

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202490836 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.08.16

(22) Дата подачи заявки
2022.10.27

(51) Int. Cl. C07K 16/24 (2006.01)
C07K 16/16 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01)

(54) ИНТЕРЛЕЙКИН-34-НАЦЕЛЕННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБЫ ИХ
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

(31) 63/273,216

(32) 2021.10.29

(33) US

(86) PCT/US2022/078776

(87) WO 2023/076995 2023.05.04

(71) Заявитель:

ЭЛИ ЛИЛЛИ ЭНД КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:

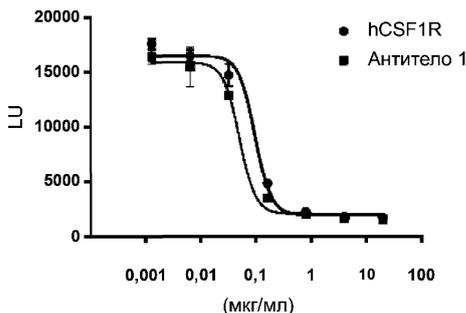
Чедид Марсио, Флейшер Адам С.,
Ланнан Меган Бриттани, Ло Альберт,
Минтун Марк, Обунгу Виктор Х.,
Раинес Сара Элизабет, Симс Джон
Рандалл П, Скора Эндрю Диксон,
Уолш Робин Элизабет, Уэст Элизабет
Энн, Е Мин (US)

(74) Представитель:

Гизатуллин Ш.Ф., Гизатуллина
Е.М., Угрюмов В.М., Строкова О.В.,
Джермакян Р.В., Костюшенкова М.Ю.
(RU)

(57) Настоящее изобретение относится к антителам к IL-34, содержащим их композициям и способам применения антител и/или их композиций для лечения иммуноопосредованных заболеваний, таких как нейродегенеративные заболевания, например болезнь Альцгеймера или таупатия.

Анализ нейтрализации hIL34



A1

202490836

202490836

A1

ИНТЕРЛЕЙКИН-34-НАЦЕЛЕННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Настоящее описание относится к соединениям, фармацевтическим композициям и способам, которые включают антитела, нацеленные против интерлейкина-34 (IL-34) человека, которые, как ожидается, будут применимы в области нейровоспаления и острых или хронических воспалительных заболеваний. В частности, ожидается, что варианты осуществления будут полезны при лечении и/или диагностики болезни Альцгеймера, а также других таупатий.

Болезнь Альцгеймера (БА), ведущая причина деменции, развивается у одного процента населения в возрасте от 65 до 69 лет и увеличивается до 40–50% в возрасте 95 лет и старше. У пациентов с БА проявляются отчетливые клинические симптомы, которые включают когнитивные нарушения и дефицит функции памяти. У этих пациентов наличие БА подтверждается плотными сенильными бляшками и нейрофибриллярными клубками (NFT), обнаруженными в коре головного мозга при посмертном гистопатологическом исследовании. Зрелые сенильные бляшки состоят из внеклеточных β -амилоидных пептидов, образовавшихся в результате ферментативного процессинга белка-предшественника амилоида, и внутриклеточных нейрофибриллярных клубков (NFT), образовавшихся из филаментов гиперфосфорилированных тау-белков. Агрегаты гиперфосфорилированного тау, такие как нейрофибриллярные клубки, связаны со степенью когнитивных нарушений при болезни Альцгеймера. При БА и различных других таупатиях скопления тау появляются в определенных областях мозга и паттернах, которые связаны с риском, началом и/или прогрессированием заболевания, и эти области и паттерны известны специалистам в данной области техники.

Цитокины регулируют нормальные гомеостатические функции тканей, и нарушение регуляции этих цитокиновых сетей связано с патологическими состояниями. Центральная нервная система (ЦНС), в которой циркулирует небольшое количество иммунных клеток крови, по-видимому, особенно уязвима для нарушения регуляции цитокиновых сетей. При нейродегенеративных заболеваниях резидентные клетки ЦНС являются преобладающими продуцентами провоспалительных цитокинов и могут способствовать

нарушению регуляции цитокиновых сетей и нейровоспалению. Повреждение ЦНС может включать рекрутирование циркулирующих иммунных клеток, что приводит к врожденному иммунному ответу, состоящему из резидентной микроглии, моноцитов периферического происхождения, макрофагов и дендритных клеток. Состояния активации микроглии и макрофагов не являются строго про- или противовоспалительными, а вместо этого могут иметь спектр функциональных состояний. Микроглия и/или моноциты и макрофаги периферического происхождения могут приобретать противовоспалительный фенотип, при котором они удаляют дебрис и способствуют регенерации и гомеостазу. Дисфункция или повреждение нейронов также могут активировать микроглию для продуцирования провоспалительных цитокинов и рекрутирования лейкоцитов из кровотока. При нейродегенеративных состояниях, таких как болезнь Альцгеймера (БА), активация микроглии является частой находкой и отражает реакцию ткани на накопление внеклеточных бета-амилоидных бляшек и гиперфосфорилированных агрегатов тау. Нейровоспаление является важным компонентом нейродегенеративных заболеваний и характеризуется повышенной продукцией провоспалительных цитокинов клетками ЦНС (Becher, B., Spath, S. & Goverman, J. *Cytokine networks in neuroinflammation*. Nat Rev Immunol 17, 49–59 (2017)). Считается, что нейровоспаление и микроглиоз являются механизмами, лежащими в основе нейродегенеративных заболеваний, таких как накопление бляшек при болезни Альцгеймера, гибель и дисфункция нейронов при болезни Паркинсона и болезни Гентингтона.

