

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202392484** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.11.09

(22) Дата подачи заявки
2022.03.07

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C12Q 1/6886 (2018.01)

(54) ЛЕЧЕНИЕ РАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ БЕЗ АКТИВИРУЮЩИХ МУТАЦИЙ EGFR

(31) **63/158,552**

(32) **2021.03.09**

(33) **US**

(86) **PCT/IB2022/052009**

(87) **WO 2022/189942 2022.09.15**

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

(72) Изобретатель:

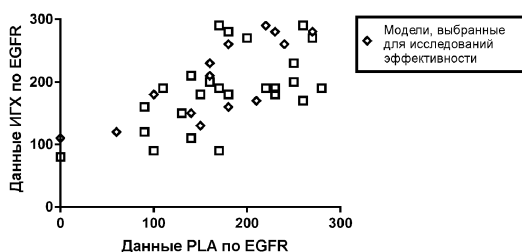
**Хэнли Бенджамин Дж., Мурс Шери Л.
(US)**

(74) Представитель:

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

(57) Настоящее изобретение относится к лечению субъектов, больных раком с опухолями по меньшей мере без одной активирующей мутации EGFR.

Данные ИГХ по EGFR по сравнению с данными
PLA в 39 легочных PDX-образцах



202392484

A1

A1

202392484

ЛЕЧЕНИЕ РАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ БЕЗ АКТИВИРУЮЩИХ МУТАЦИЙ EGFR

5

ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА СМЕЖНЫЕ ЗАЯВКИ

Настоящая заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке США № 63/158,552, поданной 9 марта 2021 г. Полное содержание упомянутой выше заявки полностью включено в настоящий документ путем ссылки.

10 ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПОДАННЫЙ В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ

Данная заявка содержит перечень последовательностей, представленный в электронном виде посредством EFS-Web как перечень последовательностей в формате ASCII с именем файла BI6507WOPCT1SEQLIST.txt, с датой создания 1
15 марта 2022 г. и размером 29 Кб. Перечень последовательностей, представленный посредством EFS-Web, является частью описания и полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к лечению субъектов, больных раком с
20 опухолями без по меньшей мере одной активирующей мутации EGFR.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Индивидуальные роли рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) и фактора мезенхимально-эпителиального перехода рецепторной тирозинкиназы (с-Met) при раке точно установлены, что делает эти цели привлекательными для
25 комбинированной терапии. Оба рецептора передают сигнал через одни и те же пути выживания и антиапоптотические пути (ERK и АКТ); таким образом, совместное ингибирование этой пары может ограничивать потенциал активации компенсаторного пути, тем самым повышая общую эффективность.

Молекулярная сегментация немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) на
30 поздней стадии, основанная на драйверной мутации в онкогенах, позволила

улучшить общую выживаемость и качество жизни у пациентов с терапевтически значимыми драйверными мутациями.

Амивантамаб представляет собой биспецифическое антитело, нацеленное на EGFR и c-MET. В клинических испытаниях исследуется его клиническая
5 активность по отношению к ряду активирующих мутаций EGFR, но не оценивалась возможность его использования для лечения рака легкого, который является EGFR-положительным, но не имеет активирующих мутаций EGFR.

ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

10 Существует потребность в улучшенных терапевтических средствах или комбинации терапевтических средств для разработки более эффективного лечения рака с опухолями без активирующих мутаций EGFR.

В настоящем описании предложен способ лечения страдающего раком субъекта, который является положительным по EGFR и по отсутствию по меньшей
15 мере одной активирующей мутации EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к рецептору эпидермального фактора роста (EGFR) / рецептору фактора роста гепатоцитов (c-Met) страдающему раком субъекту, который является положительным по EGFR и по отсутствию по меньшей мере одной активирующей мутации EGFR.

20 В настоящем описании также предложен способ лечения страдающего раком субъекта с использованием биспецифического антитела к EGFR/c-Met, включающий:

- a) получение биологической пробы субъекта;
- b) определение наличия или отсутствия в пробе активирующей мутации
25 EGFR;
- c) введение или обеспечение введения биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, для которого определено отсутствие активирующей мутации EGFR.

В одном варианте осуществления по меньшей мере одна активирующая
30 мутация представляет собой мутацию, которая увеличивает по меньшей мере одну биологическую активность EGFR.

В одном варианте осуществления по меньшей мере одна биологическая активность EGFR выбрана из группы, состоящей из тирозинкиназной активности, лиганд-независимой передачи сигналов, повышенной пролиферации клеток, передачи сигналов по сигнальным путям MAPK/ERK, транскрипции генов, димеризации (EGFR : EGFR) и гетеродимеризация (EGFR : HER2 или EGFR : HER3).

В одном варианте осуществления по меньшей мере одна активирующая мутация, которая увеличивает активность по меньшей мере одной биологической функции EGFR, представляет собой по меньшей мере одну мутацию, выбранную группы, состоящей из L718Q, G719A, G719X (X представляет собой любую аминокислоту), L861X (X представляет собой любую аминокислоту), замены L858R, E746K, L747S, E749Q, A750P, A755V, V765M, C797S, L858P или T790M, делеции E746–A750, делеции R748–P753, вставки Ala (A) между M766 и A767, вставки Ser, Val и Ala (SVA) между S768 и V769, вставки Asn и Ser (NS) между P772 и H773, вставки одной или более аминокислот между D761 и E762, A763 и Y764, Y764 и Y765, M766 и A767, A767 и V768, S768 и V769, V769 и D770, D770 и N771, N771 и P772, P772 и H773, H773 и V774, V774 и C775, одной или более делеций в экзоне 20 EGFR, одной или более вставок в экзоне 20 EGFR, S768I, L861Q и G719X (X означает любую аминокислоту).

В одном варианте осуществления данный способ дополнительно включает определение наличия или отсутствия по меньшей мере одной мутации в любом гене, выбранном из группы, состоящей из KRAS, PIK3CA и PTEN, и введение или обеспечение введения биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, для которого определено отсутствие активирующих мутаций EGFR и отсутствие по меньшей мере одной мутации в любом гене, выбранном из группы, состоящей из KRAS, PIK3CA и PTEN.

В одном варианте осуществления по меньшей мере одна мутация KRAS выбрана из группы, состоящей из G12V, G12C, G12A и G12D.

В одном варианте осуществления по меньшей мере одна мутация KRAS представляет собой G12C.

В одном варианте осуществления по меньшей мере одна мутация в PI3K выбрана из группы, состоящей из амплификации E545K, H1047L и PI3K.

В одном варианте осуществления по меньшей мере одна мутация в PTEN представляет собой делецию PTEN.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который специфически связывается с c-Met, причем первый домен содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1) с SEQ ID NO: 1, HCDR2 с SEQ ID NO: 2, HCDR3 с SEQ ID NO: 3, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1) с SEQ ID NO: 4, LCDR2 с SEQ ID NO: 5 и LCDR3 с SEQ ID NO: 6, и при этом второй домен, который связывается с c-Met, содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 7, HCDR2 с SEQ ID NO: 8, HCDR3 с SEQ ID NO: 9, LCDR1 с SEQ ID NO: 10, LCDR2 с SEQ ID NO: 11 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12.

В одном варианте осуществления первый домен, который специфически связывается с EGFR, содержит переменную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 13 и переменную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 14, а второй домен, который специфически связывается с c-Met, содержит VH с SEQ ID NO: 15 и VL с SEQ ID NO: 16.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met представляет собой изотип IgG1.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит первую тяжелую цепь (HC1) с SEQ ID NO: 17, первую легкую цепь (LC1) с SEQ ID NO: 18, вторую тяжелую цепь (HC2) с SEQ ID NO: 19 и вторую легкую цепь (LC2) с SEQ ID NO: 20.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит одну или более подавляющих экспрессию Fc мутаций.

В одном варианте осуществления одна или более подавляющих экспрессию Fc мутаций снижают аффинность к Fcγ-рецепторам.

В некоторых вариантах осуществления одна или более подавляющих экспрессию Fc мутаций представляют собой V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит биантенарную структуру гликанов с содержанием фукозы в диапазоне от около 1% до около 15%.

В одном варианте осуществления у субъекта наблюдается рецидив или резистентность к лечению одной или более предшествующими противораковыми терапиями.

В одном варианте осуществления одна или более предшествующих противораковых терапий содержат один или более химиотерапевтических препаратов, ингибиторов контрольной точки, нацеленные противораковые терапии, или ингибиторы киназы, или любую их комбинацию.

В одном варианте осуществления одна или более предшествующих противораковых терапий содержат карбоплатин, паклитаксел, гемцитабин, цисплатин, винорелбин, доцетаксел, палбоциклиб, кризотиниб, ингибитор оси PD-(L)1, ингибитор EGFR, ингибитор c-Met, ингибитор HER2, ингибитор HER3, ингибитор HER4, ингибитор VEGFR, ингибитор AXL, эрлотиниб, gefitinib, lapatinib, vandetanib, afatinib, osimertinib, larotrectinib, poziotinib, kriotinib, cabozantinib, capmatinib, axitinib, lenvatinib, nintedanib, regorafenib, pazopanib, sorafenib, или sunitinib, или любую их комбинацию.

В одном варианте осуществления субъект ранее не получал лечение.

В одном варианте рак, положительный по отсутствию активирующих мутаций EGFR, отличается наличием по меньшей мере одной мутации в гене, выбранном из группы, состоящей из ALK, APC, BRAF, BRCA1, BRCA2, CDKN2A, CDKN2B, CTNNB1, ERBB2, ERBB3, FGFR3, KIT, LRP1B, MET, MLH1, MSH3, NOTCH1, NTRK1, RET, ROS1, STK11, TP53 и VEGFA.

В одном варианте осуществления рак представляет собой рак легкого, рак желудка, колоректальный рак, рак головного мозга, рак, происходящий из эпителиальных клеток, рак молочной железы, рак яичников, колоректальный рак, рак анального канала, рак предстательной железы, рак почек, рак мочевого пузыря, рак головы и шеи, рак глотки, рак носа, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак ротовой полости, рак языка, рак пищевода, вагинальный рак, рак шейки матки, рак селезенки, рак яичка, рак желудка, рак тимуса, рак толстой кишки, рак щитовидной железы, рак печени, гепатоцеллюлярную карциному (HCC), или спорадическую или наследственную папиллярную почечно-клеточную карциному (PRCC), или любую их комбинацию.

В одном варианте осуществления рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), мелкоклеточный рак легкого (МРЛ) или

аденокарциному легкого, саркоматоидную карциному легкого или любую их комбинацию.

В одном варианте осуществления указанный способ включает дополнительное получение субъектом одного или более видов противораковой терапии.

В одном варианте осуществления одна или более противораковых терапий представляют собой химиотерапию, лучевую терапию, хирургическое вмешательство, нацеленную противораковую терапию, ингибитор киназы или любую их комбинацию.

В одном варианте осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор EGFR, ингибитор c-Met, ингибитор HER2, ингибитор HER3, ингибитор HER4, ингибитор VEGFR или ингибитор AXL.

В одном варианте осуществления ингибитор киназы представляет собой эрлотиниб, gefитиниб, лапатиниб, вандетаниб, афатиниб, осимертиниб, лазертиниб, позитиниб, криотиниб, кабозантиниб, капматиниб, акситиниб, ленватиниб, нинтеданиб, регорафениб, пазопаниб, сорафениб или сунитиниб.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе от около 140 мг до около 2240 мг.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 700 мг, около 750 мг, около 800 мг, около 850 мг, около 900 мг, около 950 мг, около 1000 мг, около 1050 мг, около 1100 мг, около 1150 мг, около 1200 мг, около 1250 мг, около 1300 мг, около 1350 мг, около 1400 мг, около 1450 мг, около 1500 мг, около 1550 мг, около 1575 мг, около 1600 мг, около 1650 мг, около 1700 мг, около 1750 мг, около 1800 мг, около 1850 мг, около 1900 мг, около 1950 мг, около 2000 мг, около 2050 мг, около 2100 мг, около 2150 мг, около 2200 или около 2240 мг.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 1050 мг.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе примерно 1400 мг.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят два раза в неделю, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре недели.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 1575 мг.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 1600 мг.

5 В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 2100 мг.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 2240 мг.

10 В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят два раза в неделю, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре недели.

В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят внутривенно.

15 В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят подкожно.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На **ФИГ. 1А–1Б** показана экспрессия рецепторов в виде результатов применения иммуногистохимического метода (ИГХ), отображаемых на графике по отношению к показателям метода близкого лигирования (PLA) для EGFR (**ФИГ. 1А**) и MET (**ФИГ. 1Б**).

25 На **ФИГ. 2А–2В** показаны репрезентативные графики эффективности *in vivo* амивантамаба, Fc-молчащего EGFR/MET или изотипического контроля в опухолевых ксенотрансплантатах у мышей для LXFA677 (**ФИГ. 2А**), LXFA1584 (**ФИГ. 2Б**) и LXFA2158 (**ФИГ. 2В**).

30 На **ФИГ. 3А–3Г** показана эффективность амивантамаба как % ингибирования роста опухоли (% TGI) в выбранных моделях PDX (PDX — полученный от пациента ксенотрансплантат) без активирующих мутаций EGFR; график построен на показателях ИГХ по EGFR с системой оценки H-score (**ФИГ. 3А**) и показателях анализа PLA по EGFR (**ФИГ. 3Б**), а также показателях ИГХ по MET с системой оценки H-score (**ФИГ. 3В**) и показателях PLA по MET (**ФИГ. 3Г**).

На **ФИГ. 4А–4В** показана экспрессия (**ФИГ. 4А**) и мутационный статус распространенных онкогенов (**ФИГ. 4Б**) в моделях PDX без активирующих мутаций EGFR, на которых проверяли эффективность, показанную как % ингибирования роста опухоли (% TGI)) (**ФИГ. 4В**). Стрелки указывают модели с мутациями в сигнальных путях KRAS или PI3K.

На **ФИГ. 5А–5Б** показаны графики корреляции эффективности амивантамба, показанной как % ингибирования роста опухоли (% TGI), с комбинированным показателем, выведенным из данных ИГХ по системе оценки H-score и данных PLA (ИГХ + PLA) по EGFR (**ФИГ. 5А**) и MET (**ФИГ. 5Б**) в избранных моделях.

На **ФИГ. 6** показаны графики корреляции эффективности амивантамба, представленной как % ингибирования роста опухоли (% TGI), с экспрессией лиганда EGFR амфирегулина (AREG), измеренной с помощью секвенирования РНК (RNA-Seq) с использованием метрики TPM (количество килобаз транскриптов на миллион прочтений).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

Определения

Все публикации, включая, без ограничений, патенты и заявки на патенты, цитируемые в данном описании, включены в настоящий документ путем ссылки, как если бы они были полностью изложены в данном документе.

5 Следует понимать, что применяемые в настоящем документе термины предназначены только для описания конкретных вариантов осуществления и не имеют ограничительного характера. Все применяемые в данном документе технические и научные термины, если не указано иное, имеют общепринятое значение, понятное обычному специалисту в области, к которой относится
10 изобретение.

В данном документе описаны иллюстративные способы и материалы, хотя при практическом осуществлении для проверки настоящего изобретения могут быть использованы любые способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, которые описаны в данном документе. При описании и изложении формулы
15 настоящего изобретения будут применяться следующие термины.

В случае представления списка, если не указано иное, следует понимать, что каждый отдельный элемент этого списка и каждая комбинация из этого списка является отдельным вариантом осуществления. Например, список вариантов осуществления, представленный в виде «А, В или С», следует интерпретировать
20 как включающий варианты осуществления «А», «В», «С», «А или В», «А или С», «В или С» или «А, В или С».

При использовании в этом описании и в прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают и множественное число, если содержание текста четко не указывает на иное. Так, например, ссылка на «клетку»
25 включает комбинацию двух или более клеток и т. п.

Соединительный термин «и/или» между множеством перечисляемых элементов следует понимать как включающий как отдельные, так и комбинированные варианты. Например, если два элемента соединены «и/или», первый вариант относится к возможности применения первого элемента без
30 второго. Второй вариант относится к возможности применения второго элемента без первого. Третий вариант относится к возможности одновременного применения первого и второго элементов. Подразумевается, что любой из этих вариантов соответствует значению и, соответственно, удовлетворяет требованию термина

«и/или» в контексте настоящего документа. Кроме того, подразумевается, что одновременное применение более одного из этих вариантов соответствует значению и, соответственно, удовлетворяет требованию термина «и/или».

Переходные термины **«содержащий»**, **«состоящий по существу из»** и **«состоящий из»** предназначены для обозначения их по существу общепринятых патентных значений; т. е. (i) термин **«содержащий»**, который является синонимом терминам **«включающий»**, **«содержащий»** или **«характеризующийся»**, является включающим или неограниченным и не исключает дополнительные, неуказанные элементы или стадии способа; (ii) термин **«состоящий из»** исключает любые элемент, стадию или ингредиент, не указанные в пункте формулы изобретения; и (iii) термин **«состоящий преимущественно из»** ограничивает объем пункта формулы изобретения конкретными материалами или стадиями **«и теми, которые не оказывают существенного влияния на основную (-ые) и новую (-ые) характеристику (-и)»** заявленного изобретения. Варианты осуществления, описанные в отношении фразы **«содержащий»** (или его эквивалентов), обеспечивают такое же значение, как варианты осуществления, описанные независимо друг от друга в отношении фразы **«состоящий из»** и **«состоящий по существу из»**.

Термины **«совместное введение»**, **«введение»**, **«введение в комбинации с»**, **«в комбинации с»** и т. п. включают введение выбранных терапевтических агентов или лекарственных препаратов одному пациенту и подразумевают включение схем лечения, в которых терапевтические агенты или лекарственные препараты вводят одним и тем же или разными способами или в одно и то же или в разное время.

Термин **«выделенный»** относится к однородной популяции молекул (таких как синтетические полинуклеотиды, полипептидные векторы или вирусы), которые были по существу отделены и/или очищены от других компонентов той системы, в которой данные молекулы формировались, такой как рекомбинантная клетка, а также к белку, который был подвергнут по меньшей мере одной стадии очистки или выделения. Термин **«выделенное»** относится к антителу, которое по существу не содержит иных клеточных материалов и/или химических веществ, и охватывает молекулы, которые выделены с большей чистотой, такой как 80%, 81%, 82%, 83%,

84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% чистотой.

Термины «**лечить**», «**лечение**» или «**терапия**» заболевания или расстройства, такого как рак, относятся к достижению одной или более следующих целей: уменьшение тяжести и/или продолжительности расстройства, замедление нарастания выраженности симптомов, характерных для этого расстройства, ограничение или предотвращение рецидива расстройства у субъектов, которые ранее страдали расстройством, либо ограничение или предотвращение рецидива симптомов у субъектов с ранее проявлявшимися симптомами расстройства.

Термины «**предотвращать**», «**предотвращение**», «**предупреждение**» или «**профилактика**» заболевания или расстройства означают предотвращение возникновения у субъекта расстройства.

Термины «**постановка диагноза**» или «**диагностирование**» относятся к способам определения того, страдает ли субъект данным заболеванием или состоянием, или может ли данное заболевание или состояние развиваться в будущем, или может ли субъект ответить на лечение ранее диагностированного заболевания или состояния, т. е. стратификации популяции пациентов по вероятности ответа на лечение. Диагноз, как правило, ставит врач на основании общих указаний по диагностированию заболевания или других критериев, которые указывают на вероятность ответа субъекта на конкретное лечение.

