

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202390783 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.06.26

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

(22) Дата подачи заявки
2021.09.10

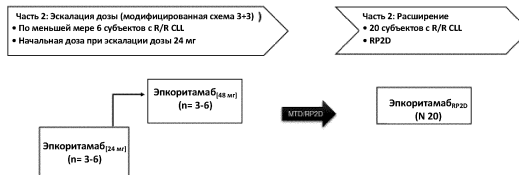
(54) БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ CD3 И CD20 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЦИТАРНОГО ЛЕЙКОЗА

(31) 63/076,733
(32) 2020.09.10
(33) US
(86) PCT/EP2021/075015
(87) WO 2022/053653 2022.03.17
(71) Заявитель:
ГЕНМАБ А/С (DK)

(72) Изобретатель:
Эллиотт Брайан, Чэнь Дженни Дж.,
Ахмади Тахамтан, Цзю Кристофер
(US), Брей Эстер С.В., Химстра Ида
(NL), Юре-Кункель Мария Н. (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) В изобретении описаны способы клинического лечения хронического лимфолейкоза (CLL) у людей с использованием биспецифического антитела, которое связывается с CD3 и CD20.



202390783

A1

A1

202390783

БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ CD3 И CD20 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЦИТАРНОГО ЛЕЙКОЗА

5

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к биспецифическим антителам, мишенью которых являются как CD3, так и CD20, и к применению указанных антител для лечения хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL). Предложены также предпочтительные схемы лечения.

10

Предпосылки создания изобретения

Хронический лимфоцитарный лейкоз (хронический лимфолейкоз) (CLL) представляет собой В-клеточное злокачественное новообразование, которое возникает в результате неконтролируемой пролиферации незрелых лимфоцитов в костном мозге и включает присутствие циркулирующих опухолевых клеток в крови. CLL характеризуется накоплением клональных CD5+CD19+CD20+CD23+ В-клеток в костном мозге, крови и лимфоидных органах, таких как лимфатические узлы и селезенка (Zenz и др., Nat Rev Cancer 10, 2010, сс. 37-50). CLL часто представляет собой медленно развивающийся рак. CLL представляет собой в первую очередь заболевание пожилых людей, средний возраст которых на момент постановки диагноза составлял 70 лет. CLL является наиболее распространенным лейкозом у взрослых в западных странах, на его долю приходится примерно от 25% до 30% всех лейкозов в США, ориентировочно 20720 новых случаев и 3930 случаев смерти (Siegel и др., CA Cancer J Clin 69, 2019, сс. 7-34). Во всем мире ежегодно регистрируется примерно 105000 случаев, из которых 35000 являются смертельными (Fitzmaurice и др., Global Burden of Disease Cancer, JAMA Oncol 4, 2018, сс. 1553-1568).

15

20

25

30

В противоположность этому, лимфома возникает в результате неконтролируемой пролиферации лимфоцитов в органах за пределами костного мозга. Хотя при некоторых лимфомах в костном мозге также могут присутствовать инфильтраты опухолевых клеток. Клетки лимфомы, как правило, не появляются в периферической крови. Было установлено, что уровень экспрессии CD20 при CLL ниже по сравнению со здоровыми В-клетками

периферической крови или с другими злокачественными NHL (неходжкинские лимфомы) (Almasri и др., *Am J Hematol* 40, 1992, сс. 259-263; Pedersen и др., *Blood* 99, 2002, сс. 1314-1319; Prevodnik и др., *Diagn Pathol* 6, 2011, с. 33; Olejniczak и др., *Immunol Invest* 35, 2006, сс. 93-114; Ginaldi и др., *J Clin Pathol* 51, 1998, сс. 364-369; D'Arena и др., *Am J Hematol* 64, 2000, сс. 275-281).

У большинства пациентов с впервые диагностированным CLL заболевание протекает бессимптомно, и они могут находиться под наблюдением без терапии. При симптоматическом заболевании или заболевании с высоким риском стандарт лечения включает цитотоксическую химиотерапию (т.е. флударабин, циклофосфамид, бентамустин или хлорамбуцил) в комбинации с моноклональным антителом к CD20 (т.е. ритуксимаб или обинутузумаб) (Goede и др., *N Engl J Med* 370, 2014, сс. 1101-1110; Hallek и др., *Lancet* 376, 2010, сс. 1164-1174). Хотя химиоиммунотерапии произвели революцию в лечении CLL, новые агенты с низким профилем токсичности имеют особое значение в качестве замены этих высокотоксичных и интенсивных схем лечения.

В последние годы применение не требующих химиотерапии схем, таких как ибрутиниб плюс ритуксимаб (Burger и др., *Ann Intern Med* 163, 2015, сс. 461-464), венетоклакс плюс ритуксимаб (Seymour и др., *N Engl J Med* 378, 2018, сс. 1107-1120), венетоклакс плюс обинутузумаб (Fisher и др., *N Engl J Med* 380(23), 2019, сс. 2225-2236)), ибрутиниб плюс венетоклакс (Niemann и др., *Blood* 134, 2019, с. 4292; Tam и др., *ASH Annual Meeting*; 7-10 декабря 2019 г.; Orlando, FL. Реферат 35. bit.ly/2RvawBV) и акалабрутиниб индивидуально или в сочетании с обинутузумабом (Khani др., *Future Oncol* 15(6), 2019, сс. 579-589)), дало многообещающие результаты как при впервые диагностированном, так и при рецидивирующем/рефрактерном CLL. Несмотря на указанные успехи, CLL остается неизлечимым заболеванием без применения агрессивной терапии с трансплантацией стволовых клеток. В частности, пациенты, у которых наблюдался быстрый рецидив при применении комбинации ибрутиниба и венетоклакса, или пациенты с непереносимостью таргетной терапии, представляют собой группу, для которой сохраняется острая потребность в медицинских средствах. В целом, для пациентов с CLL, прежде всего для тех, у которых наблюдался быстрый рецидив при применении комбинации ибрутиниба и венетоклакса, или тех, у

которых имеется непереносимость таргетной терапии, существуют очень ограниченные варианты лечения.

Сохраняется неудовлетворенная потребность в вариантах лечения пациентов с CLL, например, тех, у которых произошел рецидив после лечения, или пациентов с непереносимостью доступных в настоящее время методов лечения.

Краткое изложение сущности изобретения

В настоящем описании представлены способы лечения людей, имеющих CLL, путем введения биспецифического антитела, которое связывается с CD3 и CD20, и в частности, обладающие преимуществом клинические схемы лечения.

Одним из объектов изобретения является способ лечения CLL, например, рецидивирующего и/или рефрактерного CLL, у человека, где способ включает введение (например, подкожно) субъекту в эффективном количестве биспецифического антитела (например, эпоритамаба), содержащего:

(I) первое связывающее плечо, которое содержит первую антигенсвязывающую область, которая связывается с человеческим CD3ε (эпсилон), и содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), в котором VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VH-области SEQ ID NO: 6, и VL-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VL-области SEQ ID NO: 7; и

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

в котором биспецифическое антитело вводят в дозе от 12 до 60 мг с использованием 28-дневных циклов. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе, составляющей (или в дозе, составляющей примерно) 12 мг, 24 мг, 48 мг или 60 мг. В некоторых

вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе, составляющей (или в дозе, составляющей примерно) 12 мг. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе, составляющей (или в дозе, составляющей примерно) 24 мг. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе, составляющей (или в дозе, составляющей примерно) 48 мг. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе, составляющей (или в дозе, составляющей примерно) 60 мг.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят один раз каждую неделю, например, с использованием 2,5 (двух с половиной) 28-дневных циклов (т.е. в дни 15 и 22 цикла 1 и дни 1, 8, 15 и 22 циклов 2-3). В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело после еженедельного введения вводят один раз каждые две недели, например, с использованием шести 28-дневных циклов. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят один раз каждые четыре недели после введения один раз в две недели. В следующем варианте осуществления изобретения примирующую дозу (например, 0,05-0,35 мг, например, 0,16 мг или примерно 0,16 мг) биспецифического антитела вводят за две недели до введения еженедельной дозы, составляющей 24 мг или 48 мг. В следующем варианте осуществления изобретения примирующую дозу вводят до промежуточной дозы, и промежуточную дозу вводят за одну неделю до введения первой еженедельной дозы, составляющей 24 мг или 48 мг.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят с использованием 28-дневных циклов, в которых:

- а) в цикле 1: примирующую дозу (например, 0,05-0,35 мг, например, 0,16 мг или примерно 0,16 мг) вводят в день 1, промежуточную дозу (например, 0,6-1,2 мг, например, 0,8 мг или примерно 0,8 мг) в день 8, а полную дозу, составляющую 12-60 мг (например, 12 мг, 24 мг, 48 мг или 60 мг), в дни 15 и 22;
- б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 12-60 мг (например, 12 мг, 24 мг, 48 мг или 60 мг) вводят в дни 1, 8, 15 и 22;
- в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 12-60 мг (например, 12 мг, 24 мг, 48 мг или 60 мг) вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 12-60 мг (например, 12 мг, 24 мг, 48 мг или 60 мг) вводят в день 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения субъект обладает непереносимостью ингибиторов ВТК (тирозинкиназа Брутона). В некоторых вариантах осуществления изобретения субъект получал по меньшей мере две предшествующие линии противоопухолевой терапии, при этом, например, по меньшей мере одна из двух предшествующих линий противоопухолевой терапии включала лечение ингибитором ВТК, таким как ибрутиниб. В некоторых вариантах осуществления изобретения CLL у субъекта является невосприимчивой к ингибитору ВТК (например, к ибрутинибу или акалабрутинибу). В следующем варианте осуществления изобретения у субъекта происходил рецидив CLL в процессе лечения ингибитором ВТК (ибрутинибом). В следующем варианте осуществления изобретения субъект имел рефрактерный и/или рецидивирующий CLL после получения двух предшествующих линий противоопухолевой терапии.

В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекта лечат с целью профилактики синдрома высвобождения цитокинов (CRS). В некоторых вариантах осуществления изобретения профилактика включает введение кортикостероида (например, преднизолона в дозе, например 100 мг или в эквивалентной дозе, включая оральную дозу), например, в один день с биспецифическим антителом. В некоторых вариантах осуществления изобретения кортикостероид вводят дополнительно во второй, третий и четвертый дни после введения биспецифического антитела.

В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекта подвергают предварительной медикаментозной подготовке (премедикации), такой как введение антигистаминного препарата (например, дифенгидрамина, внутривенно или орально в дозе, например, 50 мг или эквивалентной дозе) и/или жаропонижающего средства (например, ацетаминофена, в дозе, например, 560-1000 мг), для снижения реакций на инъекции. В некоторых вариантах осуществления изобретения премедикацию осуществляют в один день с введением биспецифического антитела.

В некоторых вариантах осуществления изобретения профилактическую обработку и премедикацию осуществляют в цикле 1. В некоторых вариантах

осуществления изобретения профилактическую обработку осуществляют в цикле 2, если у субъекта развивается CRS степени, превышающей 1, после последнего введения биспецифического антитела в цикле 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения профилактическую обработку

5 продолжают в следующем цикле, если после последнего введения биспецифического антитела в предыдущем цикле у субъекта развивается CRS степени, превышающей 1. В следующем варианте осуществления изобретения премедикацию осуществляют в цикле 2. В следующем варианте осуществления изобретения премедикацию осуществляют в последующих циклах.

10 В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекта лечат жаропонижающими средствами и гидратацией, если у субъекта развивается CRS степени 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекта лечат тоцилизумабом и/или дексаметазоном или его эквивалентом метилпреднизолоном, если у субъекта развивается CRS степени 2. В некоторых

15 вариантах осуществления изобретения субъекта лечат тоцилизумабом и дексаметазоном (например, в дозе 10-20 мг или его эквивалентом метилпреднизолоном, например, путем введения один раз каждые 6 ч), если у субъекта развивается CRS степени 3. В следующем варианте осуществления изобретения субъекта лечат тоцилизумабом и метилпреднизолоном (например, в

20 дозе 1000 мг/день), если у субъекта развивается CRS степени 4. В следующем варианте осуществления изобретения тоцилизумаб заменяют на силтуксимаб, если субъект не дает ответ на тоцилизумаб.

В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекта подвергают обработке с целью профилактики синдрома лизиса опухоли (TLS). В некоторых

25 вариантах осуществления изобретения обработка субъекта с целью профилактики TLS включает введение одного или нескольких агентов, снижающих уровень мочевой кислоты, перед введением биспецифического антитела. В некоторых вариантах осуществления изобретения в качестве агентов, снижающих уровень мочевой кислоты, вводят аллопуринол и

30 расбуриказу. В следующем варианте осуществления изобретения аллопуринол вводят по меньшей мере за 72 ч до введения биспецифического антитела. В следующем варианте осуществления изобретения расбуриказу вводят после введения аллопуринола и до введения биспецифического антитела. В некоторых

вариантах осуществления изобретения, когда у субъекта имеются признаки TLS, можно применять поддерживающую терапию, такую как расбуриказа и/или аллопуринол.

5 В некоторых вариантах осуществления изобретения у субъекта после лечения способами, представленными в настоящем описании, достигается полный ответ, частичный ответ или стабильное течение заболевания, например, по критериям ответа iwCLL.

10 В некоторых вариантах осуществления изобретения первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 4, последовательности GTN и SEQ ID NO: 5 соответственно; и вторая антигенсвязывающая область содержит VHCDR1, 15 VHCDR2 и VHCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 8, 9 и 10 соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, последовательности DAS и SEQ ID NO: 12 соответственно.

20 В некоторых вариантах осуществления изобретения первая антигенсвязывающая область биспецифического антитела содержит VH-область, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, и VL-область, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и вторая антигенсвязывающая область содержит VH-область, которая содержит 25 аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и VL-область, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

30 В некоторых вариантах осуществления изобретения первое связывающее плечо биспецифического антитела имеет происхождение из гуманизованного антитела, предпочтительно из полноразмерного антитела IgG1, λ (лямбда). В некоторых вариантах осуществления изобретения второе связывающее плечо биспецифического антитела имеет происхождение из человеческого антитела, предпочтительно из полноразмерного антитела IgG1, κ (каппа). В некоторых

вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляет собой полноразмерное антитело с константной областью человеческого IgG1.

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

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

30 Краткое описание чертежей

На чертежах показано:

на фиг. 1A-1B – серия графиков, демонстрирующих действие эпоритамаба на активацию CD4+ (фиг. 1A) и CD8+ (фиг. 1B) T-клеток, а также на

жизнеспособность В-клеток (фиг. 1В) в популяции РВМС, полученных из организма пациента с CLL (левая панель) и здорового донора (правая панель). Данные представлены в виде процентов \pm SD для дублирующих лунок для одного репрезентативного донора из трех протестированных доноров. На 5 панелях слева представлены результаты для РВМС из организма пациента с CLL (CFSE-негативный), на панелях справа – результаты для РВМС из организма здорового донора (CFSE-позитивный). Закрашенные кружки соответствуют эпкоритамабу, незакрашенные квадраты соответствуют контрольному биспецифическому антителу, содержащему CD3-специфическое плечо и контрольное (несвязывающееся) плечо, и незакрашенные треугольники 10 соответствуют контрольному биспецифическому антителу, содержащему CD20-специфическое плечо и контрольное (несвязывающееся) плечо;

на фиг. 2 – схема проведения клинического испытания. * Могут быть изучены дополнительные уровни доз (более высокие или более низкие). MTD: 15 максимальная переносимая доза, RP2D: доза, рекомендованная для фазы 2 для субъектов с R/R CLL.

Подробное описание изобретения

Определения

В контексте настоящего описания понятие «иммуноглобулин» относится к 20 классу структурно родственных гликопротеинов, состоящих из двух пар полипептидных цепей, одной пары легких (L) цепей с низкой молекулярной массой и одной пары тяжелых (H) цепей, в которых все четыре цепи соединены между собой дисульфидными связями. Структура иммуноглобулинов хорошо охарактеризована (см., например, Fundamental Immunology, глава 7 (под ред. 25 Paul W., 2-ое изд., изд-во Raven Press, N.Y. 1989). В целом, каждая тяжелая цепь, как правило, состоит из вариабельной области тяжелой цепи (которую сокращенно обозначают как V_H или V_H) и константной области тяжелой цепи (которую сокращенно обозначают как C_H или C_H). Константная область тяжелой цепи, как правило, состоит из трех доменов, C_{H1}, C_{H2} и C_{H3}. Шарнирная 30 область представляет собой область между доменами C_{H1} и C_{H2} тяжелой цепи и является очень гибкой. Дисульфидные связи в шарнирной области являются элементами, обеспечивающими взаимодействия между двумя тяжелыми цепями в молекуле IgG. Каждая легкая цепь, как правило, состоит из вариабельной

области легкой цепи (которую сокращенно обозначают как VL или V_L) и константной области легкой цепи (которую сокращенно обозначают как CL или C_L). Константная область легкой цепи, как правило, состоит из одного домена, CL. VH- и VL-области можно дополнительно подразделять на области гипервариабельности (или гипервариабельные участки, которые могут быть гипервариабельными по последовательности и/или могут образовывать структурно определенные петли), которые обозначают также как определяющие комплементарность участки (CDR), перемежающиеся с более консервативными участками, которые обозначают как каркасные участки (FR). Каждая VH и VL, как правило, состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных в направлении от аминоконца к карбоксильному концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4 (см. также Chothia и Lesk, J Mol Biol 196, 1987, с. 90117). Если не указано иное или если это не противоречит контексту, то последовательности CDR в настоящем описании идентифицируют в соответствии с правилами IMGT (Brochet X., Nucl Acids Res 36, 2008, сс. 503-508; Lefranc M.P., Nucl Acids Res 27, 1999, сс. 209-212; www.imgt.org/). Если не указано иное или если это не противоречит контексту, то ссылку на аминокислотные положения в константных областях осуществляют согласно EU-нумерации (Edelman и др., PNAS 63, 1969, сс. 78-85; Kabat и др., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5-ое изд., 1991, публикация NIH № 91-3242). Например, в SEQ ID NO: 15 представлены аминокислотные положения 118-447 согласно EU-нумерации константной области тяжелой цепи IgG1.

В контексте настоящего описания понятие «аминокислота, соответствующая положению ...» относится к номеру аминокислотного положения в тяжелой цепи человеческого IgG1. Соответствующие аминокислотные положения в других иммуноглобулинах можно определять путем сравнительного анализа первичной структуры с человеческим IgG1. Так, аминокислота или сегмент в одной последовательности, которая/который «соответствует» аминокислоте или сегменту в другой последовательности, представляет собой аминокислоту или сегмент, которую/который выравнивают с другой аминокислотой или сегментом с использованием стандартной программы сравнительного анализа первичной структуры последовательностей, такой как ALIGN, ClustalW или сходной программы, как правило, с использованием

задаваемых по умолчанию параметров, и которая/который обладает по меньшей мере 50%-ной, по меньшей мере 80%-ной, по меньшей мере 90%-ной или по меньшей мере 95%-ной идентичностью с тяжелой цепью человеческого IgG1.

Обычный специалист в данной области может осуществлять выравнивание последовательности или сегмента в последовательности и тем самым определять положение в последовательности, соответствующее аминокислотному положению, указанному в настоящем изобретении.

В контексте настоящего изобретения понятие «антитело» (Ат) относится к молекуле иммуноглобулина, которая обладает способностью специфически связываться с антигеном в обычных физиологических условиях со значительным временем полужизни, составляющим по меньшей мере, примерно 30 мин, по меньшей мере примерно 45 мин, по меньшей мере примерно 1 ч, по меньшей мере примерно 2 ч, по меньшей мере примерно 4 ч, по меньшей мере примерно 8 ч, по меньшей мере примерно 12 ч, примерно 24 ч или более, примерно 48 ч или более, примерно 3, 4, 5, 6, 7 или более дней и т.д. или с любым другим релевантным функционально значимым периодом (таким как период времени, достаточный для того, чтобы индуцировать, способствовать, усиливать и/или модулировать физиологический ответ, ассоциированный со связыванием антитела с антигеном, и/или достаточный для приобретения антителом эффекторной активности). Варибельные области тяжелых и легких цепей молекулы иммуноглобулина содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Если не указано иное, то понятие «антитело» включает также поликлональные антитела, моноклональные антитела (МАт), антителоподобные полипептиды, химерные антитела и гуманизированные антитела. Созданное антитело может иметь любой изотип.

В контексте настоящего описания понятие «фрагмент антитела» или «антигенсвязывающий фрагмент» относится к фрагменту молекулы иммуноглобулина, который сохраняет способность специфически связываться с антигеном, и который можно создавать с помощью любого известного метода, такого как ферментативное расщепление, пептидный синтез и технологии рекомбинации. Примеры фрагментов антител включают (I) Fab'- или Fab-фрагмент, одновалентный фрагмент, состоящий из VL-, VH-, CL- и CH1-доменов, или одновалентное антитело, описанное в WO 2007/059782 (фирма

Genmab); (II) F(ab')₂-фрагменты, двухвалентные фрагменты, состоящие из двух Fab-фрагментов, сцепленных дисульфидными мостиком в шарнирной области; (III) Fd-фрагмент, состоящий в основном из VH- и CH1-доменов; (IV) Fv-фрагмент, состоящий в основном из VL- и VH-доменов одного плеча антитела
5 (V) dAb-фрагмент (Ward и др., Nature 341, 1989, с. 54446), который состоит в основном из VH-домена, который относят также к доменным антителам (Holt и др., Trends Biotechnol 21, 2003, сс. 484-490); (VI) верблюжьих антител или нанотел (Reverts и др., Expert Opin Biol Ther 5, 2005, сс.111-224) и (VII) выделенный определяющий комплементарный участок (CDR). Кроме того,
10 хотя два домена Fv-фрагмента, VL и VH, кодируются различными генами, их можно связывать, используя методы рекомбинации, с помощью синтетического линкера, который позволяет получать их в виде единой белковой цепи, в которой VL- и VH-области объединены с образованием одновалентных молекул (известных как одноцепочечные антитела или одноцепочечный Fv (scFv), см.,
15 например, Bird и др., Science 242, 1988, с. 42326 и Huston и др., PNAS 85, 1985, с. 587983). Указанные одноцепочечные антитела подпадают также под понятие «фрагмент антитела», если иное не указано или четко не следует из контекста.

В контексте настоящего описания понятие «связывающая область антитела» или «антигенсвязывающая область» относится к области, которая
20 взаимодействует с антигеном и содержит и VH-, и VL-области. Понятие «антитело», применяемое в контексте настоящего описания, относится не только к моноспецифическим антителам, но также и к мультиспецифическим антителам, которые содержат несколько, например, две или большее количество, например, три или большее количество, различных антигенсвязывающих
25 областей. Понятие «антигенсвязывающая область», если иное не указано или явно не противоречит контексту, включает фрагменты антитела, которые представляют собой антигенсвязывающие фрагменты, т.е. сохраняют способность специфически связываться с антигеном.

В контексте настоящего описания понятие «изотип» относится к классу
30 иммуноглобулина (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE или IgM), который кодируется генами константных областей тяжелых цепей. Касательно конкретного изотипа, например, IgG1, понятие не ограничено конкретной последовательностью изотипа, например, конкретной последовательностью

IgG1, а его применяют для указания на то, что антитело ближе по последовательности к этому изотипу, например IgG1, чем к другим изотипам. Так, например, антитело изотипа IgG1 может представлять собой вариант последовательности встречающегося в естественных условиях антитела изотипа IgG1, которая может включать вариации в константных областях.

5 В контексте настоящего описания понятие «биспецифическое антитело» или «bs» или «bsAt» относится к антителу, имеющему две различные антигенсвязывающие области, определяемыми различными последовательностями антител. Биспецифическое антитело может иметь любой формат.

10 В контексте настоящего описания понятия «полумолекула», «Fab-плечо» и «плечо» относятся в одной паре тяжелая цепь – легкая цепь.

15 Когда биспецифическое антитело описывают как антитело, содержащее полумолекулу антитела, «имеющую происхождение» из первого родительского антитела, и полумолекулу антитела, «имеющую происхождение» из второго родительского антитела, по понятие «имеет происхождение» означает, что биспецифическое антитело создавали путем рекомбинации с помощью любого известного метода указанных полумолекул из каждого из указанных первого и второго родительских антител с получением в результате биспецифического антитела. В этом контексте не подразумевается, что «рекомбинация» ограничена

20 каким-либо конкретным методом рекомбинации, и, таким образом, она включает все методы получения биспецифических антител, указанные в настоящем описании, включая, например, рекомбинацию путем обмена полумолекул (также известную как «контролируемый обмен Fab-плечей»), а также рекомбинацию на

25 уровне нуклеиновых кислот и/или посредством совместной экспрессии двух полумолекул в одних и тех же клетках.

30 В контексте настоящего описания понятие «полноразмерное» касательно антитела указывает на то, что антитело не представляет собой фрагмент, а содержит все домены конкретного изотипа, которые в норме характерны для этого изотипа в естественных условиях, например, VH-, CH1-, CH2-, CH3- домены, шарнир, VL и CL-домены в случае антитела изотипа IgG1. Полноразмерное антитело можно конструировать. Примером «полноразмерного» антитела является эпоритамаб.