Микроглиоз включает аномальную пролиферацию и/или гипертрофию микроглии в ответ на воспалительные сигналы. В широком смысле IL-34 действует как сильнодействующий и плейотропный цитокин в регуляции воспалительных и иммунных процессов и является ключевым регуляторным цитокином для роста резидентной микроглии в ЦНС при нормальном тканевом гомеостазе. IL-34 экспрессируется нейронами коры, переднего обонятельного ядра и гиппокампа. IL-34 демонстрирует низкую гомологию последовательности с колониестимулирующим фактором 1 (CSF-1), но имеет сходную общую структуру, и оба цитокина связываются с общим рецептором CSF-1R и запускают аутофосфорилирование рецептора и димеризацию с последующей активацией множества сигнальных путей (A. Freuchet, et al J

Leukoc Biol 2021 Oct; 110(4):771–796). IL-34 представляет собой секретируемый гомодимерный цитокин, который действует как один из двух активирующих лигандов для CSF1R и запускает аутофосфорилирование и димеризацию рецептора с последующей активацией множественных сигнальных путей (см., например, *Structural basis for the dual recognition of helical cytokines IL-34 and CSF-1 by CSF-1R*. Structure 20, 676–687, and Felix J, De Munck S, Verstraete K, Meuris L, Callewaert N, Elegheert J. et al.). Полипептиды IL-34 человека описаны, например, в патенте США № 9,770,486 и состоят из 242 аминокислот с лидерной последовательностью и 222 аминокислот в зрелой форме (SEQ ID NO: 10 31).

Антитела к IL-34 были описаны в данной области, и, например, в WO 2016/196679 перечислены различные антитела к IL-34 и их потенциальное применение. Однако на текущий момент ни одно антитело, нацеленное на IL-34, не было одобрено для терапевтического применения.

15 Таким образом, сохраняется неудовлетворенная потребность в альтернативных и/или улучшенных антителах к IL-34, их фармацевтических композициях и способах их применения в терапевтических и/или диагностических целях, связанных с иммуноопосредованными заболеваниями, включающими IL-34, и/или заболеваниями, излечимыми с помощью антитела к 20 IL-34, такими как нейровоспалительные расстройства и/или болезнь Альцгеймера.

Изложение сущности изобретения

В вариантах осуществления настоящего описания предложены новые антитела к IL-34 человека. В соответствии с некоторыми вариантами 25 осуществления в настоящем описании предложены антитела, которые содержат переменную область легкой цепи (LCVR) и переменную область тяжелой цепи (HCVR), причем LCVR содержит определяющие комплементарность области (CDR) LCDR1, LCDR2 и LCDR3, а HCVR содержит CDR HCDR1, HCDR2 и HCDR3, выбранные из групп комбинаций CDR, представленных в 30 таблице 1. Идентификаторы последовательностей, используемые в настоящем документе, перечислены в таблице 1 и во всем описании, а последовательности представлены в приведенном в настоящем документе перечне аминокислотных и нуклеотидных последовательностей.

Таблица 1. Аминокислотные и нуклеотидные последовательности

Последовательность	Антитело 1
HC	SEQ ID NO: 1
LC	SEQ ID NO: 2
HCVR	SEQ ID NO: 3
LCVR	SEQ ID NO: 4
HCDR1	SEQ ID NO: 5
HCDR2	SEQ ID NO: 6
HCDR3	SEQ ID NO: 7
LCDR1	SEQ ID NO: 8
LCDR2	SEQ ID NO: 9
LCDR3	SEQ ID NO: 10
ДНК HC	SEQ ID NO: 11
ДНК LC	SEQ ID NO: 12

Соответственно, в вариантах осуществления настоящего описания предложено антитело, которое связывается с IL-34 человека, причем антитело
5 содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), при этом VH содержит определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) HCDR1, HCDR2 и HCDR3, а VL содержит определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR) LCDR1, LCDR2 и LCDR3, причем HCDR1 содержит SEQ ID NO: 5, HCDR2 содержит SEQ ID
10 NO: 6, HCDR3 содержит SEQ ID NO: 7, LCDR1 содержит SEQ ID NO: 8, LCDR2 содержит SEQ ID NO: 9 и LCDR3 содержит SEQ ID NO: 10.

Соответственно, в вариантах осуществления настоящего изобретения также предложены антитела, содержащие LCVR, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, и HCVR, имеющую аминокислотную
15 последовательность SEQ ID NO: 3.

Соответственно, в вариантах осуществления настоящего изобретения дополнительно предложено антитело, которое связывает IL-34 человека, причем антитело содержит тяжелую цепь (HC), содержащую SEQ ID NO: 1, и легкую цепь (LC), содержащую SEQ ID NO: 2.

В соответствии с другими вариантами осуществления в настоящем описании также предложены антитела, содержащие LCVR, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, и HCVR, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, с шарнирной областью и областью Fc, выбранными из SEQ ID NO: 32 и SEQ ID NO: 33.

Используемый в настоящем документе термин «антитело 1» относится к антителу, имеющему аминокислотную последовательность HCDR1 SEQ ID NO: 5, аминокислотную последовательность HCDR2 SEQ ID NO: 6, аминокислотную последовательность HCDR3 SEQ ID NO: 7, аминокислотную последовательность LCDR1 SEQ ID NO: 8, аминокислотную последовательность LCDR2 SEQ ID NO: 9, аминокислотную последовательность LCDR3 SEQ ID NO: 10, аминокислотную последовательность HCVR SEQ ID NO: 3, аминокислотную последовательность LCVR SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность HC SEQ ID NO: 1, аминокислотную последовательность LC SEQ ID NO: 2. Антитело 1 может кодироваться последовательностью ДНК HC SEQ ID NO: 11 и последовательностью ДНК LC SEQ ID NO: 12. Если не указано иное, каркасная и CDR-последовательности в каждом из антител, для которых в настоящем документе представлены последовательности, являются аннотированными в соответствии с правилами аннотирования согласно способу North, *et al. J. Mol. Biol.* 2011: 406: 228–256.

В соответствии с другими вариантами осуществления в настоящем описании также предложены антитела, содержащие LC, имеющую аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологии последовательности с SEQ ID NO: 2, и HC, имеющую аминокислотную последовательность с по меньшей мере 95% гомологии последовательности с SEQ ID NO: 1.

