(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202391694 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.11.03

(22) Дата подачи заявки
2022.01.21

(51) Int. Cl. *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01)

(54) АНТИТЕЛА ПРОТИВ KIT И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) **63/140,642; 63/238,649**
(32) **2021.01.22; 2021.08.30**
(33) **US**
(86) **PCT/US2022/013365**
(87) **WO 2022/159737 2022.07.28**

(71) Заявитель:
СЕЛЛДЕКС ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Голдстейн Джоэл (US)

(74) Представитель:
Билык А.В., Поликарпов А.В., Соколова М.В., Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев А.В., Дмитриев А.В., Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)

(57) В настоящем изобретении предложены антитела, которые иммуноспецифично связываются с KIT, рецепторной тирозинкиназой, и их применения. Также предложены полинуклеотиды и векторы, кодирующие такие антитела, клетки, содержащие такие полинуклеотиды или векторы, и способы получения таких антител.

```
                                                 {D1
1    MRGARGAWDF LCVLLLLLRV QTGSSQPSVS PGEPSPPSIH PGKSDLIVRV GDEIRLLCTD PGFVKWTFEI LDETNENKQN
                                                   }{D2
81   EWITEKAEAT NTGKYTCTNK HGLSNSIYVF VRDPAKLFLV DRSLYGKEDN DTLVRCPLTD PEVTNYSLKG CQGKPLPKDL
                                                       }{D3
161  RFIPDPKAGI WIKSVKRAYH RLCLHCSVDQ EGKSVLSEKF ILKVRPAFKA VPVVSVSKAS YLLREGEEFT VTCTIKDVSS
                                                                           }{D4
241  SVYSTWKREN SQTKLQEKYN SWHHGDFNYE RQATLTISSA RVNDSGVFMC YANNTFGSAN VTTTLEVVDK GFINIFPMIN

321  TTVFVNDGEN VDLIVEYEAF PKPEHQQWIY MNRTFTDKWE DYPKSENESN IRYVSELHLT RLKGTEGGTY TFLVSNSDVN
            }{D5
401  AAIAFNVYVN TKPEILTYDR LVNGMLQCVA AGFPEPTIDW YFCPGTEQRC SASVLPVDVQ TLNSSGPPFG KLVVQSSIDS
                                    }
481  SAFKHNGTVE CKAYNDVGKT SAYFNFAFKE QIHPHTLFTP LLIGFVIVAG MMCIIVMILT YKYLQKPMYE VQWKVVEEIN

561  GNNYVYIDPT QLPYDHKWEF PRNRLSFGKT LGAGAFGKVV EATAYGLIKS DAAMTVAVKM LKPSAHLTER EALMSELKVL

641  SYLGNHMNIV NLLGACTIGG PTLVITEYCC YGDLLNFLRR KRDSFICSKQ EDHAEAALYK NLLHSKESSC SDSTNEYMDM

721  KPGVSYVVPT KADKRRSVRI GSYIERDVTP AIMEDDELAL DLEDLLSFSY QVAKGMAFLA SKNCIHRDLA ARNILLTHGR

801  ITKICDFGLA RDIKNDSNYV VKGNARLPVK WMAPESIFNC VYTFESDVWS YGIFLWELFS LGSSPYPGMP VDSKFYKMIK

881  EGFRMLSPEH APAEMYDIMK TCWDADPLKR PTFKQIVQLI EKQISESTNH IYSNLANCSP NRQKPVVDHS VRINSVGSTA

961  SSSQPLLVHD DV (SEQ ID NO: 1)
```

202391694 A1

202391694 A1

PCT/US2022/013365 **МПК** ***A61K 39/00*** (2006.01) ***A61K 47/68*** (2017.01)

A61K 39/395 (2006.01)

АНТИТЕЛА ПРОТИВ KIT И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительных заявок на патент США № 63/140,642, поданной 22 января 2021 года, и 63/238,649, поданной 30 августа 2021 года, содержания которых полностью включены в настоящее описание посредством ссылки.

ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПОДАННЫЙ В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ

Настоящая заявка включает посредством ссылки перечень последовательностей, представленный вместе с настоящей заявкой, в виде текстового файла под названием «Seqlisting_12638-170-228.txt», созданного 10 января 2022 г. и имеющего размер 44171 байт.

1. ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

В настоящем изобретении предложены антитела, которые иммуноспецифично связываются с KIT, рецепторной тирозинкиназой, и их применения. Также предложены полинуклеотиды и векторы, кодирующие такие антитела, клетки, содержащие такие полинуклеотиды или векторы, и способы получения таких антител.

2. УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

KIT (или c-Kit) представляет собой рецепторную тирозинкиназу типа III, кодируемую геном c-kit. KIT содержит пять внеклеточных иммуноглобулин(Ig)-подобных доменов, одну трансмембранную область, ингибиторный цитоплазматический юкстамембранный домен и расщепленный цитоплазматический киназный домен, разделенный содержащим киназную вставку сегментом (см., например, Yarden et al., Nature, 1986, 323:226-232; Ullrich and Schlessinger, Cell, 1990, 61 :203-212; Clifford et al., J. Biol. Chem., 2003, 278:31461-31464). Ген c-kit человека, кодирующий рецептор KIT, был клонирован, как описано в источнике Yarden *et al.*, EMBO J., 1987, 6:3341-3351. KIT также известен как CD117 или рецептор фактора стволовых клеток («SCFR»), поскольку он является рецептором лиганда фактора стволовых клеток («SCF») (также известного как стальной фактор или лиганд Kit).

Связывание лиганда SCF с первыми тремя внеклеточными Ig-подобными доменами KIT индуцирует димеризацию рецептора и тем самым активирует собственную тирозинкиназную активность посредством фосфорилирования определенных остатков тирозина в юкстамембранном и киназном доменах (см., например, Weiss and Schlessinger, Cell, 1998, 94:277-280; Clifford et al., J. Biol. Chem., 2003, 278:31461-31464). Было показано, что участники сигнальных путей Stat, Src, ERK и AKT являются трансдукторами нисходящих сигналов сигнальных путей KIT.

Считается, что четвертый (D4) и пятый (D5) внеклеточные Ig-подобные домены KIT опосредуют димеризацию рецептора (см., например, публикацию международной патентной заявки № WO 2008/153926; Yuzawa et al., Cell, 2007, 130:323-334).

Экспрессия KIT была обнаружена в различных типах клеток, таких как тучные клетки, стволовые клетки, клетки головного мозга, меланобласты, клетки яичника и раковые клетки (например, лейкозные клетки) (см., например, Besmer, P. Curr. Opin. Cell Biol, 1991, 3:939-946; Lyman *et al.,* Blood, 1998, 91 : 1101-1134; Ashman, L. K., Int. J. Biochem. Cell Biol, 1999, 31 : 1037-1051; Kitamura *et al.*, Mutat. Res., 2001, 477: 165-171; Mol *et al.*, J. Biol. Chem., 2003, 278:31461-31464). Более того, KIT играет важную роль в гематопоэзе, меланогенезе и гаметогенезе (см. Ueda *et al.,* Blood, 2002, 99:3342-3349).

Антитела, которые иммуноспецифично связываются с KIT человека, известны, например, из международной патентной публикации № WO2014018625A1, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

Существует потребность в обеспечении улучшенных антител против KIT человека.

3. КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Согласно одному из аспектов в настоящем документе предложено антитело, которое иммуноспецифично связывается с KIT человека, содержащее: (i) вариабельную область легкой цепи («VL»), содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; (ii) вариабельную область тяжелой цепи ("VH"), содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7, соответственно; и (iii) модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека, которые содержат аминокислоты неприродного происхождения 234A, 235Q и 322Q, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat. В конкретных воплощениях

модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека дополнительно содержат аминокислоты неприродного происхождения 252Y, 254T и 256E, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

В конкретных воплощениях (i) VL антитела содержит аминокислотную последовательность:
DIVMTQSPSX_{K1}LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX_{K2}LIYSASYR YSGVPDRFX_{K3}GSGSGTDFTLTISSLQX_{K4}EDFAX_{K5}YX_{K6}CQQYNSYPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 17), где X_{K1} представляет собой аминокислоту с ароматической или алифатической гидроксильной боковой цепью, X_{K2} представляет собой аминокислоту с алифатической или алифатической гидроксильной боковой цепью, X_{K3} представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью, X_{K4} представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью или представляет собой P, X_{K5} представляет собой аминокислоту с заряженной или кислотной боковой цепью, и X_{K6} представляет собой аминокислоту с ароматической боковой цепью; и (ii) VH антитела содержит аминокислотную последовательность:
QVQLVQSGAEX_{H1}KKPGASVKX_{H2}SCKASGYTFTDYYINWVX_{H3}QAPGKGLEWIARIY PGSGNTYYNEKFKGRX_{H4}TX_{H5}TAX_{H6}KSTSTAYMX_{H7}LSSLRSEDX_{H8}AVYFCARGVYY FDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 18), где X_{H1} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H2} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H3} представляет собой аминокислоту с полярной или основной боковой цепью, X_{H4} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H5} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H6} представляет собой аминокислоту с кислотной боковой цепью, X_{H7} представляет собой аминокислоту с кислотной или амидной дериватизированной боковой цепью X_{H8} представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью. В определенном воплощении X_{K1} представляет собой аминокислоту F или S, X_{K2} представляет собой аминокислоту A или S, X_{K3} представляет собой аминокислоту T или S, X_{K4} представляет собой аминокислоту S или P, X_{K5} представляет собой аминокислоту D или T, X_{K6} представляет собой аминокислоту F или Y, X_{H1} представляет собой аминокислоту L или V, X_{H2} представляет собой аминокислоту L или V, X_{H3} представляет собой аминокислоту K или R, X_{H4} представляет собой аминокислоту V или A, X_{H5} представляет собой аминокислоту L или I, X_{H6} представляет собой аминокислоту E или D, X_{H7} представляет собой аминокислоту Q или E, и X_{H8} представляет собой аминокислоту S или T.

В конкретных воплощениях (i) VL антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, 14, 15 или 16, и (ii) VH антитела содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11 или 12.

В конкретных воплощениях антитело содержит: (i) VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14; (ii) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и (iii) модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека, содержащие аминокислоты неприродного происхождения 234A, 235Q и 322Q, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

В конкретных воплощениях антитело содержит: (i) VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14; (ii) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и (iii) модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека, содержащие аминокислоты неприродного происхождения 234A, 235Q, 322Q, 252Y, 254T и 256E, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

В конкретных воплощениях антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGKGLEWIARIYPGSG
NTYYNEKFKGRATLTADKSTSTAYMQLSSLRSEDTAVYFCARGVYYFDYWGQGTT
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
CPAPEAQGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCQVSNKALPAPIEKTISKAKG
QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 21).

В конкретных воплощениях антитело содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность:
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASYRYSG
VPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 22).

В конкретных воплощениях антитело содержит (i) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGKGLEWIARIYPGSG
NTYYNEKFKGRATLTADKSTSTAYMQLSSLRSEDTAVYFCARGVYYFDYWGQGTT
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
CPAPEAQGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCQVSNKALPAPIEKTISKAKG
QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 21); и (ii) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность:
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASYRYSG
VPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 22).

Согласно другому аспекту в настоящем документе предложен конъюгат, содержащий антитело, предложенное в настоящем документе, связанное с агентом.

Согласно другому аспекту в настоящем документе предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело или конъюгат, предложенные в настоящем документе, и фармацевтически приемлемый носитель.

Согласно другому аспекту в настоящем документе предложен полинуклеотид или комбинация полинуклеотидов, содержащие нуклеотидные последовательности, кодирующие антитело, предложенное в настоящем документе, или VH и VL указанного антитела.

Согласно другому аспекту в настоящем документе предложен вектор или комбинация векторов, содержащие полинуклеотид или комбинацию полинуклеотидов, предложенные в настоящем документе.

Согласно другому аспекту в настоящем документе предложена клетка-хозяин, содержащая вектор или комбинацию векторов, предложенных в настоящем документе, или полинуклеотид или комбинацию полинуклеотидов, предложенных в настоящем документе.

Согласно другому аспекту в настоящем документе предложен набор, содержащий антитело, предоженное в настоящем документе, конъюгат, предложенный в настоящем документе, или фармацевтическую композицю, предложенную в настоящем документе.

Согласно другому аспекту в настоящем документе предложен способ защиты от KIT-ассоциированного расстройства, лечения или сдерживания KIT-ассоциированного расстройства, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества антитела, предложенного в настоящем документе, конъюгата, предложенного в настоящем документе, или фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе. В конкретных воплощениях KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство, связанное с эозинофилами расстройство, рак, астму, воспалительное состояние, ревматоидный артрит, аллергическое воспаление, воспалительное заболевание кишечника, желудочно-кишечное расстройство или фиброз. В определенном воплощении KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство. В конкретном воплощении связанное с тучными клетками расстройство представляет собой хроническую крапивницу. В одном воплощении хроническая крапивница представляет собой хроническую индуцированную крапивницу. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой холодовую крапивницу. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой симптоматический дермографизм. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой холинергическую крапивницу. В другом воплощении хроническая крапивница представляет собой хроническую спонтанную крапивницу. В определенном воплощении KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит (EoE).

В определенных воплощениях способ, предложенный в настоящем документе, дополнительно включает введение субъекту второго терапевтического агента. В конкретных воплощениях второй терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибитор гистондеацетилазы, антитело, цитокин, ингибитор тирозинкиназы, антигистаминный агент, антагонист лейкотриенового рецептора, иммуномодулятор или противовоспалительный агент.

Согласно другому аспекту в настоящем документе предложен способ ингибирования активности KIT в экспрессирующей KIT клетке, включающий приведение указанной клетки в контакт с эффективным количеством антитела, предложенного в настоящем документе, конъюгата, предложенного в настоящем документе, или фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе.

В конкретных воплощениях способ обеспечивает ингибирование активности KIT по меньшей мере на примерно 10% в экспрессирующей KIT клетке.

Согласно другому аспекту в настоящем документе предложен способ *in vitro* диагностики субъекта с KIT-ассоциированным расстройством, где указанный способ включает приведение клеток или образца, полученного от субъекта, в контакт с антителом, предложенным в настоящем документе, и детектирование уровня экспрессии KIT в клетках или в образце.

Согласно другому аспекту в настоящем документе предложен способ получения антитела, где указанный способ включает культивирование и/или экспрессирование антитела с применением клетки-хозяина, предложенной в настоящем документе. В конкретных воплощениях способ дополнительно включает очистку антитела, полученного из указанной клетки-хозяина.

Согласно другому аспекту в настоящем документе предложено применение антитела, предложенного в настоящем документе, конъюгата, предложенного в настоящем документе, или фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе, в изготовлении лекарственного средства для защиты от KIT-ассоциированного расстройства, лечения или сдерживания KIT-ассоциированного расстройства. В конкретных воплощениях KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство, связанное с эозинофилами расстройство, рак, астму, воспалительное состояние, ревматоидный артрит, аллергическое воспаление, воспалительное заболевание кишечника, желудочно-кишечное расстройство или фиброз. В определенном воплощении KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство. В конкретном воплощении связанное с тучными клетками расстройство представляет собой хроническую крапивницу. В одном воплощении хроническая крапивница представляет собой хроническую индуцированную крапивницу. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой холодовую крапивницу. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой симптоматический дермографизм. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой холинергическую крапивницу. В другом воплощении хроническая крапивница представляет собой хроническую спонтанную крапивницу. В определенном воплощении KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит (EoE).

В определенных воплощениях лекарственное средство, описанное в настоящем документе, изготавливают для введения в комбинации со вторым терапевтическим агентом. В конкретных воплощениях второй терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибитор гистондеацетилазы, антитело, цитокин, ингибитор тирозинкиназы, антигистаминный агент, антагонист лейкотриенового рецептора, иммуномодулятор или противовоспалительный агент.

Согласно другому аспекту в настоящем документе предложено применение антитела, предложенного в настоящем документе, конъюгата, предложенного в настоящем документе, или фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе, в изготовлении лекарственного средства для ингибирования активности KIT в экспрессирующей KIT клетке. В конкретных воплощениях лекарственное средство обеспечивает ингибирование активности KIT по меньшей мере примерно на 10% в экспрессирующей KIT клетке.

Согласно другому аспекту в настоящем документе предложено антитело, описанное в настоящем документе, конъюгат, описанный в настоящем документе, или фармацевтическая композиция, описанная в настоящем документе, для применения в способе защиты от KIT-ассоциированного расстройства, лечения или сдерживания KIT-ассоциированного расстройства. В конкретных воплощениях KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство, связанное с эозинофилами расстройство, рак, астму, воспалительное состояние, ревматоидный артрит, аллергическое воспаление, воспалительное заболевание кишечника, желудочно-кишечное расстройство или фиброз. В определенном воплощении KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство. В конкретном воплощении связанное с тучными клетками расстройство представляет собой хроническую крапивницу. В одном воплощении хроническая крапивница представляет собой хроническую индуцированную крапивницу. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой холодовую крапивницу. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой симптоматический дермографизм. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой холинергическую крапивницу. В другом воплощении хроническая крапивница представляет собой хроническую спонтанную крапивницу. В определенном воплощении KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит (EoE).

В определенных воплощениях способ дополнительно включает введение субъекту второго терапевтического агента. В конкретных воплощениях второй терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибитор гистондеацетилазы, антитело, цитокин, ингибитор тирозинкиназы, антигистаминный агент, антагонист лейкотриенового рецептора, иммуномодулятор или противовоспалительный агент.

Согласно другому аспекту в настоящем документе предложено антитело, описанное в настоящем документе, конъюгат, описанный в настоящем документе, или фармацевтическая композиция, описанная в настоящем документе, для применения в способе ингибирования активности KIT в экспрессирующей KIT клетке. В конкретных воплощениях способ обеспечивает ингибирование активности KIT по меньшей мере примерно на 10% в экспрессирующей KIT клетке.

Согласно другому аспекту в настоящем документе предложен способ защиты от, лечения или сдерживания хронической крапивницы, включающий введение нуждающемуся в этом объекту терапевтически эффективного количества (1) антитела, которое иммуноспецифично связывается с KIT человека, или его антигенсвязывающего фрагмента, (2) конъюгата, содержащего указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связанные с агентом, или (3) фармацевтической композиции, содержащей указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или указанный конъюгат и фармацевтически приемлемый носитель. В определенных воплощениях KIT человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1. В определенных воплощениях антитело специфично связывается с областью D4 или D5 KIT человека. В определенных воплощениях антитело содержит модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc (например, модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc человека). В определенных воплощениях антитело обладает сниженной активностью связывания с Fc-рецептором (в частности, сниженной активностью связывания с FcγR). В определенных воплощениях антитело не индуцирует существенной дегрануляции FcgRI-экспрессирующих тучных клеток человека. В определенных воплощениях антитело не демонстрирует существенной Fc рецептор-зависимой агонистической активности в отношении KIT. В определенных воплощениях антитело содержит: (A) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и (ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные

последовательности SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7, соответственно; (B) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и (ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27, соответственно; (C) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30, соответственно; и (ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32, соответственно; (D) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и (ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 и SEQ ID NO: 27, соответственно; или (E) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36 и SEQ ID NO: 37, соответственно; и (ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39 и SEQ ID NO: 40, соответственно. В одном воплощении хроническая крапивница представляет собой хроническую индуцированную крапивницу. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой холодовую крапивницу. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой симптоматический дермографизм. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой холинергическую крапивницу. В другом воплощении хроническая крапивница представляет собой хроническую спонтанную крапивницу.

В определенных воплощениях способ, предложенный в настоящем документе, дополнительно включает введение субъекту второго терапевтического агента. В конкретных воплощениях указанный второй терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибитор гистондеацетилазы, антитело, цитокин, ингибитор тирозинкиназы, антигистаминный агент, антагонист лейкотриенового рецептора, иммуномодулятор или противовоспалительный агент.

Согласно другому аспекту в настоящем документе предложено применение (1) антитела, которое иммуноспецифично связывается с KIT человека, или его антигенсвязывающего фрагмента, (2) конъюгата, содержащего указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связанные с агентом, или (3) фармацевтической

композиции, содержащей антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат и фармацевтически приемлемый носитель, в изготовлении лекарственного средства для защиты от, лечения или сдерживания хронической крапивницы у субъекта. В определенных воплощениях KIT человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1. В определенных воплощениях антитело специфично связывается с областью D4 или D5 KIT человека. В определенных воплощениях антитело содержит модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc (например, модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc человека). В определенных воплощениях антитело обладает сниженной активностью связывания с Fc-рецептором (в частности, сниженной активностью связывания с FcγR). В определенных воплощениях антитело не индуцирует существенной дегрануляции FcgRI-экспрессирующих тучных клеток человека. В определенных воплощениях антитело не демонстрирует существенной Fc рецептор-зависимой агонистической активности в отношении KIT. В определенных воплощениях антитело содержит: (A) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и (ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7, соответственно; (B) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и (ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27, соответственно; (C) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30, соответственно; и (ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32, соответственно; (D) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и (ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 и SEQ ID NO: 27, соответственно; или (E) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36 и SEQ ID NO: 37, соответственно; и (ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39 и

SEQ ID NO: 40, соответственно. В конкретных воплощениях хроническая крапивница представляет собой хроническую индуцированную крапивницу. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой холодовую крапивницу. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой симптоматический дермографизм. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой холинергическую крапивницу. В другом воплощении хроническая крапивница представляет собой хроническую спонтанную крапивницу.

В определенных воплощениях лекарственное средство, описанное в настоящем документе, изготавливают для введения в комбинации со вторым терапевтическим агентом. В конкретных воплощениях второй терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибитор гистондеацетилазы, антитело, цитокин, ингибитор тирозинкиназы, антигистаминный агент, антагонист лейкотриеновых рецепторов, иммуномодулятор или противовоспалительный агент.

Согласно другому аспекту в настоящем документе предложено (1) антитело, которое иммуноспецифично связывается с KIT человека, или его антигенсвязывающий фрагмент, (2) конъюгат, содержащий указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связанные с агентом, или (3) фармацевтическая композиция, содержащая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат и фармацевтически приемлемый носитель, для применения в способе защиты от, лечения или сдерживания хронической крапивницы. В определенных воплощениях KIT человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1. В определенных воплощениях антитело специфично связывается с областью D4 или D5 KIT человека. В определенных воплощениях антитело содержит модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc (например, модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc человека). В определенных воплощениях антитело обладает сниженной активностью связывания с Fc-рецептором (в частности, сниженной активностью связывания с FcγR). В определенных воплощениях антитело не индуцирует существенной дегрануляции FcgRI-экспрессирующих тучных клеток человека. В определенных воплощениях антитело не демонстрирует существенной Fc рецептор-зависимой агонистической активности в отношении KIT. В определенных воплощениях антитело содержит: (A) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и (ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID

NO: 7, соответственно; (B) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и (ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27, соответственно; (C) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30, соответственно; и (ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32, соответственно; (D) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и (ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 и SEQ ID NO: 27, соответственно; или (E) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36 и SEQ ID NO: 37, соответственно; и (ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39 и SEQ ID NO: 40, соответственно. В конкретных воплощениях хроническая крапивница представляет собой хроническую индуцированную крапивницу. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой холодовую крапивницу. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой симптоматический дермографизм. В одном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой холинергическую крапивницу. В другом воплощении хроническая крапивница представляет собой хроническую спонтанную крапивницу.

В определенных воплощениях способ дополнительно включает введение субъекту второго терапевтического агента. В конкретных воплощениях указанный второй терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибитор гистондеацетилазы, антитело, цитокин, ингибитор тирозинкиназы, антигистаминный агент, антагонист лейкотриенового рецептора, иммуномодулятор или противовоспалительный агент.

3.1 Иллюстративные воплощения

1. Антитело, которое иммуноспецифично связывается с KIT человека, содержащее:

(i) вариабельную область легкой цепи («VL»), содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно;

(ii) вариабельную область тяжелой цепи («VH»), содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7, соответственно; и

(iii) модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека, которые содержат аминокислоты неприродного происхождения 234A, 235Q и 322Q, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

2. Антитело согласно воплощению 1, где модифицированная (например, мутированная) область Fc IgG1 человека дополнительно содержит аминокислоты неприродного происхождения 252Y, 254T и 256E, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

3. Антитело согласно воплощению 1 или 2, где:

(i) VL содержит аминокислотную последовательность:
DIVMTQSPSX_{K1}LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX_{K2}LIYSASYR YSGVPDRFX_{K3}GSGSGTDFTLTISSLQX_{K4}EDFAX_{K5}YX_{K6}CQQYNSYPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 17), где X_{K1} представляет собой аминокислоту с ароматической или алифатической гидроксильной боковой цепью, X_{K2} представляет собой аминокислоту с алифатической или алифатической гидроксильной боковой цепью, X_{K3} представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью, X_{K4} представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью или представляет собой P, X_{K5} представляет собой аминокислоту с заряженной или кислотной боковой цепью, и X_{K6} представляет собой аминокислоту с ароматической боковой цепью; и

(ii) VH содержит аминокислотную последовательность:
QVQLVQSGAEX_{H1}KKPGASVKX_{H2}SCKASGYTFTDYYINWVX_{H3}QAPGKGLEWIARIY PGSGNTYYNEKFKGRX_{H4}TX_{H5}TAX_{H6}KSTSTAYMX_{H7}LSSLRSEDX_{H8}AVYFCARGVYY FDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 18), где X_{H1} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H2} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H3} представляет собой аминокислоту с полярной или основной боковой цепью, X_{H4} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H5} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H6} представляет собой аминокислоту с кислотной боковой цепью, X_{H7} представляет собой

аминокислоту с кислотной или амидной дериватизированной боковой цепью X_{H8} представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью.

4. Антитело согласно воплощению 3, где X_{K1} представляет собой аминокислоту F или S, X_{K2} представляет собой аминокислоту A или S, X_{K3} представляет собой аминокислоту T или S, X_{K4} представляет собой аминокислоту S или P, X_{K5} представляет собой аминокислоту D или T, X_{K6} представляет собой аминокислоту F или Y, X_{H1} представляет собой аминокислоту L или V, X_{H2} представляет собой аминокислоту L или V, X_{H3} представляет собой аминокислоту K или R, X_{H4} представляет собой аминокислоту V или A, X_{H5} представляет собой аминокислоту L или I, X_{H6} представляет собой аминокислоту E или D, X_{H7} представляет собой аминокислоту Q или E, и X_{H8} представляет собой аминокислоту S или T.

5. Антитело согласно любому из воплощений 1-4, где:

i) VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, 14, 15 или 16, и

ii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11 или 12.

6. Антитело согласно любому из воплощений 1-5, содержащее:

(i) VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14;

(ii) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и

(iii) модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека, содержащие аминокислоты неприродного происхождения 234A, 235Q и 322Q, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

7. Антитело согласно любому из воплощений 1-5, содержащее:

(i) VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14;

(ii) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и

(iii) модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека, содержащие аминокислоты неприродного происхождения 234A, 235Q, 322Q, 252Y, 254T и 256E, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

8. Антитело согласно любому из воплощений 1-5, которое содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGKGLEWIARIYPGSG
NTYYNEKFKGRATLTADKSTSTAYMQLSSLRSEDTAVYFCARGVYYFDYWGQGTT
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP

CPAPEAQGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCQVSNKALPAPIEKTISKAKG
QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 21).

9. Антитело согласно любому из воплощений 1-5, которое содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность:
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASYRYSG
VPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 22).

10. Антитело согласно любому из воплощений 1-5, которое содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGKGLEWIARIYPGSG
NTYYNEKFKGRATLTADKSTSTAYMQLSSLRSEDTAVYFCARGVYYFDYWGQGTT
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
CPAPEAQGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCQVSNKALPAPIEKTISKAKG
QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 21); и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность:
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASYRYSG
VPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 22).

11. Конъюгат, содержащий антитело согласно любому из воплощений 1-10, связанное с агентом.

12. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело согласно любому из воплощений 1-10 или конъюгат согласно воплощению 11 и фармацевтически приемлемый носитель.

13. Полинуклеотид или комбинация полинуклеотидов, содержащие последовательности нуклеотидов, кодирующие антитело согласно любому из воплощений 1-10 или VH и VL указанного антитела.

14. Вектор или комбинация векторов, содержащие полинуклеотид или комбинацию полинуклеотидов согласно воплощению 13.

15. Клетка-хозяин, содержащая вектор или комбинацию векторов согласно воплощению 14 или полинуклеотид или комбинацию полинуклеотидов согласно воплощению 13.

16. Набор, содержащий антитело согласно любому из воплощений 1-10, конъюгат согласно воплощению 11 или фармацевтическую композицию согласно воплощению 12.

17. Способ защиты от, лечения или сдерживания KIT-ассоциированного расстройства, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества антитела согласно любому из воплощений 1-10, конъюгата согласно воплощению 11 или фармацевтической композиции согласно воплощению 12.

18. Способ согласно воплощению 17, где KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство, связанное с эозинофилами расстройство, рак, астму, воспалительное состояние, ревматоидный артрит, аллергическое воспаление, воспалительное заболевание кишечника, желудочно-кишечное расстройство или фиброз.

19. Способ согласно воплощению 18, где KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство.

20. Способ согласно воплощению 19, где связанное с тучными клетками расстройство представляет собой хроническую крапивницу.

21. Способ согласно воплощению 20, где хроническая крапивница представляет собой хроническую индуцированную крапивницу.

22. Способ согласно воплощению 21, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой холодовую крапивницу.

23. Способ согласно воплощению 21, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой симптоматический дермографизм.

24. Способ согласно воплощению 21, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой холинергическую крапивницу.

25. Способ согласно воплощению 20, где хроническая крапивница представляет собой хроническую спонтанную крапивницу.

26. Способ согласно воплощению 18, где KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с эозинофилами расстройство.

27. Способ согласно любому из воплощений 17-26, дополнительно включающий введение субъекту второго терапевтического агента.

28. Способ согласно воплощению 27, где указанный второй терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибитор гистондеацетилазы, антитело, цитокин, ингибитор тирозинкиназы, антигистаминный агент, антагонист лейкотриенового рецептора, иммуномодулятор или противовоспалительный агент.

29. Способ ингибирования активности KIT в экспрессирующей KIT клетке, включающий приведение указанной клетки в контакт с эффективным количеством антитела согласно любому из воплощений 1-10, конъюгата согласно воплощению 11 или фармацевтической композиции согласно воплощению 12.

30. Способ согласно воплощению 29, обеспечивающий ингибирование активности KIT по меньшей мере примерно на 10% в экспрессирующей KIT клетке.

31. Способ *in vitro* диагностики субъекта с KIT-ассоциированным расстройством, включающий приведение клеток или образца, полученного от субъекта, в контакт с антителом согласно любому из воплощений 1-10 и детектирование уровня экспрессии KIT в клетках или в образце.

32. Способ получения антитела, включающий культивирование и/или экспрессирование антитела с применением клетки-хозяина согласно воплощению 15.

33. Способ согласно воплощению 32, дополнительно включающий очистку антитела, полученного из указанной клетки-хозяина.

34. Применение антитела согласно любому из воплощений 1-10, конъюгата согласно воплощению 11 или фармацевтической композиции согласно воплощению 12 для изготовления лекарственного средства для защиты от, лечения или сдерживания KIT-ассоциированного расстройства.

35. Применение согласно воплощению 34, где KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство, связанное с эозинофилами расстройство, рак, астму, воспалительное состояние, ревматоидный артрит, аллергическое воспаление, воспалительное заболевание кишечника, желудочно-кишечное расстройство или фиброз.

36. Применение согласно воплощению 35, где KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство.

37. Применение согласно воплощению 36, где связанное с тучными клетками расстройство представляет собой хроническую крапивницу.

38. Применение согласно воплощению 37, где хроническая крапивница представляет собой хроническую индуцированную крапивницу.

39. Применение согласно воплощению 38, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой холодовую крапивницу.

40. Применение согласно воплощению 38, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой симптоматический дермографизм.

41. Применение согласно воплощению 38, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой холинергическую крапивницу.

42. Применение согласно воплощению 37, где хроническая крапивница представляет собой хроническую спонтанную крапивницу.

43. Применение согласно воплощению 35, где KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с эозинофилами расстройство.

44. Применение согласно любому из воплощений 34-43, где лекарственное средство изготавливают для введения в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

45. Применение согласно воплощению 44, где указанный второй терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибитор гистондеацетилазы, антитело, цитокин, ингибитор тирозинкиназы, антигистаминный агент, антагонист лейкотриенового рецептора, иммуномодулятор или противовоспалительный агент.

46. Применение антитела согласно любому из воплощений 1-10, конъюгата согласно воплощению 11 или фармацевтической композиции согласно воплощению 12 для изготовления лекарственного средства для ингибирования активности KIT в экспрессирующей KIT клетке.

47. Применение согласно воплощению 46, где указанное лекарственное средство ингибирует активность KIT по меньшей мере примерно на 10% в экспрессирующей KIT клетке.

48. Антитело согласно любому из воплощений 1-10, конъюгат согласно воплощению 11 или фармацевтическая композиция согласно воплощению 12 для применения в способе защиты от, лечения или сдерживания KIT-ассоциированного расстройства.

49. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 48, где KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство, связанное с эозинофилами расстройство,

рак, астму, воспалительное состояние, ревматоидный артрит, аллергическое воспаление, воспалительное заболевание кишечника, желудочно-кишечное расстройство или фиброз.

50. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 49, где KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство.

51. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 50, где связанное с тучными клетками расстройство представляет собой хроническую крапивницу.

52. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 51, где хроническая крапивница представляет собой хроническую индуцированную крапивницу.

53. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 52, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой холодовую крапивницу.

54. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 52, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой симптоматический дермографизм.

55. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 52, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой холинергическую крапивницу.

56. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 51, где хроническая крапивница представляет собой хроническую спонтанную крапивницу.

57. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 49, где KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с эозинофилами расстройство.

58. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно любому из воплощений 48-57, где способ дополнительно включает введение субъекту второго терапевтического агента.

59. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 58, где указанный второй терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибитор гистондеацетилазы, антитело, цитокин,

ингибитор тирозинкиназы, антигистаминный агент, антагонист лейкотриенового рецептора, иммуномодулятор или противовоспалительный агент.

60. Антитело согласно любому из воплощений 1-10, конъюгат согласно воплощению 11 или фармацевтическая композиция согласно воплощению 12 для применения в способе ингибирования активности KIT в экспрессирующей KIT клетке.

61. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 60, где способ обеспечивает ингибирование активности KIT по меньшей мере примерно на 10% в экспрессирующей KIT клетке.

62. Способ защиты от, лечения или сдерживания хронической крапивницы у субъекта, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества (1) антитела, которое иммуноспецифично связывается с KIT человека, или его антигенсвязывающего фрагмента, (2) конъюгата, содержащего указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связанные с агентом, или (3) фармацевтической композиции, содержащей антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат и фармацевтически приемлемый носитель.

63. Способ согласно воплощению 62, где KIT человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1.

64. Способ согласно воплощению 62 или 63, где антитело специфично связывается с областью D4 или D5 KIT человека.

65. Способ согласно любому из воплощений 62-64, где антитело содержит модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc.

66. Способ согласно любому из воплощений 62-65, где антитело содержит модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc человека.

67. Способ согласно любому из воплощений 62 to 66, где антитело обладает сниженной активностью связывания с Fc-рецептором (в частности, сниженной активностью связывания с FcγR).

68. Способ согласно любому из воплощений 62-67, где антитело не индуцирует существенной дегрануляции FcgRI-экспрессирующих тучных клеток человека.

69. Способ согласно любому из воплощений 62-68, где антитело не демонстрирует существенной Fc рецептор-зависимой агонистической активности в отношении KIT.

70. Способ согласно любому из воплощений 62-69, где антитело содержит:

(A) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7, соответственно;

(B) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27, соответственно;

(C) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32, соответственно;

(D) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 и SEQ ID NO: 27, соответственно; или

(E) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36 и SEQ ID NO: 37, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39 и SEQ ID NO: 40, соответственно.

71. Способ согласно воплощению 70, где хроническая крапивница представляет собой хроническую индуцированную крапивницу.

72. Способ согласно воплощению 71, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой холодовую крапивницу.

73. Способ согласно воплощению 71, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой симптоматический дермографизм.

74. Способ согласно воплощению 71, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой холинергическую крапивницу.

75. Способ согласно воплощению 70, где хроническая крапивница представляет собой хроническую спонтанную крапивницу.

76. Способ согласно любому из воплощений 70-75, дополнительно включающий введение субъекту второго терапевтического агента.

77. Способ согласно воплощению 76, где указанный второй терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибитор гистондеацетилазы, антитело, цитокин, ингибитор тирозинкиназы, антигистаминный агент, антагонист лейкотриенового рецептора, иммуномодулятор или противовоспалительный агент.

78. Применение (1) антитела, которое иммуноспецифично связывается с KIT человека, или его антигенсвязывающего фрагмента, (2) конъюгата, содержащего указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связанные с агентом, или (3) фармацевтической композиции, содержащей антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, и фармацевтически приемлемый носитель, для изготовления лекарственного средства для защиты от, лечения или сдерживания хронической крапивницы у субъекта.

79. Применение согласно воплощению 78, где KIT человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1.

80. Применение согласно воплощению 78 или 79, где антитело специфично связывается с областью D4 или D5 KIT человека.

81. Применение согласно любому из воплощений 78-80, где антитело содержит модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc.

82. Применение согласно любому из воплощений 78-81, где антитело содержит модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc человека.

83. Применение согласно любому из воплощений 78-82, где антитело обладает сниженной активностью связывания с Fc-рецептором (в частности, сниженной активностью связывания с FcγR).

84. Применение согласно любому из воплощений 78-83, где антитело не индуцирует существенной дегрануляции FcgRI-экспрессирующих тучных клеток человека.

85. Применение согласно любому из воплощений 78-84, где антитело не демонстрирует существенной Fc-рецептор-зависимой агонистической активности в отношении KIT.

86. Применение согласно любому из воплощений 78-85, где антитело содержит:

(A) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7, соответственно;

(B) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27, соответственно;

(C) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32, соответственно;

(D) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 и SEQ ID NO: 27, соответственно; или

(E) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36 и SEQ ID NO: 37, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39 и SEQ ID NO: 40, соответственно.

87. Применение согласно воплощению 86, где хроническая крапивница представляет собой хроническую индуцированную крапивницу.

88. Применение согласно воплощению 87, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой холодовую крапивницу.

89. Применение согласно воплощению 87, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой симптоматический дермографизм.

90. Применение согласно воплощению 87, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой холинергическую крапивницу.

91. Применение согласно воплощению 86, где хроническая крапивница представляет собой хроническую спонтанную крапивницу.

92. Применение согласно любому из воплощений 86- 91, где лекарственное средство изготавливают для введения в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

93. Применение согласно воплощению 92, где указанный второй терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибитор гистондеацетилазы, антитело, цитокин, ингибитор тирозинкиназы, антигистаминный агент, антагонист лейкотриенового рецептора, иммуномодулятор или противовоспалительный агент.

94. Антитело, которое иммуноспецифично связывается с KIT человека, или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгат, содержащий указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связанные с агентом, или фармацевтическая композиция, содержащая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат и фармацевтически приемлемый носитель, для применения в способе защиты от, лечения или сдерживания хронической крапивницы у субъекта.

95. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 94, где KIT человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1.

96. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 94 или 95, где указанное антитело специфично связывается с областью D4 или D5 KIT человека.

97. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно любому из воплощений 94-96, где антитело содержит модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc.

98. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно любому из воплощений 94-97, где антитело содержит модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc человека.

99. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно любому из воплощений 94-98, где антитело обладает сниженной активностью связывания с Fc-рецептором (в частности, сниженной активностью связывания с FcγR).

100. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно любому из воплощений 94-99, где указанное антитело не индуцирует существенной дегрануляции FcgRI-экспрессирующих тучных клеток человека.

101. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно любому из воплощений 94-100, где антитело не демонстрирует существенной Fc рецептор-зависимой агонистической активности в отношении KIT.

102. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно любому из воплощений 94-101, где антитело содержит:

(A) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7, соответственно;

(B) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27, соответственно;

(C) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32, соответственно;

(D) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 и SEQ ID NO: 27, соответственно; или

(E) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36 и SEQ ID NO: 37, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39 и SEQ ID NO: 40, соответственно.

103. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 102, где хроническая крапивница представляет собой хроническую индуцированную крапивницу.

104. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 103, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой холодовую крапивницу.

105. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 103, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой симптоматический дермографизм.

106. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 103, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой холинергическую крапивницу.

107. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 102, где хроническая крапивница представляет собой хроническую спонтанную крапивницу.

108. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно любому из воплощений 102- 107, где способ дополнительно включает введение субъекту второго терапевтического агента.

109. Антитело, конъюгат или фармацевтическая композиция для применения согласно воплощению 108, где указанный второй терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибитор гистондеацетилазы, антитело, цитокин,

ингибитор тирозинкиназы, антигистаминный агент, антагонист лейкотриенового рецептора, иммуномодулятор или противовоспалительный агент.

4. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

На ФИГ. 1 представлена аминокислотная последовательность полноразмерного KIT человека (SEQ ID NO: 1), идентификационный номер GenBank™ AAC50969. Указаны внеклеточные Ig-подобные домены с первого по пятый (а именно, D1, D2, D3, D4 и D5); «{» обозначает аминоконцевой остаток каждого домена, а «}» обозначает карбоксиконцевой остаток каждого домена. Домен D1 представлен на участке от P34 до R112, домен D2 представлен на участке от D113 до P206, домен D3 представлен на участке от A207 до D309, домен D4 представлен на участке от K310 до N410, шарнирная область между D4 и D5 расположена на участке от V409 до N410, и домен D5 представлен на участке от T411 до K509. Кроме того, шарнирная область D1/D2 расположена на участке от D113 до L117; шарнирная область D2/D3 расположена на участке от P206 до A210; и шарнирная область D3/D4 расположена на участке от D309 до G311. Область D4/D5 включает остатки от K310 до K509. Трансмембранный домен включает остатки от F525 до Q545, а киназный домен включает остатки от K589 до S933.

На ФИГ. 2A-2E показано действие конкретного антитела против KIT согласно настоящему изобретению, mAb1, на уровни триптазы в плазме.

На ФИГ. 3A и 3B показано дополнительное действие конкретного антитела против KIT согласно настоящему изобретению, mAb1, на уровни триптазы в плазме.

На ФИГ. 4 показано действие конкретного антитела против KIT согласно настоящему изобретению, mAb1, на уровни фактора стволовых клеток (SCF) в плазме.

На ФИГ. 5 показано действие конкретного антитела против KIT согласно настоящему изобретению, mAb1, и соответствующего антитела с теми же последовательностями вариабельных областей, но с не содержащей мутаций последовательностью (дикого типа) IgG1 человека, mAbc, на индуцированную SCF активацию KIT дикого типа и нижележащие внутриклеточные сигнальные пути.

На ФИГ. 6 показано действие конкретного антитела против KIT согласно настоящему изобретению, mAb1, и соответствующего антитела с теми же последовательностями вариабельных областей, но с не содержащей мутаций последовательностью (дикого типа) IgG1 человека, mAbc, на SCF-зависимую пролиферацию клеток.

На ФИГ. 7 показана аффинность связывания конкретного антитела против KIT согласно настоящему изобретению, mAb1, и соответствующего антитела с теми же последовательностями вариабельных областей, но с не содержащей мутаций последовательностью (дикого типа) IgG1 человека, mAbc, в отношении рекомбинантных Fc-гамма-рецепторов (FcγR) человека и неонатального Fc-рецептора (FcRn) человека.

На ФИГ. 8A-8N представлены кривые связывания конкретного антитела против KIT согласно настоящему изобретению, mAb1, и соответствующего антитела с теми же последовательностями вариабельных областей, но с не содержащей мутаций последовательностью (дикого типа) IgG1 человека, mAbc, с рекомбинантными Fc-гамма-рецепторами (FcγR) человека и неонатальным Fc-рецептором (FcRn) человека. На ФИГ. 8A представлены кривые связывания mAb1 с FcγRI. На ФИГ. 8B представлены кривые связывания mAb1 с FcγRIIa. На ФИГ. 8C представлены кривые связывания mAb1 с FcγRIIb. На ФИГ. 8D представлены кривые связывания mAb1 с FcγRIIIa. На ФИГ. 8E представлены кривые связывания mAb1 с FcγRIIIb. На ФИГ. 8F представлены кривые связывания mAb1 с FcRn (pH 6,0). На ФИГ. 8G представлены кривые связывания mAb1 с FcRn (pH 7,2). На ФИГ. 8H представлены кривые связывания mAbc с FcγRI. На ФИГ. 8I представлены кривые связывания mAbc с FcγRIIa. На ФИГ. 8J представлены кривые связывания mAbc с FcγRIIb. На ФИГ. 8K представлены кривые связывания mAbc с FcγRIIIa. На ФИГ. 8L представлены кривые связывания mAbc с FcγRIIIb. На ФИГ. 8M представлены кривые связывания mAbc с FcRn (pH 6,0). На ФИГ. 8N представлены кривые связывания mAbc с FcRn (pH 7,2).

На ФИГ. 9 показано действие конкретного антитела против KIT согласно настоящему изобретению, mAb1, и соответствующего антитела с теми же последовательностями вариабельных областей, но с не содержащей мутаций последовательностью (дикого типа) IgG1 человека, mAbc, на активность в виде антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC).

На ФИГ. 10 показано действие конкретного антитела против KIT согласно настоящему изобретению, mAb1, на выработку специфических цитокинов. Условия, показанные для каждой столбчатой диаграммы, слева направо: PHA, LPS, huIgG1 (растворимый), mAb1 0,02 нМ (растворимое), mAb1 0,2 нМ (растворимое), mAb1 40 нМ (растворимое), mAb1 0,02 нМ (в виде сухого покрытия), mAb1 0,2 нМ (в виде сухого покрытия) и mAb1 40 нМ (в виде сухого покрытия).

На ФИГ. 11 представлена схема, иллюстрирующая роль передачи сигналов KIT в тучных клетках и действие mAb1 на рецептор KIT.

На ФИГ. 12A-12D показано, что однократная доза mAb1 приводила к быстрому и устойчивому ответу с частотой полного ответа (CR) 95% у пациентов с хронической индуцированной крапивницей (CIndU). У 10/10 пациентов с холодовой крапивницей (ColdU) был достигнут CR (ФИГ. 12A). У 8/9 пациентов с симптоматическим дермографизмом (SD) был достигнут CR, и у 1/9 пациентов с SD был достигнут частичный ответ (PR) (ФИГ. 12B). CR = отрицательный провокационный тест при температуре ≤4°C или 0 контактов (pins); PR = улучшение на 4°C или ≥2 контактов; показан максимальный ответ для каждого пациента. Результаты TempTest® в зависимости от времени у пациентов с ColdU показаны на ФИГ. 12C. У завершивших участие в исследовании пациентов с ColdU (n=8) CR сохранялся с медианной продолжительностью 77 дней (ФИГ. 12C). Результаты FricTest® в зависимости от времени у пациентов с SD показаны на ФИГ. 12D. У завершивших участие в исследовании пациентов с SD (n=6) CR сохранялся с медианной продолжительностью 57 дней (ФИГ. 12D).

На ФИГ. 13A-13B показано общее улучшение течения заболевания, о чем свидетельствует общая оценка врачом (Phys-GA) и общая оценка пациентом (Pat-GA). Phys-GA и Pat-GA представляют собой оценки тяжести заболевания по шкале Лайкерта от 0 до 3, где 0 — отсутствие заболевания, и 3 — тяжелая степень.

На ФИГ. 14A-14D показано, что лечение mAb1 приводит к существенному истощению тучных клеток кожи и триптазы сыворотки. На ФИГ. 14A показано, что mAb1 снижает количество тучных клеток кожи (n=14, * означает $p<0,05$, ** означает $p<0,01$, *** означает $p<0,001$ и **** означает $p<0,0001$). На ФИГ. 14B показано, что mAb1 снижает уровень триптазы в сыворотке ниже предела обнаружения у всех пациентов (значения уровня триптазы ниже предела количественного определения анализа (LLoQ=1 нг/мл) были нормированы к 0). На ФИГ. 14C показана кинетика тучных клеток и триптазы. На ФИГ. 14D показано, что количество тучных клеток кожи коррелирует с уровнями триптазы в сыворотке ($p<0,0001$; $R^2=0,45$)).

На ФИГ. 15A-15D показано, что кинетика истощения тучных клеток кожи и триптазы соответствует снижению порогового значения в провокационном тесте. На ФИГ. 15A показана кинетика тучных клеток и результаты TempTest® в зависимости от времени у пациентов с ColdU. На ФИГ. 15B показана кинетика тучных клеток и результаты FricTest® в зависимости от времени у пациентов с SD. На ФИГ. 15C

показана кинетика триптазы и результаты TempTest® в зависимости от времени у пациентов с ColdU (значения уровня триптазы ниже LLoQ были нормированы к 0; пороговым значениям критической температуры ниже 4°C (отрицательный тест) присваивали значение 3°C). На ФИГ. 15D показана кинетика триптазы и результаты FricTest® в зависимости от времени у пациентов с SD.

На ФИГ. 16A-16D показано, что показатели крови в целом оставались в диапазоне нормальных значений и что было отмечено легкое, временное и бессимптомное снижение показателей гемоглобина и лейкоцитов (WBC). На ФИГ. 16A показан уровень гемоглобина (HgB) в зависимости от времени. На ФИГ. 16B показано количество лейкоцитов (WBC) в зависимости от времени. На ФИГ. 16C показано количество тромбоцитов в зависимости от времени. На ФИГ. 16D показано абсолютное количество нейтрофилов (ANC) в зависимости от времени. На каждом графике заштрихованная область представляет соответствующий диапазон нормальных значений.

На ФИГ. 17A-17B показано, что однократная доза mAb1 3 мг/кг приводила к быстрому и устойчивому улучшению сдерживания крапивницы у пациентов с холодовой крапивницей (ColdU) (n=10, см. ФИГ. 17A) и пациентов с симптоматическим дермографизмом (SD) (n= 10, см. ФИГ. 17B). Балл контрольного теста на крапивницу (UCT) = 16 означает статус крапивницы «полный контроль», балл UCT ≥12 означает статус крапивницы «хороший контроль», и балл UCT < 12 означает статус крапивницы «слабый контроль». На каждом графике отражены средние баллы UCT ± SEM.

На ФИГ. 18A-18B показано, что применение однократной дозы mAb1 3 мг/кг приводило к быстрому и устойчивому улучшению сдерживания крапивницы у пациентов с ColdU и SD. На ФИГ. 18A показано, что 100% пациентов достигали статуса «хороший контроль» (балл UCT ≥12) к 8-й неделе. На ФИГ. 18B показано, что 63% пациентов достигали статуса «полный контроль» (балл UCT = 16) к 8-й неделе.

На ФИГ. 19A-19B показано, что mAb1 существенно снижает влияние заболевания на качество жизни пациентов с холодовой крапивницей (ColdU, n=10, см. ФИГ. 19A) и симптоматическим дермографизмом (SD, n=10, см. ФИГ. 19B). Отражены средние баллы DLQI (дерматологического индекса качества жизни) ± SEM.

На ФИГ. 20A-20B показано, что mAb1 существенно снижает влияние заболевания на качество жизни пациентов с холодовой крапивницей (ColdU) и симптоматическим дермографизмом (SD). На ФИГ. 20A показано, что 93% пациентов

достигали клинически значимого улучшения качества жизни к 4 неделе. †: снижение DLQI ≥ 4 баллов представляет собой минимальное клинически значимое различие (MCID). *: в исследование были включены только те пациенты, у которых оценки DLQI на исходном уровне составляли ≥ 4. На ФИГ. 20B показано, что 58% пациентов сообщали об отсутствии влияния заболевания на качество жизни к 4 неделе. ₮: были включены все ответы, представленные за каждую неделю.

На ФИГ. 21A-21B показано, что однократная доза mAb1 3 мг/кг приводила к быстрому и устойчивому улучшению результатов провокационных тестов при полном ответе (CR) 95% и выраженном снижении уровня триптазы. На ФИГ. 21 A показано, что применение mAb1 приводило к быстрому и устойчивому улучшению результатов провокационных тестов при полном ответе 95%. Активность заболевания оценивали по пороговому значению критической температуры (CTT) с помощью TempTest® в случае холодовой крапивницы (ColdU) и критическому порогу трения (CFT) с помощью FricTest® в случае симптоматического дермографизма (SD). *: Пороговым значениям критической температуры ниже 4°C (отрицательный тест) присваивали значение 3°C. У 10/10 пациентов с ColdU и 9/10 пациентов с SD в ходе исследования наблюдался CR. CR = отрицательный провокационный тест при температуре ≤4°C (для ColdU) или 0 контактов (для SD). На графике отражены средние значения ± SEM. На ФИГ. 21B показано, что применение mAb1 приводило к быстрому, устойчивому и выраженному снижению уровня триптазы. Значения уровня триптазы ниже нижнего предела количественного определения (1 нг/мл) были нормированы к 0. На графике отражены средние значения ± SEM.

5. ПОДРОБНОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящем документе предложены антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые иммуноспецифично связываются с KIT человека (например, полипептидом KIT, содержащим домен D4 или D5 KIT человека), и их конъюгаты. В предпочтительных воплощениях в настоящем документе предложены антитела, которые иммуноспецифично связываются с KIT человека, в частности, антитела, имеющие сниженную активность связывания с Fc-рецептором (в частности, сниженную активность связывания с FcγR) и улучшенную фармакокинетику, сниженную способность вызывать дегрануляцию экспрессирующих FcgRI тучных клеток человека и/или сниженную Fc-рецептор-зависимую активность агониста KIT. В определенных воплощениях в настоящем документе предложены антигенсвязывающие фрагменты, которые иммуноспецифично связываются с KIT человека. Также

предложены выделенные нуклеиновые кислоты (полинуклеотиды), кодирующие такие антитела или их антигенсвязывающие фрагменты. Кроме того, предложены векторы (например, векторы экспрессии) и клетки (например, клетки-хозяева), содержащие нуклеиновые кислоты (полинуклеотиды), кодирующие такие антитела или их антигенсвязывающие фрагменты. Также предложены способы получения таких антител, клеток, например, клеток-хозяев. В настоящем документе также предложены способы и применения для защиты от KIT-ассоциированного расстройства или заболевания, лечения KIT-ассоциированного расстройства или заболевания или сдерживания KIT-ассоциированного расстройства или заболевания, включающие введение антитела, описанного в настоящем документе, или его антигенсвязывающего фрагмента или конъюгата. Также в настоящем документе предложены способы диагностики KIT-ассоциированного расстройства или заболевания, включающие приведение образца в контакт с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, описанными в настоящем документе, и определение уровня экспрессии KIT в указанном образце по сравнению с эталонным образцом (например, контрольным образцом). Кроме того, в настоящем документе предложены способы и применения для ингибирования активности KIT в экспрессирующей KIT клетке, включающие приведение указанной клетки в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, или его антигенсвязывающего фрагмента. Также в настоящем документе предложены способы индукции или усиления клеточной дифференцировки или апоптоза в экспрессирующей KIT клетке, включающие приведение указанной клетки в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, или его антигенсвязывающего фрагмента.

В настоящем документе термины «вводить» или «введение» относятся к инъекционному способу или другому способу физической доставки вещества (например, гуманизированного антитела против KIT, предложенного в настоящем документе, или его антигенсвязывающего фрагмента) субъекту или пациенту (например, человеку), как то доставка через слизистую оболочку, местное применение, внутрикожный, парентеральный, внутривенный, внутримышечный способ доставки и/или любой другой способ физической доставки, описанный в настоящем документе или известный в данной области техники.

В настоящем документе термины «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» относятся к количеству терапевтического средства (например, антитела или фармацевтической композиции, предложенных в

настоящем документе), которое является достаточным для снижения и/или облегчения тяжести и/или продолжительности конкретного заболевания и/или связанного с ним симптома. Эти термины также охватывают количество, необходимое для снижения, замедления или облегчения развития или прогрессирования конкретного заболевания, снижения, замедления или облегчения рецидивирования, развития или начала конкретного заболевания и/или для улучшения или усиления профилактического или терапевтического эффекта (эффектов) другого терапевтического средства (например, терапевтического средства, отличного от антитела против KIT, предложенного в настоящем документе). В некоторых воплощениях термин «эффективное количество», используемый в настоящем документе, также относится к количеству антитела, описанного в настоящем документе, необходимому для достижения определенного результата, например, снижения количества и/или активности тучных клеток, снижения количества и/или активности эозинофилов, ингибирования (например, частичного ингибирования) биологической активности KIT в отношении клетки, такого как ингибирование пролиферации клеток или выживаемости клеток, или усиления или индукции апоптоза или дифференцировки клеток и тому подобного.

В настоящем документе термины «область D4 или D5» или «домен D4/D5» относятся к области в полипептиде KIT, охватывающей четвертый Ig-подобный внеклеточный домен («D4»), пятый Ig-подобный внеклеточный домен («D5») и шарнирную область между доменами D4 и D5 («шарнирная область D4-D5») KIT в следующем порядке от аминного конца к карбоксильному концу: D4, шарнирная область D4-D5 и D5. В настоящем документе аминокислоты V308-H515, представленные на ФИГ. 1, считаются примером области или домена D4/D5.

В настоящем документе термины «KIT», или «рецептор KIT», или «полипептид KIT» относятся к любой форме полноразмерного KIT, включая, но не ограничиваясь ими, нативный KIT, изоформу KIT, межвидовой гомолог KIT или вариант KIT, например, встречающийся в природе (например, аллельный или сплайсинговый вариант, или мутант, например, соматический мутант) или искусственно сконструированный вариант (например, рекомбинантный или химически модифицированный вариант). KIT представляет собой рецепторную тирозинкиназу типа III, кодируемую геном c-kit (см., например, Yarden et al., Nature, 1986, 323:226-232; Ullrich and Schlessinger, Cell, 1990, 61 :203-212; Clifford *et al.,* J. Biol. Chem., 2003, 278:31461-31464; Yarden *et al.,* EMBO J., 1987, 6:3341-3351; Mol *et al.,* J. Biol. Chem., 2003, 278:31461-31464). Под идентификационным номером GenBank™ NM 000222

представлена иллюстративная последовательность нуклеиновой кислоты KIT человека. Под идентификационными номерами GenBank™ NP 001087241, PI 0721 и AAC50969 представлены иллюстративные аминокислотные последовательности KIT человека. Под идентификационным номером GenBank™ AAH75716 представлена иллюстративная аминокислотная последовательность KIT мыши. Нативный KIT содержит пять внеклеточных иммуноглобулин(Ig)-подобных доменов (Dl, D2, D3, D4, D5), одну трансмембранную область, ингибиторный цитоплазматический юкстамембранный домен и расщепленный цитоплазматический киназный домен, разделенный содержащим киназную вставку сегментом (см., например, Yarden *et al.*, Nature, 1986, 323:226-232; Ullrich and Schlessinger, Cell, 1990, 61 :203-212; Clifford *et al.*, J. Biol. Chem., 2003, 278:31461-31464). Иллюстративная аминокислотная последовательность области D4/D5 KIT человека представлена на ФИГ. 1 аминокислотными остатками V308-H515. В конкретном воплощении KIT представляет собой KIT человека. В конкретном воплощении KIT может существовать в виде мономера, димера, мультимера, в нативной форме или денатурированной форме.

В настоящем документе термин «в комбинации» в контексте введения других терапевтических средств относится к применению более чем одного терапевтического средства. Использование термина «в комбинации» не ограничивает порядок введения терапевтических средств. Терапевтические средства могут быть введены, например, серийно, последовательно, одновременно или совместно.

В настоящем документе термины «KIT-ассоциированное расстройство» или «KIT-ассоциированное заболевание» используются взаимозаменяемо и относятся к любому заболеванию, которое полностью или частично вызвано, ассоциировано или является результатом экспрессии и/или активности KIT или их недостаточности. Согласно одному из аспектов KIT-ассоциированное расстройство или заболевание может быть известно специалисту в данной области техники или может быть выявлено специалистом в данной области техники. В определенном воплощении KIT-ассоциированное заболевание или расстройство ассоциировано с экспрессией и/или активностью KIT. Например, экспрессия и/или активность KIT в сочетании с одним или более другими факторами (например, мутацией или экспрессией и/или активностью другого гена) могут способствовать развитию и/или прогрессированию KIT-ассоциированного заболевания или расстройства. В определенном воплощении KIT-ассоциированное заболевание или расстройство ассоциировано с одной или более мутациями KIT.

В определенных воплощениях KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство, связанное с эозинофилами расстройство, рак, астму, воспалительное состояние, ревматоидный артрит, аллергическое воспаление, воспалительное заболевание кишечника, расстройство желудочно-кишечного тракта или фиброз. В определенных воплощениях KIT-ассоциированное заболевание представляет собой фиброз или воспалительное заболевание, например, воспалительное заболевание кишечника (IBD), такое как болезнь Крона (CD) или язвенный колит (UC). В других воплощениях KIT-ассоциированное заболевание представляет собой рак, такой как рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого), лейкоз, нейробластому, меланому, саркому (например, саркому Юинга) или гастроинтестинальную стромальную опухоль (GIST). В конкретном воплощении KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство. В конкретном воплощении KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит (EoE).

В настоящем документе термины «лечить», «лечение» и «осуществление лечения» относятся к снижению или облегчению прогрессирования, тяжести и/или продолжительности KIT-ассоциированного заболевания (например, рака, воспалительного расстройства или фиброза) в результате введения одного или более терапевтических средств (включая, но не ограничиваясь им, введение одного или более профилактических или терапевтических агентов, таких как антитело, предложенное в настоящем документе).

В настоящем документе термины «сдерживать», «осуществление сдерживания» и «сдерживание» относятся к благоприятным эффектам, которые субъект получает от применения терапевтического средства (например, профилактического или терапевтического агента), которое не приводит к излечению. В определенных воплощениях субъекту вводят одно или более терапевтических средств (например, профилактических или терапевтических агентов, таких как антитело, описанное в настоящем документе) для «сдерживания» расстройства или одного или более его симптомов, чтобы предотвратить прогрессирование или ухудшение течения расстройства.

В настоящем документе термины «защищать от», «препятствовать» или «препятствование» в контексте расстройства относятся к полному или частичному ингибированию (например, менее 100%, 95%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%,

20%, 10% или 5%) или блокированию развития, рецидивирования, начала или распространения расстройства и/или связанного с ним симптома, являющемуся результатом введения терапевтического средства или комбинации терапевтических средств, предложенных в настоящем документе (например, комбинации профилактических или терапевтических агентов, таких как антитело, описанное в настоящем документе).

В настоящем документе термин «профилактический агент» относится к любому агенту, который может полностью или частично ингибировать развитие, рецидивирование, начало или распространение расстройства и/или связанного с ним симптома у субъекта. В определенных воплощениях термин «профилактический агент» относится к антителу, описанному в настоящем документе. В других определенных воплощениях термин «профилактический агент» относится к агенту, отличному от антитела, описанного в настоящем документе. В целом, профилактический агент представляет собой агент, который, как известно, пригоден для применения, или применялся ранее, или применяется в настоящее время для предупреждения расстройства и/или связанного с ним симптома, или препятствует возникновению, развитию, прогрессированию и/или тяжести расстройства и/или связанного с ним симптома. В конкретных воплощениях профилактический агент представляет собой антитело человека против KIT, такое как гуманизированное или полностью человеческое моноклональное антитело против KIT.

В настоящем документе термин «побочные эффекты» или «неблагоприятные эффекты» охватывает нежелательные и неблагоприятные эффекты терапии (например, профилактического или терапевтического агента). Нежелательные эффекты не обязательно являются неблагоприятными. Неблагоприятный эффект терапии (например, профилактического или терапевтического агента) может быть вредным, причиняющим неудобство или связанным с риском. Примеры побочных эффектов включают диарею, кашель, гастроэнтерит, хрипы, тошноту, рвоту, анорексию, спазмы в животе, лихорадку, боль, снижение массы тела, обезвоживание, алопецию, затруднение дыхания, бессонницу, головокружение, мукозит, неврологические и мышечные эффекты, утомляемость, сухость во рту и снижение аппетита, сыпь или отек в месте введения, гриппоподобные симптомы, такие как лихорадка, озноб и утомляемость, расстройства пищеварительного тракта и аллергические реакции. Дополнительные нежелательные эффекты, испытываемые пациентами, многочисленны и известны в

данной области техники. Многие из них описаны в источнике Physician's Desk Reference (71st ed., 2017).

В настоящем документе термины «субъект» и «пациент» используются взаимозаменяемо. В настоящем документе субъект представляет собой млекопитающее, такое как млекопитающее, не являющееся приматом (например, коровы, свиньи, лошади, кошки, собаки, козы, кролики, крысы, мыши и так далее), или млекопитающее, являющееся приматом (например, обезьяна и человек), например, человека. В одном из воплощений субъект представляет собой млекопитающее, например, человека, у которого диагностировано расстройство. В другом воплощении субъект представляет собой млекопитающее, например, человека, подверженного риску развития KIT-ассоциированного расстройства. В другом воплощении субъект представляет собой примата, отличного от человека. В конкретном воплощении субъект представляет собой взрослого человека. В конкретном воплощении субъект представляет собой взрослого человека в возрасте по меньшей мере 18 лет. В конкретном воплощении субъект представляет собой человека-ребенка. В конкретном воплощении субъект представляет собой человека-ребенка в возрасте от 1 года до 18 лет. В конкретном воплощении субъект представляет собой человека в возрасте от 1 года до 3 лет. В конкретном воплощении субъект представляет собой человека в возрасте от 3 лет до 12 лет или в возрасте от 12 лет до 18 лет.

