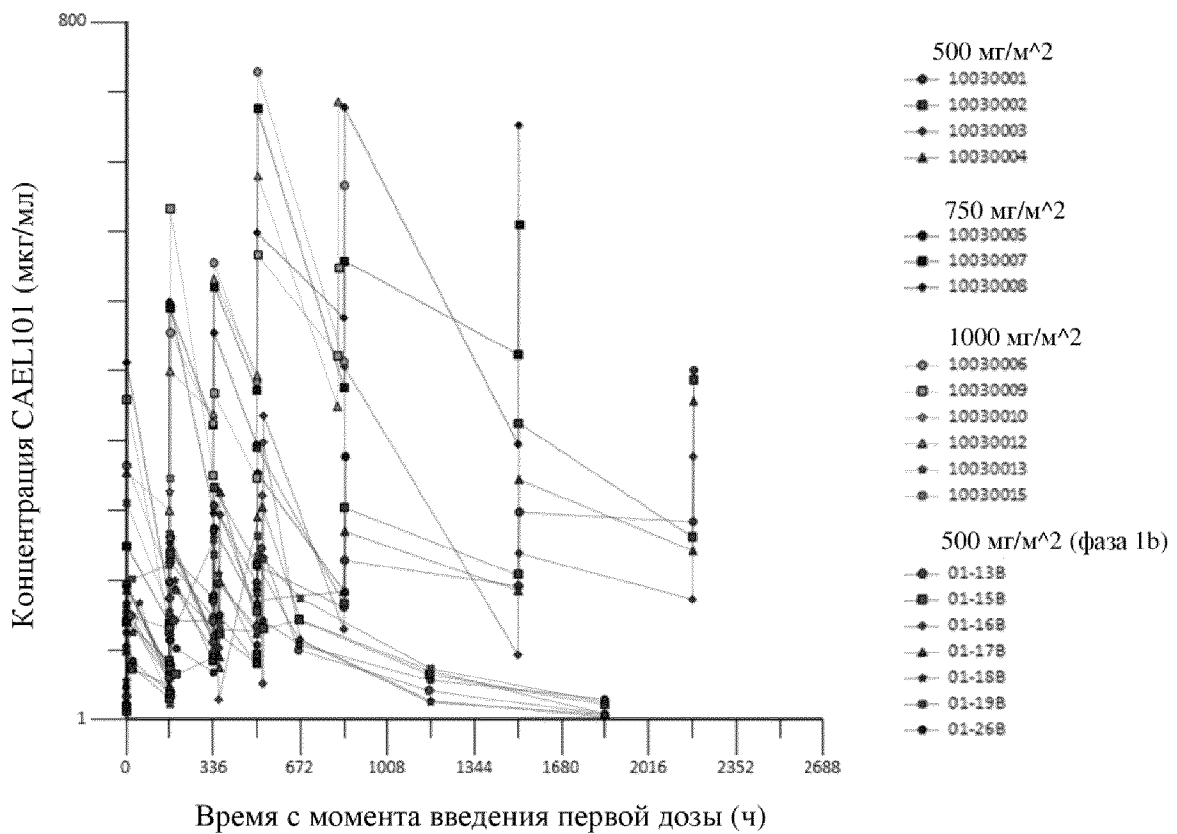
Фигура 1А



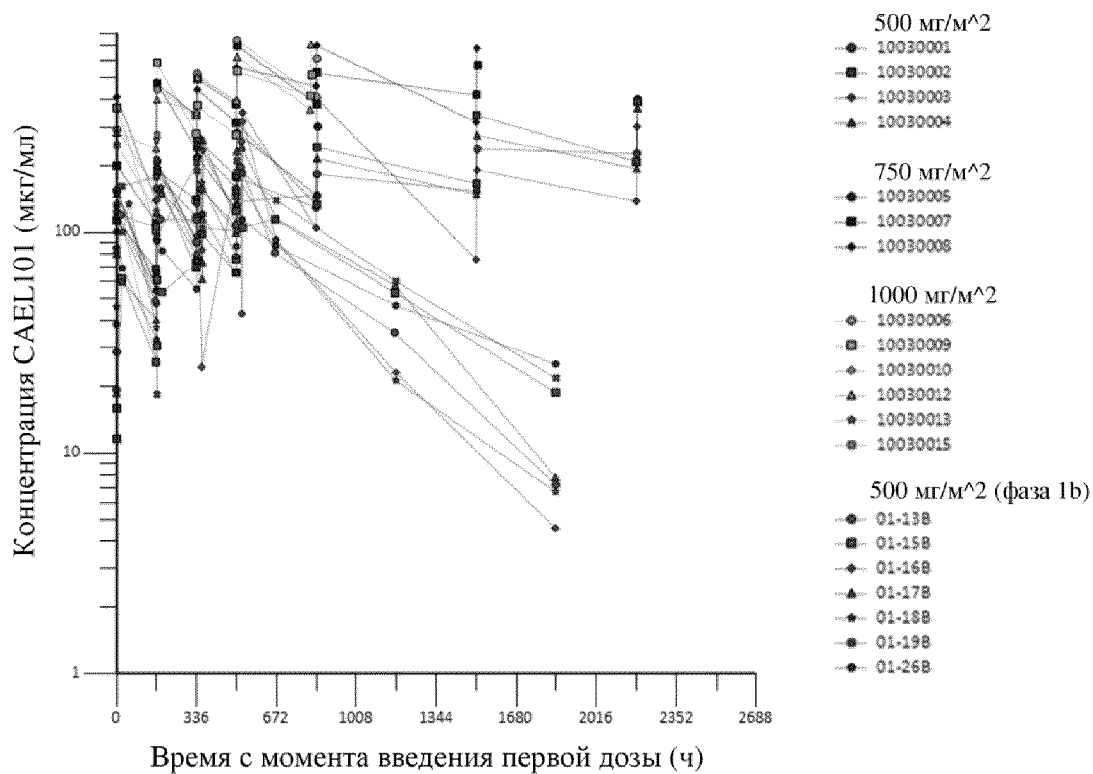
Фигура 1В



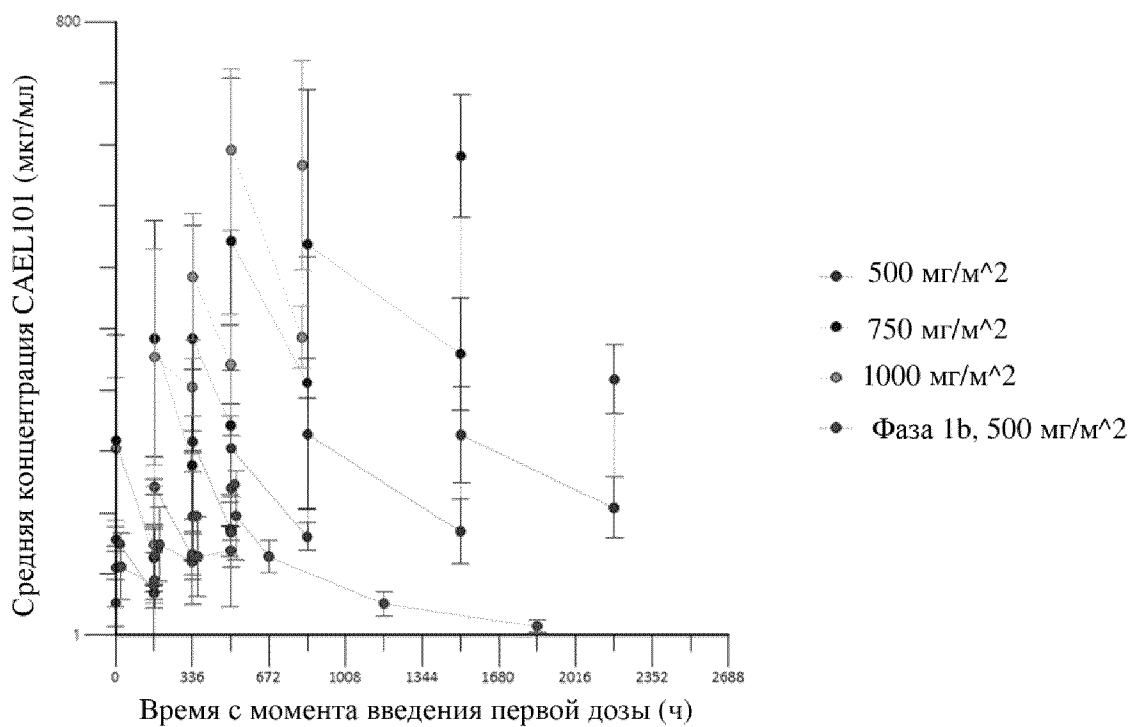
Фигура 1С



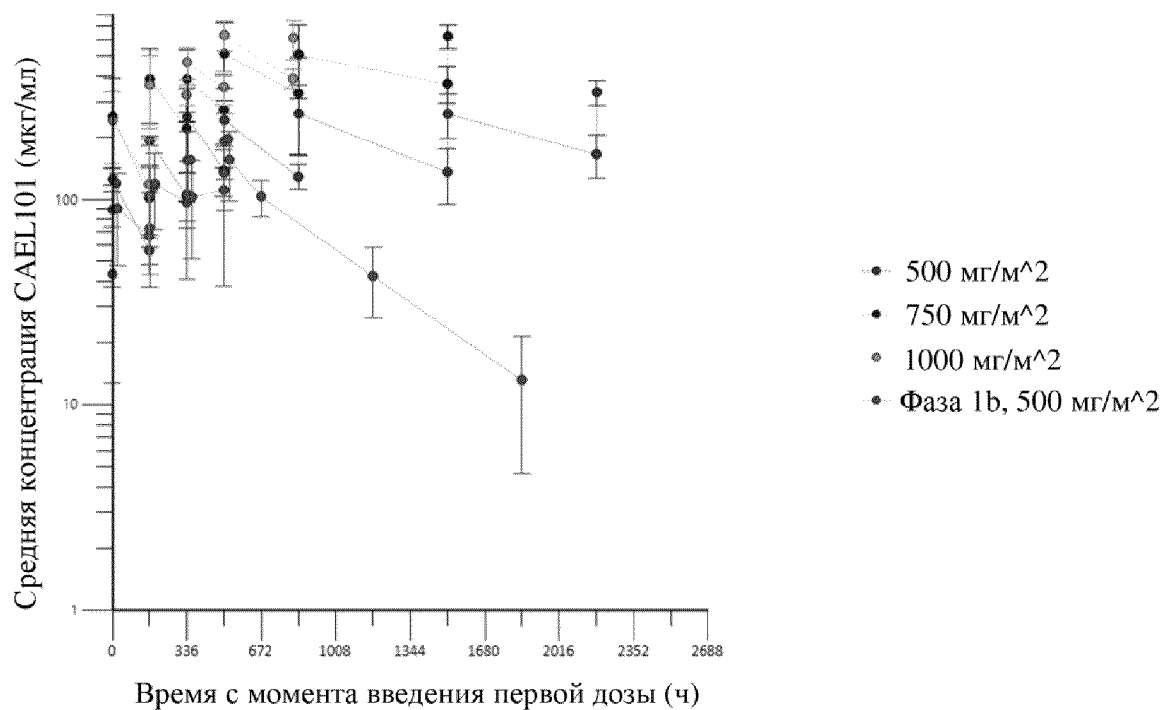
Фигура 2А



Фигура 2В

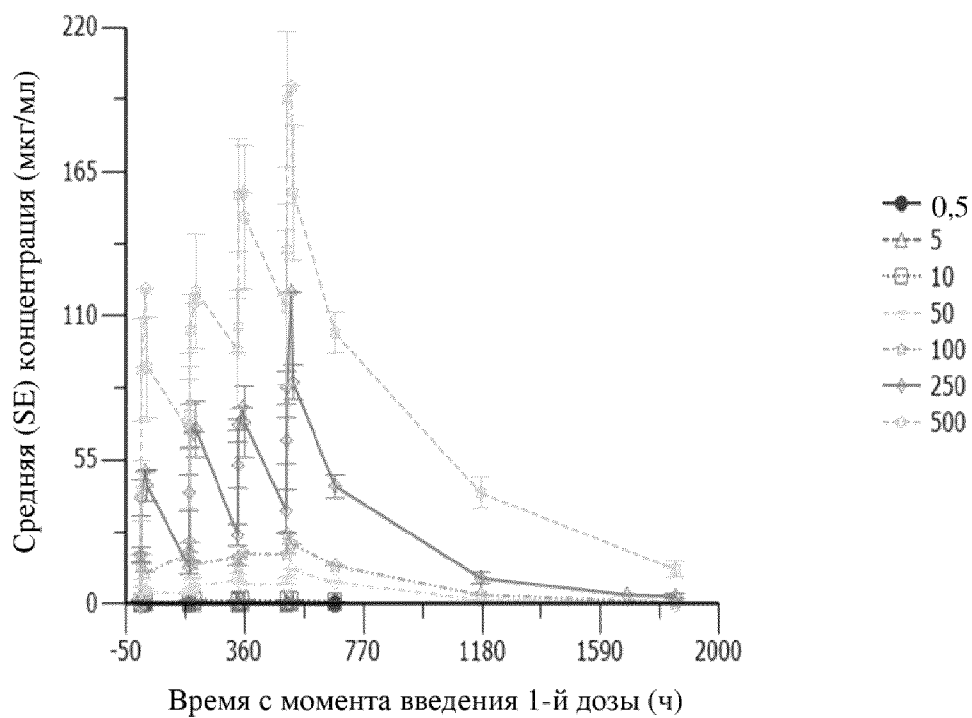