В соответствии с другими вариантами осуществления в настоящем описании также предложены антитела, содержащие LC, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, и HC, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, дополнительно называемые в настоящем документе антитело 2.

В соответствии с другими вариантами осуществления в настоящем описании также предложены антитела, содержащие LC, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, и HC, имеющую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 36, дополнительно называемые в настоящем документе антитело 3.

В соответствии с другими вариантами осуществления в настоящем описании также предложены антитела, содержащие LC, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, и HC, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, дополнительно называемые в настоящем документе антитело 4.

Карбоксиконцевая часть каждой HC определяет константную область, в первую очередь отвечающую за эффекторные функции, и в некоторых вариантах осуществления настоящего описания антитела имеют одну или более модификаций в константной области каждой HC, которые снижают эффекторные функции. Предпочтительно варианты осуществления настоящего описания представляют собой антитела IgG4 и, таким образом, содержат область Fc IgG4 или область Fc, полученную из IgG4 человека, например модифицированную область Fc IgG4.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления в шарнирную область IgG4 и Fc-область вносят модификации константной области обеих HC, которые снижают эффекторные функции, и аминокислотные замены. Таким образом, некоторые варианты осуществления имеют модификации в константной области обеих HC, которые включают аминокислоту аланин в обоих остатках 230 и 231 (примерами являются HC антитела 1 и SEQ ID NO: 33 соответственно), и дополнительные модификации в константной области обеих HC, способствующие стабильности, включая аминокислоту пролин в остатке 224 (примерами являются HC антитела 1 и, например, SEQ ID NO: 32), и делецию аминокислоты лизин в остатке 443 (примером является HC SEQ ID NO: 1).

Считается, что антитела по настоящему изобретению обладают сочетанием особенно преимущественных свойств по сравнению с антителами к IL-34 предшествующего уровня техники, включая, без ограничений, одно или более из следующих свойств: 1) желательные скорости ассоциации и диссоциации, 2) эффективность при нейтрализации IL-34 человека для достижения ответа против нейровоспаления и эффективности *in vivo*, 3) достаточная эффективность в качестве монотерапии для лечения и/или профилактики иммуноопосредованных и/или воспалительных расстройств; 4)

продолжительный срок действия; 5) достаточно ограниченная индукция нежелательного высвобождения цитокинов, 6) приемлемо низкая иммуногенность (т. е. достаточная неиммуногенность для человека); 7) исключение нежелательного нарушения иммунитета; и/или 8) желательная стабильность *in vivo*, физическая и химическая стабильность, включая, без 5 ограничений, термостабильность, растворимость, низкую самоассоциацию и фармакокинетические характеристики, которые являются приемлемыми для разработки и/или применения в лечении воспалительных или нейровоспалительных расстройств, например БА.

10 Подробное описание изобретения

В вариантах осуществления настоящего описания предложен значимый прогресс по сравнению с предшествующим уровнем техники за счет предоставления композиций и способов, применимых для предотвращения, подавления или облегчения расстройств, связанных с воспалением и/или 15 нейровоспалением, посредством нейтрализации IL-34 с использованием фармакологически улучшенного антитела к IL-34, как предложено в вариантах осуществления, описанных в настоящем документе. Антитела к IL-34 человека настоящего описания способны ослаблять иммунную и/или воспалительную патологию или восстанавливать иммунный гомеостаз предпочтительно 20 посредством ингибирования врожденного звена иммунного ответа и/или подавления микроглиоза или другой моноцитарной/макрофагальной клеточной активации и/или пролиферации, тем самым непосредственно модифицируя патологию, лежащую в основе заболевания. Применение таких антител в клинической практике может привести к стойкому и долгосрочному улучшению 25 течения заболевания (заболеваний), которое лечат.

Кроме того, существует потребность в диагностических антителах к IL-34 человека, которые являются специфичными в отношении IL-34 человека, обладают улучшенной аффинностью связывания и демонстрируют повышенную чувствительность при определении IL-34 человека, а также в улучшенных 30 условиях анализа с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), которые приводят к минимальной интерференции и широкой линейности разведения. В соответствии с некоторыми аспектами настоящего описания предложены антитела к IL-34 человека, включая нейтрализующие антитела к IL-34 человека, которые связывают IL-34 человека, указанный в SEQ

ID NO: 31. Интерлейкин 34 (IL-34; также известный как неохарактеризованный белок C16orf77) секретируется в виде гомодимера, состоящего из мономеров с молекулярной массой 39 кДа. Он принадлежит к неизвестному семейству цитокинов. IL-34 человека синтезируется в виде предшественника из 242
5 аминокислот (АК), который содержит сигнальную последовательность из 20 АК, и приводит к образованию зрелой цепи из 222 АК. Используемый в настоящем документе термин IL-34 относится к зрелой цепи. Зрелая цепь содержит один потенциальный сайт N-гликозилирования. IL-34 экспрессируется в различных тканях, в том числе в сердце, головном мозге, печени, почках,
10 селезенке, тимусе, яичках, яичниках, тонком кишечнике, предстательной железе и толстой кишке, и наиболее распространен в селезенке. «h IL-34» или «IL-34 человека» при использовании в контексте настоящего документа в отношении полипептида IL-34, если не указано иное, относится к IL-34 человека дикого типа и предпочтительно имеет аминокислотную последовательность, указанную
15 в SEQ ID NO: 31, которая представляет собой зрелый IL-34 с удаленной лидерной последовательностью. (См., например, Lin et al., Science (2008) Vol. 320, Issue 5877, pp. 807-811.)