В настоящем документе термины «терапевтические средства» и «терапевтическое средство» могут относиться к любому протоколу (протоколам), способу (способам), композициям, составам и/или агенту (агентам), которые могут быть применены для предупреждения, защиты от, лечения, сдерживания или облегчения состояния или расстройства, или их симптома, или одного или более ассоциированных с ними симптомов или состояний. В определенных воплощениях термины «терапевтические средства» и «терапевтическое средство» относятся к лекарственной терапии, адъювантной терапии, лучевой терапии, хирургическому вмешательству, биологической терапии, поддерживающей терапии и/или другим терапевтическим средствам, пригодным для применения для защиты от, лечения, сдерживания, предупреждения или облегчения состояния или расстройства, или одного или более их симптомов, или одного или более ассоциированных с ними симптомов или состояний. В определенных воплощениях термин «терапевтическое средство» относится к терапевтическому средству, отличному от антитела против KIT, описанного в настоящем документе, или его фармацевтической композиции. В

конкретных воплощениях термины «дополнительное терапевтическое средство» и «дополнительные терапевтические средства» относятся к терапевтическому средству, отличному от лечения с применением антитела против KIT, описанного в настоящем документе, или его фармацевтической композиции. В конкретных воплощениях терапевтическое средство включает применение антитела против KIT, описанного в настоящем документе, в качестве адъювантной терапии. Например, применение антитела против KIT, описанного в настоящем документе, в сочетании с лекарственной терапией, биологической терапией, хирургическим вмешательством и/или поддерживающей терапией.

В настоящем документе термин «терапевтический агент» относится к любому агенту, который может быть применен для защиты от, лечения, сдерживания или облегчения расстройства и/или связанного с ним симптома. В определенных воплощениях термин «терапевтический агент» относится к антителу против KIT, описанному в настоящем документе, или его антигенсвязывающему фрагменту. В других определенных воплощениях термин «терапевтический агент» относится к агенту, отличному от антитела, описанного в настоящем документе. В конкретных воплощениях терапевтический агент представляет собой агент, который, как известно, пригоден для применения, или применялся ранее, или применяется в настоящее время для защиты от расстройства или одного или более связанных с ним симптомов, лечения, сдерживания или облегчения расстройства или одного или более связанных с ним симптомов.

В настоящем описании и прилагаемой формуле изобретения определенные и неопределенные формы единственного числа включают формы множественного числа, если из контекста явно не следует иное. Термины в неопределенной форме, а также термины «один или более» и «по меньшей мере один» могут использоваться в настоящем документе взаимозаменяемо.

Очевидно, что во всех случаях, когда аспекты описаны в настоящем документе с помощью термина «содержащий», в ином случае также предусмотрены аналогичные аспекты, описанные в терминах «состоящий из» и/или «по существу состоящий из».

В настоящем документе, если не указано иное, термины «примерно» и «приблизительно» должны быть истолкованы так, чтобы допускать нормальное отклонение по оценке специалиста в данной области техники, такое как, например, отклонение в пределах 20%, или 10%, или 5%. В конкретных воплощениях термины «примерно» и «приблизительно» охватывают точное указанное значение.

5.1 Антитела

В настоящем документе предложены антитела (например, антитела против KIT), которые специфично связываются с рецептором KIT (например, внеклеточным доменом рецептора KIT человека, например, представленным в SEQ ID NO: 1 или на FIG. 1), или их антигенсвязывающий фрагмент.

Используемые в настоящем документе термины «антитело», «иммуноглобулин» и «Ig» являются терминами данной области техники и могут использоваться в настоящем документе взаимозаменяемо, они относятся к молекуле с антигенсвязывающим сайтом, который иммуноспецифично связывает антиген.

Антитела включают, например, моноклональные антитела, полученные рекомбинантным способом антитела, моноспецифические антитела, полиспецифические антитела (включая биспецифические антитела), антитела человека, гуманизированные антитела и химерные антитела. В определенных воплощениях антитела, описанные в настоящем документе, относятся к популяциям поликлональных антител. Антитела могут принадлежать к любому типу (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY), любому классу (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgAl или IgA2) или любому подклассу (например, IgG2a или IgG2b) молекул иммуноглобулинов. В определенных воплощениях антитела, описанные в настоящем документе, представляют собой антитела IgG или их класс (например, IgG1 или IgG4 человека) или подкласс.

В настоящем документе «антиген» представляет собой фрагмент или молекулу, которая содержит эпитоп и по существу также специфично связывается антителом. В конкретном воплощении антиген, с которым связывается антитело, описанное в настоящем документе, представляет собой KIT (например, KIT человека) или его фрагмент, например, внеклеточный домен KIT (например, KIT человека) или область D4 KIT (например, KIT человека).

В настоящем документе термины «антигенсвязывающий домен», «антигенсвязывающая область», «антигенсвязывающий фрагмент» и подобные термины относятся к части молекулы антитела, содержащей аминокислотные остатки, которые взаимодействуют с антигеном и придают молекуле антитела специфичность в отношении антигена (например, определяющие комплементарность области (CDR)). Антигенсвязывающая область может быть получена от любого вида животных, таких как грызуны (например, мышь, крыса или хомячок) и человек. CDR молекулы антитела могут быть определены любым способом, хорошо известным специалисту в данной

области техники. В частности, CDR могут быть определены в соответствии с системой нумерации Kabat (см. Kabat *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest. (U.S. Department of Health and Human Services, Washington, D.C.) 5th ed.). Согласно определенным аспектам CDR антитела могут быть определены в соответствии с (i) системой нумерации Chothia, что в настоящем документе обозначается как «CDR Chothia» (см., например, Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol, 196:901-917; Al-Lazikani *et al.,* 1997, J. Mol. Biol, 273:927-948; и патент США № 7,709,226); (ii) системой нумерации IMGT, например, как описано в источниках Lefranc, M.-P., 1999, The Immunological, 7: 132-136 и Lefranc, M.-P. *et al.,* 1999, Nucleic Acids Res., 27:209-212; (iii) системой нумерации AbM, например, как описано в источниках MacCallum et al., 1996, J. Mol. Biol., 262:732-745 и Martin, A., "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains," in Antibody Engineering, Kontermann and Dübel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Берлин (2001); или (iv) «контактной» системой нумерации, которая основана на анализе доступных кристаллических структур комплексов (bioinf.org.uk/abs) (см., например, MacCallum et al., (1996) J Mol Biol 5:732-745). В предпочтительных воплощениях антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе, содержит полноразмерные область или домен Fc тяжелой цепи (например, полноразмерные область или домен Fc IgG1 человека, IgG2 человека, IgG3 человека или IgG4 человека) или части области или домена Fc тяжелой цепи (например, части области или домена Fc IgG1 человека, IgG2 человека, IgG3 человека или IgG4 человека).

В настоящем документе термин «константная область» или «константный домен» относится к части антитела, например, карбоксиконцевой части легкой и/или тяжелой цепи, которая непосредственно не участвует в связывании антитела с антигеном, однако которая проявляет или вносит вклад в различные эффекторные функции, такие как взаимодействие с Fc-рецептором. Эти термины относятся к части молекулы иммуноглобулина, имеющей в целом более консервативную аминокислотную последовательность по сравнению с вариабельным доменом иммуноглобулина.

Используемый в настоящем документе термин «эпитоп» является термином данной области техники и относится к ограниченной области антигена, с которой может специфично связываться антитело. Область или полипептид, вносящие вклад в эпитоп, могут представлять собой смежные аминокислоты полипептида, или эпитоп может состоять одновременно из двух или более несмежных областей полипептида.

В настоящем документе термин «тяжелая цепь» в контексте антитела относится к любым отдельным типам, например, альфа (a), дельта (δ), эпсилон (ε), гамма (γ) и мю (μ), различающимся в зависимости от аминокислотной последовательности константного домена, что обусловливает существование классов антител IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, соответственно, включая подклассы IgG, например IgG_1, IgG_2, IgG_3 и IgG_4. В конкретном воплощении тяжелая цепь представляет собой тяжелую цепь человека.

В настоящем документе термины «иммуноспецифично связывается», «иммуноспецифично распознает», «специфично связывается» и «специфично распознает» являются аналогичными терминами в контексте антител и относятся к молекулам, которые связываются с антигеном (например, эпитопом или иммунным комплексом) таким образом, каким указанное связывание понимается специалистом в данной области. Например, молекула, которая специфично связывается с антигеном, может связываться с другими пептидами или полипептидами, как правило, с более низкой аффинностью, что определяется, например, посредством иммунологических методов анализа, с помощью приборов Biacore™, KinExA 3000 (Sapidyne Instruments, Бойсе, Айдахо), или других методов анализа, известных в данной области техники. В конкретном воплощении молекулы, которые иммуноспецифично связываются с антигеном, связываются с антигеном с K_a, которая составляет по меньшей мере 2 log, 2,5 log, 3 log, 4 log или более, чем K_a связывания указанных молекул с другим антигеном. В другом конкретном воплощении молекулы, которые иммуноспецифично связываются с антигеном, не вступают в перекрестную реакцию с другими белками. В другом конкретном воплощении молекулы, которые иммуноспецифично связываются с антигеном, не вступают в перекрестную реакцию с другими белками, не относящимися к KIT.

В настоящем документе «выделенное» или «очищенное» антитело по существу не содержит клеточного материала или других примесных белков из источника клеток или тканей, из которых получено антитело, или по существу не содержит химических предшественников или других химических веществ в случае его химического синтеза. В конкретном воплощении антитело или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, являются выделенными.

Термин «система нумерации Kabat» и подобные термины известны в данной области техники и относятся к системе нумерации аминокислотных остатков в вариабельных областях тяжелой и легкой цепей антитела или его антигенсвязывающей части (Kabat *et al.* (1971) Ann. NY Acad. Sci. 190:382-391 и Kabat *et al.* (1991) Sequences

of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). При использовании системы нумерации Kabat CDR в тяжелой цепи молекулы антитела обычно представлены в положениях аминокислот с 31 по 35 («CDR1»), положениях аминокислот с 50 по 65 («CDR2») и положениях аминокислот с 95 по 102 («CDR3»). При использовании системы нумерации Kabat CDR в легкой цепи молекулы антитела обычно представлены в положениях аминокислот с 24 по 34 (CDR1), положениях аминокислот с 50 по 56 (CDR2) и положениях аминокислот с 89 по 97 (CDR3).

В настоящем документе термин «легкая цепь» в контексте антитела относится к любым отдельным типам, например, каппа (κ) лямбда (λ), различающимся в зависимости от аминокислотной последовательности константных доменов. Аминокислотные последовательности легких цепей хорошо известны в данной области техники. В конкретном воплощении легкая цепь представляет собой легкую цепь человека.

В настоящем документе термин «моноклональное антитело» относится к антителу, полученному из популяции гомогенных или по существу гомогенных антител, и каждое моноклональное антитело, как правило, распознает один эпитоп антигена. Термин «моноклональное» не ограничивается каким-либо конкретным способом получения антитела. Как правило, популяция моноклональных антител может продуцироваться клетками, популяцией клеток или линией клеток. В конкретных воплощениях «моноклональное антитело» в настоящем документе представляет собой антитело, продуцируемое одной клеткой гибридомы или другой клеткой (например, клеткой-хозяином, продуцирующей рекомбинантное антитело), при этом указанное антитело иммуноспецифично связывается с эпитопом KIT (например, эпитопом D4 KIT человека), что определяют, например, с помощью ELISA или другого метода анализа связывания антигена или конкурентного связывания, известного в данной области техники или описанного в примерах, представленных в настоящем документе. Моноклональные антитела, описанные в настоящем документе, могут быть получены, например, с помощью гибридомной технологии, как описано в источнике Kohler et al.; Nature, 256:495 (1975), или могут быть выделены из фаговых библиотек, например, с помощью методик, описанных в настоящем документе. Другие способы получения клеточных линий клеток и экспрессируемых ими моноклональных антител хорошо известны в данной области техники (см., например, главу 11 источника: Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 5th Ed., Ausubel et al., eds., John Wiley and Sons,

New York). В конкретных воплощениях моноклональное антитело является моноспецифическим антителом в том аспекте, что его антигенсвязывающие области обладают специфичностью в отношении одного и того же эпитопа. В других конкретных воплощениях моноклональное моноспецифическое антитело может быть моновалентным (имеющим одну антигенсвязывающую область) или мультивалентным (имеющим более одной антигенсвязывающей области), например, бивалентным (имеющим две антигенсвязывающие области).

В настоящем документе термин «голое антитело» относится к антителу, которое не связано, не слито или не конъюгировано с другим агентом или молекулой (например, меткой или лекарственным средством), пептидом или полипептидом. В конкретных воплощениях «голое» антитело, экспрессируемое клеткой-хозяином млекопитающего, может быть гликозилировано с помощью механизма гликозилирования клетки-хозяина, например, ферментов гликозилирования. В определенных воплощениях «голое» антитело не гликозилировано в случае его экспрессии клеткой-хозяином, которая не имеет собственного механизма гликозилирования, например, ферментов гликозилирования. В определенных воплощениях «голое» антитело представляет собой цельную молекулу антитела, а в других воплощениях «голое» антитело представляет собой антигенсвязывающий фрагмент цельной молекулы антитела, такой как Fab-антитело.

В настоящем документе термин «поликлональные антитела» относится к популяции антител, которая включает множество различных антител, нацеленных на один и тот же эпитоп или на различные эпитопы в антигене или антигенах. Способы получения поликлональных антител известны в данной области техники (см., например, главу 11 источника: Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 5th Ed., Ausubel et al., eds., John Wiley and Sons, Нью-Йорк).

В настоящем документе термин «рекомбинантное антитело человека» включает антитела человека, которые выделены, приготовлены, экспрессированы или получены рекомбинантными способами, такие как антитела, экспрессированные с применением рекомбинантного вектора экспрессии, трансфицированного в клетку-хозяина, антитела, выделенные из рекомбинанта, комбинаторной библиотеки антител человека, антитела, выделенные от животного (например, мыши, кролика, козы или коровы), которое является трансгенными и/или трансхромосомными в отношении генов иммуноглобулина человека (см., например, Taylor, L. D. *et al*. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295), или антитела, приготовленные, экспрессированные, полученные или

выделенные любыми другими способами, которые включают получение, например, путем синтеза, генетическое конструирование последовательностей ДНК, которые кодируют последовательности иммуноглобулинов человека, или сплайсинг последовательностей, которые кодируют иммуноглобулины человека, например, последовательностей генов иммуноглобулинов человека, с другими такими последовательностями. Такие рекомбинантные антитела человека могут иметь вариабельные и константные области, полученные из последовательностей зародышевой линии иммуноглобулина человека. В определенных воплощениях аминокислотные последовательности таких рекомбинантных антител человека были модифицированы таким образом, что аминокислотные последовательности областей VH и/или VL указанных рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые, будучи полученными из последовательностей зародышевой линии VH и VL человека и родственными им, в природных условиях не существуют в репертуаре зародышевой линии антител человека *in vivo*. В качестве неограничивающего примера рекомбинантное антитело человека может быть получено путем сборки нескольких фрагментов последовательности человека с получением составной последовательности человека рекомбинантного антитела человека.

В настоящем документе термины «вариабельная область» или «вариабельный домен» относятся к части антитела, обычно части легкой или тяжелой цепи, как правило к примерно 110-120 аминоконцевым аминокислотам в зрелой тяжелой цепи и примерно 90-100 аминокислотам в зрелой легкой цепи, которые существенно различаются по последовательности среди антител и используются для связывания и специфичности конкретного антитела в отношении его конкретного антигена. Вариабельность последовательности в наибольшей степени проявляется в областях, которые называются определяющими комплементарность областями (CDR), тогда как более высококонсервативные области в вариабельном домене называются каркасными областями (FR).

Без ограничения каким-либо конкретным механизмом или теорией, полагают, что CDR легкой и тяжелой цепей в первую очередь обусловливают взаимодействие антитела с антигеном. В конкретном воплощении нумерация положений аминокислот антител, описанных в настоящем документе, осуществляется в соответствии индексом EU, как описано в источнике Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242 («Kabat *et al.*»). Согласно определенным аспектам CDR антитела могут быть

определены в соответствии с (i) системой нумерации Chothia, что в настоящем документе обозначается как «CDR Chothia» (см., например, Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol, 196:901-917; Al-Lazikani *et al.,* 1997, J. Mol. Biol, 273:927-948; и патент США № 7,709,226); (ii) системой нумерации IMGT, например, как описано в источниках Lefranc, M.-P., 1999, The Immunologist, 7:132-136 и Lefranc, M.-P. *et al.,* 1999, Nucleic Acids Res., 27:209-212; (iii) системой нумерации AbM, например, как описано в источниках MacCallum et al., 1996, J. Mol. Biol., 262:732-745 и Martin, A., "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains," in Antibody Engineering, Kontermann and Dübel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001); или (iv) «контактной» системой нумерации, которая основана на анализе доступных кристаллических структур комплексов (bioinf.org.uk/abs) (см., например, MacCallum et al., (1996) J Mol Biol 5:732-745). В определенных воплощениях вариабельная область представляет собой вариабельную область человека. В определенных воплощениях вариабельная область содержит CDR грызуна или мыши и каркасные области (FR) человека. В конкретных воплощениях вариабельная область представляет собой вариабельную область примата (например, примата, отличного от человека). В определенных воплощениях вариабельная область содержит CDR грызуна или мыши и каркасные области (FR) примата (например, примата, отличного от человека). В качестве неограничивающего примера описанная в настоящем документе вариабельная область получена путем сборки двух или более фрагментов последовательностей человека с получением составной последовательности человека.

Согласно конкретному аспекту антитела против KIT (например, гуманизированные антитела), предложенные в настоящем документе, содержат вариабельную область легкой цепи («VL»), содержащую CDR 1-3 VL, и вариабельную область тяжелой цепи («VH»), содержащую CDR 1-3 VH, представленные в таблице 1. Согласно конкретному аспекту антитела против KIT (например, гуманизированные антитела), предложенные в настоящем документе, содержат вариабельную область легкой цепи («VL»), содержащую CDR 1-3 VL, и вариабельную область тяжелой цепи («VH»), содержащую CDR 1-3 VH, представленные в таблице 2 (набор 1 или набор 2). Согласно конкретному аспекту антитела против KIT (например, гуманизированные антитела), предложенные в настоящем документе, содержат вариабельную область легкой цепи («VL»), содержащую CDR 1-3 VL, и вариабельную область тяжелой цепи («VH»), содержащую CDR 1-3 VH, представленные в таблице 3 (CDR согласно AbM или «контактные» CDR).

Согласно конкретному аспекту антитела против KIT (например, гуманизированные антитела), предложенные в настоящем документе, содержат VL, содержащую CDR 1-3 VL, представленные в таблице 1 (SEQ ID NO: 2-4), и VH, содержащую CDR 1-3 VH, представленные в таблице 1 (SEQ ID NO: 5-7). В конкретном воплощении такое антитело против KIT представляет собой «голое» антитело. В конкретном воплощении такое антитело против KIT представляет собой бивалентное моноспецифическое антитело. В конкретном воплощении такое антитело против KIT представляет собой биспецифическое антитело. В конкретном воплощении такое антитело против KIT не является биспецифическим антителом.

Таблица 1: Аминокислотные последовательности CDR

	Аминокислотная последовательность	**SEQ ID NO:**
CDR1 VL	KASQNVRTNVA	2
CDR2 VL	SASYRYS	3
CDR3 VL	QQYNSYPRT	4
CDR1 VH	DYYIN	5
CDR2 VH	RIYPGSGNTYYNEKFKG	6
CDR3 VH	GVYYFDY	7

Таблица 2: Аминокислотные последовательности CDR

	Набор 1			**Набор 2**	
	аминокислотная последовательность	**SEQ ID NO:**		**аминокислотная последовательность**	**SEQ ID NO:**
CDR1 VL	KASQNVRTNVA	2		SQNVRTN	28
CDR2 VL	SASYRYS	3		SAS	29
CDR3 VL	QQYNSYPRT	4		YNSYPR	30
CDR1 VH	GYTFTDY	25		GYTFTDY	25
CDR2 VH	YPGSGN	26		PGSG	31
CDR3 VH	GVYYFDYW	27		VYYFDY	32

Таблица 3: Аминокислотные последовательности CDR

	AbM			**Контакт**	
	аминокислотная последовательность	**SEQ ID NO:**		**аминокислотная последовательность**	**SEQ ID NO:**

CDR1 VL	KASQNVRTNVA	2		RTNVAWY	35
CDR2 VL	SASYRYS	3		ALIYSASYRY	36
CDR3 VL	QQYNSYPRT	4		QQYNSYPR	37
CDR1 VH	GYTFTDYYIN	33		TDYYIN	38
CDR2 VH	RIYPGSGNTY	34		WIARIYPGSGNTY	39
CDR3 VH	GVYYFDYW	27		ARGVYYFDY	40

В конкретном аспекте антитело против KIT (например, гуманизированное антитело), предложенное в настоящем документе, содержит:

(i) VL, содержащую аминокислотную последовательность: DIVMTQSPSX_{K1}LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX_{K2}LIYSASYRYSGVPDRFX_{K3}GSGSGTDFTLTISSLQX_{K4}EDFAX_{K5}YX_{K6}CQQYNSYPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 17), где X_{K1} - X_{K6} представляют собой любую аминокислоту; и

(ii) VH, содержащую аминокислотную последовательность:

QVQLVQSGAEX_{H1}KKPGASVKX_{H2}SCKASGYTFTDYYINWVX_{H3}QAPGKGLEWIARIYPGSGNTYYNEKFKGRX_{H4}TX_{H5}TAX_{H6}KSTSTAYMX_{H7}LSSLRSEDX_{H8}AVYFCARGVYYFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 18), где X_{H1} - X_{H8} представляют собой любую аминокислоту.

В конкретном воплощении X_{K1} представляет собой аминокислоту с ароматической или алифатической гидроксильной боковой цепью, X_{K2} представляет собой аминокислоту с алифатической или алифатической гидроксильной боковой цепью, X_{K3} представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью, X_{K4} представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью или представляет собой P, X_{K5} представляет собой аминокислоту с заряженной или кислотной боковой цепью, X_{K6} представляет собой аминокислоту с ароматической боковой цепью, X_{H1} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H2} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H3} представляет собой аминокислоту с полярной или основной боковой цепью, X_{H4} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H5} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H6} представляет собой аминокислоту с кислотной боковой цепью, X_{H7} представляет собой аминокислоту с кислотной или амидной дериватизированной боковой цепью, X_{H8} представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью.

В определенном воплощении X_{K1} представляет собой аминокислоту F или S, X_{K2} представляет собой аминокислоту A или S, X_{K3} представляет собой аминокислоту T или S, X_{K4} представляет собой аминокислоту S или P, X_{K5} представляет собой аминокислоту D или T, X_{K6} представляет собой аминокислоту F или Y, X_{H1} представляет собой аминокислоту L или V, X_{H2} представляет собой аминокислоту L или V, X_{H3} представляет собой аминокислоту K или R, X_{H4} представляет собой аминокислоту V или A, X_{H5} представляет собой аминокислоту L или I, X_{H6} представляет собой аминокислоту E или D, X_{H7} представляет собой аминокислоту Q или E, и X_{H8} представляет собой аминокислоту S или T.

В конкретном аспекте антитело к KIT (например, гуманизированное антитело), предложенное в настоящем документе, содержит:

(i) VL, содержащую аминокислотную последовательность: DIVMTQSPSX_{K1}LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX_{K2}LIYSASYRYSGVPDRFX_{K3}GSGSGTDFTLTISSLQX_{K4}EDFAX_{K5}YX_{K6}CQQYNSYPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 17), где X_{K1} - X_{K6} представляют собой любую аминокислоту; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7, соответственно.

В конкретном воплощении X_{K1} представляет собой аминокислоту с ароматической или алифатической гидроксильной боковой цепью, X_{K2} представляет собой аминокислоту с алифатической или алифатической гидроксильной боковой цепью, X_{K3} представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью, X_{K4} представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью или представляет собой P, X_{K5} представляет собой аминокислоту с заряженной или кислотной боковой цепью, и X_{K6} представляет собой аминокислоту с ароматической боковой цепью.

В определенном воплощении X_{K1} представляет собой аминокислоту F или S, X_{K2} представляет собой аминокислоту A или S, X_{K3} представляет собой аминокислоту T или S, X_{K4} представляет собой аминокислоту S или P, X_{K5} представляет собой аминокислоту D или T, и X_{K6} представляет собой аминокислоту F или Y.

В конкретном аспекте антитело против KIT (например, гуманизированное антитело), предложенное в настоящем документе, содержит:

(i) VL, содержащую а CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и

(ii) VH, содержащую аминокислотную последовательность: QVQLVQSGAEX_{H1}KKPGASVKX_{H2}SCKASGYTFTDYYINWVX_{H3}QAPGKGLEWIARIYPGSGNTYYNEKFKGRX_{H4}TX_{H5}TAX_{H6}KSTSTAYMX_{H7}LSSLRSEDX_{H8}AVYFCARGVYYFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 18), где X_{H1} - X_{H8} представляет собой любую аминокислоту.

В конкретном воплощении X_{H1} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H2} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H3} представляет собой аминокислоту с полярной или основной боковой цепью, X_{H4} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H5} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H6} представляет собой аминокислоту с кислотной боковой цепью, X_{H7} представляет собой аминокислоту с кислотной или амидной дериватизированной боковой цепью, X_{H8} представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью.

В определенном воплощении X_{H1} представляет собой аминокислоту L или V, X_{H2} представляет собой аминокислоту L или V, X_{H3} представляет собой аминокислоту K или R, X_{H4} представляет собой аминокислоту V или A, X_{H5} представляет собой аминокислоту L или I, X_{H6} представляет собой аминокислоту E или D, X_{H7} представляет собой аминокислоту Q или E, и X_{H8} представляет собой аминокислоту S или T.

В конкретном аспекте антитела против KIT (например, гуманизированные антитела), предложенные в настоящем документе, содержат вариабельную область тяжелой цепи («VH»), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей, представленных в таблице 4 (SEQ ID NO: 8-12), и/или вариабельную область легкой цепи («VL»), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из таблицы 5 (SEQ ID NO: 13-16). В конкретном воплощении такое антитело против KIT представляет собой «голое» антитело. В определенном воплощении такое антитело против KIT представляет собой бивалентное моноспецифическое антитело. В определенном воплощении такое антитело против KIT представляет собой биспецифическое антитело. В определенном воплощении такое антитело против KIT не является биспецифическим антителом.

Таблица 4: Аминокислотная последовательность VH

	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO:
VH1	Q V Q L V Q S G A E L K K P G A S V K L S C K A S G Y T F T D Y YI N W V K Q A P G K G L E W I A R I Y P G S G N T Y Y N E K F K G RA T L T A E K S T S T A Y M Q L S S L R S E D S A V Y F C A R G V Y Y F D Y W G Q G T T V T V S S	8
VH2	Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K L S C K A S G Y T F T D Y YI N W V K Q A P G K G L E W I A R I Y P G S G N T Y Y N E K F K G RA T L T A E K S T S T A Y M Q L S S L R S E D T A V Y F C A R G V Y Y F D Y W G Q G T T V T V S S	9
VH3	Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K L S C K A S G Y T F T D Y YIN W V R Q A P G K G L E W I A R I Y P G S G N T Y Y N E K F K G RA T L T A D K S T S T A Y M Q L S S L R S E D T A V Y F C A R G V Y Y F D Y W G Q G T T V T V S S	10
VH4	Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T D Y Y I N W V R Q A P G K G L E W I A R I Y P G S G N T Y Y N E K F K G RA T I T A D K S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y F C A R G V Y Y F D Y W G Q G T T V T V S S	11
VH5	Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T D Y Y I N W V R Q A P G K G L E W I A R I Y P G S G N T Y Y N E K F K G RV T I T A D K S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y F C A R G V Y Y F D Y W G Q G T T V T V S S	12

Таблица 5: Аминокислотная последовательность VL

	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO:
VL1	D I V M T Q S P S F L S A S V G D R V T I T C K A S Q N V R T N V A W Y Q Q K P G K A P K A L I Y S A S Y R Y S G V P D R F T G S G S G T D F T L T I S S L Q S E D F A D Y F C Q Q Y N S Y P R T F G G G T K V E I K	13
VL2	D I V M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q N V R T N V A W Y Q Q K P G K A P K A L I Y S A S Y R Y S G V P D R F T G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A D Y F C Q Q Y N S Y P R T F G G G T K V E I K	14
VL3	D I V M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q N V R	15

	T N V A W Y Q Q K P G K A P K A L I Y S A S Y R Y S G V P D R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A D Y F C Q Q Y N S Y P R T F G G G T K V E I K	
VL4	D I V M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q N V R T N V A W Y Q Q K P G K A P K S L I Y S A S Y R Y S G V P D R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q Y N S Y P R T F G G G T K V E I K	16

В конкретном аспекте антитела против KIT (например, гуманизированные антитела), предложенные в настоящем документе, содержат VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13. В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14. В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15. В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16.

В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13. В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14. В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15. В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16.

В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13. В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14. В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14. В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15. В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16.

В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13. В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14. В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15. В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16.

В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13. В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14. В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит

VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15. В одном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем документе, содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и/или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16.

В конкретном аспекте антитела против KIT (например, гуманизированные антитела), предложенные в настоящем документе, содержат:

(i) VL, содержащую аминокислотную последовательность, которая: по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 13, по меньшей мере на 88% идентична SEQ ID NO: 14, по меньшей мере на 87% идентична SEQ ID NO: 15, или по меньшей мере на 84% идентична SEQ ID NO: 16; и

(ii) VH, содержащую аминокислотную последовательность, которая: по меньшей мере на 93% идентична SEQ ID NO: 8, по меньшей мере на 92% идентична SEQ ID NO: 9, по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 10, по меньшей мере на 87% идентична SEQ ID NO: 11 или по меньшей мере на 86% идентична SEQ ID NO: 12.

Было обнаружено, что предшествующие антитела против KIT индуцируют дегрануляцию FcgRI-экспрессирующих тучных клеток человека и/или демонстрируют Fc-рецептор-зависимую агонистическую активность KIT, которая может вызывать связанные с инфузией нежелательные реакции (IRR), в числе других неблагоприятных эффектов.

В различных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, содержат модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc (например, модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG человека, такую как модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 IgG2, IgG3 или IgG4человека). Предпочтительно, антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, обладают сниженной активностью связывания с Fc-рецептором (в частности, сниженной активностью связывания FcγR), не индуцируют дегрануляцию экспрессирующих FcgRI тучных клеток человека и/или проявляют Fc-рецептор-зависимую агонистическая активность KIT. В некоторых воплощениях одно или более из этих свойств антитела против KIT или антигенсвязывающего фрагмента обусловлены модифицированными (например, мутированными) областью или доменом Fc.

В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, обладают сниженной активностью связывания с Fc-рецептором (в частности, сниженной активностью связывания FcγR). В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, не обладают значительной активностью связывания с Fc-рецептором (в частности, FcγR). В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, не обладают обнаруживаемой активностью связывания с Fc-рецептором (в частности, FcγR). В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, обладают по меньшей мере на 10% меньшей, по меньшей мере на 20% меньшей, по меньшей мере на 30% меньшей, по меньшей мере на 40% меньшей, по меньшей мере на 50% меньшей, по меньшей мере на 60% меньшей, по меньшей мере на 70% меньшей, по меньшей мере на 80% меньшей, по меньшей мере на 90% меньшей, по меньшей мере на 95% меньшей или по меньшей мере на 99% меньшей активностью связывания с Fc-рецептором (в частности, FcγR) по сравнению с соответствующим контрольным антителом или антигенсвязывающим фрагментом. Когда антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, содержат модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc (например, модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG человека, такую как модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека, в предпочтительных воплощениях подходящее контрольное антитело или антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент, содержащие те же VH и VL, но с областью или доменом Fc дикого типа (немодифицированным) того же изотипа. В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, содержат модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека и обладают по меньшей мере на 10% меньшей, по меньшей мере на 20% меньшей, по меньшей мере на 30% меньшей, по меньшей мере на 40% меньшей, по меньшей мере на 50% меньшей, по меньшей мере на 60% меньшей, по меньшей мере на 70% меньшей, по меньшей мере на 80% меньшей, по меньшей мере на 90% меньшей, по меньшей мере на 95% меньшей или по меньшей мере на 99% меньшей активностью связывания с Fc-рецептором (в частности, FcγR) по сравнению с соответствующим

антителом или антигенсвязывающим фрагментом, имеющим те же VH и VL, но с областью или доменом Fc IgG1 человека дикого типа (немодифицированными).

В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, не индуцируют существенной дегрануляции FcgRI-экспрессирующих тучных клеток человека (например, что определяют, например, по % высвобождения бета-гексозаминидазы из тучных клеток человека) в культуре (например, в присутствии гамма-интерферона)). В конкретных вовоплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, не индуцируют обнаруживаемой дегрануляции экспрессирующих FcgRI тучных клеток человека (например, что определяют, например, по % высвобождения бета-гексозаминидазы из тучных клеток человека в культуре (например, в присутствии IFN-гамма)). В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, индуцируют по меньшей мере на 10% менее, по меньшей мере на 20% менее, по меньшей мере на 30% менее, по меньшей мере на 40% менее, по меньшей мере на 50% менее, по меньшей мере на 60% менее, по меньшей мере на 70% менее, по меньшей мере на 80% менее, по меньшей мере на 90% менее, по меньшей мере на 95% менее или по меньшей мере на 99% менее дегрануляции экспрессирующих FcgRI тучных клеток человека (например, что определяют, например, с помощью % высвобождения бета-гексозаминидазы из тучных клеток человека в культуре (например, в присутствии IFN-гамма)) по сравнению с соответствующим контрольным антителом или антигенсвязывающим фрагментом. В конкретных воплощениях высвобождение бета-гексозаминидазы из тучных клеток человека в культуре в присутствии IFN-гамма снижается более чем на 50% при использовании антитела против KIT или антигенсвязывающего фрагмента, описанных в настоящем документе, по сравнению с подходящим контрольным антителом или антигенсвязывающим фрагментом. В конкретных воплощениях высвобождение бета-гексозаминидазы из тучных клеток человека в культуре в присутствии гамма-интерферона снижается более чем на 60%, более чем 70% или более чем 80% с помощью антитела против KIT или антигенсвязывающего фрагмента, описанных в настоящем документе, по сравнению с соответствующим контрольным антителом или антигенсвязывающим фрагментом. Когда антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, содержат модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc (например, модифицированные (например, мутированные)

область или домен Fc IgG человека, такую как модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека), в предпочтительных воплощениях подходящее контрольное антитело или антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент, содержащее те же VH и VL, но с областью или доменом Fc дикого типа (немодифицированными) того же изотипа. В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, содержат модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG человека1 и индуцируют по меньшей мере на 10% менее, по меньшей мере на 20% менее, по меньшей мере на 30% менее, по меньшей мере на 40% менее, по меньшей мере на 50% менее, по меньшей мере на 60% менее, по меньшей мере на 70% менее, по меньшей мере на 80% менее, по меньшей мере на 90% менее, по меньшей мере на 95% менее или по меньшей мере на 99% менее дегрануляции FcgRI -экспрессирующих тучных клеток человека (например, определяемых, например, по % высвобождения бета-гексозаминидазы из тучных клеток человека в культуре (например, в присутствии IFN-гамма)) по сравнению с соответствующим антителом или антигенсвязывающим фрагментом, имеющим тот же VH и VL, но с областью или доменом Fc IgG1 человека дикого типа (немодифицированными). В конкретных воплощениях высвобождение бета-гексозаминидазы из тучных клеток человека в культуре в присутствии IFN-гамма снижается более чем на 50% с помощью антитела против KIT или антигенсвязывающего фрагмента, описанных в настоящем документе, которые содержат модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека по сравнению с соответствующим антителом или антигенсвязывающим фрагментом, имеющим те же VH и VL, но с областью или доменом Fc IgG1 человека дикого типа (немодифицированными). В конкретных воплощениях высвобождение бета-гексозаминидазы из тучных клеток человека в культуре в присутствии гамма-интерферона снижается более чем на 60%, более чем 70% или более чем 80% с помощью антитела против KIT или антигенсвязывающего фрагмента, описанных в настоящем документе, которые содержат модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека по сравнению с соответствующим антителом или антигенсвязывающим фрагментом, имеющим те же VH и VL, но с областью или доменом Fc IgG1 человека дикого типа (немодифицированными).

В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, не проявляют существенной Fc-

рецептор-зависимой агонистической активности в отношении KIT (например, что определяют, например, фосфорилированием KIT). В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, не проявляют обнаруживаемой Fc-рецептор-зависимой агонистической активности в отношении KIT (например, что определяют, например, фосфорилированием KIT). В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, индуцируют по меньшей мере на 10% менее, по меньшей мере на 20% менее, по меньшей мере на 30% менее, по меньшей мере на 40% менее, по меньшей мере на 50% менее, по меньшей мере на 60% менее, по меньшей мере на 70% менее, по меньшей мере на 80% менее, по меньшей мере на 90% менее, по меньшей мере на 95% менее или по меньшей мере на 99% менее Fc-зависимой активности в отношении KIT (например, что определяют, например, фосфорилированием KIT) по сравнению с соответствующим контрольным антителом или антигенсвязывающим фрагментом. В конкретных воплощениях Fc-рецептор-зависимая агонистическая активность KIT (определенная фосфорилированием KIT со сшитыми Fc-рецепторами), снижается более чем на 50% при использовании антитела против KIT или антигенсвязывающего фрагмента, описанных в настоящем документе, по сравнению с соответствующим контрольным антителом или антигенсвязывающим фрагментом. В конкретных воплощениях Fc-рецептор-зависимая агонистическая активность KIT (определенная фосфорилированием KIT со сшитыми Fc-рецепторами), снижается более чем на 60%, более чем на 70% или более чем на 80% с помощью антитела против KIT или антигенсвязывающего фрагмента, описанных в настоящем документе, по сравнению с подходящим контрольным антителом или антигенсвязывающим фрагментом. Когда антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, содержат модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc (например, модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG человека, такую как модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека), в предпочтительных воплощениях подходящее контрольное антитело или антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент, имеющие те же VH и VL, но с областью или доменом Fc дикого типа (немодифицированными) того же изотипа. В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, содержат модифицированные (например, мутированные)

область или домен Fc IgG1 человека и индуцируют по меньшей мере на 10% меньше, по меньшей мере на 20% меньше, по меньшей мере на 30% меньше, по меньшей мере на 40% меньше, по меньшей мере на 50% меньше, по меньшей мере на 60% меньше, по меньшей мере на 70% меньше, по меньшей мере на 80% меньше, по меньшей мере на 90% меньше, по меньшей мере на 95% меньше или по меньшей мере на 99% меньше Fc-рецептор-зависимой активности в отношении KIT (например, определенной, например, фосфорилированием KIT) по сравнению с соответствующим антителом или антигенсвязывающим фрагментом, имеющим те же VH и VL, но с областью или доменом Fc IgG1 человека дикого типа (немодифицированными). В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, не проявляют существенной или обнаруживаемой Fc-рецептор-зависимой агонистической активности в отношении KIT, как описано в настоящем документе, даже при перекрестном сшивании на клетках THP-1. В конкретных воплощениях Fc-рецептор-зависимая агонистическая активность KIT (определенная фосфорилированием KIT со сшитыми Fc-рецепторами), снижается более чем на 50% с помощью антитела против KIT или антигенсвязывающего фрагмента, описанных в настоящем документе, которые содержат модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека по сравнению с соответствующим антителом или антигенсвязывающим фрагментом, имеющим те же VH и VL, но с областью или доменом Fc IgG1 человека дикого типа (немодифицированными). В конкретных воплощениях Fc-рецептор-зависимая агонистическая активность KIT (определенная фосфорилированием KIT со сшитыми Fc-рецепторами), снижается более чем на 60%, более чем 70% или более чем 80% с помощью антитела против KIT или антигенсвязывающего фрагмента, описанных в настоящем документе, которые содержат модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека по сравнению с соответствующим антителом или антигенсвязывающим фрагментом, имеющим те же VH и VL, но с областью или доменом Fc IgG1 человека дикого типа (немодифицированными).

В различных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе (1) снижают активность заболевания у пациента с CIndU (например, пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к лечению антигистаминными агентами), (2) уменьшает количество тучных клеток кожи у пациента с CIndU (например, у пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к лечению антигистаминными агентами), (3) снижает уровень триптазы у пациента с

CIndU (например, у пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к лечению антигистаминными агентами), (4) улучшает контроль крапивницы у пациента с CIndU (например, пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к антигистаминной терапии), (5) улучшает качество жизни пациента с CIndU (например, пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к антигистаминному лечению) и/или (6) поддерживает гематологические параметры (такие как уровень гемоглобина (HgB), количество лейкоцитов (WBC), количество тромбоцитов и/или абсолютное количество нейтрофилов (ANC)) у пациента, такого как пациент с CIndU (например, пациент с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к лечению антигистаминными агентами) в пределах нормы.

В некоторых воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, могут существенно снизить пороговое значение критической температуры в TempTest® для пациента с CIndU (например, пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к лечению антигистаминными агентами), относительно значения до лечения. В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, могут снизить пороговое значение критической температуры в TempTest® для пациента с CIndU (например, пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к лечению антигистаминными агентами) по меньшей мере на 5°C, по меньшей мере на 6°C, по меньшей мере на 7°C, по меньшей мере на 8°C, по меньшей мере на 9°C, по меньшей мере на 10°C, по меньшей мере на 11°C, по меньшей мере на 12°C, по меньшей мере на 13°C, по меньшей мере на 14°C, по меньшей мере на 15°C, по меньшей мере на 16°C, по меньшей мере на 17°C, по меньшей мере на 18°C, по меньшей мере на 19°C или по меньшей мере на 20°C (например, через неделю, через 2 недели, через 4 недели, через 6 недель, через 8 недель, через 10 недель или через 12 недель после лечения антителом против KIT или антигенсвязывающим фрагментом) относительно значения до лечения. В конкретных вариантах реализации эффект антитела против KIT или антигенсвязывающего фрагмента сохраняется в течение по меньшей мере 2 недель, по меньшей мере 4 недель, по меньшей мере 6 недель, по меньшей мере 8 недель, по меньшей мере 10 недель или по меньшей мере 12 недель.

В некоторых воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, могут существенно уменьшить количество контактов (pin number) в тесте FricTest® для пациента с CIndU (например, пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к лечению антигистаминными

агентами) по сравнению с количеством контактов перед лечением. В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, могут уменьшить количество контактов в тесте FricTest® для пациента с CIndU (например, пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к лечению антигистаминными агентами) по меньшей мере на 1, по меньшей мере на 2, по меньшей мере нан 3 или по меньшей мере на 4 (например, через неделю, через 2 недели, через 4 недели, через 6 недель, через 8 недель, через 10 недель или через 12 недель после лечения антителом против KIT или антигенсвязывающим фрагментом) по сравнению с количеством контактов перед лечением. В конкретных воплощениях действие антитела против KIT или антигенсвязывающего фрагмента сохраняется в течение по меньшей мере 2 недель, по меньшей мере 4 недель, по меньшей мере 6 недель, по меньшей мере 8 недель, по меньшей мере 10 недель или по меньшей мере 12 недель.

В некоторых воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, могут существенно улучшить общую оценку врача (Phys-GA) и/или общую оценку пациента (Pat-GA) относительно уровня до лечения. В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, могут улучшить общую оценку врача (Phys-GA) и/или общую оценку пациента (Pat-GA) за счет уменьшения шкалы Лайкерта (от 0 до 3, где 0 означает нет и 3 означает серьезное) по меньшей мере на 0,2, по меньшей мере на 0,3, по меньшей мере на 0,4, по меньшей мере на 0,5, по меньшей мере на 0,6, по меньшей мере на 0,7, по меньшей мере на 0,8, по меньшей мере на 0,9, по меньшей мере на 1,0, по меньшей мере на 1,1, по меньшей мере на 1,2 или по меньшей мере на 1,3 (например, через неделю, через 2 недели, через 4 недели, через 6 недель, через 8 недель, через 10 недель или через 12 недель после лечения антителом против KIT или антигенсвязывающим фрагментом), относительно уровня до лечения. В конкретных воплощениях действие антитела против KIT или антигенсвязывающего фрагмента сохраняется в течение по меньшей мере 2 недель, по меньшей мере 4 недель, по меньшей мере 6 недель, по меньшей мере 8 недель, по меньшей мере 10 недель или по меньшей мере 12 недель.

В некоторых воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, могут существенно снизить количество тучных клеток кожи у пациента с CIndU (например, у пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к лечению антигистаминными агентами) по сравнению с их

количеством до лечения. В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, могут снижать количество тучных клеток кожи у пациента с CIndU (например, пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к лечению антигистаминными агентами) по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере 60% или по меньшей мере 80% (например, через неделю, через 2 недели, через 4 недели, через 6 недель, через 8 недель, через 10 недель или через 12 недель после лечения антителом против KIT или антигенсвязывающим фрагментом), относительно количества до лечения. В конкретных воплощениях действие антитела против KIT или антигенсвязывающего фрагмента сохраняется в течение по меньшей мере 2 недель, по меньшей мере 4 недель, по меньшей мере 6 недель, по меньшей мере 8 недель, по меньшей мере 10 недель или по меньшей мере 12 недель.

В некоторых воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, могут существенно снижать уровень триптазы в сыворотке у пациента с CIndU (например, у пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к лечению антигистаминными агентами) относительно уровня до лечения. В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, могут снижать уровень триптазы в сыворотке у пациента с CIndU (например, пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к лечению антигистаминными агентами) по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 70% или на по меньшей мере 90% (например, через неделю, через 2 недели, через 4 недели, через 6 недель, через 8 недель, через 10 недель или через 12 недель после лечения антителом против KIT или антигенсвязывающим фрагментом) относительно уровеня до лечения. В конкретных воплощениях действие антитела против KIT или антигенсвязывающего фрагмента сохраняется в течение по меньшей мере 2 недель, по меньшей мере 4 недель, по меньшей мере 6 недель, по меньшей мере 8 недель, по меньшей мере 10 недель или по меньшей мере 12 недель.

В некоторых воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, могут существенно улучшить контроль крапивницы у пациента с CIndU (например, пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к лечению антигистаминными агентами) по сравнению с уровнем до лечения. В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, могут улучшить контроль крапивницы у пациента с CIndU (например, у пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к

лечению антигистаминными агентами) путем увеличения балла теста на контроль крапивницы (UCT) по меньшей мере на 2, по меньшей мере на 3, по меньшей мере на 4, по меньшей мере на 5, по меньшей мере на 6, по меньшей мере на 7, по меньшей мере на 8, по меньшей мере на 9, по меньшей мере на 10, по меньшей мере на 11, по меньшей мере на 12, по меньшей мере на 13, по меньшей мере на 14, по меньшей мере 15 или на 16, или путем увеличения балла UCT по меньшей мере до 12, по меньшей мере до 13, по меньшей мере до 14, по меньшей мере до 15 или до 16 (например, через неделю, через 2 недели, через 4 недели, через 6 недель, через 8 недель, через 10 недель или через 12 недель после лечения антителом против KIT или антигенсвязывающим фрагментом) относительно уровня до лечения. В конкретных воплощениях действие антитела против KIT или антигенсвязывающего фрагмента сохраняется в течение по меньшей мере 2 недель, по меньшей мере 4 недель, по меньшей мере 6 недель, по меньшей мере 8 недель, по меньшей мере 10 недель или по меньшей мере 12 недель.

В некоторых воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, могут существенно улучшить качество жизни пациента с CIndU (например, пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к лечению антигистаминными агентами) по сравнению с уровнем до лечения. В конкретных воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, могут улучшить качество жизни пациента с CIndU (например, пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к лечению антигистаминными агентами) путем снижения дерматологического индекса качества жизни (DLQI) по меньшей мере на 2, по меньшей мере на 3, по меньшей мере на 4, по меньшей мере на 5, по меньшей мере на 6, по меньшей мере на 7, по меньшей мере на 8, по меньшей мере на 9, по меньшей мере на 10, по меньшей мере на 12, по меньшей мере на 14, по меньшей мере на 16, по меньшей мере на 18, по меньшей мере 20, или по меньшей мере на 25, или уменьшив DLQI максимум до 5, максимум до 4, максимум до 3, максимум до 2, максимум до 1 или до 0 (например, через неделю, через 2 недели, через 4 недели, через 6 недель, через 8 недель, через 10 недель или через 12 недель после лечения антителом против KIT или антигенсвязывающим фрагментом) по сравнению с уровнем до лечения. В конкретных воплощениях действие антитела против KIT или антигенсвязывающего фрагмента сохраняется в течение по меньшей мере 2 недель, по меньшей мере 4 недель, по меньшей мере 6 недель, по меньшей мере 8 недель, по меньшей мере 10 недель или по меньшей мере 12 недель.

В некоторых воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, поддерживают гематологические параметры (такие как уровень гемоглобина (HgB), количество лейкоцитов (WBC), количество тромбоцитов и/или абсолютное количество нейтрофилов (ANC)) у пациента в пределах нормы. В некоторых воплощениях антитело против KIT или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, поддерживают гематологические параметры (такие как уровень гемоглобина (HgB), количество лейкоцитов (WBC), количество тромбоцитов и/или абсолютное количество нейтрофилов (ANC)) у пациента с CIndU (например, пациента с CIndU, у которого CIndU невосприимчива к лечению антигистаминными агентами) в пределах нормы. В конкретных воплощениях гематологические параметры сохраняются в течение по меньшей мере 2 недель, по меньшей мере 4 недель, по меньшей мере 6 недель, по меньшей мере 8 недель, по меньшей мере 10 недель или по меньшей мере 12 недель.

В различных воплощениях антитело против KIT, описанное в настоящем документе, обладает одним или несколькими свойствами, описанными в настоящем документе. В различных воплощениях антигенсвязывающий фрагмент антитела против KIT, описанного в настоящем документе, обладает одним или несколькими свойствами, описанными в настоящем документе.

В конкретных воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, содержит модифицированные область или домен Fc, причем область или домен Fc содержат по меньшей мере одну (например, одну, две, три, четыре, пять или шесть) модификации аминокислот (например, замену, делецию или добавление) или по меньшей мере один (например, один, два, три, четыре, пять или шесть) аминокислотный остаток неприродного происхождения.

В конкретном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, содержит модифицированные область или домен Fc, где указанная область или домен Fc представляют собой область или домен Fc IgG1 человека и содержат по меньшей мере одну (например, один, два, три, четыре, пять или шесть) аминокислотную модификацию (например, замену, делецию или добавление) или по меньшей мере один (например, один, два, три, четыре, пять или шесть) аминокислотный остаток неприродного происхождения, выбранный из группы, состоящей из 234A, 234D, 234E, 234N, 234Q, 234T, 234H, 234Y, 234I, 234V, 234F, 235A, 235D, 235R, 235W, 235P, 235S, 235N, 235Q, 235T, 235H, 235Y, 235I, 235V, 235F, 236E, 239D, 239E, 239N, 239Q, 239F, 239T, 239H, 239Y, 240I, 240A, 240T, 240M, 241W, 241L, 241Y, 241E, 241R. 243W, 243L

243Y, 243R, 243Q, 244H, 245A, 247V, 247G, 252Y, 254T, 256E, 2621, 262A, 262T, 262E, 2631, 263A, 263T, 263M, 264L, 2641, 264W, 264T, 264R, 264F, 264M, 264Y, 264E, 265G, 265N, 265Q, 265Y, 265F, 265V, 2651, 265L, 265H, 265T, 2661, 266A, 266T, 266M, 267Q, 267L, 269H, 269Y, 269F, 269R, 296E, 296Q, 296D, 296N, 296S, 296T, 296L, 296I, 296H, 269G, 297S, 297D, 297E, 298H, 298I, 298T, 298F, 299I, 299L, 299A, 299S, 299V, 299H, 299F, 299E, 313F, 322Q, 325Q, 325L, 325I, 325D, 325E, 325A, 325T, 325V, 325H, 327G, 327W, 327N, 327L, 328S, 328M, 328D, 328E, 328N, 328Q, 328F, 3281, 328V, 328T, 328H, 328A, 329F, 329H, 329Q, 330K, 330G, 330T, 330C, 330L, 330Y, 330V, 3301, 330F, 330R, 330H, 332D, 332S, 332W, 332F, 332E, 332N, 332Q, 332T, 332H, 332Y и 332A, пронумерованные по индексу ЕС, указанному в Kabat. Возможно, область или домен Fc могут содержать дополнительные и/или альтернативные аминокислотные остатки неприродного происхождения, известные специалисту в данной области техники (см., например, патенты США 5624821; 6277375; 6737056; патентные публикации PCT WO 01/58957; WO 04/016750; WO 04/029207; WO 04/035752 и WO 05/040217). В конкретном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, содержит модифицированные область или домен Fc, где указанные область или домен Fc представляют собой область или домен Fc IgG2 человека и содержат по меньшей мере одну (например, одну, две, три, четыре, пять или шесть) модификацию аминокислот (например, замену, делецию или добавление) или по меньшей мере один (например, один, два, три, четыре, пять или шесть) аминокислотный остаток неприродного происхождения, которые эквивалентны аминокислотному остатку (-ам), описанным в настоящем документе для области или домена Fc IgG1 человека, что может определить специалист в данной области техники. В конкретном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, содержит модифицированные область или домен Fc, где указанные область или домен Fc представляют собой область или домен Fc IgG3 человека и содержат по меньшей мере одну (например, одну, две, три, четыре, пять или шесть) модификацию аминокислот (например, замену, делецию или добавление) или по меньшей мере один (например, один, два, три, четыре, пять или шесть) аминокислотный остаток неприродного происхождения, которые эквивалентны аминокислотному остатку(ам), описанным в настоящем документе для области или домена Fc IgG1 человека, что может определить специалист в данной области техники. В конкретном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, содержит модифицированные область или домен Fc, где указанные область или домен Fc представляют собой область или домен Fc IgG4 человека и содержат по меньшей мере

одну (например, одну, две, три, четыре, пять или шесть) модификацию аминокислот (например, замену, делецию или добавление) или по меньшей мере один (например, один, два, три, четыре, пять или шесть) аминокислотный остаток неприродного происхождения, которые эквивалентны аминокислотному остатку(ам), описанным в настоящем документе для области или домена Fc IgG1 человека, что может определить специалист в данной области техники.

В конкретном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, содержит модифицированные область или домен Fc, где указанные область или домен Fc представляют собой область или домен Fc IgG1 человека и содержат по меньшей мере одну (например, один, два, три, четыре, пять или шесть) аминокислотных модификаций (например, замену, делецию или добавление) или по меньшей мере один (например, один, два, три, четыре, пять или шесть) аминокислотных остатков неприродного происхождения, выбранных из группы, состоящей из 234A, 234D, 234E, 234N, 234Q, 234T, 234H, 234Y, 234I, 234V, 234F, 235A, 235D, 235R, 235W, 235P, 235S, 235N, 235Q, 235T, 235H, 235Y, 235I, 235V, 235F, 236E, 239D, 239E, 239N, 239Q, 239F, 239T, 239H, 239Y, 240I, 240A, 240T, 240M, 241W, 241L, 241Y, 241E, 241R. 243W, 243L 243Y, 243R, 243Q, 244H, 245A, 247V, 247G, 252Y, 254T, 256E, 2621, 262A, 262T, 262E, 2631, 263A, 263T, 263M, 264L, 2641, 264W, 264T, 264R, 264F, 264M, 264Y, 264E, 265G, 265N, 265Q, 265Y, 265F, 265V, 2651, 265L, 265H, 265T, 2661, 266A, 266T, 266M, 267Q, 267L, 269H, 269Y, 269F, 269R, 296E, 296Q, 296D, 296N, 296S, 296T, 296L, 296I, 296H, 269G, 297S, 297D, 297E, 298H, 298I, 298T, 298F, 299I, 299L, 299A, 299S, 299V, 299H, 299F, 299E, 313F, 322Q, 325Q, 325L, 325I, 325D, 325E, 325A, 325T, 325V, 325H, 327G, 327W, 327N, 327L, 328S, 328M, 328D, 328E, 328N, 328Q, 328F, 3281, 328V, 328T, 328H, 328A, 329F, 329H, 329Q, 330K, 330G, 330T, 330C, 330L, 330Y, 330V, 3301, 330F, 330R, 330H, 332D, 332S, 332W, 332F, 332E, 332N, 332Q, 332T, 332H, 332Y и 332A, пронумерованные по индексу EC, указанному в Kabat. Возможно, область или домен Fc могут содержать дополнительные и/или альтернативные аминокислотные остатки неприродного происхождения, известные специалисту в данной области техники (см., например, патенты США 5624821; 6277375; 6737056; патентные публикации PCT WO 01/58957; WO 04/016750; WO 04/029207; WO 04/035752 и WO 05/040217). В конкретном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, содержит модифицированные область или домен Fc, где указанные область или домен Fc представляют собой область или домен Fc IgG2 человека и содержат по меньшей мере одну (например, одну, две, три, четыре, пять или шесть) модификацию аминокислот

(например, замену, делецию или добавление) или по меньшей мере один (например, один, два, три, четыре, пять или шесть) аминокислотный остаток неприродного происхождения, которые эквивалентны аминокислотному остатку(ам), описанным в настоящем документе для области или домена Fc IgG1 человека, что может определить специалист в данной области техники. В конкретном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, содержит модифицированные область или домен Fc, где указанные область или домен Fc представляют собой область или домен Fc IgG3 человека и содержат по меньшей мере одну (например, одну, две, три, четыре, пять или шесть) модификацию аминокислот (например, замену, делецию или добавление) или по меньшей мере один (например, один, два, три, четыре, пять или шесть) аминокислотный остаток неприродного происхождения, которые эквивалентны аминокислотному остатку(ам), описанным в настоящем документе для области или домена Fc IgG1 человека, что может определить специалист в данной области техники. В конкретном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, содержит модифицированные область или домен Fc, где указанные область или домен Fc представляют собой область или домен Fc IgG4 человека и содержат по меньшей мере одну (например, одну, две, три, четыре, пять или шесть) модификацию аминокислот (например, замену, делецию или добавление) или по меньшей мере один (например, один, два, три, четыре, пять или шесть) аминокислотный остаток неприродного происхождения, которые эквивалентны аминокислотному остатку(ам), описанным в настоящем документе для области или домена Fc IgG1 человека, что может определить специалист в данной области техники.

В определенном аспекте в настоящем документе предложено антитело, содержащее область или домен Fc, причем указанные область или домен Fc представляют собой область или домен Fc IgG1 человека и содержат по меньшей мере аминокислоту неприродного происхождения в одном или более положениях, выбранных из группы, состоящей из 239, 330 и 332, пронумерованных согласно индексу EU, указанному у Kabat. В конкретном воплощении в настоящем документе предложено антитело, содержащее область или домен Fc, где указанные область или домен Fc представляют собой область или домен Fc IgG1 человека и содержат по меньшей мере одну аминокислоту неприродного происхождения, выбранную из группы, состоящей из 239D, 330L и 332E, пронумерованных согласно индексу EU, указанному у Kabat. Возможно, область или домен Fc могут дополнительно содержать дополнительную аминокислоту неприродного происхождения в одном или более

положениях, выбранных из группы, состоящей из 252, 254 и 256, пронумерованных по индексу ЕС, как указано Kabat. В конкретном воплощении в настоящем документе предложено антитело, содержащее область или домен Fc, где указанные область или домен Fc представляют собой область или домен Fc IgG1 человека и содержат по меньшей мере одну аминокислоту неприродного происхождения, выбранную из группы, состоящей из 239D, 330L и 332E, пронумерованных согласно индексу EU, указанному у Kabat, и по меньшей мере одну аминокислоту неприродного происхождения в одном или более положениях, выбранных из группы, состоящей из 252Y, 254T и 256E, пронумерованных согласно индексу EU, указанному у Kabat. В конкретном воплощении в настоящем документе предложено антитело, содержащее область или домен Fc, где указанные область или Fc-домен представляют собой область или домен Fc IgG2, IgG3 или IgG4 человека и содержат по меньшей мере один аминокислотный остаток неприродного происхождения, являющийся эквивалентом(ами) аминокислотного(ых) остатка(ов), описанного(ых) в настоящем документе, для области или домена Fc IgG1 человека, что может определить специалист в данной области техники. В конкретном воплощении в настоящем документе предложено антитело, содержащее область или домен Fc, где указанные область или домен Fc представляют собой область или домен Fc IgG2, IgG3 или IgG4 человека и содержат по меньшей мере один аминокислотный остаток неприродного происхождения в одном или более положениях, которые эквивалентны положениям, описанным в настоящем документе, для области или домена Fc IgG1 человека, что может определить специалист в данной области техники. В одном воплощении область или домен Fc, содержащие такую последовательность, демонстрируют одну или более Fc-активностей, например, аффинность связывания с Fc-рецептором или эффекторную функцию, такую как ADCC или CDC (комплементзависимая цитотоксичность). В конкретном воплощении область или домен Fc, содержащие такую последовательность, проявляют сниженную Fc-активность, например, сниженную аффинность связывания с Fc-рецептором или сниженную эффекторную функцию, такую как ADCC или CDC. В конкретном воплощении область или домен Fc, содержащие такую последовательность, демонстрируют повышенную активность FcRn, например, увеличенный период полувыведения.

Дополнительные неограничивающие примеры модификаций области или домена Fc предложены в Ghetie *et al.,* 1997, Nat Biotech. 15:637-40; Duncan *et al.,* 1988, Nature 332:563-564; Lund *et al.,* 1991, J. Immunol 147:2657-2662; Lund *et al.,* 1992, Mol

Immunol 29:53-59; Alegre *et al.,* 1994, Transplantation 57: 1537-1543; Hutchins *et al.,* 1995, Proc Natl. Acad Sci U S A 92: 11980-11984; Jefferis *et al.,* 1995, Immunol Lett. 44: 111-117; Lund *et al.,* 1995, Faseb J 9: 115-119; Jefferis *et al.,* 1996, Immunol Lett 54: 101-104; Lund *et al.,* 1996, J Immunol 157:4963-4969; Armour *et al.,* 1999, Eur J Immunol 29:2613-2624; Idusogie *et al.,* 2000, J Immunol 164:4178-4184; Reddy *et al.,* 2000, J Immunol 164: 1925-1933; Xu *et al.,* 2000, Cell Immunol 200: 16-26; Idusogie *et al.,* 2001, J Immunol 166:2571-2575; Shields *et al.,* 2001, J Biol Chem 276:6591-6604; Jefferis *et al.,* 2002, Immunol Lett 82:57-65; Presta *et al.,* 2002, Biochem Soc Trans 30:487-490); патентах США № 5624821; 5885573; 5677425; 6165745; 6277375; 5869046; 6121022; 5624821; 5648260; 6528624; 6194551; 6737056; 6,821,505; 6277375; 8163882; 7355008; 7960512; 8039592; 8039359; 8101720; 7214775; 7682610; 7741442; патентных публикациях США № 2004/0002587 и публикациях PCT WO 94/29351; WO 99/58572; WO 00/42072; WO 04/029207; WO 04/099249; WO 04/063351.

В конкретных воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, содержит модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека, которые содержат аминокислоты неприродного происхождения 234A, 235Q и 322Q, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat. В конкретном воплощении модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека дополнительно содержат аминокислоты неприродного происхождения 252Y, 254T и 256E, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

В некоторых воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, содержит модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG2 человека, которые содержат аминокислоты неприродного происхождения, которые эквивалентны 234A, 235Q и 322Q, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat, для области или домена Fc IgG1 человека, что может определить специалист в данной области техники. В некоторых воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, содержит модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG2 человека, которые содержат аминокислоты неприродного происхождения, которые эквивалентны 234A, 235Q, 322Q, 252Y, 254T и 256E, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat, для области или домена Fc IgG1 человека, что может определить специалист в данной области техники.

В некоторых воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, содержит модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG3 человека, которые содержат аминокислоты неприродного происхождения, которые

эквивалентны 234A, 235Q и 322Q, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat, для области или домена Fc IgG1 человека, что может определить специалист в данной области техники. В некоторых воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, содержит модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG3 человека, которые содержат аминокислоты неприродного происхождения, эквивалентные 234A, 235Q, 322Q, 252Y, 254T и 256E, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat, для области или домена Fc IgG1 человека, что может определить специалист в данной области техники.

В некоторых воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, содержит модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG4 человека, которые содержат аминокислоты неприродного происхождения, которые эквивалентны 234A, 235Q и 322Q, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat, для области или домена Fc IgG1 человека, что может определить специалист в данной области техники. В некоторых воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, содержит модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG4 человека, которые содержат аминокислоты неприродного происхождения, эквивалентные 234A, 235Q, 322Q, 252Y, 254T и 256E, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat, для области или домена Fc IgG1 человека, что может определить специалист в данной области техники.

В конкретном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, содержит последовательности CDR VL и VH, представленные в таблице 1, и модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека, где модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека содержат аминокислоты неприродного происхождения 234A, 235Q и 322Q, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

В предпочтительном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, содержит последовательности CDR VL и VH, представленные в таблице 1, и модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека, где модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека содержат аминокислоты неприродного происхождения 234A, 235Q, 322Q, 252Y, 254T и 256E, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

Таким образом, в одном аспекте в настоящем документе предложено антитело, которое иммуноспецифично связывается с KIT человека, содержащее:

(i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; (ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7, соответственно; и (iii) модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека, содержащие аминокислоты неприродного происхождения 234A, 235Q и 322Q, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

Таким образом, в дополнительном аспекте настоящего изобретения предложено антитело, которое иммуноспецифично связывается с KIT человека, содержащее:

(i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; (ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7, соответственно; и (iii) модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека, содержащие неприродные аминокислоты 234A, 235Q, 322Q, 252Y, 254T и 256E, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

В дополнительном аспекте в настоящем документе предложено антитело, которое иммуноспецифично связывается с KIT человека, содержащее: (i) VL, содержащую аминокислотную последовательность:
DIVMTQSPSX_{K1}LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX_{K2}LIYSASYR YSGVPDRFX_{K3}GSGSGTDFTLTISSLQX_{K4}EDFAX_{K5}YX_{K6}CQQYNSYPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 17), где X_{K1} представляет собой аминокислоту с ароматической или алифатической гидроксильной боковой цепью, X_{K2} представляет собой аминокислоту с алифатической или алифатической гидроксильной боковой цепью, X_{K3} представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью, X_{K4} представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью или представляет собой P, X_{K5} представляет собой аминокислоту с заряженной или кислотной боковой цепью и X_{K6} представляет собой аминокислоту с ароматической боковой цепью; и (ii) VH, содержащую аминокислотную последовательность:
QVQLVQSGAEX_{H1}KKPGASVKX_{H2}SCKASGYTFTDYYINWVX_{H3}QAPGKGLEWIARIY PGSGNTYYNEKFKGRX_{H4}TX_{H5}TAX_{H6}KSTSTAYMX_{H7}LSSLRSEDX_{H8}AVYFCARGVYY FDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 18), где X_{H1} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H2} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H3} представляет собой аминокислоту с полярной или основной

боковой цепью, X_{H4} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H5} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H6} представляет собой аминокислоту с кислотной боковой цепью, X_{H7} представляет собой аминокислоту с кислотной или амидной боковой цепью, и X_{H8} представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью; и (iii) модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека, содержащие аминокислоты неприродного происхождения 234A, 235Q, 322Q и предпочтительно также 252Y, 254T и 256E, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

В дополнительном аспекте в настоящем документе предложено антитело, которое иммуноспецифично связывается с KIT человека, содержащее: i) VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, 14, 15 или 16, и ii) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11 или 12; и (iii) модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека, содержащие аминокислоты неприродного происхождения 234A, 235Q, 322Q и предпочтительно также 252Y, 254T и 256E, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

В дополнительном аспекте в настоящем документе предложено антитело, которое иммуноспецифично связывается с KIT человека, содержащее: i) VL, содержашую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, и ii) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и (iii) модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека, содержащие аминокислоты неприродного происхождения 234A, 235Q, 322Q и предпочтительно также 252Y, 254T и 256E, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

В конкретных воплощениях антитело, предложенное в настоящем документе, содержит тяжелую цепь, содержащую следующую аминокислотную последовательность:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGKGLEWIARIYPGSG
NTYYNEKFKGRATLTADKSTSTAYMQLSSLRSEDTAVYFCARGVYYFDYWGQGTT
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
CPAPEAQGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCQVSNKALPAPIEKTISKAKG

QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 21).