Термины «**отвечающий на лечение**», «**ответ на лечение**» или «**вероятный ответ на лечение**» относятся к любому виду улучшения или положительного ответа на лечение, например ослабление или облегчение одного или более симптомов, смягчение заболевания, стабилизация состояния заболевания (т. е. отсутствие ухудшения), предотвращение распространения заболевания, задержка или замедление прогрессирования заболевания, уменьшение интенсивности или временное облегчение течения заболевания и ремиссия (частичная или полная), как обнаруживаемая, так и не обнаруживаемая.

Термин «**впервые диагностированный**» относится к субъекту, у которого диагностирован рак, экспрессирующий EGFR или c-Met, который еще не получал лечения множественной миеломы.

Термин «**терапевтически эффективное количество**» относится к некоторому количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени,

необходимых для достижения желаемого терапевтического результата.

Терапевтически эффективное количество может изменяться в зависимости от таких факторов, как течение заболевания, возраст, пол и масса тела субъекта, а также от способности терапевтического средства или комбинации терапевтических средств вызывать у субъекта желаемый ответ. Примеры показателей эффективного терапевтического средства или комбинации терапевтических средств, которые включают, например, улучшенное самочувствие пациента.

Термин **«рефрактерный»** относится к заболеванию, которое не реагирует на лечение. Рефрактерное заболевание может быть устойчивым к лечению до или в начале лечения или рефрактерное заболевание может стать устойчивым во время лечения.

Термин **«рецидивирующий»** относится к повторному возникновению заболевания или признаков и симптомов заболевания после периода улучшения в результате предшествующего лечения терапевтическим средством.

Термин **«субъект»** включает любого человека или не относящееся к человеку животное. Термин **«животное, не относящееся к человеку»** включает всех позвоночных, например млекопитающих и немлекопитающих, таких как приматы, овцы, собаки, кошки, лошади, коровы, куры, амфибии, рептилии и т. д. Термины **«субъект»** и **«пациент»** в настоящем документе применяются взаимозаменяемо.

Термин **«около»** означает «в пределах приемлемого диапазона ошибки» для конкретного значения, определенного обычным специалистом в данной области, причем ошибка отчасти зависит от того, каким образом измерено или определено это значение, т. е. от ограничений системы измерения. Если в примерах или в других разделах настоящего описания в контексте конкретного анализа, результата или варианта осуществления явным образом не указано иное, термин «около» означает «в пределах одного среднеквадратичного отклонения» в соответствии с практикой, принятой в данной области, или «в диапазоне до 5%», в зависимости от того, что больше.

Термин **«рак»** относится к аномальному росту клеток, которые склонны к неконтролируемой пролиферации, а в некоторых случаях к метастазированию (распространению) в другие области тела пациента.

Термин «**рак, экспрессирующий EGFR или c-Met**» относится к раку с обнаруживаемой экспрессией EGFR или c-Met или мутацией или амплификацией EGFR или c-Met. Экспрессию EGFR или c-Met, амплификацию и статус мутации можно обнаруживать известными способами, такими как секвенирование, флуоресцентная гибридизация *in situ*, иммуногистохимический метод, проточная цитометрия или вестерн-блоттинг.

Термин «**рецептор эпидермального фактора роста**» или **EGFR** в настоящем документе относится к человеческому EGFR (также известному как HER1 или ErbB1 (Ullrich *et al.*, *Nature* 309:418-425, 1984) с аминокислотной последовательностью, обозначенной идентификатором в базе данных UniProt: P00533-1 (SEQ ID NO: 21), а также к его природным и мутантным вариантам.

SEQ ID NO: 21:

MRPSGTAGAALLALLAALCPASRALEEKKVCQGTSNKLTLQGTGFEDHFLSLQRM
FNNCEVVLGNLEITYVQRNYDLSFLKTIQEVAGYVLIALNTVERIPLNLQIIRGN
MYYENSYALAVLSNYDANKTGLKELPMRNLQEILHGAVRFSNNPALCNVESIQ
WRDIVSSDFLSNMSMDFQNHLSGSCQKCDPSCPNGSCWGAGEENCQKLTKIICAQ
QCSGRRCRGKSPSDCCHNQCAAGCTGPRESCLVCRKFRDEATCKDTCPLMLYN
PTTYQMDVNPEGKYSFGATCVKKCPRNYVVTDHGSCVRACGADSYEMEEDGV
RKCKKCEGPCRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFNCTSIGDLHILPVAFRGDS
FTHTPPLDPQELDKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGR TKQHGF S
LAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVIISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNR
GENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPRE
FVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGEN
NTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCP TNGPKIPSIATGMVGALLLL
LVVALGIGLFMRRRHIVRKRTLRLQLQERELVEPLTPSGEAPNQALLRILKETEFK
KIKVLGSGAFGT VYKGLWIPEGEKV KIPVAIKELREATSPKANKEILDEAYVMAS
VDNPHVCRLLGICLTSTVQLITQLMPFGCLLDYVREHKDNIGSQYLLNWCVQIAK
GMNYLEDRLVHRDLAARNVLVKT PQHVKITDFGLAKLLGAEKEYHAEGGKV
PIKWMALESILHRIYTHQSDVWSYGVT VWELMTFGSKPYDGIPASEISSILEKGER
LPQPPICTIDVYMIMVKCWMIDADSRPKFRELIEFSKMARDPQRYLVIQDERM
HLPSP TDSNFYRALMDEEDMDDVVD ADEYLIPQQGFFSSPSTSRTPLLSSLSATSN
NSTVACIDRNGLQSCPIKEDSFLQRYSSDPTGALTEDSIDDTFLPVPEYINQSVPKR
PAGSVQNPVYHNQPLNPAPSRDPHYQDPHSTAVGNPEYLN TVQPTCVNSTFDSP
AHWAQKGSHQISLDNPDYQQDFFPKEAKPNGIFKGSTAENAEYLRVAPQSSEFIG
A

Термин «**рецептор фактора роста гепатоцитов**» или «**c-Met**» в настоящем документе относится к c-Met человека с аминокислотной последовательностью, представленной под номером доступа в GenBank: NP_001120972, и ее природными вариантами.

Термины «**биспецифическое антитело к EGFR/c-Met**» или «**биспецифическое к EGFR/c-Met антитело**» относятся к биспецифическому

антителу с первым доменом, специфически связывающимся с EGFR, и вторым доменом, специфически связывающимся с c-Met. Домены, специфически связывающиеся с EGFR и c-Met, как правило, представляют собой пары VH/VL, а биспецифическое антитело к EGFR/c-Met является одновалентным в отношении связывания с EGFR и c-Met.

Термины «**специфическое связывание**», или «**специфически связывает**», или «**связывает**» относятся к связыванию антитела с антигеном или эпитопом в пределах антигена с большей аффинностью, чем у других антигенов. Как правило, антитело связывается с антигеном или эпитопом в пределах антигена с равновесной константой диссоциации (K_D) около 5×10^{-8} М или менее, например около 1×10^{-9} М или менее, около 1×10^{-10} М или менее, около 1×10^{-11} М или менее или около 1×10^{-12} М или менее, как правило, с K_D , которая по меньшей мере в сто раз ниже его K_D связывания с неспецифическим антигеном (например, БСА, казеином). Константу диссоциации можно измерять с помощью общеизвестных методов. Однако антитела, которые связываются с антигеном или эпитопом в пределах антигена, могут иметь перекрестную реактивность к другим родственным антигенам, например к такому же антигену от других биологических видов (гомологов), например человека или обезьяны, например *Macaca fascicularis* (яванского макака) или *Pan troglodytes* (шимпанзе). Если моноспецифическое антитело связывает один антиген или один эпитоп, биспецифическое антитело связывает два разных антигена или два разных эпитопа.

Термин «**антитела**» подразумевается в широком значении и включает молекулы иммуноглобулинов, в том числе моноклональные антитела, включая мышинные, человеческие, гуманизированные и химерные моноклональные антитела, антигенсвязывающие фрагменты, мультиспецифические антитела, например биспецифические, триспецифические, тетраспецифические и т. п. антитела, димерные, тетрамерные или мультимерные антитела, одноцепочечные антитела, доменные антитела и любую другую модифицированную конфигурацию молекулы иммуноглобулина, которая содержит антигенсвязывающий сайт требуемой специфичности. «Полноразмерные антитела» состоят из двух тяжелых цепей (HC) и двух легких цепей (LC), соединенных между собой дисульфидными связями, а также из их мультимеров (например, IgM). Каждая тяжелая цепь состоит из вариабельной области тяжелой цепи (VH) и константной области тяжелой цепи

(состоящей из доменов CH1, шарнирной области, CH2 и CH3). Каждая легкая цепь состоит из вариабельной области легкой цепи (VL) и константной области легкой цепи (CL). Области VH и VL можно дополнительно подразделять на области гипервариабельности, называемые областями, определяющими комплементарность (CDR), между которыми расположены каркасные области (FR). Каждая из VH и VL состоит из трех CDR и четырех сегментов FR, расположенных в направлении от аминок- к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4.

Термин «**определяющие комплементарность области (CDR)**» относится к области антител, которые связывают антиген. CDR можно определять с помощью различных схем, например по Кабат (Wu et al. (1970) *J Exp Med* 132: 211-50) (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991), Chothia (Chothia et al. (1987) *J Mol Biol* 196: 901–17), IMGT (Lefranc et al. (2003) *Dev Comp Immunol* 27: 55–77) и AbM (Martin and Thornton (1996) *J Biol Biol* 263: 800-15). Описано соответствие между различными схемами и нумерациями вариабельных областей (см., например, Lefranc et al. (2003) *Dev Comp Immunol* 27: 55-77; Honegger and Pluckthun, (2001) *J Mol Biol* 309:657–70; база данных International ImMunoGeneTics (IMGT); веб-ресурсы, http://www_imgt_org). Для разметки CDR можно использовать доступные программы, такие как abYsis от UCL Business PLC. Используемые в настоящем документе термины «CDR», «HCDR1», «HCDR2», «HCDR3», «LCDR1», «LCDR2» и «LCDR3» включают CDR, определенные любым из способов, описанных выше, по Кабат, Чотиа, IMGT или AbM, если в описании явным образом не указано иное

В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена тяжелой цепи иммуноглобулина могут относиться к пяти основным классам — IgA, IgD, IgE, IgG и IgM. IgA и IgG дополнительно подразделяются на изоотипы IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Легкие цепи антител любых видов позвоночных в зависимости от аминокислотных последовательностей их константных доменов можно отнести к одному из двух четко отличающихся типов, а именно, каппа (κ) и лямбда (λ).

Термин «**антигенсвязывающий фрагмент**» относится к части молекулы иммуноглобулина, которая связывает антиген. Антигенсвязывающие фрагменты могут представлять собой синтетические, ферментативно получаемые или

модифицированные методами генной инженерии полипептиды, и они включают VH, VL, VH и VL, фрагменты Fab, F(ab')₂, Fd и Fv, доменные антитела (dAb), состоящие из одного домена VH или одного домена VL, вариабельные домены IgNAR акулы, адаптированные к верблюду VH-домены, минимальные единицы распознавания, состоящие из аминокислотных остатков, имитирующих CDR-области антитела, например участки FR3-CDR3-FR4, HCDR1, HCDR2 и/или HCDR3, а также LCDR1, LCDR2 и/или LCDR3. Домены VH и VL могут быть связаны вместе посредством синтетического линкера с образованием различных типов конфигураций одноцепочечных антител, в которых домены VH/VL можно объединять в пару внутримолекулярно или межмолекулярно в тех случаях, когда домены VH и VL экспрессируются отдельными одноцепочечными конструктами антител с образованием моновалентного антигенсвязывающего сайта, такими как одноцепочечный Fv (scFv) или диатело; они описаны, например, в международных патентных публикациях № WO1998/44001, WO1988/01649, WO1994/13804 и WO1992/01047.

Термин **«моноклональное антитело»** относится к антителу, полученному из по существу гомогенной популяции молекул антител, т. е. отдельных антител, составляющих популяцию, идентичных за исключением возможных хорошо известных изменений, таких как удаление С-концевого лизина из тяжелой цепи антитела или посттрансляционные модификации, такие как изомеризация или дезамидирование аминокислот, окисление метионина или аспарагина или дезамидирование глутамин. Моноклональные антитела, как правило, связывают один антигенный эпитоп. Биспецифические моноклональные антитела связываются с двумя разными антигенными эпитопами. В пределах популяции антител моноклональные антитела могут иметь гетерогенное гликозилирование. Моноклональное антитело может быть моноспецифическим или мультиспецифическим, например биспецифическим, моновалентным, двухвалентным или мультивалентным.

Термин **«рекомбинантный»** относится к ДНК, антителам и другим белкам, которые получают, экспрессируют, создают или выделяют рекомбинантными способами, когда сегменты из разных источников соединены с получением рекомбинантной ДНК, антител или белков.

Термин «**биспецифический**» относится к антителу, которое специфически связывается с двумя разными антигенами или двумя разными эпитопами в пределах одного антигена. Биспецифическое антитело может иметь перекрестную реактивность с другими родственными антигенами, например таким же антигеном от других видов (гомологов), таких как человек или обезьяна, например *Macaca* 5 *syomolgus* (яванский макак, крабоед) или *Pan troglodytes*, или может связывать эпитоп, который имеется в двух или более разных антигенах.

Термин «**антагонист**» или «**ингибитор**» относится к молекуле, которая при связывании с клеточным белком подавляет по меньшей мере одну реакцию или тип 10 активности, индуцируемые естественным лигандом белка. Молекула является антагонистом при подавлении по меньшей мере одной реакции или типа активности на по меньшей мере около 20%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% по сравнению с подавлением по меньшей мере одной реакции или типа активности в отсутствие антагониста (например, отрицательный 15 контроль) или при наличии статистически значимого подавления по сравнению с подавлением в отсутствие антагониста.

Термин «**ингибитор оси PD-(L)1**» относится к молекуле, которая ингибирует сигнализацию PD-1 на нижерасположенных участках. Ингибитор оси PD-(L)1 может представлять собой молекулу, которая связывается с PD-1, PD-L1 или PD-L2.

20 Термин «**биологическая проба**» относится к сбору аналогичных текущих сред, клеток или тканей, выделенных из организма субъекта, а также к текущим средам, клеткам или тканям, находящимся внутри субъекта. Примерами проб являются биологические текущие среды, такие как кровь, сыворотка и серозные текущие среды, плазма, лимфа, моча, слюна, кистозная текучая среда, слезы, кал, 25 мокрота, слизистые выделения секреторных тканей и органов, влагалищные выделения, асцитная жидкость, текущие среды в плевре, перикарде, брюшине, брюшной и других полостях тела, текущие среды, собранные посредством смыва из бронхов, синовиальная текучая среда, жидкие растворы, контактировавшие с субъектом или биологическим источником, например среда для культуры клеток и 30 органов, включая кондиционированную среду клеток и органов, промывные жидкости и т. п., биоптаты тканей, биопсии опухолевых тканей, пробы опухолевых тканей, аспираты, взятые тонкой иглой, ткань после хирургической резекции, культуры органов или культуры клеток.

Термины «**низкофукозный**» или «с низким содержанием фукозы», используемые в заявке, относятся к антителам с содержанием фукозы около 1–15%.

Термин «**нормальнофукозный**» или «с нормальным содержанием фукозы» в настоящем документе относится к антителам с содержанием фукозы более около 50%, как правило, более около 80% или более около 85%.

Используемый в настоящем документе термин «**молчащий Fc**» относится к Fc-домену, который был модифицирован для уменьшения связывания с Fcγ-рецептором (FcγR) или для снижения эффекторной функции, такой как антителозависимая клеточная цитотоксичность (ADCC), антителозависимый клеточно-опосредованный фагоцитоз (ADCP) и/или комплементзависимая цитотоксичность (CDC), по сравнению с немодифицированным Fc-доменом. Модификации Fc могут представлять собой мутации в положениях 214, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 265, 267, 268, 270, 295, 297, 309, 327, 328, 329, 330, 331 или 365. Примерами мутаций, которые можно вводить по отдельности или в комбинации, являются мутации K214T, E233P, L234V, L234A, делеция G236, V234A, F234A, L235A, G237A, P238A, P238S, D265A, S267E, H268A, H268Q, Q268A, N297A, A327Q, P329A, D270A, Q295A, V309L, A327S, L328F, A330S и P331S в IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. Референсные комбинации мутаций, которые приводят к получению антител со сниженной ADCC, представляют собой мутации L234A/L235A в IgG1, V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S в IgG2, F234A/L235A в IgG4, S228P/F234A/L235A в IgG4, N297A во всех изотипах Ig, V234A/G237A в IgG2, K214T/E233P/L234V/L235A/G236-делецию/A327G/P331A/D365E/L358M в IgG1, H268Q/V309L/A330S/P331S в IgG2, S267E/L328F в IgG1, L234F/L235E/D265A в IgG1, L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S в IgG1, S228P/F234A/L235A/G237A/P238S в IgG4 и S228P/F234A/L235A/G236-делецию/G237A/P238S в IgG4. Примером мутации, которая приводит к получению антител со сниженной CDC, является мутация K322A. Нумерация остатков соответствует нумерации ЕС (см., например, веб-ресурсы IMGT®; IMGT® репертуар (иммуноглобулин (IG) и Т-клеточный рецептор (TR)); белки и аллели; аллотипы).

Способы по описанию

Амивантамаб или JNJ-61186372 (JNJ-372) представляет собой биспецифическое антитело к EGFR/c-Met IgG1, описанное в патенте США № 9,593,164.

5 Данное описание по меньшей мере частично основано на заключении о том, что амивантамаб является эффективным при лечении опухолей без активирующих мутаций EGFR.

Активирующие мутации EGFR, которые могут быть связаны с раком, включают точечные мутации, делеционные мутации, вставочные мутации, инверсии
10 или амплификации генов, которые приводят к увеличению по меньшей мере одной биологической активности EGFR, такой как повышенная активность тирозинкиназы, усиление связывания лигандов, лиганд-независимая передача сигналов, усиление пролиферации клеток, передача сигналов по сигнальным путям MAPK/ERK, генная транскрипция, образование гомодимеров и гетеродимеров рецепторов, димеризация
15 (EGFR : EGFR), гетеродимеризация (EGFR : HER2 или EGFR : HER3). Мутации могут располагаться в любой части гена EGFR или регуляторной области, связанной с геном EGFR, и включают мутации в экзоне 18, 19, 20 или 21 или мутации в киназном домене. Другие примеры активирующих EGFR мутаций известны в данной области (см. патентную публикацию США № US2005/0272083). Информация о EGFR и
20 других рецепторах ErbB, включая гомо- и гетеродимеры рецепторов, лиганды рецепторов, сайты аутофосфорилирования и сигнальные молекулы, участвующие в опосредованной ErbB передаче сигналов, известна в данной области (см. Hynes и Lane, Nature Reviews Cancer 5: 341-354, 2005).