В контексте настоящего описания понятие «Fc-область» относится к области антитела, которая состоит из Fc-последовательностей двух тяжелых цепей иммуноглобулина, при этом Fc-последовательности содержат по меньшей мере шарнирную область, CH2-домен и CH3-домен.

5 В контексте настоящего описания понятие «гетеродимерное взаимодействие между первым и вторым CH3-участками» относится к взаимодействию между первым CH3-участком и вторым CH3-участком в гетеродимерном белке первый-CH3/второй-CH3.

10 В контексте настоящего описания понятие «гомодимерное взаимодействие между первым и вторым CH3-участками» относится к взаимодействию между первым CH3-участком и другим первым CH3-участком в гомодимерном белке первый-CH3/первый-CH3 и к взаимодействию между вторым CH3-участком и другим вторым CH3-участком в гомодимерном белке второй-CH3/второй CH3.

15 В контексте настоящего описания понятие «связывание» касательно связывания антитела с заданным антигеном относится к аффинности, характеризующейся величиной K_D , составляющей примерно 10^{-6} М или менее, например, 10^{-7} М или менее, такой как примерно 10^{-8} М или менее, такой как примерно 10^{-9} М или менее, примерно 10^{-10} М или менее или примерно 10^{-11} М или еще ниже, при определении, например, с помощью технологии бислойной
20 интерферометрии (BLI) с использованием устройства Octet НТХ, при применении антитела в качестве лиганда и антигена в качестве аналита, и когда антитело связывается с заданным антигеном с аффинностью, характеризующейся величиной K_D , которая по меньшей мере в десять раз ниже, например, по меньшей мере в 1000 раз ниже, например, по меньшей мере в
25 10000 раз ниже, например, по меньшей мере в 100000 раз ниже, чем величина K_D , характеризующая связывание с неспецифическим антигеном (например, БСА, казеин), отличным от заданного антигена или близкородственного антигена. Относительная величина, определяющая, во сколько раз величина K_D , характеризующая связывание, является более низкой, зависит от величины K_D
30 антитела, так, когда величина K_D антитела является очень низкой, относительная величина, определяющая, во сколько раз величина K_D , характеризующая связывание с антигеном, ниже величины K_D , характеризующей связывание с

неспецифическим антигеном, может составлять по меньшей мере 10000 (т.е. антитело является высоко специфическим).

В контексте настоящего описания понятие « K_D » (M) относится к константе равновесия диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. В
5 контексте настоящего описания аффинность и K_D находятся в обратной зависимости, то есть более высокая аффинность соответствует более низкой величине K_D , а более низкая аффинность соответствует более высокой величине K_D .

В контексте настоящего описания понятие «выделенное антитело»
10 относится к антителу, которое практически свободно от других антител с другими антигенными специфичностями. В предпочтительном варианте осуществления изобретения выделенное биспецифическое антитело, которое специфически связывается с CD20 и CD3, кроме того, практически свободно от
15 моноспецифических антител, которые специфически связываются с CD20 или CD3.

В контексте настоящего описания понятие «CD3» относится к белку человеческого кластера дифференцировки 3, который является частью белкового комплекса Т-клеточного корцептора и состоит из четырех различных цепей. CD3 встречается также в других видах и поэтому понятие «CD3» не ограничено
20 человеческим CD3, если это не противоречит контексту. У млекопитающих комплекс содержит CD3 γ -(гамма) цепь (человеческая CD3 γ -цепь UniProtKB/Swiss-Prot № P09693 или CD3 γ обезьян циномоглус UniProtKB/Swiss-Prot № Q95LI7), CD3 δ -(дельта) цепь (человеческая CD3 δ -цепь UniProtKB/Swiss-Prot № P04234 или CD3 δ обезьян циномоглус UniProtKB/Swiss-Prot № Q95LI8),
25 две CD3 ϵ -(эпсилон) цепи (человеческая CD3 ϵ UniProtKB/Swiss-Prot № P07766, SEQ ID NO: 28); CD3 ϵ циномоглус UniProtKB/Swiss-Prot № Q95LI5; или CD3 ϵ макак резус UniProtKB/Swiss-Prot № G7NCB9), и CD3 ζ -цепь (дзета)-цепь (человеческая CD3 ζ UniProtKB/Swiss-Prot № P20963, CD3 ζ обезьян циномоглус UniProtKB/Swiss-Prot № Q09TK0). Эти цепи связываются с молекулой,
30 известной как Т-клеточный рецептор (TCR), и генерируют сигнал активации в Т-лимфоцитах. Молекулы TCR и CD3 вместе составляют комплекс TCR.

В контексте настоящего описания понятие «антитело к CD3» или «анти-CD3 антитело» относится к антителу, которое специфически связывается с антигеном CD3, в частности, с человеческой CD3ε- (эпсилон) цепью.

5 Понятие «человеческий CD20» или «CD20» относится к человеческому CD20 (UniProtKB/Swiss-Prot № P11836, SEQ ID NO: 29) и включает любые варианты, изоформы и видовые гомологи CD20, которые экспрессируются в естественных условиях клетками, включая опухолевые клетки, или экспрессируются на клетках, трансфектированных геном или кДНК CD20. Видовые гомологи включают CD20 макак резус (*Macaca mulatta*;
10 UniProtKB/Swiss-Prot № H9YXP1) и CD20 обезьян циномоугус (макак-крабоед) (*Macaca fascicularis*; UniProtKB № G7PQ03).

В контексте настоящего описания понятие «антитело к CD20» или «анти-CD20 антитело» относится к антителу, которое специфически связывается с антигеном CD20, в частности, с человеческим CD20.

15 В контексте настоящего описания понятие «антитело к CD3xCD20», «анти-CD3xCD20 антитело», «антитело CD20xCD3» или «анти-CD20xCD3 антитело» относится к биспецифическому антителу, которое содержит две различные антигенсвязывающие области, одна из которых специфически связывается с антигеном CD20, и одна из которых специфически связывается с CD3.

20 В контексте настоящего описания понятие «DuoBody-CD3xCD20» относится к биспецифическому антителу CD3xCD20 в виде IgG1, содержащему первую пару тяжелой и легкой цепей, которые указаны в SEQ ID NO: 24 и SEQ ID NO: 25 соответственно, и содержащему вторую пару тяжелой и легкой цепей, которые указаны в SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27. Первая пара тяжелой и легкой цепей содержит область, которая связывается с человеческой CD3ε-
25 (эпсилон) цепью, вторая пара тяжелой и легкой цепей содержит область, которая связывается с человеческим CD20. Первая связывающая область содержит последовательности VH и VL, указанные в SEQ ID NO: 6 и 7, а вторая связывающая область содержит последовательности VH и VL, указанные в SEQ
30 ID NO: 13 и 14. Указанное биспецифическое антитело можно получать согласно методу, описанному в WO 2016/110576.

В настоящем описании представлены также антитела, содержащие функциональные варианты тяжелой цепи, легких цепей, областей VL, областей

VH или одного или нескольких CDR антител из числа указанных в примерах. Применяемый в контексте антитела «функциональный вариант тяжелой цепи, легкой цепи, VL, VH или CDR» означает вариант, который все еще обеспечивает сохранение антителом по меньшей мере существенной доли (по меньшей мере 5 примерно 90%, 95% или более) функциональных свойств «эталонного» и/или «родительского» антитела, включая аффинность и/или специфичность/селективность в отношении конкретных эпитопов CD20 и/или CD3, инертность Fc и ФК-параметры, такие как время полужизни, T_{max}, C_{max}. Указанные функциональные варианты, как правило, сохраняют существенную 10 идентичность последовательности с родительским антителом и/или имеют практически сходную длину тяжелых и легких цепей. Процент идентичности между двумя последовательностями является функцией количества идентичных положений, характерных для последовательностей (т.е. % гомологии = количество идентичных положений / общее количество положений × 100), 15 учитывая количество брешей и длину каждой бреши, которые необходимо интродуцировать для оптимального выравнивания двух последовательностей. Процент идентичности между двумя нуклеотидными или аминокислотными последовательностями можно определять, например, используя алгоритм, предложенный E. Meyers и W. Miller, Comput. Appl. Biosci 4, 1988, сс. 11-17, 20 который включен в программу ALIGN (версия 2.0), используя таблицу веса остатков PAM120, штраф за длину бреши 12 и штраф за брешь 4. Кроме того, процент идентичности между двумя аминокислотными последовательностями можно определять с помощью алгоритма, предложенного Needleman и Wunsch, J. Mol. Biol. 48, 1970, сс. 444-453. Примеры вариантов включают варианты, 25 которые отличаются от последовательностей тяжелых и/или легких цепей, VH и/или VL, и/или CDR-участков родительского антитела в основном консервативными заменами, например, 10, например, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 замена, в варианте могут представлять собой замены консервативных аминокислотных остатков.

30 Консервативные замены можно рассматривать как замены в пределах классов аминокислот, которые представлены ниже в таблице:

Таблица 1: Классы аминокислотных остатков для консервативных замен

Кислые остатки	Asp (D) и Glu (E)
Основные остатки	Lys (K), Arg (R) и His (H)

Гидрофильные незаряженные остатки	Ser (S), Thr (T), Asn (N) и Gln (Q)
Алифатические незаряженные остатки	Gly (G), Ala (A), Val (V), Leu (L) и Ile (I)
Неполярные незаряженные остатки	Cys (C), Met (M) и Pro (P)
Ароматические остатки	Phe (F), Tyr (Y) и Trp (W)

Если не указано иное, то для описания мутации применяют следующую номенклатуру: I) замену аминокислоты в данном положении записывают, например, как K409R, что означает замену лизина в положении 409 на аргинин; и II) для конкретных вариантов применяют определенные трехбуквенные или 5
однобуквенные коды, включая коды Хаа и X для обозначения любого аминокислотного остатка. Так, замену лизина на аргинин в положении 409 обозначают как: K409R, и замену лизина на любой аминокислотный остаток в положении 409 обозначают как K409X. Делецию лизина в положении 409 обозначают как K409*.
10

В контексте настоящего описания понятие «гуманизированное антитело» относится к генетически сконструированному нечеловеческому антителу, которое содержит константные домены человеческого антитела и переменные домены нечеловеческого антитела, модифицированные так, чтобы они обладали 15
высоким уровнем гомологии последовательности с человеческими переменными доменами. Для достижения этого можно трансплантировать шесть CDR нечеловеческого антитела, которые вместе образуют антигенсвязывающий центр, в гомологичную человеческую акцепторную каркасную область (FR) (см. WO 92/22653 и EP0629240). Для полного 20
восстановления аффинности и специфичности связывания родительского антитела может требоваться замена каркасных остатков из родительского антитела (т.е. нечеловеческого антитела) на остатки человеческой каркасной области (обратные мутации). Моделирование структурной гомологии может способствовать идентификации аминокислотных остатков в каркасных областях, 25
которые являются важными для связывающих свойств антитела. Таким образом, гуманизированное антитело может содержать последовательности нечеловеческих CDR, преимущественно человеческие каркасные области, необязательно содержащие одну или более обратных мутаций аминокислот в нечеловеческую аминокислотную последовательность, и полностью 30
человеческие константные области. VH и VL CD3-плеча, которые применяют в DuoBody-CD3xCD20, представляют собой гуманизированную

антигенсвязывающую область. Необязательно можно применять дополнительные аминокислотные мутации, которые необязательно представляют собой обратные мутации, для получения гуманизированного антитела с предпочтительными характеристиками, такими как аффинность и биохимические свойства.

В контексте настоящего описания понятие «человеческое антитело» относится к антителам, которые имеют переменные и константные области, имеющие происхождение из последовательностей иммуноглобулинов человеческой зародышевой линии. Человеческие антитела могут включать аминокислотные остатки, которые не кодируются последовательностями иммуноглобулинов человеческой зародышевой линии (например, мутации, интродуцированные с помощью случайного или сайт-специфического мутагена *in vitro* или с помощью соматической мутации *in vivo*). Однако в контексте настоящего описания не подразумевается, что «человеческое антитело» включает антитела, в которых последовательности CDR, имеющие происхождение из зародышевой линии антител других видов млекопитающих, таких как мыши, трансплантированы в последовательности человеческих каркасных участков. VH и VL CD3-плеча, которые применяют в DuoBody-CD3xCD20, представляют собой человеческую антигенсвязывающую область.

Человеческие моноклональные антитела, предлагаемые в изобретении, можно получать с помощью различных методов, включая общепринятую методологию для моноклональных антител, например, стандартный метод гибридизации соматических клеток, описанный у Kohler и Milstein, Nature 256, 1975, с. 495. Хотя процедуры гибридизации соматических клеток являются предпочтительными, в принципе, можно применять другие методы получения моноклонального антитела, методы вирусной или онкогенной трансформации В-лимфоцитов или методы фагового дисплея с использованием библиотек генов человеческих антител. Приемлемой системой на основе животных для получения гибридом, которые секретируют человеческие моноклональные антитела, является мышьяная система. Получение гибридом в мышах представляет собой очень хорошо изученную процедуру. Протоколы иммунизации и методы выделения после иммунизации спленоцитов для слияния известны в данной области. Известны также применяемые для слияния партнеры (например, клетки

мышинной миеломы) и процедуры слияния. Таким образом, моноклональные антитела можно создавать с использованием, например, трансгенных или трансхромосомных мышей или крыс, которые несут компоненты иммунной системы человека вместо системы мышей или крыс. Таким образом, в одном из вариантов осуществления изобретения человеческое антитело получают из трансгенного животного, такого как мышь или крыса, несущего последовательности иммуноглобулинов человеческой зародышевой линии вместо последовательностей иммуноглобулинов животных. В указанных вариантах осуществления изобретения антитело создают из последовательностей иммуноглобулинов человеческой зародышевой линии, интродуцированных в животного, однако последовательность конечного антитела является результатом указанных последовательностей иммуноглобулинов человеческой зародышевой линии, дополнительно модифицированных с помощью соматических гипермутаций и процедуры созревания аффинности с использованием технологии, применяемой для эндогенного антитела животного (см., например, Mendez и др., Nat Genet 15, 1997, сс. 146-156). VH CD3-плеча и VL CD3-плеча, которые применяют в DuoBody-CD3xCD20, представляют собой человеческую антигенсвязывающую область.

В контексте настоящего описания понятие «биоаналог» (например, одобренный эталонный продукт/биологическое лекарственное средство) применяют для обозначения биологического продукта, основываясь на данных (а) аналитических исследований, демонстрирующих, что биологический продукт весьма схож с эталонным продуктом, несмотря на незначительные различия в клинически неактивных компонентах; (б) опытов на животных (включая оценку токсичности); и/или (в) клинического(их) исследования или исследований (включая оценку иммуногенности и фармакокинетики или фармакодинамики), достаточных для демонстрации безопасности, чистоты и эффективности в одном или нескольких соответствующих условиях применения, для которых эталонный продукт одобрен и предназначен для использования и для которых испрашивается одобрение (например, на основе отсутствия клинически значимых различий между биологическим продуктом и эталонным продуктом с точки зрения безопасности, чистоты и эффективности продукта). В некоторых вариантах осуществления изобретения представляющий собой биоаналог

биологический продукт и эталонный продукт имеет одинаковый(ые) механизм или механизмы действия в условии или условиях применения, предписанных, рекомендованных или предложенных в предлагаемой этикетке, но только в той мере, в какой механизм или механизмы действия известны для эталонного продукта. В некоторых вариантах осуществления изобретения условие или условия применения, предписанные, рекомендованные или предложенные в этикетке, предлагаемой для биологического продукта, ранее одобрены для эталонного продукта. В некоторых вариантах осуществления изобретения путь введения, лекарственная форма и/или активность биологического продукта являются такими же, как и у эталонного продукта. Биоаналог может представлять собой, например, известное к настоящему времени антитело, имеющее такую же первичную структуру аминокислотной последовательности, что и поступающее в продажу антитело, но может быть получено в других типах клеток или другими методами получения, очистки и приготовления препаративной формы.

В контексте настоящего описания понятие «восстанавливающие условия» или «восстанавливающая среда» относится к условиям или среде, в которых субстрат, в настоящем описании остаток цистеина в шарнирной области антитела, с большей вероятностью будет восстановлен, чем окислен.

В контексте настоящего описания понятие «рекомбинантная клетка-хозяин» (или просто «клетка-хозяин») предназначено для обозначения клетки, в которую интродуцирован экспрессионный вектор, например, экспрессионный вектор, который кодирует антитело, представленное в настоящем описании. Рекомбинантные клетки-хозяева включают, например, трансфектомы, такие как клетки CHO, CHO-S, HEK, HEK293, HEK-293F, Expi293F, PER.C6 или NS0 и лимфоцитарные клетки.

В контексте настоящего описания понятие «хронический лимфолейкоз» или «CLL» относится к нарушению морфологически зрелых, но иммунологически менее зрелых лимфоцитов и проявляется в виде постепенного накопления этих клеток в крови, костном мозге и лимфатических тканях. CLL можно диагностировать и классифицировать на основе классификации ВОЗ, включенной в настоящее описание в качестве ссылки (Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. и др., WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid

Tissues (пересмотренное 4-ое изд.), изд-во Lyon, France: IARC Press , 2017; Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. и др., WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (4-ое изд.), изд-во Lyon, France: IARC Press, 2008). CLL начинается с лимфоцитов в костном мозге и он чаще всего встречается у лиц возрастом >50 лет. Он характеризуется клональной пролиферацией и накоплением зрелых В-лимфоцитов, что в конечном итоге приводит к моноклональному В-клеточному лимфоцитозу (см. обзор Uhm, Blood Res 55, 2020, сс. 72-82). При CLL моноклональные В-клетки экспрессируют несколько маркеров, характерных для зрелых активированных В-лимфоцитов, включая CD5, CD19, CD20 и CD23, а также характеризуются пониженным уровнем экспрессии IgGM, IgGD и CD79b (Chiorazzi и др., N Engl J Med 352, 2005, сс. 804-815). Известно несколько прогностических маркеров этого заболевания, включая мутации в гене *IGHV*, мутации в *TP53*, *del(17p)* и *del(11q)* (Wierda и др., J Clin Oncol 29, 2011, сс. 4088-4095; Rossi и др., Blood 121, 2013, сс. 1403-1412; CLL-IPI, Lancet Oncol 17, 2016, сс. 779-790). Варианты лечения CLL включают, например, применение химиотерапии, ингибиторов BCL2, ингибиторов ВТК, ингибиторов PI3Kδ, индивидуально или в комбинации с антителами к CD20 (Uhm, 2020, выше).

Понятие «лечение» относится к введению в эффективном количестве терапевтически активного антитела, указанного в настоящем описании, с целью ослабления, улучшения состояния, купирования или искоренения (излечения) симптомов или болезненных состояний, таких как CLL. Лечение может приводить к полному ответу (CR), частичному ответу (PR) или стабильному течению заболевания (SD), например, согласно критериям ответа по iwCLL, которые представлены в таблице 2. Лечение можно продолжать, например, до прогрессирования заболевания (PD) или до проявления неприемлемой токсичности.

В контексте настоящего описания понятие «процесс введения» или «введение» относится к физической интродукции композиции (или препаративной формы), содержащей терапевтический агент, субъекту с использованием различных методов и систем доставки, известных специалистам в данной области. Предпочтительные пути введения антител, указанных в настоящем описании, включают внутривенный, внутривнутрибрюшинный,

внутримышечный, подкожный, спинномозговой или другие парентеральные пути введения, например, с помощью инъекции или инфузии. В контексте настоящего описания фраза «парентеральное введение» означает методы введения, отличные от энтерального и местного введения, обычно путем инъекции, и включают (но не ограничиваясь только ими) внутривенные, внутривенные, внутримышечные, внутриартериальные, интратекальные, внутрилимфатические, вводимые внутрь повреждения, интракапсулярные, интраорбитальные, внутрисердечные, внутрикожные, транстрахеальные, подкожные, субкутикулярные, внутрисуставные, субкапсулярные, субарахноидальные, внутриспинальные, эпидуральные и интратеральные инъекции и инфузии, а также электропорацию *in vivo*. Альтернативно этому, терапевтический агент, указанный в настоящем описании, можно вводить непарентеральным путем, таким как местный, эпидермальный путь введения или введение через слизистые оболочки, например, интраназально, орально, вагинально, ректально, подъязычно или местно. Введение можно осуществлять также, например, один раз, несколько раз и/или в течение одного или нескольких длительных периодов времени. В указанных в настоящем описании способах биспецифическое антитело (например, эпоритамаб) вводят подкожно. Другие агенты, применяемые в комбинации с биспецифическим антителом, например, для профилактики синдрома высвобождения цитокинов или профилактики синдрома лизиса опухоли (TLS), можно вводить другими путями, например, внутривенно или орально.

Понятие «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения требуемого терапевтического результата. Например, указанные в настоящем описании дозы для биспецифического антитела (например, эпоритамаба), составляющие от 12 до 60 мг, которые вводят подкожно, можно рассматривать как «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество». Терапевтически эффективное количество антитела может варьироваться в зависимости от таких факторов, как состояние болезни, возраст, пол и вес индивидуума и способность антитела вызвать требуемый ответ у индивидуума. Терапевтически эффективное количество может представлять собой также количество, в котором любые

токсические или вредные действия антитела или фрагмента антитела перевешиваются терапевтически полезными действиями. В некоторых вариантах осуществления изобретения у пациентов, получающих лечение способами, указанными в настоящем описании, должно наблюдаться улучшение показателей

5 состояния по шкале ECOG. Терапевтически эффективное количество или терапевтически эффективная доза лекарственного средства включает «профилактически эффективное количество» или «профилактически эффективную дозу», которое/которая представляет собой любое количество лекарственного средства, при введении которого индивидуально или в

10 комбинации с другим терапевтическим агентом субъекту, имеющему риск развития заболевания или нарушения (например, синдрома высвобождения цитокинов) или имеющему рецидив заболевания, ингибирует развитие или рецидив заболевания.

В контексте настоящего описания понятие «ингибирует рост» опухоли

15 включает любое поддающееся измерению снижение роста опухоли, например, ингибирование роста опухоли по меньшей мере примерно на 10%, например, по меньшей мере примерно на 20%, по меньшей мере примерно на 30%, по меньшей мере примерно на 40%, по меньшей мере примерно на 50%, по меньшей мере примерно на 60%, по меньшей мере примерно на 70%, по

20 меньшей мере примерно на 80%, по меньшей мере примерно на 90%, по меньшей мере примерно на 99% или на 100%.

В контексте настоящего описания понятие «субъект» относится к больному человеку (пациенту), например, пациенту, страдающему CLL. Понятия «субъект» и «пациент» в настоящем описании используют взаимозаменяемо.

25 В контексте настоящего описания понятие «буфер» означает фармацевтически приемлемый буфер. Под понятие «буфер» подпадают такие агенты, которые поддерживают величину pH раствора, например, в приемлемом диапазоне, и включают (но не ограничиваясь только ими) ацетатный, гистидиновый, TRIS® (три(гидроксиметил)аминометан), цитратный,

30 сукцинатный, гликолатный буфер и т.п. Как правило, в контексте настоящего описания «буфер» имеет величину pKa и буферную емкость, пригодную для диапазона pH от примерно 5 до примерно 6, предпочтительно примерно 5,5.

В контексте настоящего описания понятие «прогрессирование заболевания» или «PD» относится к ситуации, при которой один или несколько признаков CLL свидетельствует(ют) о том, что заболевание прогрессирует, несмотря на лечение. В некоторых вариантах осуществления изобретения прогрессирование

5 заболевание определяют на основе критериев ответа iwCLL, представленных в таблице 2.

В контексте настоящего описания понятие «поверхностно-активное вещество» представляет собой соединение, которое, как правило, используют в фармацевтических препаративных формах для предупреждения адсорбции

10 лекарственного средства на поверхности или его агрегации. Кроме того, поверхностно-активные вещества снижают поверхностное натяжение (или межфазное натяжение) между двумя жидкостями или между жидкостью и твердым веществом. Так, приведенное в качестве примера поверхностно-активное вещество может существенно снижать поверхностное натяжение,

15 присутствуя в очень низких концентрациях (например, 5% (мас./об.) или менее, например, 3% (мас./об.) или менее, например, 1% (мас./об.) или менее, например, 0,4% (мас./об.) или менее, например, менее 0,1% (мас./об.) или менее, например, 0,04% (мас./об.)). Поверхностно-активные вещества являются амфифильными, это означает, что они, как правило, состоят как из гидрофильных, так и из

20 гидрофобных или липофильных групп, в результате они могут образовывать мицеллы или аналогичные способные к самосборке структуры в водных растворах. Известные поверхностно-активные вещества, пригодные для фармацевтического применения, включают глицеринмоноолеат, хлорид бензетония, докузат натрия, фосфолипиды, простые полиэтиленалкиловые

25 эфиры, лаурилсульфат натрия и трикаприлин (анионогенные поверхностно-активные вещества); хлорид бензалкония, цитримид, хлорид цетилпиридиния и фосфолипиды (катионогенные поверхностно-активные вещества); и альфа-токоферол, глицеринмоноолеат, миристиловый спирт, фосфолипиды, полочсамеры, простые полиоксиэтиленалкиловые эфиры, производные

30 полиоксиэтиленового касторового масла, эфиры жирных кислот и полиоксиэтиленсорбинтана, полиоксиэтиленстерараты, полиоксилгидроксистеарат, полиоксилглицериды, полисорбаты, такие как полисорбат 20 или полисорбат 80, дилаурат пропиленгликоля, монолаурат

пропиленгликоля, сложные эфиры сорбитана, пальмитат сахарозы, стеарат сахарозы, трикаприлин и TPGS (неионогенные и цвиттерионные поверхностно-активные вещества).