В конкретных воплощениях антитело, предложенное в настоящем документе, содержит легкую цепь, содержащую следующую аминокислотную последовательность: DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASYRYSG VPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 22).

В конкретных воплощениях антитело, предложенное в настоящем документе, содержит тяжелую цепь, содержащую следующую аминокислотную последовательность:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGKGLEWIARIYPGSG NTYYNEKFKGRATLTADKSTSTAYMQLSSLRSEDTAVYFCARGVYYFDYWGQGTT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPEAQGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCQVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 21); и легкую цепь, содержащую следующую аминокислотную последовательность:
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASYRYSG VPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 22).

В конкретном воплощении в настоящем документе предложено антитело, содержащее: (i) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность: ***MEWSWVFLFFLSVTTGVHS****QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTDYYINWVRQA PGKGLEWIARIYPGSGNTYYNEKFKGRATLTADKSTSTAYMQLSSLRSEDTAVYFCARGVYY FDYWGQGTTVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPE**AQ**GGPSVFLFPPKPKDTL**YI**T**R**EPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC**Q**VSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN

YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 19), где лидерная последовательность показана жирным курсивом, вариабельная область (VH) показана курсивом, а константная область показана подчеркнутой. Кроме того, мутации в константной области (по сравнению с IgG1 человека дикого типа) показаны двойным подчеркиванием; и

(ii) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность:

MSVPTQVLGLLLLWLTDARC*DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASYRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPRTFGGGTKVEIK*RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 20), где лидерная последовательность показана жирным курсивом, вариабельная область (VL) показана курсивом, а константная область показана подчеркнутой.

В конкретных воплощениях антитело против KIT, описанное в настоящем документе, не связывается (например, не имеет обнаруживаемого связывания) с каким-либо Fc-гамма-рецептором человека (FcγR-рецептором). В конкретном воплощении антитело против KIT, описанное в настоящем документе, не связывается (например, не имеет обнаруживаемого связывания) с FcγRI человека. В конкретном воплощении антитело против KIT, описанное в настоящем документе, не связывается (например, не имеет обнаруживаемого связывания) с FcγRIIa человека. В конкретном вовплощении антитело против KIT, описанное в настоящем документе, не связывается (например, не имеет обнаруживаемого связывания) с FcγRIIb человека. В конкретном воплощении антитело против KIT, описанное в настоящем документе, не связывается (например, не имеет обнаруживаемого связывания) с FcγRIIIa человека. В конкретном воплощении антитело против KIT, описанное в настоящем документе, не связывается (например, не имеет обнаруживаемого связывания) с FcγRIIIb человека.

В конкретных воплощениях антитело против KIT, описанное в настоящем документе, содержит модифицированную (например, мутированную) константную область IgG человека (например, модифицированную (например, мутированную) константную область IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека) и имеет усиленное связывание (например, по меньшей мере в 2, 5, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000 или 10000 раз более высокую аффинность связывания) для неонатального Fc-рецептора (FcRn) человека по сравнению с соответствующим антителом с теми же последовательностями вариабельной области, но с немодифицированной (дикого типа) константной областью

IgG человека. В конкретном воплощении антитело против KIT, описанное в настоящем документе, связывается с FcRn при pH 6,0 с KD менее 20 нМ. В конкретном воплощении антитело против KIT, описанное в настоящем документе, связывается с FcRn при pH 6,0 с KD менее 2 нМ. В конкретном воплощении антитело против KIT, описанное в настоящем документе, связывается с FcRn при pH 6,0 с KD менее 1 нМ. В конкретном воплощении антитело против KIT, описанное в настоящем документе, связывается с FcRn при pH 6,0 с KD менее 500 нМ. В конкретном воплощении антитело против KIT, описанное в настоящем документе, связывается с FcRn при pH 6,0 с KD менее 400 пМ. В конкретном воплощении антитело против KIT, описанное в настоящем документе, связывается с FcRn при pH 7,2 с KD менее 200 нМ. В конкретном воплощении антитело против KIT, описанное в настоящем документе, связывается с FcRn при pH 7,2 с KD менее 150 нМ. В конкретном воплощении антитело против KIT, описанное в настоящем документе, связывается с FcRn при pH 7,2 с KD менее 100 нМ. В конкретном воплощении антитело против KIT, описанное в настоящем документе, связывается с FcRn при pH 7,2 с KD менее 80 нМ.

В конкретных воплощениях антитело против KIT, описанное в настоящем документе, содержит модифицированную (например, мутированную) константную область IgG человека (например, модифицированную (например, мутированную) константную область IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека) и демонстрирует отсутствие антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC). В конкретных воплощениях антитело против KIT, описанное в настоящем документе, содержит модифицированную (например, мутированную) константную область IgG человека (например, модифицированную (например, мутированную) константную область IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека) и демонстрирует уменьшенную (например, по меньшей мере на 10% менее, по меньшей мере на 20% менее, по меньшей мере на 30% менее, по меньшей мере на 40% менее, по меньшей мере на 50% менее, по меньшей мере на 60% менее, по меньшей мере на 70% менее, по меньшей мере на 80% менее, по меньшей мере на 90% менее, по меньшей мере на 95% менее или по меньшей мере на 99% менее) ADCC по сравнению с соответствующим антителом с теми же последовательностями вариабельной области, но с немодифицированной (дикого типа) константной областью IgG человека.

В конкретных воплощениях антитело против KIT, описанное в настоящем документе, содержит модифицированную (например, мутированную) константную область IgG человека (например, модифицированную (например, мутированную)

константную область IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека) и демонстрирует уменьшенную (например, по меньшей мере на 10% менее, по меньшей мере на 20% менее, по меньшей мере на 30% менее, по меньшей мере на 40% менее, по меньшей мере на 50% менее, по меньшей мере на 60% менее, по меньшей мере на 70% менее, по меньшей мере на 80% менее, по меньшей мере на 90% менее, по меньшей мере на 95% менее или по меньшей мере на 99% менее) выработку цитокинов (например, IFN-γ, IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10 и/или TNF-α) по сравнению с соответствующим антителом с теми же последовательностями вариабельной области, но с немодифицированной (дикого типа) константной областью IgG человека.

В конкретных аспектах также предложены антигенсвязывающие фрагменты антител, описанных в настоящем документе, предпочтительно антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат полноразмерные область или домен Fc тяжелой цепи (например, полноразмерные область или домен Fc IgG1 человека, IgG2 человека, IgG3 человека или IgG4 человека). В конкретных аспектах также предложены антигенсвязывающие фрагменты антител, описанных в настоящем документе, которые содержат частичные область или домен Fc тяжелой цепи (например, частичные область или домен Fc IgG1 человека, IgG2 человека, IgG3 человека или IgG4 человека).

В некоторых аспектах антитела против KIT или их антигенсвязывающие фрагменты могут быть получены с использованием способов, известных в данной области техники, например, см. Раздел 5.4 ниже.

В конкретном аспекте антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфично связываются с доменом D4 KIT человека и областью D5 KIT, например, KIT человека. В другом конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфично связываются с доменом D5 KIT, например, KIT человека, с более низкой аффинностью, чем с доменом D4 KIT, например, KIT человека. В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфично связываются с доменом D4 KIT, например, KIT человека, с более высокой аффинностью, чем с доменом D5 KIT, например, KIT человека; например, более высокая аффинность составляет по меньшей мере 1-кратную, 2-кратную, 3-кратную, 4-кратную, 5-кратную, 10-кратную, 20-кратную, 50-кратную, 100-кратную, 500-кратную или 1000-кратную, что определяют способами, известными в данной области техники, например, анализами ELISA или Biacore.

В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфично связываются с областью D4 или D4/D5 KIT, например KIT человека, и имеет по меньшей мере в 1, 2, 3, 4, 5 или 10 раз более высокую аффинность к антигену KIT, состоящему по существу только из домена D4, чем к антигену KIT, состоящему по существу только из домена D5.

В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфично связываются с полипептидом KIT (например, областью D4 KIT человека) со значением EC_{50} (половина максимальной эффективной концентрации) примерно 50 нМ, 10 нМ, 500 пМ, 300 пМ, 200 пМ, 100 пМ или 50 пМ или менее, что определяют с помощью анализа, описанного в данной области техники, такого как ELISA.

В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфично связываются с полипептидом KIT (например, областью D4 KIT человека) со значением EC_{50} примерно 200 пМ или 150 пМ или мене, что определяют с помощью анализа, описанного в данной области техники, такого как ELISA или FAC с клетками CHO-WT-KIT (клетки CHO, сконструированные для рекомбинантной экспрессии KIT человека дикого типа).

В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, способны блокировать фосфорилирование KIT со значением IC_{50} (концентрация ингибирования 50%) примерно 600 пМ или менее.

В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, способны индуцировать или усиливать интернализацию рецептора KIT, например, по меньшей мере примерно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25 %, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% по оценкам с помощью способов, описанных в настоящем документе или известных специалисту в данной области техники, относительно интернализации в присутствии несвязанного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с KIT). В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, способны индуцировать или усиливать интернализацию рецептора KIT, например, по меньшей мере примерно на 25% или 35%, возможно примерно на 75%, по оценкам с помощью способов, описанных в настоящем документе или известных специалисту в данной области техники,

относительно интернализации в присутствии несвязанного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с KIT). В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, способны индуцировать или усиливать интернализацию рецептора KIT, например по меньшей мере примерно в 1, 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза. в 2,5 раза, в 3 раза, в 3,5 раза, в 4 раза, в 4,5 раза, в 5 раз, в 6 раз, в 7 раз, в 8 раз, в 9 раз, в 10 раз, в 15 раз, в 20 раз, в 30 раз, в 40 раз, в 50 раз, в 60 раз, в 70 раз, в 80 раз, в 90 раз или в 100 раз, по оценкам с помощью способов, описанных в настоящем документе или известных специалисту в данной области техники, относительно интернализации в присутствии несвязанного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с KIT). Методы количественного определения или визуализации рецепторов клеточной поверхности хорошо известны в данной области техники и включают различные флуоресцентные и радиоактивные методы. Например, один метод включает инкубацию клеток с радиоактивно меченным антирецепторным антителом. Альтернативно, природный лиганд рецептора можно конъюгировать с флуоресцентной молекулой или радиоактивной меткой и инкубировать с клетками. Дополнительные анализы интернализации рецептора хорошо известны в данной области техники и описаны, например, в, Jimenez *et al.*, Biochemical Pharmacology, 1999, 57:1125-1131; Bernhagen *et al.*, Nature Medicine, 2007, 13:587-596; и Conway *et al.*, J. Cell Physiol., 2001, 189:341-55.

В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, способны индуцировать или усиливать оборот рецептора KIT, например, по меньшей мере примерно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25 %, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, как оценивают с помощью способов, описанных в настоящем документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с вытеснением метки), относительно оборота в присутствии несвязанного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с KIT). В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, способны индуцировать или усиливать оборот рецептора KIT, по меньшей мере, примерно на 25% или 35%, возможно примерно до 75%, как оценивают с помощью способов, описанных в настоящем документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с вытеснением метки), относительно оборота в присутствии несвязанного антитела (например,

антитела, которое не связывается иммуноспецифично с KIT). В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, способны индуцировать или усиливать оборот рецептора KIT по меньшей мере примерно в 1, 1,2 раза, в 1,3 раза, в 1,4 раза, в 1,5 раза, в 2 раза, в 2,5 раза, в 3 раза, в 3,5 раза, в 4 раза, в 4,5 раза, в 5 раз, в 6 раз, в 7 раз, в 8 раз, в 9 раз, в 10 раз, в 15 раз, в 20 раз, в 30 раз, в 40 раз, в 50 раз, в 60 раз, в 70 раз , в 80 раз , в 90 раз или в 100 раз по сравнению с оборотом в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с KIT). Способы определения оборота рецептора хорошо известны в данной области техники. Например, клетки, экспрессирующие KIT, можно пометить в импульсном режиме с использованием смеси для мечения белков ^{35}S-EXPRESS (NEG772, NEN Life Science Products), промыть и обработать немеченой средой в течение определенного периода времени, прежде чем белковые лизаты из меченых клеток будут иммунопреципитированы с использованием антитела против KIT, разделены с помощью SDS-PAGE (электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия) и визуализированы (например, экспонированы на экране PhosphoImager (Molecular Dynamics), сканированы с помощью сканера Typhoon8600 (Amersham) и проанализированы с использованием программного обеспечения ImageQuant (Molecular Dynamics)) (см., например., Chan *et al.*, Development, 2004, 131:5551-5560).

В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, способны индуцировать или усиливать деградацию рецептора KIT по меньшей мере примерно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, что оценивают способами, описанными в настоящем документе или известными специалистам в данной области техники (например, анализа с вытеснением метки), относительно деградации в присутствии несвязанного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с KIT). В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, способны индуцировать или усиливать деградацию рецептора KIT, по меньшей мере, примерно на 25% или 35%, возможно примерно до 75%, как оценивают с помощью способов, описанных в настоящем документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с вытеснением метки) относительно деградации в присутствии несвязанного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с KIT). В конкретном

воплощенииантитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, способны индуцировать или усиливать деградацию рецептора KIT по меньшей мере примерно в 1 раз, в 1,2 раза, в 1,3 раза, в 1,4 раза, в 1,5 раза, в 2 раза, в 2,5 раза, в 3 раза, в 3,5 раза, в 4 раза, в 4,5 раза, в 5 раз, в 6 раз, в 7 раз, в 8 раз, в 9 раз, в 10 раз, в 15 раз, в 20 раз, в 30 раз, в 40 раз, в 50 раз, в 60 раз, в 70 раз, в 80 раз, в 90 раз или в 100 раз, как оценивают с помощью способов, описанных в настоящем документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с вытеснением метки), относительно деградации в присутствии несвязанного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с KIT). Методы количественного определения или мониторинга убиквитинирования и/или деградации (например, кинетики или скорости деградации) рецепторов клеточной поверхности хорошо известны в данной области техники и включают в себя различные флуоресцентные и радиоактивные методы (см., например, публикацию международной патентной заявки № WO 2008/153926 A2). Например, для количественного измерения деградации KIT можно провести эксперименты с отслеживанием импульсов или эксперименты с использованием радиоактивно меченных лигандов, таких как ^{125}I-SCF.

В конкретных воплощениях антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, не связывают внеклеточный сайт связывания лиганда KIT, например, сайт связывания SCF KIT. В конкретных воплощениях антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, не ингибируют связывание лиганда с KIT, например, не ингибируют связывание лиганда KIT (например, SCF) с KIT, как определяют с помощью способа, описанного в данной области техники, например, ELISA. В некоторых воплощениях антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, не полностью или частично ингибируют связывание лиганда с KIT, например, не полностью или частично ингибируют связывание KIT-лиганда (например, SCF) с KIT, что определяют способом, описанным в данной области техники, например, ELISA или FACS (сортировка клеток, активируемая флуоресценцией).

В конкретных аспектах антитела против KIT (например, человеческие или гуманизированные антитела), представленные в настоящем документе, представляют собой ингибирующие антитела, то есть антитела, которые ингибируют (например, частично ингибируют) активность KIT, т.е. одну или более активностей KIT. В

конкретном воплощении частичное ингибирование активности в отношении KIT приводит, например, к ингибированию от примерно 25% до примерно 65% или 75%. В конкретном воплощении частичное ингибирование активности в отношении KIT приводит, например, к ингибированию от примерно 35% до примерно 85% или 95%. Неограничивающие примеры активности в отношении KIT включают димеризацию KIT, фосфорилирование KIT (например, фосфорилирование тирозина), передачу сигналов после KIT (например, передача сигналов Stat, AKT, MAPK или Ras), индукцию или усиление транскрипции генов (например, c-Myc), индукцию или усиление клеточной пролиферации или выживания клеток. В конкретном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, ингибирует фосфорилирование KIT (например, индуцированное лигандом фосфорилирование).

В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, ингибируют фосфорилирование тирозина KIT в цитоплазматическом домене KIT.

В другом конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, ингибируют пролиферацию клеток, например, пролиферацию тучных клеток или пролиферацию эозинофилов. В еще одном конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, ингибируют выживание клеток, например, выживание тучных клеток или выживание эозинофильных клеток. В некоторых аспектах ингибирование пролиферации клеток, например, пролиферации тучных клеток или пролиферации эозинофилов, составляет по меньшей мере 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90%.

В другом конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, ингибируют активацию тучных клеток или активацию эозинофилов. В некоторых аспектах ингибирование активации или активности тучных клеток или активации или активности эозинофилов составляет по меньшей мере 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90%.

В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, ингибируют дегрануляцию эозинофилов или тучных клеток (см., например, Staats et al., 2012, Med. Chem. Commun., 2013, 4: 88-94 и Ochkur et al., 2012, J. Immunol. Methods, 384: 10-20). В

некоторых аспектах ингибирование дегрануляции эозинофилов или тучных клеток составляет по меньшей мере 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90%.

В другом конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, ингибируют высвобождение медиатора тучных клеток. В некоторых аспектах высвобождение медиатора тучных клеток составляет по меньшей мере 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90%. Описаны анализы для измерения активности тучных клеток, таких как высвобождение медиаторов, из культур тучных клеток, таких как культуры тучных клеток грызунов и человека (см., например, Kuehn et al., "Measuring Mast Cell Mediator Release", в Current Protocols in Immunology, Unite 7.38.1- 7.38.9, November 2010 (John Wiley & Sons, Inc.). В некоторых аспектах клетки-предшественники периферической крови CD34 или линия тучных клеток, такие как линия тучных клеткок человека HMC-1 или LAD2, может быть использована в этих анализах для определения воздействия антитела против KIT на тучные клетки.

В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, индуцируют апоптоз, например, апоптоз тучных клеток или апоптоз эозинофилов. В другом конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, индуцируют дифференцировку клеток, например, дифференцировку тучных клеток.

В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, могут достигать любого из следующих эффектов: снижение количества и/или активности эозинофилов, снижение пролиферации тучных клеток, снижение уровня триптазы в плазме, снижение уровней SCF в плазме, уменьшение числа или количества тучных клеток, ингибирование или снижение активности тучных клеток, снижение индуцированной тучными клетками выработки или высвобождения воспалительных факторов, снижение высвобождения воспалительных факторов, восстановление гомеостаза тучных клеток, снижение миграции тучных клеток, снижение адгезии тучных клеток, ингибирование или уменьшение рекрутирования тучных клеток эозинофилов и ингибирование или уменьшение антиген-опосредованной дегрануляции тучных клеток.

В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, ингибируют активность KIT, но не ингибируют димеризацию KIT. В другом конкретном воплощении антитело против

KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, ингибируют активность KIT и не ингибируют связывание лиганда с KIT, например, не ингибируют связывание лиганда KIT (например, SCF) с KIT, но ингибируют димеризацию KIT.

В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, ингибируют активность KIT, такую как лиганд-индуцированное фосфорилирование тирозина цитоплазматического домена KIT, от примерно 25% до примерно 65% или 75%, что определяют с помощью анализа клеточного фосфорилирования, хорошо известного в данной области техники, например, анализа клеточного фосфорилирования, описанного в настоящем документе. В определенном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, ингибируют активность KIT, такую как лиганд-индуцированное фосфорилирование тирозина цитоплазматического домена KIT, от примерно 35% до примерно 85% или 95%, что определяют с помощью анализа клеточного фосфорилирования, хорошо известного в данной области техники, например, анализа клеточного фосфорилирования, описанного в настоящем документе.

В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, ингибируют активность KIT, такую как индуцированное лигандом фосфорилирование тирозина цитоплазматического домена KIT, с 50% концентрацией ингибирования (IC_{50}) менее примерно 600 пМ, или менее примерно 500 пМ, или менее примерно 250 пМ, что определяют с помощью клеточного анализа фосфорилирования, хорошо известного в данной области техники, например, клеточного анализа фосфорилирования, описанного в настоящем документе. В конкретном воплощении IC_{50} составляет менее примерно 550 пМ или 200 пМ. В конкретном воплощении IC_{50} находится в диапазоне от примерно 50 пМ до примерно 225 пМ или в диапазоне от 100 пМ до примерно 600 пМ. В конкретном воплощении IC_{50} находится в диапазоне от примерно 50 пМ до примерно 550 пМ, или от примерно 50 пМ до примерно 600 пМ, или от примерно 150 пМ до примерно 550 пМ.

В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, (i) иммуноспецифично связывается с полипептидом KIT, содержащим область D4 и/или D5 KIT человека, (ii) ингибирует фосфорилирование KIT (например, фосфорилирование тирозина) и (iii) не полностью или частично ингибирует связывание лиганда KIT (например, SCF) с KIT. В еще одном конкретном воплощении такое антитело не ингибирует димеризацию KIT. В еще одном

конкретном воплощении такое антитело может быть рекомбинантно экспрессировано клетками CHO при среднем титре по меньшей мере 0,5 мкг/мл, например по меньшей мере 1,0 мкг/мл. В следующем конкретном воплощении такое антитело содержит домен VH и домен VL, которые не являются иммуногенными, например, домен VH и домен VL не содержат эпитопов Т-клеток.

В других конкретных воплощениях антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, иммуноспецифично связываются с мономерной формой KIT (например, KIT человека). В конкретных воплощениях антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфично связываются с мономерной формой KIT (например, KIT человека). В конкретных воплощениях антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфично связываются с димерной формой KIT (например, KIT человека).

В конкретных воплощениях антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, не связываются с мономерной формой KIT и специфично связываются с димерной формой KIT или мультимерной формой KIT. В некоторых воплощениях антитело имеет более высокую аффинность к мономеру KIT, чем к димеру KIT. В некоторых воплощениях антитело имеет более высокую аффинность к мономеру KIT, чем к мультимеру KIT.

В конкретных воплощениях антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфично связываются с нативной изоформой или нативным вариантом KIT (который представляет собой встречающуюся в природе изоформу или вариант KIT у животного (например, обезьяны, мыши, козы, осла, собаки, кошки, кролика, свиньи, крысы, человека, лягушки или птицы), которые могут быть выделены из животного, предпочтительно человека). В конкретных воплощениях антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфично связываются с KIT человека или ее фрагментом. В конкретных воплощениях антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфично связываются с KIT человека или ее фрагментом и не связываются специфично с KIT, не принадлежащей человеку (например, KIT обезьяны, мыши, козы, осла, собаки, кошки, кролика, свиньи, крысы или птицы), или ее фрагментом. В конкретных воплощениях антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в

настоящем документе, специфично связываются с KIT человека или ее фрагментом и не связываются специфично с KIT мыши. В некоторых воплощениях антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфично связываются с KIT человека или ее фрагментом (например, областью D4 KIT человека), а также с KIT псовых (собаки) и приматов, не являющихся человеком (например, обезьяны). В некоторых воплощениях антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфично связываются с KIT человека или ее фрагментом (например, областью D4 KIT человека), а также с KIT псовых (собак) и приматов, не являющихся человеком (например, обезьян), но не связываются специфично с KIT мыши или крысы или ее фрагментом (например, областью D4 KIT мыши).

В некоторых воплощениях антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфично связываются с KIT человека или ее фрагментом (например, областью D4 KIT человека), а также с KIT псовых (собак), кошачьих (кошек) и KIT яванских макаков, но не связывается специфично с KIT мыши или крысы или ее фрагментом (например, областью D4 KIT мыши).

В конкретных воплощениях антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфично связываются с KIT человека или ее фрагментом (например, областью D4 KIT человека), а также с KIT псовых (собак), кошачьих (кошки) и KIT яванских макаков с более высокой аффинностью (например, по меньшей мере в 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 или 10 раз), чем с KIT мыши или крысы или его фрагментом (например, областью D4 KIT мыши).

В некоторых воплощениях антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфично связываются с внеклеточным доменом KIT человека, содержащим мутацию, например соматическую мутацию, такую как мутация в экзоне 9 KIT человека, где остатки Ala и Tyr в положениях 502 и 503 дублируются (см., например, Marcia et al., (2000) Am. J. Pathol. 156(3):791-795; и Debiec-Rychter et al., (2004) European Journal of Cancer.40:689-695, которые полностью включены в настоящий документ посредством ссылки и описывают мутации KIT).

В некоторых воплощениях антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, специфично связываются с внеклеточным доменом KIT человека, который гликозилирован. В некоторых

воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, или его антигенсвязывающий фрагмент связываются с двумя различными гликозилированными формами внеклеточного домена KIT человека. Например, с помощью иммуноблоттинга были обнаружены две формы KIT человека с разной молекулярной массой, что указывает на разные паттерны гликозилирования.

В некоторых воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, может специфично связываться с обеими этими формами KIT человека, которые имеют разные характеры гликозилирования, например, одна форма более гликозилирована, чем другая. В некоторых воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, или его антигенсвязывающий фрагмент связываются с внеклеточным доменом KIT человека, который не гликозилирован.

В конкретном воплощении антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, представляют собой двухвалентное моноспецифическое антитело, в котором они имеют две антигенсвязывающие области (например, две идентичные антигенсвязывающие области), и обе антигенсвязывающие области специфично связываются с одним и тем же антигеном, KIT (например, KIT человека). В некоторых воплощениях антигенсвязывающая область содержит CDR VH и VL, как указано в таблице 1. В конкретных воплощениях антигенсвязывающая область содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 8-12, и /или VL, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 13-16. В некоторых аспектах антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, не являются биспецифическим антителом.

В конкретном воплощении антитела, описанные в настоящем документе, представляют собой моноклональные антитела или выделенные моноклональные антитела. В другом конкретном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, представляет собой гуманизированное моноклональное антитело. В конкретном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, представляет собой рекомбинантное антитело, например, рекомбинантное человеческое антитело, рекомбинантное гуманизированное антитело или рекомбинантное моноклональное антитело. В некоторых воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, содержит аминокислотные последовательности, не относящиеся к человеку, например, CDR, не относящиеся к человеку, или остатки каркасной области, не относящиеся к человеку (например, к примату, отличному от человека).

В конкретных воплощениях, предложенных в настоящем документе, рекомбинантные антитела могут быть выделены, получены, экспрессированы или созданы с помощью рекомбинантных средств, таких как антитела, экспрессированные с использованием рекомбинантного вектора экспрессии, трансфицированного в клетку-хозяина, антитела, выделенные из рекомбинантной, комбинаторной библиотеки антител, или антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любым другим способом, который включает создание, например, путем синтеза, генной инженерии последовательностей ДНК, которые кодируют последовательности иммуноглобулинов человека, или сплайсинга последовательностей, который кодируют иммуноглобулины человека, например, последовательностей генов иммуноглобулинов человека, для других подобных последовательностей. В некоторых воплощениях аминокислотные последовательности таких рекомбинантных антител были модифицированы таким образом, что аминокислотные последовательности таких антител, например, области VH и/или VL, представляют собой последовательности, которые не существуют в природе в репертуаре зародышевой линии антител организма in vivo, например, репертуаре зародышевой линии мыши или человека. В конкретном воплощении рекомбинантное антитело может быть получено путем сборки нескольких фрагментов последовательности, естественно существующих в организме (например, примата, такого как человек), в составную последовательность рекомбинантного антитела, где составная последовательность не существует в организме в природе (например, приматов, таких как человек).

Антитела, предложенные в настоящем документе, включают молекулы иммуноглобулина любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA и IgY), класса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подкласса молекулы иммуноглобулина. В конкретном воплощении антитело, представленное в настоящем документе, представляет собой антитело IgG (например, человеческое антитело IgG) или его класс (например, человеческий IgG1 или IgG4) или подкласс. В другом конкретном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, представляет собой антитело IgG1 (например, IgG1 человека (изотип a, z или f)) или IgG4. В некоторых воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, представляет собой целое или полное антитело, например, полное или полное гуманизированное, человеческое или составное человеческое антитело.

В конкретных аспектах представленное в настоящем документе антитело содержит легкую цепь и тяжелую цепь антитела, например, отдельные легкую цепь и

тяжелую цепь. Что касается легкой цепи, то в конкретном воплощении легкая цепь описанного здесь антитела представляет собой легкую каппа-цепь. В другом конкретном воплощении легкая цепь антитела, описанного в настоящем документе, представляет собой легкую цепь лямбда. В еще одном конкретном воплощении легкая цепь антитела, описанного в настоящем документе, представляет собой легкую каппа-цепь человека или легкую лямбда-цепь человека. В конкретном воплощения антитело, описанное в настоящем документе, содержит константную область легкой цепи человека. Неограничивающие примеры последовательностей константной области легкой цепи человека были описаны в данной области техники, например, см. патент США № 5,693,780 и Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242.

Что касается тяжелой цепи, то в конкретном воплощении тяжелая цепь антитела, описанного в настоящем документе, может представлять собой альфа (α), дельта (δ), эпсилон (ε), гамма (γ) или мю (μ) тяжелую цепь. В другом конкретном воплощении тяжелая цепь описанного антитела может содержать альфа (α), дельта (δ), эпсилон (ε), гамма (γ) или мю (μ) тяжелую цепь человека. В конкретном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, содержит константную область тяжелой цепи человека (например, константную область IgG человека, например, константную область IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека). Неограничивающие примеры последовательностей константной области тяжелой цепи человека были описаны в данной области техники, например, см. патент США № 5693780 и Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242. В конкретном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, содержит модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc человека (например, модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG1 человека, модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG2 человека, модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG3 человека или модифицированные (например, мутированные) область или домен Fc IgG4 человека).

В некоторых воплощениях антитела против KIT, описанные в настоящем документе, представляют собой человеческие, составные человеческие или гуманизированные моноклональные антитела. В конкретном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, представляет собой сконструированное антитело, например антитело, полученное рекомбинантными методами. В конкретном

воплощении антитело, описанное в настоящем документе, представляет собой гуманизированное антитело, содержащее одну или более CDR, отличных от человека (например, грызунов или мышей), и одну или более каркасных областей человека (FR), и, возможно, константную область тяжелой цепи человека и/или константную область легкой цепи человека. В опредененном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, содержит одну или более каркасных областей примата (или примата, отличного от человека). В конкретном воплощении антитело, описанное в настоящем документе, не содержит каркасных областей приматов, отличных от человека.

Антитела, предложенные в настоящем документе, могут включать антитела, содержащие химические модификации, например, антитела, которые были химически модифицированы, например, путем ковалентного присоединения любого типа молекулы к антителу. Например, но не в порядке ограничения, антитело против KIT может быть гликозилировано, ацетилировано, пегилировано, фосфорилировано или амидировано, может быть получено посредством защитных/блокирующих групп или может дополнительно содержать клеточный лиганд и/или другой белок или пептид (например, гетерологичный белок или пептид) и т. д. Например, антитело, предложенное в настоящем документе, может быть химически модифицировано, например, путем гликозилирования, ацетилирования, пегилирования, фосфорилирования, амидирования, дериватизации известными защитными/блокирующими группами, протеолитического расщепления, связывания с клеточным лигандом или другим белком и т. д. Кроме того, антитело против KIT, описанное в настоящем документе, может содержать одну или более неклассических аминокислот.

В одном воплощении антитело против KIT, представленное в настоящем документе, представляет собой «голое» антитело, которое не связано, не слито или не конъюгировано (например, искусственно связано, слито или конъюгировано) с другой молекулой, пептидом или полипептидом (например, гетерологичным полипептидом). В конкретном воплощении антитело против KIT, предложенное в настоящем описании, не является конъюгатом антитело-лекарственное средство. В конкретном воплощении антитело против KIT, предлагаемое в настоящем описании, не является слитым белком. В конкретных воплощениях антитело против KIT, описанное в настоящем документе, не содержит неклассических аминокислот.

5.1.1 Конъюгаты антител

В некоторых воплощениях в настоящем документе предложены антитела (например, человеческие или гуманизированные антитела) или их антигенсвязывающие фрагменты, конъюгированные или рекомбинантно слитые с диагностическим, обнаруживаемым или терапевтическим агентом или любой другой молекулой. Конъюгированные или рекомбинантно слитые антитела могут быть пригодны, например, для мониторинга или прогнозирования начала, развития, прогрессирования и/или тяжести KIT-ассоциированного расстройства или заболевания, например, как часть процедуры клинического тестирования, такой как определение эффективности той или иной терапии. Конъюгированные или рекомбинантно слитые антитела могут быть применимы, например, для защиты от, лечения или контролирования KIT-ассоциированного расстройства или для защиты от, лечения или сдерживания эффектов KIT-ассоциированного расстройства. Антитела, описанные в настоящем документе, также могут быть конъюгированы с молекулой (например, полиэтиленгликолем), которая может влиять на одно или более биологических и/или молекулярных свойств антител, например, стабильность (например, в сыворотке), время полужизни, растворимость и антигенность.

В конкретном аспекте в настоящем документе предложен конъюгат, содержащий агент (например, терапевтический агент), связанный с антителом, описанным в настоящем документе (или его антигенсвязывающим фрагментом). В конкретных воплощениях конъюгат содержит антитело, описанное в настоящем документе, и молекулу (например, терапевтическую или лекарственную часть), где антитело связано непосредственно с молекулой или посредством одного или более линкеров. В некоторых воплощениях антитело ковалентно конъюгировано с молекулой. В конкретном воплощении антитело нековалентно конъюгировано с молекулой. В конкретных воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, например, антитело, конъюгированное с агентом, связывается с человеческим KIT дикого типа. В некоторых воплощениях описанное в настоящем документе антитело, например, антитело, конъюгированное с агентом, связывается с внеклеточным доменом KIT человека, содержащим мутацию, например, соматическую мутацию, связанную с раком (например, GIST), такую как мутация в экзоне 9 человеческого KIT, где остатки Ala и Tyr в положениях 502 и 503 продублированы.

Такая диагностика и обнаружение могут быть выполнены, например, путем связывания антитела с обнаруживаемыми молекулами или веществами, включая, но не ограничиваясь ими, различные ферменты, такие как, но не ограничиваясь ими,

пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза, бета-галактозидаза. или ацетилхолинэстераза; простетические группы, такие как, но не ограничиваясь ими, стрептавидин/биотин и авидин/биотин; флуоресцентные вещества, такие как, но не ограничиваясь ими, умбеллиферон, флуоресцеин, флуоресцеин изотиоцинат, родамин, дихлортриазиниламин флуоресцеин, дансилхлорид или фикоэритрин; люминесцентные материалы, такие как, но не ограничиваясь ими, люминол; биолюминесцентные материалы, такие как, но не ограничиваясь ими, люцифераза, люциферин и экворин; радиоактивные материалы, такие как, но не ограничиваясь ими, йод (^{131}I, ^{125}I, ^{123}I и ^{121}I), углерод (^{14}C), сера (^{35}S), тритий (^{3}H), индий (^{115}In, ^{113}In, ^{112}In и ^{111}In), технеций (^{99}Tc), таллий (^{201}Ti), галлий (^{68}Ga, ^{67}Ga), палладий (^{103}Pd), молибден (^{99}Mo), ксенон (^{133}Xe), фтор (^{18}F), ^{153}Sm, ^{177}Lu, ^{159}Gd, ^{149}Pm, ^{140}La, ^{175}Yb, ^{166}Ho, ^{90}Y, ^{47}Sc, ^{186}Re, ^{188}Re, ^{142}Pr, ^{105}Rh, ^{97}Ru, ^{68}Ge, ^{57}Co, ^{65}Zn, ^{85}Sr, ^{32}P, ^{153}Gd, ^{169}Yb, ^{51}Cr, ^{54}Mn, ^{75}Se, ^{113}Sn и ^{117}Sn; позитронно-излучающие металлы с использованием различных позитронно-эмиссионных томографий, а также нерадиоактивные парамагнитные ионы металлов.

Предложены антитела, описанные в настоящем документе, или их антигенсвязывающие фрагменты, конъюгированные или рекомбинантно слитые с терапевтической частью (или одним или более терапевтическими частями), и применения таких антител. Антитело может быть конъюгировано или рекомбинантно слито с терапевтической частью, такой как цитотоксин, например, цитостатический или цитоцидный агент, терапевтический агент или радиоактивный ион металла, например, альфа-излучатели. Цитотоксин или цитотоксический агент включает любой агент, наносящий вред клеткам. Терапевтические части включают, но не ограничиваются ими, ауристатин или его производное, например монометилауристатин E (MMAE), монометилауристатин F (MMAF), ауристатин PYE и ауристатин E (AE) (см., например, патент США № 7662387 и публикации заявок на патенты США № 2008/0300192 и 2008/0025989, каждая из которых включена в настоящее описание посредством ссылки); агент, разрушающий микротрубочки, например, майтанзин или его производное, например, майтансиноид DM1 (см., например, патенты США № 7851432, 7575748 и 5416064, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки); пролекарство, например, пролекарство аналога CC-1065 (рахельмицин); антиметаболиты (например, метотрексат, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, цитарабин, 5-фторурацил декарбазин); алкилирующие агенты (например, мехлорэтамин, тиоэпа хлорамбуцил, мелфалан, кармустин (BCNU) и ломустин (CCNU), циклотофосфамид, бусульфан, дибромманнитол, стрептозотоцин, митомицин C и цисдихлордиамин

платины (II) (DDP) и цисплатин); алкилирующий агент, связывающий малую бороздку; антрациклины (например, даунорубицин (ранее дауномицин) и доксорубицин); антибиотики (например, d-актиномицин (ранее актиномицин), блеомицин, митрамицин и антрамицин (AMC)); молекулы ауристатина (например, ауристатин PHE, бриостатин 1 и соластатин 10; см. Woyke et al., Antimicrob. Agents Chemother. 46:3802-8 (2002), Woyke et al., Antimicrob. Agents Chemother. 45:3580-4 (2001), Mohammad et al., Anticancer Drugs 12:735-40 (2001), Wall et al., Biochem. Biophys Res. Commun. 266:76-80 (1999), Mohammad et al., Int. J Oncol., 15:367-72 (1999), все они включены в настоящее описание последством ссылки); гормоны (например, глюкокортикоиды, прогестины, андрогены и эстрогены), ингибиторы ферментов репарации ДНК (например, этопозид или топотекан), ингибиторы киназ (например, соединение ST1571, иматиниба мезилат (Kantarjian et al., Clin Cancer Res. 8(7)):2167-76 (2002)); цитотоксические агенты (например, паклитаксел, цитохалазин B, грамицидин D, бромид этидия, эметин, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, доксорубицин, даунорубицин, дигидроксиантрациндион, митоксантрон, митрамицин, актиномицин D, 1-дегидротестостерон, глюкортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол и пуромицин и их аналоги или гомологи, а также те соединения, которые описаны в патентах США № 6245759, 6399633, 6383790, 6335156, 6271242, 6242196, 6218410, 6218372, 6057300, 6034053, 5985877, 5958769, 5925376, 5922844, 5911995, 5872223, 5863904, 5840745, 5728868, 5648239, 5587459, каждый из которых включен в настоящее описание посредсттвом ссылки в отношении раскрытия такого соединения); ингибиторы фарнезилтрансферазы (например, R115777, BMS-214662 и описанные, например, в патентах США № 6458935, 6451812, 6440974, 6436960, 6432959, 6420387, 6414145, 6410541, 6410539, 6403581, 6399615, 6,387,905, 6372747, 6369034, 6362188, 6342765, 6342487, 6300501, 6268363, 6265422, 6248756, 6239140, 6232338, 6228865, 6228856, 6225322, 6218406, 6211193, 6187786, 6169096, 6159984, 6143766, 6133303, 6127366, 6124465, 6124295, 6103723, 6093737, 6090948, 6080870, 6077853, 6071935, 6066738, 6063930, 6054466, 6051582, 6051574 и 6040305, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки в отношении раскрытия такого ингибитора); ингибиторы топоизомеразы (например, камптотецин, иринотекан, SN-38, топотекан, 9-аминокамптотецин, GG-211 (GI 147211), DX-8951f, IST-622, рубитекан, пиразолоакридин, XR-5000, сантопин, UCE6, UCE1022, TAN-1518A; TAN 1518B; KT6006; KT6528; ED-110; NB-506; ED-110; NB-506 и ребеккамицин); булгареин; вещества, связывающие малую бороздку ДНК, такие как краситель Hoescht 33342 и

краситель Hoescht 33258; нитидин; фагаронин; эпиберберин; коралин; бета-лапахон; BC-4-1; бисфосфонаты (например, алендронат, цимадронт, клодронат, тилудронат, этидронат, ибандронат, неридронат, олпандронат, ризедронат, пиридронат, памидронат, золендронат), ингибиторы HMG-CoA-редуктазы (например, ловастатин, симвастатин, аторвастатин, правастатин, флувастатин, статин, церивастатин, лескол, люпитор, розувастатин и аторвастатин); антисмысловые олигонуклеотиды (например, раскрытые в патентах США № 6277832, 5998596, 5885834, 5734033 и 5618709, каждый из которых включен в настоящее описание посредством ссылки в отношении таких олигонуклеотидов); ингибиторы аденозиндезаминазы (например, флударабинфосфат и 2-хлордезоксиаденозин); ибритумомаб тиуксетан (Zevalin®); тозитумомаб (Bexxar®)) и их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, клатраты и пролекарства.

В конкретных воплощениях терапевтическая часть или лекарственная часть представляет собой антитубулиновое лекарственное средство, такое как ауристатин или его производное. Неограничивающие примеры ауристатинов включают монометилауристатин E (MMAE), монометилауристатин F (MMAF), ауристатин PYE и ауристатин E (AE) (см., например, патент США № 7662387 и публикацию патентной заявки США № 2008/0300192 и 2008/0025989, каждый из которых включен в настоящее описание посредством ссылки). В некоторых воплощениях терапевтическая часть или лекарственная часть представляет собой агент, разрушающий микротрубочки, такой как майтанзин или его производное, например майтансиноид DM1 или DM4 (см., например, патенты США № 7851432, 7575748 и 5416064, каждый из которых включен в настоящее описание посредством ссылки). В некоторых воплощениях терапевтический компонент или компонент лекарственного средства представляет собой пролекарство, например, пролекарство аналога CC-1065 (рахельмицина) (см., например, публикацию патентной заявки США № 2008/0279868 и публикацию международной патентной заявки PCT № WO 2009/017394, WO 2010/062171 и WO 2007/089149, каждая из которых включена в настоящее описание посредством ссылки).

В конкретном воплощении антитело и терапевтический/лекарственный агент конъюгированы посредством одного или более линкеров. В другом конкретном воплощении антитело и терапевтический/лекарственный агент конъюгированы напрямую.

В конкретных воплощениях неограничивающие примеры терапевтических частей или лекарственных частей для конъюгации с антителом, описанным в настоящем документе, включают калихеамицины (например, комплекс LL-E33288,

например, гамма-калихеамицин, см., например, патент США № 4970198) и их производные (например, производные гидразида гамма-калихеамицина), озогамицины, дуокармицины и их производные (например, CC-1065 (NSC 298223) или ахиральный аналог дуокармицина (например, AS-1-145 или центанамицин)), таксаны и их производные, а также ендиины и их производные (см., например, публикации международных патентных заявок PCT № WO 2009/017394, WO 2010/062171, WO 2007/089149, WO 2011/021146, WO 2008/150261, WO 2006/03165). 3, WO 2005/089809, WO 2005/089807 и WO 2005/089808, каждая из которых полностью включена в настоящее описанние посредством ссылки).

Неограничивающие примеры калихеамицинов, подходящих для конъюгации с антителом, описанным в настоящем документе, раскрыты, например, в патентах США № 4671958; 5053394; 5037651; 5079233 и 5108912; и публикациях международных патентных заявок PCT № WO 2011/021146, WO 2008/150261, WO 2006/031653, WO 2005/089809, WO 2005/089807 и WO 2005/089808; каждый из указанных источников включен в настоящее описание посредством ссылки для описания такого калихимицина. В конкретных вопрощения эти соединения могут содержать метилтрисульфид, который реагирует с соответствующими тиолами с образованием дисульфидов и в то же время вводит функциональную группу, такую как гидразид, или другую функциональную группу, которая может быть пригодна для конъюгирования калихеамицина с описанным здесь антителом. В некоторых воплощениях стабилизация дисульфидной связи, присутствующей в конъюгатах калихеамицина, путем добавления диметильных заместителей может привести к получению улучшенного конъюгата антитело/лекарственное средство. В конкретных воплощениях производное калихеамицина представляет собой диметилгидразид N-ацетил-гамма-калихеамицина или NAc-гамма-DMH (CL-184,538) в качестве одного из производных, оптимизированных для конъюгации. Дисульфидные аналоги калихеамицина, которые могут быть конъюгированы с описанным здесь антителом, описаны, например, в патентах США № 5,606,040 и 5,770,710, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки для описания такого соединения. В конкретном воплощении часть (например, калихеамицин или его производное) конъюгирована с антителом с помощью линкера. В конкретном воплощении часть (например, калихеамицин или его производное) гидролизуется из конъюгата антитело-лекарственное средство по линкеру. В одном воплощении часть (например, калихеамицин или его производное) гидролизуется из конъюгата антитела по линкеру

при pH примерно от 3,0 до 4,0 в течение 1-24 часов при температуре от 20 до 50°C, предпочтительно 37°C.

В конкретных воплощениях неограничивающие примеры терапевтических частей или лекарственных частей для конъюгации с антителом, описанным в настоящем документе, включают пирролобензодиазепины (PBD) и их производные, например, димеры PBD (например, SJG-136 или SG2000), C2-ненасыщенные димеры PBD, димеры пирролобензодиазепина, содержащие арильные замены C2 (например, SG2285), пролекарство димера PBD, которое активируется гидролизом (например, SG2285), и полипиррол-PBD (например, SG2274) (см., например, публикации международных патентных заявок PCT № WO 2000/012507, WO 2007/039752, WO 2005/110423, WO 2005/085251 и WO 2005/040170, а также патент США № 7612062, каждый из которых включен в настоящее описание посредством ссылки для описание такого соединения).

Кроме того, антитело, описанное в настоящем документе, может быть конъюгировано с терапевтическими группами, такими как ион радиоактивного металла, такими как альфа-излучатели, такие как ^{213}Bi, или макроциклические хелаторы, пригодные для конъюгации ионов радиоактивных металлов, включая, но не ограничиваясь ими, ^{131}In, ^{131}LU, ^{131}Y, ^{131}Ho, ^{131}Sm – в полипептиды. В некоторых воплощениях макроциклический хелатор представляет собой 1,4,7,10-тетраазациклододекан-N,N',N'',N'''-тетрауксусную кислоту (DOTA), которая может быть присоединена к антителу через линкерную молекулу. Такие линкерные молекулы широко известны в данной области и описаны в публикациях Denardo et al., 1998, Clin Cancer Res. 4(10):2483-90; Peterson et al., 1999, Bioconjug. Chem. 10(4):553-7; и Zimmerman et al., 1999, Nucl. Med. Biol. 26(8):943-50, каждая из которых полностью включена в настоящее описание посредством ссылки.

В некоторых воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с одной или более молекулами (например, терапевтической или лекарственной частью) прямо или косвенно через одну или более линкерных молекул. В конкретных воплощениях линкер представляет собой расщепляемый ферментом линкер или дисульфидный линкер. В конкретном воплощении расщепляемый линкер расщепляется с помощью фермента, такого как аминопептидаза, аминоэстераза, дипептидилкарбоксипептидаза или протеаза каскада свертывания крови. В конкретных воплощениях линкер содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 20 аминокислотных остатков. В некоторых воплощениях

линкер состоит из 1-10 аминокислотных остатков, 1-15 аминокислотных остатков, 5-20 аминокислотных остатков, 10-25 аминокислотных остатков, 10-30 аминокислотных остатков или 10-50 аминокислотных остатков.

В некоторых воплощениях часть конъюгирована с антителом одним или более линкерами. В конкретном воплощении часть гидролизуется из конъюгата антитело-лекарственное средство по линкеру. В одном воплощении часть гидролизуется из конъюгата антитела по линкеру при pH примерно от 3,0 до pH 4,0 в течение примерно 1-24 часов и при температуре примерно от 20 до 50°C, предпочтительно 37°C. В определенном воплощении линкер стабилен в кровотоке, но высвобождает конъюгированную часть, как только он оказывается внутри клеток-мишеней. В некоторых воплощениях часть конъюгирована с антителом, описанным в настоящем документе, через один или более линкеров, содержащих триазол (см., например, публикацию международной патентной заявки № WO 2007/018431, которая включена в настоящий документ посредством ссылки). Неограничивающие примеры линкеров и спейсеров для включения в конъюгаты антитело-лекарственное средство, описанные в настоящем документе, описаны в публикациях международных патентных заявок PCT WO 2007/018431, WO 2004/043493 и WO 2002/083180.

Кроме того, антитела, описанные в настоящем документе, могут быть слиты с маркерными последовательностями, такими как пептид, для облегчения очистки. В предпочтительных воплощениях маркерная аминокислотная последовательность представляет собой гексагистидиновый пептид, такой как метка, представленная в векторе pQE (QIAGEN, Inc.), среди прочих, многие из которых имеются в продаже. Как описано в Gentz et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824, например, гексагистидин обеспечивает удобную очистку слитого белка. Другие пептидные метки, пригодные для очистки, включают, но не ограничиваются ими, метку гемагглютинина («HA»), которая соответствует эпитопу, полученному из белка гемагглютинина гриппа (Wilson et al., 1984, Cell 37:767), и метку «FLAG».

Способы слияния или конъюгации терапевтических частей (включая полипептиды) с антителами хорошо известны, см., например, публикации Arnon et al., “Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy”, in Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom et al., “Antibodies For Drug Delivery”, in Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson et al. (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, “Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review”, in Monoclonal Antibodies 84: Biological

And Clinical Applications, Pinchera et al. (eds.), pp. 475-506 (1985); “Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy”, in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin et al. (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985), Thorpe et al., 1982, Immunol. Rev. 62:119-58; патенты США № 5336603, 5622929, 5359046, 5349053, 5447851, 5723125, 5783181, 5908626, 5844095 и 5112946; EP 307434; EP 367166; EP 394827; публикации PCT WO 91/06570, WO 96/04388, WO 96/22024, WO 97/34631 и WO 99/04813; Ashkenazi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88: 10535-10539, 1991; Traunecker et al., Nature, 331:84-86, 1988; Zheng et al., J. Immunol., 154:5590-5600, 1995; Vil et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:11337-11341, 1992, которые полностью включены в настоящий документ посредством ссылки.

Антитела, описанные в настоящем документе, также могут быть присоединены к твердым подложкам, которые особенно пригодны для иммунологических анализов или очистки антигена-мишени. Такие твердые носители включают, но не ограничиваются ими, стекло, целлюлозу, полиакриламид, нейлон, полистирол, поливинилхлорид или полипропилен.

В определенном аспекте антитело, описанное в настоящем документе, или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой внеклеточный конъюгат лекарственного средства (ECD), содержащий антитело, связанное с лекарственным средством, возможно линкером (см., например, публикацию Международной патентной заявки PCT № WO 2011/031870). Лекарственное средство может действовать вне клетки, поэтому интернализация конъюгата не требуется. После того, как ECD связывается с клеткой-мишенью, лекарственное средство посылает сигнал в клетку.

В одном воплощении линкер ECD представляет собой нерасщепляемый линкер. Примеры нерасщепляемых линкеров включают линкеры, которые содержат цепи полиэтиленгликоля или цепи полиэтилена, не чувствительные к кислотам или основаниям (например, линкеры, содержащие гидразон), не чувствительные к восстановителям или окислителям (такие как линкеры, содержащие дисульфидные связи) и не чувствительные к ферментам, которые могут быть обнаружены в клетках или системе кровообращения. Конкретные примеры нерасщепляемых линкеров включают линкер SMCC (патентная заявка США 20090202536). В иллюстративных целях примеры расщепляемых линкеров включают линкеры, которые содержат незатрудненные чувствительные к глутатиону дисульфиды, сложные эфиры, пептидные последовательности, чувствительные к пептидазам, таким как катепсин или

плазмин, гидразоны, чувствительные к pH (см. Bioconjugate Chem., 2010, 21 (1), pp 5-13) и незатрудненный дисульфидный линкер SPP (заявка на патент США 20090202536).

В некоторых аспектах ECD включает лекарственное средство или агент, который представляет собой сердечный гликозид, например, просцилларидин или просцилларидин с усиленным содержанием сахара. В одном воплощении агент состоит из сердечного гликозида, не содержащего сахара. В различных воплощениях сердечный гликозид представляет собой соединение, указанное в PCT Pub. № WO 2010/017480 (PCT/US2009/053159).

5.2 Полинуклеотиды

В некоторых аспектах в настоящем документе предложены полинуклеотиды и комбинации полинуклеотидов, содержащие нуклеотидную(ые) последовательность(и), кодирующую(ие) антитело (например, человеческое или гуманизированное антитело), описанное в настоящем документе, или его фрагмент (например, вариабельную область легкой цепи и/или вариабельную область тяжелой цепи), которая иммуноспецифично связывается с антигеном KIT. Также в настоящем документе предложены полинуклеотиды, кодирующие антигены KIT для получения антител против KIT, описанных в настоящем документе.

Используемый в настоящем документе термин «выделенный» полинуклеотид или молекула нуклеиновой кислоты представляет собой молекулу, которая отделена от других молекул нуклеиновой кислоты, присутствующих в природном источнике (например, у человека) молекулы нуклеиновой кислоты. Более того, «выделенная» молекула нуклеиновой кислоты, такая как молекула кДНК, может быть по существу свободной от другого клеточного материала или культуральной среды при получении с помощью рекомбинантных методов или по существу не содержать химических предшественников или других химических веществ при химическом синтезе. Например, формулировка «по существу свободный» включает препараты полинуклеотида или молекулы нуклеиновой кислоты, содержащие менее примерно 15%, 10%, 5%, 2%, 1%, 0,5% или 0,1% (в частности, менее примерно 10%) другого материала, например клеточного материала, культуральной среды, других молекул нуклеиновых кислот, химических предшественников и/или других химических веществ. В определенном воплощении молекула(ы) нуклеиновой кислоты, кодирующая(ие) антитело, описанное в настоящем документе, выделена(ы) или очищена(ы).

В конкретных аспектах, предложенных в настоящем документе, речь идет о полинуклеотиде или комбинации полинуклеотидов, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, или VH и VL указанного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В определенном воплощении в настоящем документе предложен полинуклеотид, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую VH антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе. В определенном воплощении в настоящем документе предложен полинуклеотид, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую VL антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе. В определенном воплощении в настоящем документе предложен полинуклеотид, содержащий первую нуклеотидную последовательность, кодирующую VH антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе, и вторую нуклеотидную последовательность, кодирующую VL указанного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В определенном воплощении в настоящем документе предложена комбинация двух полинуклеотидов, где первый полинуклеотид в комбинации содержит первую нуклеотидную последовательность, кодирующую VH антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе, а второй полинуклеотид в комбинации содержит вторую нуклеотидную последовательность, кодирующую VL указанного антитела или антигенсвязывающего фрагмента. В определенном воплощении в настоящем документе предложен полинуклеотид, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую тяжелую цепь антитела, описанного в настоящем документе. В определенном воплощении в настоящем документе предложен полинуклеотид, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь антитела, описанного в настоящем документе. В определенном воплощении в настоящем документе предложен полинуклеотид, содержащий первую нуклеотидную последовательность, кодирующую тяжелую цепь антитела, описанного в настоящем документе, и вторую нуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь указанного антитела. В определенном воплощении в настоящем документе предложена комбинация двух полинуклеотидов, где первый полинуклеотид в комбинации содержит первую нуклеотидную последовательность, кодирующую тяжелую цепь антитела, описанного в настоящем документе, а второй полинуклеотид в комбинации содержит

вторую нуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь указанного антитела.

В определенном воплощении полинуклеотид, предложенный в настоящем документе, содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 23. В определенном в воплощении полинуклеотид, предложенный в настоящем документе, содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 24. В определенном воплощении полинуклеотид, предложенный в настоящем документе, содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 23 и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 24. В определенном воплощении комбинация полинуклеотидов, предложенная в настоящем документе, содержит первый полинуклеотид, содержащий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 23, и второй полинуклеотид, содержащий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 24.

Также в настоящем документе предложены полинуклеотиды, кодирующие антитело против KIT или его фрагмент, оптимизированные, например, путем оптимизации кодонов/РНК, замены гетерологичными сигнальными последовательностями и устранения элементов нестабильности мРНК. Способы получения оптимизированных нуклеиновых кислот, кодирующих антитело против KIT или его фрагмент (например, легкую цепь, тяжелую цепь, домен VH или домен VL) для рекомбинантной экспрессии путем внесения изменений в кодоны и/или устранения ингибирующих областей в мРНК, могут быть осуществлены путем адаптации методов оптимизации, описанных, например, в патентах США № 5965726; 6174666; 6291664; 6414132 и 6794498, соответственно. Например, потенциальные сайты сплайсинга и элементы нестабильности (например, элементы, богатые A/T или A/U) в РНК могут быть мутированы без изменения аминокислот, кодируемых последовательностями нуклеиновых кислот, для повышения стабильности РНК для рекомбинантной экспрессии. Изменения используют вырожденность генетического кода, например, использование альтернативного кодона для идентичной аминокислоты. В некоторых воплощениях может быть желательным изменить один или более кодонов для кодирования консервативной мутации, например, аналогичной аминокислоты с аналогичной химической структурой и свойствами и/или функцией исходной аминокислоты. Такие способы могут повышать экспрессию антитела против KIT или его фрагмента по меньшей мере в 1 раз, 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз или более по сравнению с

экспрессией антитела против KIT, кодируемого полинуклеотидами, которые не были оптимизированы.

В некоторых воплощениях оптимизированная полинуклеотидная последовательность, кодирующая антитело против KIT, описанная в настоящем документе, или ее фрагмент (например, домен VL и/или домен VH) может гибридизоваться с антисмысловым (например, комплементарным) полинуклеотидом неоптимизированной полинуклеотидной последовательности, кодирующей антитело против KIT, описанной в настоящем документе, или ее фрагментом (например, доменом VL и/или доменом VH). В конкретных воплощениях оптимизированная нуклеотидная последовательность, кодирующая антитело против KIT, описанная в настоящем документе, или ее фрагмент гибридизуются в условиях высокой строгости с антисмысловым полинуклеотидом неоптимизированной полинуклеотидной последовательности, кодирующей антитело против KIT, описанной в настоящем документе, или ее фрагментом. В определенном воплощении оптимизированная нуклеотидная последовательность, кодирующая антитело против KIT, описанная в настоящем документе, или ее фрагмент гибридизуется в условиях высокой, промежуточной или более низкой строгости с антисмысловым полинуклеотидом неоптимизированной нуклеотидной последовательности, кодирующей антитело против KIT, описанной в настоящем документе, или ее фрагмента. Информация относительно условий гибридизации была описана, см., например, публикацию заявки на патент США № US 2005/0048549 (например, абзацы 72-73), которая включена в настоящее описание посредством ссылки.

В некоторых воплощениях оптимизированная полинуклеотидная последовательность, кодирующая область VL антитела, описанного в настоящем документе, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 23. В некоторых воплощениях оптимизированная полинуклеотидная последовательность, кодирующая область VH антитела, описанного в настоящем документе, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% идентична нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 24.

Полинуклеотиды могут быть получены, и нуклеотидная последовательность полинуклеотидов может быть определена любым способом, известным в данной

области техники. Нуклеотидные последовательности, кодирующие антитела, описанные в настоящем документе, и модифицированные варианты этих антител, можно определить с использованием способов, хорошо известных в данной области техники, т.е. кодоны нуклеотидов, которые, как известно, кодируют определенные аминокислоты, собирают таким образом, чтобы получить нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело. Такой полинуклеотид, кодирующий антитело, может быть собран из химически синтезированных олигонуклеотидов (например, как описано у Kutmeier *et al.*, 1994, BioTechniques 17:242), что, вкратце, включает синтез перекрывающихся олигонуклеотидов, содержащих части последовательности, кодирующей антитело, отжиг и лигирование этих олигонуклеотидов, а затем амплификацию лигированных олигонуклеотидов с помощью ПЦР.

В качестве альтернативы полинуклеотид, кодирующий антитело, описанное в настоящем документе, может быть получен из нуклеиновой кислоты из подходящего источника (например, гибридомы) с использованием способов, хорошо известных в данной области техники (например, ПЦР и других способов молекулярного клонирования). Например, ПЦР-амплификацию с использованием синтетических праймеров, способных гибридизоваться с 3'- и 5'-концами известной последовательности, можно проводить с использованием геномной ДНК, полученной из клеток гибридомы, продуцирующих интересующее антитело. Такие способы ПЦР-амплификации можно использовать для получения нуклеиновых кислот, содержащих последовательность, кодирующую легкую цепь и/или тяжелую цепь антитела. Такие способы ПЦР-амплификации можно использовать для получения нуклеиновых кислот, содержащих последовательность, кодирующую вариабельную область легкой цепи и/или вариабельную область тяжелой цепи антитела. Амплифицированные нуклеиновые кислоты можно клонировать в векторы для экспрессии в клетках-хозяевах и для дальнейшего клонирования, например, для получения химерных и гуманизированных антител.

Если клон, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую конкретное антитело, недоступен, но известна последовательность молекулы антитела, нуклеиновая кислота, кодирующая иммуноглобулин, может быть химически синтезирована или получена из подходящего источника (например, библиотеки кДНК антител или кДНК-библиотеки, или нуклеиновой кислоты, предпочтительно поли-А+ РНК, выделенной из любой ткани или клеток, экспрессирующих антитело, таких как гибридомные клетки, выбранные для экспрессии антитела, описанного в настоящем

документе) с помощью ПЦР-амплификации с использованием синтетических праймеров, способных гибридизоваться с 3'- и 5'-концами последовательности или путем клонирования с использованием олигонуклеотидного зонда, специфичного для конкретной последовательности гена, для идентификации, например, клона кДНК из библиотеки кДНК, который кодирует антитело. Амплифицированные нуклеиновые кислоты, полученные с помощью ПЦР, затем можно клонировать в воспроизводимые клонирующие векторы с использованием любого способа, хорошо известного в данной области техники.

ДНК, кодирующая антитела против KIT, описанные в настоящем документе, можно легко выделить и секвенировать с использованием обычных процедур (например, с использованием олигонуклеотидных зондов, которые способны специфично связываться с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи антитела против KIT). Источником такой ДНК могут служить гибридомные клетки. После выделения ДНК можно поместить в экспрессирующие векторы, которые затем трансфицируют в клетки-хозяева, такие как клетки *E. coli*, обезьяньи клетки COS, клетки яичника китайского хомяка (CHO) (например, клетки CHO из CHO GS System™ (Lonza)) или клетки миеломы, которые иначе не продуцируют белок иммуноглобулина, для получения синтеза антитела против KIT в рекомбинантных клетках-хозяевах.

Для получения полных антител можно использовать праймеры ПЦР, включающие нуклеотидные последовательности VH или VL, сайт рестрикции и фланкирующую последовательность для защиты сайта рестрикции, для амплификации последовательностей VH или VL в клонах scFv. Используя методики клонирования, известные специалистам в данной области техники, домены VH, амплифицированные с помощью ПЦР, можно клонировать в векторы, экспрессирующие константную область тяжелой цепи, например, константную область гамма-1 или гамма-4 человека, а домены VL, амплифицированные с помощью ПЦР, можно клонировать. в векторы, экспрессирующие константную область легкой цепи, например, константные области каппа- или лямбда-цепи человека. В некоторых воплощениях векторы для экспрессии доменов VH или VL содержат промотор EF-1α, сигнал секреции, сайт клонирования вариабельного домена, константные домены и маркер селекции, такой как неомицин. Домены VH и VL также можно клонировать в один вектор, экспрессирующий необходимые константные области. Затем векторы конверсии тяжелой цепи и векторы конверсии легкой цепи совместно трансфицируют в клеточные линии для получения стабильных или транзиторных клеточных линий, которые экспрессируют

полноразмерные антитела, например, IgG, с использованием способов, известных специалистам в данной области техники.

ДНК также можно модифицировать, например, путем замены кодирующей последовательности константных доменов тяжелой и легкой цепи человека вместо мышиных последовательностей или путем ковалентного присоединения к кодирующей иммуноглобулин последовательности всей или части кодирующей последовательности для неиммуноглобулинового полипептида.

5.3 Клетки-хозяева и рекомбинантная экспрессия антител

В некоторых аспектах в настоящем документе предложены клетки-хозяева, рекомбинантно экспрессирующие антитела, описанные в настоящем документе (или их антигенсвязывающий фрагмент), и родственные векторы экспрессии. В настоящем документе предложены векторы и комбинации векторов (например, экспрессионные векторы), содержащие полинуклеотиды, включающие нуклеотидные последовательности, кодирующие антитела против KIT, или антигенсвязывающий фрагмент для рекомбинантной экспрессии в клетках-хозяевах, предпочтительно в клетках млекопитающих. В настоящем документе также предложены клетки-хозяева, содержащие такие векторы или комбинацию векторов для рекомбинантной экспрессии антител против KIT, описанных в настоящем документе (например, человеческое или гуманизированное антитело).