В некоторых вариантах осуществления активирующая EGFR мутация
25 содержит замену L718Q, G719A, G719X (X представляет собой любую аминокислоту), L861X (X представляет собой любую аминокислоту), L858R, E746K, L747S, E749Q, A750P, A755V, V765M, C797S, L858P или T790M, делецию E746–A750, делецию R748–P753, вставку Ala (A) между M766 и A767, вставку Ser, Val и Ala (SVA) между S768 и V769, вставку Asn и Ser (NS) между P772 и H773, вставку
30 одной или более аминокислот между D761 и E762, A763 и Y764, Y764 и Y765, M766 и A767, A767 и V768, S768 и V769, V769 и D770, D770 и N771, N771 и P772, P772 и H773, H773 и V774, V774 и C775, одну или более делеций в экспоненте EGFR 20, или одну или более вставок в экзоне EGFR 20, или любую их комбинацию. Субъекты с

мутациями экзона 20 в EGFR (вставка одной или более аминокислот) по существу устойчивы к ингибиторам тирозинкиназы (TKI) EGFR (см. международную патентную публикацию № WO2018/094225).

В некоторых вариантах осуществления активирующая мутация EGFR
5 включает одну или более нераспространенных активирующих мутаций EGFR, таких как S768I, L861Q и G719X.

Статус мутации EGFR можно обнаружить с использованием способов, известных в данной области, таких как, например, секвенирование по Сэнгеру, секвенирование следующего поколения (NGS), полноэкзомное секвенирование
10 (WES), RNA-Seq, флуоресцентная гибридизация in situ или иммуногистохимический метод.

В настоящем описании предложен способ лечения субъекта, страдающего раком без активирующих мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к рецептору
15 эпидермального фактора роста (EGFR) / рецептору фактора роста гепатоцитов (c-Met) субъекту, страдающему раком, при этом рак является положительным по отсутствию активирующих мутаций EGFR.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего раком легкого без активирующих мутаций EGFR, включающий
20 введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему раком легкого без активирующих мутаций EGFR.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) без активирующих
25 мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему НМРЛ без активирующих мутаций EGFR.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего мелкоклеточным раком легкого (МРЛ) без активирующих мутаций
30 EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему МРЛ без активирующих мутаций EGFR.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, имеющего аденокарциному легкого, которая положительна по отсутствию активирующих мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, имеющему аденокарциному легкого, которая положительна по отсутствию активирующих мутаций EGFR.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, имеющего рак, с биспецифическим антителом к EGFR/c-Met, включающий: получение биологической пробы субъекта; определение наличия или отсутствия в пробе активирующих мутаций EGFR; введение или обеспечение введения биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, для которого определено отсутствие активирующих мутаций EGFR.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биологическая проба представляет собой пробу крови.

В некоторых вариантах осуществления биологическая проба представляет собой биопсию опухолевой ткани.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который специфически связывается с c-Met, причем первый домен содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1) с SEQ ID NO: 1, HCDR2 с SEQ ID NO: 2, HCDR3 с SEQ ID NO: 3, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1) с SEQ ID NO: 4, LCDR2 с SEQ ID NO: 5 и LCDR3 с SEQ ID NO: 6; а второй домен содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 7, HCDR2 с SEQ ID NO: 8, HCDR3 с SEQ ID NO: 9, LCDR1 с SEQ ID NO: 10, LCDR2 с SEQ ID NO: 11 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12.

В одном варианте осуществления первый домен, который специфически связывается с EGFR, содержит переменную область тяжелой цепи (VH) SEQ ID NO: 13 и переменную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 14; и второй домен, который специфически связывается с c-Met, содержит VH с SEQ ID NO: 15 и VL с SEQ ID NO: 16.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met представляет собой изотип IgG1.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит первую тяжелую цепь (HC1) с SEQ ID NO: 17, первую легкую цепь (LC1) с SEQ ID NO: 18, вторую тяжелую цепь (HC2) с SEQ ID NO: 19 и вторую легкую цепь (LC2) с SEQ ID NO: 20.

5 В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met имеет биантенарную структуру гликанов с содержанием фукозы в диапазоне от около 1% до около 15%.

Антитела с пониженным содержанием фукозы могут быть получены с помощью различных способов, которые, по имеющимся данным, приводят к
10 успешной экспрессии антител с относительно высокой степенью дефукозилирования, несущих Fc-олигосахариды типа биантенарного комплекса, такими способами, как контроль осмоляльности культуральной среды (Konno *et al.*, Cytotechnology 64(2):249-65, 2012), применение в качестве линии клеток-хозяев вариантной линии CHO Lec13 (Shields *et al.*, J Biol Chem 277:26733–26740, 2002),
15 применение в качестве линии клеток-хозяев вариантной линии клеток CHO EB66 (Olivier *et al.*, MAbs;2(4), 2010; электронное издание до печатного издания; PMID:20562582), применение линии клеток гибридомы крыс YB2/0 в качестве линии клеток-хозяев (Shinkawa *et al.*, J Biol Chem 278:3466–3473, 2003), введение малой интерферирующей РНК, специфичной к гену α 1,6-фукозилтрансферазы
20 (*FUT8*) (Mori *et al.*, Biotechnol Bioeng 88:901–908, 2004), или коэкспрессия β -1,4-N-ацетилглюкозаминилтрансферазы III и α -маннозидазы II комплекса Гольджи, или применение сильного ингибитора альфа-маннозидазы I, кифуненина (Ferrara *et al.*, J Biol Chem 281:5032–5036, 2006, Ferrara *et al.*, Biotechnol Bioeng 93:851–861, 2006; Xhou *et al.*, Biotechnol Bioeng 99:652–65, 2008). В целом снижение содержания
25 фукозы в гликанах антител усиливает антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC).

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего раком без активирующих мутаций EGFR, включающий введение
30 терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему раком, который положителен по отсутствию активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который специфически связывается с c-Met, причем первый домен

содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 1, HCDR2 с SEQ ID NO: 2, HCDR3 с SEQ ID NO: 3, LCDR1 с SEQ ID NO: 4, LCDR2 с SEQ ID NO: 5 и LCDR3 с SEQ ID NO: 6; а второй домен содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 7, HCDR2 с SEQ ID NO: 8, HCDR3 с SEQ ID NO: 9, LCDR1 с SEQ ID NO: 10, LCDR2 с SEQ ID NO: 11 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего раком легкого без активирующих мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/с-Met субъекту, страдающему раком легкого без активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/с-Met содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который специфически связывается с с-Met, причем первый домен содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 1, HCDR2 с SEQ ID NO: 2, HCDR3 с SEQ ID NO: 3, LCDR1 с SEQ ID NO: 4, LCDR2 с SEQ ID NO: 5 и LCDR3 с SEQ ID NO: 6; а второй домен содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 7, HCDR2 с SEQ ID NO: 8, HCDR3 с SEQ ID NO: 9, LCDR1 с SEQ ID NO: 10, LCDR2 с SEQ ID NO: 11 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего НМРЛ без активирующих мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/с-Met субъекту, страдающему НМРЛ без активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/с-Met содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который специфически связывается с с-Met, причем первый домен содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 1, HCDR2 с SEQ ID NO: 2, HCDR3 с SEQ ID NO: 3, LCDR1 с SEQ ID NO: 4, LCDR2 с SEQ ID NO: 5 и LCDR3 с SEQ ID NO: 6; а второй домен содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 7, HCDR2 с SEQ ID NO: 8, HCDR3 с SEQ ID NO: 9, LCDR1 с SEQ ID NO: 10, LCDR2 с SEQ ID NO: 11 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего МРЛ без активирующих мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/с-Met субъекту, страдающему МРЛ без активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/с-Met содержит первый домен,

который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который специфически связывается с c-Met, причем первый домен содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 1, HCDR2 с SEQ ID NO: 2, HCDR3 с SEQ ID NO: 3, LCDR1 с SEQ ID NO: 4, LCDR2 с SEQ ID NO: 5 и LCDR3 с SEQ ID NO: 6; а второй домен

5 содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 7, HCDR2 с SEQ ID NO: 8, HCDR3 с SEQ ID NO: 9, LCDR1 с SEQ ID NO: 10, LCDR2 с SEQ ID NO: 11 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, имеющего аденокарциному легкого без активирующих мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного

10 биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, имеющему аденокарциному легкого без активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который специфически связывается с c-Met, причем первый домен содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 1, HCDR2 с SEQ ID NO: 2, HCDR3 с SEQ ID NO: 3,

15 LCDR1 с SEQ ID NO: 4, LCDR2 с SEQ ID NO: 5 и LCDR3 с SEQ ID NO: 6; а второй домен содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 7, HCDR2 с SEQ ID NO: 8, HCDR3 с SEQ ID NO: 9, LCDR1 с SEQ ID NO: 10, LCDR2 с SEQ ID NO: 11 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего раком без активирующих мутаций EGFR, включающий введение

20 терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему раком без активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который

25 специфически связывается с c-Met, причем первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 13 и VL с SEQ ID NO: 14; а второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 15 и VL с SEQ ID NO: 16.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего раком легкого без активирующих мутаций EGFR, включающий

30 введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему раком легкого без активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй

домен, который специфически связывается с c-Met, причем первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 13 и VL с SEQ ID NO: 14; а второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 15 и VL с SEQ ID NO: 16.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего НМРЛ без активирующих мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему НМРЛ без активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который специфически связывается с c-Met, причем первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 13 и VL с SEQ ID NO: 14; а второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 15 и VL с SEQ ID NO: 16.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего МРЛ без активирующих мутаций EGFR, причем данный способ включает введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему МРЛ без активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который специфически связывается с c-Met, причем первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 13 и VL с SEQ ID NO: 14; а второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 15 и VL с SEQ ID NO: 16.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего аденокарциномой легкого без активирующих мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему аденокарциномой легкого, которая положительна по отсутствию активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который специфически связывается с c-Met, причем первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 13 и VL с SEQ ID NO: 14; а второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 15 и VL с SEQ ID NO: 16.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего раком без активирующих мутаций EGFR, включающий введение

терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему раком, который положителен по отсутствию активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/c-Met представляет собой изотип IgG1 и содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который специфически связывается с c-Met, причем первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 13 и VL с SEQ ID NO: 14; а второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 15 и VL с SEQ ID NO: 16.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего раком легкого без активирующих мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему раком легкого, который положителен по отсутствию активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/c-Met представляет собой изотип IgG1 и содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который специфически связывается с c-Met, причем первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 13 и VL с SEQ ID NO: 14; а второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 15 и VL с SEQ ID NO: 16.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего НМРЛ без активирующих мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему НМРЛ, который положителен по отсутствию активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/c-Met представляет собой изотип IgG1 и содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который специфически связывается с c-Met, причем первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 13 и VL с SEQ ID NO: 14; а второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 15 и VL с SEQ ID NO: 16.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего МРЛ без активирующих мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему МРЛ, который положителен по отсутствию активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к

EGFR/c-Met представляет собой изотип IgG1 и содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который специфически связывается с c-Met, причем первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 13 и VL с SEQ ID NO: 14; а второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 15 и VL с SEQ ID NO: 16.

В настоящем описании также предложен способ субъекта, страдающего аденокарциномой легкого без активирующих мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему аденокарциномой легкого, которая положительна по отсутствию активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/c-Met представляет собой изотип IgG1 и содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который специфически связывается с c-Met, причем первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 13 и VL с SEQ ID NO: 14; а второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 15 и VL с SEQ ID NO: 16.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met представляет собой изотип IgG1. Некоторые вариации существуют в пределах константного домена IgG1 (например, хорошо известные аллотипы) с вариациями в положениях 214, 356, 358, 422, 431, 435 или 436 (нумерация остатков в соответствии с нумерацией EU) (см., например, веб-ресурсы IMGT; набор IMGT (IG и TR); белки и аллели; аллотипы). Биспецифическое антитело к EGFR/c-Met, может относиться к любому аллотипу IgG1, например G1m17, G1m3, G1m1, G1m2, G1m27 или G1m28.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего раком без активирующих мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему раком, который положителен по отсутствию активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит HC1 с SEQ ID NO: 17, LC1 с SEQ ID NO: 18, HC2 с SEQ ID NO: 19 и LC2 с SEQ ID NO: 20.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего раком легкого без активирующих мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного

биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему раком легкого, который положителен по отсутствию активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит HC1 с SEQ ID NO: 17, LC1 с SEQ ID NO: 18, HC2 с SEQ ID NO: 19 и LC2 с SEQ ID NO: 20.

5 В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего НМРЛ без активирующих мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему НМРЛ, который положителен по отсутствию активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к
10 EGFR/c-Met содержит HC1 с SEQ ID NO: 17, LC1 с SEQ ID NO: 18, HC2 с SEQ ID NO: 19 и LC2 с SEQ ID NO: 20.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего МРЛ без активирующих мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического
15 антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему МРЛ, который положителен по отсутствию активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит HC1 с SEQ ID NO: 17, LC1 с SEQ ID NO: 18, HC2 с SEQ ID NO: 19 и LC2 с SEQ ID NO: 20.

В настоящем описании также предложен способ лечения субъекта, страдающего аденокарциномой легкого без активирующих мутаций EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, страдающему
20 аденокарциномой легкого, которая положительна по отсутствию активирующих мутаций EGFR, при этом биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит HC1 с SEQ ID NO: 17, LC1 с SEQ ID NO: 18, HC2 с SEQ ID NO: 19 и LC2 с
25 SEQ ID NO: 20.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается рецидив или резистентность к лечению одной или более предшествующими противораковыми терапиями.

30 В некоторых вариантах осуществления одна или более предшествующих противораковых терапий включают один или более химиотерапевтических препаратов, ингибиторов контрольной точки, нацеленные противораковые терапии или ингибиторы киназы или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор EGFR, ингибитор c-Met, ингибитор HER2, ингибитор HER3, ингибитор HER4, ингибитор VEGFR или ингибитор AXL.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор киназы представляет собой эрлотиниб, gefitinib, lapatinib, vandetanib, afatinib, osimertinib, lazertinib, poziotinib, crizotinib, cabozantinib, capmatinib, axitinib, lenvatinib, nintedanib, regorafenib, pazopanib, sorafenib или sunitinib.

В некоторых вариантах осуществления одна или более предшествующих противораковых терапий включают карбоплатин, паклитаксел, гемцитабин, цисплатин, винорелбин, доцетаксел, палбоциклиб, кризотиниб, ингибитор оси PD-(L)1, ингибитор EGFR, ингибитор c-Met, ингибитор HER2, ингибитор HER3, ингибитор HER4, ингибитор VEGFR, ингибитор AXL, эрлотиниб, gefitinib, lapatinib, vandetanib, afatinib, osimertinib, lazertinib, poziotinib, crizotinib, cabozantinib, capmatinib, axitinib, lenvatinib, nintedanib, regorafenib, pazopanib, sorafenib или sunitinib или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления изобретения субъект является резистентным или приобрел резистентность к ингибитору EGFR. Примерами ингибиторов EGFR, к которым рак может приобрести резистентность, являются антитела к EGFR cetuximab (ERBITUX[®]), panitumumab (VECTIBIX[®]), matuzumab, nimotuzumab, низкомолекулярные ингибиторы EGFR эрлотиниб (TARCEVA[®]), gefitinib (IRESSA[®]), EKB-569 (pelitinib, необратимый ингибитор тирозинкиназы EGFR), pan-ErbB и другие ингибиторы рецепторной тирозинкиназы, lapatinib (ингибитор EGFR и HER2), pelitinib (ингибитор EGFR и HER2), vandetanib (ZD6474, ZACTIMA[™], EGFR, ингибитор тирозинкиназы VEGFR2 и RET), PF00299804 (dacomitinib, необратимый ингибитор тирозинкиназы pan-ErbB), CI-1033 (необратимый ингибитор тирозинкиназы pan-erbB), afatinib (BIBW2992, необратимый ингибитор тирозинкиназы pan-ErbB), AV-412 (двойной ингибитор EGFR и ErbB2), EXEL-7647 (ингибитор EGFR, ErbB2, GEVGR и EphB4), CO-1686 (необратимый мутант-селективный ингибитор тирозинкиназы EGFR), AZD9291 (необратимый мутант-селективный ингибитор EGFR) и HKI-272 (neratinib, необратимый ингибитор EGFR/ErbB2).

Для определения того, имеет ли субъект резистентность, приобретенную резистентность или предрасположенность к приобретению резистентности к противораковой терапии, можно использовать различные качественные и/или количественные способы. Симптомы, которые могут быть связаны с резистентностью к противораковой терапии, включают ухудшение или отсутствие улучшения состояния здоровья пациента, увеличение размера опухоли, прекращение или замедление торможения роста опухоли и/или распространение раковых клеток в организме из одного места к другим органам, тканям или клеткам. Показателем того, что у субъекта развилась резистентность или имеется предрасположенность к развитию резистентности к противораковой терапии, также может быть повторное появление или ухудшение различных симптомов, связанных с раком, таких как анорексия, когнитивные расстройства, депрессия, диспноэ, утомляемость, гормональные нарушения, нейтропения, боль, периферическая нейропатия и половая дисфункция. Симптомы, связанные с раковым заболеванием, могут варьироваться в зависимости от типа ракового заболевания. Например, симптомы, связанные с раком шейки матки, могут включать аномальное кровотечение, атипичные обильные влагалищные выделения, тазовую боль, не связанную с нормальным менструальным циклом, боль в мочевом пузыре или боль при мочеиспускании, кровотечение в период между регулярными менструальными периодами, боль после полового акта, вагинального душа или обследования тазовых органов. Симптомы, связанные с раком легкого, могут включать устойчивый кашель, откашливание крови, нехватку дыхания, дыхание с присвистом и болью в груди, потерю аппетита, ненамеренную потерю массы тела и утомляемость. Симптомы рака печени могут включать потерю аппетита и веса, боль в животе, особенно в верхней правой части живота, которая может отдавать в спину и плечо, тошноту и рвоту, общую слабость и утомляемость, увеличение печени, вздутие живота (асцит) и желтую окраску кожи и белков глаз (желтуха). Специалист-онколог может легко идентифицировать симптомы, связанные с конкретным типом рака.

Примерами ингибиторов оси PD-(L)1 являются антитела, связывающиеся с PD-1, такие как ниволумаб (OPDIVO[®]), пембролизумаб (KEYTRUDA[®]), синтилимаб, цемипликамаб (LIVTAZO[®]), триполимаб, тиснолизумаб, спартализумаб, камрелизумаб, достралимаб, генолимзумаб или цетрелимаб, или антитела,

связывающиеся с PD-L1, такие как антитела к PD-L1, например, энвафолимаб, атезолизумаб (TECENTRIQ[®]), дурвалумаб (IMFINZI[®]) и авелумаб (BAVENCIO[®]).

Антитела можно приобрести через уполномоченного дистрибьютора или аптеки. Структуры аминокислотных последовательностей малых молекул можно
5 найти в документах USAN и/или INN из реестра CAS.

В некоторых вариантах осуществления субъект ранее не получал лечение.

В некоторых вариантах осуществления рак, положительный по отсутствию активирующих мутаций EGFR, характеризуется наличием CDK4-амплификации, EGFR-амплификации, KRAS-амплификации, MDM2-амплификации, TERT-
10 амплификации, NF1 R2450*; RAD50 L597Vfs*5, MET c.3082 + 3A > G, повышенных уровней циркулирующего HGF, c-MET-амплификации или любой комбинацией этих характеристик.