В контексте настоящего описания понятие «разбавитель» относится к разбавителю, который является фармацевтически приемлемым (безопасным и нетоксичным при введении человеку) и который можно применять для приготовления растворов фармацевтической композиции или фармацевтической препаративной формы (в настоящем описании понятия «композиция» и «препаративная форма (препарат)» используют взаимозаменяемо.

Предпочтительно, такие разведения композиции снижают только концентрацию антитела, но не буфера и стабилизатора. Таким образом, в одном из вариантов осуществления изобретения разбавитель содержит такие же концентрации буфера и стабилизатора, что и присутствующие в фармацевтической композиции, предлагаемой в изобретении. Дополнительные примеры разбавителей включают стерильную воду, бактериостатическую воду для инъекции (BWFI), pH-забуферивающий раствор, который предпочтительно представляет собой ацетатный буфер, стерильный физиологический раствор, раствор Рингера или раствор декстрозы. В одном из вариантов осуществления изобретения разбавитель содержит или практически состоит из ацетатного буфера и сорбита.

В контексте настоящего описания понятие «примерно» означает $\pm 10\%$ от заданного значения.

Схемы лечения CLL

В настоящем описании представлены способы лечения CLL у человека с использованием биспецифического антитела, которое связывается с CD3 и с CD20 («анти-CD3xCD20 антитело»), например, выделенного анти-CD3xCD20 антитела, которое связывается с человеческим CD3 и человеческим CD20. Способы можно применять также для лечения рецидивирующего или рефрактерного CLL (R/R CLL). Должно быть очевидно, что способы лечения CLL с помощью биспецифического антитела, которое связывается и с CD3, и с CD20, представленного в настоящем описании, предусматривают также соответствующее применение биспецифического антитела для лечения CLL у человека.

Таким образом, одним из объектов изобретения, представленного в настоящем описании, является способ лечения CLL у человека, где способ включает введение (например, подкожно) субъекту в эффективном количестве биспецифического антитела, содержащего:

5 (I) первое связывающее плечо, которое содержит первую антигенсвязывающую область, которая связывается с человеческим CD3ε (эпсилон), и содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), в которой VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в
10 последовательности VH-области SEQ ID NO: 6, и VL-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VL-области SEQ ID NO: 7; и

(II) второе связывающее плечо, которое содержит вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с человеческим CD20, и
15 содержит VH-область и VL-область, в которой VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VH-области SEQ ID NO: 13, и VL-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VL-области SEQ ID NO: 14;

20 в котором биспецифическое антитело вводят в дозе, составляющей от 12 до 60 мг, с использованием 28-дневных циклов.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляет собой полноразмерное антитело. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляет собой
25 антитело с инертной Fc-областью. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляет собой полноразмерное антитело с инертной Fc-областью.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе, составляющей (или в дозе примерно составляющей) 12
30 мг. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе, составляющей (или в дозе примерно составляющей) 24 мг. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе, составляющей (или в дозе примерно составляющей) 48

мг. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе, составляющей (или в дозе примерно составляющей) 60 мг.

Касательно подлежащей введению дозы биспецифического антитела, составляющей 12-60 мг, или любой другой конкретной дозы, следует понимать, что указанное количество относится к количеству биспецифического антитела, представляющего собой полноразмерное антитело, такое как эпоритамаб, указанное в разделе «Примеры». Так, это может относиться к введению дозы биспецифического антитела, составляющей 24 мг, в качестве вводимой дозы биспецифического антитела, указанного в настоящем описании, при этом доза соответствует дозе эпоритамаба, составляющей 24 мг. Обычный специалист в данной области легко может определять количество антитела, подлежащего введению, когда, например, используемое антитело существенно отличается по молекулярной массе от молекулярной массы полноразмерного антитела, такого как эпоритамаб. Например, количество антитела можно рассчитывать путем деления молекулярной массы антитела на массу полноразмерного антитела, такого как эпоритамаб, и умножения полученного результата на указанную дозу, представленную в настоящем описании. Если биспецифическое антитело (например, функциональный вариант DuoBody-CD3xCD20) обладает характеристиками, очень сходными с характеристиками DuoBody-CD3xCD20 в отношении времени полужизни в плазме, инертности Fc и/или характеристиками связывания с CD3 и CD20, т.е., в отношении CDR и особенностей связывания с эпитопами, то такие антитела можно применять в способах, представленных в настоящем описании, в дозе, указанной для полноразмерного антитела, такого как эпоритамаб.

В одном из вариантов осуществления изобретения биспецифическое анти-CD3xCD20 антитело вводят в дозе, находящейся в диапазоне от 12 мг до 60 мг. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе, составляющей 12 мг или примерно 12 мг. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе, составляющей 24 мг или примерно 24 мг. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят в дозе, составляющей 48 мг или примерно 48 мг. В некоторых вариантах осуществления изобретения

биспецифическое антитело вводят в дозе, составляющей 60 мг или примерно 60 мг.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят один раз каждую неделю (еженедельное введение) с использованием 28-дневных циклов. В некоторых вариантах осуществления изобретения еженедельное введение осуществляют в течение 2,5 28-дневных циклов (т.е. 10 раз). В одном из вариантов осуществления изобретения дозу вводят в течение 2,5 28-дневных циклов (т.е. 10 раз; в дни 15 и 22 цикла 1 и в дни 1, 8, 15 и 22 циклов 2 и 3). В некоторых вариантах осуществления изобретения после указанного еженедельного введения можно увеличивать интервал введения биспецифического антитела до введения один раз каждые две недели (введение один раз в две недели). В некоторых вариантах осуществления изобретения указанное введение один раз в две недели можно осуществлять в течение шести 28-дневных циклов (т.е. 12 раз). В некоторых вариантах осуществления изобретения после указанного введения один раз в две недели интервал введения биспецифического антитела можно дополнительно увеличивать до одного раза каждые четыре недели. В одном из вариантов осуществления изобретения введение один раз каждые четыре недели можно осуществлять в течение длительного периода, например, в течение по меньшей мере 1 цикла, по меньшей мере 2 циклов, по меньшей мере 3 циклов, по меньшей мере 4 циклов, по меньшей мере 5 циклов, по меньшей мере 6 циклов, по меньшей мере 7 циклов, по меньшей мере 8 циклов, по меньшей мере 9 циклов, по меньшей мере 10 циклов, по меньшей мере 11 циклов, по меньшей мере 12 циклов, по меньшей мере 13 циклов, по меньшей мере 14 циклов, по меньшей мере 15 циклов, по меньшей мере 16 циклов, по меньшей мере 17 циклов или 1-20 циклов, 1-19 циклов, 1-18 циклов, 1-17 циклов, 1-16 циклов, 1-15 циклов, 1-14 циклов, 1-13 циклов, 1-12 циклов, 1-10 циклов, 1-5 циклов, 5-20 циклов, 5-15 циклов или 5-10 циклов 28-дневных циклов. В некоторых вариантах осуществления изобретения эпоритамаб вводят один раз каждые четыре недели вплоть до прогрессирования заболевания (например, определенного на основе критериев ответа iwCLL, представленных в таблице 2) или проявления неприемлемой токсичности. В одном из вариантов осуществления изобретения еженедельную дозу вводят в циклах 1-3 (и она может включать примирующие и

промежуточные дозы, описанные ниже), дозу один раз в две недели вводят в циклах 4-9, а дозу один раз каждые четыре недели вводят, начиная с цикла 10 и далее.

5 Должно быть очевидно, что дозы, указанные в настоящем описании, можно обозначать также как полная или фиксированная доза в приведенных выше вариантах лечения, в которых, например, еженедельная доза, доза один раз в две недели и/или доза, вводимая каждые четыре недели, находятся на одном и том же уровне. Соответственно, при выборе дозы 48 мг предпочтительно при каждом еженедельном введении, при каждом введении один раз в две недели и при 10 каждом введении каждые четыре недели вводят одну и ту же дозу 48 мг. Перед введением дозы можно вводить примирующую или примирующую и последующую промежуточную (второе примирование) дозу. Это может быть целесообразным, поскольку может способствовать снижению риска и тяжести синдрома высвобождения цитокинов (CRS), т.е. побочного действия, которое 15 может возникнуть во время лечения биспецифическим анти-CD3xCD20 антителом, указанным в настоящем описании. Указанные примирующая или примирующая и промежуточные дозы представляют собой более низкие дозы по сравнению с фиксированной или полной дозой.

20 Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения перед введением еженедельной дозы, составляющей 12-60 мг, можно вводить примирующую дозу биспецифического антитела. В одном из вариантов осуществления изобретения примирующую дозу вводят за две недели до введения первой еженедельно дозы 12-60 мг в цикле 1. Примирующая доза может находиться в диапазоне от 20 до 2000 мкг (0,02 мг-2 мг), например, в 25 диапазоне от 50 до 1000 мкг (0,05 мг до 1 мг) или в диапазоне от 70 до 350 мкг (0,07 мг до 0,35 мг). Примирующая доза может составлять, например, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320, 350, 400, 450, 500, 600, 700, 800, 900 или 1000 мкг или примерно 80, примерно 100, примерно 120, примерно 140, примерно 160, примерно 180, примерно 200, примерно 220, примерно 240, 30 примерно 260, примерно 280, примерно 300, примерно 320, примерно 350, примерно 400, примерно 450, примерно 500, примерно 600, примерно 700, примерно 800, примерно 900 или примерно 1000 мкг. В предпочтительном варианте осуществления изобретения примирующая доза находится в диапазоне

от 50 до 350 мкг (0,05 и 0,35 мг соответственно). В более предпочтительном варианте осуществления изобретения примирующая доза составляет 160 мкг (0,16 мг) или примерно 160 мкг (примерно 0,16 мг). В наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения примирующая доза составляет 160 мкг (0,16 мг) или примерно 160 мкг (примерно 0,16 мг) полноразмерного биспецифического антитела.

В некоторых вариантах осуществления изобретения после введения примирующей дозы и до введения первой еженедельной дозы, составляющей 12-60 мг, вводят промежуточную дозу указанного биспецифического антитела. В одном из вариантов осуществления изобретения примирующую дозу вводят в день 1, а промежуточную дозу вводят в день 8 до введения первой еженедельной дозы, составляющей 12-60 мг, в дни 15 и 22 цикла 1, т.е. примирующую дозу вводят за одну неделю до введения промежуточной дозы (т.е. в день 1 цикла 1), а промежуточную дозу вводят за одну неделю до первой еженедельной дозы, составляющей 12-60 мг (в день 8 цикла 1). Промежуточную дозу выбирают из диапазона между примирующей дозой и фиксированной или полной дозой.

Например, промежуточная доза может находиться в диапазоне от 200 до 8000 мкг (0,2-8 мг), например, в диапазоне от 400 до 4000 мкг (0,4-4 мг) или от 600 до 2000 мкг (0,6-2 мг). Промежуточная доза может составлять, например, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500 или 1600 мг или примерно 200, примерно 300, примерно 400, примерно 500, примерно 600, примерно 700, примерно 800, примерно 900, примерно 1000, примерно 1100, примерно 1200, примерно 1300, примерно 1400, примерно 1500 или примерно 1600 мкг. В предпочтительном варианте осуществления изобретения промежуточная доза находится в диапазоне от 600 до 1200 мкг (0,6 и 1,2 мг соответственно). В более предпочтительном варианте осуществления изобретения промежуточная доза составляет 800 мкг (0,8 мг) или примерно 800 мкг (0,8 мг). В наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения промежуточная доза составляет 800 мкг или примерно 800 мкг (0,8 мг) полноразмерного биспецифического антитела.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу вводят в день 1, промежуточную дозу в день 8, а полную дозу, составляющую 12-60 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

5 в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в день 1.

10 В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу, находящуюся в диапазоне от 0,05 до 0,35 мг, вводят в день 1, промежуточную дозу, находящуюся в диапазоне от 0,6 до 1,2 мг, в день 8, а полную дозу, составляющую 12-60 мг, в дни 15 и 22;

15 б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в день 1.

20 В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу, составляющую 160 мкг, вводят в день 1, промежуточную дозу, составляющую 800 мкг, в день 8, а полную дозу, составляющую 12-60 мг, в дни 15 и 22;

25 б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1 и 15; и

30 г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в день 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу вводят в день 1, промежуточную дозу в день 8, а полную дозу, составляющую 12 мг или примерно 12 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 12 мг или примерно 12 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

5 в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 12 мг или примерно 12 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 12 мг или примерно 12 мг, вводят в день 1.

10 В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу, находящуюся в диапазоне от 0,05 до 0,35 мг, вводят в день 1, промежуточную дозу, находящуюся в диапазоне от составляющую 0,6 до 1,2 мг, в день 8, а полную дозу, составляющую 12 мг, в дни 15 и 22;

15 б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 12 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 12 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 12 мг, вводят в день 1.

20 В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу, составляющую 160 мкг, вводят в день 1, промежуточную дозу, составляющую 800 мкг, в день 8, а полную дозу, составляющую 12 мг или примерно 12 мг, в дни 15 и 22;

25 б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 12 мг или примерно 12 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 12 мг или примерно 12 мг, вводят в дни 1 и 15; и

30 г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 12 мг или примерно 12 мг, вводят в день 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу вводят в день 1, промежуточную дозу в день 8, а полную дозу, составляющую 24 мг или примерно 24 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 24 мг или примерно 24 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

5 в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 24 мг или примерно 24 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 24 мг или примерно 24 мг, вводят в день 1.

10 В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу, находящуюся в диапазоне от 0,05 до 0,35 мг, вводят в день 1, промежуточную дозу, находящуюся в диапазоне от 0,6 до 1,2 мг, в день 8, а полную дозу, составляющую 24 мг, в дни 15 и 22;

15 б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 24 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 24 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 24 мг, вводят в день 1.

20 В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу, составляющую 160 мкг, вводят в день 1, промежуточную дозу, составляющую 800 мкг, в день 8, а полную дозу, составляющую 24 мг или примерно 24 мг, в дни 15 и 22;

25 б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 24 мг или примерно 24 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 24 мг или примерно 24 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 24 мг или примерно 24 мг, вводят в день 1.

30 В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу вводят в день 1, промежуточную дозу в день 8, а полную дозу, составляющую 48 мг или примерно 48 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 48 мг или примерно 48 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 48 мг или примерно 48 мг, вводят в дни 1 и 15; и

5 г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 48 мг или примерно 48 мг, вводят в день 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

10 а) в цикле 1: примирующую дозу, находящуюся в диапазоне от 0,05 до 0,35 мг, вводят в день 1, промежуточную дозу, находящуюся в диапазоне от 0,6 до 1,2 мг, в день 8, а полную дозу, составляющую 48 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 48 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 48 мг, вводят в дни 1 и 15; и

15 г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 48 мг, вводят в день 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

20 а) в цикле 1: примирующую дозу, составляющую 160 мкг, вводят в день 1, промежуточную дозу, составляющую 800 мкг, в день 8, а полную дозу, составляющую 48 мг или примерно 48 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 48 мг или примерно 48 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

25 в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 48 мг или примерно 48 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 48 мг или примерно 48 мг, вводят в день 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

30 а) в цикле 1: примирующую дозу вводят в день 1, промежуточную дозу в день 8, а полную дозу, составляющую 60 мг или примерно 60 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 60 мг или примерно 60 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 60 мг или примерно 60 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 60 мг или примерно 60 мг, вводят в день 1.

5 В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу, находящуюся в диапазоне от 0,05 до 0,35 мг, вводят в день 1, промежуточную дозу, находящуюся в диапазоне от 0,6 до 1,2 мг, в день 8, а полную дозу, составляющую 60 мг, в дни 15 и 22;

10 б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 60 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 60 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 60 мг, вводят в день 1.

15 В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу, составляющую 160 мкг, вводят в день 1, промежуточную дозу, составляющую 800 мкг, в день 8, а полную дозу, составляющую 60 мг или примерно 60 мг, в дни 15 и 22;

20 б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 60 мг или примерно 60 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 60 мг или примерно 60 мг, вводят в дни 1 и 15; и

25 г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 60 мг или примерно 60 мг, вводят в день 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляют собой эпоритамаб, который вводят подкожно, используя 28-дневные циклы, в которых

30 а) в цикле 1: примирующую дозу вводят в день 1, промежуточную дозу в день 8, а полную дозу, составляющую 12-60 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1 и 15;

и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в день 1.

5 В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляют собой эпоритамаб, который вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу, находящуюся в диапазоне от 0,05 до 0,35 мг, вводят в день 1, промежуточную дозу, находящуюся в диапазоне от 0,6 до 1,2 мг, в день 8, а полную дозу, составляющую 12-60 мг, в дни 15 и 22;

10

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1 и 15;

и

15 г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в день 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляют собой эпоритамаб, который вводят подкожно, используя 28-дневные циклы, в которых

20 а) в цикле 1: примирующую дозу, составляющую 160 мкг, вводят в день 1, промежуточную дозу, составляющую 800 мкг, в день 8, а полную дозу, составляющую 12-60 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

25 в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1 и 15;

и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в день 1.

30 В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляют собой эпоритамаб, который вводят подкожно, используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу вводят в день 1, промежуточную дозу в день 8, а полную дозу, составляющую 12 мг или примерно 12 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 12 мг или примерно 12 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 12 мг или примерно 12 мг, вводят в дни 1 и 15; и

5 г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 12 мг или примерно 12 мг, вводят в день 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляют собой эпоритамаб, который вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

10 а) в цикле 1: примирующую дозу, находящуюся в диапазоне от 0,05 до 0,35 мг, вводят в день 1, промежуточную дозу, находящуюся в диапазоне от 0,6 до 1,2 мг, в день 8, а полную дозу, составляющую 12 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 12 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

15 в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 12 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 12 мг, вводят в день 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляют собой эпоритамаб, который вводят подкожно, используя 28-дневные циклы, в которых

20 а) в цикле 1: примирующую дозу, составляющую 160 мкг, вводят в день 1, промежуточную дозу, составляющую 800 мкг, в день 8, а полную дозу, составляющую 12 мг или примерно 12 мг, в дни 15 и 22;

25 б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 12 мг или примерно 12 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 12 мг или примерно 12 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 12 мг или примерно 12 мг, вводят в день 1.

30 В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляют собой эпоритамаб, который вводят подкожно, используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу вводят в день 1, промежуточную дозу в день 8, а полную дозу, составляющую 24 мг или примерно 24 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 24 мг или примерно 24 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

5 в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 24 мг или примерно 24 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 24 мг или примерно 24 мг, вводят в день 1.

10 В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляют собой эпоритамаб, который вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу, находящуюся в диапазоне от 0,05 до 0,35 мг, вводят в день 1, промежуточную дозу, находящуюся в диапазоне от 0,6 до 1,2 мг, в день 8, а полную дозу, составляющую 24 мг, в дни 15 и 22;

15 б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 24 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 24 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 24 мг, вводят в день 1.

20 В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляют собой эпоритамаб, который вводят подкожно, используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу, составляющую 160 мкг, вводят в день 1, промежуточную дозу, составляющую 800 мкг, в день 8, а полную дозу, составляющую 24 мг или примерно 24 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 24 мг или примерно 24 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 24 мг или примерно 24 мг, вводят в дни 1 и 15; и

30 г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 24 мг или примерно 24 мг, вводят в день 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляют собой эпкоритамаб, который вводят подкожно, используя 28-дневные циклы, в которых

5 а) в цикле 1: примирующую дозу вводят в день 1, промежуточную дозу в день 8, а полную дозу, составляющую 48 мг или примерно 48 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 48 мг или примерно 48 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 48 мг или примерно 48 мг, вводят в дни 1 и 15; и

10 г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 48 мг или примерно 48 мг, вводят в день 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляют собой эпкоритамаб, который вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

15 а) в цикле 1: примирующую дозу, находящуюся в диапазоне от 0,05 до 0,35 мг, вводят в день 1, промежуточную дозу, находящуюся в диапазоне от 0,6 до 1,2 мг, в день 8, а полную дозу, составляющую 48 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 48 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

20 в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 48 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 48 мг, вводят в день 1.

25 В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляют собой эпкоритамаб, который вводят подкожно, используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу, составляющую 160 мкг, вводят в день 1, промежуточную дозу, составляющую 800 мкг, в день 8, а полную дозу, составляющую 48 мг или примерно 48 мг, в дни 15 и 22;

30 б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 48 мг или примерно 48 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 48 мг или примерно 48 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 48 мг или примерно 48 мг, вводят в день 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляют собой эпоритамаб, который вводят подкожно,

5 используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу вводят в день 1, промежуточную дозу в день 8, а полную дозу, составляющую 60 мг или примерно 60 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 60 мг или примерно 60 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

10 в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 60 мг или примерно 60 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 60 мг или примерно 60 мг, вводят в день 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляют собой эпоритамаб, который вводят (например, подкожно), используя 28-дневные циклы, в которых

15

а) в цикле 1: примирующую дозу, находящуюся в диапазоне от 0,05 до 0,35 мг, вводят в день 1, промежуточную дозу, находящуюся в диапазоне от 0,6 до 1,2 мг, в день 8, а полную дозу, составляющую 60 мг, в дни 15 и 22;

20 б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 60 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 60 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 60 мг, вводят в день 1.

25 В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляют собой эпоритамаб, который вводят подкожно, используя 28-дневные циклы, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу, составляющую 160 мкг, вводят в день 1, промежуточную дозу, составляющую 800 мкг, в день 8, а полную дозу, составляющую 60 мг или примерно 60 мг, в дни 15 и 22;

30

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 60 мг или примерно 60 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 60 мг или примерно 60 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 60 мг или примерно 60 мг, вводят в день 1.

5 В одном из вариантов осуществления изобретения для введения в дни 1 и 8 первого цикла выбирают примирующую дозу, составляющую 80 мкг, и промежуточную дозу, составляющую 800 мкг соответственно. В некоторых вариантах осуществления изобретения для введения в дни 1 и 8 первого цикла выбирают примирующую дозу, составляющую 80 мкг, и промежуточную дозу, составляющую 1200 мкг соответственно. В некоторых вариантах осуществления изобретения для введения в дни 1 и 8 первого цикла выбирают примирующую дозу, составляющую 80 мкг, и промежуточную дозу, составляющую 1600 мкг соответственно. В некоторых вариантах осуществления изобретения для введения в дни 1 и 8 первого цикла выбирают примирующую дозу, составляющую 160 мкг, и промежуточную дозу, составляющую 1200 мкг соответственно. В некоторых вариантах осуществления изобретения для введения в дни 1 и 8 первого цикла выбирают примирующую дозу, составляющую 160 мкг, и промежуточную дозу, составляющую 1600 мкг соответственно.

20 В одном из вариантов осуществления изобретения человек имеет активную фазу заболевания CLL, нуждающегося в лечении, которое соответствует по меньшей мере одному из следующих критериев: (1) признаки прогрессирующей недостаточности костного мозга, проявляющиеся в развитии или ухудшении анемии и/или тромбоцитопении; (2) массивная (т.е. на ≥ 6 см ниже левого реберного края) или прогрессирующая или симптоматическая спленомегалия; (3) массивные узлы (т.е. более 10 см в диаметре) или прогрессирующая или симптоматическая лимфаденопатия; (4) прогрессирующий лимфоцитоз с увеличением на $\geq 50\%$ в течение 2-месячного периода или временем удвоения лимфоцитов (LDT) < 6 месяцев; (5) аутоиммунные осложнения, включая анемию или тромбоцитопению, слабо реагирующие на кортикостероиды; (6) симптоматическое или функциональное внеузловое поражение (например, кожи, почек, легких, позвоночника); и/или (7) симптомы, связанные с заболеванием, определяемые любым из следующих признаков: непреднамеренная потеря веса \geq

10% в течение предыдущих 6 месяцев, сильная усталость, лихорадка $\geq 38,0^{\circ}\text{C}$ ($100,5^{\circ}\text{F}$) в течение 2 или более недель без признаков инфекции и ночная потливость в течение ≥ 1 месяца без признаков инфекции. В некоторых вариантах осуществления изобретения заболевание CLL представляет собой рецидивирующий и/или рефрактерный CLL. В некоторых вариантах осуществления изобретения CLL является невосприимчивым к ингибитору ВТК. В некоторых вариантах осуществления изобретения имеет место рецидив CLL во время лечения ингибитором ВТК.