Рекомбинантная экспрессия антитела, описанного в настоящем документе (например, полноразмерного антитела, тяжелой и/или легкой цепи антитела или одноцепочечного антитела, описанного в настоящем документе), которое иммуноспецифично связывается с антигеном KIT, включает конструирование вектора(ов) экспрессии, содержащих полинуклеотид(ы), которые кодируют антитело. После получения полинуклеотида, кодирующего молекулу антитела, тяжелую и/или легкую цепь антитела или его фрагмент (предпочтительно, но не обязательно, содержащий вариабельный домен тяжелой и/или легкой цепи), описанный в настоящем документе, вектор(ы) для продуцирования молекулы антитела может быть получен с помощью технологии рекомбинантной ДНК с использованием способов, хорошо известных в данной области техники. Таким образом, в настоящем документе описаны способы получения белка путем экспрессии полинуклеотида, содержащего нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело (или VH/VL, или тяжелую/легкую цепь). Способы, которые хорошо известны специалистам в данной области техники, могут быть использованы для конструирования векторов экспрессии,

содержащих последовательности, кодирующие антитело, и соответствующие сигналы контроля транскрипции и трансляции. Эти способы включают, например, методы рекомбинантной ДНК *in vitro*, синтетические методы и генетическую рекомбинацию *in vivo*. Также предложены реплицируемые векторы, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую молекулу антитела, описанную в настоящем документе, тяжелую или легкую цепь антитела, вариабельный домен тяжелой или легкой цепи антитела или его фрагмента или CDR тяжелой или легкой цепи, функционально связанные с промотором. Такие векторы могут, например, включать нуклеотидную последовательность, кодирующую константную область молекулы антитела (см., например, международные публикации № WO 86/05807 и WO 89/01036 и патент США № 5122464), и вариабельный домен антитела может быть клонирован в такой вектор для экспрессии всей тяжелой, всей легкой цепи или как всей тяжелой, так и всей легкой цепей.

В определенном воплощении в настоящем документе предложен вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий VH антитела, описанного в настоящем документе, или его антигенсвязывающий фрагмент. В определенном воплощении в настоящем документе предложен вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий VL антитела, описанного в настоящем документе, или его антигенсвязывающий фрагмент. В определенном воплощении в настоящем документе предложен вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий VH и VL антитела, описанного в настоящем документе, или его антигенсвязывающий фрагмент. В определенном воплощении в настоящем документе предложен вектор, содержащий первый полинуклеотид, кодирующий VH антитела, описанного в настоящем документе, или его антигенсвязывающий фрагмент, и второй полинуклеотид, кодирующий VL антитела или его антигенсвязывающий фрагмент. В определенном воплощении в настоящем документе предложена комбинация двух векторов, где первый вектор комбинации содержит первый полинуклеотид, кодирующий VH антитела, описанного в настоящем документе, или его антигенсвязывающий фрагмент, а второй вектор комбинации содержит второй полинуклеотид, кодирующий VL антитела или антигенсвязывающий фрагмент. В определенном воплощении в настоящем документе предложен вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь антитела, описанного в настоящем документе. В определенном воплощении в настоящем документе предложен вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий легкую цепь антитела, описанного в настоящем документе. В определенном воплощении в настоящем документе

представлен вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь и легкую цепь антитела, описанного в настоящем документе. В определенном воплощении в настоящем документе предложен вектор, содержащий первый полинуклеотид, кодирующий VH антитела, описанного в настоящем документе, и второй полинуклеотид, кодирующий VL антитела. В определенном воплощении в настоящем документе предложена комбинация двух векторов, где первый вектор комбинации содержит первый полинуклеотид, кодирующий VH антитела, описанного в настоящем документе, а второй вектор комбинации содержит второй полинуклеотид, кодирующий VL антитела.

Вектор экспрессии или комбинация векторов экспрессии могут быть перенесены в клетку (например, клетку-хозяина) обычными способами, а полученные клетки затем могут быть культивированы обычными способами для получения антитела, описанного в настоящем документе, или его фрагмента. Таким образом, в настоящем документе предложены клетки-хозяева, содержащие полинуклеотид или комбинацию полинуклеотидов, кодирующих антитело, описанное в настоящем документе, или его фрагменты, или его тяжелую или легкую цепь, или его фрагмент, или одноцепочечное антитело, описанное в настоящем документе, функционально связанные с промотором для экспрессии таких последовательностей в клетке-хозяине. В некоторых воплощениях для экспрессии двухцепочечных антител векторы, кодирующие как тяжелую, так и легкую цепи по отдельности, могут коэкспрессироваться в клетке-хозяине для экспрессии всей молекулы иммуноглобулина, как подробно описано ниже. В некоторых воплощениях клетка-хозяин содержит вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий как тяжелую цепь, так и легкую цепь (или как VH, так и VL) антитела, описанного в настоящем документе, или его фрагмент. В конкретных воплощениях клетка-хозяин содержит два разных вектора: первый вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь (или VH) антитела, описанного в настоящем документе, или его фрагмент, и второй вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий легкую цепь (или VL) антитела, описанного в настоящем документе, или его фрагмент. В других воплощениях первая клетка-хозяин содержит первый вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь (или VH) антитела, описанного в настоящем документе, или его фрагмент, а вторая клетка-хозяин содержит второй вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий легкую цепь (или VL) антитела, описанного в настоящем документе, или его фрагмент.

Для экспрессии молекул антител, описанных в настоящем документе, можно использовать различные системы экспрессии вектора в хозяине (см., например, патент США № 5807715). Такие системы экспрессии вектора в хозяине представляют собой носители, с помощью которых могут быть получены и впоследствии очищены представляющие интерес кодирующие последовательности, но они также представляют собой клетки, которые могут при трансформации или трансфекции соответствующими кодирующими нуклеотидными последовательностями экспрессировать описанную в настоящем документе молекулу антитела *in situ*. Они включают, но не ограничиваются ими, микроорганизмы, такие как бактерии (например, *E. coli* и *B. subtilis*), трансформированные векторами экспрессии рекомбинантной ДНК бактериофага, плазмидной ДНК или космидной ДНК, содержащими последовательности, кодирующие антитело; дрожжи (например, *Saccharomyces Pichia*), трансформированные рекомбинантными векторами экспрессии дрожжей, содержащими последовательности, кодирующие антитело; системы клеток насекомых, инфицированные рекомбинантными вирусными векторами экспрессии (например, бакуловирусом), содержащими последовательности, кодирующие антитела; клеточные системы растений (например, зеленые водоросли, такие как *Chlamydomonas reinhardtii*), инфицированные рекомбинантными вирусными векторами экспрессии (например, вирус мозаики цветной капусты, CaMV; вирус табачной мозаики, TMV) или трансформированные рекомбинантными плазмидными экспрессионными векторами (например, плазмидой Ti), содержащими антитела, кодирующие последовательности; или системы клеток млекопитающих (например, клетки COS, CHO, BHK, MDCK, HEK 293, NS0, PER.C6, VERO, CRL7O3O, HsS78Bst, HeLa и NIH 3T3), содержащие рекомбинантные экспрессионные конструкции, содержащие промоторы, полученные из генома клеток млекопитающих (например, промотор металлотионеина) или из вирусов млекопитающих (например, поздний промотор аденовируса; промотор 7,5К вируса осповакцины). В некоторых воплощениях клетки для экспрессии описанных здесь антител или их антигенсвязывающего фрагмента представляют собой клетки CHO, например клетки CHO из CHO GS System™ (Lonza). В некоторых воплощениях вектор экспрессии млекопитающих представляет собой POptiVEC™ или pcDNA3.3. Предпочтительно для экспрессии молекулы рекомбинантного антитела используют бактериальные клетки, такие как *Escherichia coli*, и более предпочтительно эукариотические клетки, особенно для экспрессии цельной молекулы рекомбинантного антитела. Например, клетки млекопитающих, такие как клетки яичника китайского

хомячка (CHO), в сочетании с вектором, таким как промоторный элемент основного промежуточного раннего гена цитомегаловируса человека, представляют собой эффективную систему экспрессии антител (Foecking et al., 1986, Gene 45: 101 и Cockett et al., 1990, Bio/Technology 8:2). В некоторых воплощениях антитела, описанные в настоящем документе, продуцируются клетками CHO или клетками NS0. В определенном воплощении экспрессия нуклеотидных последовательностей, кодирующих антитела, описанные в настоящем документе, которые иммуноспецифично связываются с антигеном KIT, регулируется конститутивным промотором, индуцибельным промотором или тканеспецифичным промотором.

В бактериальных системах ряд векторов экспрессии может быть предпочтительно выбран в зависимости от предполагаемого применения экспрессируемой молекулы антитела. Например, когда необходимо получить большое количество такого антитела, для создания фармацевтических композиций молекулы антитела могут быть желательны векторы, которые направляют экспрессию высоких уровней продуктов слитых белков, которые легко очищаются. Такие векторы включают, но не ограничиваются ими, вектор экспрессии *E. coli* pUR278 (Ruther et al., 1983, EMBO 12:1791), в котором последовательность, кодирующая антитело, может быть лигирована индивидуально в вектор в рамке считывания с кодирующей областью lac Z, так что продуцируется слитый белок; векторы pIN (Inouye & Inouye, 1985, Nucleic Acids Res. 13:3101-3109; Van Heeke & Schuster, 1989, J. Biol. Chem. 24:5503-5509); и тому подобное. Векторы pGEX также можно использовать для экспрессии чужеродных полипептидов в виде слитых белков с глутатион-5-трансферазой (GST). Как правило, такие слитые белки растворимы и могут быть легко очищены от лизированных клеток путем адсорбции и связывания с матричными гранулами глутатион-агарозы с последующим элюированием в присутствии свободного глутатиона. Векторы pGEX предназначены для включения сайтов расщепления протеазой тромбина или фактора Xa, так что клонированный продукт гена-мишени может высвобождаться из фрагмента GST.

В системе насекомых вирус ядерного полиэдроза *Autographa californica* (AcNPV) используют в качестве вектора для экспрессии чужеродных генов. Вирус растет в клетках *Spodoptera frugiperda*. Последовательность, кодирующую антитело, можно клонировать по отдельности в несущественные области (например, ген полиэдрина) вируса и поместить под контроль промотора AcNPV (например, промотора полиэдрина).

В клетках-хозяевах млекопитающих можно использовать ряд систем экспрессии на основе вирусов. В случаях, когда в качестве вектора экспрессии используется аденовирус, представляющая интерес последовательность, кодирующая антитело, может быть лигирована с комплексом контроля транскрипции/трансляции аденовируса, например, с поздним промотором и трехчастной лидерной последовательностью. Затем этот химерный ген может быть встроен в геном аденовируса посредством рекомбинации *in vitro* или *in vivo*. Вставка в несущественную область вирусного генома (например, область E1 или E3) приведет к рекомбинантному вирусу, который является жизнеспособным и способен экспрессировать молекулу антитела в инфицированных хозяевах (например, см. Logan & Shenk, 1984, Proc. Natl.Acad.Sci.USA 8 1:355-359). Специфические инициирующие сигналы также могут быть необходимы для эффективной трансляции встроенных последовательностей, кодирующих антитела. Эти сигналы включают кодон инициации ATG и соседние последовательности. Кроме того, инициирующий кодон должен быть в фазе с рамкой считывания желаемой кодирующей последовательности, чтобы гарантировать трансляцию всей вставки. Эти экзогенные сигналы контроля трансляции и кодоны инициации могут иметь различное происхождение, как естественное, так и синтетическое. Эффективность экспрессии может быть повышена путем включения соответствующих элементов-энхансеров транскрипции, терминаторов транскрипции и т.д. (см., например, Bittner et al., 1987, Methods in Enzymol. 153:51-544).

Кроме того, может быть выбран штамм клетки-хозяина, который модулирует экспрессию встроенных последовательностей или модифицирует и процессирует генный продукт желаемым специфическим образом. Такие модификации (например, гликозилирование) и процессинг (например, расщепление) белковых продуктов могут быть важны для функции белка. Различные клетки-хозяева имеют характерные и специфические механизмы посттрансляционного процессинга и модификации белков и генных продуктов. Подходящие клеточные линии или системы-хозяева могут быть выбраны для обеспечения правильной модификации и процессинга экспрессируемого чужеродного белка. С этой целью можно использовать эукариотические клетки-хозяева, которые обладают клеточным механизмом для надлежащего процессинга первичного транскрипта, гликозилирования и фосфорилирования генного продукта. Такие клетки-хозяева млекопитающих включают, но не ограничиваются ими, клетки CHO, VERO, BHK, Hela, COS, MDCK, HEK 293, NIH 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT2O и T47D, NS0 (линия клеток мышиной миеломы, которая не эндогенно

продуцируют любые цепи иммуноглобулина), CRL7O3O и HsS78Bst. В некоторых воплощениях гуманизированные моноклональные антитела против KIT, описанные в настоящем документе, продуцируются в клетках млекопитающих, таких как клетки CHO.

Для долгосрочной выработки рекомбинантных белков с высоким выходом предпочтительна стабильная экспрессия. Например, можно сконструировать клеточные линии, которые стабильно экспрессируют молекулу антитела. Вместо использования векторов экспрессии, которые содержат вирусные точки начала репликации, клетки-хозяева могут быть трансформированы ДНК, контролируемой соответствующими элементами контроля экспрессии (например, промотором, энхансером, последовательностями, терминаторами транскрипции, сайтами полиаденилирования и т. д.) и селектируемым маркером. После введения чужеродной ДНК сконструированным клеткам можно дать расти в течение 1-2 дней в обогащенной среде, а затем перевести их в селективную среду. Селектируемый маркер в рекомбинантной плазмиде придает устойчивость к селекции и позволяет клеткам стабильно интегрировать плазмиду в свои хромосомы и расти с образованием очагов, которые, в свою очередь, могут быть клонированы и размножены в клеточные линии. Этот способ можно успешно использовать для создания клеточных линий, которые экспрессируют молекулу антитела. Такие сконструированные клеточные линии могут быть особенно пригодны для скрининга и оценки композиций, которые прямо или косвенно взаимодействуют с молекулой антитела.

Можно использовать ряд систем селекции, включая, но не ограничиваясь ими, тимидинкиназу вируса простого герпеса (Wigler *et al.*, 1977, Cell 11:223), гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазу (Szybalska & Szybalski, 1992, Proc. Natl., Acad. Sci. USA 48:202), и гены аденинфосфорибозилтрансферазы (Lowy *et al.*, 1980, Cell 22:8-17), которые могут быть использованы в tk-, hgprt- или aprt-клетках, соответственно. Кроме того, устойчивость к антиметаболитам можно использовать в качестве основы для селекции следующих генов: dhfr, который придает устойчивость к метотрексату (Wigler *et al.*, 1980, Natl. Acad. Sci. USA 77:357; O'Hare et al., 1981, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 78:1527); *gpt*, придающий устойчивость к микофеноловой кислоте (Mulligan & Berg, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072); neo, придающий устойчивость к аминогликозиду G-418 (Wu and Wu, 1991, Biotherapy 3:87-95; Tolstoshev, 1993, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596; Mulligan, 1993, Science 260: 926-932 и Morgan and Anderson, 1993, Ann.Rev.Biochem.62:191-217, May 1993, TIB

TECH 11(5):155-215); и *hygro*, придающий устойчивость к гигромицину (Santerre *et al.*, 1984, Gene 30:147). Для выбора желаемого рекомбинантного клона можно обычным образом применять способы, широко известные в области техники рекомбинантных ДНК, и такие способы описаны, например, в публикациях Ausubel *et al.* (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993); Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990); и в главах 12 и 13, Dracopoli *et al.* (eds.), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994); Colberre-Garapin *et al.*, 1981, J. Mol. Biol. 150:1, которые полностью включены в настоящее описание посредством ссылки.

Уровни экспрессии молекулы антитела можно повысить путем амплификации вектора (обзор см. в Bebbington and Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3 (Academic Press, New York, 1987)). Когда маркер в векторной системе, экспрессирующей антитело, является амплифицируемым, увеличение уровня ингибитора, присутствующего в культуре клетки-хозяина, будет увеличивать количество копий маркерного гена. Поскольку амплифицированная область связана с геном антитела, выработка антитела также будет увеличиваться (Crouse et al., 1983, Mol. Cell. Biol. 3:257).

Клетка-хозяин может быть котрансфицирована двумя или более экспрессионными векторами, описанными в настоящем документе, первым вектором, кодирующим полипептид, полученный из тяжелой цепи, и вторым вектором, кодирующим полипептид, полученный из легкой цепи. Два вектора могут содержать идентичные селектируемые маркеры, которые обеспечивают равную экспрессию полипептидов тяжелой и легкой цепей. Клетки-хозяева могут быть совместно трансфицированы различными количествами двух или более векторов экспрессии. Например, клетки-хозяева могут быть трансфицированы любым из следующих соотношений первого вектора экспрессии и второго вектора экспрессии: 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:12, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:35, 1:40, 1:45 или 1:50.

В качестве альтернативы можно использовать один вектор, который кодирует и способен экспрессировать полипептиды как тяжелой, так и легкой цепи. В таких ситуациях легкая цепь должна быть помещена перед тяжелой цепью, чтобы избежать избытка токсичной свободной тяжелой цепи (Proudfoot, 1986, Nature 322:52; и Kohler, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:2197-2199). Кодирующие последовательности для тяжелой и легкой цепей могут содержать кДНК или геномную ДНК. Вектор экспрессии

может быть моноцистронным или мультицистронным. Конструкция мультицистронной нуклеиновой кислоты может кодировать 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более или в диапазоне 2-5, 5-10 или 10-20 генов/нуклеотидных последовательностей. Например, конструкция бицистронной нуклеиновой кислоты может содержать в следующем порядке промотор, первый ген (например, тяжелую цепь антитела, описанного в настоящем документе), второй ген и (например, легкую цепь антитела, описанного в настоящем документе). В таком векторе экспрессии транскрипция обоих генов может управляться промотором, тогда как трансляция мРНК первого гена может осуществляться с помощью кэп-зависимого механизма сканирования, а трансляция мРНК второго гена может осуществляться с помощью независимого от кэпа механизма, например, IRES (внутренний сайт посадки рибосомы).

Как только молекула антитела, описанная в настоящем документе, получена путем рекомбинантной экспрессии, ее можно очистить любым способом, известным в данной области техники для очистки молекулы иммуноглобулина, например, хроматографией (например, ионным обменом, аффинной, в частности, аффинной для специфического антигена после белка А и калибровочной колоночной хроматографии), центрифугированием, дифференциальной растворимостью или любым другим стандартным методом очистки белков. Кроме того, антитела, описанные в настоящем документе, могут быть слиты с гетерологичными полипептидными последовательностями, описанными в настоящем документе или иным образом известными в данной области техники, для облегчения очистки.

В конкретных воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, выделено или очищено. Как правило, выделенное антитело представляет собой такое антитело, которое по существу не содержит других антител с антигенной специфичностью, отличной от выделенного антитела. Например, в конкретном вполощении препарат антитела, описанный в настоящем документе, практически не содержит клеточного материала и/или химических предшественников. Термин «по существу не содержит клеточного материала» включает препараты антитела, в которых антитело отделено от клеточных компонентов клеток, из которых оно выделено или рекомбинантно получено. Таким образом, антитело, по существу не содержащее клеточного материала, включает препараты антитела, содержащие менее примерно 30%, 20%, 10%, 5%, 2%, 1%, 0,5% или 0,1% (по сухой массе) гетерологичного белка (также называемого в настоящем документе «загрязняющим белком») и/или варианты антитела, например, разные посттрансляционно модифицированные формы антитела

или другие различные варианты антител (например, фрагменты антител). Когда антитело получено рекомбинантно, оно также, как правило, практически не содержит культуральной среды, т.е. культуральная среда составляет менее примерно 20%, 10%, 2%, 1%, 0,5% или 0,1% объема белкового препарата. Когда антитело получают путем химического синтеза, оно обычно по существу не содержит химических предшественников или других химических веществ, т.е. оно отделено от химических предшественников или других химических веществ, которые участвуют в синтезе белка. Соответственно, такие препараты антитела содержат менее примерно 30%, 20%, 10% или 5% (по сухой массе) химических предшественников или соединений, отличных от интересующего антитела. В определенном воплощении описанные в настоящем документе антитела выделяют или очищают.

5.4 Выработка антител

Антитела (например, человеческие или гуманизированные антитела), описанные в настоящем документе (или их антигенсвязывающий фрагмент), которые иммуноспецифично связываются с антигеном KIT, могут быть получены любым способом, известным в данной области техники для синтеза антител, например, химическим синтезом или методами рекомбинантной экспрессии. В конкретном аспекте в настоящем документе предложены способы получения антитела, описанного в настоящем документе, включающие культивирование и/или экспрессию такого антитела с использованием клетки-хозяина, описанной в настоящем документе, где указанные способы возможно дополнительно включают очистку антитела, полученного из клетки-хозяина. В способах, описанных в настоящем документе, используются, если не указано иное, обычные методы молекулярной биологии, микробиологии, генетического анализа, рекомбинантной ДНК, органической химии, биохимии, ПЦР, синтеза и модификации олигонуклеотидов, гибридизации нуклеиновых кислот и смежных областей в рамках данной области техники. Эти методы описаны в ссылках, цитируемых здесь, и полностью объяснены в литературе. См., например, публикации Maniatis *et al.* (1982) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook *et al.* (1989), Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook *et al.* (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel *et al.,* Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons (1987 и ежегодные обновления); Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons (1987 и ежегодные обновления) Gait (ed.) (1984) Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, IRL Press;

Eckstein (ed.) (1991) Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, IRL Press; Birren *et al.* (eds.) (1999) Genome Analysis: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Например, гуманизированные антитела могут быть получены с использованием различных способов, известных в данной области техники, включая, но не ограничиваясь ими, прививку CDR (Европейский патент № EP 239,400; международная публикация № WO 91/09967; и патенты США 5225539, 5530101 и 5585089), винирование (veneering) или изменение поверхности (resurfacing) (Европейские патенты EP 592,106 и EP 519,596; Padlan, 1991, Molecular Immunology 28(4/5):489-498; Studnicka *et al.*, 1 994, Protein Engineering 7(6):805-814 и Roguska *et al.*, 1994, PNAS 91:969-973), перестановку цепей (патент США № 5565332) и способы, раскрытые, например, в патенте США № 6407213, патенте США. № 5766886, WO 9317105, Tan *et al.,* J. Immunol. 169: 1119 25 (2002), Caldas *et al.,* Protein Eng. 13(5):353-60 (2000), Morea *et al.,* Methods 20(3):267 79 (2000), Baca *et al.,* J. Biol. Chem.272(16): 10678-84 (1997), Roguska *et al.,* Protein Eng. 9(10):895 904 (1996), Couto *et al.,* Cancer Res. 55 (23 Supp):5973s- 5977s (1995), Couto *et al.,* Cancer Res. 55(8): 1717-22 (1995), Sandhu JS, Gene 150(2):409-10 (1994) и Pedersen *et al.,* J. Mol. Biol. 235(3):959-73 (1994). См. также патентную публикацию США № US 2005/0042664 A1 (24 февраля 2005 г.), которая включена в настоящее описание посредством ссылки.

Моноклональные антитела могут быть получены с использованием широкого спектра методов, известных в данной области техники, включая использование технологий гибридомы, рекомбинантных технологий и технологий фагового дисплея или их комбинации. Например, моноклональные антитела могут быть получены с использованием методов гибридомы, включая методы, известные в данной области техники и описанные, например, в Harlow *et al.*, Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbour Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling *et al.*, в: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563 681 (Elsevier, NY, 1981). Используемый здесь термин «моноклональное антитело» не ограничивается антителами, полученными с помощью гибридомной технологии. Например, моноклональные антитела могут быть получены с помощью рекомбинантной технологии, т.е. рекомбинантные моноклональные антитела, экспрессируемые клеткой-хозяином, такой как клетка-хозяин млекопитающего.

Способы получения и скрининга специфических антител с использованием гибридомной технологии являются обычными и хорошо известны в данной области

техники. Например, в гибридомном методе мышь или другое подходящее животное-хозяин, такое как овца, коза, кролик, крыса, хомяк или макака, иммунизируют для получения лимфоцитов, которые продуцируют или способны продуцировать антитела, которые будут специфично связываться с белком (например, внеклеточным доменом KIT человека), используемым для иммунизации. Альтернативно лимфоциты могут быть иммунизированы *in vitro*. Затем лимфоциты сливают с клетками миеломы с использованием подходящего связующего агента, такого как полиэтиленгликоль, с образованием гибридомной клетки (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)). Кроме того, для иммунизации животного можно использовать методику RIMMS (повторяющаяся иммунизация в несколько мест) (Kilptrack *et al.*, 1997 Hybridoma 16:381-9, которая включена в настоящее описание посредством ссылки).

Неограничивающие примеры клеточных линий миеломы включают линии мышиной миеломы, такие как полученные из опухолей мышей MOPC-21 и MPC-11, доступные в Центре распространения клеток Института Солка, Сан-Диего, Калифорния, США, и клетки SP-2 или X63-Ag8.653, доступные из Американской коллекции типовых культур, Роквилл, Мэриленд, США. Клеточные линии миеломы человека и гетеромиеломы мыши-человека также были описаны для выработки моноклональных антител человека (Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur *et al.*, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, p. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., Нью-Йорк, 1987)). [00157] Антитела, описанные в настоящем документе, включают фрагменты антител, которые распознают специфические антигены KIT, и могут быть получены любым способом, известным специалистам в данной области техники. Например, Fab- и $F(ab')_2$-фрагменты, описанные в настоящем документе, могут быть получены протеолитическим расщеплением молекул иммуноглобулина с использованием таких ферментов, как папаин (для получения Fab-фрагментов) или пепсин (для получения $F(ab')_2$-фрагментов). Фрагмент Fab соответствует одному из двух идентичных плеч молекулы антитела и содержит полную легкую цепь в паре с доменами VH и CHI тяжелой цепи. Фрагмент $F(ab')_2$ содержит два антигенсвязывающих плеча молекулы антитела, связанные дисульфидными связями в шарнирной области.

В одном аспекте для получения полных антител можно использовать праймеры для ПЦР, включающие нуклеотидные последовательности VH или VL, сайт рестрикции и фланкирующую последовательность для защиты сайта рестрикции, для

амплификации последовательностей VH или VL из матрицы, например, клоны scFv. Используя методики клонирования, известные специалистам в данной области техники, амплифицированные с помощью ПЦР домены VH можно клонировать в векторы, экспрессирующие константную область VH, а амплифицированные с помощью ПЦР домены VL можно клонировать в векторы, экспрессирующие константную область VL, например каппа- или лямбда-постоянные области. Домены VH и VL также можно клонировать в один вектор, экспрессирующий необходимые константные области. Затем векторы конверсии тяжелой цепи и векторы конверсии легкой цепи совместно трансфицируют в клеточные линии для получения стабильных или транзиторных клеточных линий, которые экспрессируют полноразмерные антитела, например, IgG, с использованием методов, известных специалистам в данной области техники.

Однодоменные антитела, например, антитела, лишенные легких цепей, могут быть получены способами, хорошо известными в данной области техники. См. Riechmann *et al.* , 1999, J. Immunol. 231:25-38; Nuttall et al., 2000, Curr. Pharm. Biotechnol. 1 (3):253-263; Muylderman, 2001, J. iotechnol. 74(4):277302; патент США №6005079 и международные публикации № WO 94/04678, WO 94/25591 и WO 01/44301.

5.5 Способы лечения и медицинское применение

В настоящем документе предложены способы препятствования, предупреждения, защиты от, лечения и/или сдерживания KIT-ассоциированного расстройства или заболевания. Такие способы включают введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества антитела против KIT, описанного в настоящем документе (например, гуманизированных антител), их антигенсвязывающих фрагментов, их конъюгатов или фармацевтической композиции, описанной в настоящем документе. В некоторых аспектах в настоящем документе также предложены способы предупреждения, препятствования, защиты от, лечения или сдерживания одного или более симптомов KIT-ассоциированного расстройства или заболевания.

В конкретных воплощениях способы, описанные в настоящем документе для лечения KIT-ассоциированного расстройства или заболевания, обеспечивают снижение или улучшение прогрессирования, тяжести и/или продолжительности KIT-ассоциированного расстройства или заболевания, возникающего в результате введения одного или более терапевтических средств (включая, но не ограничиваясь этим, введение одного или более профилактических или терапевтических агентов, таких как

антитела против KIT, описанные в настоящем документе). В дополнительных конкретных воплощениях способы, описанные в настоящем документе для лечения KIT-ассоциированного расстройства или заболевания, относятся к уменьшению одного или более симптомов KIT-ассоциированного расстройства или заболевания. В конкретных воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, или его антигенсвязывающий фрагмент, или его конъюгат, или фармацевтическая композиция, описанная в настоящем документе, предназначены для применения для защиты от KIT-ассоциированного расстройства, лечения или контроля над ним. В конкретном воплощении KIT-ассоциированное заболевание или расстройство, которое лечат или контролируют, или против которого защищают антителом против KIT, описанным в настоящем документе, или его антигенсвязывающим фрагментом, или его конъюгатом, или фармацевтической композицией, описанной в настоящем документе, связаны с экспрессией и/или активностью KIT, например, включает клетки, экспрессирующие KIT и/или проявляющие активность KIT, но не вызываемые или являющиеся результатом экспрессии или активности в отношении KIT.

В определенном воплощении антитело, используемое в способах, описанных в настоящем документе, интернализуется клеткой, с которой оно связывается. В конкретном воплощении в способах, описанных в настоящем документе, используется конъюгат, где конъюгат содержит антитело, описанное в настоящем документе (например, гуманизированное антитело против KIT), или его KIT-связывающий фрагмент. В определенном воплощении конъюгат содержит антитело, описанное в настоящем документе (например, гуманизированное антитело против KIT), или его KIT-связывающий фрагмент, ковалентно или нековалентно связанный с терапевтическим агентом, таким как токсин. В определенном воплощении конъюгат, используемый в описанных здесь способах, интернализуется в клетку, с которой он связывается.

В некоторых воплощениях KIT аберрантно (например, сильно) экспрессируется клетками, например, KIT сверхэкспрессируется. В конкретных воплощениях экспрессия KIT (например, на клеточной поверхности) по меньшей мере примерно на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% выше, чем экспрессия KIT на поверхности контрольной клетки (например, клетки, экспрессирующей нормальные уровни KIT, например, нормальной, например, человеческой, тучной клетки, стволовой клетки, клетки мозга, меланобласта или клетки яичника). В конкретных воплощениях экспрессия KIT обеспечивает по меньшей мере примерно на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%,

60%, 70%, 80%, 90% или 100% более высокую экспрессию KIT на клеточной поверхности, чем средняя экспрессия KIT на поверхности контрольной клеточной популяции (например, клеточной популяции, экспрессирующей нормальные уровни KIT, например, нормальной, например, человека, популяции тучных клеток, популяции стволовых клеток, популяции клеток головного мозга, популяции меланобластов или популяции клеток яичника). В конкретных воплощениях такие контрольные клетки могут быть получены или дериватизированы от здорового человека (например, здорового человека). В некоторых воплощениях KIT может аберрантно активироваться в конкретном типе клеток, независимо от того, экспрессируется ли KIT аберрантно на клеточной поверхности. В конкретных воплощениях передача сигналов KIT или активность могут быть аберрантно усилены в конкретном типе клеток, независимо от того, экспрессируется ли KIT аберрантно на клеточной поверхности. В конкретных воплощениях передача сигналов KIT по меньшей мере примерно на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% выше, чем передача сигналов KIT контрольной клетки (например, клетки, содержащей нормальную передачу сигналов KIT, например, тучной клеткм, стволовой клетки, клетки мозга, меланобласта или клетки яичника). В конкретных воплощениях передача сигналов KIT по меньшей мере примерно на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% выше, чем средняя передача сигналов KIT в контрольной клеточной популяции (например, популяции клеток, проявляющей нормальную передачу сигналов KIT, например нормальной, например, человеческой, популяции тучных клеток, популяции стволовых клеток, популяции клеток головного мозга, популяции меланобластов или популяции клеток яичника). В некоторых воплощениях нормальная, аберрантная или чрезмерная клеточная передача сигналов вызвана связыванием KIT с лигандом KIT. В других воплощениях аберрантная или чрезмерная клеточная передача сигналов происходит независимо от связывания KIT с лигандом KIT.

В некоторых аспектах KIT-ассоциированное расстройство или заболевание может характеризоваться усилением функции KIT, повышением активности KIT или сверхэкспрессией KIT. В одном воплощении связанное с KIT расстройство или заболевание полностью или частично вызвано или является результатом активности или экспрессии KIT с усилением функции, например, сверхэкспрессии KIT. В некоторых воплощении активность KIT с усилением функции может происходить независимо от связывания лиганда KIT (например, SCF) с рецептором KIT. В конкретных аспектах высокая или сверхэкспрессия KIT в клетке относится к уровню

экспрессии, который по меньшей мере примерно на 35%, 45%, 55% или 65% выше, чем уровень экспрессии эталонной клетки, о которой известно, что она имеет нормальную экспрессию KIT или активность KIT или более чем средний уровень экспрессии KIT в популяции клеток или образцов, о которых известно, что они имеют нормальную экспрессию KIT или активность KIT. Уровни экспрессии KIT можно оценить способами, описанными в настоящем документе или известными специалистам в данной области техники (например, вестерн-блоттингом или иммуноисторихимией). В конкретных воплощениях KIT-ассоциированное расстройство или заболевание характеризуется активностью KIT, которая выше нормальной активности KIT и способствует клеточной трансформации, неоплазии и онкогенезу. В конкретных аспектах высокая или повышенная активность KIT в клетке относится к уровню активности KIT, который по меньшей мере примерно на 35%, 45%, 55% или 65% выше, чем уровень экспрессии эталонной клетки, о которой известно, что она имеет нормальную активность KIT, или выше среднего уровня активности KIT в популяции клеток или образцов, о которых известно, что они имеют нормальную активность KIT. Неограничивающие примеры активности KIT включают фосфорилирование тирозина цитоплазматического домена KIT и передачу сигналов после KIT, такую как передача сигналов Stat или Akt.

В некоторых воплощениях KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство, расстройство, связанное с эозинофилами, рак, астму, воспалительное состояние, ревматоидный артрит, аллергическое воспаление, воспалительное заболевание кишечника, желудочно-кишечное расстройство или фиброз. В некоторых воплощениях расстройство, связанное с KIT, представляет собой фиброз или воспалительное заболевание, например, воспалительное заболевание кишечника (IBD), такое как болезнь Крона (CD) или язвенный колит (UC). В других воплощениях KIT-ассоциированное заболевание представляет собой рак, такой как рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого), лейкоз, нейробластому, меланому, саркому (например, саркому Юинга) или гастроинтестинальную стромальную опухоль (GIST). В других воплощениях KIT-ассоциированное заболевание представляет собой системное заболевание тучных клеток (например, мастоцитоз), гематологическое заболевание, фиброз (например, идиопатический легочный фиброз (TPF), склеродермию или миелофиброз) или воспалительное состояние, такое как астма, ревматоидный артрит, воспалительное заболевание кишечника или аллергическое воспаление.

В некоторых воплощениях KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство. В некоторых воплощениях KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит (EoE).

Тучные клетки, полученные из клеток-предшественников костного мозга, представляют собой крупные клетки, обнаруживаемые в соединительных тканях по всему телу, наиболее обильно в подслизистых тканях и дерме. Они содержат большие гранулы, в которых хранятся различные молекулы медиаторов, включая вазоактивный амин гистамин, и имеют высокоаффинные рецепторы Fes (FcsRI), которые позволяют им связывать мономеры IgE. Связывание антигена с IgE, связанным с тучными клетками, вызывает дегрануляцию и активацию тучных клеток, вызывая местную или системную реакцию гиперчувствительности немедленного типа. Следовательно, тучные клетки играют важную роль в воспалительных и аллергических реакциях. Однако без надлежащего баланса и регуляции тучные клетки также могут быть ответственны за преувеличенные пагубные реакции на антиген, наблюдаемые при таких расстройствах, как анафилаксия, атопия и ринит.

Передача сигналов KIT важна для развития тучных клеток и гомеостаза, например, экспансии тучных клеток из их клеток-предшественников и их последующего созревания и выживания в их резидентных тканях, возвращения тучных клеток в места их проживания *in vivo* и стимулирования адгезии тучных клеток к белкам внеклеточного матрикса. Мутации активации KIT, такие как аминокислотные остатки 816 или 560 KIT, были связаны с мастоцитозом, характеризующимся перепроизводством тучных клеток, и гастроинтестинальными стромальными клеточными опухолями (GIST).

В конкретном воплощении описанный в настоящем документе способ защиты от, лечения или контролирования KIT-опосредованного расстройства, например, фиброза или воспалительного состояния (например, астмы, ревматоидного артрита, воспалительного заболевания кишечника и аллергического воспаления), у субъекта при необходимости может достичь по меньшей мере одного, двух, трех, четырех или более из следующих эффектов благодаря введению терапевтически эффективного количества антитела против KIT, описанных в настоящем документе: (i) уменьшение или улучшение тяжести фиброза или воспалительного состояния (например, астмы, ревматоидного артрита, воспалительного заболевания кишечника и аллергического воспаления) и/или одного или более связанных с ним симптомов; (ii) уменьшение

продолжительности одного или более симптомов, связанных с фиброзом или воспалительным состоянием (например, астмой, ревматоидным артритом, воспалительным заболеванием кишечника и аллергическим воспалением); (iii) предупреждение рецидива фиброза или воспалительного состояния (например, астмы, ревматоидного артрита, воспалительного заболевания кишечника и аллергического воспаления); (iv) сокращение количества госпитализаций субъекта; (v) сокращение продолжительности госпитализации; (vi) ингибирование (например, частичное ингибирование) прогрессирования фиброза или воспалительного состояния (например, астмы, ревматоидного артрита, воспалительного заболевания кишечника и аллергического воспаления) и/или одного или более симптомов, связанных с ними; (vii) усиление или улучшение терапевтического эффекта другой терапии (например, противовоспалительной терапии, такой как стероиды); (viii) увеличение количества пациентов в состоянии ремиссии (т.е. период времени, характеризующийся отсутствием или минимальными симптомами, связанными с воспалительным состоянием); (ix) увеличение продолжительности ремиссии у больных; (x) снижение частоты госпитализаций; (xi) уменьшение количества симптомов, связанных с фиброзом или воспалительным состоянием (например, астмой, ревматоидным артритом, воспалительным заболеванием кишечника и аллергическим воспалением); (xii) снижение концентрации одного или более медиаторов воспаления (например, цитокинов или интерлейкинов) в биологических образцах (например, плазме, сыворотке, спинномозговой жидкости, моче или любых других биологических жидкостях) субъекта с фиброзом или воспалительным состоянием (например, астмой, ревматоидным артритом, воспалительным заболеванием кишечника и аллергическим воспалением); и (xiii) улучшение качества жизни, оцениваемое методами, хорошо известными в данной области техники, например, анкетированием.

Другие неограничивающие примеры расстройств или заболеваний, связанных с KIT, включают системные нарушения тучных клеток (например, мастоцитоз), гематологические нарушения, фиброз (например, идиопатический легочный фиброз (TPF), склеродермию или миелофиброз).

Используемые в настоящем документе термины «связанное с тучными клетками расстройство» или «связанные с тучными клетками расстройства» относятся к нарушениям, при которых активность тучных клеток вносит вклад в патологию и/или тучные клетки обнаруживаются в аномальных количествах, таких как количества выше нормы или ниже нормы, в различных частях тела. Например, расстройства, связанные с

тучными клетками, могут демонстрировать накопление патологических тучных клеток потенциально в любом или всех органах и тканях и/или аберрантное высвобождение одного или более медиаторов тучных клеток, таких как медиаторы воспаления. Неограничивающие примеры медиаторов воспаления, высвобождаемых тучными клетками, включают любой из: (i) медиаторов, ассоциированных с гранулами, включая гистамин, серотонин (5-гидрокситриптамин) и различные протеазы и пептидазы; (ii) эйкозаноидов, таких как простагландин D2 (PGD2) и лейкотриен C4 (LTC4); и (iii) цитокинов, включая интерлейкин-2 (IL-2), IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), и фактор некроза опухоли (TNFa), и хемокины, включая CCL-2, CCL-3, CCL-5 и CXCL8.

В конкретном аспекте связанное с тучными клетками расстройство, представляет собой связанное с тучными клетками расстройство нервной системы, например центральной нервной системы, такое как NMO, NMOSD, MS или NF (например, NF типа 1 (NF1), NF типа 2 (NF2) или шванноматоз).

MS представляет собой хроническое воспалительное демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы (головного и спинного мозга), включающее эпизоды, при которых белое вещество в головном или спинном мозге воспаляется, а затем повреждается собственной иммунной системой индивидуума. Эти воспаленные участки покрываются рубцами в головном и спинном мозге. Повреждение нарушает способность частей нервной системы общаться, что приводит к множеству симптомов, включая физические, умственные и/или психические проблемы. Формы рассеянного склероза включают, помимо прочего, рецидивирующие формы, при которых симптомы возникают либо в виде изолированных приступов, либо прогрессирующие формы, при которых симптомы нарастают с течением времени. Были описаны рекомендации по диагностике рассеянного склероза, см., например, National Collaborating Centre for Chronic Conditions (UK), "Multiple Sclerosis: National Clinical Guideline for Diagnosis and Management in Primary and Secondary Care," London: Royal College of Physicians (UK), 2004, (NICE Clinical Guidelines, No. 8.), доступно по адресу: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK48919/. Симптомы рассеянного склероза могут проявляться в виде любых неврологических симптомов или признаков, таких как вегетативные, зрительные, моторные и сенсорные проблемы. Неограничивающие примеры симптомов рассеянного склероза включают потерю чувствительности или изменения чувствительности, такие как покалывание, покалывание или онемение, мышечную слабость, очень выраженные рефлексы, мышечные спазмы или трудности в

движении, трудности с координацией и равновесием (атаксия), проблемы с речью или глотанием, проблемы со зрением (нистагм, неврит зрительного нерва или двоение в глазах), усталость, острая или хроническая боль, проблемы с мочевым пузырем и кишечником, эмоциональные проблемы, такие как депрессия или нестабильное настроение, феномен Утхоффа (ухудшение симптомов из-за воздействия более высокой, чем обычно, температуры) и симптом Лермитта (ощущение электрического тока, которое проходит по спине при сгибании шеи). В конкретных аспектах в настоящем документе предложены способы защиты, лечения, облегчения или контролирования одного или более из этих симптомов MS путем введения нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества антитела, которое специфично связывается с KIT (например, человеческим KIT) или его антигенсвязывающего фрагмента.

Другие неограничивающие примеры связанных с тучными клетками расстройств включают, например, анафилаксию, атопическое заболевание, синдром активации тучных клеток, аллергический ринит, аллергию, связанную с пищевыми продуктами и ядом (например, древесным орехом, моллюсками, рыбой, ядом перепончатокрылых или аллергией на укусы пчел), псориаз, атопический дерматит, розацеа, экзему, тубулоинтерстициальный нефрит, гломерулонефрит, диабетическую нефропатию, отторжение аллотрансплантата, амилоидоз, реноваскулярную ишемию, рефлюкс-нефропатию, поликистоз почек, лекарственную нефропатию, посттрансплантационный ионный фиброз и фиброз печени (например, из-за употребления алкоголя, вирусного гепатита B и C и неалкогольного стеатогепатита (NASH)), паразитарной инфекции (например, шистосомоза, амебиаза, эхинококкоза) и не-IgE-опосредованной активации тучных клеток, такой как ангионевротический отек и анафилаксия.

В качестве альтернативы связанное с тучными клетками расстройство может представлять собой крапивницу, в частности хроническую крапивницу, включая хроническую спонтанную крапивницу, хроническую идиопатическую крапивницу и хроническую индуцированную крапивницу (т.е. хроническую индуцированную крапивницу (CIndU)). В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство представляет собой хроническую индуцированную крапивницу. Хроническая индуцированная крапивница представляет собой формы крапивницы, которые имеют связанный с ними атрибутивный триггер, обычно приводящий к появлению волдырей (уртикарной сыпи) или ангионевротического отека. В конкретном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой холодовую

крапивницу (ColdU). Люди с холодовой крапивницей испытывают такие симптомы, как зуд, жгучие волдыри и ангионевротический отек, когда их кожа подвергается воздействию температур ниже температуры кожи. В другом конкретном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой симптоматический дермографизм (SD). Симптоматический дермографизм характеризуется развитием волдыря и воспалительной реакции в ответ на поглаживание, царапание или растирание кожи и обычно возникает в течение нескольких минут после провоцирующего раздражителя. В другом конкретном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой холинергическую крапивницу. Холинергическая крапивница вызывается реакцией потоотделения организма на активное или пассивное согревание и характеризуется появлением небольших (1–4 мм) волдырей, окруженных ярко-красными вспышками. Общие триггеры включают физические упражнения, горячие ванны/души, лихорадку, окклюзионные повязки, употребление острой пищи и эмоциональный стресс. В другом конкретном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой тепловую крапивницу. В другом конкретном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой замедленную крапивницу, вызванную давлением. В другом конкретном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой солнечную крапивницу. В другом конкретном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой вибрационную крапивницу. В другом конкретном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой контактную крапивницу. В другом конкретном воплощении хроническая индуцированная крапивница представляет собой аквагенную крапивницу. Для лечения хронической индуцированной крапивницы одобренной терапией являются антигистаминные агенты.

В различных воплощениях изобретения у пациента, имеющего связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одно или более предшествующих лечений расстройства оказалось неэффективным. В некоторых воплощениях одно или более предшествующих лечений включают по меньшей мере один стандарт терапии указанного расстройства. В некоторых воплощениях одно или более предшествующих лечений представляют собой стандарт терапии указанного расстройства. В некоторых воплощениях у пациента, имеющего связанное с тучными клетками расстройство,

такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, лечение (-я) расстройства антигистаминными агентами оказалось неэффективным. В конкретных воплощениях у пациента, имеющего связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, лечение (-я) расстройства H1-антигистаминными агентами оказалось неэффективным. В конкретных воплощениях у пациента, имеющего связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, лечение (-я) расстройства H2-антигистаминными агентами оказалось неэффективным. В конкретных воплощениях у пациента, имеющего связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, лечение расстройства как H1-, так и H2-антигистаминными агентами оказалось неэффективным. В некоторых воплощениях у пациента, имеющего связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, лечение расстройства одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов оказалось неэффективным. В некоторых воплощениях у пациента, имеющего связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, лечение расстройства одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами оказалось неэффективным. В конкретных воплощениях у пациента, имеющего связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, лечение расстройства ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, оказалось неэффективным. В конкретных воплощениях у пациента, имеющего связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, лечение расстройства ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например

дупилумабом (Dupixent®), оказалось неэффективным. В конкретных воплощениях у пациента, имеющего связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, лечение расстройства ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®) оказалось неэффективным. В конкретных воплощениях у пациента, имеющего связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, лечение расстройства ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, оказалось неэффективным. В конкретных воплощениях у пациента, имеющего связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, лечение расстройства ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, оказалось неэффективным. В конкретных воплощениях у пациента, имеющего связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, лечение расстройства ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или антитело против TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), оказалось неэффективным. В конкретных воплощениях у пациента с расстройством, связанным с тучными клетками, таким как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, лечение расстройства ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом, оказалось неэффективным. В конкретных воплощениях у пациента с расстройством, связанным с тучными клетками, таким как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, лечение расстройства ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738, оказалось неэффективным. В некоторых воплощениях у пациента, имеющего связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, лечение (-я) расстройства одним или более ингибиторами тирозинкиназы Брутона (BTK), например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом

оказалось неэффективным. В некоторых воплощениях пациент, имеюший связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит: (1) лечение (-я) антигистаминными агентами (например, лечение (-я) H1- и/или H2-антигистаминными агентами), (2) лечение (-я) одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, (3) лечение (-я) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, IgE ингибитором, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом, и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738), и/или (4) лечение (-я) одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом, оказалось неэффективным для лечения расстройства. В некоторых воплощениях у пациента, имеющего связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит: (1) антигистаминное лечение (-я) (например, H1- и/ или H2-антигистаминное лечение (-я)) и (2) лечение (-я) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, такой как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или антитело против TSLPR, например тезепелумабом (TezspireTM), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом, и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738) оказалось неэффективным для лечения расстройства. В некоторых воплощениях у пациента, имеющего связанное с тучными клетками

расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит: (1) антигистаминное лечение (-я) (например, лечение (-я) H1- и/или H2-антигистаминными агентами), (2) лечение ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (3) лечение ингибитором IL-4R, таким как как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®) оказалось неэффективным для лечения расстройства. В некоторых воплощениях у пациента, имеющего связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит: (1) антигистаминное лечение (-я) (например, лечение (-я) H1- и/или H2-антигистаминными агентами), и (2) лечение расстройства ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом оказалось неэффективным для лечения расстройства. В некоторых воплощениях изобретения у пациента, имеющего связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит: (1) лечение ингибитором IgE, таким как антитело против IgE , например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (2) лечение расстройства ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®) оказалось неэффективным для лечения расстройства.

Лечение расстройства у пациента считается неэффективным, если расстройство является рефрактерным по отношению к лечению, устойчиво к лечению, рецидивирует после лечения и/или если пациент прекратил лечение из-за непереносимости лечения.

В различных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к одному или более предшествующим видам лечения указанного расстройства. В некоторых воплощениях одно или более предшествующих лечений включают по меньшей мере один стандарт терапии указанного расстройства. В некоторых воплощениях одно или более предшествующих лечений представляют собой стандарт терапии указанного расстройства. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к лечению

антигистаминными агентами. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к лечению (-ям) H1-антигистаминными агентами. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к лечению (-ям) H2-антигистаминными агентами. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к лечению как H1-, так и H2-антигистаминными агентами. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к лечению одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к лечению одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к лечению ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к лечению ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®). В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к лечению ингибитором IL-5R, таким как антитело

против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®). В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к лечению ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к лечению ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к лечению ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или антитело против TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™). В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к лечению ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к лечению ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к лечению одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к: (1) лечению (-ям) антигистаминными агентами (например, лечению (-ям) H1- и/или H2-антигистаминными агентами), (2) лечению (-ям) одним или более

антагонистами лейкотриеновых рецепторов, (3) лечению (-ям) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором IgE, таким как как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, такой как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом, и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738), и/или (4) лечению (-ям) одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к: (1) лечению (-ям) антигистаминными агентами (например, лечению (-ям) H1- и/или H2 –антигистаминными агентами и (2) лечению (-ям) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, такой как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL -5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR , например тезепелумабом (TezspireTM), ингибитором C5aR, такой как антитело против C5aR, например авдоралимабом, и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738). В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к: (1) лечению (-ям) антигистаминными агентами (например, лечению (-ям) H1- и/или H2-антигистаминными агентами), (2) лечению ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (3) лечение ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R,

например дупилумабом (Dupixent®). В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к: (1) лечению (-ям) антигистаминными агентами (например, лечению (-ям) H1- и/или H2-антигистаминными агентами) и (2) лечению ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является рефрактерным по отношению к: (1) лечению ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (2) лечению ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®).

В различных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к одному или более предшествующим видам лечениям указанного расстройства. В некоторых воплощениях одно или более предшествующих лечений включают по меньшей мере один стандарт терапии указанного расстройства. В некоторых воплощениях одно или более предшествующих лечений представляют собой стандарт терапии указанного расстройства. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к лечению (-ям) антигистаминными агентами. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к лечению (-ям) H1-антигистаминными агентами. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к лечению (-ям) H2-антигистаминными агентами. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к лечению как H1-, так и H2-антигистаминными

анентами. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к лечению (-ям) одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к лечению одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к лечению ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к лечению ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®). В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к лечению ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®). В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к лечению ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к лечению ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к лечению ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или к TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™). В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница

(например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к лечению ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к лечению ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к лечению одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к: (1) лечению (-ям) антигистаминными агентами (например, лечению (-ям) H1- и/или H2-антигистаминными агентами), (2) лечению (-ям) одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, (3) лечению (-ям) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738) и/или (4) лечению (-ям) одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к: (1) лечению (-ям) антигистаминными агентами (например, лечению (-ям) H1- и/или H2-антигистаминными агентами) и (2) лечению (-ям) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором

IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR , например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738). В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к: (1) лечению (-ям) антигистаминными агентами (например, лечению (-ям) H1- и/или H2 – антигистаминными агентами), (2) лечению ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (3) лечению ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®). В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к: (1) лечению (-ям) антигистаминными агентами (например, лечению (-ям) H1- и/или H2- антигистаминными агентами) и (2) лечению ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, устойчиво к: (1) лечению ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (2) лечению ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®).

В различных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к одному или более предшествующим лечениям указанного расстройства. В некоторых воплощениях один или более предшествующих лечений включают по меньшей мере один стандарт терапии расстройства. В некоторых

воплощениях одно или более предшествующих лечений представляют собой стандарт терапии указанного расстройства. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к лечению (-ям) антигистаминными агентами. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к лечению H1-антигистаминному лечению (-ям). В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к H2-антигистаминному лечению (-ям). В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к лечению как H1-, так и H2-антигистаминными агентами. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к лечению (-ям) одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к лечению (-ям) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к лечению ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как

рефрактерным, так и устойчивым к лечению ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R. , например дупилумабом (Dupixent®). В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к лечению ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®). В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к лечению ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к лечению ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к лечению ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или антитело против TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™). В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к лечению ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к лечению ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к лечению одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом. В некоторых

воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к: (1) лечению (-ям) антигистаминными агентами (например, лечению (-ям) H1- и/или H2-антигистаминными агентами), (2) лечению (-ям) одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, (3) лечению (-ям) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738), и/или (4) лечению (-ям) одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к: (1) лечению (-ям) антигистаминными агентами (например, лечению (-ям) H1- и/или H2-антигистаминными агентами), и (2) лечению (-ям) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®) ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело противTSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738). В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница

(например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к: (1) лечению (-ям) антигистаминными агентами (например, лечению (-ям) H1- и /или H2-антигистаминными агентами), (2) лечению ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (3) лечению ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®). В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к: (1) лечению (-ям) антигистаминными агентами (например, лечению (-ям) H1- и/или H2-антигистаминными агентами), и (2) лечению ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, является как рефрактерным, так и устойчивым к: (1) лечению ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (2) лечению ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®).

В различных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после одного или более предшествующих лечений указанного расстройства. В некоторых воплощениях один или более предшествующих лечений включают по меньшей мере один стандарт терапии указанного расстройства. В некоторых воплощениях одно или более предшествующих лечений представляют собой стандартные методы лечения указанного расстройства. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после лечения(й) антигистаминными агентами. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как

эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после лечения(й) H1-антигистаминными агентами. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после лечения(й) H2-антигистаминными агентами. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее заболевание, которое рецидивирует после лечения как H1-, так и H2-антигистаминными агентами. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после лечения(й) одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после лечения (й) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после лечения ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например, , омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после лечения ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®). В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после лечения ингибитором IL-

5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®). В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после лечения ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после лечения ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом. В конкретных воплощениях заболевание, связанное с тучными клетками, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или заболевание, связанное с эозинофилами, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после лечения ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или антитело против TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™). В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после лечения ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом. В конкретных воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после лечения ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после лечения(й) одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный

эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после: (1) лечения антигистаминными агентами (например, лечения (-й) H1- и/или H2-антигистаминными агентами), (2) лечения(й) одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, (3) лечения(й) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, , ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, таким как как антитело против CD200R, например LY3454738) и/или (4) лечения(й) одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после: (1) лечения антигистаминными агентами (например, лечения (-й) H1- и/или H2-антигистаминными агентами), и (2) лечения(й) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или антитело против TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738). В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует

после: (1) лечения антигистаминными агентами (например, лечения (-й) H1- и/или H2-антигистаминными агентами), (2) лечения ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (3) лечения ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®). В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после: (1) лечения антигистаминными агентами (например, лечения (-й) H1- и/или H2-антигистаминными агентами), и (2) лечения ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом. В некоторых воплощениях связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивирует после: (1) лечения ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (2) лечение ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®).

В различных воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил одно или более предшествующих лечений расстройства из-за непереносимости лечения (-й). В некоторых воплощениях одно или более предшествующих лечений включают по меньшей мере один стандарт терапии расстройства. В некоторых воплощениях одно или более предшествующих лечений представляют собой стандарт терапии указанного расстройства. В некоторых воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил лечение (-я) расстройства антигистаминными агентами из-за непереносимости лечения (-й). В конкретных воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или расстройством, связанное с эозинофилами, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил лечение (-я) расстройства H1-антигистаминными агентами из-за непереносимости лечения (-й). В конкретных воплощениях пациент, имеющий

связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил лечение (-я) расстройства H2-антигистаминными агентами из-за непереносимости лечения (-й). В конкретных воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил лечения расстройства как H1-, так и H2-антигистаминными агентами из-за непереносимости лечений. В некоторых воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил лечение (-я) расстройства одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов из-за непреносимости лечения(й). В некоторых воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил лечение (-я) расстройства одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами из-за непереносимости лечения(й). В конкретных воплощениях изобретения пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил лечение расстройства ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, из-за непереносимости лечения. В конкретных воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил лечение расстройства ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®) из-за непереносимости лечения. В конкретных воплощениях изобретения пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил лечение расстройства ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), из-за непереносимости лечения. В конкретных воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница

(например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил лечение расстройства ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, из-за непереносимости лечения. В конкретных воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил лечение расстройства ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, из-за непереносимости лечения. В конкретных воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил лечение расстройства ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или антитело против TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), из-занепереносимости лечения. В конкретных воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил лечение расстройства ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом, из-за непереносимости лечения. В конкретных воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил лечение расстройства ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738, из-за непереносимости лечения. В некоторых воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил лечение расстройства одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или или рилзабрутинибом, из-за непереносимости лечения. В некоторых воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил: (1) лечение расстройства антигистаминными агентами (например, лечение (-я) H1- и/или или H2-антигистаминными агентами), (2) лечение (-я) расстройства одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, (3)

лечение (-я) расстройства одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, IgE ингибитором, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, такой как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, такой как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738) и/или (4) лечение (-я) расстройства одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом, из-за непереносимости лечения(й). В некоторых воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил: (1) лечение расстройства антигистаминными агентами (например, лечение (-я) H1- и/или или H2-антигистаминными агентами) и (2) лечение (-я) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или антитело против TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738, из-за непереносимости лечения. В некоторых воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил: (1) лечение расстройства антигистаминными агентами (например, лечение (-я) H1- и/или H2-антигистаминными агентами), (2) лечение указанного расстройства ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (3) лечение

расстройства ингибитором IL-4R, таким как как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), из-за непереносимости лечения. В некоторых воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил: (1) лечение расстройства антигистаминными агентами (например, лечение (-я) H1- и/или H2-антигистаминными агентами) и (2) лечение расстройства ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом из-за непереносимости лечения. В некоторых воплощениях пациент, имеющий связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, прекратил: (1) лечение расстройства ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (2) лечение расстройства ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®) из-за непереносимости лечения.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается симптоматическим, несмотря на лечение одним или более антигистаминными агентами (например, H1- и/или H2-антигистаминными агентами) для лечения расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается симптоматическим, несмотря на применение H1-антигистаминных агентов отдельно или в комбинации с H2-антигистаминными агентами и/или антагонистами лейкотриеновых рецепторов для лечения расстройства.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами

расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается симптоматическим, несмотря на лечение одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается симптоматическим, несмотря на лечение указанного расстройства одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными средствами (например, ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738). В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается симптоматическим, несмотря на лечение указанного расстройства ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается симптоматическим, несмотря на лечение указанного расстройства ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®). В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная

крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается симптоматическим, несмотря на лечение указанного расстройства ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®). В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается симптоматическим, несмотря на лечение указанного расстройства ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается симптоматическим, несмотря на лечение указанного расстройства ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается симптоматическим, несмотря на лечение указанного расстройства ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или антитело против TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™). В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается симптоматическим, несмотря на лечение указанного расстройства ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается

симптоматическим, несмотря на лечение указанного расстройства ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается симптоматическим, несмотря на лечение указанного расстройства одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается симптоматическим, несмотря на лечение(-я) указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, (2) одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, как описано выше, (3) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше, и/или (4) одним или более ингибиторами BTK, как описано выше. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается симптоматическим, несмотря на лечение указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, и (2) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается симптоматическим, несмотря на лечение указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (3) ингибитором IL-4R, таким

как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®). В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается симптоматическим, несмотря на лечение указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше и (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, которое остается симптоматическим, несмотря на лечение указанного расстройства (1) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (2) ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®).

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит после лечения указанного расстройства одним или более антигистаминными агентами (например, лечения (-й) H1- и/или H2-антигистаминными агентами), где указанное лечение пациента одним или более антигистаминными агентами (например, H1- и/или H2-антигистаминными агентами) оказалось неэффективным.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит после лечения указанного расстройства одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, где указанное лечение пациента одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов оказалось неэффективным.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит после лечения указанного расстройства одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, такой как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, такой как антитело против CD200R, например LY3454738), где указанное лечение пациента одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами оказалось неэффективным. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, где указанное лечение пациента ингибитором IgE оказалось неэффективным. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), где указанное лечение пациента ингибитором IL-4R оказалось неэффективным. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная

крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), где указанное лечение пациента ингибитором IL-5R оказалось неэффективным. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, где указанное лечение пациента ингибитором IL-5 оказалось неэффективным. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, где указанное лечение пациента ингибитором Siglec 8 оказалось неэффективным. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или антитело против TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), где котором указанное лечение пациента ингибитором TSLP или TSLPR оказалось неэффективным. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом, где указанное лечение пациента ингибитором C5aR оказалось неэффективным. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе,

вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738, где указанное лечение пациента ингибитором CD200R оказалось неэффективным.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит после лечения указанного расстройства одним или более ингибиторами BTK (тирозинкиназы Брутона), например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом, где указанное лечение пациента одним или более BTK оказалось неэффективным.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит после лечения (-й) указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, (2) одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, как описано выше, (3) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше и/или (4) одним или более ингибиторами BTK, как описано выше, где указанное(ые) лечение (-я) пациента оказалось неэффективным. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, и (2) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше, где указанное лечение пациента оказалось неэффективным. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство,

такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (3) ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), где указанное лечение пациента оказалось неэффективным. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше и (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом; где указанное лечение пациента оказалось неэффективным. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (2) ингибитором IL-4R, такого как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), где указанное лечение пациента оказалось неэффективным.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройством одним или более антигистаминными агентами (например, H1- и/или H2-антигистаминными агентами), где указанное расстройство является рефрактерным по отношению к указанному лечению одним или более антигистаминными агентами (например, лечению (-ям) H1- и/или H2-антигистаминными агентами).

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему

связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, где указанное расстройство является рефрактерным по отношению к указанному лечению одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, такой как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, такой как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738), где указанное расстройство является рефрактерным по отношению к указанному лечению одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, где указанное расстройство является рефрактерным по отношению к указанному лечению ингибитором IgE. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная

крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), где указанное расстройство является рефрактерным по отношению к указанному лечению ингибитором IL-4R. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), где указанное расстройство является рефрактерным по отношению к указанному лечению ингибитором IL-5R. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, где указанное расстройство является рефрактерным по отношению к указанному лечению ингибитором IL-5. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, где указанное расстройство является рефрактерным по отношению к указанному лечению ингибитором Siglec 8. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), где указанное расстройство является

рефрактерным по отношению к указанному лечению ингибитором TSLP или TSLPR. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом, где указанное расстройство является рефрактерным по отношению к указанному лечению ингибитором C5aR. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738, где указанное расстройство является рефрактерным по отношению к указанному лечению ингибитором CD200R.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом, где указанное расстройство является рефрактерным по отношению к указанному лечению одним или более ингибиторами BTK.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, (2) одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, как описано выше, (3) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше и/или (4) одним или более ингибиторами BTK, как описано выше, где указанное расстройство является рефрактерным по отношению к указанному

лечению (-ям). В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше и (2) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше; где указанное расстройство является рефрактерным по отношению к указанному лечению. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (3) ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), где указанное расстройство является рефрактерным по отношению к указанному лечению. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше и (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом; где указанное расстройство является рефрактерным по отношению к указанному лечению. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (2) ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®); где указанное расстройство является рефрактерным по отношению к указанному лечению.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства одним или более антигистаминными агентами (например, H1- и/или H2-антигистаминными агентами), где указанное расстройство устойчиво к указанному лечению одним или более антигистаминными агентами (например, лечению (-ям) H1- и/или H2-антигистаминными агентами).

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, где указанное расстройство устойчиво к указанному лечению одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738), где указанное расстройство устойчиво к указанному лечению одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами. В определенном

воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, где указанное расстройство устойчиво к указанному лечению ингибитором IgE. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), где указанное расстройство устойчиво к указанному лечению ингибитором IL-4R. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), где указанное расстройство устойчиво к указанному лечению ингибитором IL-5R. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, где указанное расстройство устойчиво к указанному лечению ингибитором IL-5. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, где указанное расстройство устойчиво к

указанному лечению ингибитором Siglec 8. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), где указанное расстройство устойчиво к указанному лечению ингибитором TSLP или TSLPR. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом, где указанное расстройство устойчиво к указанному лечению ингибитором C5aR. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738, где указанное расстройство устойчиво к указанному лечению ингибитором CD200R.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом, где указанное расстройство устойчиво к указанному лечению одним или более ингибиторами BTK.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например,

хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, (2) одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, как описано выше, (3) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше и/или (4) одним или более ингибиторами BTK, как описано выше, где указанное расстройство устойчиво к указанному лечению (-ям). В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше и (2) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше; где указанное расстройство устойчиво к указанному лечению. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (3) ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®); где указанное расстройство устойчиво к указанному лечению. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, и (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом; где указанное расстройство устойчиво к указанному лечению. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками

расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (2) ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent ®), где указанное расстройство устойчиво к указанному лечению.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства одним или более антигистаминными агентами (например, H1- и/или H2-антигистаминными агентами), где указанное расстройство является как рефрактерным, так и устойчивым к указанному лечению одним или более антигистаминными агентами (например, H1- и/или H2-антигистаминными агентами).