Фигура 3А

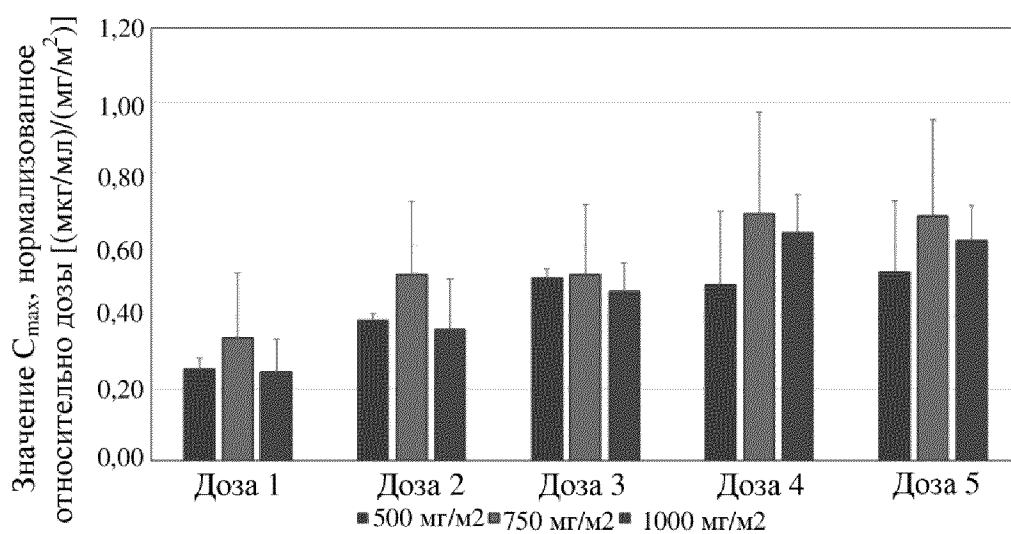


Фигура 3В

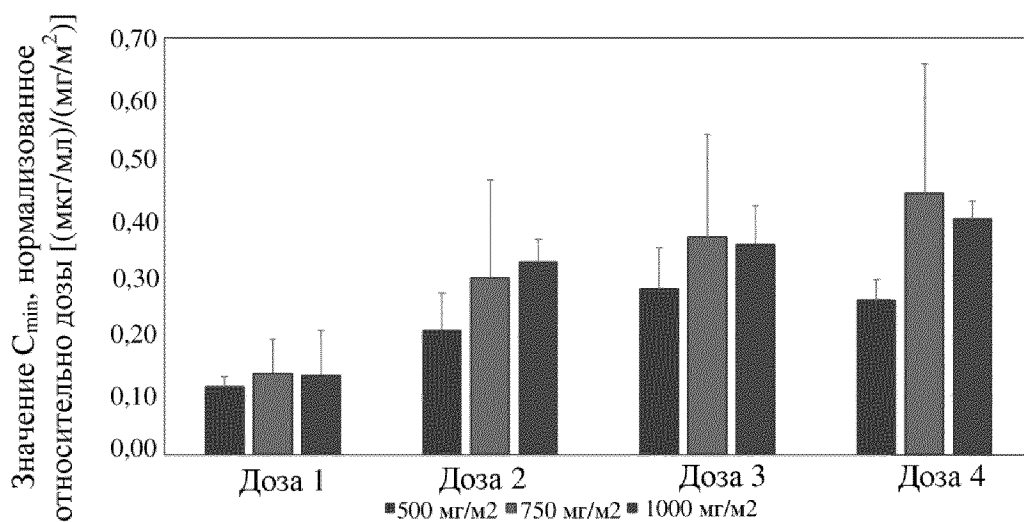
Фаза = Ib



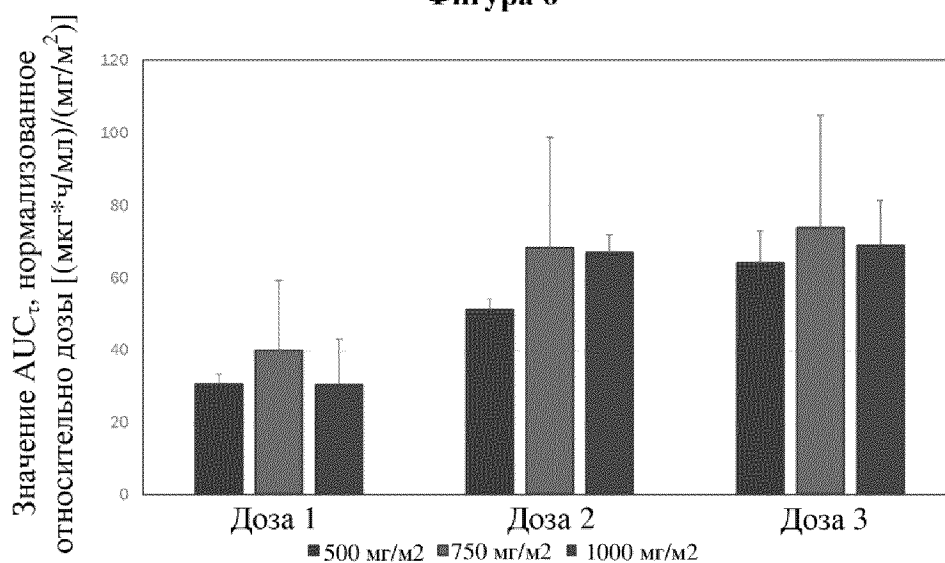
Фигура 4



Фигура 5



Фигура 6



Фигура 7

Белковая последовательность тяжелой цепи