В некоторых вариантах осуществления изобретения человек получал по меньшей мере одну линию лечения до начала его лечения с помощью способов, представленных в настоящем описании. Например, в одном из вариантов осуществления изобретения субъект получал ранее одну линию лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъект получал ранее две линии лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъект получал ранее две линии системной противоопухолевой терапии. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъект получал ранее две линии системной противоопухолевой терапии, при этом по меньшей мере одна из по меньшей мере двух линий противоопухолевых терапий включала лечение с помощью ингибитора ВТК (например, ибрутиниба) (или имела место непереносимость такого лечения). В некоторых вариантах осуществления изобретения субъект имел рефрактерный и/или рецидивирующий CLL после получения двух предшествующих противоопухолевых терапий. Рецидив можно определять, как признаки прогрессирования заболевания у субъекта, у которого ранее был достигнут CR или PR в течение по меньшей мере 6 месяцев. Невосприимчивость заболевания можно определять как неудачу (неблагоприятный исход) лечения (отсутствие достижения CR или PR) или как прогрессирование в течение 6 месяцев после последней дозы терапии. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъект получал ранее три линии лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъект получали ранее более трех линий лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъект получали ранее одну, две, три или большее количество линий лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъект получали ранее по меньшей мере две линии лечения. В одном из

вариантов осуществления изобретения предшествующая линия лечения включала системную противоопухолевую терапию. В одном из вариантов осуществления изобретения системная противоопухолевая терапия включала лечение ингибитором ВТК, например, ибрутинибом. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъект обладал непереносимостью ингибитора ВТК, например, ибрутиниба. В других вариантах осуществления изобретения предшествующая линия терапии включала лечение ингибитором BCL2, например, венетоклаксом. В следующих вариантах осуществления изобретения предшествующая линия терапии включала лечение комбинацией ингибитора ВТК и ингибитора BCL2 (например, ибрутиниба и венетоклакса).

В некоторых вариантах осуществления изобретения человек имеет поддающееся измерению заболевание, соответствующее по крайней мере одному из критериев (а) $\geq 5 \times 10^9/\text{л}$ (5000/мкл) В-лимфоцитов в периферической крови и (б) наличие поддающейся измерению лимфаденопатии и/или органомегалии.

В некоторых вариантах осуществления изобретения человек имеет балл общего состояния по шкале ECOG, равный 0 или 1. Информацию о баллах общего состояния по шкале ECOG можно почерпнуть, например, у Окен и др., Am J Clin Oncol 5(6), декабрь 1982 г, сс. 649-655).

В некоторых вариантах осуществления изобретения человек имеет допустимые следующие лабораторные показатели: (1) клиренс креатина или сывороточного креатина (> 45 мл/мин по формуле Кокрофта-Голта или уровень сывороточного креатинина, в $\leq 1,5$ раза превышающий верхнюю границу нормы ($\times \text{ULN}$)), (2) сывороточная аланинтрансаминаза ($\leq 2,5 \times \text{ULN}$), (3) сывороточная аспартаттрансаминаза ($\leq 2,5 \times \text{ULN}$), (4) билирубин ($\leq 1,5 \times \text{ULN}$, если только это не связано с синдромом Жильбера), (5) гемоглобин ($\geq 9,0$ г/дл, если только анемия не вызвана поражением костного мозга при CLL), (6) абсолютное количество нейтрофилов ($\geq 1,0 \times 10^9/\text{л}$ (1000/мкл), если только нейтропения не вызвана поражением костного мозга при CLL), количество тромбоцитов ($\geq 30 \times 10^9/\text{л}$ (30000/мкл) и состояние свертываемости крови (PT/INR/aPTT $\leq 1,5 \times \text{ULN}$).

Человек, получающий лечение, предложенное в настоящем описании, может представлять собой пациента, соответствующего одному или нескольким критериям включения, указанным в примере 2, или не соответствовать одному или нескольким критериям исключения, указанным в таблице 2.

Люди, имеющие CLL, классифицируются как имеющие CD20-позитивный рак. Таким образом, предшествующее лечение рака, которое могли получать такие люди, включает применение моноклональных антител к CD20 (например, ритуксимаба). Во время такого лечения или любого другого лечения CLL может 5 оказаться невосприимчивым к указанному лечению или давать рецидив. Таким образом, в одном из вариантов осуществления изобретения субъект получал предшествующее лечение в использовании биспецифического антитела, такого как лечение моноклональным антителом к CD20, таким как ритуксимаб или обинутузумаб. В некоторых вариантах осуществления изобретения во время 10 указанного предшествующего лечения антителом к CD20 или комбинациями моноклонального антитела к CD20 с одним терапевтическим средством, например, венетоклаксом (ингибитор Bcl2), имел место рецидив CLL или CLL являлся невосприимчивым к лечению.

Способы, указанные в настоящем описании, являются предпочтительными 15 для лечения CLL, такого как рефрактерный или рецидивирующий CLL. Лечение осуществляют непрерывно с использованием, например, схем лечения, которые описаны выше. Однако лечение можно прекращать при развитии прогрессирующего заболевания или возникновении неприемлемой токсичности.

20 Ответ субъектов с CLL на способы, указанные в настоящем описании, можно оценивать согласно критериям ответа iwCLL, которые представлены в таблице 2 (источник: Hallek и др., Lancet 391, 2018, сс. 1524-1537).

Таблица 2. Критерия ответа, предложенные Международной рабочей группой по хроническому лимфолейкозу

Группа	Параметр	CR	PR	PD	SD
Группа А: Оценка лимфоидной опухолевой нагрузки и конституциональных симптомов					
	Лимфоузлы	Нет с размером $\geq 1,5$ см	Снижение на $\geq 50\%$ (от базового уровня) ¹	Повышение на $\geq 50\%$ от базового уровня или относительно ответа	Изменение от -49% до +49%
	Размер печени и/или селезенки ²	Размер селезенки < 13 см; размер печени нормальный	Снижение на $\geq 50\%$ от базового уровня	Повышение на $\geq 50\%$ от базового уровня или относительно ответа	Изменение от -49% до +49%

Группа	Параметр	CR	PR	PD	SD
	Конституциональные симптомы	Нет	Любой	Любой	Любой
	Количество циркулирующих лимфоцитов	Нет	Снижение на $\geq 50\%$ от базового уровня	Повышение на $\geq 50\%$ от базового уровня или относительно ответа	Изменение от -49% до $+49\%$
Группа Б: Оценка гематопозитической системы					
	Количество тромбоцитов	$\geq 100 \times 10^9/\text{л}$ (≥ 100000 мкл)	$\geq 100 \times 10^9/\text{л}$ (≥ 100000 мкл) или повышение на $\geq 50\%$ от базового уровня	Снижение на $\geq 50\%$ от базового уровня, вторичное для CLL	Изменение от -49% до $+49\%$
	Гемоглобин	$\geq 11,0$ г/дл (без трансфузии и без эритропоэтина)	$\geq 11,0$ г/дл или повышение на $\geq 50\%$ от базового уровня	Снижение до $\geq 2,0$ г/дл от базового уровня, вторичное для CLL	Повышение до $< 11,0$ г/дл или на $< 50\%$ от базового уровня или снижение до $< 2,0$ г/дл
	Костный мозг	Нормоцеллюлярный, без CLL-клеток, без В-лимфоидных узлов	Присутствие CLL-клеток или В-лимфоидных узлов или анализ не сделан	Повышение количества CLL-клеток на $\geq 50\%$ по данным чувствительной биопсии	Отсутствие изменения в инфильтрации костного мозга

Сокращения: CLL=хронический лимфолейкоз; CR=полный ответ; PD= развитие (прогрессирование) заболевания; PR=частичный ответ; SD=стабильное течение заболевания. Определения:

CR, полная ремиссия (должны быть выполнены все критерии);

PD, прогрессирование заболевания (должен быть выполнен по меньшей мере 1 из критериев группы А или группы Б);

PR, частичная ремиссия (для PR по меньшей мере 2 из параметров группы А и 1 параметр группы Б должны улучшиться, если ранее были отклонения от нормы; если только 1 параметр из обеих групп А и Б имел отклонение от нормы до начала терапии, то только 1 параметр должен улучшиться);

SD, стабильное течение заболевания (должны быть выполнены все критерии; конституциональные симптомы сами по себе не определяют PD).

1. В целом присутствует 6 или меньшее количество лимфатических узлов (по оценке с помощью компьютерной томографии и физикального обследования в клинических испытаниях или при физикальном обследовании в общей практике).

2. Размер селезенки считается нормальным, если он составляет < 13 см. Не существует твердо установленного международного консенсуса относительно размера здоровой печени; поэтому размер печени следует оценивать с помощью визуализации и ручной пальпации и регистрировать в eCRF.

У субъектов, которых лечили с помощью способов, указанных в настоящем описании, предпочтительно обнаруживают улучшение по меньшей мере одного признака CLL. В одном из вариантов осуществления изобретения улучшение оценивают по снижению количества циркулирующих лимфоцитов. В некоторых вариантах осуществления изобретения об улучшении свидетельствует снижение количества и/или размера поддающихся измерению опухолевых повреждений. В некоторых вариантах осуществления изобретения повреждения можно измерять на пленках компьютерной томографии (КТ) или магнитно-резонансной томографии (МРТ). В некоторых вариантах осуществления изобретения для оценки чувствительности к терапии можно использовать цитологический или гистологический анализ. В некоторых вариантах осуществления изобретения для оценки ответа на терапию можно использовать аспират костного мозга и биопсию костного мозга.

В одном из вариантов осуществления изобретения у субъекта, которого подвергали лечению, обнаруживают полный ответ (CR), частичный ответ (PR) или стабильное течение заболевания (SD) согласно критериям ответа iwCLL (см., например, таблицу 2). В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в настоящем описании, приводят по меньшей мере к одному терапевтическому действию, выбранному из пролонгированной выживаемости, такой как выживаемость без прогрессирования или общая выживаемость, необязательно по сравнению с другой терапией или введением плацебо. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъектов лечат с использованием способов, представленных в настоящем описании, вплоть до прогрессирования заболевания (PD) или обнаружения неприемлемой токсичности.

При использовании для лечения людей способов, основанных на подходах, в которых применяют иммунные клетки и биспецифические антитела, функцией которых является активация иммунных эффекторных клеток, например, путем вовлечения CD3, может возникать синдром высвобождения цитокинов (CRS) (Lee и др., Biol Blood Marrow Transplant 25, 2019, сс. 625-38, публикация включена в настоящее описание в качестве ссылки). Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения наряду с осуществлением способов, представленных в настоящем описании, осуществляют смягчение последствий

CRS. В рамках смягчения последствий CRS перед введением полной дозы (например, 12-60 мг) согласно указанной в настоящем описании схеме осуществляют выбор примирующей дозы и/или промежуточной дозы. CRS можно классифицировать в соответствии со стандартной практикой (например, описанной у Lee и др., Biol Blood Marrow Transplant 25(4), апреля 2019 г., сс. 625-638, публикация включена в настоящее описание в качестве ссылки). CRS может включать чрезмерное высвобождение цитокинов, например, провоспалительных цитокинов, например, IL-6, TNF-альфа или IL-8, что может приводить к таким нежелательным воздействиям, как лихорадка, тошнота, рвота и озноб. Таким образом, несмотря на уникальную противоопухолевую активность биспецифических антител, таких как экоритамаб, их иммунологический механизм действия может запускать нежелательные «побочные» действия, т.е. индуцировать нежелательные воспалительные реакции. По этой причине для смягчения симптомов CRS пациентов можно дополнительно подвергать сопутствующему лечению, профилактике и/или премедикации, например, с помощью анальгетиков, жаропонижающих средств и/или противовоспалительных средств.

Таким образом, в одном из вариантов осуществления изобретения лечение людей с помощью способов, представленных в настоящем описании, предусматривает профилактику CRS. В предпочтительных вариантах осуществления изобретения профилактика включает введение субъекту кортикостероида. В одном из вариантов осуществления изобретения профилактическое средство (например, кортикостероид) вводят в тот же день, что и биспецифическое антитело. Профилактическое средство (например, кортикостероид) можно вводить также и в последующие дни. В некоторых вариантах осуществления изобретения профилактическое средство (например, кортикостероид) дополнительно вводят в последующие дни 2, 3 и 4. Должно быть очевидно, что последующие дни 2, 3 и 4, когда речь идет о дальнейшем медикаментозном лечении, таком как профилактика, относятся к введению биспецифического антитела, которое вводят в день 1. Например, когда при осуществлении цикла лечения антитело вводят в день 15 и также применяют профилактическое средство, то дни введения профилактического средства, соответствующие дням 2, 3 и 4, представляют собой дни цикла 16, 17 и 18. В

некоторых вариантах осуществления изобретения профилактическое средство вводят в день, в который вводят биспецифическое антитело, и в последующие дни 2-4. Когда указанное профилактическое средство вводят в тот же день, что и биспецифическое антитело, то профилактическое средство предпочтительно вводят за 30-120 мин до введения биспецифического антитела. Примером кортикостероида, который можно применять в способах и вариантах применения, указанных в настоящем описании, является преднизолон. В некоторых вариантах осуществления изобретения кортикостероид представляет собой преднизолон. В некоторых вариантах осуществления изобретения преднизолон вводят, используя внутривенную дозу 100 мг или эквивалентную ей дозу, включая оральную дозу. Примеры кортикостероидных эквивалентов преднизолона наряду с эквивалентами доз, которые можно применять для профилактики CRS, представлены в таблице 6.

Кроме того, в некоторых вариантах осуществления изобретения лечение людей с помощью способов, представленных в настоящем описании, предусматривает премедикацию для уменьшения реакций на инъекции. В одном из вариантов осуществления изобретения премедикация включает введение антигистаминных препаратов. В некоторых вариантах осуществления изобретения премедикация включает введение жаропонижающих средств. В следующих вариантах осуществления изобретения премедикация включает системное введение антигистаминных препаратов и жаропонижающих средств.

Примером антигистаминного препарата, который можно применять для премедикации, является дифенгидрамин. В некоторых вариантах осуществления изобретения антигистаминный препарат представляет собой дифенгидрамин. В одном из вариантов осуществления изобретения дифенгидрамин вводят внутривенно или орально в дозе 50 мг или эквивалентной дозе. Примером жаропонижающего средства, которое можно применять для премедикации, является ацетаминофен. В некоторых вариантах осуществления изобретения жаропонижающее средство представляет собой ацетаминофен. В одном из вариантов осуществления изобретения ацетаминофен применяют в оральной дозе 560-1000 мг, такой как 650-1000 мг, или в эквивалентной дозе. В некоторых вариантах осуществления изобретения премедикацию осуществляют в тот же день, что и введение биспецифического антитела. В некоторых вариантах

осуществления изобретения премедикацию осуществляют в тот же день, что и введение биспецифического антитела, до инъекции биспецифического антитела, например, за 30-120 мин до введения биспецифического антитела.

Премедикацию и/или профилактику можно использовать по меньшей мере на начальной фазе лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения премедикацию и/или профилактику осуществляют при первых четырех введениях биспецифического антитела. Например, премедикацию и/или профилактику можно осуществлять согласно указанной в настоящем описании схеме в течение первого 28-дневного цикла введения биспецифического антитела. В некоторых вариантах осуществления изобретения премедикацию осуществляют во время цикла 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения профилактику осуществляют во время цикла 1.

Как правило, риск развития реакций во время первоначального лечения снижается после нескольких введений, например, после первых четырех введений (первый цикл). Поэтому профилактику CRS можно прекращать и в том случае, если у человека отсутствует CRS. Однако, если у человека проявляется CRS степени, превышающей 1, то профилактику CRS можно продолжать. Аналогично этому, премедикацию можно при необходимости продолжать. Оценку CRS можно осуществлять согласно критериям, изложенным в таблицах 7 и 8.

В следующих вариантах осуществления изобретения при осуществлении способов, представленных в настоящем описании, профилактическое средство вводят во время второго 28-дневного цикла, т.е. цикла 2, если у человека проявляется CRS степени, превышающей 1, после четвертого, т.е. последнего введения биспецифического антитела в цикле 1. Кроме того, профилактику можно продолжать во время последующего цикла, если при последнем введении биспецифического антитела в предыдущем цикле у человека проявляется CRS степени, превышающей 1. Любую премедикацию при необходимости можно осуществлять во время второго цикла. В некоторых вариантах осуществления изобретения премедикацию осуществляют во время цикла 2. Кроме того, премедикацию можно при необходимости осуществлять также во время последующих циклов. В некоторых вариантах осуществления изобретения премедикацию осуществляют во время последующих циклов (после цикла 2).

В одном из вариантов осуществления изобретения осуществляют премедикацию и профилактику CRS, при этом премедикация включает применение антигистаминного препарата, такого как дифенгидрамин (например, во внутривенной или оральной дозе 50 мг или в эквивалентной дозе), а

5 профилактика включает применение жаропонижающего средства, такого как ацетаминофен (например, в оральной дозе 650-1000 мг или в эквивалентной дозе), и кортикостероида, такого как преднизолон (например, во внутривенной дозе 100 мг или в эквивалентной дозе). В некоторых вариантах осуществления изобретения применяемое для премедикации и профилактики средство вводят за

10 30-120 мин до введения биспецифического антитела. В последующие дни 2, 3 и необязательно день в 4 для дополнительной профилактики осуществляют системное введение кортикостероида, такого как преднизолон (например, во внутривенной дозе 100 мг или в эквивалентной дозе). В некоторых вариантах осуществления изобретения режим премедикации и профилактики

15 предпочтительно используют во время первых четырех введений биспецифического антитела, например, во время первого 28-дневного цикла введения биспецифического антитела, указанного в настоящем описании. Кроме того, последующие циклы, например, в случае проявления CRS степени, превышающей 1, во время последнего введения в предыдущем цикле, могут

20 включать такой же режим введения, если премедикация в качестве компонента режима введения, является необязательной.

В процессе лечения человека с CLL с использованием доз и схем лечения, указанных в настоящем описании, можно успешно контролировать CRS, осуществляя одновременно эффективный контроль и/или лечение CLL. Как

25 описано в примерах, при лечении с использованием способов, представленных в настоящем описании, у субъектов может проявляться контролируемый CRS. В некоторых случаях у субъектов, получающих лечение, представленное в настоящем описании, может развиваться CRS степени 1, классифицированный в соответствии со стандартной практикой. В других случаях у субъектов может

30 развиваться контролируемый CRS степени 2, классифицированный в соответствии со стандартной практикой. Таким образом, у субъектов в процессе лечения, представленного в настоящем описании, может возникать контролируемый CRS степени 1 или степени 2, классифицированный в

соответствии со стандартной практикой. Согласно стандартной классификации CRS степени 1 включает лихорадку по меньшей мере до 38°C, отсутствие гипотензии и гипоксии, а CRS степени 2 включает лихорадку по меньшей мере до 38°C плюс гипотензию, не требующую применения вазопрессоров, и/или гипоксию, требующую подачу кислорода через носовую канюлю с низким расходом или продувку. Указанный контролируемый CRS может возникать во время цикла 1. У людей, получающих лечение, представленное в настоящем описании, в процессе лечения может возникать также CRS степени, превышающей 2, классифицированный в соответствии со стандартной практикой. Так, люди, получающие лечение, представленное в настоящем описании, в процессе указанного лечения могут иметь также CRS степени 3, классифицированный в соответствии со стандартной практикой. Указанный контролируемый CRS может возникать также во время цикла 1 и последующих циклов.

У людей, получающих лечение с применением способов, представленных в настоящем описании, также могут проявляться пирексия, усталость и реакции в месте инъекции. У них могут проявляться также нейротоксичность, парциальные припадки, аграфия, связанная с CRS, или спутанное состояние, связанное с CRS.

Как указано выше, у субъектов в процессе лечения с применением способов, представленных в настоящем описании, может развиваться CRS, несмотря на профилактику CRS. Критерии оценки CRS описаны в таблицах 7 и 8.

В одном из вариантов осуществления изобретения субъекту вводят антибиотики, если у субъекта развивается CRS степени 1, т.е. субъектов, у которых развился CRS степени 1, лечат антибиотиками, если у них присутствует инфекция. В некоторых вариантах осуществления изобретения прием антибиотиков продолжается до тех пор, пока не пройдет нейтропения, если она присутствует. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъектов с CRS степени 1, у которых проявляются конституциональные симптомы, лечат с помощью НСПВС.

В одном из вариантов осуществления изобретения субъектов, у которых развился CRS степени 2, лечат с помощью болюсного внутривенного введения жидкости и/или дополнительной подачи кислорода. В некоторых вариантах

осуществления изобретения субъектов, у которых развился CRS степени 2, лечат с помощью вазопрессора. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъектов, у которых развился CRS степени 2 с сопутствующими заболеваниями, лечат с помощью тоцилизумаба (гуманизованного антитела к IL-6-рецептору, поступающему в продажу, например, АСТЕМРА®) и/или стероидов (например, дексаметазона или его эквивалента метилпреднизолона). В следующем варианте осуществления изобретения, субъекту, который одновременно имеет ICANS (синдром нейротоксичности, ассоциированный с иммунными эффекторными клетками), вводят дексаметазон. В следующем варианте осуществления изобретения, если у субъекта не обнаружено улучшения симптомов CRS в пределах, например, 6 ч, или если состояние субъекта начинает ухудшаться после первоначального улучшения, то ему вводят вторую дозу тоцилизумаба в сочетании с дозой кортикостероидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, если субъект не дает реакцию на тоцилизумаб после трех введений, то субъекта подвергают дополнительной противоицитокиновой терапии, например, с использованием антитела к IL-6 (например, силтуксимаба) или антагониста IL-1R (например, анакинры).

В одном из вариантов осуществления изобретения субъекты, у которых развился CRS степени 3, получают вазопрессорную поддержку (например, норэпинефрином) и/или дополнительный кислород. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъектов, у которых развился CRS степени 3, лечат тоцилизумабом или тоцилизумабом в комбинации со стероидами (например, дексаметазоном или его эквивалентом метилпреднизолоном). В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту, который одновременно имеет ICANS, вводят дексаметазон. В следующем варианте осуществления изобретения, если субъект не дает реакцию на тоцилизумаб после трех введений, то субъекта подвергают дополнительной противоицитокиновой терапии например, с использованием антитела к IL-6 (например, силтуксимаба) или антагониста IL-1R (например, анакинры).

В одном из вариантов осуществления изобретения субъекты, у которых развился CRS степени 4, получают вазопрессорную поддержку и/или дополнительный кислород (например, вентиляция легких под положительным давлением, такая как CPAP, BiPAP, интубация или искусственная вентиляция

легких). В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту вводят по меньшей мере два вазопрессора, если у субъекта развился CRS степени 4. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту дополнительно вводят стероид, т.е. субъекту вводят тоцилизумаб и стероид. В некоторых вариантах осуществления изобретения стероид представляет собой дексаметазон. В некоторых вариантах осуществления изобретения стероид представляет собой метилпреднизолон. В следующем варианте осуществления изобретения субъекту, который одновременно имеет ICANS, вводят дексаметазон. В следующем варианте осуществления изобретения, если субъект не дает реакцию на тоцилизумаб после трех введений, то субъекта подвергают дополнительной противоцитокиновой терапии, например, с использованием антитела к IL-6 (например, силтуксимаба) или антагониста IL-1R (например, анакинры). В некоторых вариантах осуществления изобретения, если субъект не дает реакцию на тоцилизумаб, то лечение тоцилизумабом заменяют на лечение антителом к IL-6 (например, силтуксимабом). В некоторых вариантах осуществления изобретения, если субъект не дает реакцию на тоцилизумаб, то лечение тоцилизумабом заменяют на лечение антагонистом IL-1R (например, анакинрой).

В некоторых вариантах осуществления изобретения человек получает лечение для профилактики синдрома лизиса опухоли (TLS), т.е. субъекта лечат с целью профилактики синдрома лизиса опухоли (TLS). Классификацию и градацию синдрома лизиса опухоли можно осуществлять с использованием методов, известных в данной области, например, описанных у Howard и др., N Engl J Med 364, 2011, сс. 1844-1854 и у Coiffier и др., J Clin Oncol 26, 2008, сс. 2767-2778. В некоторых вариантах осуществления изобретения профилактическое лечение TLS включает введение одного или нескольких средств, снижающих уровень мочевой кислоты, перед введением биспецифического антитела, т.е. профилактика TLS включает введение одного или нескольких средств, снижающих уровень мочевой кислоты, перед введением биспецифического антитела. Примеры средств, снижающих уровень мочевой кислоты, включают аллопуринол и расбуриказу. Таким образом, в одном из вариантов осуществления изобретения профилактическое лечение TLS включает введение аллопуринола и/или расбуриказы. В некоторых вариантах

осуществления изобретения профилактическое лечение TLS включает введение аллопуринола и/или расбуриказы перед введением биспецифического антитела. В одном из вариантов осуществления изобретения аллопуринол вводят за 72 ч до введения биспецифического антитела. В некоторых вариантах осуществления изобретения расбуриказу начинают применять после введения аллопуринола, но до введения биспецифического антитела. Перед введением последующих доз биспецифического антитела можно осуществлять переоценку категории риска TLS для пациента. Считается, что у субъекта низкий риск развития TLS, если все измеряемые лимфатические узлы имеют наибольший диаметр <5 см и $ALC <25 \times 10^9$ /л. Считается, что у субъекта умеренный риск развития TLS, если все измеряемые лимфатические узлы имеют наибольший диаметр ≥ 5 см, но <10 см, или $ALC \geq 25 \times 10^9$ /л. Считается, что у субъекта высокий риск развития TLS, если (а) любой из измеряемых лимфатических узлов имеет наибольший диаметр ≥ 10 см или (б) $ALC \geq 25 \times 10^9$ /л и любой из измеряемых лимфатических узлов имеет наибольший диаметр ≥ 5 см, но <10 см. Субъекты с количеством лимфоцитов $>100 \times 10^9$ /л относятся к группе с высоким риском. В некоторых вариантах осуществления изобретения, если у субъекта обнаружены признаки TLS, то можно применять поддерживающую терапию, такую как расбуриказа и/или аллопуринол.