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, где указанное расстройство является как рефрактерным, так и устойчивым к указанному лечению одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как

антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738), где указанное расстройство является как рефрактерным, так и устойчивым к указанному лечению одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, где указанное расстройство является как рефрактерным, так и устойчивым к указанному лечению ингибитором IgE. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), где указанное расстройство является как рефрактерным, так и устойчивым к указанному лечению ингибитором IL-4R. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), где указанное расстройство является как рефрактерным, так и устойчивым к указанному лечению ингибитором IL-5R. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения

указанного расстройства ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, где указанное расстройство является как рефрактерным, так и устойчивым к указанному лечению ингибитором IL-5. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, где указанное расстройство является как рефрактерным, так и устойчивым к указанному лечению ингибитором Siglec 8. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), где указанное расстройство является как рефрактерным, так и устойчивым к указанному лечению ингибитором TSLP или TSLPR. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом, где расстройство является как рефрактерным, так и устойчивым к указанному лечению ингибитором C5aR. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738, где указанное расстройство является как рефрактерным, так и устойчивым к указанному лечению ингибитором CD200R.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом, где указанное расстройство является как рефрактерным, так и устойчивым к указанному лечению одним или более ингибиторами BTK.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, (2) одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, как описано выше, (3) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше и/или (4) одни или более ингибиторами BTK, как описано выше; где указанное расстройство является как рефрактерным, так и устройчивым к указанному лечению (-ям). В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше и (2) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше; где указанное расстройство является как рефрактерным, так и устойчивым к указанным видам лечения. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (3) ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-

4R, например дупилумабом (Dupixent®); где расстройство является как рефрактерным, так и устойчивым к указанным видам лечения. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше и (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом; где указанное расстройство является как рефрактерным, так и устойчивым к указанным видам лечения. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (2) ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®); где указанное расстройство является как рефрактерным, так и устойчивым к указанным лечениям.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства одним или более антигистаминными агентами (например, H1- и/или H2-антигистаминными агентами), где указанное расстройство представляет собой рецидивирующее заболевание, которое рецидивировало после указанного лечения одним или более антигистаминными агентами (например, H1- и/или H2-антигистаминного лечения(й)).

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного

расстройства одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, где указанное расстройство представляет собой рецидивирующее заболевание, которое рецидивировало после указанного лечения одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738), где указанное расстройство представляет собой рецидивирующее заболевание, которое рецидивировало после указанного лечения одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабомом (Xolair®) или лигелизумабом, где указанное расстройство представляет собой рецидивирующее заболевание, которое рецидивировало после указанного лечения ингибитором IgE. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после

лечения указанного расстройства ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), где указанное расстройство представляет собой рецидивирующее заболевание, которое рецидивировало после указанного лечения ингибитором IL-4R. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), где указанное расстройство представляет собой рецидивирующее заболевание, которое рецидивировало после указанного лечения ингибитором IL-5R. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, где указанное расстройство представляет собой рецидивирующее заболевание, которое рецидивировало после указанного лечения ингибитором IL-5. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, где указанное расстройство представляет собой рецидивирующее заболевание, которое рецидивировало после указанного лечения ингибитором Siglec 8. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), где указанное расстройство

представляет собой рецидивирующее заболевание, которое рецидивировало после указанного лечения ингибитором TSLP или TSLPR. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом, где указанное расстройство представляет собой рецидивирующее заболевание, которое рецидивировало после указанного лечения ингибитором C5aR. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738, где указанное расстройство представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивировало после указанного лечения ингибитором CD200R.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства дним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом, где указанное расстройство представляет собой рецидивирующее заболевание, которое рецидивировало после указанного лечения одним или более ингибиторами BTK.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, (2) одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, как описано выше, (3)

одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше и/или (4) одним или более ингибиторами BTK, как описано выше; где указанное расстройство представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивировало после указанного(ых) лечения(й). В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства с помощью (1) одного или более антигистаминных агентов, как описано выше и (2) одного или более иммуномодуляторов или противовоспалительных агентов, как описано выше; где указанное расстройство представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивировало после указанных лечений. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (3) ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®); где указанное расстройство представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивировало после указанного лечения. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше и (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом; где указанное расстройство представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивировало после указанного лечения. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная

крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (2) ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®); где указанное расстройство представляет собой рецидивирующее расстройство, которое рецидивировало после указанных лечений.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства одним или более антигистаминными агентами (например, H1- и/или H2-антигистаминными агентами), где пациент прекратил указанное лечение одним или более антигистаминными агентами (например, H1- и/или H2-антигистаминными агентами) из-за непереносимости лечения.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, где пациент прекратил указанное лечение одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов из-за непереносимости лечения.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумаб, ингибитором IL-4R, такой как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как

антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738), где пациент прекратил указанное лечение одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами из-за к непереносимости лечения. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, где пациент прекратил указанное лечение ингибитором IgE из-за непереносимости лечения. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), где пациент прекратил указанное лечение ингибитором IL-4R из-за непереносимости лечения. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), где пациент прекратил указанное лечение ингибитором IL-5R из-за непереносимости лечения. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, где пациент прекратил указанное

лечение ингибитором IL-5 из-за непереносимости лечения. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, где пациент прекратил указанное лечение ингибитором Siglec 8 из-за непереносимости лечения. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), где пациент прекратил указанное лечение ингибитором TSLP или TSLPR из-за непереносимости лечения. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом, где пациент прекратил указанное лечение ингибитором C5aR из-за непереносимости лечения. В определенном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738, где пациент прекратил указанное лечение ингибитором CD200R из-за непереносимости лечения.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами

расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом, где пациент прекратил указанное лечение одним или более ингибиторами BTK из-за непереносимости лечения.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, (2) одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, как описано выше, (3) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше и/или (4) одним или более ингибиторами BTK, как описано выше; где пациент прекратил указанное(ые) лечение (-я) из-за непереносимости лечения(й). В одном варианте осуществления антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечение расстройства с помощью (1) одного или более антигистаминных агентов, как описано выше, и (2) одного или более иммуномодуляторов или противовоспалительных средств, как описано выше; где пациент прекратил указанное лечение из-за непереносимости лечения. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (3) ингибитором IL-4R, такого как антитело против IL-4R, например, дупилумаб (Dupixent®); где пациент прекратил указанное лечение из-за непереносимости лечения. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как

крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше и (2) ингибитора IgE, такого как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом; где пациент прекратил указанное лечение из-за непереносимости лечения. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят пациенту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, после лечения указанного расстройства (1) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом и (2) ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), где пациент прекратил указанное лечение из-за непереносимости лечения.

Эозинофилы представляют собой лейкоциты, активируемые лимфоцитами адаптивного иммунного ответа, и играют важную роль в защите от паразитарных инфекций. Уровень эозинофилов в крови в норме низкий, но может заметно повышаться в определенных ситуациях, например при атопии, что может привести к эозинофилии, аномально большому количеству эозинофилов в крови.

Используемый в настоящем документе термин «связанное с эозинофилами расстройство» или «связанные с эозинофилами расстройства» относится к расстройствам, которые возникают, когда эозинофилы обнаруживаются в аномальных количествах, таких как количества выше нормы или количества ниже нормы, в различных частях тела. Например, когда в организме вырабатывается слишком много эозинофилов, они могут вызывать хроническое воспаление, приводящее к повреждению тканей. В некоторых аспектах эозинофильное расстройство может быть связано с аномальным количеством эозинофилов в ткани в течение длительного периода времени в ответ на триггер. Например, более высокое количество эозинофилов может образовываться в ответ на триггер, такой как инфекция или аллерген, но высокое количество эозинофилов не уменьшается с нормальной скоростью и, таким образом, поддерживается на высоком уровне в течение более длительного периода времени, чем ожидалось.

Связанные с эозинофилами расстройства можно диагностировать в соответствии с местом, где уровни эозинофилов повышены. Неограничивающие примеры связанных

с эозинофилами расстройств включают аллергические заболевания, инфекционные заболевания, заболевания крови, иммунологические нарушения и реакции, эндокринные нарушения, заболевания легких, желудочно-кишечные расстройства, неврологические расстройства, ревматологические заболевания, сердечные заболевания и почечные заболевания. В определенном воплощении связанное с эозинофилами расстройство, описанное в настоящем документе, представляет собой эозинофильный эзофагит (EoE). В некоторых аспектах эозинофилия представляет собой связанное с эозинофилами расстройство, характеризующееся количеством эозинофилов в периферической крови, превышающим нормальный уровень, например превышающим 450/мкл. Эозинофилия может быть индуцирована или вызвана различными состояниями, такими как аллергия или инфекция. В конкретных аспектах повышенные уровни эозинофилов наблюдаются локально, например, в легких, сердце, спинном мозге или головном мозге.

Неограничивающие примеры неврологических расстройств с участием эозинофилов включают инфекции центральной нервной системы, вентрикулоперитонеальные шунты и побочные реакции, вызванные лекарственными средствами. В некоторых аспектах увеличение количества или активности эозинофилов может быть обнаружено в спинномозговой жидкости (CSF) или в других образцах, полученных из ткани жидкости центральной нервной системы.

Неограничивающие примеры показаний, связанных с эозинофилами или тучными клетками, включают заболевания верхних дыхательных путей, такие как аллергический ринит и синусит, аспирация инородного тела, стеноз голосовой щели, стеноз трахеи, ларинготрахеомаляция, сосудистые кольца, хроническая обструктивная болезнь легких (COPD) и застойная сердечная недостаточность, эозинофильный бронхит, полихондрит, саркоидоз, папилломатоз, артрит (например, ревматоидный артрит) и гранулематоз Вегенера.

В некоторых воплощениях «связанное с эозинофилами расстройство» или «связанные с эозинофилами расстройства» могут включать расстройства, при которых активность эозинофилов способствует расстройству, например, расстройства, возникающие, когда эозинофилы обнаруживаются в аномальных количествах, таких как количества выше нормы или ниже нормы, в различных частях тела.

В определенном аспекте антитело против KIT или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, или его фармацевтическую композицию вводят нуждающемуся в этом субъекту в соответствии со способами, представленными

в настоящем документе, для лечения связанного с эозинофилами или тучными клетками расстройства (например, связанного с эозинофилами или тучными клетками расстройства нервной системы, например центральной нервной системы), в дозе и при частоте введения, которые обеспечивают одно или более из следующих условий у субъекта, у которого диагностировано связанное с эозинофилами расстройство или тучными клетками: снижение количества и/или активности эозинофилов, снижение пролиферации тучных клеток, снижение числа или количества тучных клеток, ингибирование или снижение активности тучных клеток, снижение индуцированной тучными клетками продукции факторов воспаления, снижение продукции факторов воспаления, восстановление гомеостаза тучных клеток, снижение миграции тучных клеток, снижение адгезии тучных клеток, ингибирование или снижение рекрутирования эозинофилов тучными клетками и ингибирование или снижение антигенопосредованной дегрануляции тучных клеток.

В других воплощениях KIT-ассоциированное заболевание представляет собой рак, такой как рак молочной железы, лейкоз (например, хронический миелогенный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, тучноклеточный лейкоз), рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого), нейробластому, желудочно-кишечные стромальные опухоли (GIST), меланому, колоректальный рак, саркому (например, саркому Юинга) и опухоли зародышевых клеток (например, семиному). В конкретном воплощении рак, который лечат или контролируют, или от которого защищают способами, предложенными в настоящем документе, характеризуется мутацией KIT с усилением функции или сверхэкспрессией KIT.

В конкретных воплощениях рак, подвергаемый лечению в соответствии со способами, описанными в настоящем документе, может представлять собой рак любого типа, который включает раковые или опухолевые клетки, экспрессирующие KIT на клеточной поверхности, или их мутантную форму, что может быть подтверждено любым гистологическим или цитологическим способом, известным специалистом в данной области техники.

В некоторых воплощениях рак является метастатическим. В некоторых воплощениях рак представляет собой прогрессирующий рак, который распространился за пределы локализации или органа происхождения либо путем локальной инвазии, либо путем метастазирования.

В конкретных воплощениях рак представляет собой рецидивирующий рак, который разросся либо в исходной локализации, либо в отдаленной локализации после

ответа на первоначальную терапию (например, после операции по удалению опухоли и адъювантной терапии после операции). В некоторых воплощениях рак представляет собой рефрактерный рак, который прогрессирует, несмотря на то, что противоопухолевое средство, такое как химиотерапевтическое средство, вводят или вводили больному раком. Неограничивающим примером рефрактерного рака является рак, устойчивый к ингибитору тирозинкиназы, такому как GLEEVEC® (иматиниба мезилат), SUTENT® (SU11248 или сунитиниб), IRESSA™ (гефитиниб), TARCEVA® (эрлотиниб), NEXAVAR® (сорафениб) или VOTRIENT™ (пазопаниб). В некоторых воплощениях рак представляет собой рефрактерный рак, который прогрессирует, несмотря на то, что раковому пациенту проводят или уже проводили лучевую терапию или химиотерапию.

В конкретных воплощениях в настоящем документе предложены способы лечения рефрактерного рака у пациента, нуждающегося в этом, включающие введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела, описанного в настоящем документе, где рефрактерный рак является рефрактерным или устойчивым к противораковому агенту, например, ингибитору тирозинкиназы (например, GLEEVEC® (иматиниба мезилат) или SUTENT® (SU11248 или сунитиниб)). Другие неограничивающие примеры ингибиторов тирозинкиназы включают 706 и AMNI07 (нилотиниб), RAD00I, PKC412, гефитиниб (IRESSA™), эрлотиниб (TARCEVA®), сорафениб (NEXAVAR®), пазопаниб (VOTRIENT™), акситиниб, бозутиниб, цедираниб (RECENTIN®), SPRYCEL® (дазатиниб), лапатиниб (TYKERB®), лестауртиниб, нератиниб, нилотиниб (TASIGNA®), семаксаниб, тоцераниб (PALLADIA™), вандетаниб (ZACTIMA™) и ваталаниб. В некоторых воплощениях рефрактерный рак изначально был чувствителен к противораковому агенту, такому как ингибитор тирозинкиназы (например, GLEEVEC® или SU11248 (т.е. сунитиниб)), но у него развилась устойчивость к противораковому агенту. В некоторых воплощениях субъект имеет одну или более мутаций в KIT, которые придают устойчивость к противораковому агенту, такому как ингибитор тирозинкиназы.

В конкретных воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, вводят пациенту, который ранее получал или получает в настоящее время один или более противораковых лекарственных средств, например, химиотерапевтический агент или ингибитор тирозинкиназы (например, GLEEVEC® (иматиниба мезилат), SUTENT® (SU11248 или сунитиниб), IRESSA™ (гефитиниб), TARCEVA® (эрлотиниб), NEXAVAR® (сорафениб) или VOTRIENT™ (пазопаниб)) или ингибитор

гистондеацетилазы (например, вориностат или субероиланилидгидроксамовая кислота (SAHA)). В других конкретных воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, вводят пациенту, который является или подозревается в том, что он устойчив или невосприимчив к противораковой терапии, например, ингибитору тирозинкиназы, например GLEEVEC® (иматиниба мезилат), SUTENT® (SU11248 или сунитиниб), IRESSA™ (гефитиниб), TARCEVA® (эрлотиниб), NEXAVAR® (сорафениб) или VOTRIENT™ (пазопаниб).

В конкретных воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, или его антигенсвязывающий фрагмент (например, его KIT-связывающий фрагмент) или его конъюгат) вводят пациенту, который ранее получал или получает в настоящее время одну или более противораковых терапий, например, антитело против рецептора фактора роста (например, антитело против HER2, антитело против EGFR, антитело против VEGFR или антитело против KIT) или антитело против фактора роста (например, антитело против EGF, антитело против VEGF). В других конкретных воплощениях антитело, описанное в настоящем документе, вводят пациенту, который является или подозревается в наличии устойчивости или рефрактерности к противораковой терапии, например, к антителу против рецептора фактора роста (например, к антителу против HER2), антителу против EGFR, антителу против VEGFR или антителу против KIT) или антителу против фактора роста (например, антителу против EGF, антителу против VEGF).

В конкретном воплощении описанный в настоящем документе способ защиты от, лечения или сдерживания рака у нуждающегося в этом субъекта может обеспечивать по меньшей мере один, два, три, четыре или более из следующих эффектов благодаря введению терапевтически эффективного количества антитела против KIT, описанного в настоящем документе: (i) снижение или облегчение тяжести рака (например, лейкемии, рака легких или гастроинтестинального стромального рака) и/или одного или более связанных с ним симптомов; (ii) уменьшение продолжительности одного или более симптомов, связанных с раком (например, лейкемией, раком легких или стромальным раком желудочно-кишечного тракта); (iii) предупреждение рецидива опухоли (например, опухоли легкого или стромальной опухоли желудочно-кишечного тракта); (iv) регрессия рака (например, лейкемии, рака легкого или гастроинтестинальной стромальной опухоли) и/или одного или более симптомов, связанных с ними; (v) сокращение количества госпитализаций субъекта; (vi) сокращение продолжительности госпитализации; (vii) увеличение выживаемости

субъекта; (viii) ингибирование прогрессирования рака (например, лейкемии, рака легкого или желудочно-кишечной стромальной опухоли) и/или одного или более связанных с ним симптомов; (ix) усиление или улучшение терапевтического эффекта другого лечения (например, хирургического вмешательства, лучевой терапии, химиотерапии или другого ингибитора тирозинкиназы); (x) уменьшение или элиминация популяции раковых клеток (например, популяции лейкозных клеток, популяции клеток рака легкого, популяции клеток гастроинтестинальной стромальной опухоли); (xi) снижение роста опухоли или новообразования; (xii) уменьшение размера опухоли (например, объема или диаметра); (xiii) уменьшение образования новообразованных опухолей; (xiv) искоренение, удаление или контроль первичного, регионарного и/или метастатического рака; (xv) облегчение удаления опухоли за счет уменьшения васкуляризации, связанной с опухолью и/или отеком, перед операцией; (xvi) уменьшение количества или размера метастазов; (xvii) снижение смертности; (xviii) увеличение безопухолевой выживаемости пациентов; (xvix) увеличение безрецидивной выживаемости; (xx) увеличение количества пациентов в стадии ремиссии; (xxi) снижение частоты госпитализаций; (xxii) размер опухоли сохраняется и не увеличивается или увеличивается меньше, чем увеличение опухоли после введения стандартной терапии, измеренной обычными методами, доступными специалисту в данной области техники, такими как компьютерная томография (CT), сканирование, магнитно-резонансная томография (MRI), МРТ с динамическим контрастированием (DCE-MRI) или позитронно-эмиссионная томография (PET); (xxiii) предупреждение развития или появления одного или более симптомов, связанных с раком; (xxiv) увеличение продолжительности ремиссии у пациентов; (xxv) уменьшение количества симптомов, связанных с раком; (xxvi) увеличение бессимптомной выживаемости больных раком; (xxvii) снижение концентрации одного или более медиаторов воспаления (например, цитокинов или интерлейкинов) в биологических образцах (например, плазме, сыворотке, спинномозговой жидкости, моче или любых других биологических жидкостях) субъекта с раком (например, лейкемией, раком легкого или стромальным раком желудочно-кишечного тракта); (xxviii) снижение количества циркулирующих опухолевых клеток (CTC) в крови субъекта с раком (например, лейкемией, раком легких или стромальным раком желудочно-кишечного тракта); (xxix) ингибирование (например, частичное ингибирование) или снижение опухолевого метаболизма или перфузии; и (xxx) улучшение качества жизни, оцениваемое способами, хорошо известными в данной области техники, например анкетированием.

В некоторых аспектах в настоящем документе представлены способы уничтожения раковых клеток у индивидуума, где указанный способ включает введение нуждающемуся в этом индивидууму эффективного количества антитела, описанного в настоящем документе (например, гуманизированного антитела против KIT), или его антигенсвязывающего фрагмента или его конъюгата. В некоторых аспектах в настоящем документе представлены способы ингибирования роста или пролиферации раковых клеток у индивидуума, где указанный способ включает введение нуждающемуся в этом индивидууму эффективного количества антитела, описанного в настоящем документе (например, гуманизированного антитела против KIT), или его антигенсвязывающего фрагмента, или его конъюгата. В некоторых воплощениях достигается частичное ингибирование роста или пролиферации раковых клеток, например ингибирование роста или пролиферации раковых клеток по меньшей мере на 20-55%.

В некоторых аспектах в настоящем документе предложены способы уменьшения размера или нагрузки опухоли у индивидуума, нуждающегося в этом, где указанный способ включает введение указанному индивидууму эффективного количества антитела, описанного в настоящем документе (например, гуманизированного антитела против KIT), или его антигенсвязывающего фрагмента, или его конъюгата.

В некоторых воплощениях антитело против KIT, описанное в настоящем документе, можно вводить любым подходящим способом субъекту, нуждающемуся в этом. Неограничивающие примеры способов введения включают введение через слизистую оболочку, внутрикожное, внутривенное, внутриопухолевое, подкожное, внутримышечное введение и/или любой другой способ физической доставки, описанный в настоящем документе или известный в данной области техники. В одном воплощении антитело против KIT или его фармацевтическую композицию вводят системно (например, парентерально) нуждающемуся в этом субъекту. В другом воплощении антитело против KIT или его фармацевтическую композицию вводят местно (например, внутриопухолево) нуждающемуся в этом субъекту. В определенном воплощении антитело против KIT или его фармацевтическую композицию вводят внутривенно. В определенном воплощении антитело против KIT или его фармацевтическую композицию вводят подкожно. Каждую дозу можно или нельзя вводить идентичным путем введения. В некоторых воплощениях антитело против KIT, описанное в настоящем документе, можно вводить несколькими способами

одновременно или последовательно с другими дозами того же самого или другого антитела против KIT, описанного в настоящем документе.

При лечении заболевания или его симптома введение вещества обычно происходит после начала заболевания или его симптомов. Когда заболевание или его симптомы предотвращаются, введение вещества обычно происходит до начала заболевания или его симптомов. В некоторых воплощениях антитело против KIT, описанное в настоящем документе, вводят субъекту профилактически или терапевтически. Антитело против KIT, описанное в настоящем документе, можно вводить субъекту с профилактической или терапевтической целью для предупреждения, уменьшения или облегчения KIT-ассоциированного расстройства или заболевания (например, рака, воспалительного состояния, фиброза) или его симптома.

Дозу и частоту введения антитела против KIT, описанного в настоящем документе, или его фармацевтической композиции вводят нуждающемуся в этом субъекту (например, млекопитающему, такому как человек, собака или кошка) в соответствии со способами лечения KIT-ассоциированного расстройства, связанного с эозинофилами расстройства или связанного с тучными клетками расстройства, предложенными в настоящем документе, и они будут эффективными при минимизации побочных эффектов. Точная доза антитела против KIT, описанного в настоящем документе, для введения конкретному субъекту, или его фармацевтической композиции может быть определена в свете факторов, связанных с субъектом, нуждающимся в лечении. Факторы, которые могут быть приняты во внимание, включают тяжесть болезненного состояния, общее состояние здоровья субъекта, возраст и вес субъекта, диету, время и частоту введения, комбинацию(и) с другими терапевтическими агентами или лекарственными средствами, чувствительность реакции. и толерантность/ответ на терапию. Дозировка и частота введения антитела против KIT, описанного в настоящем документе, или его фармацевтической композиции могут быть скорректированы с течением времени для обеспечения достаточных уровней антитела против KIT или для поддержания желаемого эффекта.

Точная доза, которую следует использовать в составе, также будет зависеть от пути введения и серьезности расстройства или заболевания и должна определяться в соответствии с мнением практикующего врача и обстоятельствами каждого пациента.

В некоторых аспектах для антитела против KIT, описанного в настоящем документе, доза, вводимая пациенту для предупреждения, защиты от, сдерживания или лечения KIT-ассоциированного расстройства, связанного с эозинофилами расстройства

или связанного с тучными клетками расстройства, обычно составляет от 0,1 мг/кг до 100 мг/кг массы тела пациента. В определенном воплощении доза, вводимая пациенту для предупреждения, защиты от, сдерживания или лечения KIT-ассоциированного расстройства, связанного с эозинофилами расстройства (такого как эозинофильный эзофагит (EoE)) или связанного с тучными клетками расстройства (например, хронической крапивницы, такой как хроническая индуцированная крапивница) составляет примерно 3 мг/кг массы тела пациента. Как правило, человеческие антитела имеют более длительный период полураспада в организме человека, чем антитела других видов, из-за иммунного ответа на чужеродные полипептиды. Таким образом, часто возможны более низкие дозы человеческих антител и менее частое введение. Кроме того, дозировка и частота введения антител, описанных в настоящем документе, могут быть уменьшены за счет усиления поглощения и проникновения антител в ткани посредством модификаций, таких как, например, липидирование.

В одном воплощении, приблизительно от 0,001 мг/кг (мг антитела на кг массы тела субъекта) до приблизительно 500 мг/кг антитела против KIT, описанного в настоящем документе, вводят для предупреждения, защиты от, сдерживания или лечения KIT-ассоциированного расстройства, связанного с тучными клетками расстройства или связанного с эозинофилами расстройства, такого как эозинофильный эзофагит (EoE).

В некоторых воплощениях эффективное количество антитела, представленного в настоящем документе, составляет от примерно 0,01 мг до примерно 1000 мг. В конкретных воплощениях «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» антитела против KIT, описанного в настоящем документе, относится к количеству антитела против KIT, описанному в настоящем документе, которое является достаточным для достижения по меньшей мере одного, двух, трех, четырех или более из следующих эффектов: уменьшение или облегчение тяжести KIT-ассоциированного расстройства, тучноклеточного расстройства или эозинофильного расстройства и/или одного или более связанных с ними симптомов; уменьшение продолжительности одного или более симптомов, связанных с KIT-ассоциированным расстройством, расстройством, ассоциированным с тучными клетками, или расстройством, связанным с эозинофилами; предупреждение рецидива одного или более симптомов KIT-ассоциированного расстройства, ассоциированного с тучными клетками расстройства или связанного с эозинофилами расстройства и/или одного или более симптомов, связанных с ними; сокращение госпитализации субъекта;

сокращение продолжительности госпитализации; ингибирование (например, частичное ингибирование) прогрессирования KIT-ассоциированного расстройства, ассоциированного с тучными клетками расстройства или расстройства, связанного с эозинофилами, и/или одного или более симптомов, связанных с ними; предупреждение развития или возникновения одного или более симптомов, связанных с KIT-ассоциированным расстройством, ассоциированным с тучными клетками расстройством или эозинофильно-ассоциированным расстройством; снижение концентрации одного или более медиаторов воспаления (например, цитокинов или интерлейкинов) в биологических образцах (например, плазме, сыворотке, спинномозговой жидкости, моче или любых других биологических жидкостях) субъекта с KIT-ассоциированным расстройством, расстройством, связанным с тучными клетками, или расстройством, связанным с эозинофилами; и улучшение качества жизни, оцениваемое способами, хорошо известными в данной области техники, например, анкетированием. В некоторых воплощениях «эффективное количество» в данном контексте также относится к количеству антитела, описанного в настоящем документе, для достижения определенного результата (например, ингибирования одной или более биологических активностей KIT клетки, такого как ингибирование клеточной пролиферации).

В некоторых воплощениях антитело против KIT, описанное в настоящем документе, вводят по мере необходимости, например, еженедельно, раз в две недели (т. е. один раз в две недели), ежемесячно, раз в два месяца, раз в три месяца и т.д.

В некоторых воплощениях однократную дозу антитела против KIT, описанного в настоящем документе, вводят пациенту один или более раз для препятствования, предупреждения, защиты от, сдерживания, лечения и/или облегчения KIT-ассоциированного расстройства, связанного с тучными клетками расстройства или связанного с эозинофилами расстройства, такого как эозинофильный эзофагит (EoE).

В конкретных воплощениях предложено введение субъекту антитела против KIT или его фармацевтической композиции циклами в соответствии со способами лечения KIT-ассоциированного расстройства, связанного с тучными клетками расстройства или связанного с эозинофилами расстройства, где антитело против KIT или фармацевтическую композицию вводят в течение определенного периода времени, после чего следует период покоя (т.е. антитело против KIT или фармацевтическую композицию не вводят в течение определенного периода времени).

Способы, предложенные в настоящем документе, включают введение антитела против KIT любым подходящим способом. Неограничивающие примеры способов введения включают парентеральное введение, например, подкожное, внутримышечное или внутривенное введение, эпидуральное введение, энтеральное введение, внутримозговое введение, назальное введение, внутриартериальное введение, внутрисердечное введение, внутрикостную инфузию, подоболочечное введение и внутрибрюшинное введение. Способы, предложенные в настоящем документе, включают пути введения, направленные на головной мозг, глазную ткань или орган, спинной мозг или ткань уха или ушной раковины. В конкретном аспекте способы, предложенные в настоящем документе, включают способы введения, направленные на нервную систему, например, центральную нервную систему.

В конкретных воплощениях способы, предложенные в настоящем документе, включают введение антитела против KIT путем, подходящим для преодоления гематоэнцефалического барьера.

Также в настоящем документе предложены комбинированные терапии для лечения KIT-ассоциированного расстройства или заболевания (например, связанного с тучными клетками расстройства, такого как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), связанного с эозинофилами расстройства, такого как эозинофильный эзофагит, рак, воспалительные состояние, фиброз), которые включают введение антитела против KIT, описанного в настоящем документе (например, гуманизированного антитела против KIT), или его антигенсвязывающего фрагмента (например, его KIT-связывающего фрагмента), или их конъюгата антитела в комбинации с одним или более дополнительными терапевтическими средствами (например, вторым терапевтическим агентом, таким как химиотерапевтический агент, ингибитор тирозинкиназы, ингибиторы PGP, ингибиторы HSP-90, ингибиторы протеосом, ингибитор гистондеацетилазы, антитело или цитокин) субъекту, нуждающемуся в этом. В определенном воплощении в настоящем документе предложены комбинированные терапии для лечения KIT-ассоциированного расстройства или заболевания (например, расстройства, связанного с тучными клетками, такого как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), расстройства, связанного с эозинофилами, такого как эозинофильный эзофагит, рак, воспалительное состояние, фиброз), которые включают введение количества (например, терапевтически эффективного количества или субоптимального количества) антитела против KIT, описанного в настоящем документе, в комбинации с

количеством (например, терапевтически эффективным количеством или субоптимальным количеством) другого терапевтического средства (например, химиотерапевтического агента, ингибитора тирозинкиназы, антитела, цитокина, антигистаминного средства, антагониста лейкотриенового рецептора, иммуномодулятора, противовоспалительного агента или ингибитора гистондеацетилазы) нуждающемуся в этом субъекту. В различных воплощениях комбинированную терапию вводят субъекту примерно в одно и то же время, в один и тот же день, в одну и ту же неделю или в один и тот же цикл лечения, или по сходным или перекрывающимся схемам дозирования. В некоторых воплощениях комбинированная терапия вводится субъекту одномоментно, одновременно или совокупно. В других воплощениях комбинированную терапию вводят субъекту последовательно. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту перед другой терапией (-ми) в комбинации. В другом воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту после другой терапии (-й) в комбинации.

В комбинированной терапии одно или более антител против KIT, представленных в настоящем документе (например, гуманизированное антитело против KIT), или его антигенсвязывающий фрагмент (например, его KIT-связывающий фрагмент), или его конъюгат могут быть введены до, одновременно или после введения одного или более дополнительных видов терапевтических средств (например, агентов, хирургического вмешательства или лучевой терапии) для защиты от, лечения, контроля и/или улучшения состояния, связанного с KIT-ассоциированным расстройством или заболеванием (например, расстройством, связанным с тучными клетками, таким как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), расстройством, связанным с эозинофилами, такое как эозинофильный эзофагит, рак, воспалительное состояние, фиброз). Использование термина «в комбинации» не ограничивает порядок, в котором субъекту вводят одно или более антител против KIT и один или более дополнительных видов терапии. В конкретных воплощениях терапевтические средства можно вводить серийно или последовательно.

В конкретных воплощениях можно вводить одно или более антител против KIT, представленных в настоящем документе (например, гуманизированное антитело против KIT), или его антигенсвязывающий фрагмент (например, его KIT-связывающий фрагмент), или его конъюгат до, одновременно с или после введения одного или более

дополнительных видов терапевтических средств, таких как противораковые агенты, например, ингибиторы тирозинкиназы (например, мизелиат иматиниба (Gleevec®) или сунитиниб (SUTENT), или ингибиторы гистондеацетилазы (например, вориностат или субероиланилидгидроксамовая кислота (SAHA)), для защиты от, лечения, сдерживания и/или облегчения KIT-ассоциированного расстройства или заболевания (например, рака, например, GIST, меланомы или рака легких).

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, в комбинации с одним или более антигистаминными агентами (например, H1- и/или H2-антигистаминными агентами) для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одномоментно, одновременно или совокупно с одним или более антигистаминными агентами (например, H1- и/или H2-антигистаминными агентами) для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, последовательно с одним или более антигистаминными агентами (например, H1- и/или H2-антигистаминными агентами) для лечения указанного расстройства.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, в комбинации с одним или несколькими антагонистами лейкотриеновых рецепторов для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту,

имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одномоментно, одновременно или совокупно с одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, последовательно с одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов для лечения указанного расстройства.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, в комбинации с одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, такой как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738) для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одномоментно, одновременно или совокупно с одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело

против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738) для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, последовательно с одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами (например, ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом и/или ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738) для лечения указанного расстройства.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, в комбинации с ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одномоментно,

одновременно или совокупно с ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, последовательно с ингибитором IgE, таким как антитело противIgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, для лечения указанного расстройства.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит в комбинации с ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одномоментно, одновременно или совокупно с ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, последовательно с ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), для лечения указанного расстройства.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, в комбинации с ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), для лечения

расстройства. В одном варианте осуществления антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одномоментно, одновременно или совокупно с ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, последовательно с ингибитором IL-5R, таким как антитело против IL-5R, например бенрализумабом (Fasenra®), для лечения указанного расстройства.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, в комбинации с ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одномоментно, одновременно или совокупно с ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, последовательно с ингибитором IL-5, таким как антитело против IL-5, например меполизумабом, для лечения указанного расстройства.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему

связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, в комбинации с ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одномоментно, одновременно или совокупно с ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, последовательно с ингибитором Siglec 8, таким как антитело против Siglec 8, например лирентелимабом, для лечения указанного расстройства.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, в комбинации с ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одномоментно, одновременно или совокупно с ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с

эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, последовательно с ингибитором TSLP или TSLPR, таким как антитело против TSLP или TSLPR, например тезепелумабом (Tezspire™), для лечения указанного расстройства.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, в комбинации с ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одномоментно, одновременно или совокупно с ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, последовательно с ингибитором C5aR, таким как антитело против C5aR, например авдоралимабом, для лечения указанного расстройства.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, в комбинации с ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одномоментно, одновременно или совокупно с ингибитором CD200R, таким как антитело против

CD200R, например LY3454738, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, последовательно с ингибитором CD200R, таким как антитело против CD200R, например LY3454738, для лечения указанного расстройства.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, в комбинации с одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одномоментно, одновременно или совокупно с одним или более ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, последовательно с одним или несколькими ингибиторами BTK, например ремибрутинибом и/или рилзабрутинибом, для лечения указанного расстройства.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, в комбинации с (1) одним или более антигистаминными средствами, как описано выше, (2) одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, как описано выше, (3) одним или более

иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше, и/или (4) одним или более ингибиторами BTK, как описано выше, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одномоментно, одновременно или совокупно с (1) одним или более антигистаминными средствами, как описано выше, (2) одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, как описано выше, (3) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше, и /или (4) одним или более ингибиторами BTK, как описано выше, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, последовательно с (1) одним или более антигистаминными средствами, как описано выше, (2) одним или более антагонистами лейкотриеновых рецепторов, как описано выше, (3) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше, и/или (4) одним или более ингибиторами BTK, как описано выше, для лечения указанного расстройства.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, в комбинации с (1) одним или более антигистаминными средствами, как описано выше, и (2) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одномоментно, одновременно или совокупно с (1) одним или более антигистаминными средствами, как

описано выше, и (2) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, последовательно с (1) одним или более антигистаминными средствами, как описано выше, и (2) одним или более иммуномодуляторами или противовоспалительными агентами, как описано выше, для лечения указанного расстройства.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, в комбинации с (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, и (3) ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одномоментно, одновременно или совокупно с (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, и (3) ингибитором IL-4R, такой как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, последовательно с (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом,

и (3) ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), для лечения указанного расстройства.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, в комбинации с (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, и (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одномоментно, одновременно или совокупно с (1) одним или более антигистаминными средствами, как описано выше, и (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, последовательно с (1) одним или более антигистаминными агентами, как описано выше, и (2) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, для лечения указанного расстройства.

В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, в комбинации с (1) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, и (2) ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®) для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем

документе, вводят субъекту, имеющему связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, одномоментно, одновременно или совокупно с (1) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, и (2) ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®) для лечения указанного расстройства. В одном воплощении антитело против KIT, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат, описанные в настоящем документе, вводят субъекту, имеющего связанное с тучными клетками расстройство, такое как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), или связанное с эозинофилами расстройство, такое как эозинофильный эзофагит, последовательно с (1) ингибитором IgE, таким как антитело против IgE, например омализумабом (Xolair®) или лигелизумабом, и (2) ингибитором IL-4R, таким как антитело против IL-4R, например дупилумабом (Dupixent®), для лечения указанного расстройства.

В другом конкретном воплощении в настоящем документе предложены комбинированные терапии для лечения KIT-ассоциированного расстройства или заболевания (например, расстройства, связанного с тучными клетками, такого как крапивница (например, хроническая индуцированная крапивница), расстройства, связанного с эозинофилами, такого как эозинофильный эзофагит, рака, воспалительного состояния, фиброза), которые включают введение определенного количества антитела против KIT, описанного в настоящем документе (например, гуманизированного антитела против KIT), или его антигенсвязывающего фрагмента (например, его KIT-связывающего фрагмента), или его конъюгата антитела в комбинации с некоторым количеством другого терапевтического средства (например, химиотерапевтического агента, ингибитора тирозинкиназы или ингибитора гистондеацетилазы) субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых воплощениях комбинированная терапия приводит к синергетическому эффекту. В некоторых воплощениях комбинированная терапия приводит к аддитивному эффекту.

В некоторых воплощениях в настоящем документе предложены комбинированные терапии для лечения рака, которые включают введение количества антитела против KIT, описанного в настоящем документе, в комбинации с количеством другого терапевтического средства (например, хирургического вмешательства, лучевой терапии, трансплантации стволовых клеток или химиотерапии) нуждающемуся в этом

субъекту. В некоторых воплощениях комбинированная терапия приводит к синергетическому эффекту. В другом конкретном воплощении комбинированная терапия приводит к аддитивному эффекту.

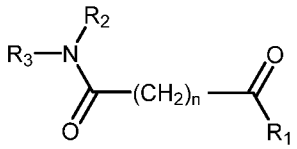
В некоторых воплощениях в настоящем документе предложены комбинированные терапии для лечения воспалительного состояния, которые включают введение количества антитела против KIT, описанного в настоящем документе, в комбинации с количеством другого терапевтического средства (например, противовоспалительной терапии, например, стероидной терапии) нуждающемуся в этом субъекту. В некоторых воплощениях комбинированная терапия приводит к синергетическому эффекту. В другом конкретном воплощении комбинированная терапия приводит к аддитивному эффекту.

Неограничивающие примеры других терапевтических средств для применения в комбинации с антителами, описанными в настоящем документе, включают другое антитело против KIT, которое иммуноспецифично связывается с другим эпитопом KIT, одним или более другим антителом (например, антителом против HER2, антителом против EGFR, антителом против VEGF), противовоспалительную терапию, химиотерапию (например, блокатор разборки микротрубочек, антиметаболит, ингибитор топоизомеразы и ДНК-сшиватель или повреждающий агент), облучение, хирургическое вмешательство, ингибиторы PGP (например, циклоспорин A, верапамил), ингибиторы HSP-90 (например, 17-AAG, STA-9090), ингибиторы протеосом (например, бортезомиб) и ингибиторы тирозинкиназы (например, иматиниба мезилат (GLEEVEC®), сунитиниб (SUTENT® или SU11248), гефитиниб (IRESSA™), эрлотиниб (TARCEVA®), сорафениб (NEXAVAR®), пазопаниб (VOTRIENT™), акситиниб, бозутиниб, цедираниб (RECENTIN®), SPRYCEL® (дазатиниб), лапатиниб (TYKERB®), лестауртиниб, нератиниб, нилотиниб (TASIGNA®) , семаксаниб, тоцераниб (PALLADIA™), вандетаниб (ZACTIMA™) и ваталаниб). В определенном воплощении другим терапевтическим средством для применения в комбинации с описанными здесь антителами является иматиниба мезилат.

Другие неограничивающие примеры других терапевтических средств для применения в комбинации с антителами, описанными в настоящем документе (например, гуманизированным антителом против KIT), или его антигенсвязывающим фрагментом (например, его KIT-связывающим фрагментом), или их конъюгатом включают ингибитор гистондеацетилазы, такой как вориностат или субероиланилидгидроксамовую кислоту (SAHA), или соединение, имеющее

химическую формулу (I), (II) или (III), как указано ниже. В определенном воплощении в настоящем документе предложен способ лечения рака (например, GIST или рака легкого), включающий (i) введение антитела, описанного в настоящем документе (например, гуманизированного антитела против KIT), или его антигенсвязывающего фрагмента (например, его KIT-связывающего фрагмента) или его конъюгата антитела; и (ii) ингибитор гистондеацетилазы, например, вориностат или субероиланилидгидроксамовую кислоту (SAHA) или соединение, имеющее химическую формулу (I), (II) или (III), как указано ниже.

В одном из воплощений в настоящем документе для применения в способах, описанных в настоящем документе, в комбинации с антителами против KIT предложены соединения формулы (I)



Формула (I)

или их фармацевтически приемлемая соль, гидрат или сольват, где

R_1 представляет собой гидроксиламино;

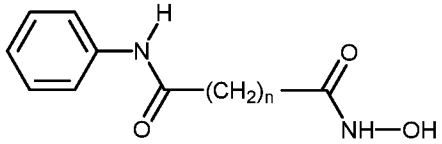
каждый из R_2 и R_3 независимо является таким же или отличным от других, замещенным или незамещенным, разветвленным или неразветвленным и представляет собой водород, гидроксил, алкил, алкенил, циклоалкил, арил, алкилокси, арилокси, арилалкилокси или пиридин; или R_2 и R_3 совместно образуют пиперидин; и

n представляет собой целое число от 5 до 7.

В одном из воплощений R_2 представляет собой атом водорода, и R_3 представляет собой замещенный или незамещенный фенил. В некотором воплощении R_3 представляет собой фенил, замещенный метилом, циано, нитро, трифторметилом, амино, аминокарбонилом, метилциано, хлором, фтором, бромом, иодом, 2,3-дифтором, 2,4-дифтором, 2,5-дифтором, 3,4-дифтором, 3,5-дифтором, 2,6-дифтором, 1,2,3-трифтором, 2,3,6-трифтором, 2,4,6-трифтором, 3,4,5-трифтором, 2,3,5,6-тетрафтором, 2,3,4,5,6-пентафтором, азидо, гексилом, *трет*-бутилом, фенилом, карбоксилом, гидроксилом, метокси, фенилокси, бензилокси, фениламиноокси, фениламинокарбонилом, метоксикарбонилом, метиламинокарбонилом, диметиламино, диметиламинокарбонилом или гидроксиламинокарбонилом. В другом воплощении R_3

представляет собой незамещенный фенил. В другом воплощении n представляет собой 6.

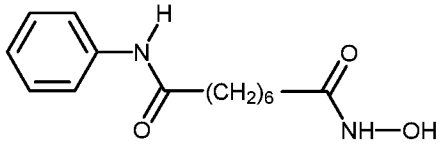
В одном из воплощений в настоящем документе для применения в способах, описанных в настоящем документе, в комбинации с антителами против KIT предложены соединения формулы (II)



Формула (II)

или их фармацевтически приемлемая соль или сольват, где n представляет собой целое число от 5 до 8. В одном из воплощений n представляет собой 6.

В одном из воплощений в настоящем документе для применения в способах, описанных в настоящем документе, в комбинации с антителами против KIT предложено соединение формулы (III) (SAHA)



Формула (III) (SAHA)

или его фармацевтически приемлемая соль, гидрат или сольват.

Соединения формул I-III могут быть синтезированы согласно способам, описанным в перевыпущенном патенте США № RE38506 и патенте США № 6087367, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

В одном из воплощений в настоящем документе для применения в способах, описанных в настоящем документе, в комбинации с антителами против KIT предложен полиморф SAHA Формы I, характеризующийся дифрактограммой рентгеновской дифракции, по существу аналогичной дифрактограмме, представленной на фигуре 13A патента США № 7456219, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. В одном из воплощений полиморф SAHA Формы I характеризуется дифрактограммой рентгеновской дифракции, содержащей характеристические пики при примерно 9,0, 9,4, 17,5, 19,4, 20,0, 24,0, 24,4, 24,8, 25,0, 28,0 и 43,3 градуса 2θ, измеренные с помощью автоматизированного порошкового дифрактометра Siemens D500 (диапазон: 4-40 градусов 2θ; источник: Cu; λ = 1,54 ангстрем (0,154 нм), 50 кВ, 40 мА).

В некотором воплощении полиморф SAHA Формы I характеризуется термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), имеющей единственное максимальное значение при примерно 164,4±2,0°C, измеренное с помощью прибора Perkin Elmer DSC 6 при скорости нагревания 10°C/мин от 50°C до температуры по меньшей мере на 30°C выше наблюдаемой температуры плавления.

Полиморф SAHA Формы I может быть синтезирован согласно способам, описанным в патенте США № 7456219.

В одном из воплощений в настоящем документе предложена кристаллическая композиция, содержащая лизин и SAHA, характеризующаяся дифрактограммой рентгеновской дифракции, по существу аналогичной дифрактограмме, представленной на фигуре 1 публикации международной заявки на патент № WO2008/042146, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. В другом воплощении указанная кристаллическая композиция характеризуется дифрактограммой рентгеновской дифракции, содержащей характеристические пики при примерно 6,8, 20,1 и 23,2 градуса 2θ, измеренные с помощью порошкового рентгеновского дифрактометра PANalytical X'Pert Pro (диапазон: 2-40 градусов 2θ; источник: Cu Kα1 и Kα2). В другом воплощении указанная кристаллическая композиция характеризуется дифрактограммой рентгеновской дифракции, содержащей характеристические пики при примерно 6,8, 12,6, 18,7, 20,1, 23,2 и 24,0 градуса 2θ, измеренные с помощью порошкового рентгеновского дифрактометра PANalytical X'Pert Pro (диапазон: 2-40 градусов 2θ; источник: Cu Kα1 и Kα2). В другом воплощении указанная кристаллическая композиция характеризуется дифрактограммой рентгеновской дифракции, содержащей характеристические пики при примерно 6,8, 12,0, 12,6, 16,4, 18,7, 20,1, 23,2, 24,0, 29,3 градуса 2θ, измеренные с помощью порошкового рентгеновского дифрактометра PANalytical X'Pert Pro (диапазон: 2-40 градусов 2θ; источник: Cu Kα1 и Kα2).

В некотором воплощении указанная кристаллическая композиция, содержащая лизин и SAHA, характеризуется термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), где эндотерма указанной кристаллической композиции демонстрирует экстраполированную температуру начала, составляющую примерно 182°C, измеренную с помощью дифференциального сканирующего калориметра TA Instruments Q1000 при скорости нагревания 10°C/мин от комнатной температуры до 300°C.

Указанная кристаллическая композиция, содержащая лизин и SAHA, может быть синтезирована согласно способам, описанным в публикации международной заявки на патент № WO2008/042146.

В некоторых вариантах реализации комбинированные терапии, описанные в настоящем документе, обеспечивают синергизм или синергетический эффект. В конкретном воплощении синергетический эффект комбинированной терапии позволяет применять более низкие дозы (например, субоптимальные дозы) антитела против KIT, описанного в настоящем документе, и/или дополнительной терапии и/или осуществлять менее частое введение субъекту антитела против KIT, описанного в настоящем документе, или дополнительной терапии. В некоторых вариантах реализации возможность применения более низких доз антитела против KIT и/или дополнительной терапии и/или менее частого введения антитела против KIT или указанной дополнительной терапии снижает токсичность, связанную с введением субъекту антитела против KIT или указанной дополнительной терапии, соответственно, без снижения эффективности антитела против KIT или указанной дополнительной терапии, соответственно, при лечении KIT-ассоциированного расстройства или заболевания. В некоторых вариантах реализации синергетический эффект обеспечивает улучшенную эффективность антитела против KIT, описанного в настоящем документе, и/или указанных дополнительных терапий при лечении KIT-ассоциированного расстройства или заболевания. В некоторых вариантах реализации синергетический эффект комбинации антитела против KIT, описанного в настоящем документе, и одной или более дополнительных терапий позволяет избежать или снижает неблагоприятные или нежелательные побочные эффекты, связанные с применением любой отдельной терапии.

В настоящем документе предложены способы ингибирования активности KIT в клетке, экспрессирующей KIT, включающие приведение указанной клетки в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе (например, гуманизированного антитела против KIT), или его антигенсвязывающего фрагмента (например, его KIT-связывающего фрагмента), или коньюгата указанного антитела. В конкретном воплощении указанные способы обеспечивают ингибирование активности KIT по меньшей мере примерно на 10%, по меньшей мере примерно на 20%, по меньшей мере примерно на 30%, по меньшей мере примерно на 40% или по меньшей мере примерно на 50% в клетке, экспрессирующей KIT. В настоящем документе также предложены способы индукции или усиления апоптоза в клетке, экспрессирующей

KIT, включающие приведение указанной клетки в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе. В настоящем документе также предложены способы индукции или усиления клеточной дифференцировки в клетке, экспрессирующей KIT, включающие приведение указанной клетки в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе.

Активность KIT и, например, влияние антитела на активность KIT обычно могут быть оценены с применением, например, клеточных анализов, таких как анализы, описанные в настоящем документе.

Неограничивающие примеры активности KIT, которая может быть ингибирована способами, предложенными в настоящем документе, могут включать любую активность KIT, известную или описанную в уровне техники, например димеризацию рецептора KIT, фосфорилирование рецептора KIT (фосфорилирование тирозина), передачу сигналов ниже рецептора KIT (например, передачу сигналов Stat, AKT, MAPK или Ras), регуляцию транскрипции, индуцированную лигандом KIT (например, SCF) (например, SCF-индуцированную активацию транскрипции c-Myc), индукцию или усиление клеточной пролиферации или выживания клеток.

В некоторых вариантах реализации способ ингибирования (например, частичного ингибирования) активности KIT в клетке, экспрессирующей KIT, включает приведение указанной клетки в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе (например, гуманизированного антитела против KIT), или его антигенсвязывающего фрагмента (например, его KIT-связывающего фрагмента), или конъюгата указанного антитела, достаточным для ингибирования или противодействия активности KIT по меньшей мере примерно на 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, оцениваемого способами, описанными в настоящем документе и/или известными специалисту в данной области техники (например, ELISA). В некоторых вариантах реализации способ ингибирования (например, частичного ингибирования) активности KIT в клетке, экспрессирующей KIT, включает приведение указанной клетки в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе (например, гуманизированного антитела против KIT), или его антигенсвязывающего фрагмента (например, его KIT-связывающего фрагмента), или конъюгата указанного антитела, достаточным для ингибирования или противодействия активности KIT по меньшей мере примерно на 25%, 35%, 45%, 50%, 55% или 65%, оцениваемого способами, описанными в настоящем документе и/или известными специалисту в данной области

техники (например, ELISA). Неограничивающие примеры активности KIT могут включать фосфорилирование рецептора KIT, передачу сигналов рецептора KIT, пролиферацию клеток, опосредованную лигандом KIT (например, SCF), выживание клеток, опосредованное лигандом KIT (например, SCF), и активацию транскрипции гена-мишени KIT (например, c-Myc).

В конкретном воплощении способ ингибирования активности KIT в клетке, экспрессирующей KIT, включает приведение указанной клетки в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе (например, гуманизированного антитела против KIT), или его антигенсвязывающего фрагмента (например, его KIT-связывающего фрагмента), или конъюгата указанного антитела, достаточным для ингибирования (например, частичного ингибирования) или противодействия нисходящей передаче сигналов KIT, например передаче сигналов представителя киназ семейства Src, PI3-киназ или Ras-MAPK.

В другом конкретном воплощении способ ингибирования (например, частичного ингибирования) одной или более активностей KIT в клетке, экспрессирующей KIT, включает приведение указанной клетки в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для ингибирования или противодействия нисходящей передаче сигналов KIT, такой как фосфорилирование MAPK, фосфорилирование AKT или фосфорилирование Stat1, Stat3 или Stat5.

В некоторых вариантах реализации способ ингибирования (например, частичного ингибирования) активности KIT в клетке, экспрессирующей KIT, включает приведение указанной клетки в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для ингибирования или для снижения фосфорилирования AKT (например, фосфорилирования AKT, индуцированного лигандом KIT (например, SCF)) по меньшей мере примерно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, оцениваемого способами, описанными в настоящем документе или известными специалисту в данной области техники, например с помощью вестерн-блоттинга или иммуноферментного анализа (ELISA) или анализа методом иммуноблоттинга. В некоторых вариантах реализации способ ингибирования (например, частичного ингибирования) активности KIT в клетке, экспрессирующей KIT, включает приведение указанной клетки в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для ингибирования или для снижения фосфорилирования AKT (например, фосфорилирования AKT,

индуцированного лигандом KIT (например, SCF)) по меньшей мере примерно на 25%, 35%, 45%, 55% или 65%, оцениваемого способами, описанными в настоящем документе или известными специалисту в данной области техники, например с помощью вестерн-блоттинга или иммуноферментного анализа (ELISA) или анализа методом иммуноблоттинга.

В некоторых аспектах способ ингибирования (например, частичного ингибирования) активности KIT в клетке (например, раковой клетке), экспрессирующей KIT, включает приведение указанной клетки в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для ингибирования пролиферации указанной клетки. Анализы пролиферации клеток описаны в уровне техники и могут быть легко выполнены специалистом в данной области техники. Например, пролиферация клеток может быть оценена путем измерения включения бромдезоксиуридина (БДУ, BrdU) (см., например, Hoshino *et al.*, 1986, Int. J. Cancer 38, 369; Campana *et al.*, 1988, J. Immunol. Meth. 107:79) или включения (3H)-тимидина (см., например, Blechman *et al.*, Cell, 1995, 80:103-113; Chen, J., 1996, Oncogene 13:1395-403; Jeoung, J., 1995, J. Biol. Chem. 270:18367 73), путем прямого подсчета клеток через различные промежутки времени (например, 12-часовые или 24-часовые промежутки) или путем обнаружения изменений транскрипции, трансляции или активности известных генов, таких как протоонкогены (например, fos, myc), или маркеров клеточного цикла (Rb, cdc2, циклин A, D1, D2, D3, E и т.д.). Уровни такого белка и мРНК и активность могут быть определены любым способом, хорошо известным из уровня техники. Например, количество белка может быть определено с помощью известных иммунодиагностических методов, таких как ELISA, вестерн-блоттинг или иммунопреципитация, с применением антител, включая коммерчески доступные антитела. Количество мРНК может быть определено с применением способов, которые хорошо известны и являются общепринятыми в данной области техники, например с применением нозерн-анализа, защиты от РНКазы или полимеразной цепной реакции в сочетании с обратной транскрипцией.

В конкретных вариантах реализации способ ингибирования (например, частичного ингибирования) активности KIT в клетках (например, раковых клетках), экспрессирующих KIT, включает приведение указанных клеток в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для ингибирования пролиферации клеток по меньшей мере примерно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%,

98% или 99%, оцениваемого способами, описанными в настоящем документе или известными специалисту в данной области техники (например, с помощью анализа включения BrdU). В конкретных вариантах реализации способ ингибирования (например, частичного ингибирования) активности KIT в клетках, экспрессирующих KIT, включает приведение указанных клеток в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для ингибирования пролиферации клеток по меньшей мере примерно на 25%, 35%, 45%, 55% или 65%, оцениваемого способами, описанными в настоящем документе или известными специалисту в данной области техники (например, с помощью анализа включения BrdU). В конкретных вариантах реализации способ ингибирования или противодействия активности KIT в клетках, экспрессирующих KIT, включает приведение указанных клеток в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для ингибирования пролиферации клеток по меньшей мере примерно в 1 раз, 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз, оцениваемого способами, описанными в настоящем документе или известными специалисту в данной области техники (например, с помощью анализа включения BrdU).

В некоторых аспектах предложенный в настоящем документе способ ингибирования активности KIT в клетке (например, раковой клетке), экспрессирующей KIT, включает приведение указанной клетки в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для снижения или для ингибирования выживания указанной клетки. Анализы выживания клеток описаны в уровне техники и могут быть легко выполнены специалистом в данной области техники. Например, жизнеспособность клеток может быть оценена с помощью окрашивания трипановым синим или других маркеров гибели или жизнеспособности клеток, известных из уровня техники. В конкретном воплощении для определения жизнеспособности клеток измеряют уровень клеточной АТФ. В конкретных вариантах реализации жизнеспособность клеток измеряют в трехдневный и семидневный периоды с применением аналитического стандарта в данной области техники, такого как набор для анализа CellTiter-Glo (Promega), который измеряет уровни внутриклеточной АТФ. Снижение уровня клеточной АТФ служит признаком цитотоксического эффекта. В другом конкретном воплощении жизнеспособность клеток может быть измерена при выполнении анализа поглощения нейтрального

красного. В других вариантах реализации визуальное наблюдение за морфологическими изменениями может включать увеличение, гранулярность, клетки с неровными краями, пленкообразный (filmy) вид, округление, отделение от поверхности лунки или другие изменения. Указанным изменениям присваивается обозначение T (100% токсическое), PVH (частично токсическое–очень тяжелая степень–80%), PH (частично токсическое–тяжелая степень–60%), P (частично токсическое–40%), Ps (частично токсическое–легкая степень–20%) или 0 (отсутствие токсичности–0%) в соответствии со степенью наблюдаемой цитотоксичности. Концентрацию, ингибирующую 50% клеток (цитотоксическую для 50% клеток) (IC_{50}), определяют с помощью регрессионного анализа указанных данных.

В конкретных вариантах реализации предложенный в настоящем документе способ ингибирования (например, частичного ингибирования) активности KIT в клетках, экспрессирующих KIT, включает приведение указанных клеток в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для снижения или для ингибирования выживания указанных клеток по меньшей мере примерно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, оцениваемого способами, описанными в настоящем документе или известными специалисту в данной области техники (например, с помощью анализа исключения трипанового синего). В конкретных вариантах реализации предложенный в настоящем документе способ ингибирования (например, частичного ингибирования) активности KIT в клетках, экспрессирующих KIT, включает приведение указанных клеток в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для снижения или для ингибирования выживания указанных клеток по меньшей мере примерно на 25%, 35%, 45%, 55% или 65%, оцениваемого способами, описанными в настоящем документе или известными специалисту в данной области техники (например, с помощью анализа исключения трипанового синего). В конкретных вариантах реализации предложенный в настоящем документе способ ингибирования активности KIT в клетках, экспрессирующих KIT, включает приведение указанных клеток в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для снижения или для ингибирования выживания указанных клеток по меньшей мере примерно в 1 раз, 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз, оцениваемого способами, описанными в

настоящем документе или известными специалисту в данной области техники (например, с помощью анализа с применением трипанового синего).

В конкретном воплощении предложенный в настоящем документе способ ингибирования (например, частичного ингибирования) активности KIT в клетках, экспрессирующих KIT, включает приведение указанных клеток в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для индукции апоптоза (то есть, запрограммированной гибели клеток). Способы обнаружения апоптоза описаны в уровне техники и могут быть легко выполнены специалистом в данной области техники. Например, проточная цитометрия может быть применена для обнаружения активированной каспазы 3, фермента, опосредующего апоптоз, в клетках, подвергающихся апоптозу, или вестерн-блоттинг может быть применен для обнаружения расщепления поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP) (см., например, Smolich *et al.*, Blood, 2001, 97:1413-1421). Расщепление PARP является индикатором апоптоза. В конкретных вариантах реализации предложенный в настоящем документе способ ингибирования или противодействия активности KIT в клетках, экспрессирующих KIT, включает приведение указанных клеток в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для индукции или усиления апоптоза по меньшей мере примерно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, оцениваемого способами, описанными в настоящем документе или известными специалисту в данной области техники (например, с помощью проточной цитометрии для обнаружения активированных каспаз 3). В конкретных вариантах реализации предложенный в настоящем документе способ ингибирования или противодействия активности KIT в клетках, экспрессирующих KIT, включает приведение указанных клеток в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для индукции или усиления апоптоза по меньшей мере примерно на 25%, 35%, 45%, 55% или 65%, оцениваемого способами, описанными в настоящем документе или известными специалисту в данной области техники (например, с помощью проточной цитометрии для обнаружения активированных каспаз 3). В конкретных вариантах реализации предложенный в настоящем документе способ ингибирования активности KIT в клетках, экспрессирующих KIT, включает приведение указанных клеток в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для индукции или усиления апоптоза по меньшей мере примерно в 1 раз, 1,2 раза, 1,3

раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз, оцениваемого способами, описанными в настоящем документе или известными специалисту в данной области техники (например, с помощью проточной цитометрии для обнаружения активированной каспазы 3).

В конкретном воплощении предложенный в настоящем документе способ ингибирования (например, частичного ингибирования) активности KIT в клетке, экспрессирующей KIT, включает приведение указанных клеток в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для индукции дифференцировки. Способы обнаружения дифференцировки описаны в уровне техники и могут быть легко выполнены специалистом в данной области техники. Например, проточная цитометрия может быть применена для обнаружения экспрессии одного или более маркеров дифференцировки или отсутствия экспрессии одного или более недифференцированных маркеров в клетке, приведенной в контакт с антителом, описанным в настоящем документе. Аналогичным образом вестерн-блоттинг также может быть применен для обнаружения маркеров дифференцировки. Подходящие маркеры дифференцировки и недифференцированные маркеры были описаны, и они известны специалисту в данной области техники.

В конкретных вариантах реализации предложенный в настоящем документе способ ингибирования (например, частичного ингибирования) активности KIT в клетках, экспрессирующих KIT, включает приведение указанных клеток в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для индукции дифференцировки по меньшей мере примерно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, оцениваемой способами, описанными в настоящем документе или известными специалисту в данной области техники (например, с помощью проточной цитометрии). В конкретных вариантах реализации предложенный в настоящем документе способ ингибирования (например, частичного ингибирования) активности KIT в клетках, экспрессирующих KIT, включает приведение указанных клеток в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для индукции дифференцировки по меньшей мере примерно на 25%, 35%, 45%, 55% или 65%, оцениваемой способами, описанными в настоящем документе или известными специалисту в данной области техники (например, с помощью проточной цитометрии). В конкретных вариантах реализации предложенный в настоящем

документе способ ингибирования активности KIT в клетках, экспрессирующих KIT, включает приведение указанных клеток в контакт с эффективным количеством антитела, описанного в настоящем документе, достаточным для индукции дифференцировки по меньшей мере примерно в 1 раз, 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз, оцениваемой способами, описанными в настоящем документе или известными специалисту в данной области техники (например, с помощью проточной цитометрии).

Неограничивающие примеры клеток, которые могут быть дифференцированы способами, описанными в настоящем документе, включают стволовые клетки (например, эмбриональные стволовые клетки, гемопоэтические стволовые клетки) и клетки-предшественники. Иллюстративные маркеры гемопоэтических стволовых клеток включают CD38, CD34, CD59, CD133, Sca-1 и ABCG2. Неограничивающие примеры маркеров нейральных стволовых клеток включают нестин, PSA-NCAM, *рецептор нейротрофинов p75* (p75 Neurotrophin R) и виментин. Другие неограничивающие примеры маркеров стволовых клеток включают Oct4, Sox2, Klf4, LIN28, Nanog, SSEA-3, SSEA-4, Notch и Wnt.

5.6 Композиции

В настоящем документе предложены композиции, такие как фармацевтические композиции, содержащие одно или более антител против KIT (например, гуманизированных антител) или их антигенсвязывающих фрагментов, описанных в настоящем документе, или их конъюгатов, описанных в настоящем документе. В конкретных аспектах композиции, описанные в настоящем документе, могут быть предназначены для применений *in vitro*, *in vivo* или *ex vivo*. В конкретных вариантах реализации настоящего документа предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело против KIT (например, гуманизированное антитело) или его антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе, или их конъюгат, описанный в настоящем документе, и фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент.

В контексте настоящего описания термин «фармацевтически приемлемый» означает одобрение регулирующим органом федерального правительства или правительства штата или присутствие в перечне фармакопеи США, Европейской фармакопеи или другой общепризнанной фармакопеи для применения у животных и более конкретно у людей.

Терапевтические составы, содержащие одно или более антител (например, гуманизированных антител), предложенных в настоящем документе, могут быть получены с расчетом на хранение путем смешивания антитела желаемой степени чистоты с возможными физиологически приемлемыми носителями, эксципиентами или стабилизаторами (Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA; Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed. (2006) Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD) в форме лиофилизированных составов или водных растворов. Приемлемые носители, эксципиенты или стабилизаторы являются нетоксичными для реципиентов в применяемых дозах и концентрациях и включают буферы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; и/или неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, PLURONICS™ или полиэтиленгликоль (PEG).

Составы, такие как составы, описанные в настоящем документе, также могут содержать более одного активного соединения (например, молекулы, например антитело или антитела, описанные в настоящем документе), если это необходимо для конкретного показания, подвергаемого лечению. В некоторых вариантах реализации составы содержат антитело, предложенное в настоящем документе, и одно или более активных соединений с комплементарными активностями, которые не оказывают неблагоприятного воздействия друг на друга. Такие молекулы подходящим образом присутствуют в комбинации в количествах, которые являются эффективными для предполагаемой цели.

Составы, подлежащие применению для введения *in vivo*, могут быть стерильными. Этого легко достигнуть путем фильтрования через, например, стерильные фильтрационные мембраны.

В конкретных аспектах фармацевтические композиции, предложенные в настоящем документе, содержат терапевтически эффективные количества одного или более антител против KIT (например, гуманизированных антител), предложенных в настоящем документе, и возможно один или более дополнительных профилактических или терапевтических агентов в фармацевтически приемлемом носителе. Такие фармацевтические композиции подходят для применения для предупреждения, защиты от, лечения, сдерживания или облегчения KIT-ассоциированного расстройства, связанного с эозинофилами расстройства или связанного с тучными клетками расстройства, или одного или более из их симптомов.