Иллюстративный IL-34 человека (SEQ ID NO: 31) имеет аминокислотную последовательность:

20 NEPLEMWPLTQNEECTVTGFLRDKLQYRSRLQYMKHYFPIN
YKISVPYEGVFRIANVTRLQRAQVSERELRYLWVLVSLSATSVQDVLLEGHPS
WKYLQEVETLLLNVQQGLTDVEVSPKVESVLSLLNAPGPNLKLVRPKALLDNC
FRVMELLYCSCCKQSSVLNWQDCEVPSPQSCSPEPSLQYAATQLYPPPPWSPSSP
PHSTGSRPVRAQGEGLLP.

25 Используемый в настоящем документе термин «антитело к человеческому IL-34» или «антитело к IL-34 человека» относится к антителу, которое связывается с IL-34 человека. Предпочтительно «антитело к человеческому IL-34» или «антитело к IL-34 человека» при введении *in vitro* или *in vivo* обеспечивает ответ, нейтрализующий и/или блокирующий активность IL-
30 34, такой как значительное снижение по меньшей мере одной требуемой активности, например требуемое снижение передачи сигнала IL-34, о чем свидетельствует изменение реагирующей на IL-34 молекулярной или клеточной конечной точки. Например, количество, плотность или фенотип микроглии в ЦНС являются примерами возможных молекулярных или клеточных эффектов в

ответ на ПЛ-34. Используемые в настоящем документе термины «передача сигнала» и «трансдукция сигнала» и «ПЛ-34-опосредованный», поскольку они относятся к ПЛ-34, относятся к клеточным и/или межклеточным ответам, которые являются результатом активности ПЛ-34.

5 Термин «антитело», используемый в настоящем документе, относится к молекуле иммуноглобулина, которая связывает антиген. Варианты осуществления антитела включают моноклональное антитело, поликлональное антитело, антитело человека, гуманизированное антитело, химерное антитело или конъюгированное антитело. Антитела могут относиться к любому классу
10 (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA) и любому подклассу (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4). Пример антитела представляет собой антитело типа иммуноглобулина G (IgG), состоящее из четырех полипептидных цепей: двух тяжелых цепей (HC) и двух легких цепей (LC), которые поперечно сшиты посредством межцепочечных дисульфидных связей. LC классифицируют как
15 каппа или лямбда, каждая из которых характеризуется определенной константной областью. Варианты осуществления настоящего описания могут включать антитело IgG1, IgG2 или IgG4 и дополнительно легкие цепи каппа или легкие цепи лямбда. Предпочтительно антитела по настоящему изобретению содержат константные области легкой цепи, которые представляют собой
20 константные области каппа.

HC классифицируют как гамма, мю, альфа, дельта или эpsilon и определяют изотип антитела как IgG, IgM, IgA, IgD или IgE соответственно. Аминоконцевая часть каждой из четырех полипептидных цепей включает
25 переменную область из примерно 100–125 или более аминокислот, в первую очередь отвечающую за распознавание антигена. Карбоксиконцевая часть каждой из четырех полипептидных цепей содержит константную область, в первую очередь, отвечающую за эффекторные функции. Каждая тяжелая цепь состоит из переменной области тяжелой цепи (VH) и константной области тяжелой цепи. Константная область тяжелых цепей содержит домены CH1, CH2
30 и CH3. CH1 идет после HCVR; CH1 и HCVR образуют часть тяжелой цепи антигенсвязывающего (Fab) фрагмента, который является частью антитела, связывающего антиген (-ы). CH2 идет после шарнирной области и перед CH3. CH3 идет после CH2 и находится на карбоксиконце тяжелой цепи. Константная

область легких цепей содержит один домен, CL. CL идет после LCVR; CL и LCVR образуют часть легкой цепи Fab.

Антитела настоящего описания содержат HC в IgG, которые можно дополнительно разделить на подклассы, например IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, и варианты осуществления настоящего описания могут включать в себя одну или более модификаций в константной области каждой HC, например, которые усиливают или снижают эффекторную функцию. Термин «область Fc», используемый в настоящем документе, относится к области антитела, которая содержит домены CH2 и CH3 тяжелой цепи антитела. Необязательно область Fc может включать в себя часть шарнирной области или всю шарнирную область тяжелой цепи антитела. Известно, что IgG1 индуцирует антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC) и комплементзависимую цитотоксичность (CDC), а мутации Fc, описанные в настоящем документе, могут уменьшать агрегацию, уменьшать или усиливать активность ADCC или CDC (или другие функции) и/или модифицировать фармакокинетику антител. Варианты осуществления антител к IL-34 человека, описанные в настоящем документе, имеют уменьшенное связывание с рецепторами FcγR и C1q, тем самым снижая или устраняя цитотоксичность, которая может быть индуцирована антителами с областями Fc IgG дикого типа. Таким образом, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления мутации вводят в область Fc в положениях, описанных в настоящем документе. Безопасность пациента может быть повышена за счет достаточного снижения или устранения эффекторных функций таких антител к IL-34 человека, содержащих модифицированную область Fc, и в сочетании с другими свойствами, описанными в настоящем документе, позволяет использовать терапевтические агенты с улучшенным профилем полезной активности, избегая при этом нежелательной активности.

При экспрессии в определенных биологических системах антитела гликозилируются в области Fc. Как правило, гликозилирование происходит в области Fc антитела в высококонсервативном сайте N-гликозилирования. N-гликаны, как правило, присоединяются к аспарагину. Антитела также могут быть гликозилированы в других положениях. Антитела настоящего описания представляют собой моноклональные антитела. Моноклональные антитела представляют собой антитела, полученные из единственной копии или клона, включая, например, любой эукариотический, прокариотический или фаговый

клон, и не определяются способом, которым они получены. Моноклональные антитела могут быть получены, например, посредством гибридомных технологий, рекомбинантных технологий, технологий фагового дисплея, синтетических технологий, например CDR-трансплантации, или комбинаций
5 указанных или других технологий, известных в данной области техники.