```

1 -----CDR1-- 50
QVQLK ESGPG LVAPS QLSI TCTVS GFSLS SYGVS WVRQP PGKGL EWLGV
51 ----- CDR2---- -----
IWGDG STNYH PNLMS RLSIS KDISK SQVLF KLNSL QTDDT ATYYC VTLDY
CDR3- 150
WGQGT SVTVS SASTK GPSVF PLAPS SKSTS GGTA A LGCLV KDYFP EPVTV
151 200
SWNSG ALTSG VHTFP AVLQS SGLYS LSSVV TVPSS SLGTQ TYICN VNHKP
201 -верхний шарнир-центральный шарнир-нижний шарнир-cdc/adcc/FcR FcRn 250
SNTKV DKRVE PKSCD KTHTC PPCPA PELLG GPSVF LFPPK PKDTL MISRT
251 * 300
PEVTC VVVDV SHEDP EVKFN WYVDGVEVHN AKTKP REEQY NSTYR VVSVL
301 FcRn --C1q/CDC- 350
TVLHQ DWLNGKEYKC KVSNK ALPAP IEKTI SKAKG QPREP QVYTL PPSRE
351 400
EMTKN QVSLT CLVKG FYPSD IAVEW ESNGQ PENNY KTPP VLDSD GSFFL
401 FcRn 441
YSKLT VDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNNHY TQKSL SLSPG K