Фармацевтические носители, подходящие для введения антител, предложенных в настоящем документе, включают любые такие носители, которые, как известно специалистам в данной области техники, подходят для конкретного способа введения.

Кроме того, антитела, описанные в настоящем документе, могут быть приготовлены в виде единственного фармацевтически активного ингредиента в указанной композиции или могут быть объединены с другими активными ингредиентами (такими как один или более других профилактических или терапевтических агентов).

Композиции могут содержать одно или более антител против KIT, предложенных в настоящем документе. В одном из воплощений указанные антитела готовят в виде подходящих фармацевтических препаратов, таких как растворы, суспензии, порошки или эликсиры, в виде стерильных растворов или суспензий для парентерального введения. В одном из воплощений указанные антитела готовят в виде подходящих фармацевтических препаратов, таких как растворы, суспензии, таблетки, диспергируемые таблетки, пилюли, капсулы, порошки, составы с замедленным высвобождением или эликсиры, для перорального введения, а также препарата для трансдермального пластыря и ингаляторов сухого порошка.

В таких композициях одно или более антител, предложенных в настоящем документе (или их конъюгатов), смешивают с подходящим фармацевтическим носителем. Концентрации антитела или антител в указанных композициях могут, например, быть эффективными для доставки количества при введении, которое обеспечивает лечение, предупреждение, защиту от или сдерживание KIT-ассоциированного расстройства, связанного с эозинофилами расстройства или связанного с тучными клетками расстройства, или одного или более их симптомов.

В одном из воплощений указанные композиции готовят для введения однократной дозы. Для приготовления композиции массовую долю соединения растворяют, суспендируют, диспергируют или иным образом смешивают в выбранном носителе в эффективной концентрации, такой, что происходит ослабление, предупреждение подвергаемого лечению состояния или облегчение одного или более симптомов.

В некоторых аспектах антитело (например, гуманизированное антитело), предложенное в настоящем документе (или конъюгат указанного антитела с лекарственным средством), включено в фармацевтически приемлемый носитель в эффективном количестве, достаточном для оказания подходящего для

терапевтического применения действия на пациента, подвергаемого лечению, при отсутствии или с минимальными или незначительными нежелательными побочными эффектами. Терапевтически эффективная концентрация может быть определена эмпирически путем проведения испытаний соединений в системах *in vitro* и *in vivo* с применением общепринятых способов, а затем экстраполирована на дозировки для людей.

Концентрация антитела в указанной фармацевтической композиции будет зависеть, например, от физико-химических характеристик указанного антитела, схемы дозирования и вводимого количества, а также других факторов, известных специалистам в данной области техники. В некоторых аспектах концентрация конъюгата антитела с лекарственным средством в указанной фармацевтической композиции будет зависеть, например, от физико-химических характеристик указанного антитела и/или указанного лекарственного средства, схемы дозирования и вводимого количества, а также других факторов, известных специалистам в данной области техники.

В одном из воплощений терапевтически эффективная доза обеспечивает получение концентрации антитела в сыворотке, составляющей от примерно 0,1 нг/мл до примерно 50-100 мкг/мл. В другом воплощении указанные фармацевтические композиции обеспечивают дозу, составляющую от примерно 0,001 мг до примерно 2000 мг антитела на килограмм массы тела, для введения через определенный период времени, например каждые сутки, каждую неделю, каждые 2 недели или каждые 3, 4 или 8 недель. Фармацевтические стандартные лекарственные формы могут быть получены для обеспечения от примерно 0,01 мг до примерно 2000 мг и в одном из воплощений от примерно 10 мг до примерно 500 мг указанного антитела и/или комбинации других необязательных основных ингредиентов на стандартную лекарственную форму.

В конкретном воплощении конъюгат антитела с лекарственным средством, описанный в настоящем документе, вводят в эффективной дозе, составляющей примерно от 1 до 100 мг конъюгата антитела с лекарственным средством на килограмм массы тела, для введения через определенный период времени, например каждые сутки, каждую неделю, каждые 2 недели или каждые 3 недели.

Антитело против KIT, описанное в настоящем документе, может быть введено за один раз или может быть разделено на несколько меньших доз, подлежащих введению с определенными интервалами времени. Подразумевается, что точная

дозировка и продолжительность лечения зависят от заболевания, подвергаемого лечению, и могут быть определены эмпирически с применением известных протоколов испытаний или путем экстраполяции данных испытаний *in vivo* или *in vitro*. Следует отметить, что концентрации и значения доз также могут варьироваться в зависимости от тяжести состояния, которое необходимо облегчить. Кроме того, следует понимать, что для любого конкретного субъекта конкретные режимы дозирования со временем могут быть скорректированы в соответствии с индивидуальной потребностью и профессиональным мнением лица, осуществляющего или контролирующего введение указанных композиций, и что диапазоны концентраций, приведенные в настоящем документе, являются исключительно иллюстративными и не предназначены для ограничения объема или практического применения заявленных композиций.

После смешивания или добавления антитела полученная смесь может представлять собой раствор, суспензию, эмульсию или тому подобное. Форма полученной смеси зависит от ряда факторов, включая предполагаемый способ введения и растворимость указанного соединения в выбранном носителе или переносящей среде. Эффективная концентрация является достаточной для облегчения симптомов заболевания, расстройства или состояния, подвергаемого лечению, и может быть определена эмпирически.

Фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, предложены для введения людям и животным, таким как млекопитающие (например, кошка или собака), в стандартных лекарственных формах, таких как стерильные парентеральные (например, внутривенные) растворы или суспензии, содержащие подходящие количества указанных соединений или их фармацевтически приемлемых производных. Фармацевтические композиции также предложены для введения людям и животным, таким как млекопитающие (например, кошка или собака), в стандартной лекарственной форме, такой как таблетки, капсулы, пилюли, порошки, гранулы и пероральные растворы или суспензии, а также масляно-водные эмульсии, содержащие подходящие количества указанных соединений или их фармацевтически приемлемых производных. В одном из воплощений указанное антитело готовят и вводят в стандартных лекарственных формах или лекарственных формах для многократного применения. В контексте настоящего описания термин «стандартные лекарственные формы» относится к физически дискретным единицам, подходящим для субъектов, представляющих собой людей и животных, и упакованным по отдельности, как известно из уровня техники. Каждая стандартная доза содержит заранее определенное

количество указанного антитела, достаточное для получения желаемого терапевтического эффекта, в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем, переносящей средой или разбавителем. Примеры стандартных лекарственных форм включают ампулы и шприцы, а также упакованные по отдельности таблетки или капсулы. Стандартные лекарственные формы могут быть введены частями или кратными частями. Лекарственная форма с многократными дозами представляет собой множество одинаковых стандартных лекарственных форм, упакованных в одну емкость, подлежащих введению в виде отдельной стандартной лекарственной формы. Примеры лекарственных форм с многократными дозами включают флаконы, бутылки с таблетками или капсулами или бутылки с объемом в пинтах или галлонах. Следовательно, лекарственная форма с многократными дозами представляет собой множество стандартных доз, которые не разделены в упаковке.

В некоторых вариантах реализации одно или более антител против KIT, описанных в настоящем документе, находятся в жидком фармацевтическом составе. Жидкие фармацевтически вводимые композиции могут быть получены, например, путем растворения, диспергирования или иного смешивания активного соединения, определенного выше, и необязательных фармацевтических адъювантов в носителе, таком как, например, вода, солевой раствор, водная декстроза, глицерин, гликоли, этанол и тому подобное, с образованием тем самым раствора или суспензии. При желании фармацевтическая композиция, подлежащая введению, также может содержать незначительные количества нетоксичных эксципиентов, таких как смачивающие агенты, эмульгирующие агенты, солюбилизирующие агенты и буферные агенты для поддержания pH и тому подобное.

Актуальные способы получения таких лекарственных форм известны или будут очевидны специалистам в данной области техники; например, см. Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA; Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed. (2006) Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD.

Могут быть получены лекарственные формы или композиции, содержащие антитело в количестве, составляющем от 0,005% до 100%, при этом остальное составляет нетоксичный носитель. Способы получения указанных композиций известны специалистам в данной области техники.

В одном из воплощений парентеральное введение, характеризующееся инъекцией либо подкожно, либо внутримышечно, либо внутривенно, также рассматривается в настоящем документе. Лекарственные формы для инъекций могут

быть получены в традиционных формах, либо в виде жидких растворов или суспензий, либо в виде твердых форм, подходящих для растворения или получения суспензии в жидкости перед инъекцией, либо в виде эмульсий. Лекарственные формы для инъекций, растворы и эмульсии также содержат одно или более эксципиентов. Подходящие эксципиенты представляют собой, например, воду, солевой раствор, декстрозу, глицерин или этанол. Кроме того, при желании фармацевтические композиции, подлежащие введению, также могут содержать незначительные количества нетоксичных эксципиентов, таких как смачивающие или эмульгирующие агенты, буферные агенты для поддержания pH, стабилизаторы, усилители растворимости и другие подобные агенты. Другие пути введения могут включать эпидуральное введение, энтеральное введение, внутримозговое введение, назальное введение, внутриартериальное введение, внутрисердечное введение, внутрикостную инфузию, интратекальное введение и внутрибрюшинное введение.

Препараты для парентерального введения включают стерильные растворы, готовые для инъекций, стерильные сухие растворимые продукты, такие как лиофилизированные порошки, готовые к объединению с растворителем непосредственно перед применением, включая таблетки для подкожных инъекций, стерильные суспензии, готовые для инъекций, стерильные сухие нерастворимые продукты, готовые к объединению с переносящей средой непосредственно перед применением, и стерильные эмульсии. Указанные растворы могут быть либо водными, либо неводными.

При внутривенном введении подходящие носители включают физиологический солевой раствор или фосфатно-солевой буферный раствор (PBS) и растворы, содержащие загущающие и солюбилизирующие агенты, такие как глюкоза, полиэтиленгликоль и полипропиленгликоль и их смеси.

Фармацевтически приемлемые носители, применяемые в парентеральных препаратах, включают водные переносящие среды, неводные переносящие среды, противомикробные агенты, изотонические агенты, буферы, антиоксиданты, местные анестетики, суспендирующие и диспергирующие агенты, эмульгирующие агенты, секвестрирующие или хелатирующие агенты и другие фармацевтически приемлемые вещества.

Фармацевтические носители также включают этиловый спирт, полиэтиленгликоль и пропиленгликоль для смешивающихся с водой переносящих сред

и гидроксид натрия, хлористоводородную кислоту, лимонную кислоту или молочную кислоту для регулирования pH.

В качестве иллюстрации внутривенная или внутриартериальная инфузия стерильного водного раствора, содержащего активное соединение, является эффективным способом введения. Другой вариант реализации представляет собой стерильный водный или масляный раствор или суспензию, содержащую активное вещество, при необходимости вводимую путем инъекции для получения желаемого фармакологического эффекта.

Антитело против KIT, описанное в настоящем документе, может быть суспендировано в микронизированной или другой подходящей форме. Форма полученной смеси зависит от ряда факторов, включая предполагаемый способ введения и растворимость указанного соединения в выбранном носителе или переносящей среде. Эффективная концентрация является достаточной для облегчения симптомов указанного состояния и может быть определена эмпирически.

В других вариантах реализации указанные фармацевтические составы представляют собой лиофилизированные порошки, которые могут быть восстановлены для введения в виде растворов, эмульсий и других смесей. Они также могут быть восстановлены и приготовлены в виде твердых веществ или гелей.

Указанный лиофилизированный порошок получают путем растворения антитела, предложенного в настоящем документе, в подходящем растворителе. В некоторых вариантах реализации указанный лиофилизированный порошок является стерильным. Указанный растворитель может содержать эксципиент, который улучшает стабильность, или другой фармакологический компонент указанного порошка или восстановленного раствора, полученного из указанного порошка. Вспомогательные вещества, которые могут быть применены, включают, но не ограничиваются ими, декстрозу, сорбит, фруктозу, кукурузный сироп, ксилит, глицерин, глюкозу, сахарозу или другой подходящий агент. Указанный растворитель также может содержать буфер, такой как цитрат, фосфат натрия или калия или другой подобный буфер, известный специалистам в данной области техники, в одном из воплощений при примерно нейтральном pH. Последующее стерильное фильтрование указанного раствора, за которым следует лиофилизация в стандартных условиях, известных специалистам в данной области техники, обеспечивает получение желаемого состава. В одном из воплощений полученный раствор будет распределен по флаконам для лиофилизации. Каждый флакон будет содержать однократную дозу или многократные дозы указанного

соединения. Указанный лиофилизированный порошок можно хранить в соответствующих условиях, например при температуре от примерно 4°C до комнатной температуры.

Восстановление указанного лиофилизированного порошка водой для инъекций обеспечивает получение состава для применения для парентерального введения. Для восстановления указанный лиофилизированный порошок добавляют в стерильную воду или другой подходящий носитель. Точное количество зависит от выбранного соединения. Такое количество может быть определено эмпирически.

Антитела, описанные в настоящем документе, могут быть приготовлены для локального или местного применения, например для местного нанесения на кожу и слизистые оболочки, например в глаз, в форме гелей, кремов и лосьонов и для нанесения на глаз или для интрацистернального или интраспинального применения. Местное введение предполагается для трансдермальной доставки, а также для введения в глаза или на слизистую оболочку или для различных видов ингаляционной терапии. Также могут быть введены назальные растворы указанного активного соединения отдельно или в комбинации с другими фармацевтически приемлемыми эксципиентами.

Антитела и другие композиции, предложенные в настоящем документе, также могут быть приготовлены таким образом, чтобы быть нацеленными на конкретную ткань, рецептор или другую область тела субъекта, подлежащего лечению. Многие способы такого нацеливания хорошо известны специалистам в данной области техники. Все способы такого нацеливания рассматриваются в настоящем документе для применения в отношении настоящих композиций. Неограничивающие примеры способов нацеливания см., например, в патентах США № 6316652, 6274552, 6271359, 6253872, 6139865, 6131570, 6120751, 6071495, 6060082, 6048736, 6039975, 6004534, 5985307, 5972366, 5900252, 5840674, 5759542 и 5709874. В некоторых вариантах реализации антитела против KIT, описанные в настоящем документе, нацелены на костный мозг (или их вводят туда иным образом). В некоторых вариантах реализации антитела против KIT, описанные в настоящем документе, нацелены на желудочно-кишечный тракт (или их вводят туда иным образом). В некоторых вариантах реализации антитела против KIT, описанные в настоящем документе, нацелены на головной мозг (или их вводят туда иным образом). В конкретных вариантах реализации антитело против KIT, описанное в настоящем документе, способно проникать через гематоэнцефалический барьер.

В конкретных вариантах реализации антитела против KIT, описанные в настоящем документе, нацелены на ткань глаза или глазной орган (или их вводят туда иным образом). В конкретных аспектах композиция, содержащая антитела против KIT, описанные в настоящем документе, может быть нацелена на ткань глаза или глазной орган в виде глазных капель или гелей. В конкретных аспектах композиция, содержащая антитела против KIT, описанные в настоящем документе, может быть нацелена на ухо.

В настоящем документе предложены фармацевтическая упаковка или набор, содержащие одну или более емкостей, заполненных одним или более из ингредиентами фармацевтических композиций, описанных в настоящем документе, таких как одно или более антител, предложенных в настоящем документе. Такая емкость (такие емкости) возможно может сопровождаться уведомлением в форме, установленной государственным органом, регулирующим изготовление, применение или продажу фармацевтических средств или биологических продуктов, которое отражает разрешение указанного органа по изготовлению, применению или продаже на введение человеку.

5.7 Способы диагностики

Меченые или иным образом поддающиеся обнаружению антитела, которые иммуноспецифично связываются с антигеном KIT, могут быть применены в диагностических целях для обнаружения, диагностики или мониторинга KIT-ассоциированного заболевания.

В настоящем документе предложены способы обнаружения экспрессии KIT в образцах, полученных от пациентов с расстройством или заболеванием, связанным с KIT. В конкретном воплощении способ обнаружения экспрессии KIT в образце, полученном от пациента, включает приведение указанного образца в контакт с антителом против KIT, описанным в настоящем документе, и обнаружение уровня экспрессии KIT в указанных образцах, например, путем корреляции связывания антитела против KIT с KIT с уровнями экспрессии KIT. Способы обнаружения известны специалисту в данной области техники.

В некоторых аспектах настоящего документа предложены способы диагностики пациента с KIT-ассоциированным расстройством или заболеванием. В некотором аспекте способ диагностики субъекта с KIT-ассоциированным расстройством или заболеванием включает приведение клеток или образца, полученного от указанного субъекта, в контакт с антителом против KIT, описанным в настоящем документе (или

его антигенсвязывающим фрагментом), и обнаружение уровня экспрессии KIT в указанных клетках или указанном образце. В некоторых вариантах реализации способ диагностики пациента с KIT-ассоциированным расстройством или заболеванием представляет собой способ *in vitro*. В конкретных вариантах реализации способ диагностики пациента с KIT-ассоциированным расстройством или заболеванием представляет собой способ *ex vivo*. В некоторых вариантах реализации указанный способ дополнительно включает введение указанному пациенту антитела или антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе, после диагностики.

В некоторых аспектах настоящего документа предложены способы обнаружения KIT-ассоциированного заболевания, включающие: (a) определение экспрессии антигена KIT в клетках или образце ткани субъекта с применением одного или более антител, описанных в настоящем документе, и (b) сравнение уровня антигена KIT с контрольным уровнем, например уровнями в образцах здоровой ткани (например, от пациента, не имеющего KIT-ассоциированного заболевания, или от того же пациента до начала заболевания), при этом увеличение анализируемого уровня антигена KIT по сравнению с контрольным уровнем антигена KIT служит признаком KIT-ассоциированного заболевания.

Способы обнаружения известны специалисту в данной области техники. Например, антитело против KIT может быть конъюгировано с поддающейся обнаружению молекулой (например, описанной в разделе 5.1.1), и указанная поддающаяся обнаружению молекула может быть визуализирована с применением стандартных методов (например, микроскопии). Антитела, описанные в настоящем документе, могут быть применены для анализа уровней антигена KIT в биологическом образце с применением классических иммуногистологических способов, описанных в настоящем документе или известных специалистам в данной области техники (например, см. Jalkanen *et al.*, 1985, J. Cell. Biol. 101:976-985 и Jalkanen *et al.*, 1987, J. Cell. Biol. 105:3087-3096). Другие основанные на антителах способы, подходящие для применения для обнаружения экспрессии генов белков, включают иммуноанализы, такие как ELISA и радиоиммуноанализ (РИА). Подходящие метки для анализов с применением антител известны из уровня техники и включают ферментные метки, такие как глюкозооксидаза; радиоизотопы, такие как иод (^{125}I, ^{121}I), углерод (^{14}C), сера (^{35}S), тритий (^{3}H), индий (^{121}In) и технеций (^{99}Tc); люминесцентные метки, такие как люминол; и флуоресцентные метки, такие как флуоресцеин и родамин, а также биотин.

В конкретных вариантах реализации способы диагностики, описанные в настоящем документе, включают применение «голых» или немеченых антител, не конъюгированных с поддающимся обнаружению маркером, и указанные «голые» или немеченые антитела обнаруживают косвенным образом, например, путем применения вторичного антитела, которое может быть помечено.

В некоторых вариантах реализации высокая экспрессия KIT в образце по сравнению с нормальным контрольным образцом (например, образцом, полученным от здорового пациента, не имеющего KIT-ассоциированного расстройства или заболевания) указывает на то, что пациент имеет KIT-ассоциированное расстройство или заболевание.

Способ диагностики пациента с KIT-ассоциированным расстройством или заболеванием, таким как рак, в образце, полученном от пациента, включает приведение указанного образца в контакт с антителом против KIT, описанным в настоящем документе, и обнаружение уровня экспрессии KIT в указанном образце. В некоторых вариантах реализации высокая экспрессия KIT в образце по сравнению с нормальным контрольным образцом (например, образцом, полученным от здорового пациента, не имеющего KIT-ассоциированного расстройства или заболевания) указывает на то, что пациент имеет KIT-ассоциированное расстройство или заболевание.

В некоторых вариантах реализации образец может представлять собой образец опухоли, полученный из опухоли пациента или содержащий опухолевые клетки из опухоли пациента. Примеры образцов опухолей в настоящем документе включают, но не ограничиваются ими, биоптаты опухолей, циркулирующие опухолевые клетки, циркулирующие белки плазмы, асцитическую жидкость, первичные клеточные культуры или клеточные линии, полученные из опухолей или проявляющие опухолеподобные свойства, а также консервированные образцы опухолей, такие как фиксированные формалином, залитые в парафин образцы опухолей или замороженные образцы опухолей. В некоторых вариантах реализации образец представляет собой фиксированный образец опухоли, который был гистологически законсервирован с применением фиксатора. В некоторых вариантах реализации образец представляет собой фиксированный формалином образец опухоли, который был законсервирован с применением формальдегида в качестве фиксатора. В некоторых вариантах реализации образец представляет собой залитый образец опухоли, который окружен прочной и обычно твердой средой, такой как парафин, воск, целлоидин или смола. Заливка позволяет делать тонкие срезы для микроскопического исследования или для создания

тканевых матриц (tissue microarrays, TMA). В конкретных вариантах реализации образец представляет собой залитый в парафин образец опухоли, который окружен очищенной смесью твердых углеводородов, полученных из нефти. В некоторых вариантах реализации образец представляет собой замороженный образец опухоли, который является замороженным или был заморожен. В конкретном воплощении изготавливают срезы образца, например залитого в парафин образца или замороженного образца.

В некоторых аспектах рак или биологический образец, который демонстрирует экспрессию, амплификацию или активацию KIT, представляет собой рак или биологический образец, который в диагностическом испытании экспрессирует (в том числе сверхэкспрессирует) рецептор KIT, имеет амплифицированный ген KIT и/или иным образом демонстрирует активацию или фосфорилирование рецептора KIT.

В настоящем документе также предложены обнаружение и диагностика KIT-ассоциированного заболевания у человека. В одном из воплощений диагностика включает: a) введение (например, парентерально, подкожно или внутрибрюшинно) субъекту эффективного количества меченого антитела, описанного в настоящем документе; b) ожидание в течение определенного промежутка времени после введения, чтобы позволить указанному меченому антителу сконцентрироваться преимущественно в участках тела указанного субъекта, где экспрессируется антиген KIT (и для выведения несвязанной меченой молекулы до фонового уровня); c) определение фонового уровня и d) обнаружение указанного меченого антитела у указанного субъекта, такое, что обнаружение превышения меченым антителом фонового уровня указывает на то, что указанный субъект имеет KIT-опосредованное заболевание. Фоновый уровень может быть определен различными способами, включая сравнение количества обнаруженной меченой молекулы со стандартным значением, ранее определенным для конкретной системы.

Из уровня техники будет понятно, что размер субъекта и применяемая система визуализации будут определять количество визуализирующего фрагмента, необходимое для получения диагностических изображений. В случае радиоизотопного фрагмента для субъекта, представляющего собой человека, величина радиоактивности ^{99}Tc, вводимого путем инъекции, обычно будет составлять от примерно 5 до 20 милликюри. Указанное меченое антитело затем будет накапливаться преимущественно в местах расположения клеток, которые содержат специфический белок. Визуализация опухолей *in vivo* описана в S.W. Burchiel *et al.*, “Immunopharmacokinetics of Radiolabeled

Antibodies and Their Fragments" (Chapter 13 in Tumor Imaging: The Radiochemical Detection of Cancer, S.W. Burchiel and B.A. Rhodes, eds., Masson Publishing Inc. (1982)).

В зависимости от нескольких параметров, включая тип применяемой метки и способ введения, промежуток времени после введения для предоставления возможности указанному меченому антителу сконцентрироваться преимущественно в определенных участках тела субъекта и для выведения несвязанного меченого антитела до фонового уровня составляет от 6 до 48 часов, или от 6 до 24 часов, или от 6 до 12 часов. В другом воплощении промежуток времени после введения составляет от 5 до 20 суток или от 5 до 10 суток.

В одном из воплощений мониторинг KIT-опосредованного заболевания осуществляют путем повторения способа диагностики указанного KIT-опосредованного заболевания, например, через один месяц после первоначальной диагностики, через шесть месяцев после первоначальной диагностики, через один год после первоначальной диагностики и т. д.

Присутствие меченой молекулы у указанного субъекта может быть обнаружено с применением способов, известных из уровня техники для сканирования *in vivo*. Указанные способы зависят от типа применяемой метки. Специалисты в данной области техники смогут определить подходящий способ обнаружения конкретной метки. Способы и устройства, которые могут быть применены в способах диагностики согласно настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются ими, компьютерную томографию (КТ), сканирование всего тела, такое как позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), магнитно-резонансную томографию (МРТ) и сонографию.

В конкретном воплощении указанную молекулу метят радиоизотопом и обнаруживают у пациента с применением чувствительного к излучению хирургического инструмента (Thurston *et al.*, патент США № 5441050). В другом воплощении указанную молекулу метят флуоресцентным соединением и обнаруживают у пациента с применением чувствительного к флуоресценции сканирующего прибора. В другом воплощении указанную молекулу метят излучающим позитроны металлом и обнаруживают у пациента с применением позитронно-эмиссионной томографии. В другом воплощении указанную молекулу метят парамагнитной меткой и обнаруживают у пациента с применением магнитно-резонансной томографии (МРТ).

6. ПРИМЕРЫ

Примеры в настоящем документе приведены в качестве иллюстрации, а не с целью ограничения.

6.1 Пример 1

Молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие Fc-мутированные H (тяжелая цепь) и L (легкая цепь) аминокислотные последовательности антитела против KIT (SEQ ID NO: 23 и SEQ ID NO: 24, соответственно, см. **Error! Reference source not found.** ниже), клонировали непосредственно в экспрессионный вектор. Конструкции подтверждали секвенированием, и вектор трансфицировали в клетки CHO. В результате трансфекции получали стабильные клеточные линии, экспрессирующие антитело, которые затем отбирали по чувствительности к лекарственному средству. Лучшие экспрессирующие линии отбирали по титру IgG в супернатанте, превышающему фоновый уровень, и вносили дополнения с учетом отбора по чувствительности к лекарственному средству в ходе скрининга экспрессии IgG с помощью системы Octet® QKe на каждом этапе.

Таблица 6: Последовательности ДНК, кодирующие тяжелую и легкую цепи антитела против KIT

Последовательность тяжелой цепи (ДНК):	atggagtggtcctgggtgttcctgttctttctgtccgtgaccacaggcgtgcacagccaggtgcagctggtgcagt ctggagctgaggtgaagaagccaggagcttctgtgaagctgtcctgcaaggccagcggctacaccttcacagac tactatatcaactgggtgagacaggctcctggcaagggcctggagtggatcgctcgcatctatccaggctctggc aacacctactataatgagaagtttaagggccgggccaccctgacagctgataagagcacctctacagcttacatgc agctgtccagcctgagatccgaggacaccgccgtgtacttctgcgctcgcggcgtgtactattttgattattggggc cagggcaccacagtgaccgtgtcttccgctagcacaaagggcccttccgtgtttccactggctcccagctctaagt ccaccagcggaggaacagccgctctgggctgtctggtgaaggactatttcccagagcccgtgaccgtgagctgg aactctggcgccctgaccagcggagtgcatacatttcctgctgtgctgcagtccagcggcctgtactctctgtcttc cgtggtgaccgtgccaagctcttccctgggcacccagacatatatctgcaacgtgaatcacaagccatccaataca aaggtggacaagaaggtggagcccaagagctgtgataagacccatacatgcccccccttgtcctgctccagaggc tcagggaggaccatccgtgttcctgtttccacccaagcctaaggacaccctgtacatcacaagggagccagaggt gacctgcgtggtggtggacgtgagccacgaggatcccgaggtgaagttcaactggtacgtggatggcgtggag gtgcataatgccaagacaaagccaagggaggagcagtacaatagcacctatcgggtggtgtctgtgctgacagt gctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgccaggtgtctaataaggccctgcccgctcctatcg agaagaccatctccaaggccaagggccagcctagggagccacaggtgtacacactgcctccaagccgggacg agctgaccaagaaccaggtgtctctgacatgtctggtgaagggcttctatccctctgatatcgctgtggagtggga

	gtccaatggccagcctgagaacaattacaagaccacacccccctgtgctggactccgatggcagcttctttctgtatt ccaagctgaccgtggataagagcaggtggcagcagggcaacgtgttttcttgttccgtgatgcatgaggctctgc acaatcattacacacagaagagcctgtctctgtcccctggc (SEQ ID NO: 23).
Последова-тельность легкой цепи (ДНК)	atgtccgtgccaacccaggtgctgggactgctgctgctgtggctgaccgacgccaggtgcgatatcgtgatgaca cagtccccttccagcctgtctgcttccgtgggcgacagagtgaccatcacctgtaaggccagccagaacgtgcgc accaatgtggcttggtaccagcagaagccaggcaaggcccccaaggctctgatctatagcgcctcttacaggtat agcggagtgcctgaccggttcaccggatccggaagcggaacagacttcaccctgacaatctcttccctgcagcct gaggacttcgctgattacttttgccagcagtacaactcttatccaaggaccttcggcggcggcacaaaggtggaga tcaagcggaccgtggccgctccaagcgtgttcatctttccccccttctgacgagcagctgaagtctggcacagcctc cgtggtgtgcctgctgaacaacttctaccccagagaggccaaggtgcagtggaaggtggataacgctctgcagt ctggcaattcccaggagagcgtgaccgagcaggactctaaggattccacatatagcctgagctctaccctgacac tgtctaaggccgattacgagaagcacaaggtgtatgcttgcgaggtgacccatcagggcctgtccagcccagtga caaagtccttcaatcgcggcgagtgt (SEQ ID NO: 24).

Полученное антитело после удаления лидерных последовательностей обозначали как антитело mAb1. Аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепей антитела (после удаления лидерных последовательностей) приведены в таблице 7 ниже.

Таблица 7: Полноразмерные аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепей mAb1.

Полноразмерная аминокислотная последователь-ность тяжелой цепи mAb1 (включая Fc):	QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGKGL EWIARIYPGSGNTYYNEKFKGRATLTADKSTSTAYMQLSSLRSEDT AVYFCARGVYYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PE**AQ**GGPSVFLFPPKPKDTL**Y**I**T**R**E**PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC **Q**VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 21)

Полноразмерная аминокислотная последователь-ность легкой цепи mAb1:	DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKA LIYSASYRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQQYNSY PRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 22)

Домен Fc тяжелой цепи этого антитела содержит неприродные аминокислоты 234A, 235Q, 322Q, 252Y, 254T и 256E, пронумерованные согласно по индексу EU, как указано у Kabat. Эти шесть неприродных аминокислот выделены жирным шрифтом в приведенной выше последовательности.

Установлено, что mAb1 не вызывает существенной дегрануляции FcgRI-экспрессирующих тучных клеток человека (показано по % высвобождения бета-гексозаминидазы из тучных клеток человека в культуре) по сравнению с соответствующим антителом с Fc-доменом IgG1 дикого типа (немутированным) («mAbc»). Высвобождение бета-гексозаминидазы из тучных клеток человека в культуре (в присутствии IFN гамма) снижалось более чем на 50% при использовании mAb1 по сравнению с mAbc. Кроме того, mAb1 не проявлял существенной Fc-рецептор-зависимой агонистической активности в отношении KIT (определяемой по фосфорилированию KIT) по сравнению с mAbc, даже при перекрестном связывании с клетками THP-1. Fc-рецептор-зависимая агонистическая активность в отношении KIT (определяемая по фосфорилированию KIT при сшитых Fc-рецепторах) была снижена более чем на 50% при использовании mAb1 по сравнению с mAbc.

6.2 Пример 2

Здоровые добровольцы получали однократную инфузию mAb1 в дозе 0,3, 1, 3 или 9 мг/кг или плацебо. Общий уровень триптазы в плазме крови определяли с помощью анализатора Immunocap®, который выявляет как альфа-, так и бета-формы триптазы. Для каждой когорты значения триптазы были нормализованы до 100% для значений до лечения и до 0% для нижнего предела количественной оценки анализа (1 нг/мл). Средние значения и стандартная ошибка среднего были нанесены на график в зависимости от дозы.

Результаты представлены на ФИГ. 2A-2E, из которых следует, что mAb1 подавлял триптазу плазмы крови дозозависимым образом.

6.3 Пример 3

Однократное введение mAb1 приводило к длительному снижению значений триптазы ниже уровня количественного определения (1 нг/мл). Значения ниже уровня обнаружения произвольно отмечали как 0,5 нг/мл. Показаны абсолютные значения триптазы в плазме крови.

Результаты представлены на ФИГ. 3A и 3B, из которых следует, что однократная доза mAb1 обеспечивала стойкое подавление триптазы как в дозе 3 мг/кг, так и в дозе 9 мг/кг.

6.4 Пример 4

Здоровые добровольцы получали однократную инфузию mAb1 в дозе 0,3, 1, 3 или 9 мг/кг или плацебо. Уровень фактора стволовых клеток (SCF) в плазме, единственного лиганда для рецептора c-KIT/CD117, определяли с помощью разработанного в компании анализа на платформе Meso Scale Diagnostics (MSD). Уровень SCF в плазме крови повышался дозозависимым образом, что соответствует аллостерической блокаде SCF рецептором KIT. Средние значения и стандартная ошибка среднего были представлены на графике в зависимости от дозы.

Результаты представлены на ФИГ. 4, где показано, что mAb1 вызывало дозозависимое повышение уровня SCF в плазме крови.

6.5 Пример 5

Клетки M-07e выдерживали в бессывороточной среде, затем предварительно обрабатывали (i) mAb1, (ii) соответствующим антителом с теми же последовательностями вариабельной области, но с немутированной (дикого типа) последовательностью IgG1 человека («mAbc»), (iii) изотипным контрольным антителом или (iv) маломолекулярным ингибитором киназы, направленным к KIT (иматиниб), и затем стимулировали фактором стволовых клеток (SCF). Фосфорилирование оценивали вестерн-блоттингом.

Результаты одного эксперимента представлены на ФИГ. 5. Данные получены в 3 независимых экспериментах. IgG = изотипное контрольное антитело IgG1 человека; p-KIT = тирозин-фосфорилированный KIT; p-AKT = фосфорилированный AKT; p-ERK = фосфорилированный ERK1/2. В совокупности эти результаты свидетельствуют о том, что mAb1 является более мощным ингибитором SCF-индуцированной активации KIT дикого типа и нижележащих внутриклеточных сигнальных путей, чем тестируемый маломолекулярный ингибитор KIT.

6.6 Пример 6

Также было охарактеризовано влияние mAb1 и иматиниба на SCF-зависимую пролиферацию клеток M-07e.

Клетки M-07e выдерживали в бессывороточной среде, затем предварительно обрабатывали (i) mAb1, (ii) соответствующим антителом с теми же последовательностями вариабельной области, но с немутированной (дикого типа) последовательностью IgG1 человека («mAbc») или (iii) иматинибом, а затем стимулировали SCF. Клетки инкубировали в течение 6 дней при 37ºC.

Результаты представлены на ФИГ. 6. Данные получены в трех независимых экспериментах и представлены как средние значения технических трех повторностей и стандартные ошибки средних.

И mAb1, и mAbc демонстрировали сходное дозозависимое ингибирование пролиферации клеток M-07e со средними значениями IC50 1,11 ± 0,15 нМ и 1,12 ± 0,22 нМ (± SEM; n=5; ФИГ. 6), соответственно. Для сравнения, иматиниб ингибировал SCF-зависимую пролиферацию клеток M-07e менее интенсивно, со средним значением IC50 228 ± 39 нМ (± SEM) в 3 независимых экспериментах. Антагонистическая активность mAb1 была сопоставима с mAbc, что свидетельствует о том, что мутации, внесенные в область Fc mAb1, не повлияли на его способность ингибировать KIT.

6.7 Пример 7

Была охарактеризована аффинность связывания mAb1 с рекомбинантными Fc-гамма-рецепторами (FcγR) человека и неонатальным Fc-рецептором (FcRn) человека и получены равновесные значения KD.

Связывание с рекомбинантными Fc-рецепторами человека измеряли методом биослойной интерферометрии на приборе Octet® QKe. Гистидин-меченные Fc-рецепторы фиксировали на биосенсорах анти-Penta-His, затем подвергали воздействию серийных разведений mAbc или mAb1 в течение 2-3 минут, после чего следовала стадия диссоциации в течение 5-10 минут. Сглаживание кривых осуществляли с помощью аналитического программного обеспечения прибора. Связывание с FcRn проводили со стадиями ассоциации и диссоциации при pH 6,0 и pH 7,2.

Результаты представлены на ФИГ. 7 и 8A-8N, из которых следует, что mAbc с высокой аффинностью связывалось с FcγRI (KD = 3,39 нМ), с промежуточной аффинностью с FcγRIIIa (KD = 127 нМ) и слабой аффинностью с FcγRIIa (KD = 391 нМ) и FcγRIIIb (KD = 816 нМ). Связывания с FcγRIIb не наблюдалось. В отличие от этого, не было обнаружено связывания mAb1 (концентрация = 500 нМ) ни с одним из рекомбинантных человеческих FcγR.

Связывание с неонатальным Fc-рецептором (FcRn) человека тестировали при физиологическом pH 7,2, а также при pH 6,0 для моделирования эндоцитарных условий. При pH 7,2 связывания mAbc с FcRn не наблюдалось, а mAb1 связывалось с промежуточной аффинностью (KD = 77,1 нМ). При pH 6,0 mAbc связывалось с FcRn с промежуточной аффинностью (KD = 211 нМ). Однако mAb1 связывалось с FcRn при pH 6,0 со значительно большей аффинностью и демонстрировал очень медленную диссоциацию (KD = 0,38 нМ).

Эти данные свидетельствуют о том, что мутации Fc в mAb1 отменяют взаимодействие с FcγR и усиливают взаимодействие с FcRn *in vitro*.

6.8 Пример 8

Антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC) mAb1 оценивали с помощью коммерчески доступного набора ADCC Reporter Bioassay Kit (Promega Corporation, Мадисон, Висконсин). В качестве эффекторных клеток в ADCC Reporter Bioassay использовали сконструированные клетки Jurkat, стабильно экспрессирующие вариант рецептора FcγRIIIa V158 (высокоаффинный), и элемент ответа ядерного фактора активированных Т-клеток (NFAT), стимулирующий экспрессию люциферазы светлячка. Связывание рецепторов FcγRIIIa на поверхности эффекторных клеток с Fc-эффекторной частью антител, связанных с антигеном на клетках-мишенях, будет приводить к сшиванию и активации FcγRIIIa-сигнализации, что будет индуцировать экспрессию репортерного гена NFAT. Для оценки способности mAb1 и mAbc индуцировать ADCC в качестве клеток-мишеней использовали клетки M-07e, экспрессирующие KIT, трансфицированные клетки CHO (CHO-WT KIT) и клетки H526 мелкоклеточного рака легкого человека. Кроме того, в качестве контрольных клеток-мишеней использовали нетрансфицированные клетки CHO, не экспрессирующие KIT. ADCC считалась активированной, если наблюдалось дозозависимое увеличение сигнала репортерного гена.

Как показано на ФИГ. 9, mAbc вызывало ADCC-ответ против KIT-экспрессирующих клеток-мишеней M-07e, в то время как mAb1 или изотипный контроль не вызывали такого ответа. Аналогичные результаты были получены на клетках CHO-WT KIT и H526. В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что, в отличие от mAbc, mAb1 не вызывало ADCC-ответа против исследованных KIT-экспрессирующих клеток-мишеней.

6.9 Пример 9

Свежую цельную кровь инкубировали в течение ночи с 40 нМ huIgG1 в качестве изотипного контроля или mAb1 в концентрации 0,02, 0,2 или 40 нМ в растворе или в сухом виде. В качестве положительных контролей использовались фитогемагглютинин (ФГА) (10 мкг/мл) и липополисахариды (ЛПС) (10 мкг/мл). Образцы плазмы собирали и хранили в замороженном виде при температуре -80°C. Уровень цитокинов определяли с помощью технологии мультиплексирования лазерных частиц, выполненной компанией Eve Technologies (Калгари, Альберта, Канада).

Результаты представлены на ФИГ. 10, где концентрации цитокинов для отдельных доноров представляют собой средние значения для двух повторностей образцов. На графике представлены средние концентрации цитокинов для всех доноров (n=6), а планки погрешностей отражают SEM. Результаты показывают, что в целом при использовании mAb1 наблюдалась очень слабая специфическая индукция цитокинов по сравнению с контролем изотипа IgG1 человека.

6.10 Пример 10

Поступает пациент и у него диагностируют связанное с тучными клетками расстройство. Пациенту внутривенно вводят mAb1 и наблюдают за реакцией до, во время и после лечения, оценивая клинические показатели.

6.11 Пример 11. Исследование mAb1 у пациентов с хронической спонтанной крапивницей

В данном примере описан протокол рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования фазы 1 с многократным увеличением дозы для оценки безопасности, фармакокинетики и фармакодинамики mAb1 в качестве дополнительной терапии у пациентов с хронической спонтанной крапивницей. Тип исследования – интервенционное (клиническое испытание). Распределение пациентов – рандомизированное. Модель вмешательства – параллельное распределение. Тип метода – двойное слепое исследование (участник и исследователь).

Целью исследования было изучить безопасность, фармакодинамику и фармакокинетику возрастающих доз mAb1 у пациентов с хронической спонтанной крапивницей, у которых сохраняется симптоматика, несмотря на лечение антигистаминными агентами. Имеет место скрининговый период до 2 недель, 12-недельное двойное слепое лечение и 12-недельное наблюдение после окончания лечения. Пациенты получают несколько доз mAb1 или плацебо в качестве дополнительной терапии к антигистаминным агентам. К участию в исследовании допускают взрослых пациентов в возрасте от 18 до 75 лет любого пола. Здоровых

добровольцев в исследование не принимают. Предполагается, что в исследование будет включено 40 пациентов. В одной части исследования пациенты получают mAb1 внутривенно каждые 4-8 недель; в другой части исследования пациенты получают обычный физиологический раствор внутривенно каждые 4-8 недель.

Первичные критерии эффективности:

1. Безопасность, оцениваемая по частоте и тяжести нежелательных явлений (временные рамки: от 1-го дня (первая доза) до 169-го дня (последний контрольный визит)). Безопасность многократного применения возрастающих доз mAb1, определяемая по количеству нежелательных явлений, связанных с приемом лекарственного средства.

Вторичные критерии эффективности:

1. Фармакокинетическая оценка (временные рамки: от 1-го дня (до приема первой дозы) до 169-го дня (последний контрольный визит)). Концентрацию mAb1 в сыворотке крови измеряют во время указанных визитов.

2. Фармакодинамическая оценка (временные рамки: от 1-го дня (первая доза) до 169-го дня (последний контрольный визит)). Изменение по сравнению с исходным уровнем показателя Urticaria Activity Score (UAS7) у пациентов, получавших mAb1, по сравнению с плацебо.

3. Фармакодинамическая оценка (временные рамки: от 1-го дня (до введения первой дозы) до 169-го дня (последний контрольный визит)). Влияние mAb1 на уровень триптазы и фактора стволовых клеток.

4. Фармакодинамическая оценка (временные рамки: от 1-го дня (первая доза) до 169-го дня (последний контрольный визит)). Изменение по сравнению с исходным уровнем показателя Hives Severity Score (HSS7) у пациентов, получавших mAb1, по сравнению с плацебо.

5. Фармакодинамическая оценка (временные рамки: от 1-го дня (первая доза) до 169-го дня (последний контрольный визит)). Изменение по сравнению с исходным уровнем оценки тяжести зуда (ISS7) у пациентов, получавших mAb1, по сравнению с плацебо.

6. Оценка безопасности (временные рамки: от 1-го дня (до начала приема лекарственного средства) до 169-го дня (последний контрольный визит)). Оценка иммуногенности путем определения уровня образования антител-mAb1.

Основные критерии включения:

1. Мужчины и женщины, 18 - 75 лет.

2. Диагноз хронической спонтанной крапивницы (CSU), несмотря на применение H1-антигистаминных агентов отдельно или в комбинации с H2-антигистаминными агентами и/или антагонистами лейкотриеновых рецепторов, согласно определению:

a. Диагноз CSU в течение >/= 6 месяцев.

b. Наличие зуда и крапивницы в течение >/= 6 недель подряд в любое время до визита 1, несмотря на текущий прием H1-антигистаминных агентов.

c. UAS7 >/= 16 и HSS7 >/= 8 в течение 7 дней до начала лечения.

d. UAS в клинике >/= 4 в один из дней скринингового визита.

e. Применение H1-антигистаминных агентов отдельно или в комбинации с H2-антигистаминными агентами и/или антагонистами лейкотриеновых рецепторов в течение не менее 3 дней непосредственно перед началом исследования и в течение всего исследования.

3. Кроме CSU, не иметь других существенных медицинских показаний, которые могли бы вызвать дополнительный риск или помешать проведению исследования.

4. Нормальные показатели крови и функциональные пробы печени.

5. Мужчины и женщины, имеющие детородный потенциал, должны согласиться использовать высокоэффективные средства контрацепции во время исследования и в течение 150 дней после окончания лечения.

6. Готовность и способность вести ежедневный электронный дневник симптомов на протяжении всего исследования и соблюдать график посещений.

Основные критерии исключения:

1. Беременные или кормящие женщины.

2. Четко определенная причина хронической крапивницы.

3. Известная ВИЧ-инфекция, гепатит B или гепатит C.

4. Вакцинация живой вакциной в течение 4 недель до введения исследуемого лекарственного средства (испытуемые должны согласиться не проводить вакцинацию во время исследования). Допустимо использование инактивированных вакцин, например, сезонного гриппа для инъекций.

5. Анафилаксия в анамнезе.

Существуют дополнительные критерии, которые лечащий врач рассматривает вместе с кандидатом, чтобы подтвердить его пригодность к участию в исследовании.

6.12 Пример 12. Исследование безопасности, фармакокинетики и фармакодинамики mAb1 в одной дозе у пациентов с холодовой контактной

крапивницей, симптоматическим дермографизмом или холинергической крапивницей

В настоящем документе описан протокол открытого исследования фазы 1 с одной дозой лекарственного средства для оценки безопасности, фармакокинетики и фармакодинамики mAb1 в качестве дополнительной терапии у пациентов с холодовой контактной крапивницей, симптоматическим дермографизмом или холинергической крапивницей. Тип исследования – интервенционное (клиническое испытание). Подход разделения по группам – одногрупповой.

Данное исследование представляет собой открытую фазу 1, в которой оценивается безопасность, фармакокинетика и фармакодинамика однократной дозы mAb1 у пациентов с холодовой контактной крапивницей, симптоматическим дермографизмом или холинергической крапивницей, у которых симптомы сохраняются, несмотря на лечение антигистаминными агентами. Предположительно, в три отдельные группы будут включены 10 пациентов с холодовой контактной крапивницей, 10 пациентов с симптоматическим дермографизмом и 10 пациентов с холинергической крапивницей, что в общей сложности составит 30 пациентов. Предполагаемых пациентов обследуют с помощью тестов в клинике, а также ежедневных домашних дневников в течение 2 недель до включения в исследование. Однократную дозу mAb1 вводят внутривенно в 1-й день. После лечения пациентов наблюдают в течение 12 недель. К участию в исследовании допускаются взрослые пациенты в возрасте от 18 до 75 лет любого пола. Здоровые добровольцы в исследование не принимаются.

Основные показатели:

1. Безопасность, определяемая по частоте и тяжести нежелательных явлений (временные рамки: с 1-го дня по 12-ю неделю). Безопасность однократной дозы mAb1, определяемая по количеству нежелательных явлений.

Вторичные показатели:

1. Для пациентов с холодовой контактной крапивницей – изменение критических температурных порогов (CTT) (временные рамки: с 1-го по 85-й день). Изменение критического температурного порога по сравнению с исходным уровнем с течением времени, определенное с помощью провокационного теста с использованием прибора TempTest®.

2. Для пациентов с симптоматическим дермографизмом - изменение порогов провокации (временные рамки: с 1-го по 85-й день). Изменение порогов провокации по

сравнению с исходным уровнем с течением времени, определенное по результатам провокационного тестирования с использованием прибора FricTest®.

3. Для пациентов с холинергической крапивницей - изменение исходных показателей по шкале провокационной активности крапивницы (UASprovo) (временные рамки: с 1-го по 85-й день). Изменения по сравнению с исходным уровнем и процент ответивших по показателю UASprovo.

4. Изменения по сравнению с исходным уровнем в тесте контроля крапивницы (UCT) (временные рамки: с 1-го по 85-й день). Изменения по сравнению с исходным уровнем и процент ответивших на тест UCT и модифицированный UCT.

5. Биомаркеры крови (временные рамки: с 1-го по 85-й день). До и после лечения собирают образцы крови и анализируют на предмет изменения уровня фактора стволовых клеток.

6. Биомаркеры крови (временные рамки: с 1-го по 85-й день). Отбирают образцы крови до и после лечения и анализируют на предмет изменения уровня триптазы.

7. Фармакокинетическая оценка (временные рамки: с 1-го по 85-й день). Измеряют концентрации mAb1.

8. Оценка иммуногенности (временные рамки: с 1-го по 85-й день). Пациенты находятся под наблюдением на предмет образования антител к лекарственному средству.

Основные критерии включения:

1. Диагноз холодовой контактной крапивницы, симптоматического дермографизма или холинергической крапивницы, не реагирующей на антигистаминные агенты. Диагноз ставится в течение ≥ 3 месяцев; симптомы как крапивницы (сыпи), так и зуда/жжения/болезненных ощущений, несмотря на одновременное применение антигистаминных агентов. Во время скрининга, в клинике, для холодовой контактной крапивницы пациенты должны иметь положительный тест холодовой стимуляции; для симптоматического дермографизма пациенты должны иметь положительный FricTest®; для холинергической крапивницы пациенты должны иметь положительный провокационный тест пульс-контролируемой эргометрии (PCE). Пациент принимает стабильную дозу антигистаминных агентов.

2. Кроме диагноза «холодовая контактная крапивница», «симптоматический дермографизм» или «холинергическая крапивница», отсутствие других заболеваний, которые могли бы создать дополнительные факторы риска или помешать проведению

процедуры исследования, как определит исследователь на основании медицинского обследования.

3. Пациенты женского и мужского пола должны использовать высокоэффективную контрацепцию с момента скринингового визита и в течение не менее 150 дней после начала лечения.

4. Готовность и способность соблюдать все требования и процедуры исследования, включая заполнение ежедневного дневника приема лекарств и анкет.

Основные критерии исключения:

1. Четко установленный диагноз крапивницы или ангионевротического отека, кроме хронической крапивницы.

2. Получение предшествующей биологической терапии (*например,* омализумаб, дупилумаб, лигелизумаб) в течение последних 3 месяцев.

3. Лечение иммуносупрессивными лекарственными средствами (*например,* системными кортикостероидами, циклоспорином, метотрексатом, дапсоном, циклофосфамидом, такролимусом и микофенолатом мофетилом, гидроксихлорохином или другими) в течение 4 недель или 5 периодов полувыведения.

4. Активная фаза COVID-19.

5. ВИЧ-инфекция, гепатит B или гепатит C.

Существуют дополнительные критерии, которые лечащий врач рассматривает вместе с кандидатом, чтобы подтвердить его пригодность к участию в исследовании.

6.13 Пример 13. mAb1 снижает активность заболевания и уровень триптазы у пациентов с хронической индуцированной крапивницей

6.13.1 История исследования и резюме

Хроническая индуцированная крапивница (CIndU) характеризуется появлением сыпи, вызванной тучными клетками (MC), в ответ на такие триггеры, как холод при холодовой крапивнице (ColdU) или царапины на коже при симптоматическом дермографизме (SD). Эти заболевания, часто протекающие тяжело и изнурительно, могут существенно влиять на жизнь пациентов. Для выживания, пролиферации и дифференцировки MC необходима активация их KIT-рецепторов фактором стволовых клеток. Количество MC коррелирует с уровнем циркулирующей триптазы – протеазы, секретируемой именно MC. mAb1 – моноклональное антитело против KIT, разработанное для селективного ингибирования KIT-зависимой активации фактора стволовых клеток (SCF) (*см.* ФИГ. 11). mAb1 продемонстрировало глубокое снижение уровня циркулирующей триптазы в зависимости от дозы и в целом хорошо

переносилось здоровыми добровольцами. В данном исследовании лечение mAb1 было продуктивным для пациентов с CIndU.

6.13.2 Дизайн и методы исследования

В этом открытом клиническом исследовании фазы 1b пациенты с ColdU и SD, не поддающиеся антигистаминной терапии, получали однократную внутривенную инфузию mAb1 в дозе 3 мг/кг (в качестве дополнительной терапии к H1-антигистаминным агентам) с последующим наблюдением в течение 12 недель. Симптомы у пациентов вызывали с помощью провокационных тестов, напоминающих реальные триггерные ситуации. Первичной целью была оценка безопасности/переносимости mAb1 (нежелательные явления и клинические лабораторные тесты). Вторичные и исследовательские цели включали фармакокинетическую и фармакодинамическую оценку, в том числе изменение исходных порогов провокации, измерение уровня триптазы и фактора стволовых клеток, результаты клинической активности (влияние на симптомы крапивницы, контроль заболевания, клинический ответ), оценку качества жизни и измерение количества тучных клеток в тканях с помощью биопсии кожи. Вторичные цели включали оценку влияния mAb1 на клиническую активность и уровень триптазы в сыворотке крови. Конечные точки активности включали провокационный тест (TempTest® /ColdU; FricTest® /SD), глобальную оценку врачом (Phys-GA) и глобальную оценку пациентом (Pat-GA) тяжести заболевания. Средние значения ± стандартная ошибка (SE) приведены на ФИГ. 12C-12D, ФИГ. 14A-14C, ФИГ. 15A-15D и ФИГ. 16A-16D для провокационных тестов, биомаркеров и гематологии, соответственно. Количество МС в коже, оцененное с помощью первичной биопсии кожи, подсчитывалось путем окрашивания триптазой.

В исследование была внесена поправка, добавившая группу пациентов с холинергической крапивницей.

Исследование проводили в основном в соответствии с протоколом клинических испытаний, описанным в примере 12.

6.13.3 Статус исследования

Двадцать пациентов получили исследуемое лекарственное средство (т.*е.* mAb1) путем однократной внутривенной инфузии в дозе 3 мг/кг и были включены в анализ безопасности. У 11 пациентов была ColdU и у 9 – SD. Пациенты имели высокую активность заболевания, что оценивалось по результатам порогового провокационного теста. У пациентов с ColdU исходные пороговые значения критической температуры

составили 18,9ºC/66ºF (диапазон: 5-27°C/41-80,6°F). У пациентов с SD исходные пороговые значения FricTest® составили 3,8 (диапазон: 3-4) из 4 контактов.

Девятнадцать пациентов получили полную дозу лекарственного средства и были включены в анализ активности. Четырнадцать из 19 пациентов завершили 12-недельный период наблюдения; 5 пациентов продолжали лечение.

6.13.4 Демографические и базовые характеристики заболевания

См. таблицу 8. Характеристика 20 пациентов приведена ниже в таблице 8. Все пациенты ранее принимали антигистаминные агенты.

Таблица 8: Демографические и исходные характеристики заболевания

		ColdU (N=11)	**SD (N=9)**	**Все (N=20)**
Возраст медиана (диапазон) лет		43 (27- 65)	41 (27- 56)	42 (27 - 65)
Пол Женщины, n (%)		6 (54,5%)	4 (44,4%)	10 (50%)
Раса	Белые, n (%)	10 (90,9%)	9 (100%)	19 (95%)
	Азиаты, n (%)	1 (9,1%)	0 (0%)	1 (5%)
Этническая принадлежность	Латиноамериканцы или Латино	1 (9,1%)	0 (0%)	1 (5%)
Масса тела медиана (диапазон) кг		77,0 (61,0 – 93,0)	88,2 (57,0 – 122,0)	80,0 (57,0 – 122,0)
Длительность заболевания	< 5 лет, n (%)	6 (54,5%)	4 (44,4%)	10
	≥ 5 лет, n (%)	5 (45,5%)	5 (55,6%)	10
История ангионевротического отека		6 (54,5%)	0	6 (30%)
Порог провокации Среднее значение (диапазон)		18,9 (5,0-27,0)°C	3,8 (3-4) касания	
Phys-GA ≥ 2, n (%)		10 (91%)	9 (100%)	19 (95%)
Pat-GA ≥ 2, n (%)		6 (55%)	8 (89%)	14 (70%)
Предшествующая медикаментозная терапия				
	H1-антигистаминный агент	11 (100%)	9 (100%)	20 (100%)
	Биологические агенты (омализумаб)	1 (9%)	2 (22%)	3 (15%)
Триптаза медиана (диапазон) нг/мл		3,6 (2,1-5,5)	4,7 (1,6-8,6)	4,1 (1,6-8,6)

6.13.5 Результаты исследования

Как показано на ФИГ. 12A-12D, однократная доза mAb1 (3 мг/кг) приводила к быстрому, глубокому и стойкому ответу у пациентов с CIndU, рефрактерным к антигистаминным агентам. Полный ответ (CR) был достигнут у 95% (18/19) пациентов (100% (10/10) у пациентов с ColdU (фигура 12A) и 89% (8/9) у пациентов с SD (фигура 12B)). Полный ответ наблюдался у всех 3 пациентов (1 пациент с ColdU и 2 пациента с SD), ранее принимавших Xolair® (омализумаб), в том числе у двух пациентов, которые были рефрактерны к Xolair®. Наблюдали быстрое наступление ответа после приема лекарственного средства и его устойчивую продолжительность. У большинства пациентов с ColdU и SD полный ответ был достигнут к 1-й и 4-й неделе, соответственно. У пациентов с ColdU и SD, завершивших 12-недельное наблюдение (*т.е.* 8 пациентов с ColdU и 6 пациентов с SD), ответ сохранялся в течение средней продолжительности 77 дней и 57 дней (фигуры 12C и 12D). У одного из 19 пациентов (пациента с SD) наблюдался частичный ответ (PR). CR=отрицательный провокационный тест при ≤ 4°C (для ColdU) или 0 контактов (для SD). PR = улучшение на 4°C (для ColdU) или ≥ 2 контактов (для SD).

Улучшение активности заболевания по показателям Phys-GA и Pat-GA соответствовало полному ответу по результатам провокационного теста (ФИГ. 13A и 13B, для пациентов с ColdU и SD, соответственно).

Как показано на ФИГ. 14A и 14B, однократное введение дозы mAb1 в дозе 3 мг/кг приводило к быстрому, выраженному и длительному истощению МС кожи (истощение на 87%, *см.* ФИГ. 14A) и подавлению триптазы сыворотки крови (ФИГ. 14B) по результатам биопсии. Кинетика МС и триптазы с течением времени имела сходные тенденции (ФИГ. 14C). Кроме того, количество МС в коже положительно коррелировало с уровнем триптазы в сыворотке крови (ФИГ. 14D).

Кинетика уменьшения МС в коже и триптазы в сыворотке крови отражает клиническую активность. В частности, кинетика снижения уровня МС в коже и триптазы в сыворотке крови зеркально отражала снижение порогов провокации (ФИГ. 15A-15D). Полученные данные подтвердили, что уровень триптазы в сыворотке крови является надежным фармакодинамическим биомаркером для оценки количества МС и клинической активности у пациентов с CIndU и, возможно, при других заболеваниях с вовлечением тучных клеток.

Кроме того, mAb1 продемонстрировало благоприятную безопасность и переносимость. mAb1 в целом хорошо переносилось пациентами с CIndU. Наиболее

частыми нежелательными явлениями были изменение цвета волос (14/20 (70%)), инфузионные реакции (9/20 (45%)) и нарушения вкуса (8/20 (40%)). Изменения цвета волос (как правило, небольшие участки осветления цвета волос) и нарушения вкуса (как правило, частичное изменение способности ощущать вкус соли) были связаны с ингибированием KIT-сигнализации в других типах клеток и, как ожидается, были полностью обратимы. Большинство нежелательных явлений были легкими. Изменения цвета волос улучшились после увеличения периода наблюдения. Инфузионные реакции, обычно проявлявшиеся в виде крапивницы и зуда, разрешались спонтанно. Единственная тяжелая инфузионная реакция в виде кратковременной потери сознания возникла у пациента с обморочным состоянием в анамнезе и не была связана с активацией МС по результатам мониторинга триптазы в сыворотке крови. Пациент быстро восстановился. Нарушения вкуса были избирательными и преходящими. Гематологические показатели в целом оставались в пределах нормы (*см.* ФИГ. 16A-16D). Было отмечено легкое, преходящее и бессимптомное снижение показателей гемоглобина и лейкоцитов (WBC) (*см.* ФИГ. 16A-16D). Однако клинически значимого снижения гематологических показателей не наблюдалось. Это важный результат для ингибитора KIT.

В совокупности полученные данные свидетельствуют о том, что mAb1 продемонстрировало беспрецедентное уменьшение МС при благоприятном профиле безопасности, обеспечивая значительный потенциал в качестве терапии CIndU для быстрого, длительного и значимого облегчения, указывая на возможность его воздействия на другие заболевания с вовлечением тучных клеток и открывая возможности для оценки вовлечения МС при многих заболеваниях.

6.14 Пример 14. mAb1 продемонстрировало быструю и устойчивую клиническую реакцию и улучшение качества жизни у пациентов с хронической индуцированной крапивницей

6.14.1 Введение и цели:

Хроническая индуцированная крапивница (CIndU) представляет собой группу заболеваний, вызванных тучными клетками (МС) и характеризующихся появлением зудящей сыпи под воздействием известных триггеров, например, холода при холодовой крапивнице (ColdU). Для активации и выживания МС необходим поверхностный рецептор KIT. mAb1 – моноклональное антитело против KIT, которое в предыдущем исследовании у здоровых взрослых продемонстрировало глубокое подавление циркулирующей триптазы, маркера количества МС.

6.14.2 Материалы и методы:

В данном примере описаны промежуточные результаты открытого исследования фазы 1 mAb1 (NCT04548869) у взрослых с CIndU: ColdU или симптоматическим дермографизмом (SD), рефрактерным к антигистаминным агентам. Пациенты получали однократную внутривенную инфузию mAb1 в дозе 3 мг/кг и находились под наблюдением в течение 12 недель. В настоящем документе описаны результаты безопасности 19 пациентов (ColdU: n=10, SD: n=9), получавших исследуемое лекарственное средство; результаты клинического эффекта описаны в настоящем документе для 18 пациентов, получавших полную дозу. Активность заболевания оценивалась по критическому температурному порогу (CTT) по TempTest® для ColdU и критическому порогу трения (CFT) по FricTest® для SD; полный ответ определялся как отрицательный провокационный тест. Оценка результатов исследования также включала тест контроля крапивницы (UCT) и дерматологический индекс качества жизни (DLQI).

6.14.3 Результаты:

На момент последней оценки (2-12-я недели) 17/18 пациентов достигли полного ответа на провокационное тестирование. У пациентов с ColdU среднее значение CTT составило 18,6°C (диапазон: 5-27°C) на исходном уровне; при медиане наблюдения после лечения 10 недель все 9 пациентов достигли полного ответа на провокационное тестирование (неделя 4-12), причем 6/9 пациентов достигли полного ответа к неделе 2. У пациентов с SD среднее значение CFT составило 3,8 (диапазон: 3-4) на исходном уровне; при медиане наблюдения после лечения 7 недель 8/9 пациентов достигли полного ответа на последней оценке (неделя 2-12), причем 3/9 пациентов достигли полного ответа к неделе 2. Все 7 (6 ColdU и 1 SD) пациентов, завершивших оценку на 12-й неделе, сохранили полный ответ. Снижение порога провокации сопровождалось стойким подавлением триптазы в сыворотке крови: с исходного уровня 4,4± 1,6 нг/мл до уровня, близкого или ниже предела обнаружения на 2-й неделе у большинства пациентов, и сохранялось до 8-й недели. Средний балл UCT повысился с 6 (диапазон: 0-13) на исходном уровне до 13 (10-16) на 4-й неделе, 14 пациентов достигли UCT ≥ 12 (уверенный контроль), из них 5 достигли UCT=16 (полный контроль) к 4-й неделе. Оценки DLQI на исходном уровне и на 4-й неделе были доступны для 15 пациентов. Средний балл DLQI улучшился с 11 (диапазон: 2-21) на исходном уровне до 2 (диапазон: 0-8) на 4-й неделе, 8 пациентов достигли к 4-й неделе 0 или 1 балла (отсутствие влияния заболевания на качество жизни). Наиболее частыми

нежелательными явлениями были изменение цвета волос у 11/19, инфузионные реакции у 9/19 и нарушение вкуса у 8/19, большинство явлений были легкими.

6.14.4 Выводы:

Однократная доза mAb1 3 мг/кг продемонстрировала быстрый и устойчивый клинический ответ и подавление триптазы, улучшила качество жизни и в целом была хорошо переносима. Эти данные подтверждают возможность использования KIT-управляемого подавления MC в качестве потенциального терапевтического подхода к лечению CIndU.

6.15 Пример 15. mAb1 продемонстрировало быструю и устойчивую клиническую реакцию и улучшение качества жизни у пациентов с хронической индуцированной крапивницей

6.15.1 История исследования и резюме

Хроническая индуцированная крапивница (CIndU) представляет собой заболевание, вызванное тучными клетками (MC) и характеризующееся зудом и сыпью, возникающими под воздействием холода при холодовой крапивнице (ColdU) или при расчесывании кожи при симптоматическом дермографизме (SD). Активация рецепторов KIT фактором стволовых клеток необходима для выживания, пролиферации и дифференцировки MC. mAb1 представляет собой моноклональное антитело против KIT, созданное для селективного ингибирования KIT-зависимой активации фактора стволовых клеток (SCF) (*см.* ФИГ. 11). У здоровых добровольцев mAb1 вызывало глубокое дозозависимое снижение уровня циркулирующей триптазы, биомаркера нагрузки на MC, и в целом хорошо переносился. Как описано в примере 13, однократная доза mAb1 (3 мг/кг) в целом хорошо переносилась и приводила к быстрому и стойкому полному ответу (отрицательный провокационный тест) у пациентов с CIndU (ColdU и SD), рефрактерных к антигистаминным агентам. В настоящем примере 15 описаны дополнительные данные, полученные в том же исследовании. Данные, представленные в этом примере, демонстрируют влияние mAb1 на контроль крапивницы и качество жизни (QoL) этих пациентов.