В одном из вариантов осуществления изобретения биспецифическое антитело, применяемое в способах, представленных в настоящем описании, вводят подкожно, и, таким образом, его приготавливают в виде такой фармацевтической композиции, которая является пригодной для подкожного (s.c.) введения, т.е. имеет состав и/или концентрацию, которые допускают фармацевтически приемлемое s.c.-введение в дозах, указанных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления изобретения подкожное введение осуществляют с помощью инъекции. Например, ранее описаны (см., например, WO 2019/155008, которая включена в настоящее описание в качестве ссылки) препаративные формы DuoBody-CD3xCD20, которые можно применять в качестве препаративных форм для подкожного введения и в способах, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело можно приготавливать с использованием тригидрата ацетата натрия, уксусной кислоты, гидроксида

натрия, сорбита, полисорбата 80 и воды для инъекций, и эта композиция имеет рН 5,5 или примерно 5,5. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело находится в виде концентрата с концентрацией 5 мг/мл или 60 мг/мл. В других вариантах осуществления изобретения требуемую для подкожной инъекции дозу биспецифического антитела получают путем восстановления до объема примерно 1 мл.

В одном из вариантов осуществления изобретения приемлемая фармацевтическая композиция биспецифического антитела может содержать биспецифическое антитело, 20-40мМ ацетат, 140-160мМ сорбит и поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат 80, и иметь рН 5,3-5,6. В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая препаративная форма может содержать антитело в концентрации 5-100 мг/мл, например, биспецифическое антитело в концентрации 48 или 60 мг/мл, 30мМ ацетат, 150мМ сорбит, 0,04% (мас./об.) полисорбата 80, и иметь рН 5,5. Такую препаративную форму можно разводить, например, буфером для препаративной формы для обеспечения правильного дозирования и подкожного введения.

Объем фармацевтической композиции подбирают соответствующим образом, чтобы обеспечивать возможность подкожного введения антитела. Например, для введения можно использовать объем в диапазоне от примерно 0,3 мл до примерно 3 мл, например, от 0,3 мл до 3 мл. Подлежащий введению объем может составлять 0,5 мл, 0,8 мл, 1 мл, 1,2 мл, 1,5 мл, 1,7 мл, 2 мл или 2,5 мл или примерно 0,5 мл, примерно 0,8 мл, примерно 1 мл, примерно 1,2 мл, примерно 1,5 мл, примерно 1,7 мл, примерно 2 мл или примерно 2,5 мл. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения подлежащий введению объем составляет 0,5 мл или примерно 0,5 мл. В некоторых вариантах осуществления изобретения подлежащий введению объем составляет 0,8 мл или примерно 0,8 мл. В некоторых вариантах осуществления изобретения подлежащий введению объем составляет 1 мл или примерно 1 мл. В некоторых вариантах осуществления изобретения подлежащий введению объем составляет 1,2 мл или примерно 1,2 мл. В некоторых вариантах осуществления изобретения подлежащий введению объем составляет 1,5 мл или примерно 1,5 мл. В некоторых вариантах осуществления изобретения подлежащий введению объем составляет 1,7 мл или примерно 1,7 мл. В некоторых вариантах осуществления

изобретения подлежащий введению объем составляет 2 мл или примерно 2 мл. В некоторых вариантах осуществления изобретения подлежащий введению объем составляет 2,5 мл или примерно 2,5 мл.

5 Способы (или варианты применения антител CD3xCD20), представленные в настоящем описании, предназначены для лечения больных людей с CLL. Должно быть очевидно, что способы, представленные в настоящем описании, могут представлять собой первый вариант лечения или часть первого варианта лечения, которому подвергают указанных пациентов. Однако пациенты могли ранее подвергаться лечению CLL. Предшествующее лечение может включать (но не ограничиваясь только ими) одну или несколько химиотерапий, 10 иммунотерапий и таргетных терапий или их комбинации. Как правило, стандарт медицинской помощи включает лечение комбинацией цитотоксической химиотерапии и моноклональных антител к CD20. Должно быть очевидно, что способы, представленные в настоящем описании, можно применять также в 15 комбинации с другими вариантами лечения.

В одном из вариантов осуществления изобретения биспецифическое антитело, применяемое в способах, представленных в настоящем описании, содержит:

(I) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую 20 область, которая связывается с человеческим CD3ε (эпсилон), и содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), в котором VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 6, и VL-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся 25 в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 7; и

(II) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с человеческим CD20, и содержит VH-область и VL-область, в котором VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 30 13, и VL-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14.

CDR1-, CDR2- и CDR3-участки можно идентифицировать в переменных областях тяжелых и легких цепей с использованием методов, известных в

данной области. CDR-участки из указанных переменных областей тяжелой и легкой цепей можно определять в соответствии с IMGT (см. Lefranc и др., Nucleic Acids Research 27, 1999, сс. 209-212 и Brochet. Nucl Acids Res. 36, 2008, сс. 503-508).

5 В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело содержит:

(I) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с человеческим CD3ε (эпсилон), и содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 4, последовательности GTN и SEQ ID NO: 5 соответственно; и

(II) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с человеческим CD20, и содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 8, 9 и 10 соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, последовательности DAS и SEQ ID NO: 12 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело содержит:

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

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

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляет собой полноразмерное антитело. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело содержит инертную Fc-

область. В одном из вариантов осуществления изобретения биспецифическое антитело представляет собой полноразмерное антитело и имеет инертную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления изобретения первое связывающее плечо, специфическое для CD3, имеет происхождение из гуманизованного антитела, например, из полноразмерного антитела IgG1, λ (лямбда), такого как H1L1, описанное в WO 2015/001085 (включена в настоящее описание в качестве ссылки), и/или второе связывающее плечо, специфическое CD20, имеет происхождение из человеческого антитела, например, из полноразмерного антитела IgG1, κ (каппа), такого как клон 7D8, описанный в WO 2004/035607(включена в настоящее описание в качестве ссылки).

Биспецифическое антитело можно получать из двух полумолекул антител, при этом каждая из двух полумолекул антител содержит, например, соответствующие первое и второе связывающие плечи, представленные в SEQ ID NO: 24 и 25 и SEQ ID NO: 26 и 27. Полуантитела можно получать в CHO-клетках и биспецифические антитела получать, например, с помощью обмена Fab-плечей. В одном из вариантов осуществления изобретения биспецифическое антитело представляет собой функциональный вариант DuoBody-CD3xCD20.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело содержит

(I) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с человеческим CD3 ϵ (эпсилон), и содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 6, или VH-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, с аминокислотными заменами), и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 7, или VL-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, с аминокислотными заменами); и

(II) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с человеческим CD20, и содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 13, или VH-

область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, с аминокислотными заменами), и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 14, или VL-
5 область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, с аминокислотными заменами).

В одном из вариантов осуществления изобретения биспецифическое антитело содержит:

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

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

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело содержит

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

(II) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую
30 область, которая связывается с человеческим CD20, и содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 26, или тяжелую цепь,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, с аминокислотными заменами), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 27, или легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27, но с 1, 2 или 3 мутациями (например, с аминокислотными заменами).

В биспецифическом антителе можно использовать различные константные области или их варианты. В одном из вариантов осуществления изобретения антитело содержит константную область IgG, такую как константная область человеческого IgG1, например, константную область человеческого IgG1, указанную в SEQ ID NO: 15, или любого другого пригодного аллотипа IgG1. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляет собой полноразмерное антитело с константной областью человеческого IgG1. В некоторых вариантах осуществления изобретения первое связывающее плечо биспецифического антитела имеет происхождение из гуманизированного антитела, предпочтительно из полноразмерного антитела IgG1, λ (лямбда). В одном из вариантов осуществления изобретения первое связывающее плечо биспецифического антитела имеет происхождение из гуманизированного антитела, например, из полноразмерного антитела IgG1, λ (лямбда), и, таким образом, содержит константную область легкой λ -цепи. В некоторых вариантах осуществления изобретения первое связывающее плечо содержит константную область легкой λ -цепи, указанную в SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления изобретения второе связывающее плечо биспецифического антитела имеет происхождение из человеческого антитела, предпочтительно из полноразмерного антитела IgG1, κ (каппа). В некоторых вариантах осуществления изобретения второе связывающее плечо биспецифического антитела имеет происхождение из человеческого антитела, предпочтительно из полноразмерного антитела IgG1, κ (каппа), и, таким образом, может содержать константную область легкой κ -цепи. В некоторых вариантах осуществления изобретения второе связывающее плечо содержит константную область легкой κ -цепи, представленную в SEQ ID NO: 23. В предпочтительном варианте осуществления изобретения первое связывающее плечо содержит константную область легкой λ -цепи, указанную в SEQ ID NO: 22, а второе

связывающее плечо содержит константную область легкой к-цепи, указанную в SEQ ID NO: 23.

5 Должно быть очевидно, что представляющий собой константную область участок биспецифического антитела может содержать модификации, обеспечивающие эффективное образование/производство биспецифических антител и/или получение инертной Fc-области. Указанные модификации хорошо известны в данной области.

10 В данной области известны различные форматы биспецифических антител (см. обзор у Kontermann, Drug Discov Today 20, 2015, сс. 838-847; MAbs, 4, 2012, сс. 182-197). Таким образом, биспецифическое антитело, используемое в способах и вариантах применения, указанных в настоящем описании, не ограничено каким-либо конкретным биспецифическим форматом или методом его получения. Например, биспецифические антитела могут включать (но не ограничиваясь только ими) биспецифические антитела с комплементарными СНЗ-доменами для усиления гетеродимеризации, молекулы, полученные с помощью технологий «Knobs-into-Holes» (фирма Genentech, WO 98/50431), CrossMAbs (фирма Roche, WO 2011/117329) или электростатически совместимые молекулы (фирма Amgen, EP 1870459 и WO 2009/089004; фирма Chugai, US201000155133; фирма Oncomed, WO 2010/129304).

20 Предпочтительно биспецифическое антитело содержит Fc-область, содержащую первую тяжелую цепь с первой Fc-последовательностью, которая содержит первый СНЗ-участок, и вторую тяжелую цепь со второй Fc-последовательностью, которая содержит второй СНЗ-участок, в которой последовательности первого и второго СНЗ-участков отличаются друг от друга и являются такими, что гетеродимерное взаимодействие между указанными 25 первым и вторым СНЗ-участками является более сильным, чем каждое из гомодимерных взаимодействий указанных первого и второго СНЗ-участков. Более подробная информация об указанных взаимодействиях и о путях их достижения представлена, например, в WO 2011/131746 и WO 2013/060867 (фирма Genmab), которые включены в настоящее описание в качестве ссылки. В 30 одном из вариантов осуществления изобретения биспецифическое антитело содержит в первой тяжелой цепи (I) аминокислоту L в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи человеческого

IgG1, имеющей SEQ ID NO: 15, и содержит во второй тяжелой цепи аминокислоту R в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1, имеющей SEQ ID NO: 15, или наоборот.

Биспецифические антитела могут содержать модификации в Fc-области для придания Fc-области инертности или отсутствия активирующего действия. Таким образом, в биспецифических антителах, указанных в настоящем описании, одна или обе тяжелые цепи могут быть модифицированы таким образом, чтобы антитело индуцировало опосредуемую Fc эффекторную функцию в меньшей степени относительно биспецифического антитела, у которого отсутствует модификация. Опосредуемую Fc эффекторную функцию можно оценивать количественно, определяя опосредуемую Fc экспрессию CD69 на Т-клетках (т.е. экспрессию CD69, являющуюся результатом опосредованного антителом к CD3, зависимо от Fcγ-рецептора перекрестного связывания CD3), определяя связывание с Fcγ-рецепторами, связывание с C1q или индукцию опосредуемого Fc перекрестного связывания FcγR. В частности, последовательность константной области тяжелой цепи можно модифицировать так, чтобы уровень опосредуемой Fc экспрессии CD69 снижался по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 99% или 100% по сравнению с антителом дикого типа (немодифицированным антителом), при определении указанной опосредуемой Fc экспрессии CD69 с помощью функционального анализа на основе РВМС, например, описанного в примере 3 в WO 2015/001085. Модификации в последовательностях константных областей тяжелых и легких цепей могут приводить также к уменьшению связывания C1q с указанным антителом. По сравнению с немодифицированным антителом снижение может составлять по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или 100%, и C1q-связывание можно определять, например, с помощью ELISA. Кроме того, Fc-область можно модифицировать так, чтобы антитело опосредовало сниженную опосредуемую Fc пролиферацию Т-клеток по сравнению с немодифицированным антителом по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 99% или 100%, при количественной оценке

пролиферации Т-клеток с помощью функционального анализа на основе РВМС. Примеры аминокислотных положений, которые можно модифицировать, например, в антителе изотипа IgG1, включают положения L234 и L235. Так, в одном из вариантов осуществления изобретения биспецифическое антитело может содержать первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, и в нем как в первой тяжелой цепи, так и во второй тяжелой цепи аминокислотные остатки в положениях, соответствующих положениям L234 и L235 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно Eu-нумерации, представляют собой F и E соответственно. Кроме того, аминокислотная замена D265A может снижать связывание со всеми Fcγ-рецепторами и предупреждать ADCC (Shields и др., JBC 276, 2001, сс. 6591-604). Таким образом, биспецифическое антитело может содержать первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, в котором и первой тяжелой цепи, и во второй тяжелой цепи аминокислотный остаток в положении, соответствующем положению D265 в тяжелой цепи человеческого IgG1 согласно Eu-нумерации, представляет собой A.

В одном из вариантов осуществления изобретения в первой тяжелой цепи и второй тяжелой цепи биспецифического антитела аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в тяжелой цепи человеческого IgG1, представляют собой F, E и A соответственно. Антитело с указанными аминокислотами в этих положениях является примером антитела, имеющего инертную Fc-область или неактивирующую Fc-область.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, в котором и в первой, и во второй тяжелых цепях аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1, имеющей SEQ ID NO: 15, представляют собой F, E и A соответственно. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, в котором в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1, имеющей SEQ ID NO: 15, представляет собой L, и в котором во второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1, имеющей SEQ

ID NO: 15, представляют R, или наоборот. В предпочтительном варианте осуществления изобретения биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, в котором (I) и в первой, и во второй тяжелых цепях аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1, 5 имеющей SEQ ID NO: 15, представляют F, E и A соответственно, и (II) в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1, имеющей SEQ ID NO: 15, представляет собой L, и в котором во второй тяжелой цепи аминокислота в 10 положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1, имеющей SEQ ID NO: 15, представляют R, или наоборот.

Касательно биспецифических антител, представленных в настоящем описании, антитела, которые имеют комбинацию трех аминокислотных замен L234F, L235E и D265A, а также мутацию K409R или F405L, указанную выше, 15 можно обозначать с помощью индекса «FEAR» или «FEAL» соответственно.

Аминокислотная последовательность константной области тяжелой цепи IgG1 дикого типа в настоящем описании представлена в виде SEQ ID NO: 15. В соответствии с описанными выше вариантами осуществления изобретения биспецифическое антитело может содержать константную область тяжелой цепи 20 IgG1 с заменой F405L и может иметь аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 17, и/или константную область тяжелой цепи IgG1 с заменой K409R и может иметь аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 18, и может содержать дополнительные замены, которые придают Fc-области инертность или отсутствие активирующего 25 действия. Таким образом, в одном из вариантов осуществления изобретения биспецифическое антитело содержит комбинацию константных областей тяжелой цепи IgG1 с аминокислотной последовательностью одной из константных областей тяжелой цепи, несущей замены L234F, L235E, D265A и F405L (например, представленной в SEQ ID NO: 19), и с аминокислотной 30 последовательностью другой константной области тяжелой цепи, несущей замены L234F, L235E, D265A и K409R (например, представленной в SEQ ID NO: 20). Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения

биспецифическое антитело содержит константные области тяжелых цепей, которые содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 19 и 20.

В предпочтительных вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело, используемое в способах и вариантах применения, указанных в настоящем описании, содержит первое связывающее плечо, которое содержит тяжелую цепь и легкую цепь, указанные в SEQ ID NO: 24 и 25 соответственно, и второе связывающее плечо, которое содержит тяжелую цепь и легкую цепь, указанные в SEQ ID NO: 26 и 27 соответственно. Указанное антитело в контексте настоящего описания можно обозначать также как DuoBody-CD3xCD20. В способах и вариантах применения, указанных в настоящем описании, предполагается также использование вариантов таких антител. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, которые состоят из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 24 и 25 соответственно, и тяжелую цепь и легкую цепь, которые состоят из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 26 и 27 соответственно. В некоторых вариантах осуществления изобретения биспецифическое антитело представляет собой эпоритамаб (CAS 2134641-34-0) или его биоаналог.

20 Наборы

В настоящем описании представлены также наборы, которые включают фармацевтическую композицию, содержащую биспецифическое антитело, которое связывается с CD3 и CD20, предлагаемое в изобретении, такое как DuoBody-CD3xCD20 или эпоритамаб, и фармацевтически приемлемый носитель, в терапевтически эффективном количестве, адаптированном для применения в способах, представленных в настоящем описании. Наборы необязательно могут содержать также инструкции, например, содержащие графики введения, позволяющие практикующему специалисту (например, врачу, медсестре или пациенту) вводить композицию, содержащуюся в нем, пациенту с CLL. Набор может включать также шприц.

Необязательно наборы включают несколько упаковок разовой дозы (например, дозы, составляющей от 12 до 60 мг, такой как 12 мг, 24 мг, 36 мг, 48 мг или 60 мг) фармацевтических композиций, каждая из которых содержит в

эффективном количестве биспецифическое антитело для однократного введения согласно способам, представленным в настоящем описании. В наборы могут быть включены также инструменты или устройства, необходимые для введения фармацевтической(их) композиции(й). Например, набор может содержать один или несколько предварительно заполненных шприцев, содержащих в определенном количестве биспецифического антитела.

Дополнительные варианты осуществления изобретения

1. Биспецифическое антитело, содержащее:

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

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

предназначенное для применения для лечения хронического лимфолейкоза (CLL) у человека, где лечение включает введение человеку биспецифического антитела в дозе, составляющей от 12 до 60 мг, с использованием 28-дневных циклов.

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

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

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

5. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 4, где еженедельное введение осуществляют в течение 2,5 28-дневных циклов.

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

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

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

9. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 4-8, где перед введением первой еженедельной дозы, составляющей 12-60 мг, вводят примирующую дозу биспецифического антитела в цикле 1 28-дневных циклов.

10. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 9, где примирующую дозу вводят за две недели до введения первой еженедельной дозы, составляющей 12-60 мг.

11. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 9 или 10, где примирующая доза находится в диапазоне от 0,05 до 0,35 мг.

12. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 9-11, где указанная примирующая доза составляет 0,16 мг или примерно 0,16 мг.

13. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 9-12, где после введения примирующей дозы и до введения первой еженедельной дозы, составляющей 12-60 мг, вводят промежуточную дозу биспецифического антитела.

14. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 13, где примирующую дозу вводят в день 1 и промежуточную дозу вводят в день 8 до введения первой еженедельной дозы, составляющей 12-60 мг, в дни 15 и 22 цикла 1.

15. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 13 или 14, где указанная промежуточная доза находится в диапазоне от 0,6 до 1,2 мг.

5 16. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 13-15, где указанная промежуточная доза составляет 0,8 мг или примерно 0,8 мг.

17. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 13-16, где биспецифическое антитело вводят с использованием 28-дневных циклов, в которых

10 а) в цикле 1: примирующую дозу вводят в день 1, промежуточную дозу в день 8, а полную дозу, составляющую 12-60 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

15 в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в день 1.

18. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 17, где полная доза составляет 24 мг или примерно 24 мг.

20 19. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 17, где полная доза составляет 48 мг или примерно 48 мг.

20. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-19, где биспецифическое антитело вводят подкожно.

25 21. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-20, где CLL представляет собой рецидивирующий и/или рефрактерный CLL.

22. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-21, где субъект обладает непереносимостью ингибитора ВТК.

30 23. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-22, где субъект получал по меньшей мере две предшествующие линии противоопухолевой терапии.

24. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 23, где по меньшей мере одна из по меньшей мере двух предшествующих противоопухолевых терапий включает лечение ингибитором ВТК.

5 25. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-24, где CLL является невосприимчивым к ингибитору ВТК.

26. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-25, где во время лечения ингибитором ВТК имел место рецидив CLL.

10 27. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 21-26, где субъект имеет рефрактерный и/или рецидивирующий CLL после получения двух предшествующих противоопухолевых терапий.

28. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-27, где субъекта лечат с целью профилактики синдрома выброса цитокинов (CRS).

15 29. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 28, где профилактика включает введение субъекту кортикостероида.

30. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 28 или 29, где кортикостероид вводят в тот же день, что и биспецифическое антитело.

20 31. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 30, где кортикостероид вводят дополнительно во второй, третий и четвертый дни после введения биспецифического антитела.

32. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 29-31, где кортикостероид представляет собой преднизолон.

25 33. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 32, где преднизолон вводят во внутривенной дозе 100 мг или в эквивалентной дозе, включая оральную дозу.

30 34. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-33, где субъекта подвергают премедикации для снижения реакций на инъекции.

35. Биспецифическое по варианту осуществления изобретения 34, где премедикация включает антигистаминный препарат.

36. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 35, где антигистаминный препарат представляет собой дифенгидрамин.

37. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 36, где дифенгидрамин вводят во внутривенной или оральной дозе 50 мг или в эквивалентной дозе.

38. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 34-37, где премедикация включает жаропонижающее средство.

39. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 38, где жаропонижающее средство представляет собой ацетаминофен.

40. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 39, где ацетаминофен вводят в оральной дозе, составляющей от 560 до 1000 мг, или в эквивалентной дозе.

41. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 34-40, где премедикацию осуществляют в тот же день, что и введение биспецифического антитела.

42. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 28-41, где профилактику осуществляют во время цикла 1.

43. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 34-42, где премедикацию осуществляют во время цикла 1.

44. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 42 или 43, где профилактику осуществляют во время цикла 2, если у субъекта проявляется CRS степени, превышающей 1, после последнего введения биспецифического антитела в цикле 1.

45. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 44, где профилактику продолжают в следующем цикле, если при последнем введении биспецифического антитела в предыдущем цикле у субъекта проявляется CRS степени, превышающий 1.

46. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 34-45, где премедикацию осуществляют во время цикла 2.

47. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 46, где премедикацию осуществляют во время следующих циклов.

48. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-47, где субъекту вводят антибиотики, если у субъекта развивается CRS степени 1.

5 49. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-47, где субъекту вводят вазопрессор, если у субъекта развивается CRS степени 2 или степени 3.

50. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-47, где субъекту вводят по меньшей мере два вазопрессора, если у субъекта развивается CRS степени 4.

10 51. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-50, где субъекту вводят тоцилизумаб, если у субъекта развивается CRS степени 2, степени 3 или степени 4.

52. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 51, где субъекту дополнительно вводят стероид.

15 53. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 52, где стероид представляет собой дексаметазон.

54. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 52, где стероид представляет собой метилпреднизолон.

20 55. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 51-54, где тоцилизумаб заменяют на антитело к IL-6 (например, силтуксимаб), если субъект является невосприимчивым к тоцилизумабу.

56. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 51-54, где тоцилизумаб заменяют на антагонист IL-1R (например, анакинру), если субъект является невосприимчивым к тоцилизумабу.

25 57. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-56, где субъекта лечат с целью профилактики синдрома лизиса опухоли (TLS).

30 58. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 57, где профилактика TLS включает введение одного или нескольких средств, снижающих уровень мочевой кислоты, до введения биспецифического антитела.

59. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 58, где одно или несколько средств, снижающих уровень мочевой кислоты, включают расбуриказу и/или аллопуринол.

60. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-59, где у субъекта достигается полный ответ, частичный ответ или стабильное течение заболевания.

5 61. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-60, в котором:

(I) первая антигенсвязывающая область содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 4, последовательности GTN и SEQ ID NO: 5 соответственно; и

(II) вторая антигенсвязывающая область содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 8, 9 и 10 соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, последовательности DAS и SEQ ID NO: 12 соответственно.

62. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-61, в котором:

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

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

63. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-62, в котором первое связывающее плечо биспецифического антитела имеет происхождение из гуманизованного антитела, предпочтительно из полноразмерного антитела IgG1, λ (лямбда).

30 64. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 63, в котором первое связывающее плечо биспецифического антитела содержит константную область легкой λ -цепи, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 22.

65. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-64, в котором второе связывающее плечо биспецифического антитела имеет происхождение из человеческого антитела, предпочтительно из полноразмерного антитела IgG1,κ (каппа).

5 66. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 65, в котором второе связывающее плечо содержит константную область легкой κ-цепи, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 23.

10 67. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-66, где биспецифическое антитело представляет собой полноразмерное антитело с константной областью человеческого IgG1.

68. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-67, где биспецифическое антитело содержит инертную Fc-область.