Настоящее изобретение предполагает, что антитела по настоящему изобретению представляют собой человеческие или гуманизированные антитела. В контексте моноклональных антител термины «человек» и «гуманизированный» хорошо известны специалистам в данной области техники (Weiner LJ, J. Immunother.

10 2006; 29: 1-9; Mallbris L, et al., J. Clin. Aesthet. Dermatol. 2016; 9: 13–15).

Примеры осуществления антител по настоящему изобретению также включают в себя фрагменты антитела или антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат по меньшей мере часть антитела, сохраняющую способность специфично взаимодействовать с антигеном, таких как фрагменты Fab, Fab',
15 F(ab')₂, Fv, scFv-фрагменты антитела, дисульфид-связанные Fv (sdFv), Fd-фрагмент и линейные антитела.

Аминоконцевая часть каждой LC и HC включает в себя вариабельную область, состоящую из приблизительно 100–120 аминокислот, в первую очередь отвечающую за распознавание антигена посредством содержащихся в ней CDR.

20 Области VH и VL могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), перемежающимися с областями, которые являются более консервативными и называются каркасными областями (FR). CDR экспонируются на поверхности белка и являются важными участками антитела
25 для специфичности связывания антигена. Каждая VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбоксильному концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В настоящем документе три CDR тяжелой цепи обозначены как «HCDR1, HCDR2 и HCDR3», а три CDR легкой цепи обозначены как «LCDR1, LCDR2 и LCDR3». CDR
30 содержат большинство остатков, которые формируют специфичные взаимодействия с антигеном. На функциональную способность антитела связывать определенный антиген в значительной степени влияют шесть CDR. Определение принадлежности аминокислотных остатков к CDR может быть выполнено в соответствии с хорошо известными схемами, в том числе

описанными в Kabat (Kabat et al., “Sequences of Proteins of Immunological Interest,” National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)), Chothia (Chothia et al., “Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins”, Journal of Molecular Biology, 196, 901–917 (1987); Al-Lazikani et al., “Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins”, Journal of Molecular Biology, 273, 927–948 (1997)), North (North *et al.*, “A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations”, Journal of Molecular Biology, 406, 228–256 (2011)) или в IMGT (международная база данных ImMunoGeneTics, доступная по адресу www.imgt.org; см. Lefranc et al., Nucleic Acids Res. 1999; 27:209–212).

Для целей данного описания, за исключением случаев, когда указано иное, определения CDR по Нортю используют для антител к IL-34, описанных в настоящем документе, и для определения принадлежности аминокислот к доменам CDR в пределах областей LCVR и HCVR. Ниже в таблице 2 представлены последовательности CDR для антитела 1 и/или антител по настоящему изобретению на основании обозначений Норта, Кабата, Чотиа и/или IMGT соответственно, сгенерированных с использованием программного обеспечения Benchling informatics.

Таблица 2

Примеры CDR антитела 1 (или антител по настоящему изобретению)						
Ат	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
По Нортю	AASGF AFSNY AMS (SEQ ID NO: 5)	AISASGG KTY (SEQ ID NO: 6)	AKRGYLW HAFDH (SEQ ID NO: 7)	RASQSVSS LYLA (SEQ ID NO: 8)	YGASSRA T (SEQ ID NO: 9)	QVVGSS PPFT (SEQ ID NO: 10)
По Кабату	NYAMS (SEQ ID NO: 13)	AISASGG KTYADSD VKG (SEQ ID NO: 14)	RGYLWHA FDH (SEQ ID NO: 15)	RASQSVSS LYLA (SEQ ID NO: 16)	GASSRAT (SEQ ID NO: 17)	QVVGSS PPFT (SEQ ID NO: 18)
По Чотиа	GFAFSN Y (SEQ ID NO: 19)	SASGGK (SEQ ID NO: 20)	RGYLWHA FDH (SEQ ID NO: 21)	RASQSVSS LYLA (SEQ ID NO: 22)	GASSRAT (SEQ ID NO: 23)	QVVGSS PPFT (SEQ ID NO: 24)
По IMGT	GFAFSN YA (SEQ ID NO: 25)	ISASGGKT (SEQ ID NO: 26)	AKRGYLW HAFDH (SEQ ID NO: 27)	QSVSSLY (SEQ ID NO: 28)	GAS (SEQ ID NO: 29)	QVVGSS PPFT (SEQ ID NO: 30)

Варианты осуществления настоящего описания обладают комбинацией фармакологически полезных и важных активностей и свойств, и, с одной стороны, они способны связываться с высокой аффинностью и высокой специфичностью с IL-34 человека, а также обладают другими полезными свойствами. Используемые в настоящем документе термины «связывают» и «связывает» предназначены для обозначения, если не указано иное, способности белка или молекулы образовывать взаимодействие на основании притяжения с другим белком или молекулой, что приводит к близости двух белков или молекул, как определено обычными способами, известными в данной области техники. Фраза «специфически связывает», используемая в настоящем документе в отношении аффинности антитела к IL-34 к IL-34 человека, означает, если не указано иное, K_D предпочтительно менее примерно 1×10^{-10} М, еще более предпочтительно от примерно 1×10^{-10} М до примерно 1×10^{-12} М, как определено общепринятыми способами, известными в данной области, в том числе с использованием биодатчика ППР (поверхностного плазмонного резонанса) и/или равновесного титрования раствора (SET), измеренного посредством прибора MSD (Meso Scale Discovery), по существу как описано в настоящем документе. Фраза «специфически связывает» также указывает на относительную аффинность антитела к IL-34 к IL-34 человека по сравнению с другими антигенами, при этом аффинность к IL-34 человека приводит к специфическому распознаванию IL-34 человека.