6.15.2 Дизайн и методы исследования

В этом продолжающемся открытом исследовании фазы 1b пациенты с ColdU и SD, рефрактерные к антигистаминной терапии, получали однократную внутривенную инфузию mAb1 в дозе 3 мг/кг с последующим наблюдением в течение 12 недель. Первичной целью была оценка безопасности/переносимости mAb1 (нежелательные явления и клинические лабораторные анализы). Вторичные цели включали оценку

влияния mAb1 на клинический эффект и уровень триптазы в сыворотке крови. Оценка клинического эффекта включала провокационный тест (TempTest® /ColdU; FricTest® /SD), тест контроля крапивницы (UCT) и дерматологический индекс качества жизни (DLQI).

Исследование проводили в основном в соответствии с протоколом клинических испытаний, описанным в примере 12.

6.15.3 Состояние исследования

Двадцать один пациент получил исследуемое лекарственное средство (т.*е.* mAb1) путем однократной внутривенной инфузии в дозе 3 мг/кг и был включен в анализ безопасности. У 11 пациентов наблюдалась ColdU, у 10 - SD.

Двадцать пациентов получили полную дозу исследуемого лекарственного средства и были включены в данные UCT, DLQI и провокационного теста.

Двадцать из двадцати одного пациента завершили 12-недельный период наблюдения; 1 пациент продолжал лечение.

6.15.4 Демографические и базовые характеристики

Характеристика 21 пациента приведена в таблице 9. Все пациенты ранее получали лечение антигистаминными агентами.

Таблица 9: Демографические и исходные характеристики.

		ColdU (N=11)	**SD (N=10)**	**Все (N=21)**
Возраст медиана (диапазон) лет		43 (27- 65)	39 (25- 56)	41 (25 - 65)
Пол Женщины, n (%)		6 (54.5%)	4 (40,0%)	10 (47,6%)
Раса	Белые, n (%)	10 (90,9%)	10 (100%)	20 (95,2%)
	Азиаты, n (%)	1 (9,1%)	0 (0%)	1 (4,8%)
Этническая принадлежность	Латиноамериканцы или Латино	1 (9,1%)	0 (0%)	1 (4,8%)
Масса тела медиана (диапазон) кг		77,0 (61,0 - 93,0)	85,7 (57,0 – 122,0)	81,5 (57,0 – 122,0)
Продолжительность заболевания	< 5 лет, n (%)	5 (45,5%)	4 (40%)	9 (42,9%)
	≥ 5 лет, n (%)	6 (54,5%)	6 (60%)	12(57,1%)
История ангионевротического отека		6 (54,5%)	0	6 (28,6%)

Порог провокации Среднее значение (диапазон)	18,9 (5-27)°C	3,5 (2-4) контакта	
UCT Среднее значение (диапазон)	7 (2-13)	4,9 (0-10)	6,0 (0-13)
DLQI Среднее значение (диапазон)	10,8 (3-17)	11,4 (2-21)	11,1 (2-21)
Предшествующая медикаментозная терапия			
H1-антигистаминные агенты	11 (100%)	10 (100%)	21 (100%)
Биологические агенты (омализумаб)	1 (9%)	2 (20%)	3 (14,3%)
Триптаза медиана (диапазон) нг/мл	3,8 (2,4-5,5)	4,6 (1,3-8,6)	4,2 (1,3-8,6)

6.15.5 Результаты исследования

У пациентов с CIndU, рефрактерных к антигистаминным агентам, однократная доза mAb1 (3 мг/кг) привела к быстрому, глубокому и стойкому ответу у 100% пациентов, причем 95% достигли полного ответа, как описано в примере 13.

Этот примечательный ответ на провокационное тестирование также сопровождался заметным улучшением контроля над крапивницей и качества жизни. Однократное введение mAb1 в дозе 3 мг/кг привело к быстрому и устойчивому улучшению контроля над крапивницей у пациентов с ColdU и SD (ФИГ. 17A, 17B, 18A и 18B). Быстрое улучшение по шкале UCT было отмечено в течение 4 недель и сохранялось до 12-й недели (ФИГ. 17A, 17B, 18A и 18B). 80% и 100% пациентов достигли статуса «хороший контроль» (UCT≥12) к 4-й и 8-й неделям, соответственно (ФИГ. 18A). 63% пациентов достигли статуса «полный контроль» (UCT=16) к 8-й неделе (ФИГ. 18B).

mAb1 также существенно снизило влияние заболевания на качество жизни пациентов с ColdU и SD (ФИГ. 19A и 19B). 93% и 92% пациентов достигли снижения DLQI на ≥4 контакта (минимальная клинически значимая разница (MCID)) к 4-й и 8-й неделям, соответственно (ФИГ. 20A). 58% и 68% пациентов получили балл DLQI 0-1 (отсутствие влияния заболевания на качество жизни) к 4-й и 8-й неделям, соответственно (ФИГ. 20B).

Кроме того, как описано выше, было достигнуто быстрое и стойкое улучшение результатов провокационных тестов с 95%-ным полным ответом (ФИГ. 21A). Также было достигнуто быстрое, стойкое и глубокое снижение уровня триптазы (ФИГ. 21B).

Быстрое и стойкое улучшение провокационных реакций отражает снижение уровня триптазы (ФИГ. 21A и 21B).

В целом mAb1 хорошо переносилось пациентами с CIndU (ColdU и SD). Наиболее частыми нежелательными явлениями были изменение цвета волос (15/21 (71%)), инфузионные реакции (9/21 (43%)) и нарушения вкуса (8/21 (38%)). Изменения цвета волос и нарушения вкуса были связаны с ингибированием KIT-сигнализации в других типах клеток и, как ожидается, были полностью обратимы. Большинство нежелательных явлений были легкими. Изменения цвета волос улучшались при увеличении периода наблюдения. Инфузионные реакции были в основном легкими, проявлялись в виде крапивницы и зуда и разрешались спонтанно. Имела место одна тяжелая инфузионная реакция, не связанная с активацией МС. Вкусовые расстройства были избирательными и преходящими. Гематологические показатели в целом оставались в пределах нормы. Отмечалось умеренное, преходящее и бессимптомное снижение уровня гемоглобина и лейкоцитов (лейкоцитов). Однако клинически значимого снижения гематологических показателей выявлено не было.

В совокупности полученные данные свидетельствуют о том, что mAb1 в целом безопасно и хорошо переносится, а также о том, что оно обладает существенным потенциалом в качестве терапии CIndU и других связанных с тучными клетками заболеваний.

Настоящее изобретение не должно быть ограничено объемом конкретных воплощений, описанных в настоящем документе. И действительно, специалистам в данной области техники после ознакомления с приведенным описанием и сопроводительными фигурами станут очевидны различные модификации настоящего изобретения в дополнение к описанным. Предполагается, что такие модификации входят в объем прилагаемой формулы изобретения.

Все ссылки, приведенные в настоящем документе, включены в настоящий документ во всей полноте и для всех целей в той же степени, как если бы для каждой отдельной публикации, или патента, или патентной заявки было бы конкретно и отдельно указано, что они полностью включены в настоящий документ посредством ссылки для всех целей.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело, которое иммуноспецифично связывается с KIT человека, содержащее:

(i) вариабельную область легкой цепи («VL»), содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно;

(ii) вариабельную область тяжелой цепи («VH»), содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7, соответственно; и

(iii) модифицированные область или домен Fc IgG1 человека, которые содержат аминокислоты неприродного происхождения 234A, 235Q и 322Q, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

2. Антитело по п. 1, где модифицированные область или домен Fc IgG1 человека дополнительно содержат аминокислоты неприродного происхождения 252Y, 254T и 256E, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

3. Антитело по п. 1 или 2, где:

(i) VL содержит аминокислотную последовательность: DIVMTQSPSX$_{K1}$LSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKX$_{K2}$LIYSASYRYSGVPDRFX$_{K3}$GSGSGTDFTLTISSLQX$_{K4}$EDFAX$_{K5}$YX$_{K6}$CQQYNSYPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 17), где X$_{K1}$ представляет собой аминокислоту с ароматической или алифатической гидроксильной боковой цепью, X$_{K2}$ представляет собой аминокислоту с алифатической или алифатической гидроксильной боковой цепью, X$_{K3}$ представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью, X$_{K4}$ представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью или представляет собой P, X$_{K5}$ представляет собой аминокислоту с заряженной или кислотной боковой цепью, и X$_{K6}$ представляет собой аминокислоту с ароматической боковой цепью; и

(ii) VH содержит аминокислотную последовательность: QVQLVQSGAEX$_{H1}$KKPGASVKX$_{H2}$SCKASGYTFTDYYINWVX$_{H3}$QAPGKGLEWIARIYPGSGNTYYNEKFKGRX$_{H4}$TX$_{H5}$TAX$_{H6}$KSTSTAYMX$_{H7}$LSSLRSEDX$_{H8}$AVYFCARGVYYFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 18), где X$_{H1}$ представляет собой аминокислоту с

алифатической боковой цепью, X_{H2} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H3} представляет собой аминокислоту с полярной или основной боковой цепью, X_{H4} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H5} представляет собой аминокислоту с алифатической боковой цепью, X_{H6} представляет собой аминокислоту с кислотной боковой цепью, X_{H7} представляет собой аминокислоту с кислотной или амидной дериватизированной боковой цепью, и X_{H8} представляет собой аминокислоту с алифатической гидроксильной боковой цепью.

4. Антитело по п. 3, где X_{K1} представляет собой аминокислоту F или S, X_{K2} представляет собой аминокислоту A или S, X_{K3} представляет собой аминокислоту T или S, X_{K4} представляет собой аминокислоту S или P, X_{K5} представляет собой аминокислоту D или T, X_{K6} представляет собой аминокислоту F или Y, X_{H1} представляет собой аминокислоту L или V, X_{H2} представляет собой аминокислоту L или V, X_{H3} представляет собой аминокислоту K или R, X_{H4} представляет собой аминокислоту V или A, X_{H5} представляет собой аминокислоту L или I, X_{H6} представляет собой аминокислоту E или D, X_{H7} представляет собой аминокислоту Q или E, и X_{H8} представляет собой аминокислоту S или T.

5. Антитело по любому из пп. 1-4, где:

i) VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, 14, 15 или 16, и

ii) VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, 9, 10, 11 или 12.

6. Антитело по любому из пп. 1-5, содержащее:

(i) VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14;

(ii) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и

(iii) модифицированные область или домен Fc IgG1 человека, содержащие аминокислоты неприродного происхождения 234A, 235Q и 322Q, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

7. Антитело по любому из пп. 1-5, содержащее:

(i) VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14;

(ii) VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и

(iii) модифицированные область или домен Fc IgG1 человека, содержащие аминокислоты неприродного происхождения 234A, 235Q, 322Q, 252Y, 254T и 256E, пронумерованные согласно индексу EU, указанному у Kabat.

8. Антитело по любому из пп. 1-5, которое содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGKGLEWIARIYPGSGNT
YYNEKFKGRATLTADKSTSTAYMQLSSLRSEDTAVYFCARGVYYFDYWGQGTTVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAQGG
PSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCQVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 21).

9. Антитело по любому из пп. 1-5, которое содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность:
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASYRYSGVP
DRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 22).

10. Антитело по любому из пп. 1-5, которое содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGKGLEWIARIYPGSGNT
YYNEKFKGRATLTADKSTSTAYMQLSSLRSEDTAVYFCARGVYYFDYWGQGTTVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAQGG
PSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCQVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 21); и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность:

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASYRYSGVP DRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYFCQQYNSYPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 22).

11. Конъюгат, содержащий антитело по любому из пп. 1-10, связанное с агентом.

12. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из пп. 1-10 или конъюгат по п. 11 и фармацевтически приемлемый носитель.

13. Полинуклеотид или комбинация полинуклеотидов, содержащие нуклеотидные последовательности, кодирующие антитело по любому из пп. 1-10 или VH и VL указанного антитела.

14. Вектор или комбинация векторов, содержащие полинуклеотиды или комбинацию полинуклеотидов по п. 13.

15. Клетка-хозяин, содержащая вектор или комбинацию векторов по п. 14 или полинуклеотид или комбинацию полинуклеотидов по п. 13.

16. Набор, содержащий антитело по любому из пп. 1-10, конъюгат по п. 11 или фармацевтическую композицию по п. 12.

17. Способ защиты от, лечения или сдерживания KIT-ассоциированного расстройства, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп. 1-10, конъюгата по п. 11 или фармацевтической композиции по п. 12.

18. Способ по п. 17, где KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство, связанное с эозинофилами расстройство, рак, астму, воспалительное состояние, ревматоидный артрит, аллергическое воспаление, воспалительное заболевание кишечника, желудочно-кишечное расстройство или фиброз.

19. Способ по п. 18, где KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с тучными клетками расстройство.

20. Способ по п. 19, где связанное с тучными клетками расстройство представляет собой хроническую крапивницу.

21. Способ по п. 20, где хроническая крапивница представляет собой хроническую индуцированную крапивницу.

22. Способ по п. 21, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой холодовую крапивницу.

23. Способ по п. 21, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой симптоматический дермографизм.

24. Способ по п. 21, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой холинергическую крапивницу.

25. Способ по п. 20, где хроническая крапивница представляет собой хроническую спонтанную крапивницу.

26. Способ по п. 18, где KIT-ассоциированное расстройство представляет собой связанное с эозинофилами расстройство.

27. Способ по любому из пп. 17-26, дополнительно включающий введение субъекту второго терапевтического агента.

28. Способ по п. 27, где указанный второй терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибитор гистондеацетилазы, антитело, цитокин, ингибитор тирозинкиназы, антигистаминный агент, антагонист лейкотриенового рецептора, иммуномодулятор или противовоспалительный агент.

29. Способ ингибирования активности KIT в экспрессирующей KIT клетке, включающий приведение указанной клетки в контакт с эффективным количеством антитела по любому из пп. 1-10, конъюгата по п. 11 или фармацевтической композиции по п. 12.

30. Способ по п. 29, обеспечивающий ингибирование активности KIT по меньшей мере примерно на 10% в экспрессирующей KIT клетке.

31. Способ *in vitro* диагностики субъекта с KIT-ассоциированным расстройством, включающий приведение клеток или образца, полученного от субъекта, в контакт с антителом по любому из пп. 1-10 и определение уровня экспрессии KIT в клетках или образце.

32. Способ получения антитела, включающий культивирование и/или экспрессирование антитела с применением клетки-хозяина по п. 15.

33. Способ по п. 32, дополнительно включающий очистку антитела, полученного из указанной клетки-хозяина.

34. Способ защиты от, лечения или сдерживания хронической крапивницы у субъекта, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества (1) антитела, которое иммуноспецифично связывается с KIT человека, или его антигенсвязывающего фрагмента, (2) конъюгата, содержащего указанное антитело или его антигенсвязываюший фрагмент, связанные с агентом, или (3) фармацевтической композиции, содержащей указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или указанный конъюгат и фармацевтически приемлемый носитель.

35. Способ по п. 34, где KIT человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1.

36. Способ по п. 34 или 35, где антитело специфично связывается с областью D4 или D5 KIT человека.

37. Способ по любому из пп. 34-36, где антитело содержит модифицированные область или домен Fc.

38. Способ по любому из пп. 34-37, где антитело содержит модифицированные область или домен Fc человека.

39. Способ по любому из пп. 34-38, где антитело обладает сниженной активностью связывания с Fc-рецептором.

40. Способ по п. 39, где антитело обладает сниженной активностью связывания с FcγR.

41. Способ по любому из пп. 33-40, где антитело не индуцирует существенной дегрануляции FcgRI-экспрессирующих тучных клеток человека.

42. Способ по любому из пп. 33-41, где антитело не демонстрирует существенной Fc-рецептор-зависимой агонистической активности в отношении KIT.

43. Способ по любому из пп. 33-42, где антитело содержит:

(A) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7, соответственно;

(B) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27, соответственно;

(C) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 и SEQ ID NO: 30, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32, соответственно;

(D) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 и SEQ ID NO: 27, соответственно; или

(E) (i) VL, содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36 и SEQ ID NO: 37, соответственно; и

(ii) VH, содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39 и SEQ ID NO: 40, соответственно.

44. Способ по п. 43, где хроническая крапивница представляет собой хроническую индуцированную крапивницу.

45. Способ по п. 44, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой холодовую крапивницу.

46. Способ по п. 44, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой симптоматический дермографизм.

47. Способ по п. 44, где хроническая индуцированная крапивница представляет собой холинергическую крапивницу.

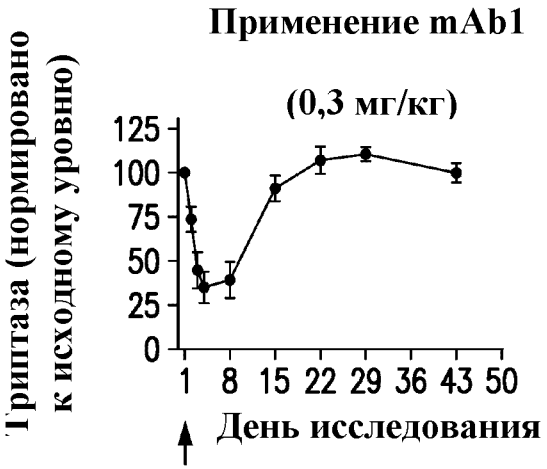
48. Способ по п. 43, где хроническая крапивница представляет собой хроническую спонтанную крапивницу.

49. Способ по любому из пп. 33-48, дополнительно включающий введение субъекту второго терапевтического агента.

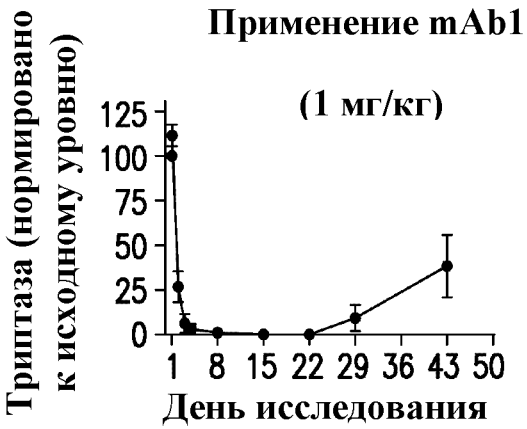
50. Способ по п. 49, где указанный второй терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент, ингибитор гистондеацетилазы, антитело, цитокин, ингибитор тирозинкиназы, антигистаминный агент, антагонист лейкотриенового рецептора, иммуномодулятор или противовоспалительный агент.

```
                                        {D1
1    MRGARGAWDF LCVLLLLLRV QTGSSQPSVS PGEPSPPSIH PGKSDLIVRV GDEIRLLCTD PGFVKWTFEI LDETNENKQN
                                       }{D2
81   EWITEKAEAT NTGKYTCTNK HGLSNSIYVF VRDPAKLFLV DRSLYGKEDN DTLVRCPLTD PEVTNYSLKG CQGKPLPKDL
                                                          }{D3
161  RFIPDPKAGI MIKSVKRAYH RLCLHCSVDQ EGKSVLSEKF ILKVRPAFKA VPVVSVSKAS YLLREGEEFT VTCTIKDVSS
                                                                                  }{D4
241  SVYSTWKREN SQTKLQEKYN SWHHGDFNYE RQATLTISSA RVNDSGVFMC YANNTFGSAN VTTTLEVVDK GFINIFPMIN

321  TTVFVNDGEN VDLIVEYEAF PKPEHQQWIY MNRTFTDKWE DYPKSENESN IRYVSELHLT RLKGTEGGTY TFLVSNSDVN
                } {D5
401  AAIAFNVYVN TKPEILTYDR LVNGMLQCVA AGFPEPTIDW YFCPGTEQRC SASVLPVDVQ TLNSSGPPFG KLVVQSSIDS
                                     }
481  SAFKHNGTVE CKAYNDVGKT SAYFNFAFKE QIHPHTLFTP LLIGFVIVAG MMCIIVMILT YKYLQKPMYE VQWKVVEEIN

561  GNNYVYIDPT QLPYDHKWEF PRNRLSFGKT LGAGAFGKVV EATAYGLIKS DAAMTVAVKM LKPSAHLTER EALMSELKVL

641  SYLGNHMNIV NLLGACTIGG PTLVITEYCC YGDLLNFLRR KRDSFICSKQ EDHAEAALYK NLLHSKESSC SDSTNEYMDM

721  KPGVSYVVPT KADKRRSVRI GSYIERDVTP AIMEDDELAL DLEDLLSFSY QVAKGMAFLA SKNCIHRDLA ARNILLTHGR

801  ITKICDFGLA RDIKNDSNYV VKGNARLPVK WMAPESIFNC VYTFESDVWS YGIFLWELFS LGSSPYPGMP VDSKFYKMIK

881  EGFRMLSPEH APAEMYDIMK TCWDADPLKR PTFKQIVQLI EKQISESTNH IYSNLANCSP NRQKPVVDHS VRINSVGSTA

961  SSSQPLLVHD DV (SEQ ID NO: 1)
```

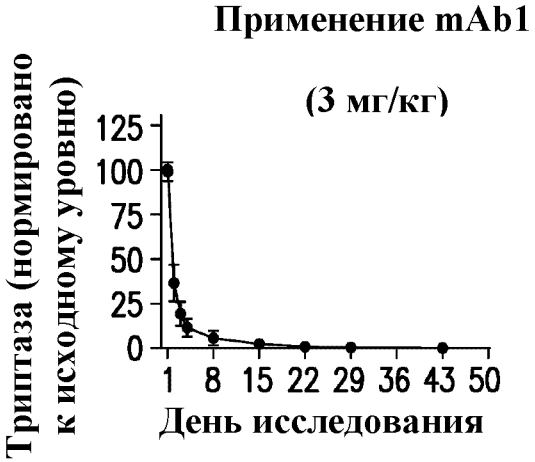
ФИГ. 1



ФИГ. 2A

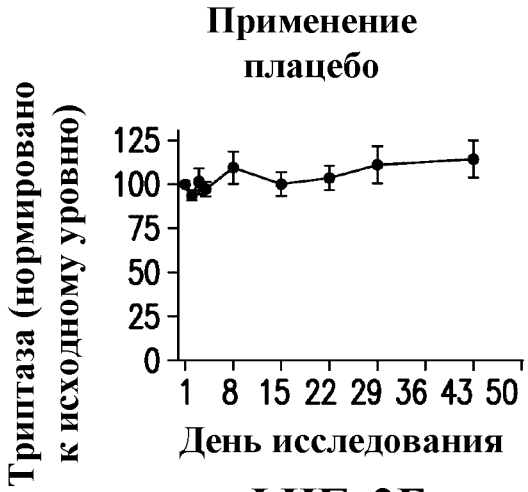


ФИГ. 2B

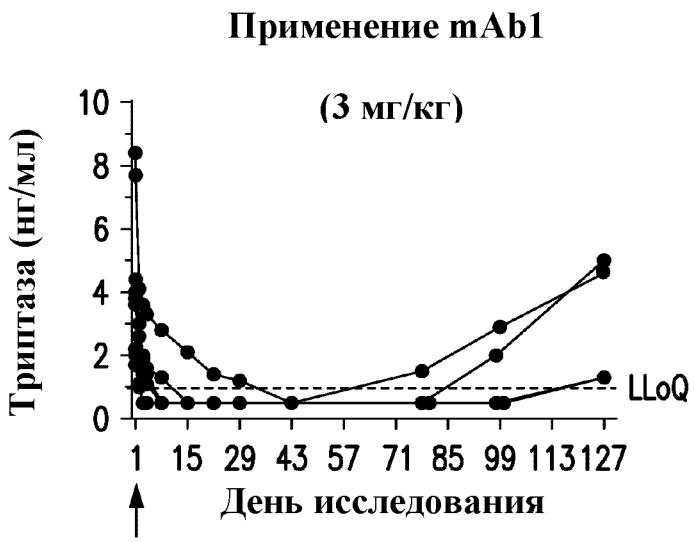


ФИГ. 2C

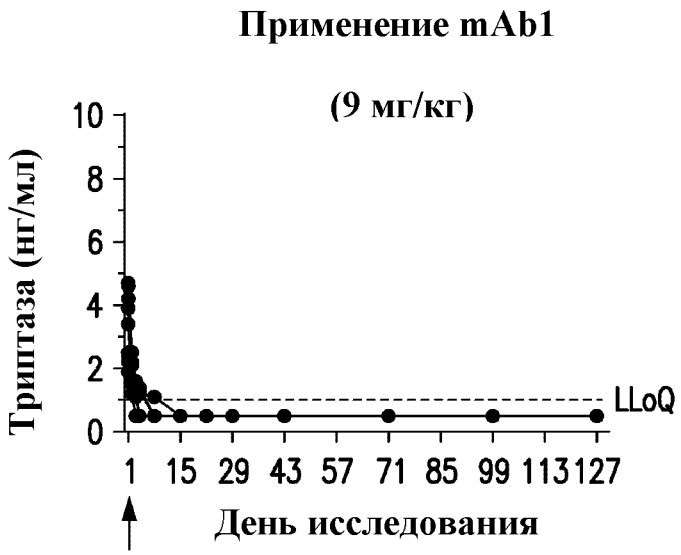
ФИГ. 2D



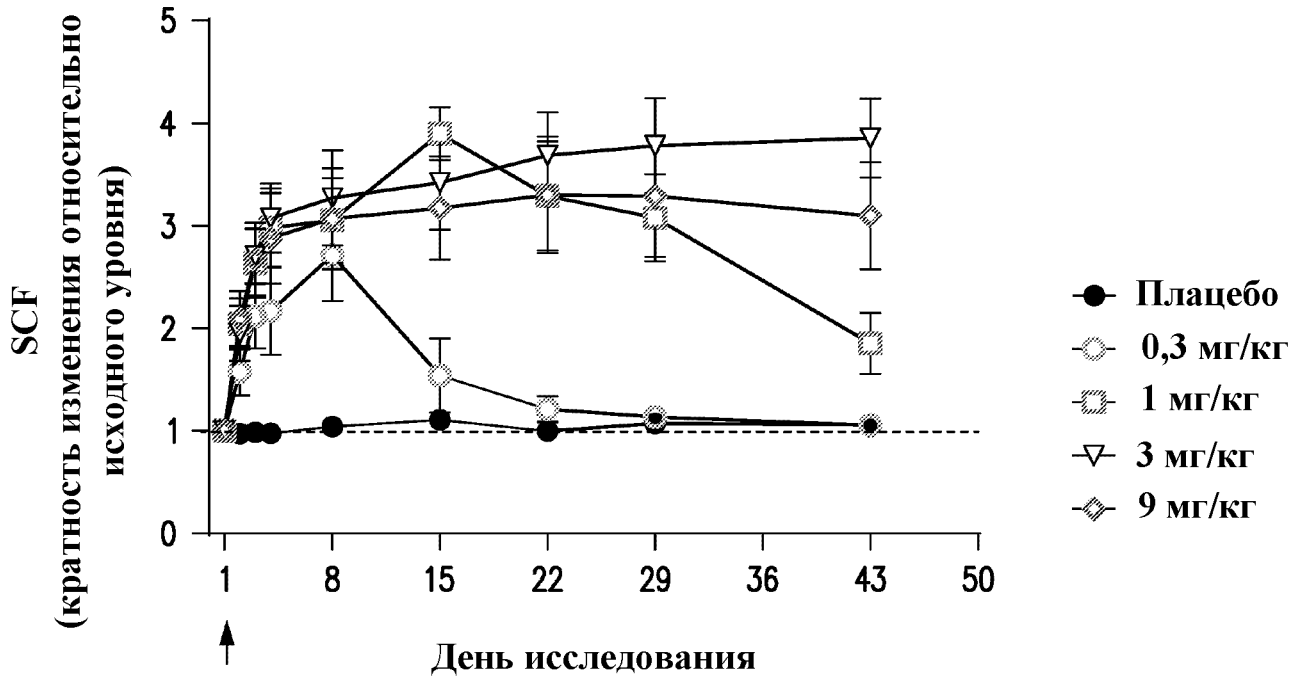
ФИГ. 2E


Применение mAb1
(3 мг/кг)
Триптаза (нг/мл)
10
8
6
4
2
0
LLoQ
1 15 29 43 57 71 85 99 113 127
День исследования

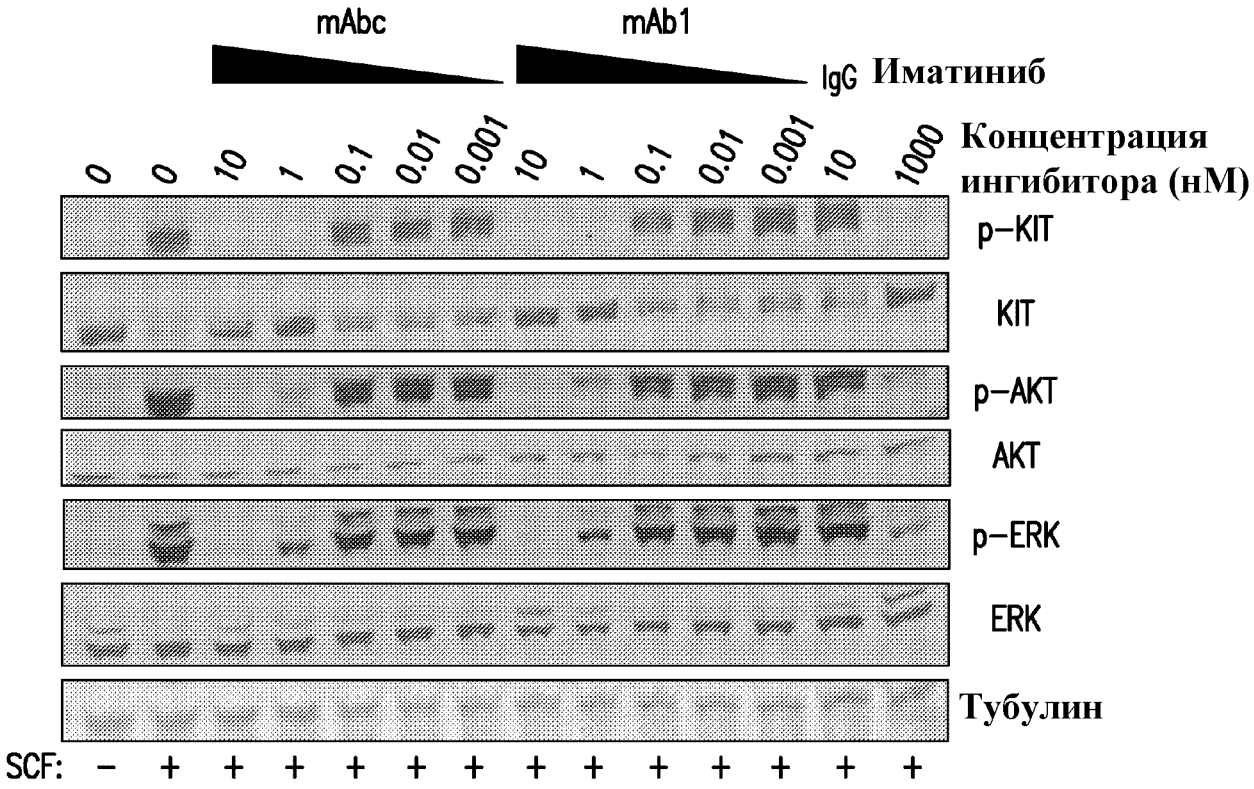
ФИГ. 3А


Применение mAb1
(9 мг/кг)
Триптаза (нг/мл)
10
8
6
4
2
0
LLoQ
1 15 29 43 57 71 85 99 113 127
День исследования

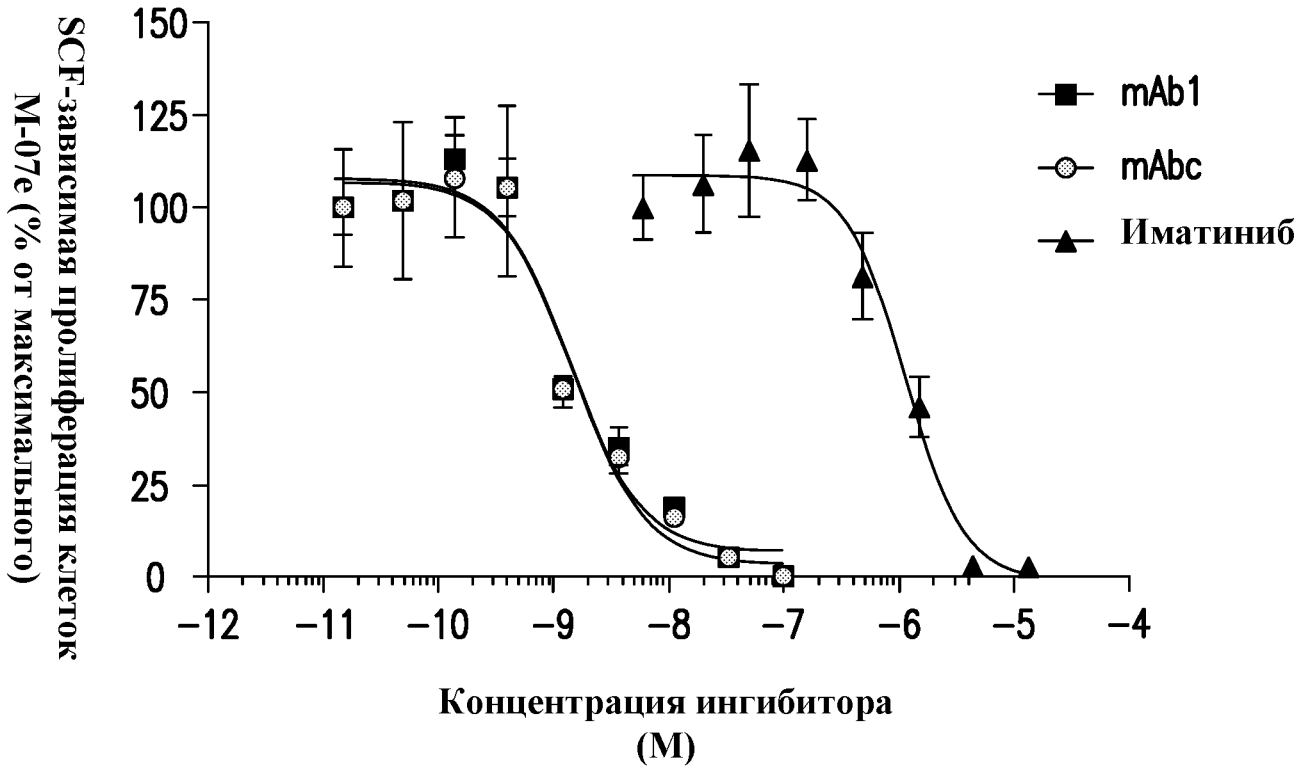
ФИГ. 3В


SCF
(кратность изменения относительно исходного уровня)
5
4
3
2
1
0
1
8
15
22
29
36
43
50
День исследования
Плацебо
0,3 мг/кг
1 мг/кг
3 мг/кг
9 мг/кг

ФИГ. 4


mAbc
mAb1
IgG
Иматиниб
0
0
10
1
0.1
0.01
0.001
10
1
0.1
0.01
0.001
10
1000
Концентрация ингибитора (нМ)
p-KIT
KIT
p-AKT
AKT
p-ERK
ERK
Тубулин
SCF: − + + + + + + + + + + + + +

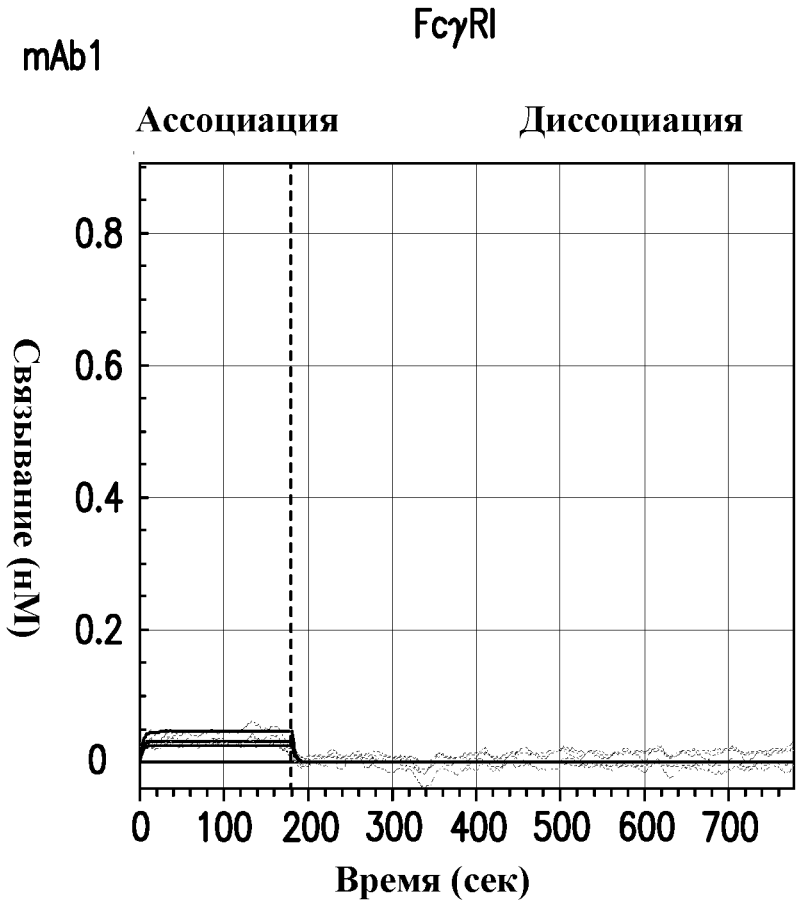
ФИГ. 5


SCF-зависимая пролиферация клеток
M-07e (% от максимального)
150
125
100
75
50
25
0
−12
−11
−10
−9
−8
−7
−6
−5
−4
Концентрация ингибитора
(M)
mAb1
mAbc
Иматиниб

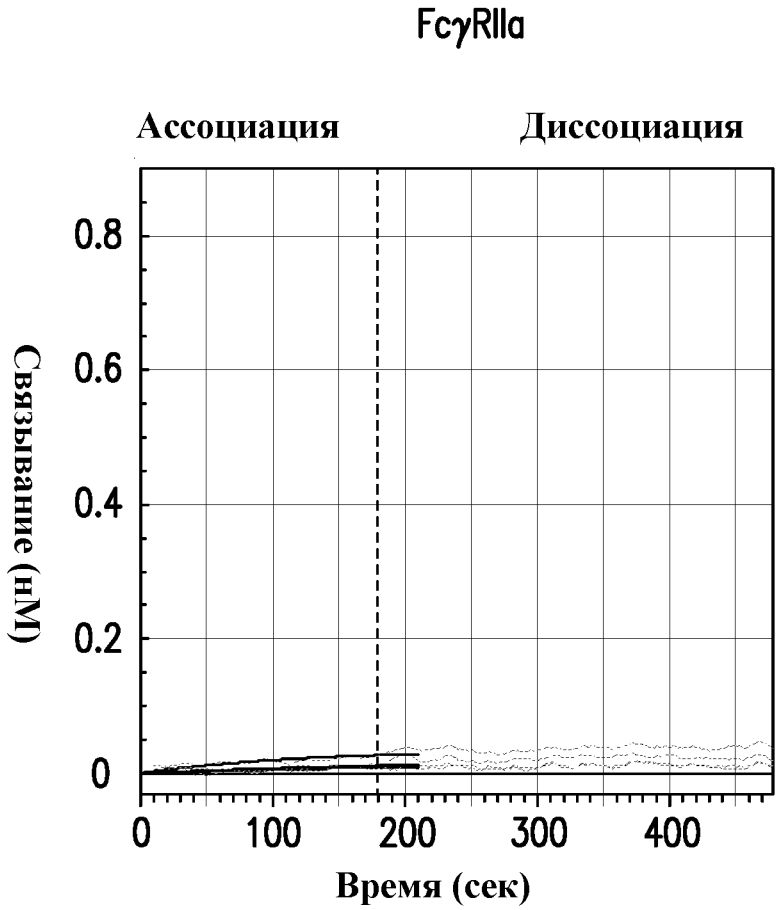
ФИГ. 6

	FcγRI	FcγRIIa	FcγRIIb	FcγRIIIa	FcγRIIIb	FcRn pH 6.0	FcRn pH 7.2	
	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	0.383	77.1	KD (нМ)
	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	2.00E+06	1.05E+06	kon (1/Mc)
mAb1	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	7.65E−04	8.07E−02	Кдис. (1/с)
	0.6005	0.7600	0.0957	0.1157	0.7182	0.9869	0.9876	R^2
	500−62.5 нМ	500−62.5 нМ	500−62.5 нМ	500−62.5 нМ	500−62.5 нМ	31.25−1.9 нМ	500−15.6 нМ	Диапазон
	3.39	391	n/a	127	816	211	n/a	KD (нМ
	5.22E+05	3.58E+05	n/a	1.28E+05	1.52E+05	1.41E+05	n/a	kon (1/M
mAbc	1.77E−03	1.40E−01	n/a	1.62E−02	1.24E−01	2.96E−02	n/a	Кдис. (1/с)
	0.9955	0.9791	0.2615	0.9895	0.9723	0.9757	0.2189	R^2
	62.5−7.8 нМ	500−62.5 нМ	500−62.5 нМ	125−15.6 нМ	500−62.5 нМ	500−62.5 нМ	500−62.5 нМ	Диапазон

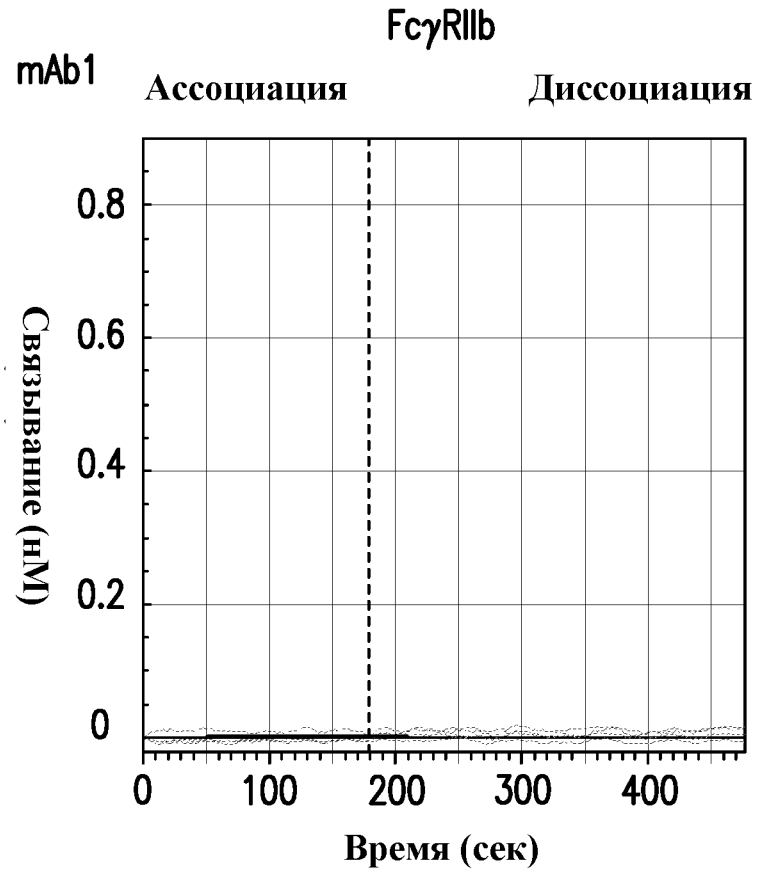
ФИГ. 7


mAb1
FcγRI
Ассоциация
Диссоциация
Связывание (нМ)
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0
100
200
300
400
500
600
700
Время (сек)

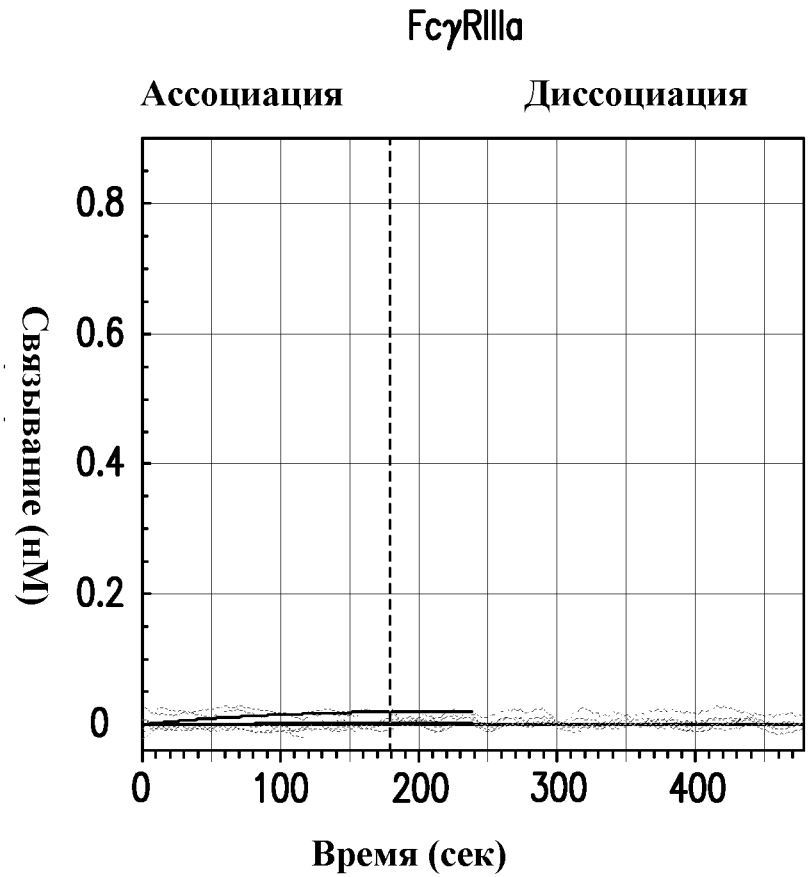
ФИГ. 8А


FcγRIIa
Ассоциация
Диссоциация
Связывание (нМ)
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0
100
200
300
400
Время (сек)

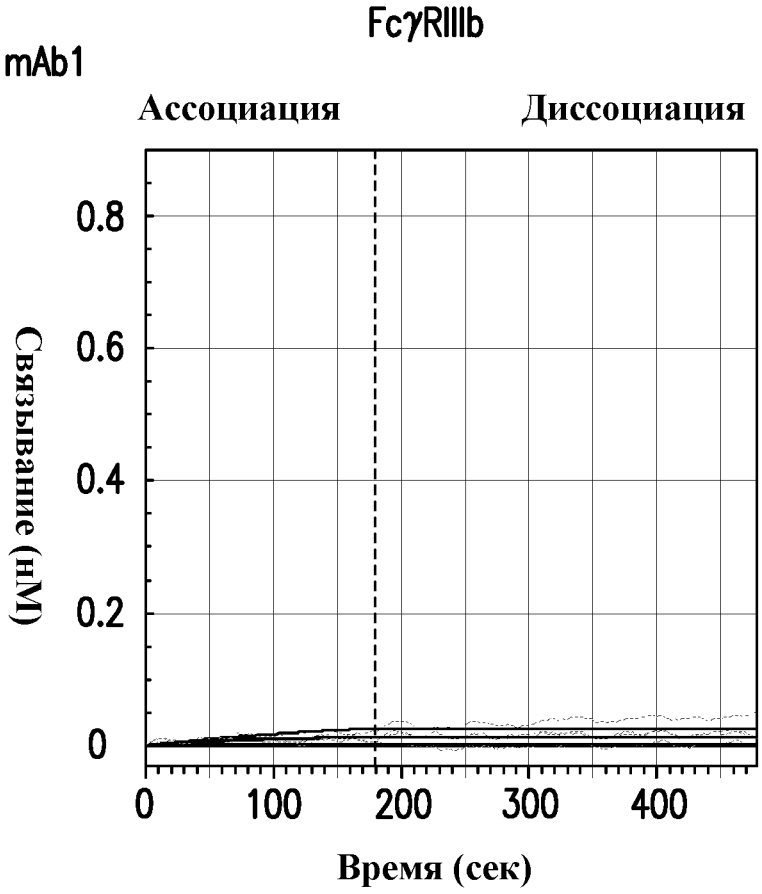
ФИГ. 8В


FcγRIIIb
mAb1
Ассоциация
Диссоциация
Связывание (нМ)
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0
100
200
300
400
Время (сек)

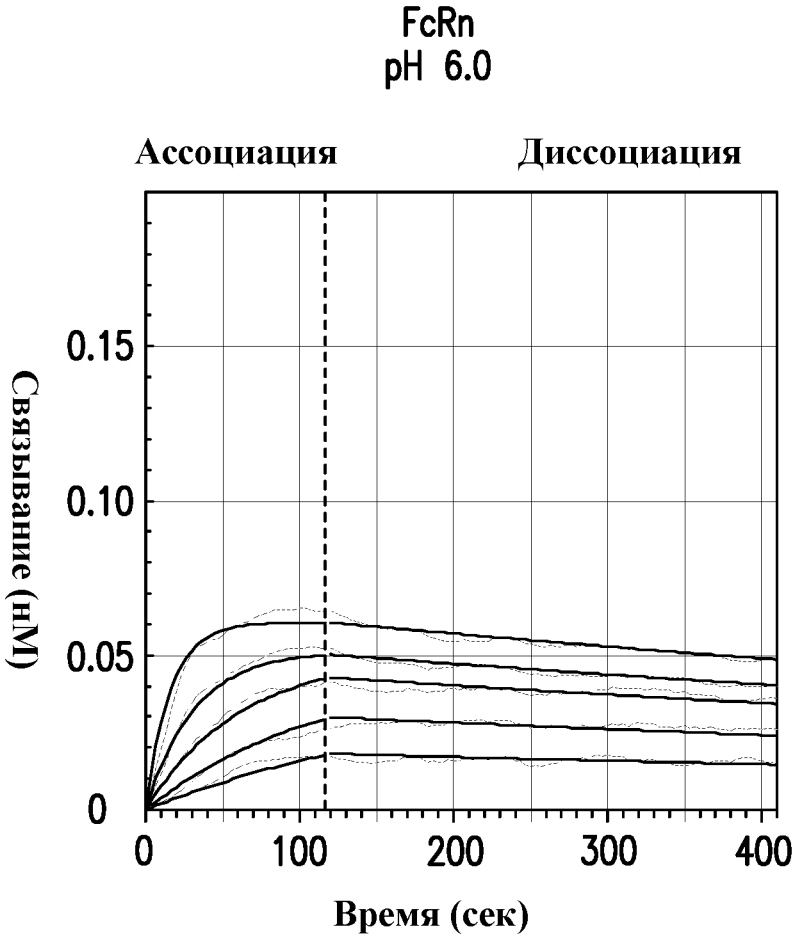
ФИГ. 8C


FcγRIIIa
Ассоциация
Диссоциация
Связывание (нМ)
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0
100
200
300
400
Время (сек)

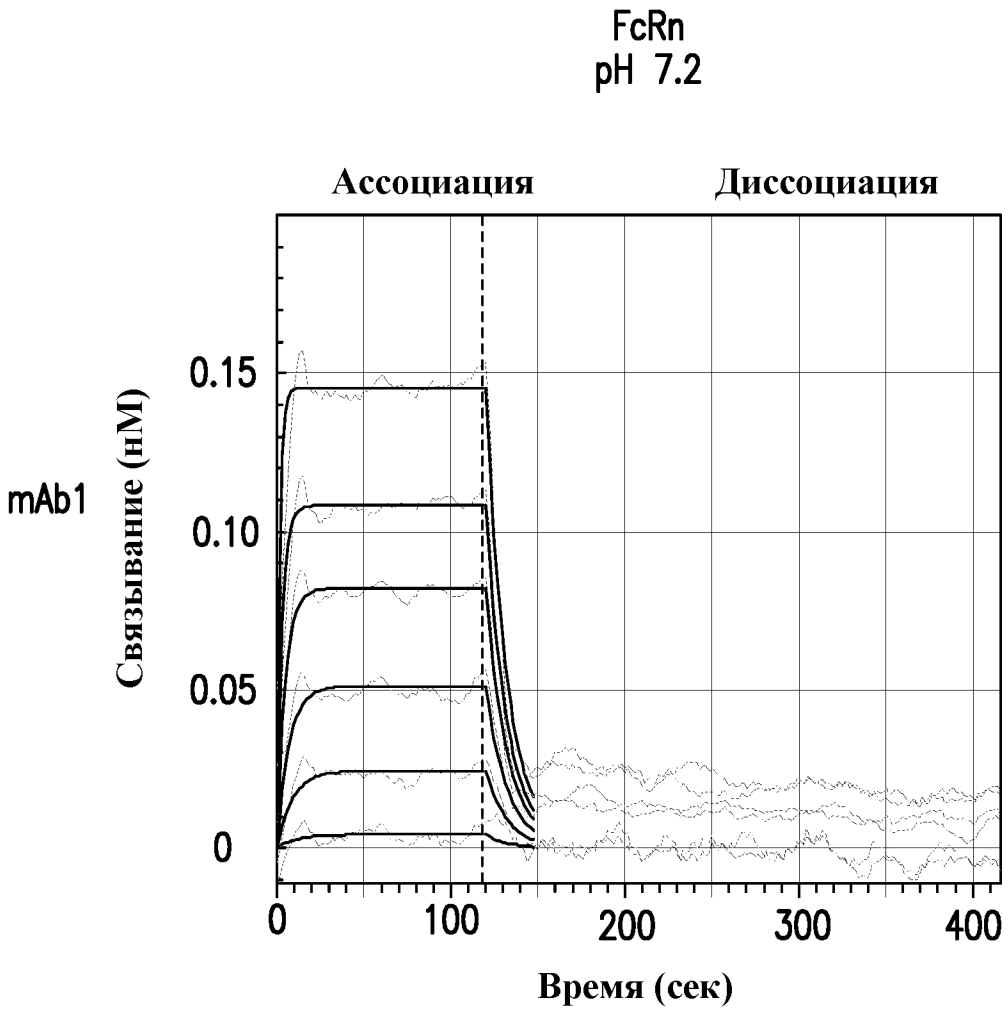
ФИГ. 8D


mAb1
FcγRIIIb
Ассоциация
Диссоциация
Связывание (нМ)
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0
100
200
300
400
Время (сек)

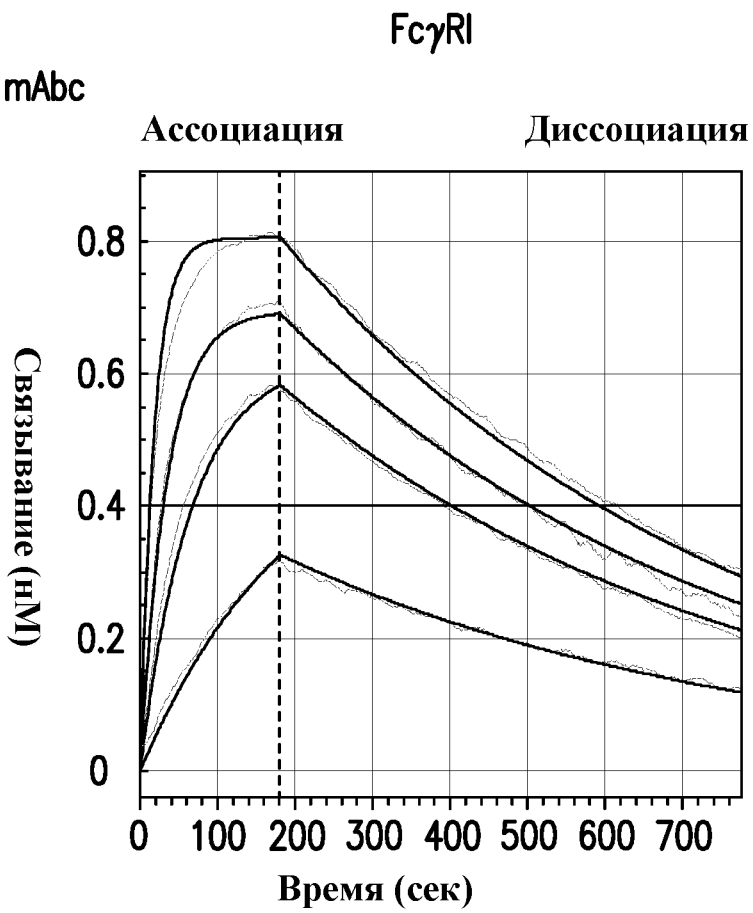
ФИГ. 8E


FcRn
pH 6.0
Ассоциация
Диссоциация
Связывание (нМ)
0.15
0.10
0.05
0
0
100
200
300
400
Время (сек)

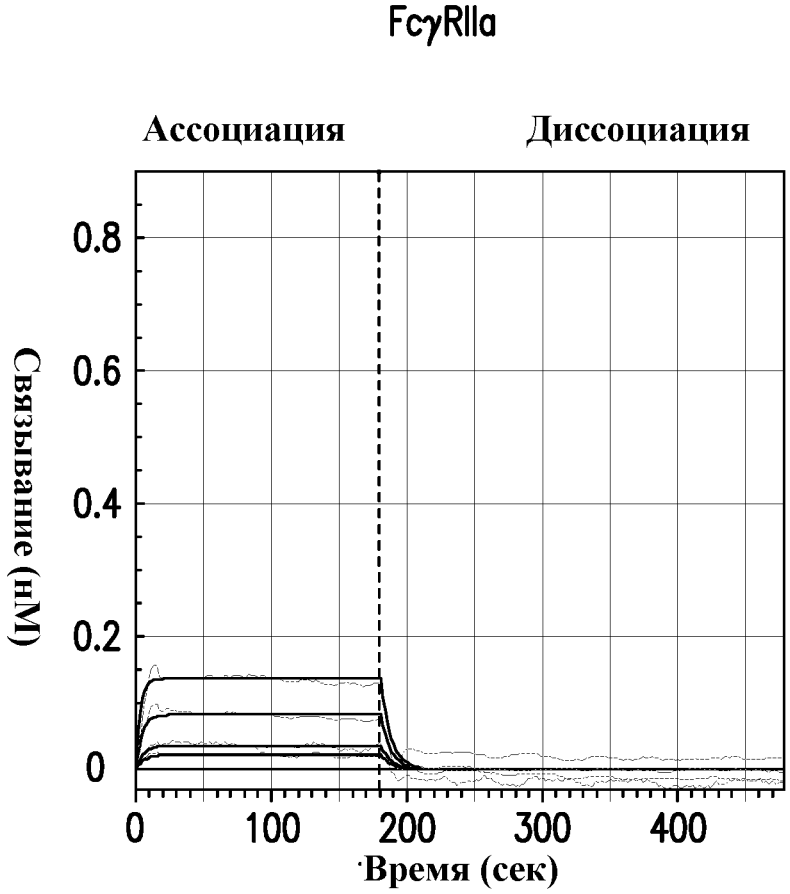
ФИГ. 8F


FcRn
pH 7.2
Ассоциация
Диссоциация
mAb1
Связывание (нМ)
0.15
0.10
0.05
0
0
100
200
300
400
Время (сек)

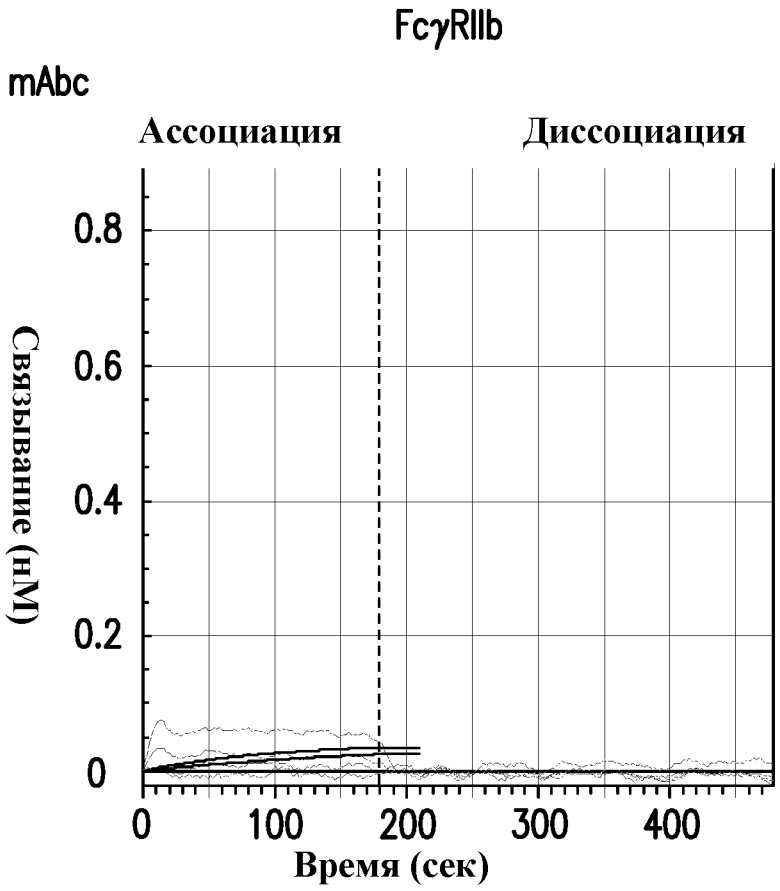
ФИГ. 8G


FcγRI
mAbc
Ассоциация
Диссоциация
Связывание (нМ)
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0 100 200 300 400 500 600 700
Время (сек)

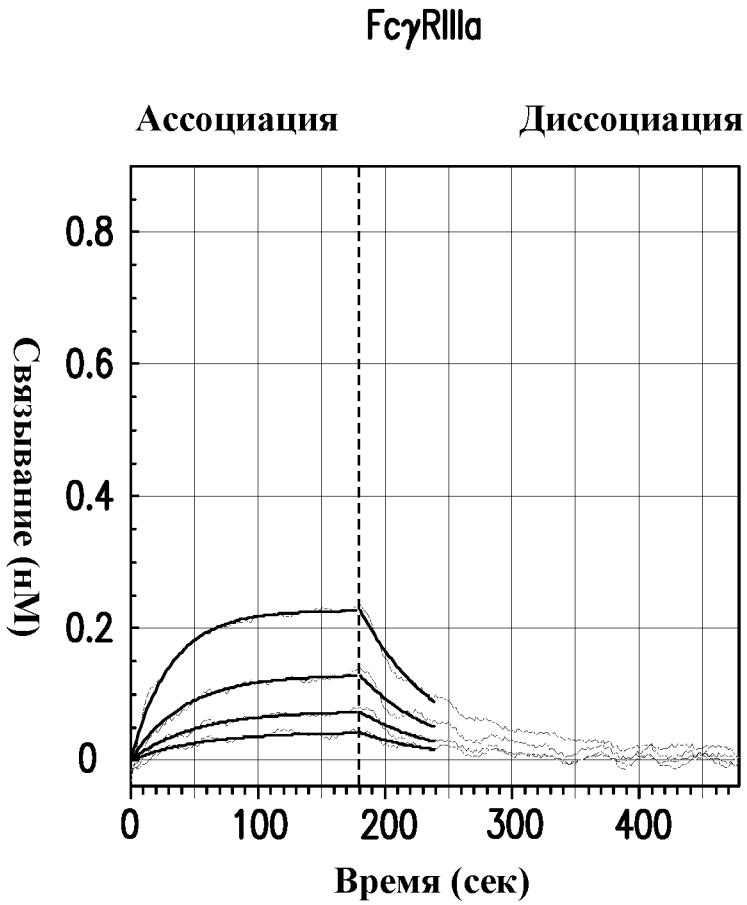
ФИГ. 8H


FcγRIIa
Ассоциация
Диссоциация
Связывание (нМ)
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0 100 200 300 400
Время (сек)

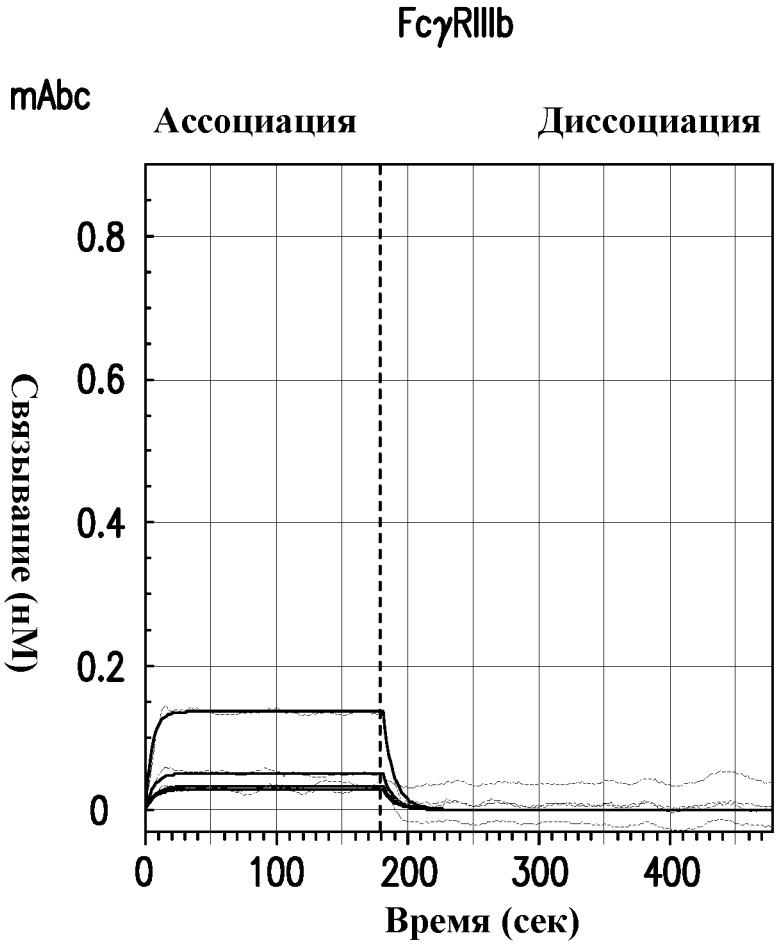
ФИГ. 8I


FcγRIIb
mAbc
Ассоциация
Диссоциация
Связывание (нМ)
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0
100
200
300
400
Время (сек)