15 69. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-68, где биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, в котором и в первой, и во второй тяжелых цепях аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1, представленной в SEQ
20 ID NO: 15, представляют собой F, E и A соответственно.

70. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-69, где биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, в котором в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи
25 человеческого IgG1, представленной в SEQ ID NO: 15, представляет собой L, и в котором во второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1, представленной в SEQ ID NO: 15, представляет собой R, или наоборот.

30 71. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-70, где биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, в котором

(I) и в первой, и во второй тяжелых цепях аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области

тяжелой цепи человеческого IgG1, имеющей SEQ ID NO: 15, представляют F, E и A соответственно, и

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

72. Биспецифическое антитело по варианту осуществления изобретения 71, где биспецифическое антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 19 и 20.

73. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-72, где биспецифическое антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 24 и 25 соответственно, тяжелую цепь и легкую цепь, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 26 и 27 соответственно.

74. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-73, где биспецифическое антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, которые состоят из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 24 и 25 соответственно, тяжелую цепь и легкую цепь, которые состоят из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 26 и 27 соответственно.

75. Биспецифическое антитело по одному из вариантов осуществления изобретения 1-74, где биспецифическое антитело представляет собой эпоритамаб или его биоаналог.

Настоящее описание дополнительно проиллюстрировано с помощью следующих примеров, которые не следует истолковывать как дополнительные ограничения. Содержание всех чертежей и всех ссылок, последовательностей Genbank, патентов и опубликованных заявок на патент, процитированных в настоящей заявке, специально включено в нее в качестве ссылки.

1а. Способ лечения хронического лимфолейкоза (CLL) у человека, где способ включает введение субъекту биспецифического антитела, которое содержит:

5 I) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с человеческим CD3ε (эпсилон), и содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), в котором VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся в последовательности VH-области SEQ ID NO: 6, и в VL-области содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые находятся
10 в последовательности VL-области SEQ ID NO: 7; и

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

в котором биспецифическое антитело вводят в дозе, составляющей от 12 до 60 мг, с использованием 28-дневных циклов.

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

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

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

5а. Способ по варианту осуществления изобретения 4а, в котором еженедельное введение осуществляют в течение 2,5 28-дневных циклов.

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

7а. Способ по варианту осуществления изобретения 6а, в котором введение раз в две недели осуществляют в течение шести 28-дневных циклов.

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

5 9а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 4а-8а, в котором перед введением первой еженедельной дозы, составляющей 12-60 мг, вводят примирующую дозу биспецифического антитела в цикле 1 28-дневных циклов.

10 10а. Способ по варианту осуществления изобретения 9а, в котором примирующую дозу вводят за две недели до введения первой еженедельной дозы, составляющей 12-60 мг.

11а. Способ по варианту осуществления изобретения 9а или 10а, в котором примирующая доза находится в диапазоне от 0,05 до 0,35 мг.

12а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 9а-11а, в котором указанная примирующая доза составляет 0,16 мг или примерно 0,16 мг.

15 13а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 9а-12а, в котором после введения примирующей дозы и до введения первой еженедельной дозы, составляющей 12-60 мг, вводят промежуточную дозу биспецифического антитела.

20 14а. Способ по варианту осуществления изобретения 13а, в котором примирующую дозу вводят в день 1 и промежуточную дозу вводят в день 8 до введения первой еженедельной дозы, составляющей 12-60 мг, в дни 15 и 22 цикла 1.

15а. Способ по варианту осуществления изобретения 13а или 14а, в котором указанная промежуточная доза находится в диапазоне от 0,6 до 1,2 мг.

25 16а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 13а-15а, в котором указанная промежуточная доза составляет 0,8 мг или примерно 0,8 мг.

17а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 13а-16а, в котором биспецифическое антитело вводят с использованием 28-дневных циклов, в которых

30 а) в цикле 1: примирующую дозу вводят в день 1, промежуточную дозу в день 8, а полную дозу, составляющую 12-60 мг, в дни 15 и 22;

б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1 и 15;

и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в день 1.

5 18а. Способ по варианту осуществления изобретения 17а, в котором полная доза составляет 24 мг или примерно 24 мг.

19а. Способ по варианту осуществления изобретения 17а, в котором полная доза составляет 48 мг или примерно 48 мг.

10 20а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1а-19а, в котором биспецифическое антитело вводят подкожно.

21а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1а-20а, в котором CLL представляет собой рецидивирующий и/или рефрактерный CLL.

22а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1-21а, в котором субъект обладает непереносимостью ингибитора ВТК.

15 23а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1а-22а, в котором субъект получал по меньшей мере две предшествующие линии противоопухолевой терапии.

20 24а. Способ по варианту осуществления изобретения 23а, в котором по меньшей мере одна из по меньшей мере двух предшествующих противоопухолевых терапий включает лечение ингибитором ВТК.

25а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1а-24а, в котором CLL является невосприимчивым к ингибитору ВТК.

26а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1а-25а, в котором во время лечения ингибитором ВТК имел место рецидив CLL.

25 27а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 21а-26а, в котором субъект имеет рефрактерный и/или рецидивирующий CLL после получения двух предшествующих противоопухолевых терапий.

30 28а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1а-27а, в котором субъекта лечат с целью профилактики синдрома выброса цитокинов (CRS).

29а. Способ по варианту осуществления изобретения 28а, в котором профилактика включает введение субъекту кортикостероида.

30а. Способ по варианту осуществления изобретения 28а или 29а, в котором кортикостероид вводят в тот же день, что и биспецифическое антитело.

31а. Способ по варианту осуществления изобретения 30а, в котором кортикостероид вводят дополнительно во второй, третий и четвертый дни после введения биспецифического антитела.

32а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 29а-31а, в котором кортикостероид представляет собой преднизолон.

33а. Способ по варианту осуществления изобретения 32а, в котором преднизолон преднизолон вводят во внутривенной дозе 100 мг или в эквивалентной дозе, включая оральную дозу.

34а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1а-33а, в котором субъекта подвергают премедикации для снижения реакций на инъекции.

35а. Способ по варианту осуществления изобретения 34а, в котором премедикация включает антигистаминный препарат.

36а. Способ по варианту осуществления изобретения 35а, в котором антигистаминный препарат представляет собой дифенгидрамин.

37а. Способ по варианту осуществления изобретения 36а, в котором дифенгидрамин вводят во внутривенной или оральной дозе 50 мг или в эквивалентной дозе.

38а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 34а-37а, в котором премедикация включает жаропонижающее средство.

39а. Способ по варианту осуществления изобретения 38, в котором жаропонижающее средство представляет собой ацетаминофен.

40а. Способ по варианту осуществления изобретения 39, в котором ацетаминофен вводят в оральной дозе, составляющей от 560 до 1000 мг, или в эквивалентной дозе.

41а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 34а-40а, в котором премедикацию осуществляют в тот же день, что и введение биспецифического антитела.

42а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 28а-41а, в котором профилактику осуществляют во время цикла 1.

43а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 34а-42а, в котором премедикацию осуществляют во время цикла 1.

44а. Способ по варианту осуществления изобретения 42а или 43а, в котором профилактику осуществляют во время цикла 2, если у субъекта проявляется CRS степени, превышающей 1, после последнего введения биспецифического антитела в цикле 1.

5 45а. Способ по варианту осуществления изобретения 44а, в котором профилактику продолжают в следующем цикле, если при последнем введении биспецифического антитела в предыдущем цикле у субъекта проявляется CRS степени, превышающей 1.

10 46а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 34а-45а, в котором премедикацию осуществляют во время цикла 2.

47а. Способ по варианту осуществления изобретения 46а, в котором премедикацию осуществляют во время следующих циклов.

15 48а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1а-47а, в котором субъекту вводят антибиотики, если у субъекта развивается CRS степени 1.

49а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1а-47а, в котором субъекту вводят вазопрессор, если у субъекта развивается CRS степени 2 или степени 3.

20 50а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1а-47а, в котором субъекту вводят по меньшей мере два вазопрессора, если у субъекта развивается CRS степени 4.

51а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1а-50а, в котором субъекту вводят тоцилизумаб, если у субъекта развивается CRS степени 2, степени 3 или степени 4.

25 52а. Способ по варианту осуществления изобретения 51а, в котором субъекту дополнительно вводят стероид.

53а. Способ по варианту осуществления изобретения 52а, в котором стероид представляет собой дексаметазон.

30 54а. Способ по варианту осуществления изобретения 52а, в котором стероид представляет собой метилпреднизолон.

55а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 51а-54а, в котором тоцилизумаб заменяют на антитело к IL-6 (например, силтуксимаб), если субъект является невосприимчивым к тоцилизумабу.

56a. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 51a-54a, в котором тоцилизумаб заменяют на антагонист IL-1R (например, анакинру), если субъект является невосприимчивым к тоцилизумабу.

57a. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1a-56a, в котором субъекта лечат с целью профилактики синдрома лизиса опухоли (TLS).

58a. Способ по варианту осуществления изобретения 57a, в котором профилактика TLS включает введение одного или нескольких средств, снижающих уровень мочевой кислоты, до введения биспецифического антитела.

59a. Способ по варианту осуществления изобретения 58a, в котором одно или несколько средств, снижающих уровень мочевой кислоты, включают расбуриказу и/или аллопуринол.

60a. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1a-59a, в котором у субъекта достигается полный ответ, частичный ответ или стабильное течение заболевания.

61a. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1a-60a, в котором:

(I) первая антигенсвязывающая область содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 4, последовательности GTN и SEQ ID NO: 5 соответственно; и

(II) вторая антигенсвязывающая область содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 8, 9 и 10 соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 11, последовательности DAS и SEQ ID NO: 12 соответственно.

62a. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1a-61a, в котором:

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

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

5 63а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1а-62а, в котором первое связывающее плечо биспецифического антитела имеет происхождение из гуманизированного антитела, предпочтительно из полноразмерного антитела IgG1, λ (лямбда).

10 64а. Способ по варианту осуществления изобретения 63а, в котором первое связывающее плечо биспецифического антитела содержит константную область легкой λ -цепи, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 22.

15 65а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1а-64а, в котором второе связывающее плечо биспецифического антитела имеет происхождение из человеческого антитела, предпочтительно из полноразмерного антитела IgG1, κ (каппа).

20 66а. Способ по варианту осуществления изобретения 65а, в котором второе связывающее плечо содержит константную область легкой κ -цепи, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 23.

25 67а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1а-66а, в котором биспецифическое антитело представляет собой полноразмерное антитело с константной областью человеческого IgG1.

68а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1а-67а, в котором биспецифическое антитело содержит инертную Fc-область.

30 69а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1а-68а, в котором биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, в котором и в первой, и во второй тяжелых цепях аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1, представленной в SEQ ID NO: 15, представляют собой F, E и A соответственно.

70а. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1а-69а, в котором биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, в котором в первой тяжелой цепи аминокислота в положении,

соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1, представленной в SEQ ID NO: 15, представляет собой L, и в котором во второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1, представленной в SEQ ID NO: 15, представляет собой R, или наоборот.

71a. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1a-70a, в котором биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, в котором

(I) и в первой, и во второй тяжелых цепях аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1, имеющей SEQ ID NO: 15, представляют F, E и A соответственно, и

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

72a. Способ по варианту осуществления изобретения 71a, в котором биспецифическое антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 19 и 20.

73a. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1a-72a, в котором биспецифическое антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 24 и 25 соответственно, и тяжелую цепь и легкую цепь, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 26 и 27 соответственно.

74a. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1a-73a, в котором биспецифическое антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, которые состоят из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 24 и 25 соответственно, и тяжелую цепь и легкую цепь, которые состоят из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 26 и 27 соответственно.

75a. Способ по одному из вариантов осуществления изобретения 1a-74a, в котором биспецифическое антитело представляет собой эпоритамаб или его биоаналог.

Примеры

5 DuoBody-CD3xCD20

DuoBody-CD3xCD20 представляет собой bsАт, которое распознает Т-клеточный антиген CD3 и В-клеточный антиген CD20. DuoBody-CD3xCD20 стимулирует эффективное опосредуемое Т-клетками уничтожение экспрессирующих CD20 клеток. DuoBody-CD3xCD20 имеет обычную структуру IgG1.

10 Создавали два родительских антитела, IgG1-CD3-FEAL, представляющее собой обладающее специфичностью в отношении CD3ε гуманизованное антитело IgG1λ, которое имеет последовательности тяжелой и легкой цепей, представленные в SEQ ID NO: 24 и 25 соответственно, и IgG1-CD20-FEAR, 15 представляющее собой обладающее специфичностью в отношении CD20 полученное из человеческого IgG1κ антитело 7D8, которое имеет последовательности тяжелой и легкой цепей, представленные в SEQ ID NO: 26 и 27 соответственно, в качестве отдельных биологических промежуточных 20 продуктов. Каждое родительское антитело содержало одну из комплементарных мутаций в СН3-домене, необходимую для создания молекул DuoBody (F405L и K409R соответственно). Родительские антитела содержали три дополнительные мутации в Fc-области (L234F, L235E и D265A; FEA). Родительские антитела получали в линиях клеток млекопитающего, таких как клетки яичника китайского хомячка (СНО), с применением стандартных технологий 25 культивирования клеток в суспензии и очистки. Затем создавали DuoBody-CD3xCD20 с помощью контролируемого процесса обмена Fab-плечей (сFAE) (Labrijn и др., 2013, Labrijn и др., 2014, Gramer и др., 2013). Родительские антитела смешивали и подвергали воздействию контролируемых 30 восстанавливающих условий. Это приводило к разделению родительских антител, которые при повторном окислении повторно собирались. Таким путем получали высокоочищенные (~ 93-95%) препараты DuoBody-CD3xCD20. После дополнительной доочистки/очистки получали конечный продукт с чистотой, близкой к 100%. Концентрацию DuoBody-CD3xCD20 измеряли по уровню

абсорбции при 280 нм, используя теоретический коэффициент экстинкции $\epsilon = 1,597 \text{ мл} \cdot \text{мг}^{-1} \text{ см}^{-1}$. Конечный продукт хранили при 4°C. Продукту присвоено международное запатентованное название эпкоритамаб.

5 Эпкоритамаб получают (в концентрации 5 мг/мл или 60 мг/мл) в виде стерильного от прозрачного бесцветного до слегка желтого раствора, поставляемого в виде концентрата для приготовления раствора для подкожной (SC) инъекции. Эпкоритамаб содержит забуферивающие и регулирующие тоничность агенты. Все эксципиенты и их количества в приготовленном продукте являются такими, которые пригодны с фармацевтической точки зрения для продуктов, предназначенных для подкожной инъекции. Соответствующие 10 дозы восстанавливают до объема примерно 1 мл для подкожной инъекции.

Пример 1: Индуцируемая эпкоритамабом активация CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток и цитотоксичность в отношении В-клеток, полученных из организма пациентов с CLL

15 Пациенты с CLL часто имеют врожденную Т-клеточную иммунную дисфункцию, что потенциально может влиять на противоопухолевую активность эпкоритамаба. Данный эксперимент проводили для определения того, может ли эпкоритамаб активировать Т-клетки пациентов с CLL и индуцировать цитотоксичность в отношении В-клеток.

20 В целом метод состоял в следующем. Приобретенные коммерческим путем РВМС пациента с CLL (CLL-РВМС) культивировали в течение 24 ч совместно с РВМС здорового донора (HD-РВМС) (соотношение клетки пациента:клетки здорового донора 1:5) и эпкоритамабом или биспецифическими антителами, содержащими либо CD3-плечо, либо CD20-плечо, и несвязывающее контрольное плечо (bsIgG1-CD3xctrl и bsIgG1-ctrlxCD20 соответственно, где контроли имели тот же самый формат, что и эпкоритамаб (т.е. имели инертную Fc-область). HD-РВМС добавляли для повышения жизнеспособности РВМС, полученных из организма пациента с CLL, их метили с помощью CFSE для того, чтобы иметь возможность отличать их от РВМС, полученных от пациента с CLL. Для оценки 25 активации (А) CD4⁺ Т-клеток и (Б) CD8⁺ Т-клеток определяли уровень экспрессии CD69. Анализировали жизнеспособность В-клеток (% сохранившихся CD4-CD8-CD22⁺-клеток), которую рассматривали в качестве показателя цитотоксичности, индуцируемой эпкоритамабом. 30

Как продемонстрировано на фиг. 1, эпоритамаб индуцировал активацию CD4⁺- и CD8⁺-Т-клеток, полученных как от пациента с CLL (CLL-Т-клетки), так и от здорового донора (HD-Т-клетки) (см. панели А и Б). В случае CD4⁺ Т-клеток HD-Т-клетки активировались более эффективно, чем CLL-Т-клетки (см. панель А, на которой при сравнении левого графика с правым графиком видно, что индуцируемая эпоритамабом активация CD4⁺ Т-клеток приводила к более высокому % CD69 в полученных от здорового донора РВМС по сравнению с РВМС, полученными от пациента с CLL). Эпоритамаб активировал как CLL-CD8⁺ Т-клетки, так и HD-CD8⁺ Т-клетки, в сходной степени (см. панель Б, верхняя линия на обоих графиках соответствует эпоритамабу). Эпоритамаб индуцировал опосредуемую Т-клетками цитотоксичность как в отношении CLL-В-клеток, так и в отношении HD-В-клеток, это свидетельствует о том, что CLL-В-клетки являются чувствительными к опосредуемой Т-клетками цитотоксичности (см. панель В, на которой продемонстрировано, что эпоритамаб снижал жизнеспособность В-клеток в соответствии с дозовой зависимостью). Эти данные демонстрируют, что эпоритамаб активирует как CD4⁺-, так и CD8⁺ Т-клетки, и индуцирует уничтожение В-клеток пациентов с CLL.

Пример 2: Фаза 1b/2 открытого исследования безопасности и эффективности эпоритамаба при рецидивирующем/рефрактерном хроническом лимфоцитарном лейкозе

Открытое состоящее из 2 частей (повышение дозы и расширение) многоцентровое исследование проводили для оценки безопасности, переносимости, ФК, фармакодинамики, иммуногенности и предварительной оценки эффективности одного агента - эпоритамаба на субъектах (испытуемых) возрастом 18 лет или старше с рецидивирующим и/или рефрактерным (R/R) хроническим лимфоцитарным лейкозом (CLL).

Обобщение сведений о текущем клиническом исследовании с применением эпоритамаба

В настоящее время проводится клиническое исследование применения эпоритамаба для лечения R/R В-NHL (Идентификатор клинических исследований ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03625037). Предварительные данные позволяют предположить, что лекарственное средство переносится в

дозах по меньшей мере вплоть до 48 мг, включая 60 мг в случае пациентов с R/R В-NHL, обладает благоприятным профилем безопасности, при этом отсутствуют сообщения об ограничивающей дозу токсичности.

Цели

5 Эскалация дозы

Первичной целью части исследования с эскалацией дозы является определение рекомендуемой для фазы 2 дозы (RP2D) и максимальной переносимой дозы (MTD) (конечная точка: частота проявления ограничивающей дозу токсичности (DLT)), и оценка безопасности и переносимости (конечные
10 точки: частота возникновения и тяжесть нежелательных явлений (AE), тяжелых нежелательных явлений (SAE), CRS, ICANS и TLS, и частота прерывания дозы, задержка дозы и интенсивность дозы) эпоритамаба на субъектах с R/R CLL.

Вторичные цели части исследования с эскалацией дозы включают определение ФК характеристик эпоритамаба (конечные точки: ФК параметры, включая клиренс, объем распределения и AUC_{0-last} и AUC_{0-x}, C_{max}, T_{max},
15 преддозовые величины (концентрации препарата до приема очередной дозы) и время полужизни), оценку фармакодинамических маркеров, связанных с эффективностью и механизмом действия эпоритамаба (конечные точки: фармакодинамические маркеры в образцах крови), оценку иммуногенности
20 эпоритамаба (конечная точка: частота возникновения антител к лекарственному средству (ADA) эпоритамабу) и предварительная оценка противоопухолевой активности эпоритамаба (конечные точки: общая частота ответа (ORR), продолжительность ответа (DOR), время до ответа (TTR), выживаемость без прогрессирования (PFS) и общая выживаемость (OS)).

25 Исследовательские цели части исследования с эскалацией дозы включают оценку биомаркеров, позволяющих прогнозировать клинический ответ на эпоритамаб (конечные точки: экспрессия CD20, оценка популяций иммунных клеток, фенотип и функция, и оценка крови) и оценка статуса минимальной остаточной болезни (MRD) в периферической крови и костном мозге (конечная
30 точка: частота встречаемости, не поддающейся обнаружению MRD).

Расширение

Первичной целью части исследования с расширением является оценка предварительной эффективности эпоритамаба (конечная точка: ORR)

Вторичные цели части исследования с расширением включают оценку предварительной эффективности эпоритамаба (конечные точки: DOR, TTR, PFS и OS), оценку статуса MRD в периферической крови и костном мозге (конечная точка: частота встречаемости не поддающейся обнаружению MRD), оценку безопасности и переносимости эпоритамаба (конечные точки: частота проявления и тяжесть AE, SAE, CRS, ICANS и TLS, и частота прерывания дозы, задержка дозы и интенсивность дозы), определение ФК профиля и фармакодинамического профиля эпоритамаба (конечные точки: ФК параметры и фармакодинамические параметры), и оценка иммуногенности эпоритамаба (конечная точка: частота возникновения ADA к эпоритамабу).

Исследовательские цели части исследования с расширением включают оценку биомаркеров, позволяющих прогнозировать клинический ответ на эпоритамаб (конечные точки: экспрессия CD20 и оценка популяций иммунных клеток, фенотип и функция, и оценка крови).

15 Общий план исследования

Исследование состоит из 2 частей: эскалация дозы (часть 1) и расширение (часть 2). Схема общего плана исследования представлена на фиг. 2. Обе части состоят из периода скрининга (вплоть до 21 дня перед днем 1 цикла 1), периода лечения (со дня 1 цикла 1 до прекращения введения эпоритамаба), последующего периода оценки безопасности (60 дней после введения последней дозы эпоритамаба) и последующего периода оценки статуса выживаемости.

В обеих частях исследования 1 и 2 эпоритамаб вводят путем подкожной (SC) инъекции согласно 4-недельным (т.е. 28 дневным) циклам, указанным ниже, до тех пор, пока не будет выполняться один или несколько критериев прекращения:

- циклы 1-3: дни 1, 8, 15 и 22 (QW)
- циклы 4-9: дни 1 и 15 (Q2W)
- циклы 10 и последующие: день 1 (Q4W)

Для снижения вероятности возникновения CRS применяют метод эскалации доз: примирующая доза в день 1 цикла 1, после этого промежуточная доза в день 8 цикла 1, затем полная доза в день 15 и день 22 цикла 1 и полная доза в последующих циклах.

В части 1 (эскалация дозы) эпоритамаб тестируют на субъектах с R/R CLL согласно модифицированному плану 3+3. DLT оценивают в течение первого цикла лечения (т.е. в течение 28 дней). После определения RP2D осуществляют предварительную оценку эффективности одного агента -
5 эпоритамаба наряду с оценкой безопасности, переносимости, фармакокинетики (ФК), фармакодинамики и биомаркеров в части 2 (расширение).

Эскалация дозы (часть 1)

В части исследования с эскалацией дозы применяют модифицированную схему 3+3. Эпоритамаб исследуют при двух уровнях полной дозы: 24 мг и 48 мг.
10 мг. Применяют схему ступенчатого повышения доз: 0,16 мг/0,8 мг/24 мг и 0,16 мг/0,8 мг/48 мг (примирующая/промежуточная/полная доза). На основе появляющихся данных могут быть изучены дополнительные дозы, включая промежуточные дозы, и схемы дозирования. Для каждого уровня доз сначала обрабатывают по 3 субъекта. Согласно правилам эскалации, представленным в
15 таблице 3, может потребоваться обработать 3 дополнительных субъектов рассматриваемой дозой или 3 субъектов другим уровнем дозы. В части 1 исследования должны участвовать по меньшей мере 6 субъектов. В течение первого цикла (т.е. в течение 28 дней) лечения осуществляют мониторинг субъектов в отношении DLT.

20 Таблица 3. Правила эскалации дозы на основе количества субъектов с DLT

Решение, принимаемое на основе количества субъектов с DLT (N_{DLT})	Количество субъектов, оцениваемых в отношении DLT при текущем уровне дозы	
	3	6
Повышать, если $N_{DLT} \leq$	0	1
Сохранять уровень дозы, если $N_{DLT} =$	1	2
Снижать, если $N_{DLT} \geq$	2	3
Запрещать уровень дозы, если $N_{DLT} \geq$	3	4

Можно заменять субъектов, у которых не удастся оценить DLT, при этом для определения уровня дозы, которую следует принимать в качестве RP2D, требуются по меньшей мере 6 субъектов. Можно исследовать дополнительные
25 уровни полной дозы, либо меньше 24 мг (например, 12 мг), либо больше 48 мг (например, 60 мг).

После завершения периода мониторинга DLT (т.е. 28 дней цикла 1) для всех субъектов, должны быть оценены все доступные данные (включая (но не ограничиваясь только ими) данные о безопасности, ФК, фармакодинамике и иммуногенности) для того, чтобы назначать следующий уровень дозы.