В некоторых вариантах осуществления рак, положительный по отсутствию активирующих мутаций EGFR, отличается наличием по меньшей мере одной
15 мутации в гене, выбранном из группы, состоящей из ALK, APC, BRAF, BRCA1, BRCA2, CDKN2A, CDKN2B, CTNNB1, ERBB2, ERBB3, FGFR3, KIT, LRP1B, MET, MLH1, MSH3, NOTCH1, NTRK1, RET, ROS1, STK11, TP53 и VEGFA. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна мутация представляет собой мутацию, выбранную из группы, состоящей из точечной мутации, делеционной
20 мутации, вставочной мутации, инверсии, амплификации гена и генного слияния. Мутации могут располагаться в любой части гена или связанных с геном регуляторных областей. Статус мутации EGFR можно обнаружить с использованием способов, известных в данной области, таких как, например, секвенирование по методу Сэнгера, секвенирование нового поколения (NGS),
25 полноэкзомное секвенирование (WES), RNA-Seq, флуоресцентная гибридизация in situ или иммуногистохимический метод.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна мутация в APC представляет собой S2621C, N813S, E1317Q или R549G.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна мутация в
30 BRCA1 представляет собой M128V, G275S, Y179C, F486L или N550H.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна мутация в BRCA2 представляет собой S326R, R2973H, R2034C, I283V, R672X, G25X, R468X или I1929M (где X означает любую аминокислоту).

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна мутация в CDKN2A представляет собой G23X, A100X, D84H, C72X, H83N или G111X (где X представляет собой любую аминокислоту).

5 В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна мутация в CTNNB1 представляет собой T41A.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна мутация в ERBB2 представляет собой R1146W, V1180X (где X представляет собой любую аминокислоту) или A386D.

10 В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна мутация в ERBB3 представляет собой K998R, L1177I или G513D.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна мутация в FGFR3 представляет собой G639R или E85K.

15 В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна мутация в LRP1B представляет собой P4512A, A3816V, T3393K, Q3636H, M1V, C1554S, S1083N, T2482S, C3522Y, G1965C, P2882T, P3372A, I1266L, L4268X (где X представляет собой любую аминокислоту), S449T, E4352G, C864R, F1435I, D3697Y, V2033F, A3308S, S1281N, D1807E.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна мутация в MET представляет собой E168D.

20 В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна мутация в MSH3 представляет собой E1036Q,

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна мутация в NOTCH1 представляет собой A1696V, R1279C, E1450K, Q2184R, Q2184K, T701P или C612Y.

25 В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна мутация в TP53 представляет собой R280G, P278S, E198X, H193L, R379S, V172X, G245D, L194R, H179Y, L265P, R110L, R158L, R248W, I332M, G244C, R273H, Y163C, H193P, P158L, Y103X, M237I, R273L, R273H, E171X или R249M (где X представляет собой любую аминокислоту).

30 В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна мутация в VEGFA представляет собой R114W, R87W или R335C.

Примеры активирующих мутаций гена c-Met включают точечные мутации, мутации в форме делеции, вставочные мутации, инверсии или амплификации

генов, которые приводят к увеличению по меньшей мере одной биологической активности белка c-Met, такой как повышенная тирозинкиназная активность, образование гомодимеров и гетеродимеров рецепторов, усиленное связывание с лигандом и т. п. Мутации могут быть расположены в любой части гена c-Met или регуляторных участках, связанных с геном, например, мутации в киназном домене c-Met. Примеры активирующих c-Met мутаций представляют собой мутации по положениям остатков N375, V13, V923, R175, V136, L229, S323, R988, S1058/T1010 и E168. Способы обнаружения мутаций или амплификаций генов EGFR и c-Met хорошо известны.

В некоторых вариантах осуществления мутантный KRAS содержит замену G12V, G12C, G12A или G12D или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления рак, который является положительным по отсутствию активирующих мутаций EGFR, является положительным по экспрессии по меньшей мере одного лиганда EGFR. Примеры лигандов EGFR включают, без ограничений, эпидермальный фактор роста (EGF), амфирегулин (AREG), трансформирующий фактор роста α (TGF α), гепаринсвязывающий EGF-подобный фактор роста (HBEGF), бетацеллюлин (BTC), эпирегулин (EREG) и эпиген (EPGN).

В некоторых вариантах осуществления способ лечения рака, который является положительным по отсутствию активирующих мутаций EGFR, дополнительно включает определение уровней по меньшей мере одного лиганда EGFR и введение или обеспечение введения биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, для которого определено отсутствие активирующих мутаций EGFR и который определен как положительный по уровням генной экспрессии или уровням белка по меньшей мере для одного лиганда EGFR.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения рака, который является положительным по отсутствию активирующих мутаций EGFR, дополнительно включает определение уровней амфирегулина и введение или обеспечение введения биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, для которого определено отсутствие активирующих мутаций EGFR и который определен как положительный по уровням экспрессии кодирующего амфирегулин гена или по уровням белка. В некоторых вариантах осуществления уровни

экспрессии кодирующего амфирегулин гена или уровни белка могут быть сравнимы с контрольными значениями.

В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак легкого, рак желудка, колоректальный рак, рак головного
 5 мозга, рак, развивающийся из эпителиальных клеток, рак молочной железы, рак яичников, колоректальный рак, рак анального канала, рак предстательной железы, рак почек, рак мочевого пузыря, рак головы и шеи, рак глотки, рак носа, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак ротовой полости, рак языка, рак пищевода, рак влагалища, рак шейки матки, рак селезенки, рак яичка, рак желудка, рак
 10 тимуса, рак толстой кишки, рак щитовидной железы, рак печени, гепатоцеллюлярную карциному (HCC) или спорадическую или наследственную папиллярную почечно-клеточную карциному (PRCC) или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак легкого. В некоторых вариантах осуществления рак без
 15 активирующих мутаций EGFR включает рак желудка. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак мозга. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак, развивающийся из эпителиальных клеток. В
 20 некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак яичника. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак анального канала. В некоторых вариантах осуществления рак без
 25 активирующих мутаций EGFR включает рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак почек. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак головы и шеи. В некоторых
 30 вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак глотки. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак носа. В некоторых вариантах осуществления рак без

активирующих мутаций EGFR включает рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак кожи. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак ротовой полости. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак языка. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак пищевода. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак влагалища. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак шейки матки. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак селезенки. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак яичка. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак желудка. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак тимуса. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак толстой кишки. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак щитовидной железы. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает рак печени. В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает гепатоцеллюлярную карциному (HCC). В некоторых вариантах осуществления рак без активирующих мутаций EGFR включает спорадическую или наследственную папиллярную почечноклеточную карциному (PRCC).

В некоторых вариантах осуществления изобретения НМРЛ включает плоскоклеточную карциному, аденокарциному и крупноклеточную карциному. В некоторых вариантах осуществления клетки НМРЛ имеют эпителиальный фенотип. В некоторых вариантах осуществления НМРЛ имеет приобретенную резистентность к лечению с использованием одного или более ингибиторов EGFR.

В некоторых вариантах осуществления субъект дополнительно получает одну или более видов противораковой терапии.

В некоторых вариантах осуществления одна или более противораковых терапий включают в себя химиотерапию, лучевую терапию, хирургическое вмешательство, нацеленную противораковую терапию или ингибитор киназы или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор EGFR, ингибитор c-Met, ингибитор HER2, ингибитор HER3, ингибитор HER4, ингибитор VEGFR или ингибитор AXL. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор киназы представляет собой ингибитор EGFR. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор киназы представляет собой ингибитор c-Met. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор киназы представляет собой ингибитор HER2. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор киназы представляет собой ингибитор HER3. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор киназы представляет собой ингибитор HER4. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор киназы представляет собой ингибитор VEGFR. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор киназы представляет собой ингибитор AXL.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор киназы представляет собой эрлотиниб, гефитиниб, лапатиниб, вандетаниб, афатиниб, осимертиниб, лазертиниб, позиотиниб, криотитиниб, кабозантиниб, капматиниб, акситиниб, ленватиниб, нинтеданиб, регорафениб, пазопаниб, сорафениб или сунитиниб.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой эрлотиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой гефитиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой лапатиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой вандетаниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой афатиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой осимертиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой лазертиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой позиотиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой криотитиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой кабозантиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой капматиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой акситиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой

ленватиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой нинтеданиб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой регорафениб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой пазопаниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой сорафениб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой сунитиниб.

Противораковые терапии, которые можно использовать в комбинации с биспецифическим антителом к EGFR/c-Met в способах настоящего описания, включают в себя любое одно или более из химиотерапевтических лекарственных препаратов или других противораковых терапевтических агентов, известных специалистам в данной области. Химиотерапевтические препараты представляют собой химические соединения, используемые в лечении рака, и включают ингибиторы роста или другие цитотоксические агенты, и включают алкилирующие средства, антиметаболические средства, ингибиторы микротрубочек, ингибиторы топоизомеразы, ингибиторы рецепторных тирозинкиназ, ингибиторы роста сосудов и т. п. Примеры химиотерапевтических препаратов включают алкилирующие агенты, такие как тиотепа и циклофосфамид (ЦИТОКСАН®); алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодоба, карбоквон, метуредоба и уредоба; этиленимины и метиламеламины, включая алтретамин, триэтиленмеламин, триэтилентioфосфорамида, триэтилентioфосфорамида и триметилломеламин; азотистые иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорфосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, мехлорэтамина оксида гидрохлорид, мелфалан, новэмбихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урамустин, нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин, ранимустин; антибиотики, такие как аклациномицины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, калихеамицин, карабицин, карминомицин, карзинофилин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин, эпирубицин, эзорубицин, идарубицин, марцелломицин, митомицины, микофеноловая кислота, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, потфиромицин, пуромицин, квеламицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностатин, зорубицин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-FU; аналоги фолиевой кислоты, такие

как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметрексат; аналоги пурина, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, такие как анцитабин, азациитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин; антиандрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпителиостанол, мепителиостан, тестолактон; средства, угнетающие функции надпочечников, такие как аминоклутетимид, митотан, трилостан; добавки для восполнения дефицита фолиевой кислоты, такие как фролиновая кислота; ацеглатон; алдофосфамида гликозид; аминоклевулиновую кислоту; амсакрин; бестрабуцил; бизантрин; эдатраксат; дефофамин; демеколцин; диазиквон; элфорнитин; эллиптиния ацетат; этоглуцид; нитрат галлия; гидроксимочевину; лентинан; лонидамин; митогуазон; митоксантрон; мопидамол; нитракрин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; подофиллиновую кислоту; 2-этилгидразид; прокарбазин; PSK®; разоксан; сизофиран; спирогерманий; теназоновую кислоту; триазиквон; 2,2',2''-трихлортриэтиламин; уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид (Ага-С); циклофосфамид; тиотепа; представители семейства таксоидов или таксанов, такие как паклитаксел (ТАКСОЛ®) доцетаксел (ТАКСОТЕР®) и их аналоги; хлорамбуцил; гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платины, такие как цисплатин и карбоплатин; винбластин; платину; этопозид (VP-16); ифосфамид; митомицин С; митоксантрон; винкристин; винорелбин; навелбин; новантрон; тенипозид; дауномицин; аминоклутерин; кселода; ибандронат; СРТ-11; ингибитор топоизомеразы RFS 2000; дифторметилорнитин (ДФМО); ретиноевую кислоту; эсперамицины; капецитабин; ингибиторы рецепторных тирозинкиназ и/или ангиогенеза, включая сорафениб (NEXAVAR®), сунитиниб (SUTENT®), пазопаниб (VOTRIENT™), тоцераниб (PALLADIA™), вандетиниб (ZACTIMA™), цедираниб (RECENTIN®), регорафениб (BAY 73-4506), акситиниб (AG013736), лестауртиниб (CEP-701), эрлотиниб (TARCEVA®), гифитиниб (IRESSA®), афатиниб (BIBW 2992), лапатиниб (TYKERB®), нератиниб (HKL-272) и т. п. и фармацевтически приемлемые соли, кислоты и производные любых указанных выше соединений. Кроме того, данное определение включает антигормональные агенты, действие которых направлено на регуляцию или ингибирование действия гормонов на опухоли, такие как антиэстрогены, включающие, например,

тамоксифен, ралоксифен, ингибирующие ароматазу 4(5)-имидазолы, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY 117018, онапристон и торемифен (FARESTON®); и антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, леупролид и гозерелин; а также фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из перечисленного выше. Другие традиционные химические соединения цитотоксического действия, описанные в Wiemann et al., 1985, в *Medical Oncology* (Calabresi et al., eds.), Chapter 10, McMillan Publishing, также применимы к способам настоящего изобретения.

Введение

Биспецифическое антитело к EGFR/c-Met может быть введено в фармацевтически приемлемый носитель. Термин «носитель» относится к разбавителю, адъюванту, эксципиенту или несущей среде, с которыми вводят антитело по изобретению. Такие несущие среды могут представлять собой жидкости, такие как вода и масла, включая масла минерального, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и т. п. Например, для получения биспецифического антитела к EGFR/c-Met можно использовать 0,4% солевой раствор и 0,3% глицин. Эти растворы стерильны и по существу не содержат твердых частиц. Их можно стерилизовать с применением хорошо известных стандартных методик стерилизации (например, фильтрации). Для парентерального введения носитель, как правило, состоит из стерильной воды, а для улучшения растворимости или консервации можно добавлять другие вспомогательные вещества. Суспензии или растворы для введения путем инъекции можно также получать с использованием водных носителей вместе с соответствующими добавками. Приемлемые несущие среды и составы, включающие другие человеческие белки, например сывороточный альбумин человека, описаны, например, в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, Troy, D.B. ed., Lipincott Williams и Wilkins, Philadelphia, PA 2006, Part 5, Pharmaceutical Manufacturing pp 691–1092, в особенности см. стр. 958–989.

Способом введения может быть любой приемлемый путь доставки биспецифического антитела к EGFR-c-Met субъекту, такой как парентеральное введение, например внутрикожное, внутримышечное, внутрибрюшинное, внутривенное или подкожное, легочное, трансмукозальное (пероральное, интраназальное, интравагинальное, ректальное введение) с использованием такой лекарственной формы, как таблетки, капсулы, растворы, порошки, гели, гранулы; и введение антитела, содержащегося в шприце, имплантированном устройстве, осмотическом насосе, картридже, микронасосе; или же с помощью других средств, которые хорошо известны в данной области и очевидны для квалифицированного специалиста. Локализованное введение можно обеспечить, например, посредством доставки в опухоль, сустав, бронхи, брюшную полость, капсулу, хрящ, полость, мозжечок, желудочек мозга, толстую кишку, шейку матки, желудок, печень,

миокард, кость, таз, перикард, полость живота, плевру, предстательную железу, легкие, прямую кишку, почку, сетчатку, позвоночник, суставную сумку, грудную клетку, матку, сосуд, внутрь мочевого пузыря, поврежденную ткань, вагинально, ректально, буккально, сублингвально, интраназально или трансдермально. В

5 некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят внутривенно (в/в). В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят подкожно (п/к). В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят с использованием

10 нательного устройства. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе от около 140 мг до около 2240 мг. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе от около 140 мг до около 2240 мг.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к
 15 EGFR/c-Met вводят в дозе около 200 мг, около 210 мг, около 220 мг, около 230 мг, около 240 мг, около 250 мг, около 260 мг, около 270 мг, около 280 мг, около 290 мг, около 300 мг, около 310 мг, около 320 мг, около 330 мг, около 340 мг, около 350 мг, около 360 мг, около 370 мг, около 380 мг, около 390 мг, около 400 мг, около 410 мг, около 420 мг, около 430 мг, около 440 мг, около 450 мг, около 460 мг, около 470 мг,
 20 около 480 мг, около 490 мг, около 500 мг, около 510 мг, около 520 мг, около 530 мг, около 540 мг, около 550 мг, около 560 мг, около 570 мг, около 580 мг, около 590 мг, около 600 мг, около 610 мг, около 620 мг, около 630 мг, около 640 мг, около 650 мг, около 660 мг, около 670 мг, около 680 мг, около 690 мг, около 700 мг, около 710 мг, около 720 мг, около 730 мг, около 740 мг, около 750 мг, около 760 мг, около 770 мг,
 25 около 780 мг, около 790 мг, около 800 мг, около 810 мг, около 820 мг, около 830 мг, около 840 мг, около 850 мг, около 860 мг, около 870 мг, около 880 мг, около 890 мг, около 900 мг, около 910 мг, около 920 мг, около 930 мг, около 940 мг, около 950 мг, около 960 мг, около 970 мг, около 980 мг, около 990 мг, около 1000 мг, около 1010 мг, около 1020 мг, около 1030 мг, около 1040 мг, около 1050 мг, около 1060 мг, около 1070 мг, около 1080 мг, около 1090 мг, около 1100 мг, около 1110 мг, около 1120 мг, около 1130 мг, около 1140 мг, около 1150 мг, около 1160 мг, около 1170 мг, около 1180 мг, около 1190 мг, около 1200 мг, около 1210 мг, около 1220 мг, около 1230 мг, около 1240 мг, около 1250 мг, около

1260 мг, около 1270 мг, около 1280 мг, около 1290 мг, около 1300 мг, около 1310 мг, около 1320 мг, около 1330 мг, около 1340 мг, около 1350 мг, около 1360 мг, около 1370 мг, около 1380 мг, около 1390 мг, около 1400 мг, около 1410 мг, около 1420 мг, около 1430 мг, около 1440 мг, около 1450 мг, около 1460 мг, около 1470 мг, около 1480 мг, около 1490 мг, около 1500 мг, около 1510 мг, около 1520 мг, около 1530 мг, около 1540 мг, около 1550 мг, около 1560 мг, около 1570 мг, около 1575, около 1580 мг, около 1590 мг, около 1600 мг, около 1610 мг, 1620 мг, около 1630 мг, около 1640 мг, около 1650 мг, около 1660 мг, около 1670 мг, около 1680 мг, около 1690 мг, около 1700 мг, около 1710 мг, около 1720 мг, около 1730 мг, около 1740 мг, около 1750 мг, около 1760 мг, около 1770 мг, около 1780 мг, около 1790 мг, около 1800 мг, около 1810 мг, около 1820 мг, около 1830 мг, около 1840 мг, около 1850 мг, около 1860 мг, около 1870 мг, около 1880 мг, 1890 мг, около 1900 мг, около 1910 мг, около 1920 мг, около 1930 мг, около 1940 мг, около 1950 мг, около 1960 мг, около 1970 мг, около 1980 мг, около 1990 мг, около 2000 мг, около 2010 мг, около 2020 мг, около 2030 мг, около 2040 мг, около 2050 мг, около 2060 мг, около 2070 мг, около 2080 мг, около 2090 мг, около 2100 мг, около 2110 мг, около 2120 мг, около 2130 мг, около 2140 мг, около 2150 мг, около 2160 мг, около 2170 мг, около 2180 мг, около 2190 мг, около 2200 мг, около 2210 мг, около 2220 мг, около 2230 мг, около 2240 мг, около 2250 мг, около 2260 мг, около 2270 мг, около 2280 мг, около 2290 мг, около 2300 мг.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 350 мг, около 700 мг, около 1050 мг, около 1400 мг, около 1575 мг, около 1600 мг, около 2100 мг или около 2240 мг. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 350 мг. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 700 мг. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 750 мг. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 800 мг. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 850 мг. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 900 мг. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят раз в две недели. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 1050 мг раз в две недели. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 1400 мг раз в две недели. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 1575 мг раз в две недели. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 1600 мг раз в две недели. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 2100 мг раз в две недели. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 2240 мг раз в две недели.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят два раза в неделю. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят раз в две недели. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят раз в три недели. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят раз в четыре недели.