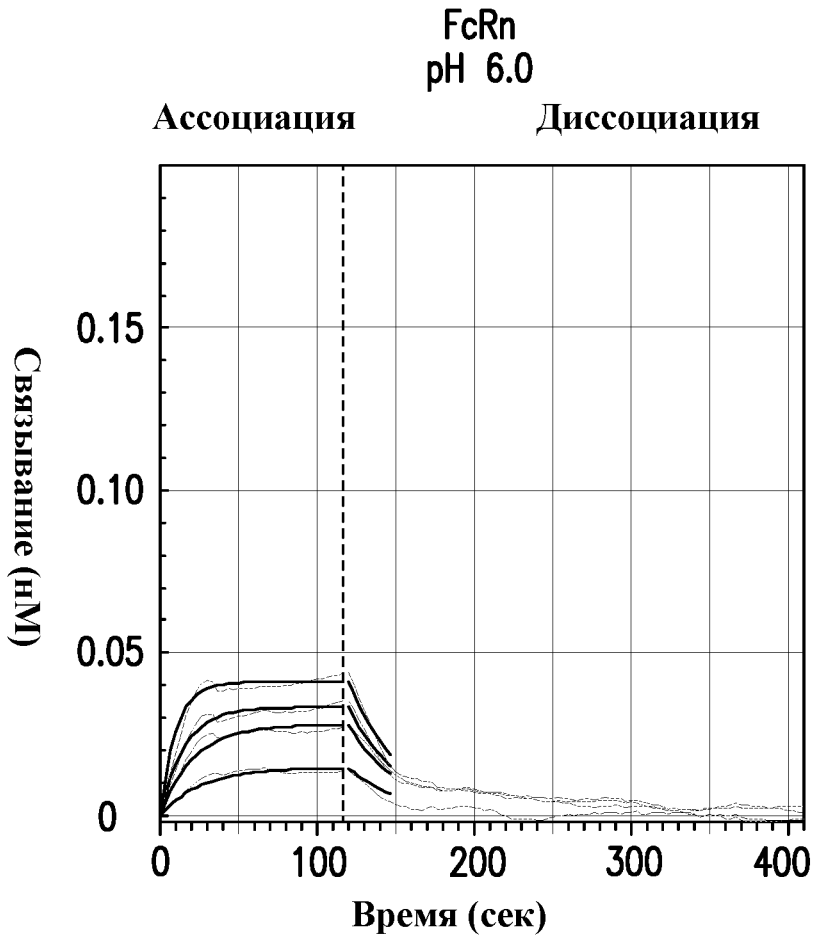
ФИГ. 8J


FcγRIIIa
Ассоциация
Диссоциация
Связывание (нМ)
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0
100
200
300
400
Время (сек)

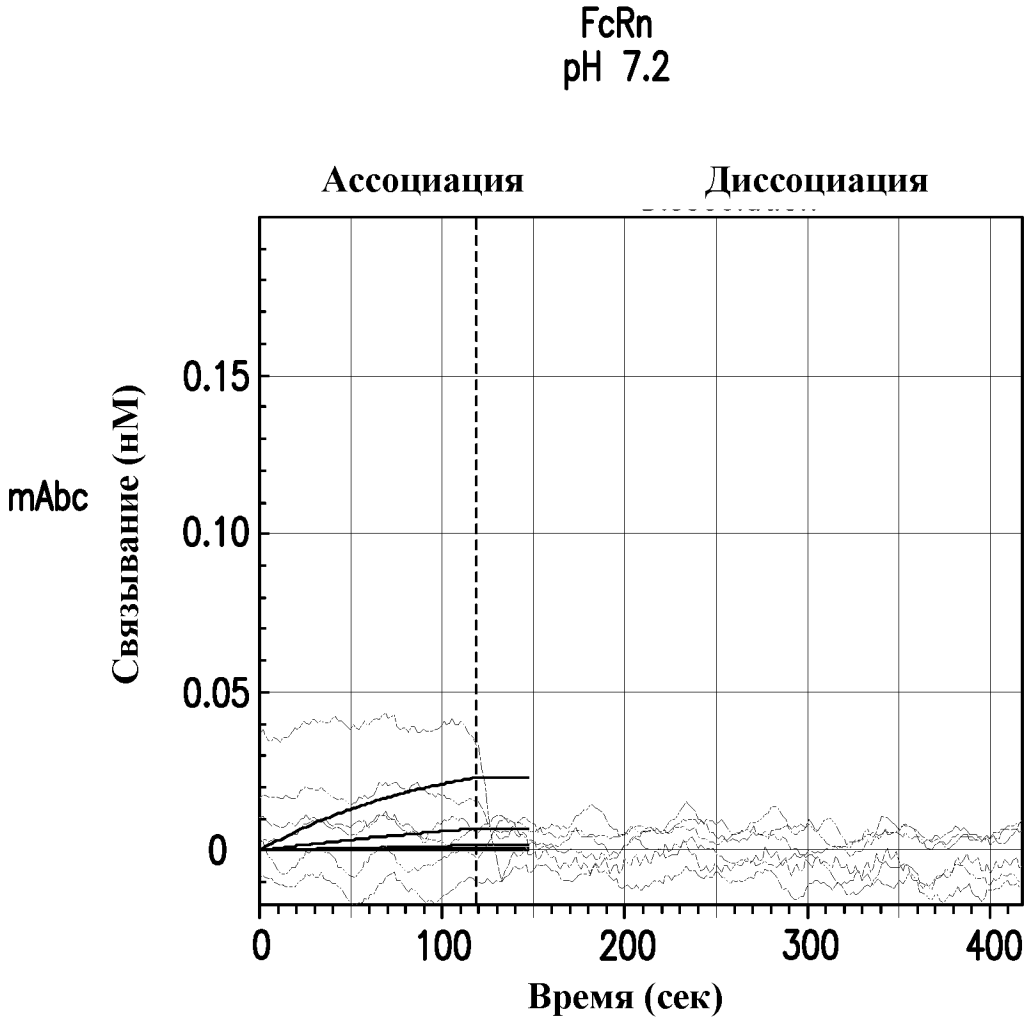
ФИГ. 8K


FcγRIIIb
mAbc
Ассоциация
Диссоциация
Связывание (нМ)
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0
100
200
300
400
Время (сек)

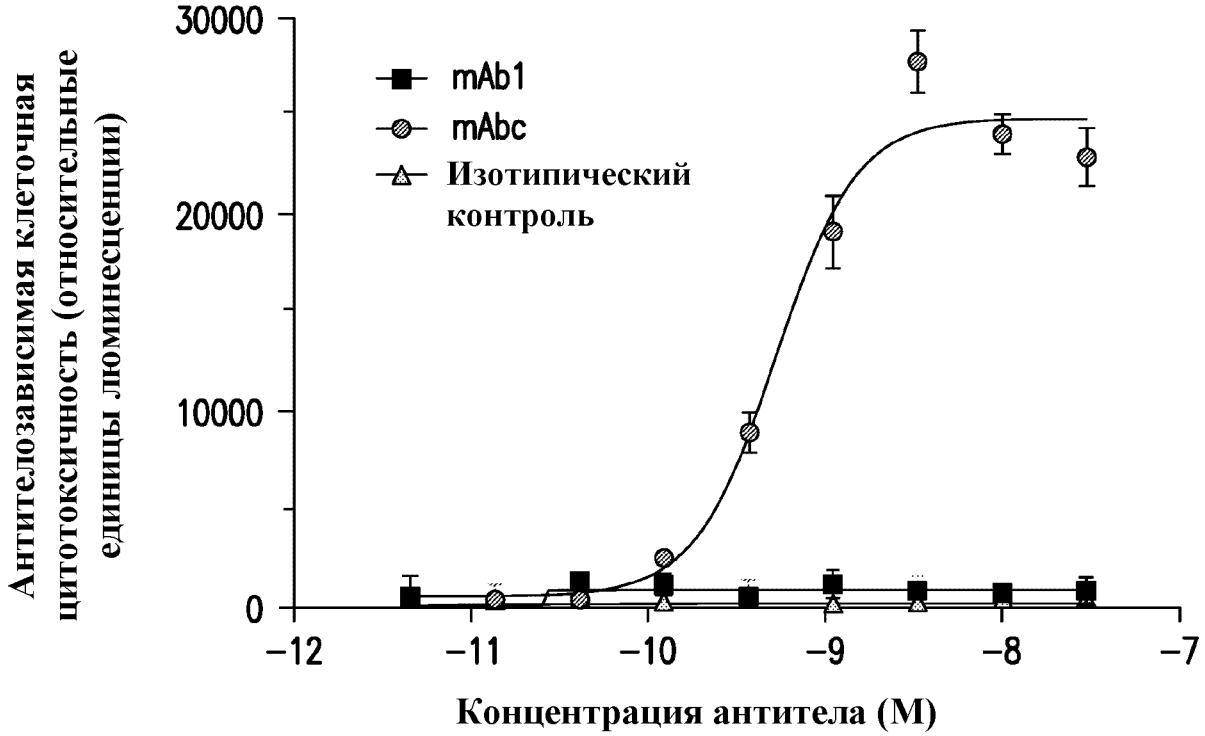
ФИГ. 8L


FcRn
pH 6.0
Ассоциация
Диссоциация
Связывание (нМ)
0.15
0.10
0.05
0
0
100
200
300
400
Время (сек)

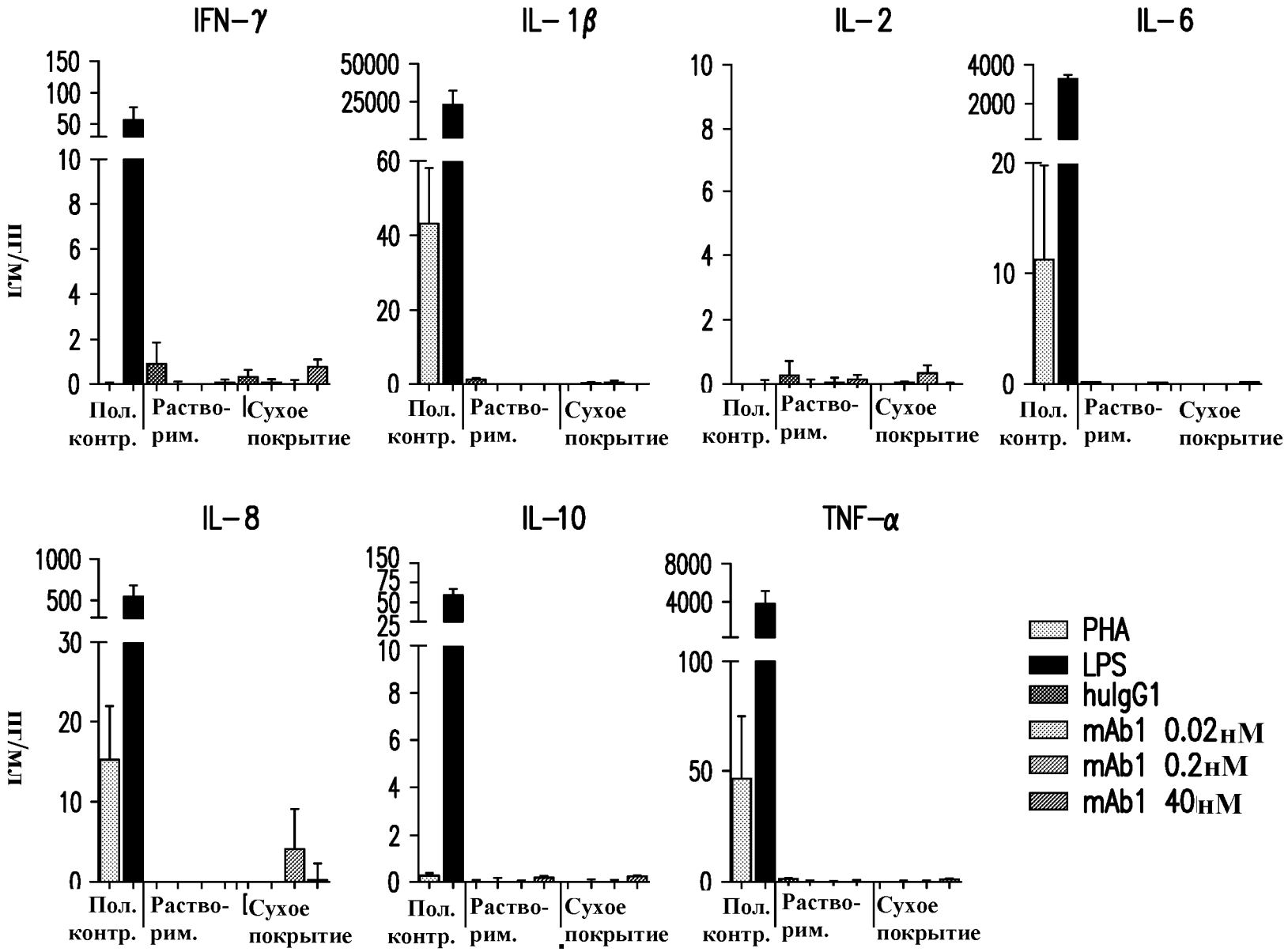
ФИГ. 8M


FcRn
pH 7.2
Ассоциация
Диссоциация
mAbc
Связывание (нМ)
0.15
0.10
0.05
0
0
100
200
300
400
Время (сек)

ФИГ. 8N


Антителозависимая клеточная цитотоксичность (относительные единицы люминесценции)
30000
20000
10000
0
mAb1
mAbc
Изотипический контроль
−12
−11
−10
−9
−8
−7
Концентрация антитела (М)

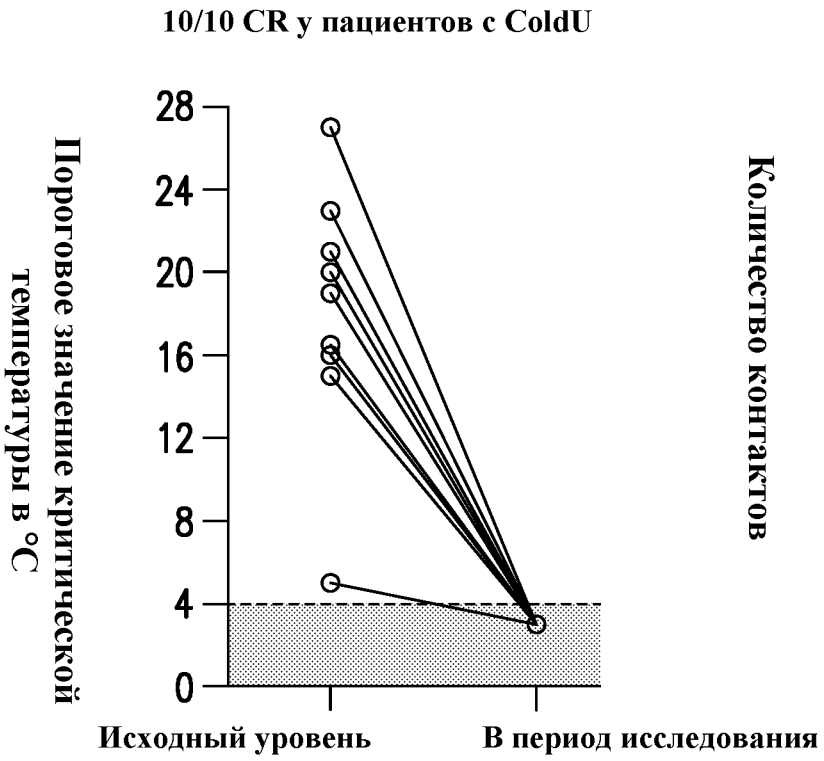
ФИГ. 9


IFN-γ
IL-1β
IL-2
IL-6
IL-8
IL-10
TNF-α
пг/мл
Пол. контр.
Раство-рим.
Сухое покрытие
PHA
LPS
hulgG1
mAb1 0.02нМ
mAb1 0.2нМ
mAb1 40нМ

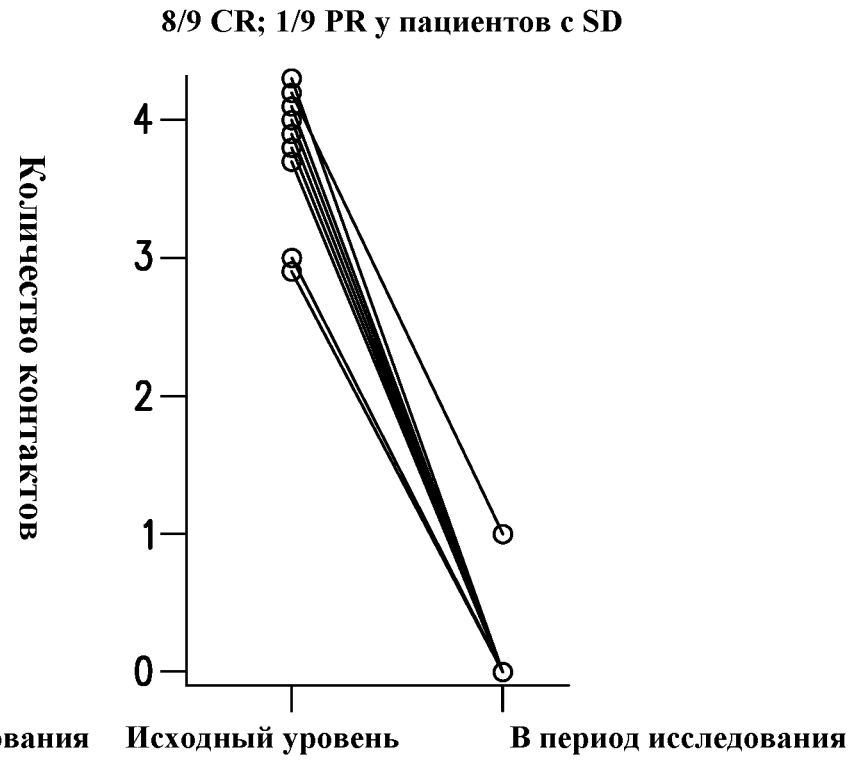
ФИГ. 10

mAb1
SCF
FcεR
Siglec-8
FcγR
KIT
IL4Rα
MRGPRX2
Дифференцировка
Миграция
Выживаемость
MAST CELL
МЕДИАТОРЫ
Дегрануляция
-Протеазы (например, триптаза)
-Гистамин
Липид
-Простагландины
-Лейкотриены
Синтез de novo
-Цитокины Th1, Th2, Th17
-Хемокины
ФУНКЦИИ
-Воспаление
-Расширение сосудов
-Рекрутинг иммунных клеток
-Активация иммунных клеток
-Зуд

ФИГ. 11

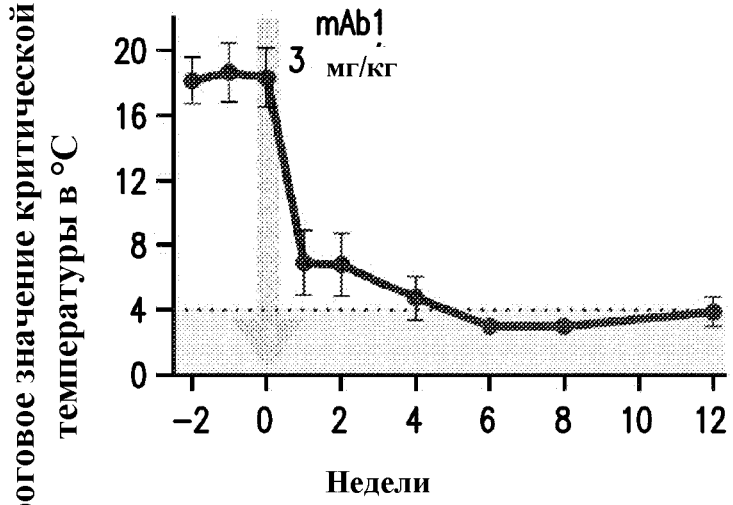


ФИГ. 12A



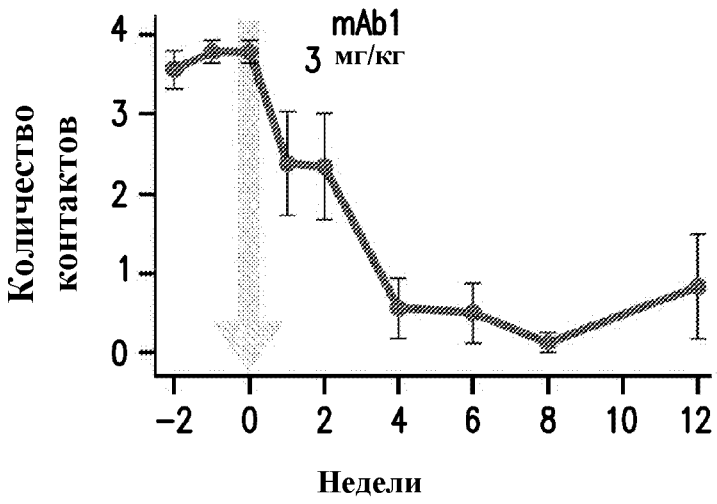
ФИГ. 12B

Результаты TempTest в зависимости от времени у пациентов с ColdU



ФИГ. 12C

Результаты FricTest в зависимости от времени у пациентов с SD



ФИГ. 12D

[redacted]	−2 (n=10)	0 (n=10)	1 (n=10)	2 (n=10)	4 (n=9)	6 (n=9)	8 (n=9)	12 (n=8)
Среднее Phys-GA (диапазон)	2.3(2−3)	1.9(1−3)	0.6(0−1)	0.6(0−2)	0.4(0−1)	0.1(0−1)	0.2(0−1)	0.6(0−2)
Среднее Pat-GA (диапазон)	1.7(0−3)	1.1(0−2)	0.4(0−1)	0.3(0−1)	0.1(0−1)	0.0	0.1(0−1)	0.3(0−2)

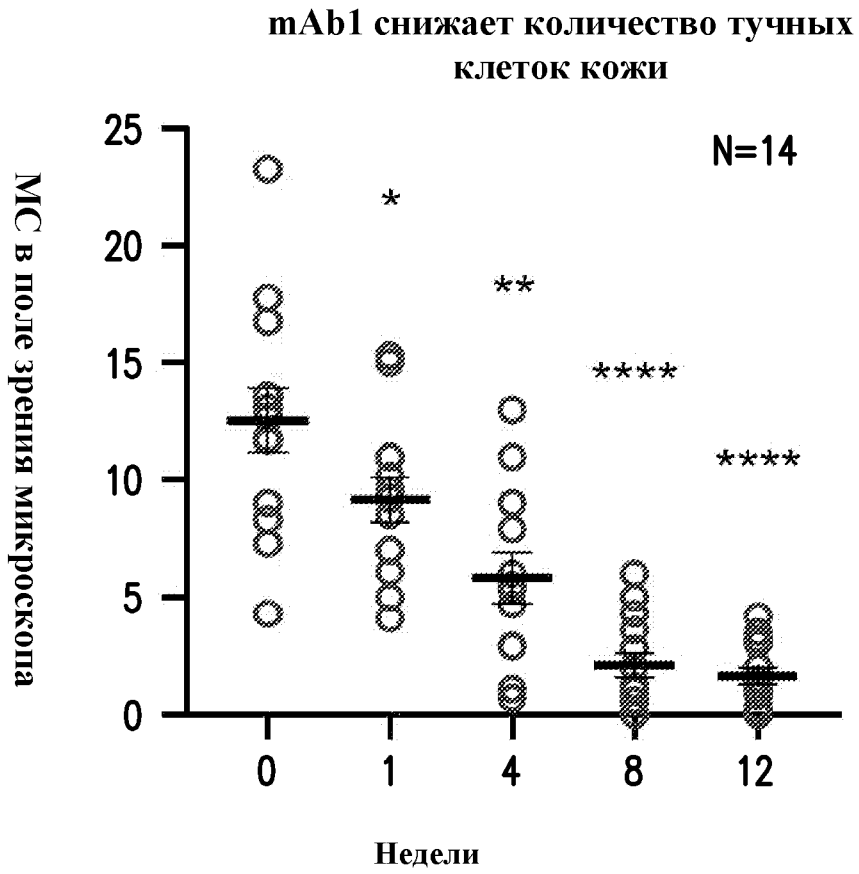
3 mAb1 [redacted] ColdU

ФИГ. 13A

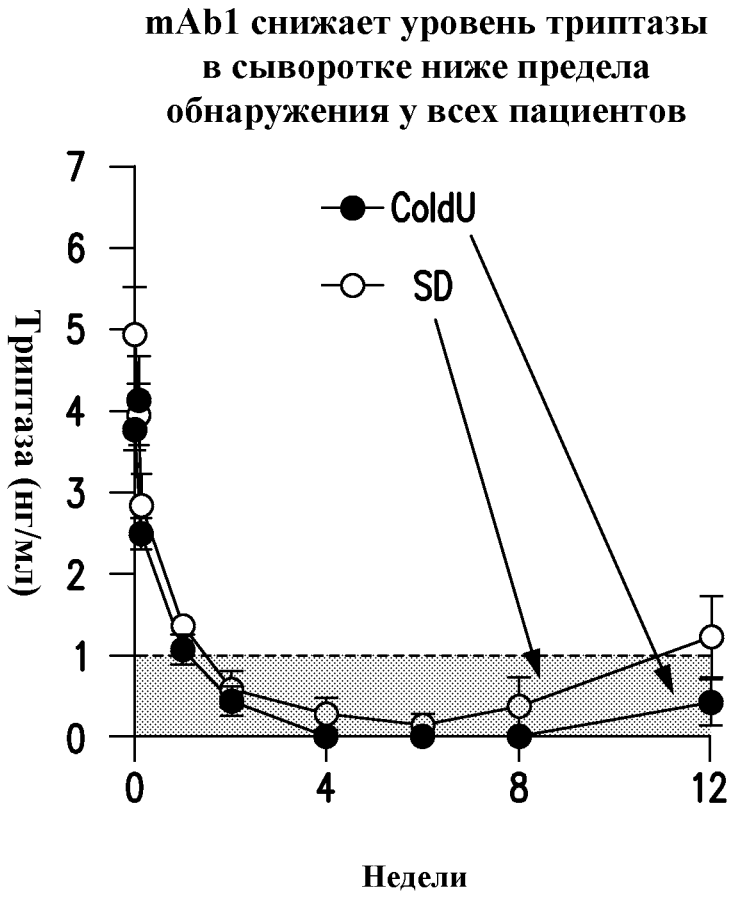
[redacted]	−2 (n=9)	0 (n=9)	1 (n=9)	2 (n=9)	4 (n=9)	6 (n=9)	8 (n=8)	12 (n=6)
Среднее Phys-GA (диапазон)	2.4(2−3)	2.0	1.8(1−2)	1	0.6(0−1)	0.4(0−1)	0.5(0−1)	0.7(0−2)
Среднее Pat-GA (диапазон)	2.2(3−9)	2(1−3)	1.3(1−2)	1(0−2)	0.6(0−2)	0.2(0−1)	0.3(0−1)	0.8

3 mAb1 [redacted] SD

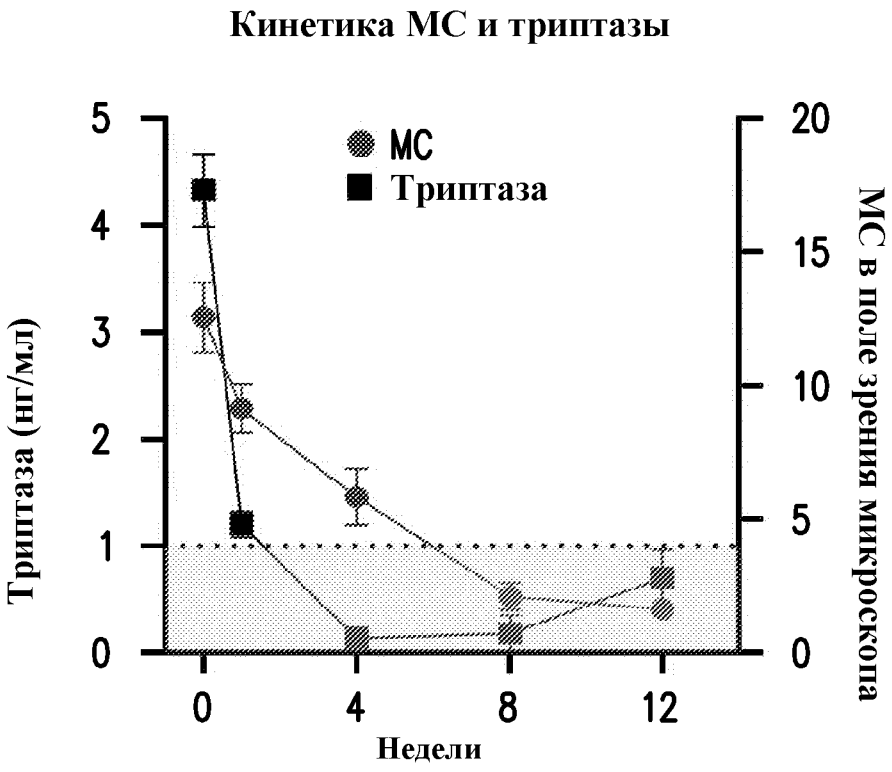
ФИГ. 13B



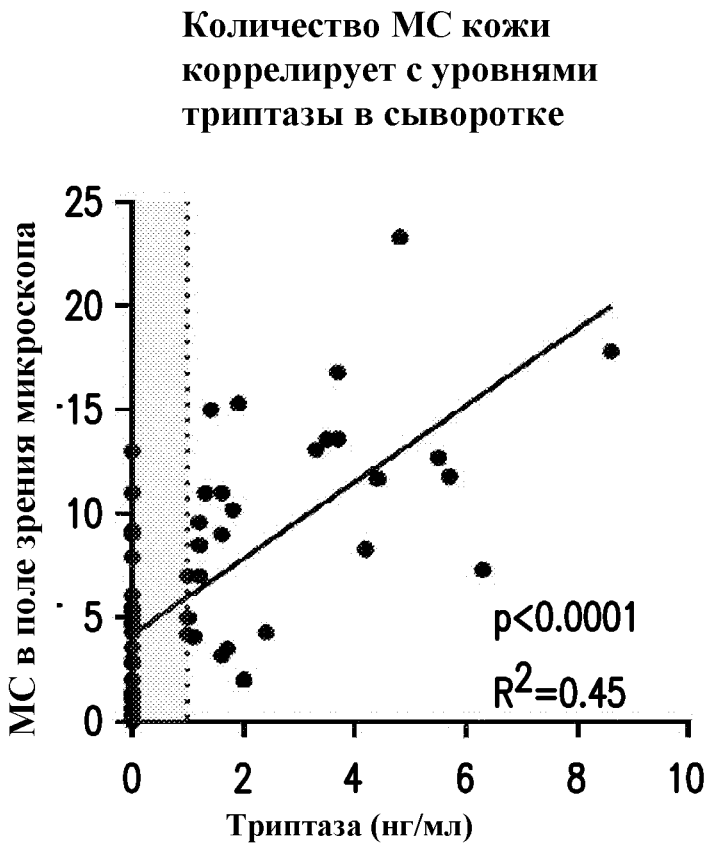
ФИГ. 14А



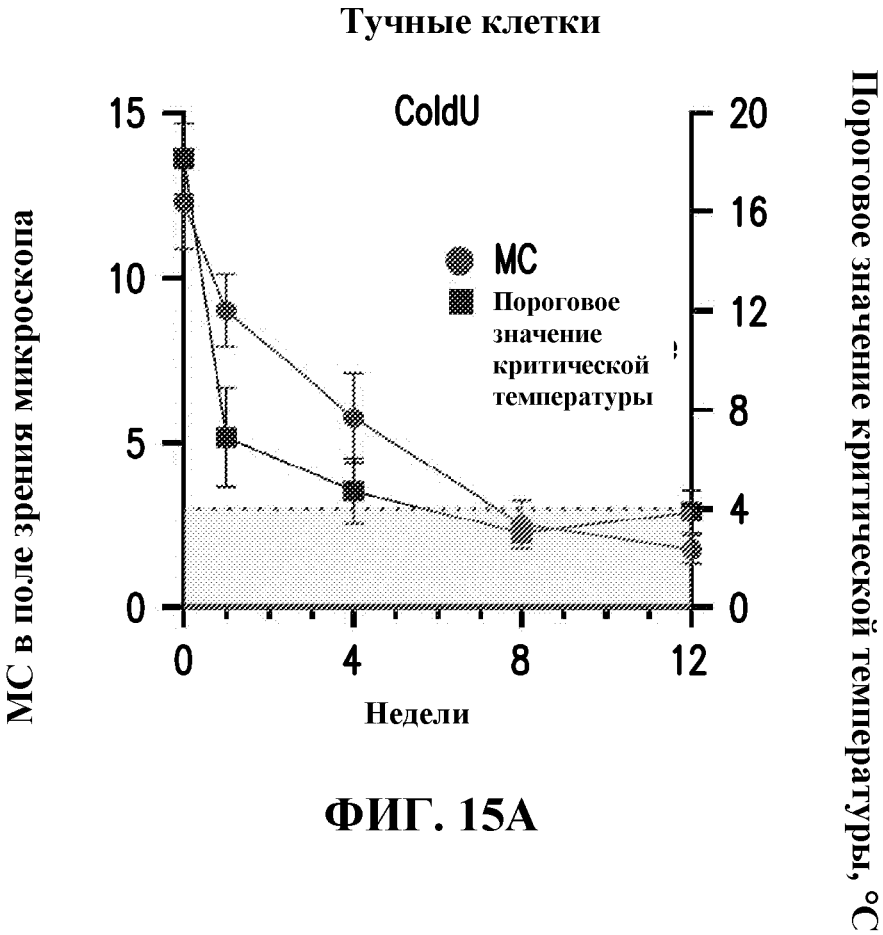
ФИГ. 114В



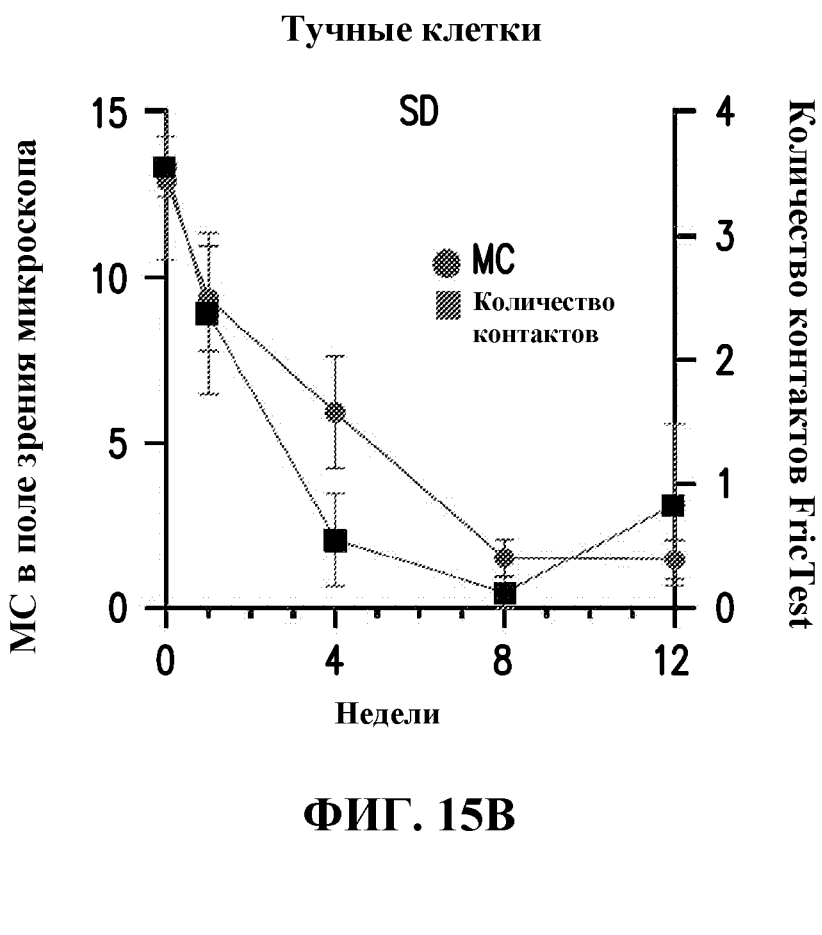
ФИГ. 14C



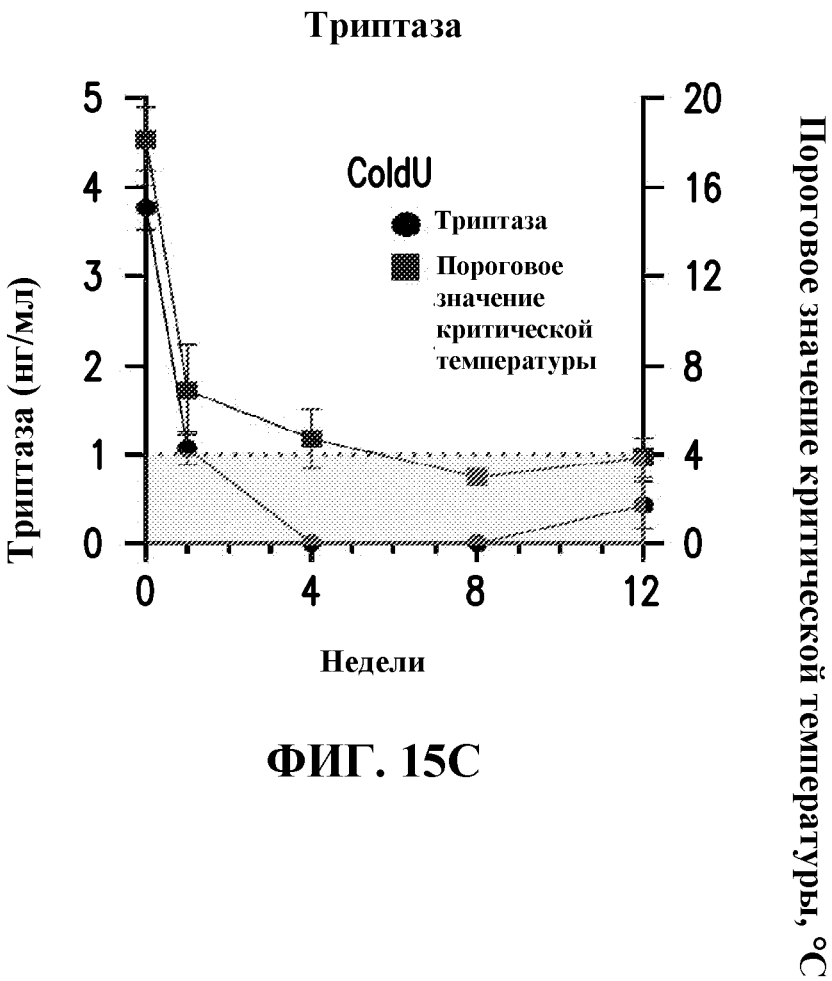
ФИГ. 14D



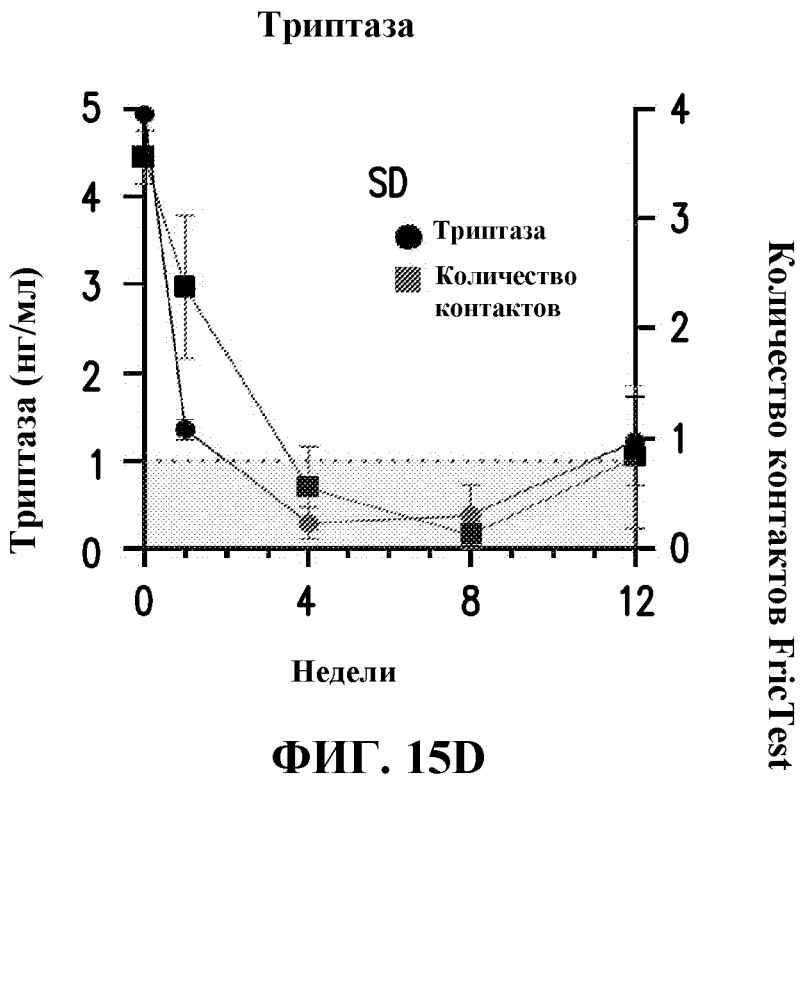
ФИГ. 15A



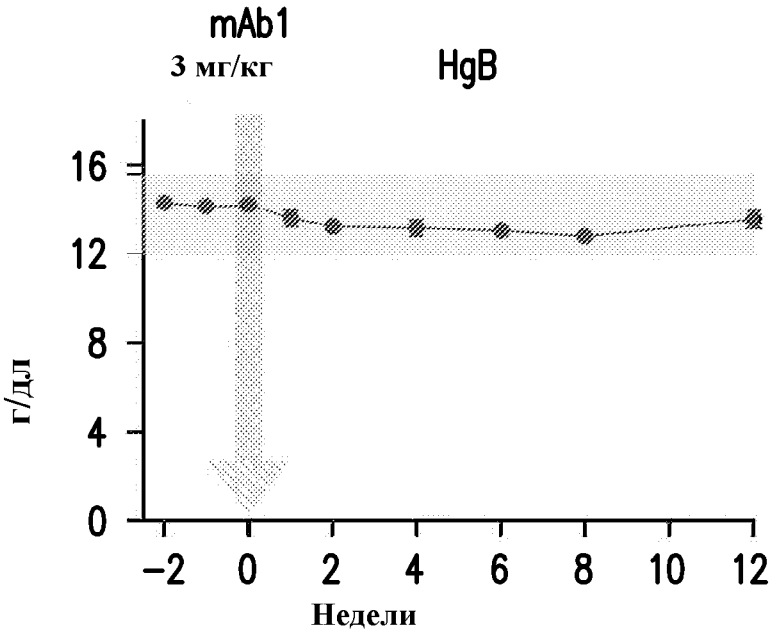
ФИГ. 15B



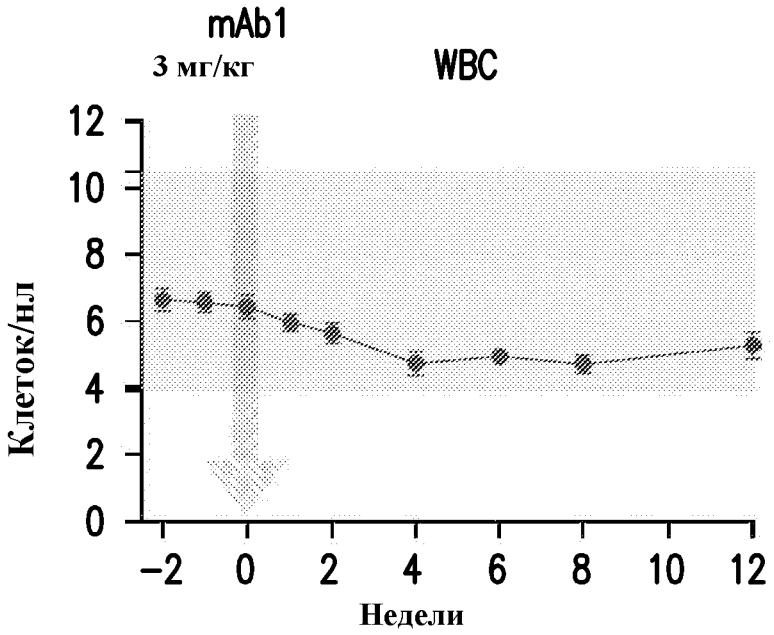
ФИГ. 15C



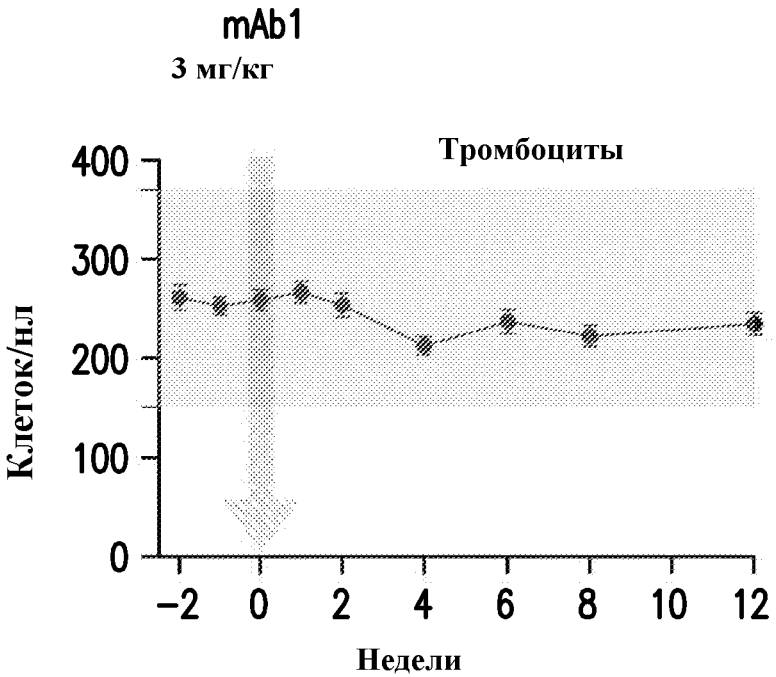
ФИГ. 15D



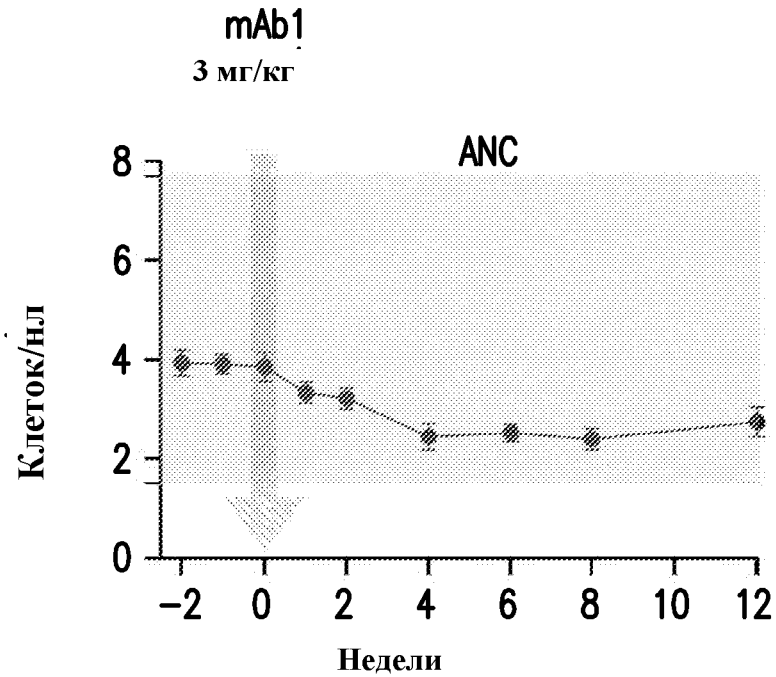
ФИГ. 16А



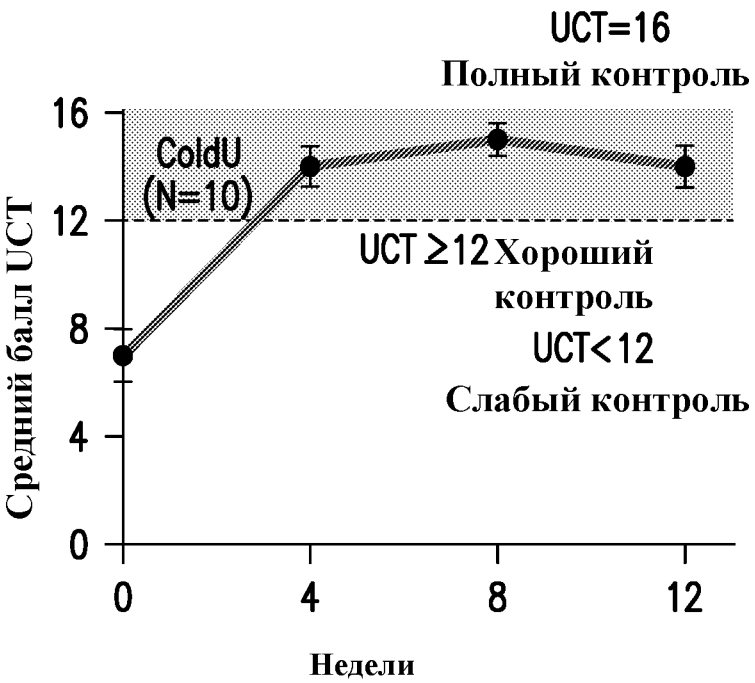
ФИГ. 16В



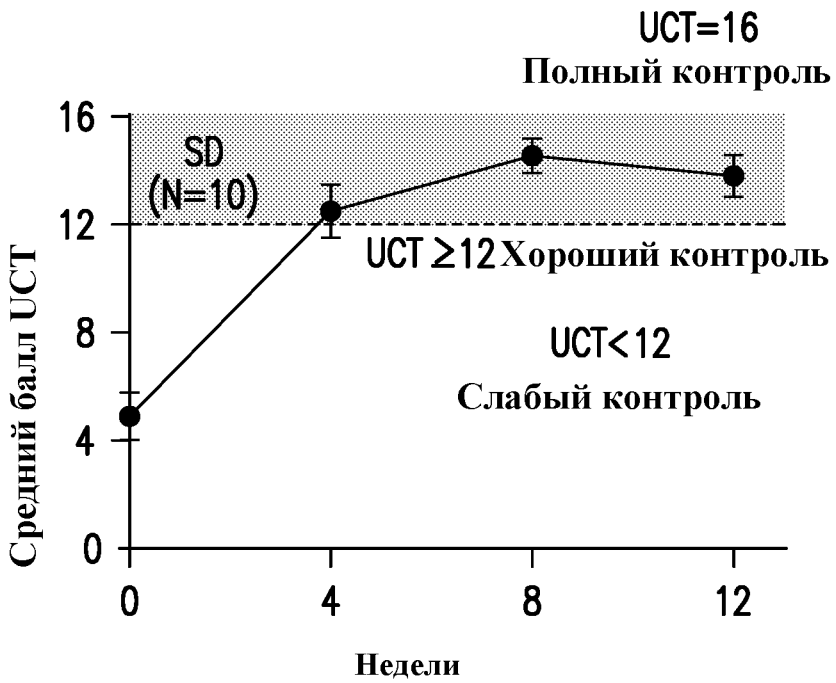
ФИГ. 16C



ФИГ. 16D



ФИГ. 17A



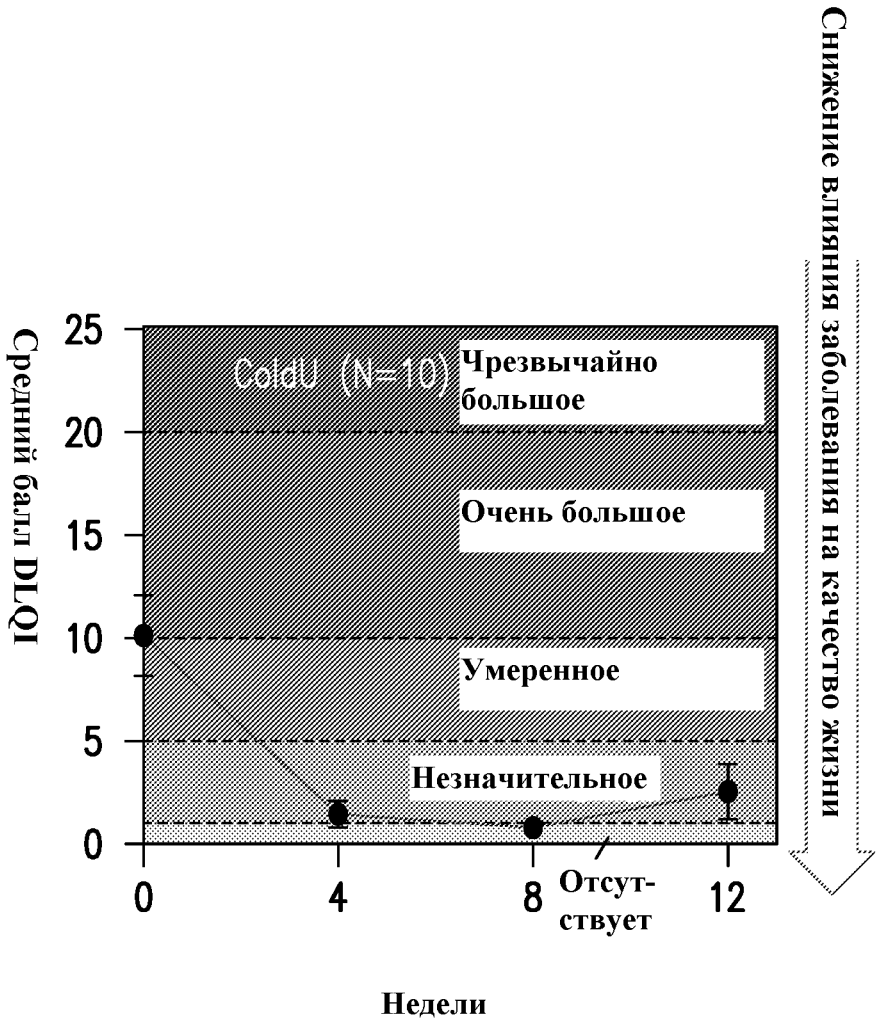
ФИГ. 17B

Оценка UCT ≥12	До введения	Неделя 4	Неделя 8	Неделя 12
% пациентов с ColdU (n/N)	10%(1/10)	90%(9/10)	100%(10/10)	80%(8/10)
% пациентов с SD (n/N)	0%(0/10)	70%(7/10)	100%(9/9)	78%(7/9)
% всех пациентов (n/N)	5%(1/20)	80%(16/20)	100%(19/19)	79%(15/19)

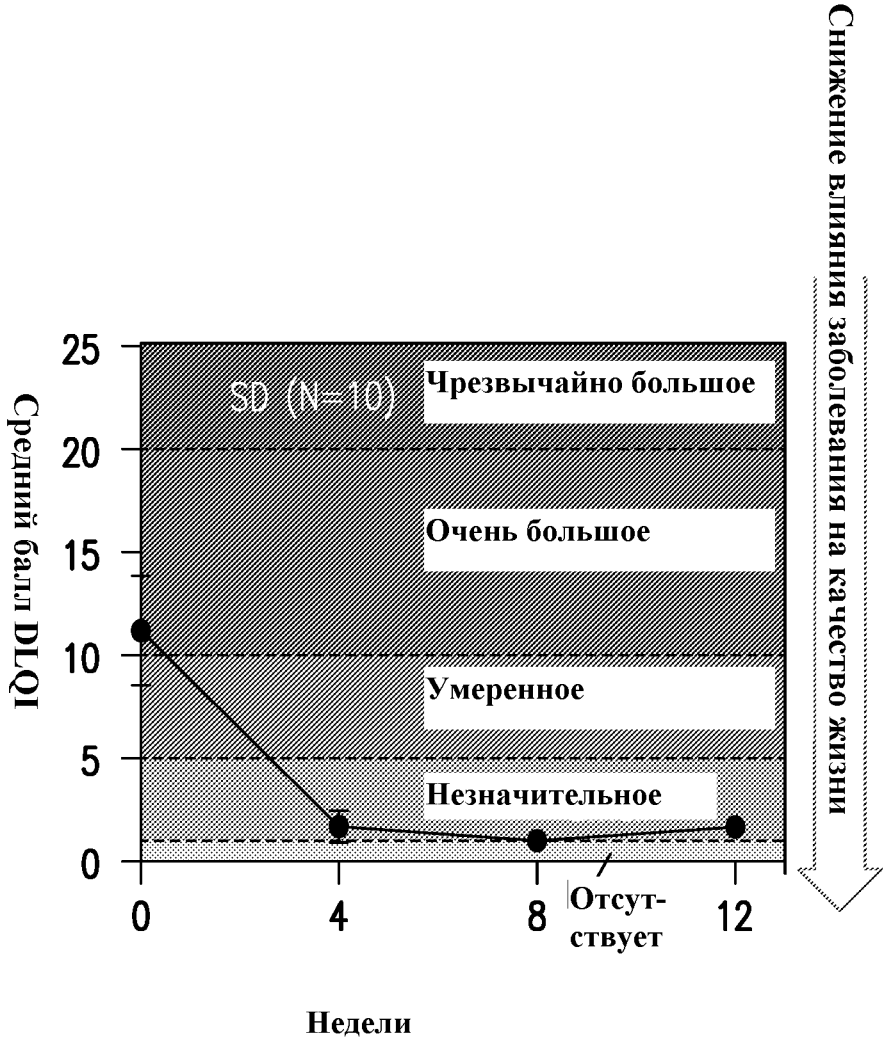
ФИГ. 18A

Оценка UCT = 16	До введения	Неделя 4	Неделя 8	Неделя 12
% пациентов с ColdU (n/N)	0%(0/10)	50%(5/10)	70%(7/10)	40%(4/10)
% пациентов с SD (n/N)	0%(0/10)	20%(2/10)	56%(5/9)	33%(3/9)
% всех пациентов (n/N)	0%(0/10)	35%(7/20)	63%(12/19)	37%(7/19)

ФИГ. 18B



ФИГ. 19А



ФИГ. 19В

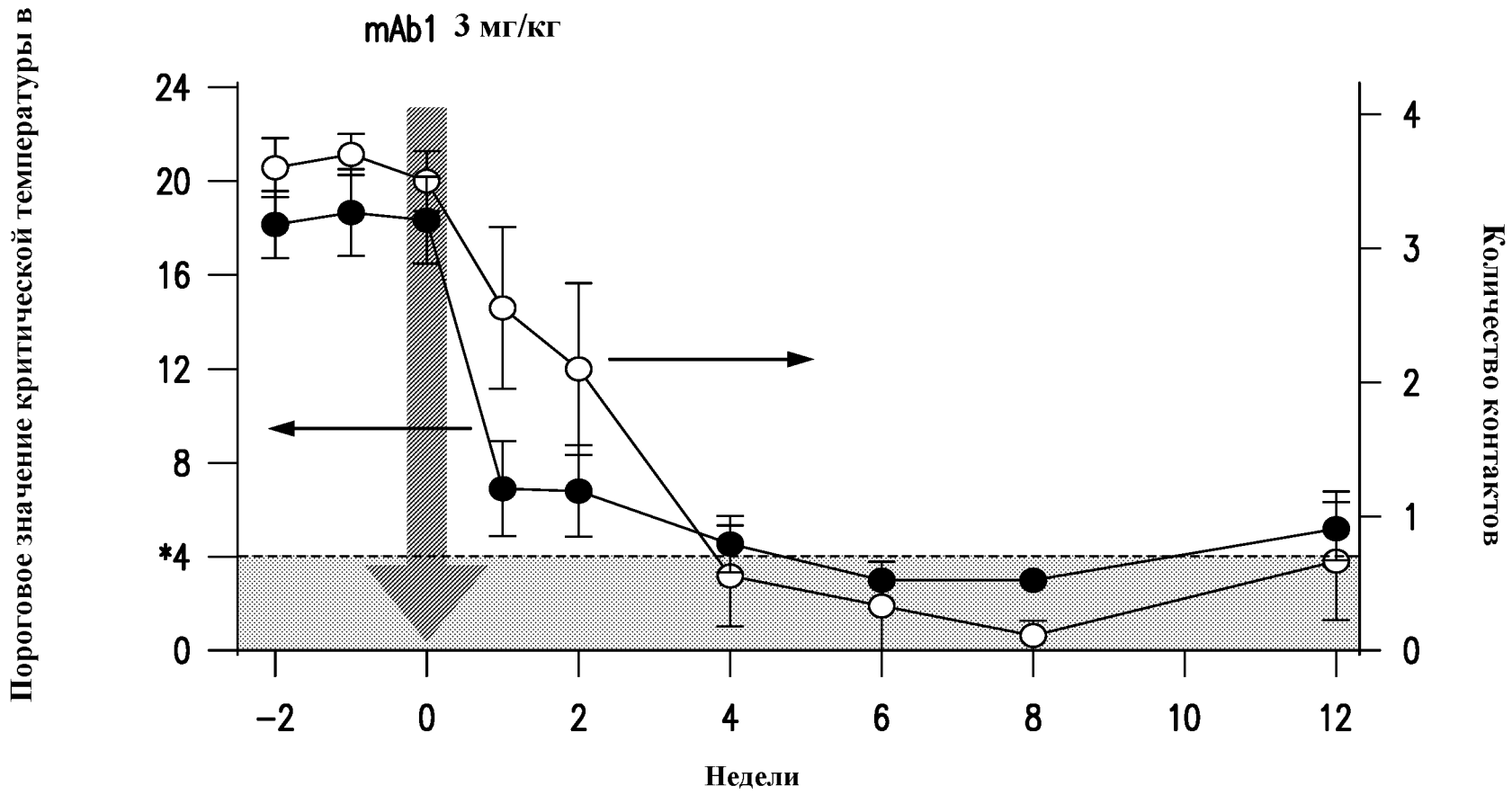
Снижение DLQI ≥ 4 баллов† относительно исходного уровня*	Неделя 4	Неделя 8	Неделя 12
% пациентов с ColdU (n/N)	100%(6/6)	100%(6/6)	83%(5/6)
% пациентов с SD (n/N)	88%(7/8)	86%(6/7)	86%(6/7)
% всех пациентов (n/N)	93%(13/14)	92%(12/13)	85%(11/13)

ФИГ. 20A

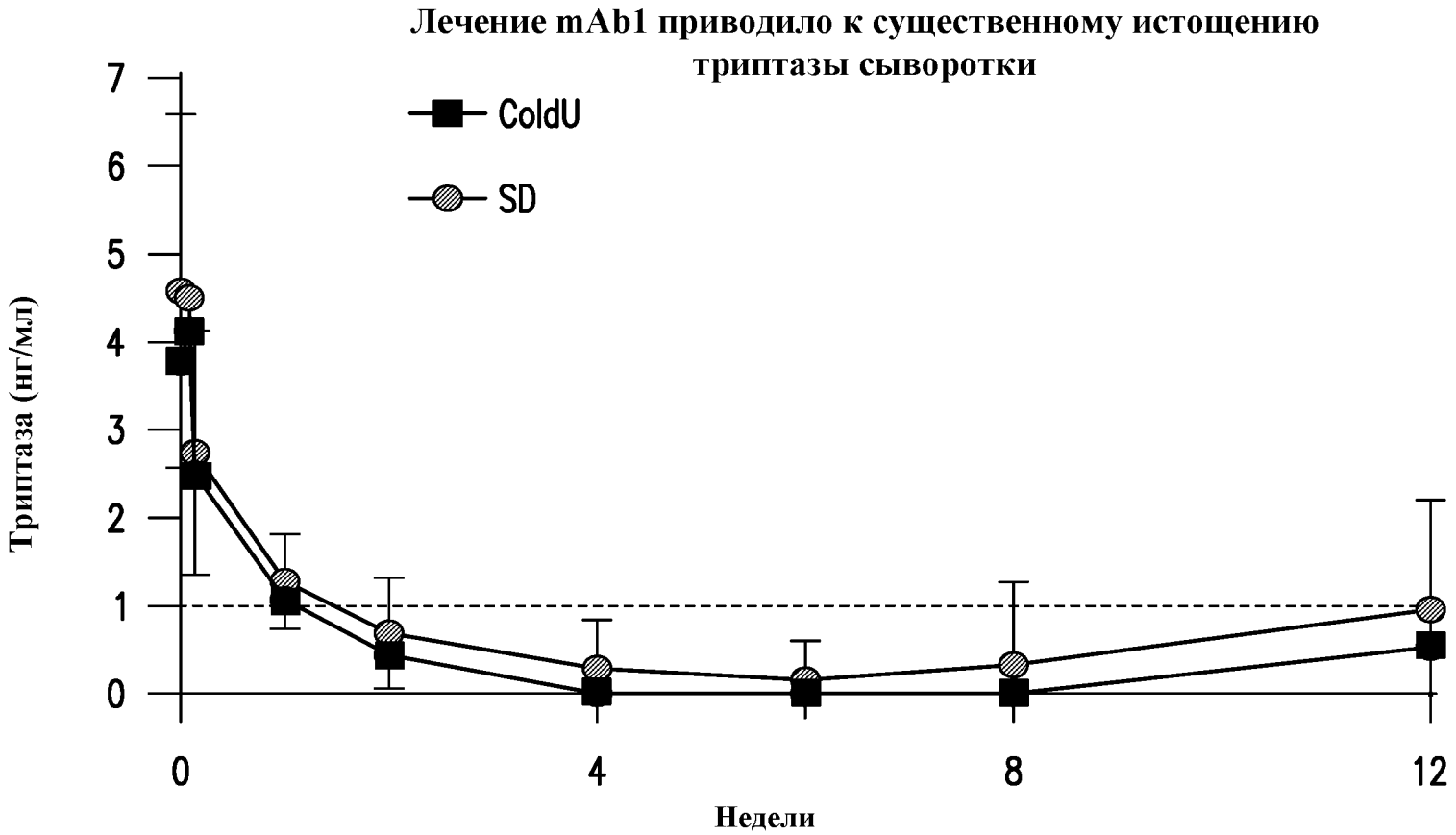
Оценка DLQI = 0-1Ŧ	Неделя 4	Неделя 8	Неделя 12
% пациентов с ColdU (n/N)	56%(5/9)	70%(7/10)	67%(6/9)
% пациентов с SD (n/N)	60%(6/10)	67%(6/9)	44%(4/9)
% всех пациентов (n/N)	58%(11/19)	68%(13/19)	56%(10/18)

ФИГ. 20B

Результаты TempTest и FricTest в зависимости от времени у пациентов с ColdU и SD



ФИГ. 21A


Лечение mAb1 приводило к существенному истощению триптазы сыворотки
ColdU
SD
Триптаза (нг/мл)
7
6
5
4
3
2
1
0
0
4
8
12
Недели

ФИГ. 21B