5 Эскалацию дозы прекращают, когда:

- при самом низком уровне дозы, подлежащем исследованию, в соответствии с правилами эскалации должно быть принято решение о запрете, снижении или сохранении того же уровня дозы;

10 • при самом высоком уровне дозы, подлежащем исследованию, в соответствии с правилами эскалации должно быть принято решение об эскалации или сохранении того же уровня дозы;

15 • при текущем уровне дозы соответствии с правилами эскалации должно быть принято решение об эскалации, но был оценен более высокий уровень дозы, что привело к снижению дозы, или в соответствии с правилами эскалации должно быть принято решение о снижении, но был оценен более низкий уровень дозы, что привело к эскалации дозы.

20 MTD определяют как наивысший исследованный уровень дозы, при котором DLT выявлена не более чем у трети испытуемых. RP2D в случае R/R CLL должна быть установлена равной 48 мг, если уровень дозы будет признан безопасным и переносимым. Совокупность данных, включая безопасность (например, нежелательные явления (АЕ) и лабораторные показатели безопасности, а также данные наблюдений, полученные после окончания периода оценки DLT), фармакокинетику, фармакодинамику и предварительную эффективность, будет определять дальнейшее планирование для части исследования с расширением.

25 Расширение (часть II)

30 Сразу после того, как будет установлена RP2D, можно начинать часть исследования с расширением. В часть исследования с расширением включено примерно 20 субъектов с R/R CLL, ранее подвергавшихся лечению с использованием 2 предшествующих линий противоопухолевой терапии, включающих ингибитор ВТК (например, ибрутиниб), или в ином случае с непереносимостью ингибитора ВТК. Пациентов с R/R CLL подвергают лечению с использованием RP2D, определенной в части 1. Первичной конечной точкой

эффективности в части исследования с расширением является ORR, который оценивают на основе критериев iwCLL 2018 (таблица 2). ORR представляет собой общепризнанную конечную точку ответа, используемую для оценки эффективности для субъектов с R/R CLL. Вторичные конечные точки эффективности включают DOR, TTR, PFS и OS. В качестве вторичной конечной точки эффективности оценивают также частоту негативного статуса MRD. Оценка MRD показывает, сколько раковых клеток все еще остается у пациента, находящегося в стадии ремиссии, во время или после проведения лечения. Конечные точки безопасности в части исследования с расширением включают частоту и тяжесть AE/SAE, частоту и тяжесть синдрома лизиса опухоли (TLS), синдрома нейротоксичности, ассоциированного с иммунными эффекторными клетками (ICANS) и CRS, а также частоту прерываний и задержки лечения.

Критерии включения

1. Субъектам должно быть не менее 18 лет.
2. Активная фаза заболевания CLL, которая требует лечения при соблюдении по меньшей мере 1 из следующих критериев:
 - а. Признаки прогрессирующей недостаточности костного мозга, проявляющейся в развитии или ухудшении анемии и/или тромбоцитопении;
 - б. Массивная (т.е. на ≥ 6 см ниже левого реберного края) или прогрессирующая или симптоматическая спленомегалия;
 - в. Массивные узлы (т.е. ≥ 10 см в диаметре) или прогрессирующая или симптоматическая лимфаденопатия;
 - г. Прогрессирующий лимфоцитоз с увеличением на $\geq 50\%$ в течение 2-месячного периода или временем удвоения лимфоцитов (LDT) < 6 месяцев;
 - д. Аутоиммунные осложнения, включая анемию или тромбоцитопению, слабо реагирующие на кортикостероиды;
 - е. Симптоматическое или функциональное внеузловое поражение (например, кожи, почек, легких, позвоночника);
 - ж. Симптомы, связанные с заболеванием, определяемые любым из следующих признаков:
 - Непреднамеренная потеря веса $\geq 10\%$ в течение предыдущих 6 месяцев;
 - Сильная усталость;

○ Лихорадка $\geq 38,0^{\circ}\text{C}$ ($100,5^{\circ}\text{F}$) в течение 2 или более недель без признаков инфекции;

○ Ночная потливость в течение ≥ 1 месяца без признаков инфекции.

3. R/R CLL после получения по меньшей мере 2 предшествующих линий системной противоопухолевой терапии, включая лечение ингибитором ВТК (например, ибрутинибом) (или его непереносимость). Рецидив определяют как свидетельство прогрессирования заболевания у субъекта, у которого ранее был достигнут CR или PR в течение ≥ 6 месяцев. Рефрактерное заболевание определяют как неудовлетворительный исход лечения (отсутствие достижения CR или PR-эффекта) или как прогрессирование в течение 6 месяцев после последней дозы терапии.

4. Поддающееся измерению заболевание, по крайней мере, согласно одному из следующих критериев:

а. $\geq 5 \times 10^9/\text{л}$ (5000/мкл) В-лимфоцитов в периферической крови;

б. Наличие поддающейся измерению лимфаденопатии и/или органомегалии;

5. Балл общего состояния по шкале ECOG, равный 0 или 1;

6. Скрининговая оценка методом проточной цитометрии CD20-положительности;

7. Имеет допустимые следующие лабораторные показатели:

Таблица 4

Параметр	Результат
а. Клиренс креатина или сывороточного креатина	> 45 мл/мин (по формуле Кокрофта-Голта) или сывороточный креатинин, в $\leq 1,5$ раза превышающий верхнюю границу нормы ($\times \text{ULN}$)
б. Сывороточная аланинтрансаминаза (ALT)	$\leq 2,5 \times \text{ULN}$
б. Сывороточная аспартаттрансаминаза (AST)	$\leq 2,5 \times \text{ULN}$
г. Билирубин	$\leq 1,5 \times \text{ULN}$, если только это не связано с синдромом Жильбера <i>Примечание: Субъекты с синдромом Жильбера могут быть включены, если общий билирубин $\leq 3 \times \text{ULN}$ и прямой билирубин $\leq 1,5 \times \text{ULN}$</i>
д. Гемоглобин	$\geq 9,0$ г/дл, если только анемия не вызвана поражением костного мозга при CLL <i>Примечание: В процессе скрининга можно осуществлять трансфузию крови для выполнения указанного требования</i>
е. Абсолютное количество нейтрофилов	$\geq 1,0 \times 10^9/\text{л}$ (1000/мкл), если только нейтропения не вызвана поражением костного мозга при CLL. <i>Примечание: В случае поражения костного мозга</i>

Параметр		Результат
		<i>разрешается применять фактор роста.</i>
ж.	Количество тромбоцитов	$\geq 30 \times 10^9/\text{л}$ (30000/мкл) <i>Примечание: В процессе скрининга можно осуществлять трансфузию для выполнения указанного требования.</i>
з.	Состояние свертываемости крови	PT/INR/aPTT $\leq 1,5 \times \text{ULN}$

8. Кумулятивная доза кортикостероидов, введенных в течение 2-недельного периода до введения первой дозы элкоритамаба, меньше дозы, эквивалентной дозе преднизона 250 мг;

5 9. Для скрининга у субъекта должен быть в наличии свежий материал костного мозга;

10. Необходимо пройти профилактику CRS/TLS;

11. Субъект должен быть готов и способен соблюдать запреты и ограничения, указанные в протоколе.

10 Критерии исключения

1. Трансформация CLL в агрессивную неходжкинскую лимфому.

2. Субъект получал ранее лечение биспецифическим антителом к CD3 × CD20.

15 3. Субъект подвергался ранее трансплантации аллогенных гематопозитических стволовых клеток (HSCT) или солидного органа.

4. Субъект получал до введения первой дозы элкоритамаба лечение противораковым биологическим препаратом, включая терапию с использованием антитела к CD20, антитела, конъюгированного с радиоизотопом или конъюгированного с токсином, или терапию с использованием CAR-T-клеток в течение 4 недель или 5 периодов полувыведения, в зависимости от того, что короче.

20 5. Субъект получал химиотерапию или лучевую терапию в течение 2 недель до введения первой дозы элкоритамаба.

25 6. Субъект получал лечение исследуемым лекарственным средством или лечение с использованием инвазивного исследовательского медицинского устройства в течение 4 недель или 5 периодов полувыведения, в зависимости от того, что короче, до введения первой дозы элкоритамаба.

7. Субъект имеет аутоиммунное заболевание или другие заболевания, которые требуют постоянной или высокодозной иммуносупрессивной терапии.

8. Субъект имеет неконтролируемое интеркуррентное заболевание, включая (но не ограничиваясь только этим):

5 а. Продолжающуюся или активную инфекцию, требующую внутривенного введения антибиотиков на момент включения в исследование или в течение предыдущих 2 недель, предшествующих ведению первой дозы эпокориумаба.

б. Симптоматическую застойную сердечную недостаточность (степени III или IV по классификации Нью-Йоркской кардиологической Ассоциации), нестабильную стенокардию или сердечную аритмию.

10 в. Инфаркт миокарда, внутричерепное кровотечение или инсульт в течение последних 6 месяцев.

9. Имеет при скрининге исходный интервал QT, скорректированный по формуле Фридеричии (QTcF), >480 мс.

10. Субъект получал вакцинацию живыми вакцинами в течение 28 дней до введения первой дозы эпокориумаба.

15 11. У субъекта выявлена токсичность, обусловленная предыдущими противораковыми терапиями, которая не снизилась до исходного уровня или до 1 степени или ниже, за исключением алопеции и периферической невропатии.

12. При скрининге установлено поражение ЦНС у субъекта.

20 13. Известно, что у субъекта были в прошлом или имеются текущие злокачественные новообразования, отличные от диагностированных при включении в исследование, за исключением:

а. Карциномы шейки матки стадии 1B или менее.

б. Неинвазивной базально-клеточной или плоскоклеточной кожной карциномы.

25 в. Неинвазивного поверхностного рака мочевого пузыря.

г. Рака предстательной железы с текущим уровнем PSA < 0,1 нг/мл.

д. Любого излечимого рака с продолжительностью CR >2 лет.

30 14. У субъекта имеются подозрения на аллергию, гиперчувствительность или непереносимость эпокориумаба или эксципиентов, входящих в состав препарата.

15. Субъект не способен переносить медицинские препараты, снижающие уровень мочевой кислоты.

16. Субъект перенес обширное операционное вмешательство (например, требующее общей анестезии) в течение 3 недель до скрининга или не полностью восстановился после операции, или у него запланировано обширное операционное вмешательство в течение того периода времени, когда ожидается участие субъекта в исследовании (или в течение 4 недель после введения последней дозы эпоритамаба). Примечание: могут принимать участие субъекты с запланированными хирургическими процедурами, которые должны проводиться под местной анестезией.

17. Субъект имеет известный анамнез/положительную серологию на гепатит В (за исключением тех случаев, когда иммунитет обусловлен вакцинацией или устраненной естественной инфекцией, или если пассивная иммунизация обусловлена терапией иммуноглобулином:

а. Положительный тест на антитела к ядерному антигену вируса гепатита В (анти-НВс) и

б. Отрицательный тест на антитела к поверхностному антигену вируса гепатита В (анти-НВs).

18. Известный медицинский анамнез или продолжающаяся инфекция гепатита С, которая не была вылечена.

19. Положительные результаты теста на ВИЧ у субъекта при скрининге.

20. Субъектом является женщина, которая беременна или кормит грудью, или которая планирует забеременеть во время участия в этом исследовании или в течение 12 месяцев после введения последней дозы эпоритамаба.

21. Субъектом является мужчина, который планирует стать отцом ребенка во время участия в этом исследовании или в течение 12 месяцев после введения последней дозы эпоритамаба.

22. У субъекта имеется какое-либо состояние, из-за которого участие в исследовании не отвечало бы наилучшим интересам субъекта (например, ставило бы под угрозу благополучие) или которое могло бы помешать, ограничить или спутать оценки, предусмотренные протоколом.

Премедикация и профилактика CRS

В цикле 1 осуществляют введение кортикостероидов, антигистаминных препаратов и жаропонижающих средств в течение 4 дней для снижения/предупреждения тяжести симптомов возможного CRS при введении

каждой дозы эфкоритамаба. При введении эфкоритамаба в цикле 2 и последующих циклах профилактика CRS с использованием кортикостероидов является необязательной. Введение кортикостероида можно осуществлять внутривенным или оральным путем в рекомендованной дозе или эквивалентной дозе.

5

Таблица 5. Профилактическое введение кортикостероида до и после введения эфкоритамаба

		Кортикостероиды	Антигистаминные препараты	Жаропонижающие средства	
Цикл 1	1-е введение эфкоритамаба (примирующая доза)	День 01*	Преднизолон 100 мг (или эквивалентная доза, IV или оральная доза)	Дифенгидрамин 50 мг IV или орально (PO) (или эквивалентная доза)	Парацетамол (ацетаминофен) от 650 до 1000 мг PO (или эквивалентная доза)
		День 02	Преднизолон 100 мг (или эквивалентная доза, IV или оральная доза)		
		День 03	Преднизолон 100 мг (или эквивалентная доза, IV или оральная доза)		
		День 04	Преднизолон 100 мг (или эквивалентная доза, IV или оральная доза)		
	2-е введение эфкоритамаба (промежуточная доза)	День 08*	Преднизолон 100 мг (или эквивалентная доза, IV или оральная доза)	Дифенгидрамин 50 мг IV или орально (PO) (или эквивалентная доза)	Парацетамол (ацетаминофен) от 650 до 1000 мг PO (или эквивалентная доза)
		День 09	Преднизолон 100 мг (или эквивалентная доза, IV или оральная доза)		
		День 10	Преднизолон 100 мг (или эквивалентная доза, IV или оральная доза)		
		День 11	Преднизолон 100 мг (или эквивалентная доза, IV или оральная доза)		
	3-е введение эфкоритамаба (1-я полная)	День 15*	Преднизолон 100 мг (или эквивалентная доза,	Дифенгидрамин 50 мг IV или орально (PO) (или	Парацетамол (ацетаминофен) от 650 до 1000 мг PO

			Кортикостероиды	Антигистаминные препараты	Жаропонижающие средства	
	доза)		IV или оральная доза)	эквивалентная доза)	(или эквивалентная доза)	
		День 16	Преднизолон 100 мг (или эквивалентная доза, IV или оральная доза)			
		День 17	Преднизолон 100 мг (или эквивалентная доза, IV или оральная доза)			
		День 18	Преднизолон 100 мг (или эквивалентная доза, IV или оральная доза)			
	4-е введение эпкоритамаба (2-я полная доза)	День 22*	Преднизолон 100 мг (или эквивалентная доза, IV или оральная доза)	Дифенгидрамин 50 мг IV или орально (PO) (или эквивалентная доза)	Парацетамол (ацетаминофен) от 650 до 1000 мг PO (или эквивалентная доза)	
		День 23	Преднизолон 100 мг (или эквивалентная доза, IV или оральная доза)			
		День 24	Преднизолон 100 мг (или эквивалентная доза, IV или оральная доза)			
		День 25	Преднизолон 100 мг (или эквивалентная доза, IV или оральная доза)			
	Цикл 2	5-е введение эпкоритамаба (3-я полная доза)	День 29*	Если возникает CRS степени ≥ 2 после 4-го введения эпкоритамаба, последующее 4-дневное введение кортикостероида продолжают в цикле 2 до тех пор, пока вводимая доза эпкоритамаба не приведет к следующему случаю CRS.	Необязательно	Необязательно
			День 30			
День 31						
День 32						

* за 30 мин - 2 ч до введения эпкоритамаба

Таблица 6: Эквиваленты дозы кортикостероида – таблица пересчета

Глюкокортикоид	Приблизительная эквивалентная доза (мг)
Средства кратковременного действия	
Кортизон (PO)	500
Гидрокортизон (IV или PO)	400
Средства промежуточного действия	
Метилпреднизолон (IV или PO)	80
Преднизолон (PO)	100
Преднизон (IV или PO)	100
Триамцинолон (IV)	80
Средства длительного действия	
Бетаметазон (IV)	15
Дексаметазон (IV или PO)	15

Поддерживающая терапия при синдроме высвобождения цитокинов

CRS оценивают согласно системе ASTCT оценки тяжести CRS (таблицы 7 и 8), и для лечения CRS субъектов необходимо подвергать поддерживающей терапии. Поддерживающая терапия может включать (но не ограничиваясь только этим):

- Инфузию физиологического раствора;
- Системное применение глюкокортикостероида, антигистаминного препарата, жаропонижающего средства;
- Поддержка кровяного давления (вазопрессин, вазопрессоры);
- Поддержка вентиляции с низким и высоким расходом кислорода и под положительным давлением;
- Введение моноклонального антитела к IL-6R, например, IV-введение тоцилизумаба;
- Введение моноклонального антитела к IL-6R, например, IV-введение силтуксимаба, если отсутствует ответ на повторные введения тоцилизумаба.

Таблица 7: Градация и контроль синдрома высвобождения цитокинов

Ниже представлены согласованные определения и критерии оценки CRS, согласно системе Американского общества трансплантации и клеточной терапии (ASTCT), ранее Американского общества трансплантации крови и костного мозга (ASBMT).

5

Градация синдрома высвобождения цитокинов

Параметр CRS	Степень 1	Степень 2	Степень 3	Степень 4	Степень 5
Лихорадка ¹	≥38,0°C	≥38,0°C	≥38,0°C	≥38,0°C	Смерть в результате CRS, при которой другая причина не является основным фактором, приводящим к такому исходу
с гипотензией	Отсутствует	Не требуется применение вазопрессоров	Требуется применение 1 вазопрессора с вазопрессином или без него	Требуется применение ≥ 2 вазопрессоров (за исключением вазопрессина)	
и/или с гипоксией ²	Отсутствует	Требуется применение назальной канюли с низким расходом (<6 л/мин) или продувка	Требуется применение назальной канюли с высоким расходом (>6 л/мин), лицевой маски, не пропускающей воздух маски, или маски Вентури	Требуется вентиляция ³ под положительным давлением (например, CPAP, BiPAP, интубация и механическая вентиляция)	

Сокращения: BiPAP, Двухуровневое положительное давление в дыхательных путях; CPAP, постоянное положительное давление в дыхательных путях; CRS, синдром высвобождения цитокинов; IV, внутривенно.

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

1. Лихорадку определяют как температуру ≥38,0°C, не обусловленную какой-либо другой причиной, с конституциональными симптомами (например, миалгия, артралгия, недомогание) или без них. У субъектов с CRS, получающих жаропонижающие средства, антицитокиновую терапию и/или кортикостероиды, не требуется больше учитывать лихорадку для оценки тяжести последующего CRS. В этом случае градация CRS определяется гипотензией и/или гипоксией.
2. Степень CRS определяют по более тяжелому событию: по гипотензии или гипоксии, не обусловленной какой-либо другой причиной. Например, у субъекта с температурой 39,5°C, гипотензией, требующей применения 1 вазопрессора, и гипоксией, требующей введения назальной канюли с низким расходом, CRS классифицируют как CRS степени 3. Для оценки кровяного давления можно измерять как систолическое артериальное давление, так и среднее артериальное давление. Никаких конкретных ограничений не накладывается, но гипотензию следует определять в каждом конкретном случае с учетом возраста и индивидуального исходного уровня у субъекта, т.е. кровяного давления, которое ниже нормы, ожидаемой для индивидуума в данных условиях.
3. Интубация субъекта без гипоксии только из-за возможного неврологического нарушения проходимости дыхательных путей пациента или в рамках процедуры по определению не является критерием CRS степени 4.

Источник: Взято из публикации Lee и др., Biol Blood Marrow Transplant; 25, 2019, сс. 625-638

Таблица 8: Градация и контроль синдрома высвобождения цитокинов

Степень CRS	Контроль
1	<p>Лихорадка: Пациенты с вновь возникшей лихорадкой должны быть госпитализированы, если они еще не находятся в госпитале. Необходимо провести обследование на наличие инфекции и быстро назначить антибиотики широкого спектра действия. Рекомендуется продолжать антибактериальную терапию до тех пор, пока не исчезнет угроза потенциальной нейтропении. Конституциональные симптомы могут быть облегчены с помощью НСПВП.</p> <p>Тоцилизумаб: Нет*.</p> <p>Стероиды: Нет.</p>
2	<p>Лихорадка: Как при степени 1.</p> <p>Гипотензия: Требуется немедленное клиническое обследование и вмешательство. При первом подтвержденном снижении систолического, диастолического или среднего артериального давления на $\geq 20\%$ от исходного или при признаках ухудшения перфузии вводят внутривенно в виде болюса жидкость (20 мл/кг вплоть до 1 л). Следует рассмотреть возможность применения вазопрессора и вводить его не позднее, чем после 3-го внутривенного болюсного введения жидкости, из-за вазодилатации и капиллярной утечки, связанных с CRS.</p> <p>Гипоксия: При гипоксии и/или тахипноэ рассмотреть возможность применения рентгенографии или компьютерной томографии. Вводить кислород с помощью носовой канюли с низким расходом (≤ 6 л/мин) или продувкой.</p> <p>Тоцилизумаб: Нет* (да, если у пациента есть сопутствующие заболевания[†]).</p> <p>Стероиды: Нет (рассмотреть возможность применения, если у пациента есть сопутствующие заболевания[†]).</p>
3	<p>Лихорадка: Как при степени 1.</p> <p>Гипотензия: Требуется немедленное клиническое обследование и вмешательство. Вводить вазопрессоры (норэпинефрин) с вазопрессином или без него, поскольку у большинства пациентов с CRS наблюдается периферическая вазодилатация.</p> <p>Гипоксия: Вводить кислород с помощью назальной канюли с высоким расходом (> 6 л/мин), маски для лица, не пропускающей воздух маски или маски Вентури.</p> <p>Тоцилизумаб: Да[†].</p> <p>Стероиды: Рассмотреть возможность применения[†].</p>
4	<p>Лихорадка: Как при степени 1.</p> <p>Гипотензия: Требуется немедленное клиническое обследование и вмешательство. Следует вводить по меньшей мере 2 вазопрессора, с вазопрессином или без него, поскольку у большинства пациентов с CRS наблюдается периферическая вазодилатация.</p> <p>Гипоксия: Положительное давление (например, CPAP, BiPAP, интубация и искусственная вентиляция легких).</p> <p>Тоцилизумаб: Да[†].</p> <p>Стероиды: Да[†].</p>

* В конкретных случаях следует рассмотреть возможность более раннего вмешательства. Например, пожилой пациент с длительной лихорадкой (> 72 часов) или очень высокой температурой ($> 40,5^{\circ}\text{C}/104,9^{\circ}\text{F}$) может не переносить возникающую в результате синусовую тахикардию так же хорошо, как более молодой пациент, поэтому может быть показан тоцилизумаб.

[†] Тоцилизумаб (анти-IL-6R) остается единственной антицитокиновой терапией первой линии, одобренной для лечения CRS. Если в течение 6 ч симптомы не улучшаются или если состояние пациента начинает ухудшаться после первоначального улучшения, следует вводить вторую дозу тоцилизумаба вместе с дозой кортикостероидов. Для пациентов, невосприимчивых к

тоцилизумабу (3 введения), может быть рассмотрена дополнительная антицитокиновая терапия, например, применение силтуксимаба (анти-IL-6) или анакинры (анти-IL-1R). Однако такое применение носит исключительно эпизодический характер и, как таковое, полностью остается на усмотрение лечащего врача.

‡ Рассмотреть замену метилпреднизолона на дексаметазон даже при отсутствии нейротоксичности, поскольку он обладает более эффективным проникновением в ЦНС, поскольку высокий уровень CRS коррелирует с риском одновременного или последующего возникновения ICANS. Если одновременно наблюдается ICANS, то более предпочтительным является дексаметазон.

Источник: (Varadarajan I., Kindwall-Keller T.L., Lee D.W., Management of cytokine release syndrome в: Chimeric antigen receptor T-cell therapies for cancer (глава 5), изд-во Elsevier, 2020)

Предупреждение и контроль синдрома лизиса опухоли

Для профилактического лечения синдрома лизиса опухоли перед введением элкоритамаба субъекты получают средства, снижающие уровень мочевой кислоты, при этом аллопуринол дают по меньшей мере за 72 ч до введения первой дозы элкоритамаба и расбуриказу начинают вводить до начала введения элкоритамаба. Необходимо обеспечивать повышенную пероральную гидратацию до приема первой дозы и поддерживать ее во время приема других доз. Перед введением последующих доз осуществляют повторную оценку категории риска TLS у субъекта.

Оценки исследований

Оценка костного мозга

Свежий аспират костного мозга получают при скрининге (т.е. в течение 21-дневного периода времени до дня 1 цикла 1) и при полном ответе (CR) или по клиническим показаниям. Свежую биопсию костного мозга получают при скрининге и при CR или частичном узловом ответе (PR) (nPR), или по клиническим показаниям. Оценка состояния костного мозга включает морфологическое исследование и либо проточную цитометрию, либо иммуногистохимию. Биопсию костного мозга с аспиратом проводят (а) для подтверждения CR или nPR согласно рекомендациям iwCLL (Hallek и др., Lancet; 391, 2018, сс. 1524-1537), что подкрепляют данными физикального обследования, лабораторными оценками и рентгенографическими исследованиями, и (б) если прогрессирование выявлено только по одному параметру, для того, чтобы подтвердить прогрессирование цитопении (т.е. нейтропению, анемию и/или тромбоцитопению, и чтобы отличить ее от аутоиммунных и связанных с лечением цитопений).