В отношении комбинированных терапий один или более противораковых средств можно вводить с помощью рекомендуемых доз и дозировок противоракового средства.

Создание биспецифических антител к EGFR/c-Met, используемых в способах изобретения

Примером биспецифического антитела к EGFR/c-Met, которое можно применять в способах описания, является амивантамаб. Амивантамаб

5 характеризуется следующими аминокислотными последовательностями:

Плечо, связывающееся с EGFR

> SEQ ID NO: 1 (HCDR1; плечо, связывающееся с EGFR)

TYGMH

10 > SEQ ID NO: 2 (HCDR2; плечо, связывающееся с EGFR)

VIWDDGSYKYYGDSVKG

> SEQ ID NO: 3 (HCDR3; плечо, связывающееся с EGFR)

DGITMVRGVMKDYFDY

15

> SEQ ID NO: 4 (LCDR1; плечо, связывающееся с EGFR)

RASQDISSALV

> SEQ ID NO: 5 (LCDR2; плечо, связывающееся с EGFR)

20

DASSLES

> SEQ ID NO: 6 (LCDR3; плечо, связывающееся с EGFR)

QQFNSYPLT

25

> SEQ ID NO: 7 (HCDR1; плечо, связывающееся с c-Met)

SYGIS

> SEQ ID NO: 8 (HCDR2; плечо, связывающееся с c-Met)

WISAYNGYTNYAQLQG

30

> SEQ ID NO: 9 (HCDR3; плечо, связывающееся с c-Met)

DLRGTTYFDY

> SEQ ID NO: 10 (LCDR1; плечо, связывающееся с c-Met)

RASQGISNWL A

> SEQ ID NO: 11 (LCDR2; плечо, связывающееся с c-Met)

5 AASSLLS

> SEQ ID NO: 12 (LCDR3; плечо, связывающееся с c-Met)

QQANSFPIT

10 > SEQ ID NO: 13 (VH; плечо, связывающееся с EGFR)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDD
GSYKYYGDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGITMVRGVM
KDYFDYWGQGTLVTVSS

15 > SEQ ID NO: 14 (VL; плечо, связывающееся с EGFR)

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSALVWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGV
PSRFSGSESGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK

> SEQ ID NO: 15 (VH; плечо, связывающееся с c-Met)

20 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCETSGYTFTSYGISWVRQAPGHGLEWMGWISAY
NGYTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTNYFDY
WGQGTLVTVSS

> SEQ ID NO: 16 (VL; плечо, связывающееся с c-Met)

25 DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWFQHKPGKAPKLLIYAASSLLSG
VPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGRLEIK

> SEQ ID NO: 17 HC1

30 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIW
DDGSYKYYGDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGITMVR
GVMKDYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP
SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV

VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
 NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV
 KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVF
 SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

5

> SEQ ID NO: 18 LC1

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSALVWYQQKPGKAPKLLIYDASSLES
 GVPSRFGSGESGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKRTVAA
 PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
 SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

> SEQ ID NO: 19 HC2

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCETSGYTFTSYGISWVRQAPGHGLEWMGWISA
 YNGYTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRGTNYF
 DYWGQGTLLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
 NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
 RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
 DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
 KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPDI
 AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSRLTVDKSRWQQGNVFS
 CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

15

20

> SEQ ID NO: 20 LC2

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWFQHKPGKAPKLLIYAASSLL
 SGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGTRLEIKRTVAA
 PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
 SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

25

30

Другие общедоступные биспецифические антитела к EGFR/c-Met также могут
 быть применены в способах по настоящему описанию, если они демонстрируют
 аналогичные характеристики по сравнению с амивантамабом, как описано в патенте
 США № 9,593,164. Биспецифические антитела к EGFR/c-Met, которые могут быть
 применены в способах по настоящему описанию, также могут быть получены путем

объединения общедоступных доменов VH/VL, связывающих EGFR, и доменов VH/VL, связывающих c-Met, и испытания полученных биспецифических антител в отношении их характеристик, как описано в патенте США № 9 593 164.

Биспецифические антитела к EGFR/c-Met, используемые в способах
5 настоящего описания, можно получить, например, путем обмена Fab-плечами (или обмена полумолекулами) между двумя моноспецифическими двухвалентными антителами, вводя в СНЗ-интерфейс тяжелой цепи в каждой полумолекуле замены, способствующие образованию гетеродимера из двух полумолекул антител, имеющих разную специфичность, либо *in vitro* в бесклеточной среде, либо с использованием совместной экспрессии. Реакция обмена Fab-плечами является результатом реакции
10 дисульфидной изомеризации и диссоциации-ассоциации СНЗ-доменов. Восстанавливаются дисульфидные связи тяжелых цепей в шарнирных областях исходных моноспецифических антител. Полученные свободные цистеины одного из исходных моноспецифических антител образуют дисульфидную связь тяжелых цепей
15 с цистеиновыми остатками второй молекулы исходного моноспецифического антитела, и одновременно СНЗ-домены исходных антител высвобождаются и происходит переформирование путем диссоциации-ассоциации. СНЗ-домены Fab-плеч можно конструировать с возможностью обеспечения гетеродимеризации, а не гомодимеризации. Полученный продукт представляет собой биспецифическое
20 антитело, имеющее два Fab-плеча, или полумолекулы, каждое из которых связывается с отдельным эпитопом, т. е. эпитопом на EGFR и эпитопом на c-Met. Например, биспецифические антитела по изобретению могут быть получены с использованием технологии, описанной в международных патентных публикациях № WO2011/131746. В случае антител IgG1 можно применять мутации F405L в одной
25 тяжелой цепи и K409R в другой тяжелой цепи. Для антител IgG2 можно применять IgG2 дикого типа и антитело IgG2 с заменами F405L и R409K. Для антител IgG4 можно применять IgG4 дикого типа и антитело IgG4 с заменами F405L и R409K. Для создания биспецифических антител конструируют первое моноспецифическое двухвалентное антитело и второе моноспецифическое двухвалентное антитело так,
30 чтобы в области Fc они имели вышеупомянутую мутацию; антитела инкубируют вместе в восстанавливающих условиях, достаточных для того, чтобы остатки цистеина в шарнирных областях могли подвергаться изомеризации дисульфидной связи; получая таким образом биспецифическое антитело в результате обмена Fab-

плечами. Условия инкубации можно оптимально возвращать к невосстанавливающим. Иллюстративные восстанавливающие агенты, которые могут применяться, представляют собой 2-меркаптоэтиламин (2-MEA), дитиотреитол (DTT), дитиоэритритол (DTE), глутатион, трис(2-карбоксиэтил)фосфин (ТСЕР), L-цистеин и бета-меркаптоэтанол. Например, можно использовать инкубирование в течение по меньшей мере 90 мин при температуре по меньшей мере 20 °C в присутствии по меньшей мере 25 мМ 2-MEA или в присутствии по меньшей мере 0,5 мМ дитиотреитола при уровне pH 5–8, например при pH = 7,0 или при pH = 7,4.

Биспецифические антитела к EGFR/c-Met, используемые в способах настоящего описания, можно также получать с применением таких конфигураций, как «выступ во впадину» (Genentech), CrossMAb (Roche) и электростатическое соответствие (Chugai, Amgen, NovoNordisk, Oncomed), LUZ-Y (Genentech), доменное антитело, сконструированное посредством обмена цепей (SEEDbody) (EMD Serono) и Biclonic (Merus).

Для получения полноразмерных биспецифических антител можно применять стратегию «выступ во впадину» (см., например, международную публикацию № WO 2006/028936) выбранные аминокислоты, образующие интерфейс между доменами СН3 в человеческом IgG, можно подвергать мутации в положениях, влияющих на взаимодействия доменов СН3, способствуя образованию гетеродимера.

Аминокислоту с короткой боковой цепью (впадина) вводят в тяжелую цепь антитела, которое специфически связывается с первым антигеном, а аминокислоту с длинной боковой цепью (выступ) вводят в тяжелую цепь антитела, которое специфически связывается со вторым антигеном. После совместной экспрессии двух антител в результате предпочтительного взаимодействия тяжелой цепи с «впадиной» и тяжелой цепи с «выступом» образуется гетеродимер. Примерами пар замен в СН3, образующих выступ и впадину, являются следующие (указаны как модифицированное положение в первом домене СН3 первой тяжелой цепи / модифицированное положение во втором домене СН3 второй тяжелой цепи): T366Y/F405A, T366W/F405W, F405W/Y407A, T394W/Y407T, T394S/Y407A, T366W/T394S, F405W/T394S и T366W/T366S_L368A_Y407V.

Технология CrossMAb, в дополнение к использованию стратегии «выступ во впадину» для промотирования обмена Fab-плечами, использует замену домена СН1/CL в одной половине плеча, чтобы гарантировать правильное спаривание

легкой цепи полученного биспецифического антитела (см., например, патент США № 8242247).

Для получения полноразмерных биспецифических антител по изобретению могут применяться другие стратегии перенаправления посредством обмена

5 вариабельного или константного или обоих доменов между тяжелой цепью и легкой цепью или внутри тяжелой цепи в биспецифических антителах (либо в одном, либо в обоих плечах). Такие обмены включают в себя, например, обмены VH-CH1 с VL-CL, VH с VL, CH3 с CL и CH3 с CH1, как описано в патентных публикациях № WO2009/080254, WO2009/080251, WO2009/018386 и

10 WO2009/080252.

Можно использовать другие стратегии, такие как стимулирование гетеродимеризации тяжелых цепей с использованием электростатических взаимодействий путем введения замен положительно заряженных остатков на

15 одной поверхности CH3 и отрицательно заряженных остатков на другой поверхности CH3, как описано в патентной публикации США № US2010/0015133; патентной публикации США № US2009/0182127; патентной публикации США № US2010/028637 или патентной публикации США № US2011/0123532. В других стратегиях гетеродимеризацию можно стимулировать посредством следующих

20 замен (указаны модифицированные положения в первом CH3-доме первой тяжелой цепи/модифицированное положение во втором CH3-доме второй тяжелой цепи): L351Y_F405A_Y407V/T394W, T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V, T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V, L351Y_Y407A/T366A_K409F, L351Y_Y407A/T366V_K409F, Y407A/T366A_K409F или T350V_L351Y_F405A_Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W, как описано в

25 патентной публикации США № US2012/0149876 или патентной публикации США № US2013/0195849.

Для получения биспецифических антител по изобретению можно использовать технологию SEEDbody. Для стимуляции гетеродимеризации антитела SEEDbody в своих константных доменах имеют замену выбранных остатков IgG

30 остатками IgA, как описано в патенте США № US20070287170.

Как правило, мутации получают на уровне ДНК в молекуле, такой как константный домен антитела, с помощью стандартных способов.

Варианты осуществления

- 1) Способ лечения субъекта, имеющего рак, который является положительным по EGFR и по отсутствию по меньшей мере одной активирующей мутации EGFR, включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к рецептору эпидермального фактора роста (EGFR) / рецептору фактора роста гепатоцитов (с-Met) субъекту, имеющему рак, который является положительным по EGFR и по отсутствию по меньшей мере одной активирующей мутации EGFR.
- 2) Способ лечения субъекта, имеющего рак, с использованием биспецифического антитела к EGFR/с-Met, включающий:
 - a) получение биологической пробы субъекта;
 - b) определение в пробе наличия или отсутствия активирующих мутаций EGFR;
 - c) введение или обеспечение введения биспецифического антитела к EGFR/с-Met субъекту, для которого определено отсутствие активирующей мутации EGFR.
- 3) Способ по варианту 1 или 2 осуществления, в котором по меньшей мере одна активирующая мутация представляет собой мутацию, которая увеличивает по меньшей мере одну биологическую активность EGFR.
- 4) Способ по варианту 3 осуществления, в котором меньшей мере одна биологическая активность EGFR выбрана из группы, состоящей из тирозинкиназной активности, лиганд-независимой передачи сигналов, повышенной клеточной пролиферации, передачи сигналов по путям MAPK/ERK, генной транскрипции, димеризации (EGFR : EGFR) и гетеродимеризации (EGFR : HER2 или EGFR : HER3).
- 5) Способ по варианту 3 осуществления, в котором по меньшей мере одна активирующая мутация, которые увеличивают по меньшей мере одну биологическую активность EGFR, включают по меньшей мере одну мутацию, выбранную из группы, состоящей из L718Q, G719A, G719X (X представляет собой любую аминокислоту), L861X (X представляет собой любую аминокислоту), замены L858R, E746K, L747S, E749Q, A750P, A755V, V765M, C797S, L858P или T790M, делеции E746–A750, делеции R748–P753, вставки Ala (A) между M766 и A767, вставки Ser, Val и Ala (SVA) между S768 и V769,

- вставки Asn и Ser (NS) между P772 и H773, вставки одной или более аминокислот между D761 и E762, A763 и Y764, Y764 и Y765, M766 и A767, A767 и V768, S768 и V769, V769 и D770, D770 и N771, N771 и P772, P772 и H773, H773 и V774, V774 и C775, одной или более делеций в экзоне 20 EGFR, одной или более вставок в экзоне 20 EGFR, S768I, L861Q и G719X (X представляет собой любую аминокислоту).
- 5 6) Способ по любому из вариантов 1–5 осуществления, дополнительно включающий определение наличия или отсутствия по меньшей мере одной мутации в любом одном гене, выбранном из группы, состоящей из KRAS, PIK3CA и PTEN, и введение или обеспечение введения биспецифического антитела к EGFR/с-Met субъекту, для которого определено отсутствие активирующих мутаций EGFR и определено отсутствие по меньшей мере одной мутации в любом одном гене, выбранном из группы, состоящей из KRAS, PIK3CA и PTEN.
- 10 7) Способ по варианту 6 осуществления, в котором по меньшей мере одна мутация в KRAS выбрана из группы, состоящей из G12V, G12C, G12A и G12D.
- 8) Способ по варианту 7 осуществления, в котором по меньшей мере одна мутация в KRAS представляет собой G12C.
- 9) Способ по варианту 8 осуществления, в котором по меньшей мере одна мутация в PI3K выбрана из группы, состоящей из амплификации E545K, H1047L и PI3K.
- 20 10) Способ по варианту 6 осуществления, в котором по меньшей мере одна мутация в PTEN представляет собой делецию PTEN.
- 11) Способ по вариантам 1–10 осуществления, в котором биспецифическое антитело к EGFR/с-Met содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который специфически связывается с с-Met, причем первый домен содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1) с SEQ ID NO: 1, HCDR2 с SEQ ID NO: 2, HCDR3 с SEQ ID NO: 3, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1) с SEQ ID NO: 4, LCDR2 с SEQ ID NO: 5 и LCDR3 с
- 25 SEQ ID NO: 6, и при этом второй домен, который связывается с с-Met, содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 7, HCDR2 с SEQ ID NO: 8, HCDR3 с SEQ ID NO: 9, LCDR1 с SEQ ID NO: 10, LCDR2 с SEQ ID NO: 11 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12.
- 30

- 12) Способ по любому из вариантов 1–11 осуществления, в котором первый домен, который специфически связывается с EGFR, содержит переменную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 13 и переменную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 14, а второй домен, который специфически связывается с c-Met, содержит VH с SEQ ID NO: 15 и VL с SEQ ID NO: 16.
- 13) Способ по любому из вариантов 1–12 осуществления, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met представляет собой изотип IgG1.
- 14) Способ по любому из вариантов 1–13 осуществления, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит первую тяжелую цепь (HC1) с SEQ ID NO: 17, первую легкую цепь (LC1) с SEQ ID NO: 18, вторую тяжелую цепь (HC2) с SEQ ID NO: 19 и вторую легкую цепь (LC2) с SEQ ID NO: 20.
- 15) Способ по любому из вариантов 1–14 осуществления, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит одну или более подавляющих экспрессию Fc мутаций.
- 16) Способ по варианту 14 осуществления, в котором одна или более подавляющих экспрессию Fc мутаций уменьшают аффинность к Fcγ-рецепторам.
- 17) Способ по варианту 15 или 16 осуществления, в котором одна или более подавляющих экспрессию Fc мутаций включают V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S.
- 18) Способ по любому из вариантов 1–17 осуществления, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит биантенарную структуру гликанов с содержанием фукозы от около 1% до около 15%.
- 19) Способ по любому из вариантов 1–18 осуществления, в котором у субъекта наблюдается рецидив заболевания или резистентность к лечению одним или более предшествующими видами противораковых терапий.
- 20) Способ по варианту осуществления 19 изобретения, в котором один или более предшествующих видов противораковых терапий включают терапию с использованием одного или более химиотерапевтических препаратов, ингибиторов контрольных точек, нацеленные противораковые виды терапии или терапию ингибиторами киназы или любую их комбинацию.
- 21) Способ по варианту 20 осуществления, в котором один или более предшествующих видов противораковых терапий включают терапию

карбоплатином, паклитакселом, гемцитабином, цисплатином, винорелбином, доцетакселом, палбоциклибом, кризотинибом, ингибитором оси PD-(L)1, ингибитором EGFR, ингибитором с-Met, ингибитором HER2, ингибитором HER3, ингибитором HER4, ингибитором VEGFR, ингибитором AXL, эрлотинибом, гефитинибом, лапатинибом, вандетанибом, афатинибом, осимертинибом, лазертинибом, позиотинибом, криотинибом, кабозантинибом, капматинибом, акситинибом, ленватинибом, нинтеданибом, регорафенибом, пазопанибом, сорафенибом или сунитинибом или любую их комбинацию.

22) Способ по любому из вариантов 1–18 осуществления, в котором субъект ранее не получал лечения.

23) Способ по любому из вариантов 1–22 осуществления, в котором рак, который является положительным по отсутствию активирующих мутаций EGFR, является положительным в отношении по меньшей мере одной мутации в гене, выбранном из группы, состоящей из ALK, APC, BRAF, BRCA1, BRCA2, CDKN2A, CDKN2B, CTNNB1, ERBB2, ERBB3, FGFR3, KIT, LRP1B, MET, MLH1, MSH3, NOTCH1, NTRK1, RET, ROS1, STK11, TP53 и VEGFA.

24) Способ по любому из вариантов 1–23 осуществления, в котором рак представляет собой рак легкого, рак желудка, колоректальный рак, рак головного мозга, рак, происходящий из эпителиальных клеток, рак молочной железы, рак яичников, колоректальный рак, рак анального канала, рак предстательной железы, рак почек, рак мочевого пузыря, рак головы и шеи, рак глотки, рак носа, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак ротовой полости, рак языка, рак пищевода, рак влагалища, рак шейки матки, рак селезенки, рак яичка, рак желудка, рак тимуса, рак толстой кишки, рак щитовидной железы, рак печени, гепатоцеллюлярную карциному (HCC) или спорадическую или наследственную папиллярную почечно-клеточную карциному (PRCC) или любую их комбинацию.

25) Способ по варианту 24 осуществления, в котором рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), мелкоклеточный рак легкого (МРЛ) или аденокарциному легкого, легочную саркоматоидную карциному или любую их комбинацию.