Варианты осуществления антител по настоящему изобретению могут быть экспрессированы и получены с помощью различных методик, известных в данной области техники, из конструкторов, содержащих последовательности по настоящим вариантам осуществления. Термины «нуклеиновая кислота» или «полинуклеотид», используемые в настоящем документе взаимозаменяемо, относятся к полимерам нуклеотидов, включая одноцепочечные и/или двухцепочечные молекулы, содержащие нуклеотиды, такие как молекулы ДНК, кДНК и РНК, включающие нативные, модифицированные нуклеотиды и/или их аналоги. Полинуклеотиды по настоящему изобретению также могут включать в себя субстраты, включенные в них, например, посредством ДНК- или РНК-полимеразы или синтетической реакции. Молекула ДНК настоящего описания

представляет собой молекулу ДНК, которая содержит не встречающуюся в природе полинуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид, имеющий аминокислотную последовательность по меньшей мере одного из полипептидов, встречающихся в антителе настоящего описания (например, 5 тяжелая цепь, легкая цепь, переменная область тяжелой цепи и переменная область легкой цепи).

Выделенная ДНК, кодирующая область HCVR или LCVR, может быть преобразована в ген полноразмерной тяжелой цепи путем функционального соединения соответствующей ДНК, кодирующей HCVR или LCVR, с другой 10 молекулой ДНК, кодирующей константные области тяжелой или легкой цепи, с образованием тяжелой или легкой цепи соответственно. В данной области техники известны последовательности генов человека или других млекопитающих, кодирующих константную область тяжелой цепи. Фрагменты ДНК, охватывающие эти области, можно получить, например, с помощью 15 стандартной ПЦР-амплификации.

Полинуклеотиды по настоящему изобретению могут экспрессироваться в клетке-хозяине после функционального связывания последовательностей с последовательностью управления экспрессией. Векторы экспрессии, как правило, реплицируются в организмах-хозяевах либо как эписомы, либо как 20 неотъемлемая часть хромосомной ДНК хозяина. Обычно экспрессионные векторы будут содержать селективные маркеры, например тетрациклин, неомицин и дигидрофолатредуктазу, чтобы обеспечить возможность обнаружения тех клеток, которые трансформированы требуемыми последовательностями ДНК. Векторы, содержащие интересные 25 полинуклеотидные последовательности (например, полинуклеотиды, кодирующие полипептиды антитела и последовательности контроля экспрессии), могут быть перенесены в клетку-хозяина с помощью хорошо известных способов, которые изменяются в зависимости от типа клетки-хозяина.

Антитела настоящего описания можно легко получить в клетках 30 млекопитающих, не имеющие ограничительного характера примеры которых включают клетки CHO, NS0, HEK293 или COS. Клетки-хозяева культивируют с использованием методик, хорошо известных в данной области техники. Экспрессия антител у млекопитающих, как правило, приводит к гликозилированию. Гликозилирование антител, как правило, бывает N-

связанным или O-связанным. N-связанное гликозилирование относится к присоединению углеводной группы к боковой цепи остатка аспарагина. O-связанное гликозилирование относится к присоединению сахара, например N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы к гидроксикарбоксильной кислоте. Как правило, гликозилирование происходит в Fc-области антитела в высококонсервативном участке N-гликозилирования (например, положении 297 в IgG1 согласно нумерации IMGT или индекса EU). Сайты гликозилирования можно модифицировать для изменения гликозилирования (например, путем блокирования или уменьшения гликозилирования или изменения аминокислотной последовательности для получения дополнительного или разнообразного гликозилирования).

Экспрессия антител, принадлежащих к подклассам IgG, у млекопитающих может приводить к отсечению C-концевых аминокислот одной или обеих тяжелых цепей; например, для антител IgG1 можно удалить одну или две C-концевые аминокислоты. Для антител IgG1, если присутствует C-концевой лизин, он может быть отсечен или вырезан из тяжелой цепи во время экспрессии. Кроме того, предпоследний глицин также может быть отсечен или вырезан из тяжелой цепи.

Экспрессия антител у млекопитающих также может приводить к модификации N-концевых аминокислот. Например, когда наиболее N-концевая аминокислота тяжелой цепи или легкой цепи представляет собой глутамин, она может быть модифицирована в пироглутаминовую кислоту.

Антитело настоящего описания или содержащую его фармацевтическую композицию можно вводить парентеральными путями, не имеющими ограничительного характера примерами которых являются подкожное введение и внутривенное введение. Антитело настоящего описания может быть введено пациенту с фармацевтически приемлемыми носителями, разбавителями или эксципиентами в виде однократной или многократных доз. Фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут быть получены способами, хорошо известными в данной области техники (например, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22nd ed. (2012), A. Loyd et al., Pharmaceutical Press), и могут содержать антитело, как описано в настоящем документе, и один или более фармацевтически приемлемых носителей, разбавителей или эксципиентов.

Варианты применения вариантов осуществления антител настоящего изобретения

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления антитела к IL-34 по настоящему изобретению применимы для лечения иммуноопосредованных заболеваний. Используемые в настоящем документе термины «иммуноопосредованное заболевание» или «воспалительное заболевание или расстройство» используются взаимозаменяемо и относятся к нежелательным состояниям, возникающим из-за несоответствующих или чрезмерных иммунных ответов, при которых ингибирование IL-34 приводит к более гомеостатическому и менее патологическому ответу. Предполагается, что термин «иммуноопосредованное заболевание» или «воспалительное расстройство» включает такие состояния, независимо от того, опосредованы ли они микроглиальными или макрофагальными клеточными иммунными реакциями, или реакциями подобных типов резидентных клеток тканей, таких как гистиоциты, клетки Купфера, альвеолярные макрофаги, кишечные макрофаги, макрофагоподобные синовиоциты или клетки Лангерганса. Примеры заболеваний, которые предполагается лечить антителами согласно описанию, изложенному в настоящем документе, включают болезнь Альцгеймера, таупатию; синдром Шегрена (SS); ревматоидный артрит (RA); воспалительное заболевание кишечника (IBD), атопический дерматит, заболевание почек, сепсис, боковой амиотрофический склероз (ALS) и/или неалкогольную жировую дистрофию печени (NAFLD).