Рентгенографические оценки

При скрининге (т.е. в течение 3-недельного периода времени до введения первой дозы элкоритамаб) и последующей оценки ответа проводят компьютерную томографию шеи, грудной клетки, брюшной полости и таза. КТ-сканирование с контрастированием является рекомендуемым методом визуализации. МРТ можно применять только в том случае, если КТ с контрастированием противопоказана по медицинским показаниям или если частота проведения КТ-сканирования превышает местные стандарты. МРТ-исследования не заменяют обязательное КТ-сканирование шеи, грудной клетки, брюшной полости и органов малого таза. При необходимости могут быть выполнены дополнительные оценки с использованием визуализации для подкрепления оценок эффективности для субъекта.

Оценка костного мозга

Свежий аспират костного мозга получают при скрининге (т.е. в течение 21-дневного периода времени до дня 1 цикла 1) и при CR или по клиническим показаниям. Свежую биопсию костного мозга получают при скрининге и при CR или узлом PR (nPR), или по клиническим показаниям. Оценка состояния костного мозга включает морфологическое исследование и либо проточную цитометрию, либо иммуногистохимию. Биопсию костного мозга с аспиратом проводят (а) для подтверждения CR или nPR согласно рекомендациям iwCLL (Hallek и др., Lancet; 391, 2018, сс. 1524-1537), что подкрепляют данными физикального обследования, лабораторными оценками и рентгенографическими исследованиями, и (б) если прогрессирование выявлено только по одному параметру, для того, чтобы подтвердить прогрессирование цитопении (т.е. нейтропению, анемию и/или тромбоцитопению, и чтобы отличить ее от аутоиммунных и связанных с лечением цитопений).

Оценка минимальной остаточной болезни (MRD)

MRD определяют в крови с помощью проточной цитометрии и секвенирования следующего поколения. После начала лечения запрашивают образцы крови в установленные моменты времени и при CR. В качестве предварительного анализа, когда у субъекта достигается CR, часть аспирата, собранного для подтверждения CR, используется для оценки MRD.

Оценка ответа заболевания и прогрессирования заболевания

Ответ опухоли на основе оценки с использованием визуализации определяют для принятия обоснованных решений о продолжении лечения. Оценку ответа проводят в соответствии с пересмотренным руководством iwCLL по диагностике, показаниям к лечению, оценке ответа и поддерживающему лечению CLL, как указано в таблице 2. Конечные точки определяют следующим образом:

Общую частоту ответов (ORR) определяют как долю субъектов, у которых достигнут ответ, представляющий собой PR или CR, до начала последующей терапии.

Время до ответа (TTR) определяют среди респондентов как время между введением первой дозы элкоритамаба и первым задокументированным PR или CR.

Продолжительность ответа (DOR) определяют среди респондентов как время от первой регистрации PR или CR до даты начала прогрессирования заболевания или смерти, в зависимости от того, что наступит раньше.

Выживаемость без прогрессирования (PFS) определяют как время от даты первого введения дозы элкоритамаба до даты прогрессирования заболевания или смерти, в зависимости от того, что наступит раньше.

Общую выживаемость (OS) определяют как время от даты первого введения дозы элкоритамаба до даты смерти.

Частоту встречаемости отрицательного статуса MRD определяют как долю субъектов, у которых до начала последующей терапии по меньшей мере 1 признак MRD не поддавался обнаружению в соответствии с определенным пороговым значением.

Оценки клинической безопасности

Безопасность следует оценивать на основе определения неблагоприятных явлений, результатов лабораторных тестов, ЭКГ, измерений жизненно важных показателей, результатов физикального обследования и общего состояния по шкале ECOG. Также оценивают синдром нейротоксичности, связанный с иммунными эффекторными клетками (например, как описано Lee и др., Biol Blood Marrow Transplant; 25, 2019, сс. 625-638), конституциональные симптомы (симптомы В), реакцию вспышки опухоли и выживаемость.

Анализы методом иммунофенотипирования

Для мониторинга изменений, связанных с лечением эпоритамабом определяют абсолютное количество В- и Т-лимфоцитов в свежей цельной крови с помощью проточной цитометрии. Активацию и фенотип истощения Т-клеток оценивают с помощью проточной цитометрии и маркеров, чтобы оценить ассоциацию таких маркеров с поражением мишени лекарственным средством, эффективностью лечения и/или безопасностью эпоритамаба. Дополнительные иммунофенотипы циркулирующих иммунных клеток (например, уровни регуляторных Т-клеток, которые могут подавлять функцию Т-клеток) определяют в свежей цельной крови с помощью проточной цитометрии для оценки ассоциации таких маркеров с фенотипом активации/истощения Т-клеток, реакцией субъекта и МОА эпоритамаба.

Анализ цитокинов и маркеров эндотелиальной активации

Поскольку активация Т-клеток после первоначальных введений эпоритамаба может приводить к высвобождению цитокинов, вызывающих CRS, уровни цитокинов тщательно контролируют. Уровни цитокинов, таких как IL-2, IL15, IL-6, IL-8, IL-10, IFN γ и/или TNF α , измеряют в образцах плазмы с помощью основанного на использовании массивов анализа связывания лигандов. Можно определять дополнительные цитокины для оценки ассоциации указанных маркеров с возникающими в результате лечения АЕ и исходом лечения эпоритамабом.

Предварительные результаты:

Первый пациент был включен в исследование 30 ноября 2020 г. По состоянию на 1 июля 2021 г. 7 пациентам с R/R CLL вводили эпоритамаб подкожно с использованием 2 уровней полных доз: 24 мг (n=3) и 48 мг (n=4). Шесть пациентов завершили период оценки ограничивающей дозу токсичности (DLT) и у 5 пациентов была проведена оценка ответа. Пациенты получали в среднем 4 линии предшествующей терапии (диапазон 2-5). У шести из 7 пациентов выявлены маркеры низкого риска del(17p), мутации TP53 или и то, и другое. У троих из 7 пациентов имелась генерализованная лимфаденопатия. DLT не была выявлена при приеме 24 мг или 48 мг. Наиболее частыми АЕ, возникающими при лечении (>30%), были синдром высвобождения цитокинов (CRS) (100%), усталость (71%), реакция в месте инъекции (43%) и тошнота

(43%). У всех пациентов возникал CRS в первом цикле, но ни один случай CRS не был выше 2-й степени. Случаев синдрома нейротоксичности, ассоциированного с иммунными эффекторными клетками (ICANS), не выявлено. Несмотря на наличие циркулирующих опухолевых клеток, синдрома лизиса опухоли (TLS) не обнаружено. Антислепидная активность обнаружена при обоих уровнях доз, с частичным ответом у 3 из 5 пациентов.

По состоянию на 8 сентября 2021 г. в общей сложности 11 пациенты с R/R CLL получили эпоритамаб в дозах 24 мг (N=3) и 48 мг (N=8).

Эпоритамаб хорошо переносился как в дозе 24 мг, так и в дозе 48 мг, при этом наиболее частыми нежелательными явлениями, возникающими при лечении, были CRS, усталость и реакция в месте инъекции. Синдрома нейротоксичности, ассоциированного с иммунными эффекторными клетками (ICANS), не было выявлено. Предварительные данные свидетельствуют об активности эпоритамаба, выявленной для тех пациентов из числа получавших интенсивное предварительное лечение, у которых имелась цитогенетика высокого риска. Среди 6 субъектов, у которых оценивали ответ, был обнаружен 1 неподтвержденный частичный ответ (nPR) на дозу 24 мг и 2 частичных ответа (PR) на дозу 48 мг. Эти данные являются предварительными и неподтвержденными, а необработанные данные и данные об ответах не полностью доступны на сайте.

Заключение:

Эти предварительные данные свидетельствуют о том, что эпоритамаб хорошо переносится пациентами с R/R CLL при уровнях доз до 48 мг и обладает обнадеживающей клинической активностью для пациентов с заболеваниями с высоким риском.

Таблица 9: Перечень последовательностей

SEQ ID	Описание	Последовательность
1	huCD3 VH CDR1	GFTFNTYA
2	huCD3 VH CDR2	IRSKYNNYAT
3	huCD3 VH CDR3	VRHGNGNSYVSWFAY
4	huCD3 VL CDR1	TGAVTTSNY
-	huCD3 VL CDR2	GTN

SEQ ID	Описание	Последовательность
5	huCD3 VL CDR3	ALWYSNLWV
6	huCD3 VH1	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVVRQAPGKGL LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSSSLYLQMNNL KTEDTAMYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS
7	huCD3 VL1	QAVVTQEPSFSVSPGGT V TLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQTPGQ AFRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQADDESIYFC ALWYSNLWVFGGGTKLTVL
8	VH CD20 – 7D8 CDR1	GFTFH D YA
9	VH CD20 – 7D8 CDR2	ISWNSGTI
10	VH CD20 – 7D8 CDR3	AKDIQYGNYYYYGMDV
11	VL CD20 – 7D8 CDR1	QSVSSY
-	VL CD20 – 7D8 CDR2	DAS
12	VL CD20 – 7D8 CDR3	QQRSNWPIT
13	VH CD20 – 7D8	EVQLVESGGGLVQPDRSLRLSCAASGFTFH D YAMHWVVRQAPGK GLEWVSTISWNSGTIGYADSVKGRFTISRDN A KNLSLYLQMNSLRA EDTALYYCAKDIQYGNYYYYGMDVWGQGLTVTVSS
14	VL CD20 – 7D8	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSN WPITFGQGRLEIK
15	Константная область тяжелой цепи IgG1 – WT (аминокислотные положения 118-447 согласно EU-нумерации). <i>CH3-участок выделен курсивом</i>	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG <i>QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKLSLSPG</i>
16	Константная область тяжелой цепи IgG1-LFLEDA (аминокислотные положения 118-447 согласно EU-нумерации).	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLEGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKLSLSPG
17	IgG1 F405L (аминокислотные положения 118-447 согласно EU-нумерации)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKLSLSPG

SEQ ID	Описание	Последовательность
18	IgG1-K409R (аминокислотные положения 118-447 согласно EU-нумерации)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS <u>R</u> LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
19	IgG1-LFLEDA-F405L (FEAL) (аминокислотные положения 118-447 согласно EU-нумерации)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKTHTCPPCPAPE <u>FE</u> GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVA <u>V</u> SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF <u>L</u> LYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
20	IgG1-LFLEDA-K409R (FEAR) (аминокислотные положения 118-447 согласно EU-нумерации)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKTHTCPPCPAPE <u>FE</u> GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVA <u>V</u> SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS <u>R</u> LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
21	CH3-участок IgG1	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
22	Константная область человеческой LC-лямбда	GQPKAAPSVTLPSPSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKS <hr/> SHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
23	Константная область человеческой LC-каппа	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
24	Тяжелая цепь huCD3-LFLEDA-F405L (FEAL)	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKSSLYLQMNLLKTEDTAMYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKTHTCPPCPAPE <u>FE</u> GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVA <u>V</u> SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF <u>L</u> LYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
25	VL+CL легкой цепи huCD3	QAVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQTPGQAFRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQADDESIYFCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLPSPSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKS <hr/> SHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

SEQ ID	Описание	Последовательность
26	Тяжелая цепь CD20-7D8-LFLEDA-K409R (FEAR)	EVQLVESGGGLVQPDRSLRLSCAASGFTFHDYAMHWVRQAPGK GLEWVSTISWNSGTIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRA EDTALYYCAKDIQYGNYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPK SCDKTHTCPPCPAPE <u>FE</u> GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV <u>A</u> VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LSDGGSFFLYS <u>R</u> LTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG
27	VL+CL легкой цепи CD20 – 7D8	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYDASNRATGIPARFSGSGSDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQRSN WPITFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
28	Человеческий CD3 (эпсилон)	MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWGDGNEEMGGITQTPYKVSISGTT VILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSEL EQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDMVMSVATIV IVDICITGLLLLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNK RPPVPNPDIYEPYRIRKQORDLYSGLNQRRI
29	Человеческий CD20	MTTPRNSVNGTFPAEPMKGPIAMQSGPKPLFRRMSSLVGPTQSFF MRESKTLGAVQIMNGLFHIALGGLLMIPAGIYAPICVTVWYPLWG GIMYIISGSLLAATEKNSRKCLVKGKMIMNSLSLFAAISGMILSIM DILNIKISHFLKMESLNFIRAHTPYINIYNCEPANPSEKNSPSTQYCY SIQSLFLGILSVMLIFAFFQELVIAGIVENEWKRTCSRPKSNIVLLSA EEKKEQTIEIKEEVVGLTETSSQPKNEEDIEIPIQEEEEEEETETNFPE PPQDQESSPIENDSSP

Выделены жирным шрифтом и подчеркнуты FE; A; L и R, соответствующие положениям 234 и 235; 265; 405 и 409 соответственно, номера указанных положений даны в соответствии с EU-нумерацией. В переменных областях подчеркнуты те CDR-участки, которые аннотированы в соответствии с обозначениями IMGT.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения хронического лимфолейкоза (CLL) у человека, где способ включает введение субъекту биспецифического антитела, которое
5 содержит:

I) первое связывающее плечо, содержащее первую антигенсвязывающую область, которая связывается с человеческим CD3ε (эпсилон), и содержит
10 переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), в котором VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, находящиеся в последовательности VH-области SEQ ID NO: 6, и в VL-области содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, находящиеся в последовательности VL-области SEQ ID NO: 7; и

(II) второе связывающее плечо, содержащее вторую антигенсвязывающую область, которая связывается с человеческим CD20, и содержит VH-область и
15 VL-область, в котором VH-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, находящиеся в последовательности VH-области SEQ ID NO: 13, и VL-область содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, находящиеся в последовательности VL-области SEQ ID NO: 14;

причем биспецифическое антитело вводят в дозе, составляющей от 12 до 60
20 мг, с использованием 28-дневных циклов.

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

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

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

5. Способ по п. 4, в котором еженедельное введение осуществляют в
30 течение 2,5 28-дневных циклов.

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

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

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

10

9. Способ по одному из п.п. 4-8, в котором перед введением первой еженедельной дозы, составляющей 12-60 мг, вводят примирующую дозу биспецифического антитела в цикле 1 28-дневных циклов.

15 10. Способ по п. 9, в котором примирующую дозу вводят за две недели до введения первой еженедельной дозы, составляющей 12-60 мг.

11. Способ по п. 9 или п. 10, в котором примирующая доза находится в диапазоне от 0,05 до 0,35 мг.

20

12. Способ по одному из п.п. 9-11, в котором указанная примирующая доза составляет 0,16 мг или примерно 0,16 мг.

25 13. Способ по одному из п.п. 9-12, в котором после введения примирующей дозы и до введения первой еженедельной дозы, составляющей 12-60 мг, вводят промежуточную дозу биспецифического антитела.

30 14. Способ по п. 13, в котором примирующую дозу вводят в день 1 и промежуточную дозу вводят в день 8 до введения первой еженедельной дозы, составляющей 12-60 мг, в дни 15 и 22 цикла 1.

15. Способ по п. 13 или п. 14, в котором указанная промежуточная доза находится в диапазоне от 0,6 до 1,2 мг.

16. Способ по одному из п.п. 13-15, в котором указанная промежуточная доза составляет 0,8 мг или примерно 0,8 мг.

5 17. Способ по одному из п.п. 13-16, в котором биспецифическое антитело вводят с использованием 28-дневных циклов, в которых

а) в цикле 1: примирующую дозу вводят в день 1, промежуточную дозу в день 8, а полную дозу, составляющую 12-60 мг, в дни 15 и 22;

10 б) в циклах 2-3: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1, 8, 15 и 22;

в) в циклах 4-9: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в дни 1 и 15; и

г) в цикле 10 и последующих циклах: полную дозу, составляющую 12-60 мг, вводят в день 1.

15 18. Способ по п. 17, в котором полная доза составляет 24 мг или примерно 24 мг.

20 19. Способ по п. 17, в котором полная доза составляет 48 мг или примерно 48 мг.

20. Способ по одному из п.п. 1-19, в котором биспецифическое антитело вводят подкожно.

25 21. Способ по одному из п.п. 1-20, в котором CLL представляет собой рецидивирующий и/или рефрактерный CLL.

22. Способ по одному из п.п. 1-21, в котором субъект обладает непереносимостью ингибитора ВТК.

30 23. Способ по одному из п.п. 1-22, в котором субъект получал по меньшей мере две предшествующие линии противоопухолевой терапии.

24. Способ по п. 23, в котором по меньшей мере одна из по меньшей мере двух предшествующих противоопухолевых терапий включает лечение ингибитором ВТК.

5 25. Способ по одному из п.п. 1-24, в котором CLL является невосприимчивым к ингибитору ВТК.

26. Способ по одному из п.п. 1-25, в котором во время лечения ингибитором ВТК имел место рецидив CLL.

10

27. Способ по одному из п.п. 21-26, в котором субъект имеет рефрактерный и/или рецидивирующий CLL после получения двух предшествующих противоопухолевых терапий.

15 28. Способ по одному из п.п. 1-27, в котором:

(I) первая антигенсвязывающая область содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, которые содержат аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4, последовательность GTN и SEQ ID NO: 5 соответственно; и

(II) вторая антигенсвязывающая область содержит VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 8, 9 и 10 соответственно, и VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, которые содержат аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 11, последовательность DAS и SEQ ID NO: 12 соответственно.

25 29. Способ по одному из п.п. 1-28, в котором:

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

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

5 30. Способ по одному из п.п. 1-29, в котором первое связывающее плечо биспецифического антитела имеет происхождение из гуманизированного антитела, предпочтительно из полноразмерного антитела IgG1, λ (лямбда).

10 31. Способ по п. 30, в котором первое связывающее плечо биспецифического антитела содержит константную область легкой λ -цепи, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 22.

15 32. Способ по одному из п.п. 1-31, в котором второе связывающее плечо биспецифического антитела имеет происхождение из человеческого антитела, предпочтительно из полноразмерного антитела IgG1, κ (каппа).

20 33. Способ по п. 32, в котором второе связывающее плечо содержит константную область легкой κ -цепи, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 23.

25 34. Способ по одному из п.п. 1-33, в котором биспецифическое антитело представляет собой полноразмерное антитело с константной областью человеческого IgG1.

35. Способ по одному из п.п. 1-34, в котором биспецифическое антитело содержит инертную Fc-область.

30 36. Способ по одному из п.п. 1-35, в котором биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, в котором и в первой, и во второй тяжелых цепях аминокислоты в положениях, соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи

человеческого IgG1, представленной в SEQ ID NO: 15, представляют собой F, E и A соответственно.

37. Способ по одному из п.п. 1-36, в котором биспецифическое антитело
5 содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, в котором в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1 SEQ ID NO: 15 представляет собой L, и в котором во второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1
10 SEQ ID NO: 15 представляет собой R, или наоборот.

38. Способ по одному из п.п. 1-37, в котором биспецифическое антитело содержит первую тяжелую цепь и вторую тяжелую цепь, в котором
(I) и в первой, и во второй тяжелых цепях аминокислоты в положениях,
15 соответствующих положениям L234, L235 и D265 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1 SEQ ID NO: 15 представляют F, E и A соответственно, и

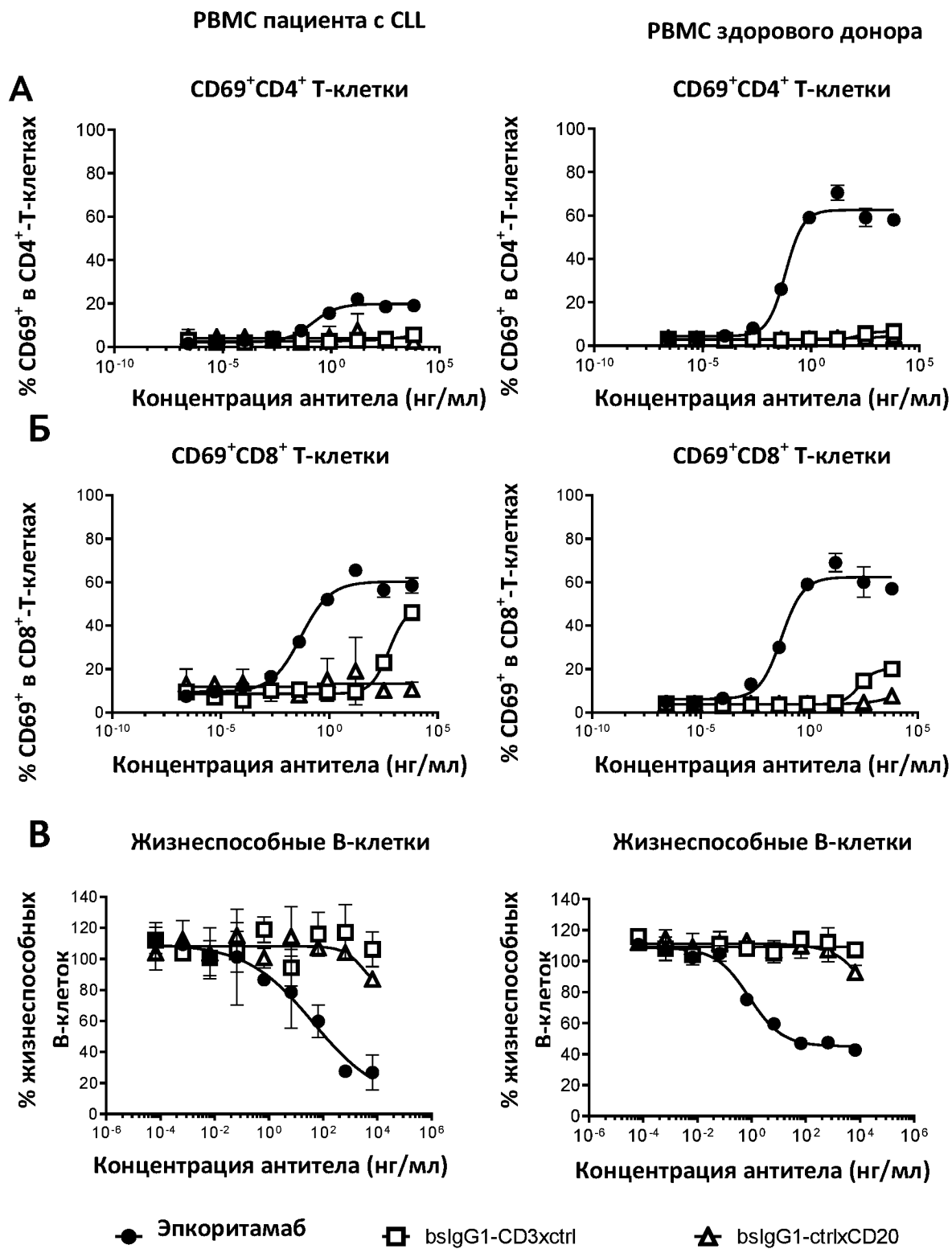
(II) в первой тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем F405 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1 SEQ ID NO: 15,
20 представляет собой L, и в котором во второй тяжелой цепи аминокислота в положении, соответствующем K409 в константной области тяжелой цепи человеческого IgG1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

39. Способ по п. 38, в котором биспецифическое антитело содержит
25 константную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 19 и 20.

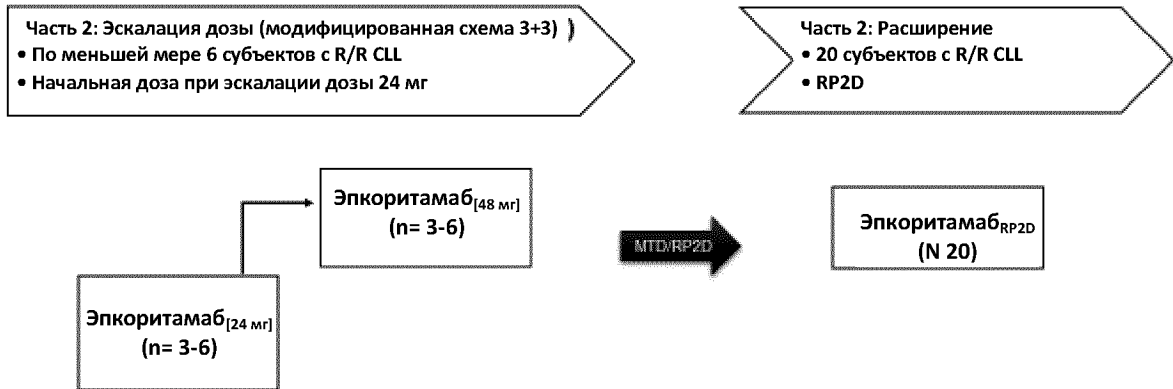
40. Способ по одному из п.п. 1-39, в котором биспецифическое антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, которые содержат аминокислотные
30 последовательности, представленные в SEQ ID NO: 24 и 25 соответственно, и тяжелую цепь и легкую цепь, которые содержат аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 26 и 27 соответственно.

41. Способ по одному из п.п. 1-40, в котором биспецифическое антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, которые состоят из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 24 и 25 соответственно, и тяжелую цепь и легкую цепь, которые состоят из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 26 и 27 соответственно.

42. Способ по одному из п.п. 1-41, в котором биспецифическое антитело представляет собой эпоритамаб или его биоаналог.



Фиг. 1



Фиг. 2