- 26) Способ по любому из вариантов 1–25 осуществления, включающий дополнительное получение субъектом одной или более противораковых терапий.
- 27) Способ по варианту осуществления 26 изобретения, в котором одна или более противораковых терапий представляют собой химиотерапию, лучевую терапию, хирургическое вмешательство, нацеленную противораковую терапию, ингибитор киназы или любую их комбинацию.
- 28) Способ по варианту 20 осуществления, в котором ингибитор киназы представляет собой ингибитор EGFR, ингибитор c-Met, ингибитор HER2, ингибитор HER3, ингибитор HER4, ингибитор VEGFR или ингибитор AXL.
- 29) Способ по варианту 28 осуществления, в котором ингибитор киназы представляет собой эрлотиниб, gefитиниб, лапатиниб, вандетаниб, афатиниб, осимертиниб, лазертиниб, poziотиниб, криотиниб, кабозантиниб, капматиниб, акситиниб, ленватиниб, нинтеданиб, регорафениб, пазопаниб, сорафениб или сунитиниб.
- 30) Способ по любому из вариантов 1–29 осуществления, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе от около 140 мг до около 2240 мг.
- 31) Способ по любому из вариантов 1–30 осуществления, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 700 мг, около 750 мг, около 800 мг, около 850 мг, около 900 мг, около 950 мг, около 1000 мг, около 1050 мг, около 1100 мг, около 1150 мг, около 1200 мг, около 1250 мг, около 1300 мг, около 1350 мг, около 1400 мг, около 1450 мг, около 1500 мг, около 1550 мг, около 1575 мг, около 1600 мг, около 1650 мг, около 1700 мг, около 1750 мг, около 1800 мг, около 1850 мг, около 1900 мг, около 1950 мг, около 2000 мг, около 2050 мг, около 2100 мг, около 2150 мг, около 2200 или около 2240 мг.
- 32) Способ по любому из вариантов 1–31 осуществления, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе 1050 мг.
- 33) Способ по любому из вариантов 1–31 осуществления, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе 1400 мг.
- 34) Способ по любому из вариантов 1–31 осуществления, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе 1575 мг.

- 35) Способ по любому из вариантов 1–31 осуществления, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе 1600 мг.
- 36) Способ по любому из вариантов 1–31 осуществления, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе 2100 мг.
- 5 37) Способ по любому из вариантов 1–31 осуществления, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе 2240 мг.
- 38) Способ по любому из вариантов 1–37 осуществления, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят два раза в неделю, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре
- 10 недели.
- 39) Способ по любому из вариантов 1–38 осуществления, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят внутривенно.
- 40) Способ по любому из вариантов 1–38 осуществления, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят подкожно.
- 15 41) Способ по любому из вариантов 1–5 осуществления, дополнительно включающий определение уровней амфирегулина и введение или обеспечение введения биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, для которого определено отсутствие активирующих мутаций EGFR и определяемому как положительный по амфирегулину.
- 20 Далее настоящее изобретение будет описано со ссылкой на приведенные ниже конкретные примеры, не имеющие ограничительного характера.

Пример 1. Характеристика полученных от пациентов ксенотрансплантантных (PDX) опухолей немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), экспрессирующих EGFR без активирующих мутаций

25

Уровни белков EGFR и MET, определенные посредством иммуногистохимического (ИГХ) метода; передачу сигналов, определенных посредством метода близкого лигирования (PLA); а также содержание ассоциированных с опухолью макрофагов (TAM) оценивали на 39 моделях

30 полученных от пациентов ксенотрансплантатов (PDX) НМРЛ без активирующих мутаций EGFR. Отсутствие активирующих мутаций в EGFR определяли методом полноэкзомного секвенирования (WES). 39 НМРЛ-опухолей PDX без

активирующих мутаций EGFR, фиксированных формалином и залитых парафином (FFPE), были получены из Charles River Laboratory (CRL, г. Фрайбург, Германия). Опухоли включали 19 аденокарцином и 20 эпидермоидных НМРЛ. Посредством методов ИГХ и PLA в этих моделях оценивали корреляцию между уровнями рецепторного белка и передачей сигналов рецептора, как для EGFR, так и для MET.

Для ИГХ-исследований срезы тканей обрабатывали, как описано в Smith et. al. 2015 (Annotation of human cancers with EGFR signaling-associated protein complexes using proximity ligation assays. Matthew A. Smith et. al. 2015, Science Signaling, 8(359):ra4). Вкратце, срезы регидратировали и извлекали антигены.

Неспецифическое связывание блокировали инкубацией с 1,5% бычьим сывороточным альбумином (BSA) и инкубировали в течение ночи в BSA в 0,5% PBST с использованием кроличьих антител, нацеленных на EGFR (Ventana; клон 5B7), или с клоном MET D1C2 (передача клеточных сигналов) и клоном фосфо-MET D26 (передача клеточных сигналов). Предметные стекла дважды промывали с PBST, инкубировали с реагентом EnVision+ anti-rabbit (K400311-2, Agilent) в течение 1 часа и визуализировали с помощью диаминобензидина (DAB). Предметные стекла контрокрашивали гематоксилином, регидратировали и жестко закрепляли. Для расчета показателя H-score оценивали интенсивность окрашивания клеток (0, 1+, 2+, 3+) и определяли процент клеток по каждой интенсивности окрашивания. Формулу $[1 \times (\% \text{ клеток } 1+) + 2 \times (\% \text{ клеток } 2+) + 3 \times (\% \text{ клеток } 3+)]$ затем использовали для расчета показателя H-score в диапазоне от 0 до 300 для каждой модели PDX.

Метод близкого лигирования (PLA) применяли в соответствии с опубликованным протоколом (Annotation of human cancers with EGFR signaling-associated protein complexes using proximity ligation assays. Matthew A. Smith et. al. 2015, Science Signaling, 8(359):ra4). Вкратце, предметные стекла с 5-микронными срезами опухолей FFPE PDX регидратировали с помощью ксилола и батарееи спиртов. Индуцированное нагреванием извлечение эпитопа проводили в трис-ЭДТА (pH 9) в автоклаве в течение 20 мин, а затем охлаждали в течение 20 мин. Неспецифическое связывание блокировали инкубацией с 1,5% бычьим сывороточным альбумином (BSA) при комнатной температуре в течение 30 мин. Первичные антитела инкубировали в течение ночи в 1,5% BSA в 0,5% фосфатно-солевом буферном растворе (PBS)–Tween 20 (PBST) с использованием

разбавленных до концентрации 1 : 300 кроличьих антител, нацеленных на EGFR (клон D38B1, Cell Signaling Technology) или на MET клон D1C2 (Cell Signaling), а также с использованием мышиных антител, нацеленных на связанный с рецептором фактора роста белок 2 (GRB2) (клон 81, BD Biosciences). PLA-зонды

5 являлись кроличьими (-) и мышиными (+), и их детектировали с помощью набора Duolink™ In Situ PLA Far Red (Sigma-Aldrich). Для разграничения эпителиальных областей использовали конъюгированный с Alexa Fluor 488 антицитокератин (клон AE1/AE3, eBioscience).

Изображения конфокальной микроскопии получали на лазерном

10 сканирующем конфокальном микроскопе Leica TCS SP5 AOBS (Acousto Optical Bream Splitter) через масляный иммерсионный объектив Plan Achrom с числовой апертурой $40 \times 1,25$ (Leica Microsystems CMS GmbH). Спектральные линии диодного (405) и HeNe (647) лазера применяли для возбуждения проб, а перестраиваемое излучение использовали для сведения к минимуму перекрестных

15 помех между флуорохромами. Z-stack изображения (срезы толщиной 0,5 мкм) для каждой пробы были получены с помощью фотоумножительных детекторов, а проекции максимальной интенсивности были подготовлены с помощью программного обеспечения LAS AF версии 2.6 (Leica Microsystems).

Дополнительные флуоресцентные изображения были получены на полностью

20 автоматизированном вертикальном микроскопе Zeiss Axio-ImagerZ.1 с масляным иммерсионным объективом с числовой апертурой $40 \times 1,25$ и кубами фильтров DAPI и Cy5. Изображения были получены с использованием камеры AxioCam MRm CCD (устройство с зарядовой связью) и пакета программного обеспечения Axiovision версии 4.6 (Carl Zeiss Inc.). Все изображения тканей, полученные в ходе

25 проведения анализов по методам PLA и автоматизированного количественного анализа (AQUA) были получены с использованием объектива 20× (сухого) на рабочей станции AQUA (PM-2000, HistoRx), оснащенной полностью моторизованным предметным столом и кубами фильтров DAPI, Cy3, FITC (изотиоцианат флуоресцеина) и Cy5. Изображения сохраняли как отдельные

30 каналы и экспортировали как объединенные изображения RGB-TIFF (Annotation of human cancers with EGFR signaling-associated protein complexes using proximity ligation assays. Matthew A. Smith et. al. 2015, Science Signaling, 8(359):ra4; MET-GRB2 Signaling-Associated Complexes Correlate with Oncogenic MET Signaling and

Sensitivity to MET Kinase Inhibitors. Matthew A. Smith et. al. 2017, Clin Cancer Res. 2017, 23(22): 7084–7096).

Оценки по анализу PLA определяли, как описано ранее (Smith et. al. 2015). Вкратце, оценки PLA определяли вручную с использованием критериев оценки, основанных на количестве очагов визуализации на клетку (0 — очагов не обнаруживается; 1+ — от 1 до 5 очагов визуализации на клетку; 2+ — от > 5 до 20 очагов визуализации на клетку; 3+ — > 20 очагов визуализации на клетку), и помечали как «высокие» (от 2+ до 3+ по обоим целям) или «низкие» (от 0 до 1+).

Из результатов следует, что статистически значимые корреляции между показателями анализов по методам ИГХ и PLA наблюдали как для EGFR ($r = 0,63$, $p < 0,0001$, см. **ФИГ. 1А**), так и для MET ($r = 0,83$, $p < 0,0001$, см. **ФИГ. 2А**). Для расчета значения r (коэффициента корреляции) использовали коэффициент корреляции Спирмена, а для расчета p -значений использовали двусторонний тест (Prism Graphpad v.7.0.0). В частности, p -значения для коэффициента корреляции Спирмена рассчитывали с использованием пермутационного теста, если было

менее 17 пар XY. В противном случае статистику $r \cdot \sqrt{\frac{n-2}{1-r^2}}$ сравнивали с t -распределением Стьюдента с количеством степеней свободы, равным $n-2$, где r — коэффициент корреляции Спирмена, а n — количество пар XY.

20 **Пример 2. Вовлечение Fc-рецепторов не требуется для проявления эффективности амивантамаба на моделях НМРЛ при отсутствии активирующих мутаций EGFR**

Далее эффективность амивантамаба на моделях НМРЛ без активирующих мутаций EGFR тестировали *in vivo*.

25 Исследования *in vivo* проводили в Charles River Laboratory (CRL, г. Фрайбург, Германия) в соответствии с политикой и процедурами Комитета Janssen по уходу за животными и их использованию. Четырнадцать опухолей НМРЛ PDX были имплантированы подкожно в бок голым мутантным мышам NMRI nu/nu (CRL) и были рандомизированы в экспериментальные группы, когда опухоли достигали размеров 50–200 мм³. Лечение проводили два раза в неделю в течение 3 недель путем внутривентральной инъекции 10 мг/кг изотипического

контроля, либо амивантамаба, либо биспецифического антитела к EGFR/MET, имеющего молчащий Fc. Fc-молчащее антитело к EGFR/MET сохраняет EGFR и MET плечи амивантамаба и имеет замены

V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S, сделанные в тяжелых цепях для

статистически значимого снижения аффинности к Fcγ-рецепторам и комплементу Cq1. Размеры опухолей измеряли с помощью штангенциркуля, а объем опухолей рассчитывали по формуле: $(\text{длина} \times (\text{ширина})^2) / 2$. Процент ингибирования роста опухоли (% TGI) рассчитывали через 7 дней после введения последней дозы по формуле: $\{1 - [(\text{конечный средний объем опухоли в группе лечения} - \text{исходный средний объем опухоли в группе лечения}) / (\text{конечный средний объем опухоли в контрольной группе} - \text{исходный средний объем опухоли в контрольной группе})]\} \times 100$.

Из результатов следует, что амивантамаб ингибировал рост опухоли в 13 из 14 протестированных моделей PDX (репрезентативные графики эффективности показаны на **ФИГ. 2А** и **2Б**). Из этих 13 моделей, в которых амивантамаб проявлял активность, Fc-молчащее антитело к EGFR/MET, не связывающееся с Fc-рецепторами, показало одинаковую эффективность (**ФИГ. 2А** и **2Б**). LXFA2158, модель с амплификацией гена MET, была единственной моделью PDX, в которой способность амивантамаба связываться с Fc-рецепторами имела решающее значение для эффективности (**ФИГ. 2В**). Это согласуется с ранее опубликованными данными (Smruthi Vijayaraghavan et. al. 2020, Molecular Cancer Therapeutics, 19(10):2044-2056), которые указывали на необходимость Fc-взаимодействий амивантамаба в модельных системах с амплифицированным MET и мутантным EGFR.

Пример 3. Взаимосвязь между экспрессией рецептора и передачей сигналов и эффективностью амивантамаба *in vivo*

Затем оценивали взаимосвязь между экспрессией рецептора или передачей сигналов и эффективностью амивантамаба *in vivo*.

ИГХ- и PLA-анализы проводили, как описано в примере 1. График эффективности амивантамаба (% TGI) в PDX-опухолях без активирующих мутаций EGFR, был построен в зависимости от показателей H-score по результатам ИГХ-

анализа по EGFR и MET и показателей PLA-анализа (см. **ФИГ. 3А–3Г**). Хотя были обнаружены положительные корреляции между эффективностью и показателями ИГХ- и PLA-анализов по EGFR (ИГХ: $r = 0,397$; PLA: $r = 0,22$), ни одна корреляция не была статистически значимой ($p > 0,05$). Никакой положительной корреляции между эффективностью опухоли и экспрессией или передачей сигналов MET не наблюдалось.

Пример 4. Генетический анализ PDX-опухолей

Затем оценивали связь экспрессии и мутационного статуса PDX-опухолей без активирующих мутаций EGFR с данными по % ингибирования роста опухоли, полученными в примере 2. Используемые в примере 2 данные об экспрессии и мутационном статусе распространенных онкогенов в PDX-опухолях без активирующих мутаций EGFR были предоставлены и полностью принадлежат Charles River Laboratory (г. Фрайбург, Германия). Экспрессию распространенных онкогенов, представленных на **ФИГ. 4А**, определяли посредством RNA-Seq, а мутационный статус определяли с помощью полноэкзомного секвенирования (**ФИГ. 4Б**). Хотя амивантамаб был высокоэффективен во многих из этих моделей PDX НМРЛ без активирующих мутаций EGFR (**ФИГ. 4В**), было обнаружено, что мутации в сигнальных путях KRAS и PI3K были биомаркерами, указывающими на снижение противоопухолевой активности (см. **ФИГ. 4А–4В**).

При оценке корреляции наличия EGFR с эффективностью препарата авторы изобретения наблюдали подгруппу моделей, где для наблюдаемого % TGI были характерны значения ниже показателей линейной подгонки по набору данным, однако уровни EGFR были относительно высокими (**ФИГ. 3А**). Интересно, что эта подгруппа моделей содержала мутации в сигнальных путях KRAS или PI3K, и было сделано предположение о том, что aberrантная передача сигналов в этих путях может приводить к снижению активности амивантамаба.

Пример 5. Отсутствие мутаций сигнальных путей KRAS и PI3K в PDX-опухолях было связано с повышенной эффективностью амивантамаба

Затем оценивали связь эффективности амивантамаба (% TGI) и суммы показателей H-score и PLA (см. **таблицу 1**) в подгруппе PDX-опухолей из примера

2, причем опухоли, положительные по распространенным онкогенным драйверным мутациям, расположенным ниже по отношению к EGFR и MET, таким как KRAS и PI3K, были удалены, см. **таблицу 2**. Коэффициент корреляции и р-значение рассчитывали с использованием корреляции Спирмена и двустороннего теста (Prism Graphpad 7.00), как описано в примере 1.

Результаты показали, что исключение опухолей, которые несут мутации сигнальных путей KRAS или PI3K, приводит к статистически значимой корреляции между эффективностью амивантамаба и экспрессией и передачей сигналов EGFR (ИГХ + PLA – $r = 0,88$, $p = 0,0032$, см. **ФИГ. 5А**). Действительно, модели с показателем H-score по EGFR ≥ 170 и отсутствием альтернативных драйверных мутаций показали длительный стазис опухоли или полную регрессию опухоли при лечении амивантамабом (репрезентативные кривые роста опухоли показаны на **ФИГ. 2А** и **2Б**). Никакой корреляции эффективности амивантамаба с экспрессией и передачей сигналов MET не наблюдалось (**ФИГ. 5Б**).