В некоторых более конкретных вариантах осуществления иммуноопосредованное заболевание представляет собой болезнь Альцгеймера (БА). В соответствии с другими вариантами осуществления настоящего описания антитела к IL-34 могут быть использованы в диагностических применениях для иммуноопосредованных заболеваний. В некоторых вариантах осуществления иммуноопосредованные заболевания представляют собой по меньшей мере одно из: БА; синдрома Шегрена (SS); ревматоидного артрита (RA); воспалительного заболевания кишечника (IBD), атопического дерматита, заболевания почек, сепсиса и/или неалкогольной жировой дистрофии печени (NAFLD).

В настоящем описании дополнительно предложены фармацевтические композиции, содержащие антитело к IL-34 настоящего описания и один или более фармацевтически приемлемых носителей, разбавителей или

эксципиентов. Дополнительно в настоящем описании предложен способ
лечения иммуноопосредованного заболевания, такого как БА; синдром Шегрена
(SS); ревматоидный артрит (RA); воспалительное заболевание кишечника (IBD),
атопический дерматит, заболевание почек, сепсис и/или неалкогольная жировая
5 дистрофия печени (NAFLD), включающий введение нуждающемуся в этом
пациенту фармацевтической композиции настоящего описания.

Кроме того, в настоящем описании предложен способ лечения
иммуноопосредованных заболеваний. Кроме того, в настоящем описании
предложен способ лечения иммуноопосредованных заболеваний, включая БА;
10 синдром Шегрена (SS); ревматоидный артрит (RA); воспалительное заболевание
кишечника (IBD), атопический дерматит, заболевание почек, сепсис и/или
неалкогольную жировую дистрофию печени (NAFLD), включающий введение
нуждающемуся в этом пациенту эффективного количества антитела к IL-34 по
настоящему изобретению.

15 В настоящем изобретении также предложено антитело к IL-34 по
настоящему изобретению для применения в терапии. Более конкретно в
настоящем описании предложено антитело к IL-34 по настоящему изобретению
для применения в лечении иммуноопосредованных заболеваний, включая БА;
синдром Шегрена (SS); ревматоидный артрит (RA); воспалительное заболевание
20 кишечника (IBD), атопический дерматит, заболевание почек, сепсис и/или
неалкогольную жировую дистрофию печени (NAFLD).

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании
предложено применение антитела к IL-34 по настоящему изобретению в
производстве лекарственного средства для лечения одного или более
25 иммуноопосредованных заболеваний, включая БА; синдром Шегрена (SS);
ревматоидный артрит (RA); воспалительное заболевание кишечника (IBD),
атопический дерматит, заболевание почек, сепсис и/или неалкогольную
жировую дистрофию печени (NAFLD).

Антитела настоящего описания применимы для идентификации
30 иммуноопосредованных расстройств, при которых IL-34 может способствовать
этиопатогенезу расстройства. В дополнительных вариантах осуществления
настоящего описания предложен способ лечения иммуноопосредованного
заболевания у пациента. Такие способы включают этапы приведения образца
пациента в контакт с антителом к IL-34 и обнаружение связывания между IL-34

человека в образце пациента и антителом; и диагностику пациента как имеющего; подверженного риску; нуждающегося в лечении; и/или подверженного риску симптомов, связанных с иммуноопосредованным заболеванием, если наличие IL-34 в образце пациента определяется как

5 превышающее эталонное значение, наблюдаемое у субъектов, не имеющих заболевания (см., например, Xie, H.H., et al. *Elevated Serum Interleukin-34 Level in Patients with Systemic Lupus Erythematosus Is Associated with Disease Activity*. Sci Rep 8, 3462 (2018). В соответствии с некоторыми более конкретными вариантами осуществления способов лечения, предложенных в настоящем

10 документе, указанные способы дополнительно включают этапы определения эталонного значения, включая дополнительные этапы приведения в контакт контрольного стандарта с первым антителом, которое связывает ту же первую область эпитопа IL-34, которая используется при приведении в контакт с образцом пациента; приведения контрольного стандарта в контакт со вторым

15 антителом, имеющим детектируемую метку и связывающим ту же вторую область эпитопа IL-34, которая используется при приведении в контакт с образцом пациента; и обнаружения сигнала, обеспечиваемого детектируемым сигналом. В некоторых конкретных вариантах осуществления антитело к IL-34 содержит комбинацию CDR LC и HC, представленную в таблице 1. В

20 дополнительных вариантах осуществления второе антитело содержит комбинацию LCVR и HCVR, представленную в таблице 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления эталонное значение составляет приблизительно 10–30 пг/мл, например, для лизатов тканей ЦНС. В определенных вариантах осуществления иммуноопосредованное заболевание представляет собой одно из БА; синдрома Шегрена (SS); ревматоидного артрита (RA); воспалительного заболевания кишечника (IBD), атопического дерматита, заболевания почек, сепсиса и/или неалкогольной жировой дистрофии печени (NAFLD). В некоторых вариантах осуществления образец пациента

25 представляет собой один из образцов CSF, крови, сыворотки, лизата ткани или плазмы. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления способ дополнительно включает этапы приведения образца пациента в контакт со вторым антителом к IL-34, которое связывает область второго эпитопа IL-34 и имеет детектируемую метку, и обнаружение сигнала, обеспечиваемого обнаруживаемым сигналом. В дополнительных вариантах осуществления