```

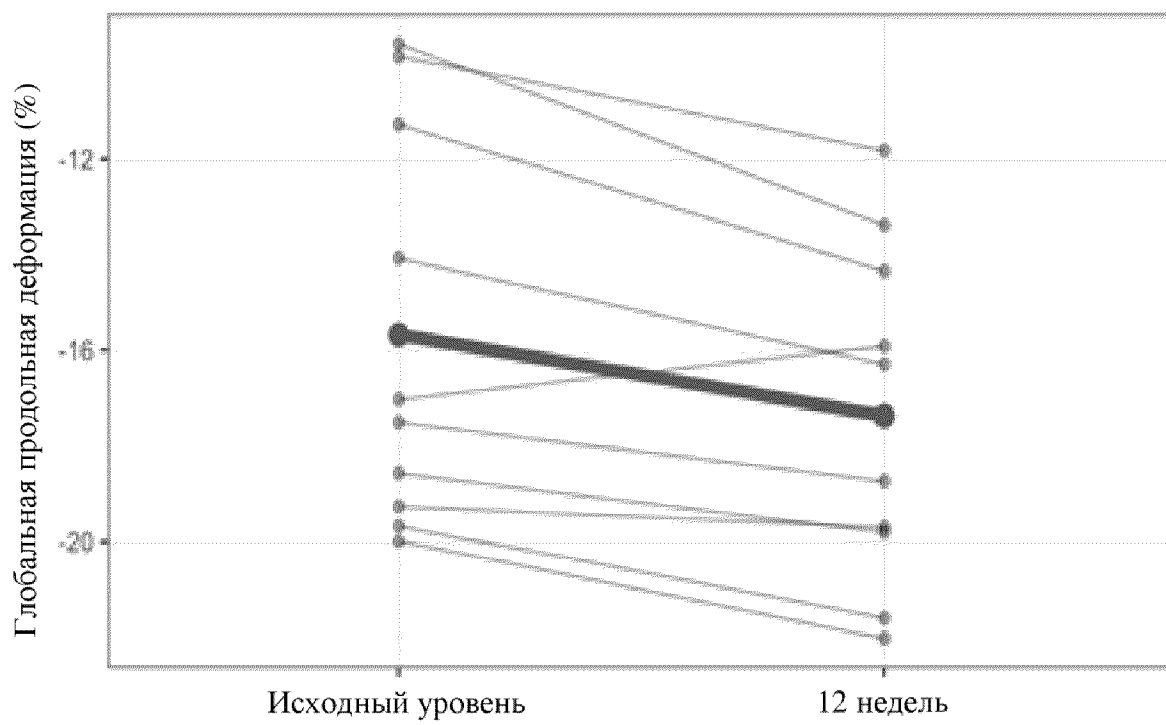
Фигура 8А**Белковая последовательность легкой цепи**

```

1 -----CDR1----- 50
DVVMT QTPLS LPVSL GDQAS ISCRS SQSLV HRNGN TYLHW YLQKP GQSPK
51 ---CDR2--- ---CDR3-
LLIYK VSNRF SGVPD RFSGS GSGTD FTLKI SRVEA EDLGL YFCFQ TTYVP
101 150
NTFGG GTKLE IKRTV AAPSV FIFPP SDEQL KSGTA SVVCL LNNFY PREAK
151 200
VQWKV DNALQ SGNSQ ESVTE QDSKD STYSL SSTLT LSKAD YEKHK VYACE
201 219
VTHQG LSSPV TKSFN RGEC

```

Фигура 8В



Фигура 9