Таблица 1. Показатель ИГХ (H-score), показатель PLA, их сумма и %TGI, определенные для PDX-опухолей, не имеющих активирующих мутаций EGFR, при лечении амивантабом

Модель	EGFR			MET			% TGI
	<u>H-score</u>	<u>Оценка PLA</u>	<u>Всего</u>	<u>H-Score</u>	<u>Оценка PLA</u>	<u>Всего</u>	
LXAA SMTCA62	150	140	290	110	90	200	42,63
LXFA 1584	230	160	390	160	170	330	99,58
LXFA 2158	170	210	380	300	290	590	100,95
LXFA 2165	120	60	180	300	290	590	12,02
LXFA 586	130	150	280	40	0	40	51,05
LXFA 592	260	240	500	150	100	250	20,78
LXFE 1066	280	230	510	50	10	60	65,47
LXFE 2257	280	270	550	130	20	150	21,11
LXFE 470	160	180	340	140	40	180	52,8
LXFA 629	210	160	370	160	80	240	101
LXFA 677	290	220	510	190	90	280	111,8
LXFA 2201	110	0	110	300	200	500	-44,74
LXFE 2220	260	180	440	140	80	220	37,2
LXFE 772	180	100	280	60	0	60	81,9

Таблица 2. Мутации путей KRAS и PI3K, обнаруженные в PDX-опухолях

Модель PDX-опухоли	KRAS	PIK3CA	PTEN
LXFA 592	G12C	—	—
LXFE 470	—	E545K	—
LXFE 2220	—	H1047L	—
LXFE 1066	—	амплификация	делеция (связанная с потерей функции экспрессии)
LXFE 2257	—	—	потеря функции (связанная с потерей функции экспрессии)

Пример 6. Анализ связи экспрессии лигандов EGFR и эффективности амивантамаба в PDX-опухолях, не имеющих активирующих мутаций EGFR

5 Затем оценивали связь экспрессии лигандов EGFR в PDX-опухолях без активирующих мутаций EGFR с данными по % ингибирования роста опухоли, полученными в примере 2. Экспрессию эпидермального фактора роста (EGF), амфирегулина (AREG), трансформирующего фактора роста α (TGF α), гепарин-связывающего EGF-подобного фактора роста (HBEGF), бетацеллюлина (BTC),

10 эпирегулина (EREG) и эпигена (EPGN) в использованных в примере 2 PDX-опухолях без активирующих мутаций EGFR определяли с помощью RNA-Seq. Эти данные были предоставлены компанией Charles River Laboratory (г. Фрайбург, Германия) и полностью принадлежат ей. Данные по экспрессии амфирегулина были доступны только для 11 из 14 моделей НМРЛ, на которых проверяли

15 эффективность препарата *in vivo* (данные недоступны для моделей LXFA 2158, LXFA 2165 и LXFA 2201). Статистически значимая корреляция ($r = 0,66$; $p = 0,03$) была обнаружена между экспрессией амфирегулина и эффективностью амивантамаба *in vivo* (ФИГ. 6). Эта связь между экспрессией амфирегулина и эффективностью амивантамаба не зависела от мутаций сигнальных путей KRAS и

20 PI3K. Таким образом, по наличию экспрессии амфирегулина может выявлять пациентов, которые могут получить клиническую пользу от лечения амивантамабом.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

- 1) Способ лечения субъекта, имеющего рак, который является положительным по EGFR и отсутствию по меньшей мере одной активирующей мутации EGFR,
 5 включающий введение терапевтически эффективного количества выделенного биспецифического антитела к рецептору эпидермального фактора роста (EGFR) / рецептору фактора роста гепатоцитов (с-Met) субъекту, имеющему рак, который является положительным по EGFR и отсутствию по меньшей мере одной активирующей мутации EGFR.
- 10 2) Способ лечения субъекта, имеющего рак, с использованием биспецифического антитела к EGFR/с-Met, включающий:
 - а) получение биологической пробы субъекта;
 - б) определение наличия или отсутствия в пробе активирующей мутации EGFR;
 - 15 в) введение или обеспечение введения биспецифического антитела к EGFR/с-Met субъекту, для которого определено отсутствие активирующей мутации EGFR.
- 3) Способ по п. 1 или 2, в котором по меньшей мере одна активирующая мутация представляет собой мутацию, которая увеличивает по меньшей мере одну биологическую активность EGFR.
- 20 4) Способ по п. 3, в котором по меньшей мере одна биологическая активность EGFR выбрана из группы, состоящей из тирозинкиназной активности, лиганд-независимой передачи сигналов, повышенной клеточной пролиферации, передачи сигналов по путям MAPK/ERK, генной транскрипции, димеризации (EGFR : EGFR) и гетеродимеризации (EGFR : HER2 или EGFR : HER3).
- 25 5) Способ по п. 3, в котором по меньшей мере одна активирующая мутация, которая увеличивает по меньшей мере одну биологическую активность EGFR, представляют собой по меньшей мере одну мутацию, выбранную из группы, состоящей из L718Q, G719A, G719X (X представляет собой любую аминокислоту), L861X (X представляет собой любую аминокислоту), замены
 30 L858R, E746K, L747S, E749Q, A750P, A755V, V765M, C797S, L858P или T790M, делеции E746–A750, делеции R748–P753, вставки Ala (A) между M766 и A767, вставки Ser, Val и Ala (SVA) между S768 и V769, вставки Asn и Ser (NS) между P772 и H773, вставки одной или более аминокислот между D761 и

E762, A763 и Y764, Y764 и Y765, M766 и A767, A767 и V768, S768 и V769, V769 и D770, D770 и N771, N771 и P772, P772 и H773, H773 и V774, V774, C775, одной или более делеций в экзоне 20 EGFR, одной или более вставок в экзоне 20 EGFR, S768I, L861Q и G719X (X представляет собой любую аминокислоту).

- 6) Способ по любому из пп. 1–5, дополнительно включающий определение наличия или отсутствия по меньшей мере одной мутации в любом одном гене, выбранном из группы, состоящей из KRAS, PIK3CA и PTEN, и введение или обеспечение введения биспецифического антитела к EGFR/c-Met субъекту, для которого определено отсутствие активирующих мутаций EGFR и определено отсутствие по меньшей мере одной мутации в любом одном гене, выбранном из группы, состоящей из KRAS, PIK3CA и PTEN.
- 7) Способ по п. 6, в котором по меньшей мере одна мутация в KRAS выбрана из группы, состоящей из G12V, G12C, G12A и G12D.
- 8) Способ по п. 7, в котором по меньшей мере одна мутация в KRAS представляет собой G12C.
- 9) Способ по п. 8, в котором по меньшей мере одна мутация в PI3K выбрана из группы, состоящей из амплификации E545K, H1047L и PI3K.
- 10) Способ по п. 6, в котором по меньшей мере одна мутация в PTEN представляет собой делецию PTEN.
- 11) Способ по пп. 1–10, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met содержит первый домен, который специфически связывается с EGFR, и второй домен, который специфически связывается с c-Met, причем первый домен содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1) с SEQ ID NO: 1, HCDR2 с SEQ ID NO: 2, HCDR3 с SEQ ID NO: 3, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1) с SEQ ID NO: 4, LCDR2 с SEQ ID NO: 5 и LCDR3 с SEQ ID NO: 6, и при этом второй домен, который связывается с c-Met, содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 7, HCDR2 с SEQ ID NO: 8, HCDR3 с SEQ ID NO: 9, LCDR1 с SEQ ID NO: 10, LCDR2 с SEQ ID NO: 11 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12.
- 12) Способ по любому из пп. 1–11, в котором первый домен, который специфически связывается с EGFR, содержит переменную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 13 и переменную область легкой цепи (VL) с

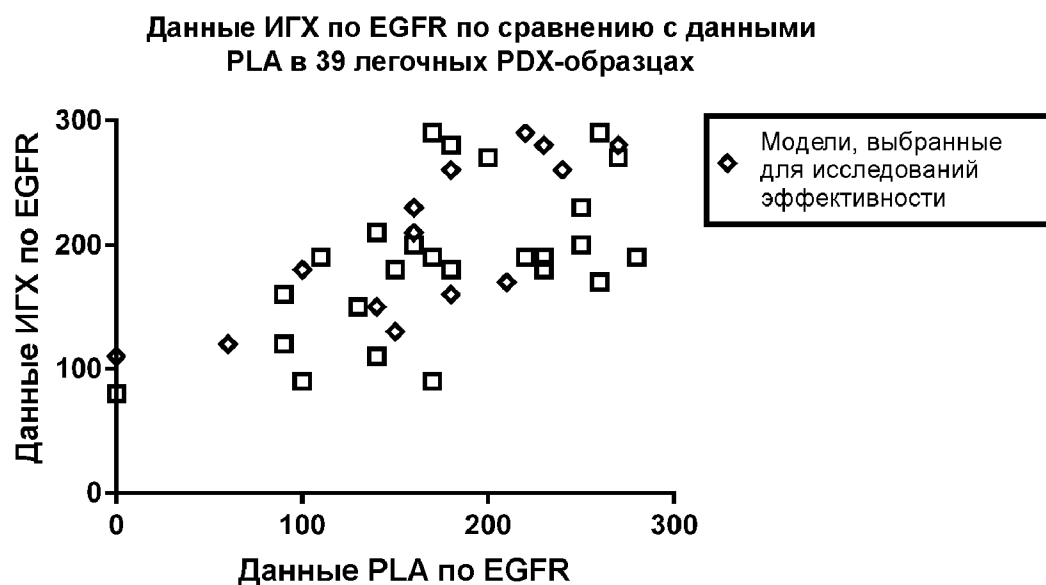
SEQ ID NO: 14, а второй домен, который специфически связывается с с-Met, содержит VH с SEQ ID NO: 15 и VL с SEQ ID NO: 16.

- 13) Способ по любому из пп. 1–12, в котором биспецифическое антитело к EGFR/с-Met представляет собой изотип IgG1.
- 5 14) Способ по любому из пп. 1–13, в котором биспецифическое антитело к EGFR/с-Met содержит первую тяжелую цепь (HC1) с SEQ ID NO: 17, первую легкую цепь (LC1) с SEQ ID NO: 18, вторую тяжелую цепь (HC2) с SEQ ID NO: 19 и вторую легкую цепь (LC2) с SEQ ID NO: 20.
- 15) Способ по любому из пп. 1–14, в котором биспецифическое антитело к EGFR/с-Met содержит одну или более подавляющих экспрессию Fc мутаций.
- 10 16) Способ по п. 14, в котором одна или более подавляющих экспрессию Fc мутаций уменьшают аффинность к Fcγ-рецепторам.
- 17) Способ по п. 15 или 16, в котором одна или более подавляющих экспрессию Fc мутаций представляют собой V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S.
- 15 18) Способ по любому из пп. 1–17, в котором биспецифическое антитело к EGFR/с-Met содержит биантенарную структуру гликанов с содержанием фукозы от около 1% до около 15%.
- 19) Способ по любому из пп. 1–18, в котором у субъекта наблюдается рецидив болезни или резистентность к лечению одной или более предшествующими противораковыми терапиями.
- 20 20) Способ по п. 19, в котором одна или более предшествующих противораковых терапий включают один или более химиотерапевтических препаратов, ингибиторов контрольных точек, нацеленные противораковые терапии или ингибиторы киназы или любую их комбинацию.
- 25 21) Способ по п. 20, в котором одна или более предшествующих противораковых терапий включают карбоплатин, паклитаксел, гемцитабин, цисплатин, винорелбин, доцетаксел, палбоциклиб, кризотиниб, ингибитор оси PD-(L)1, ингибитор EGFR, ингибитор с-Met, ингибитор HER2, ингибитор HER3, ингибитор HER4, ингибитор VEGFR, ингибитор AXL, эрлотиниб, гефитиниб, лапатиниб, вандетаниб, афатиниб, осимертиниб, лазертиниб, poziотиниб, криотиниб, кабозантиниб, капматиниб, акситиниб, ленватиниб, нинтеданиб, регорафениб, пазопаниб, сорафениб или сунитиниб или любую их комбинацию.
- 30 22) Способ по любому из пп. 1–18, в котором субъект ранее не получал лечения.

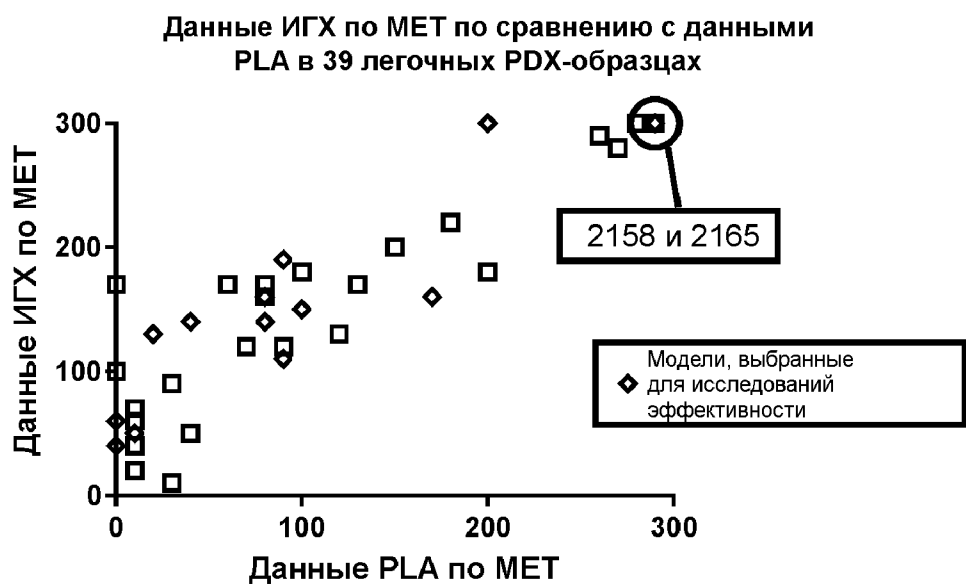
- 23) Способ по любому из пп. 1–22, в котором рак, который является положительным по отсутствию активирующих мутаций EGFR, является положительным по отношению к по меньшей мере одной мутации в гене, выбранном из группы, состоящей из ALK, APC, BRAF, BRCA1, BRCA2, CDKN2A, CDKN2B, CTNNB1, ERBB2, ERBB3, FGFR3, KIT, LRP1B, MET, MLH1, MSH3, NOTCH1, NTRK1, RET, ROS1, STK11, TP53 и VEGFA.
- 24) Способ по любому из пп. 1–23, в котором рак представляет собой рак легкого, рак желудка, колоректальный рак, рак головного мозга, рак, происходящий из эпителиальных клеток, рак молочной железы, рак яичников, колоректальный рак, рак анального канала, рак предстательной железы, рак почек, рак мочевого пузыря, рак головы и шеи, рак глотки, рак носа, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак ротовой полости, рак языка, рак пищевода, рак влагалища, рак шейки матки, рак селезенки, рак яичка, рак желудка, рак тимуса, рак толстой кишки, рак щитовидной железы, рак печени, гепатоцеллюлярную карциному (HCC) или спорадическую или наследственную папиллярную почечно-клеточную карциному (PRCC) или любую их комбинацию.
- 25) Способ по п. 24, в котором рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), мелкоклеточный рак легкого (МЛР) или аденокарциному легкого, легочную саркоматоидную карциному или любую их комбинацию.
- 26) Способ по любому из пп. 1–25, включающий дополнительное получение субъектом одной или более противораковых терапий.
- 27) Способ по п. 26, в котором одна или более противораковых терапий представляют собой химиотерапию, лучевую терапию, хирургическое вмешательство, нацеленную противораковую терапию, ингибитор киназы или любую их комбинацию.
- 28) Способ по п. 20, в котором ингибитор киназы представляет собой ингибитор EGFR, ингибитор c-Met, ингибитор HER2, ингибитор HER3, ингибитор HER4, ингибитор VEGFR или ингибитор AXL.
- 29) Способ по п. 28, в котором ингибитор киназы представляет собой эрлотиниб, gefitinib, lapatinib, vandetanib, afatinib, osimertinib, lazertinib, poziotinib, kriotinib, cabozantinib, capmatinib, axitinib, lenvatinib, nintedanib, regorafenib, pazopanib, sorafenib или sunitinib.

- 30) Способ по любому из пп. 1–29, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе от около 140 мг до около 2240 мг.
- 31) Способ по любому из пп. 1–30, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе около 700 мг, около 750 мг, около 800 мг, около 850 мг, около 900 мг, около 950 мг, около 1000 мг, около 1050 мг, около 1100 мг, около 1150 мг, около 1200 мг, около 1250 мг, около 1300 мг, около 1350 мг, около 1400 мг, около 1450 мг, около 1500 мг, около 1550 мг, около 1575 мг, около 1600 мг, около 1650 мг, около 1700 мг, около 1750 мг, около 1800 мг, около 1850 мг, около 1900 мг, около 1950 мг, около 2000 мг, около 2050 мг, около 2100 мг, около 2150 мг, около 2200 или около 2240 мг.
- 32) Способ по любому из пп. 1–31, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе 1050 мг.
- 33) Способ по любому из пп. 1–31, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе 1400 мг.
- 34) Способ по любому из пп. 1–31, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе 1575 мг.
- 35) Способ по любому из пп. 1–31, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе 1600 мг.
- 36) Способ по любому из пп. 1–31, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе 2100 мг.
- 37) Способ по любому из пп. 1–31, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят в дозе 2240 мг.
- 38) Способ по любому из пп. 1–37, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят два раза в неделю, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре недели.
- 39) Способ по любому из пп. 1–38, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят внутривенно.
- 40) Способ по любому из пп. 1–38, в котором биспецифическое антитело к EGFR/c-Met вводят подкожно.

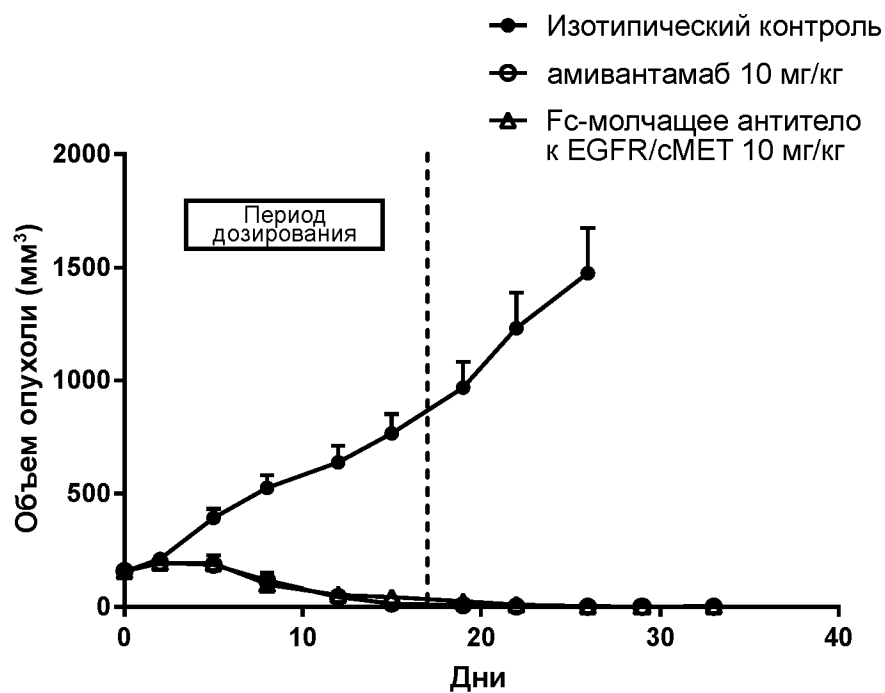
ФИГ. 1А



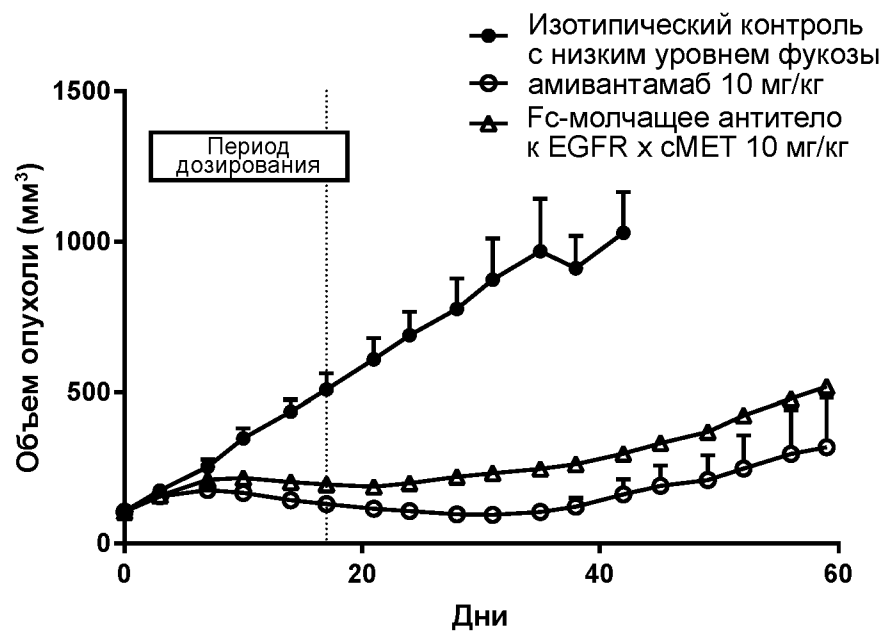
ФИГ. 1Б



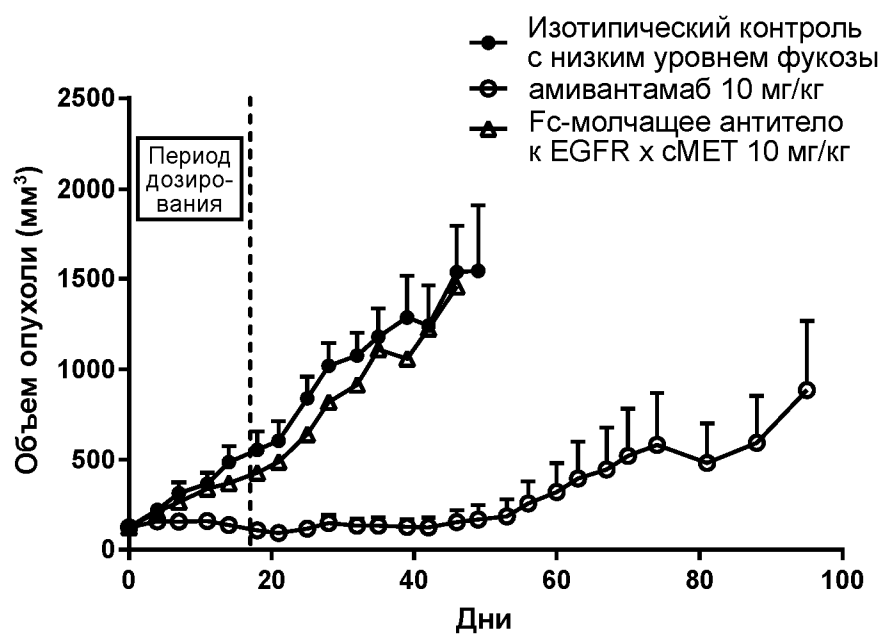
ФИГ. 2А



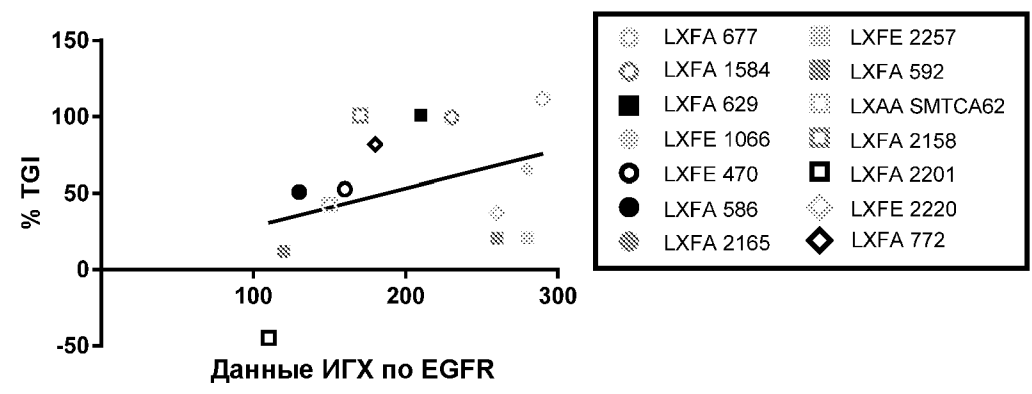
ФИГ. 2Б



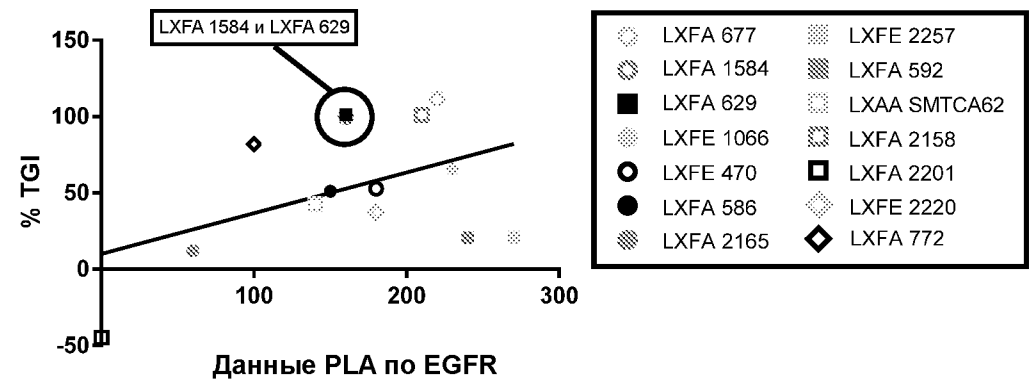
ФИГ. 2В



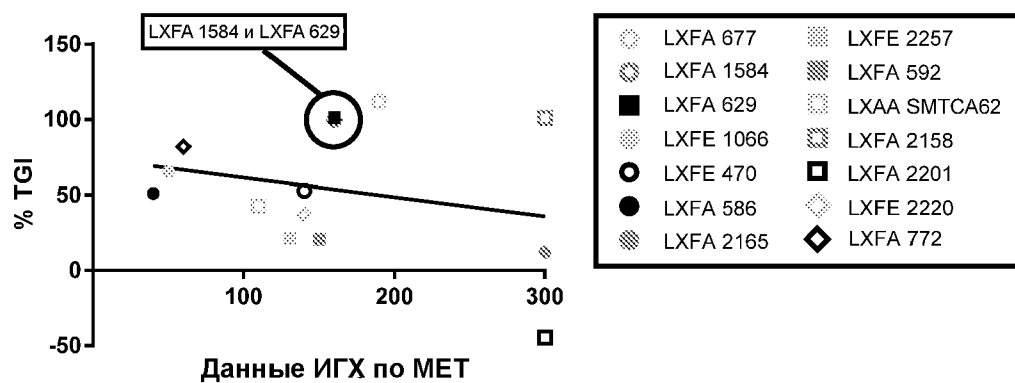
ФИГ. 3А



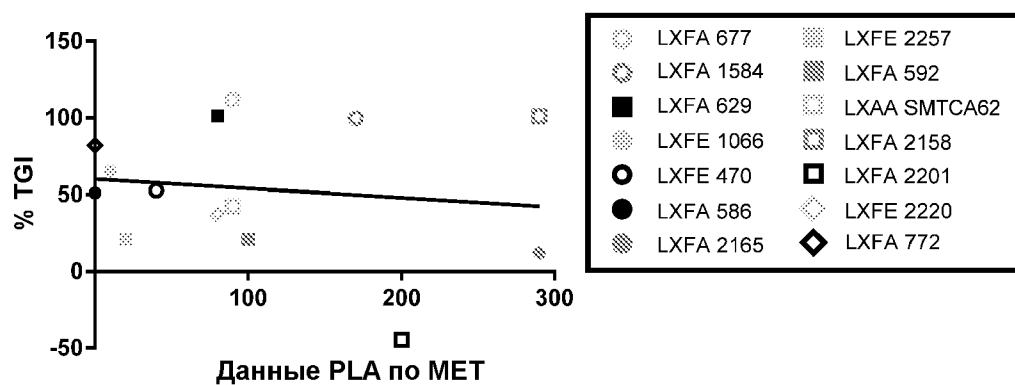
ФИГ. 3Б



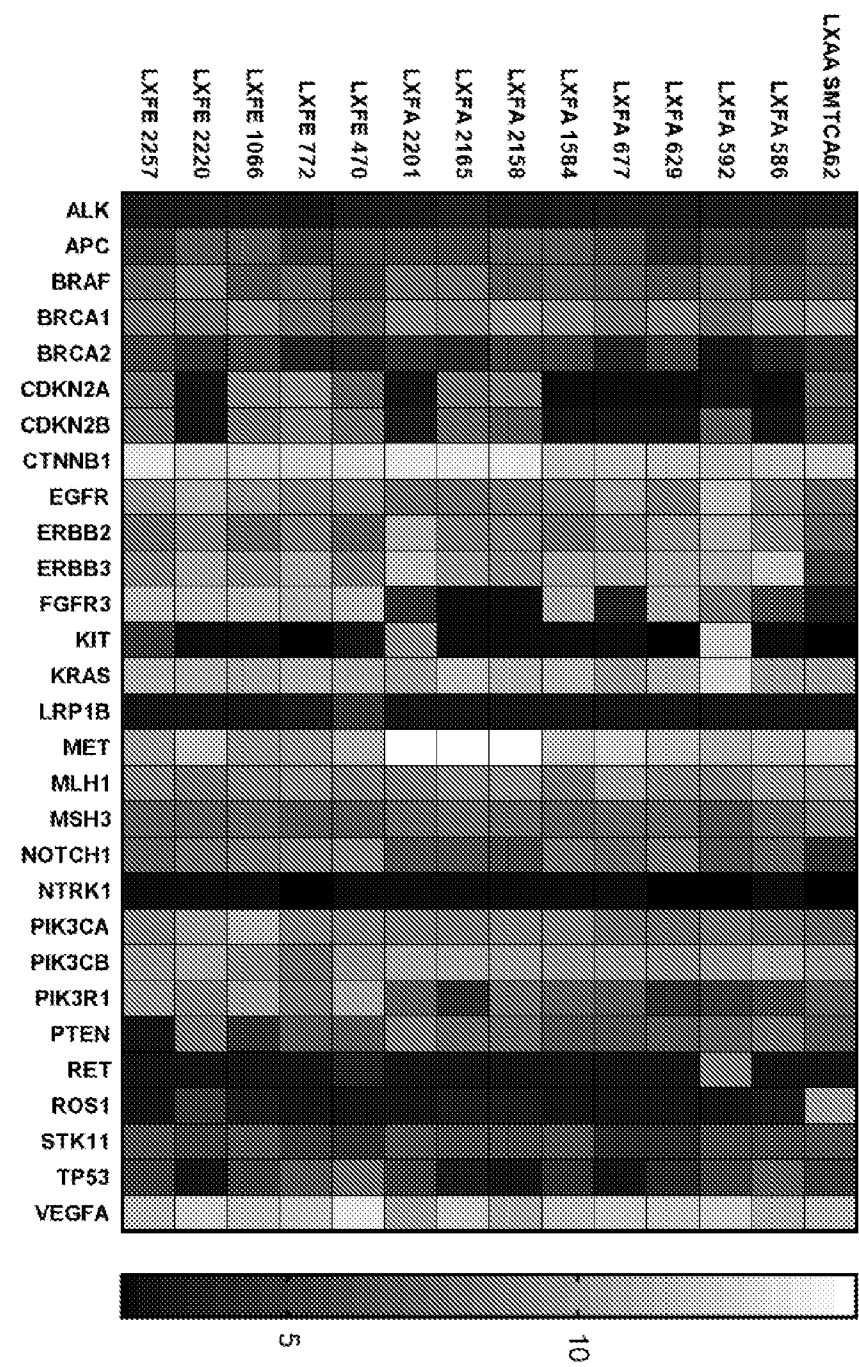
ФИГ. 3В



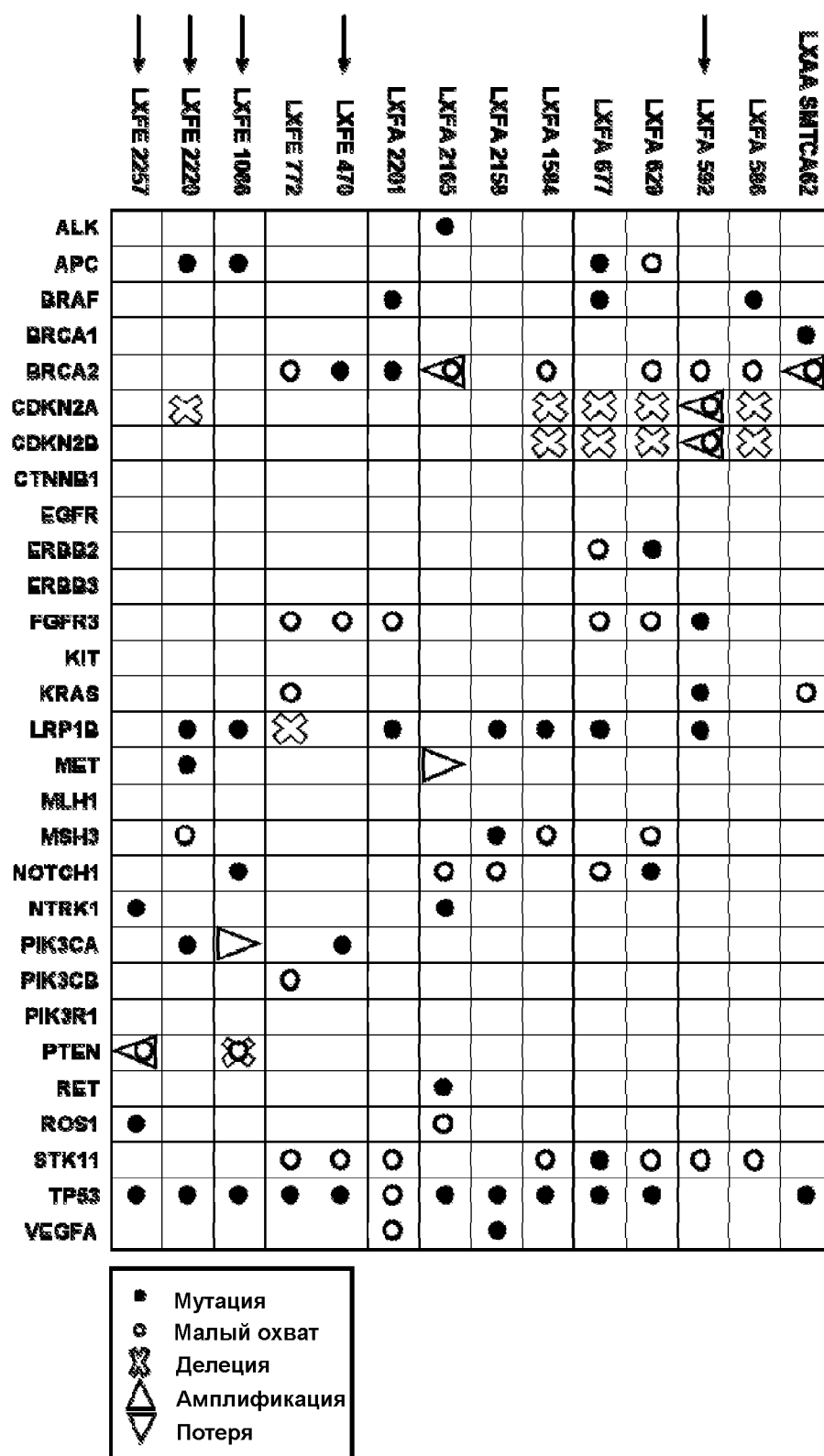
ФИГ. 3Г



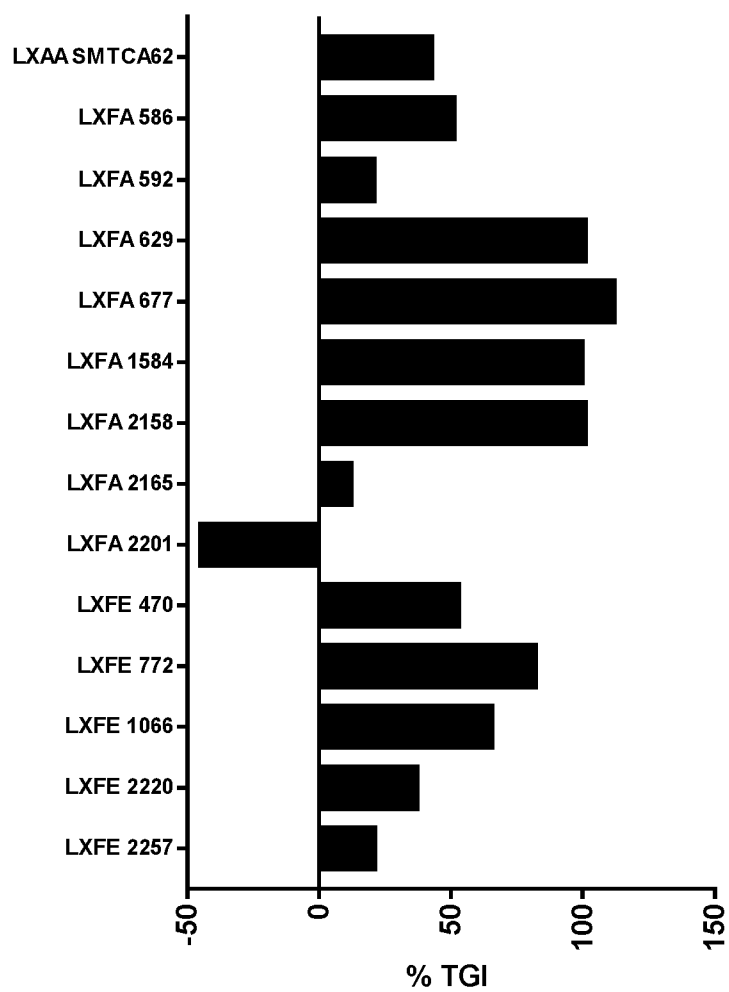
ФИГ. 4А



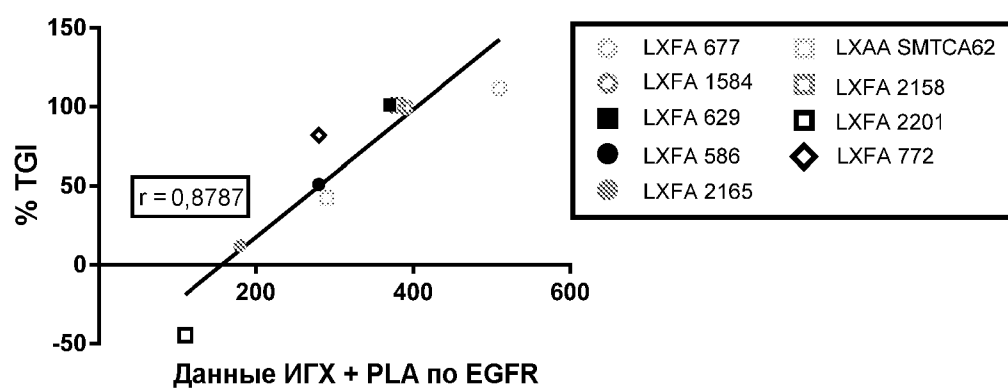
ФИГ. 4Б



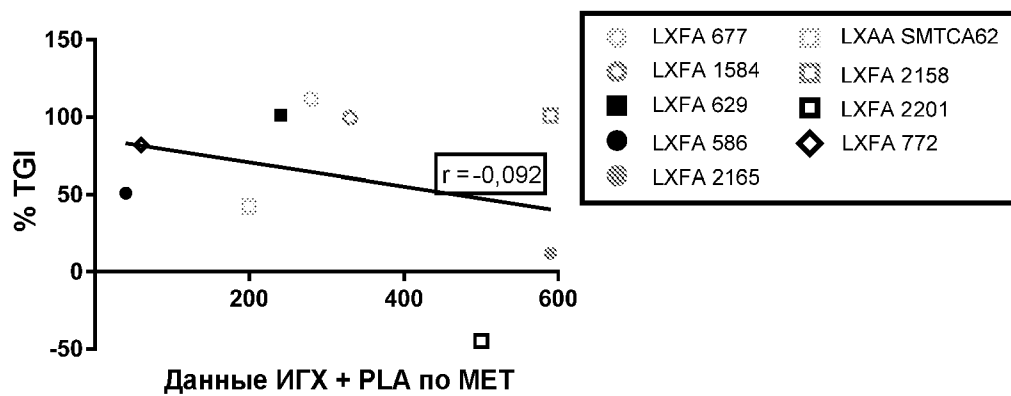
ФИГ. 4В



ФИГ. 5А



ФИГ. 5Б



ФИГ. 6