30

второе антитело содержит комбинацию CDR LC и HC, представленную в таблице 1. В дополнительных вариантах осуществления второе антитело содержит комбинацию LCVR и HCVR, представленную в таблице 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления первое и второе антитела к IL-34 не связываются друг с другом.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления в настоящем описании предложен способ обнаружения IL-34 в образце пациента, включающий этапы приведения в контакт образца пациента с первым антителом, которое связывает первую область эпитопа IL-34; приведение образца пациента в контакт со вторым антителом, которое связывает вторую область эпитопа IL-34 и имеет детектируемую метку; и обнаружение сигнала, обеспечиваемого упомянутой детектируемой меткой. В некоторых вариантах осуществления образец пациента представляет собой один из образцов крови, сыворотки, лизата ткани или плазмы. В соответствии с некоторыми более конкретными вариантами осуществления область первого эпитопа IL-34 частично перекрывается с областью второго эпитопа IL-34. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления упомянутые этапы приведения в контакт с первым и вторым антителами происходят одновременно. В некоторых конкретных вариантах осуществления первое антитело содержит комбинацию CDR LC и HC, представленную в таблице 1. В дополнительных вариантах осуществления первое антитело содержит комбинацию LCVR и HCVR, представленную в таблице 1.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего описания предложен способ количественного определения IL-34 в образце пациента. Такой способ включает этапы приведения образца пациента в контакт с первым антителом, которое связывает первую область эпитопа IL-34; приведения образца пациента в контакт со вторым антителом, которое связывает вторую область эпитопа IL-34 и имеет упомянутую детектируемую метку; и обнаружения сигнала, обеспечиваемого упомянутой детектируемой меткой; приведения контрольного стандарта в контакт с первым антителом, которое связывается с той же первой областью эпитопа IL-34 (которая используется при контакте с образцом пациента); приведения контрольного стандарта в контакт со вторым антителом, которое связывает такую же вторую область эпитопа IL-34 (которая используется при контакте с образцом пациента) и имеет

детектируемую метку; и обнаружения сигнала, обеспечиваемого упомянутым детектируемым сигналом. В некоторых вариантах осуществления образец пациента представляет собой один из образцов крови, сыворотки или плазмы или лизата ткани. В соответствии с некоторыми более конкретными вариантами

5 осуществления область первого эпитопа IL-34 частично перекрывается с областью второго эпитопа IL-34. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления упомянутые этапы приведения в контакт с первым и вторым антителами происходят одновременно. В некоторых конкретных вариантах осуществления первое антитело содержит комбинацию CDR LC и HC,

10 представленную в таблице 1. В дополнительных вариантах осуществления первое антитело содержит комбинацию LCVR и HCVR, представленную в таблице 1. В некоторых конкретных вариантах осуществления второе антитело содержит комбинацию CDR LC и HC, представленную в таблице 1 или в настоящем документе. В дополнительных вариантах осуществления второе

15 антитело содержит комбинацию LCVR и HCVR, представленную в таблице 1.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления предложен способ диагностирования иммуноопосредованного заболевания. Такой способ включает этапы приведения образца пациента в контакт с антителом к IL-34 и обнаружение связывания между IL-34 в образце пациента и антителом. В

20 соответствии с некоторыми конкретными вариантами осуществления способ диагностики включает диагностику пациента как имеющего; подверженного риску; нуждающегося в лечении; и/или подверженного риску развития симптомов, связанных с иммуноопосредованным заболеванием, если наличие IL-34 в образце пациента определяется как превышающее эталонное значение.

25 В соответствии с некоторыми более конкретными вариантами осуществления указанные способы дополнительно включают этапы определения эталонного значения, включая этапы приведения контрольного стандарта в контакт с первым антителом, которое связывается с такой же первой областью эпитопа IL-34, которая используется при приведении в контакт с образцом пациента;

30 приведения контрольного стандарта в контакт со вторым антителом, имеющим детектируемую метку и связывающим ту же вторую область эпитопа IL-34, которая используется при приведении в контакт с образцом пациента; и обнаружения сигнала, обеспечиваемого детектируемым сигналом. В некоторых вариантах осуществления первое антитело содержит комбинацию CDR LC и

НС, представленную в таблице 1. Некоторые варианты осуществления способа диагностики иммуноопосредованного заболевания, предложенные в настоящем документе, дополнительно включают этапы приведения образца пациента в контакт со вторым антителом к IL-34, которое связывает вторую область

5 эпитопа IL-34 и имеет детектируемую метку; и обнаружения сигнала, обеспечиваемого детектируемой меткой. В некоторых конкретных вариантах осуществления антитело к IL-34 содержит комбинацию CDR LC и HC, представленную в таблице 1. В дополнительных вариантах осуществления антитело содержит комбинацию LCVR и HCVR, представленную в таблице 1. В

10 соответствии с конкретными вариантами осуществления область первого эпитопа IL-34 частично перекрывается с областью второго эпитопа IL-34. В соответствии с определенными вариантами осуществления первое и второе антитело не связываются друг с другом. В соответствии с дополнительными вариантами осуществления эталонное значение составляет диапазон

15 приблизительно 10–30 пг/мл для лизатов тканей ЦНС и/или определяется специалистом в данной области для соответствующей эталонной группы и источника образца. В дополнительных вариантах осуществления иммуноопосредованное заболевание представляет собой одно из БА; таупатии; синдрома Шегрена (SS); ревматоидного артрита (RA); воспалительного

20 заболевания кишечника (IBD), атопического дерматита, заболевания почек, сепсиса и/или неалкогольной жировой дистрофии печени (NAFLD).

В одном варианте осуществления в настоящем описании предложен способ определения уровня IL-34 человека в биологической жидкости, включающий: (а) приведение биологической жидкости в контакт с

25 диагностическим моноклональным антителом к IL-34 человека или его антигенсвязывающим фрагментом, которые специфически связываются с IL-34 человека и содержат аминокислотную последовательность, как в SEQ ID NO: 31, антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, содержащими:

определяющие комплементарность области легкой цепи LCDR1, LCDR2 и

30 LCDR3, содержащие аминокислотные последовательности (SEQ ID NO: 8), (SEQ ID NO: 9) и (SEQ ID NO: 10) соответственно, и определяющие комплементарность области тяжелой цепи HCDR1, HCDR2 и HCDR3, содержащие аминокислотные последовательности (SEQ ID NO: 5), (SEQ ID NO: 6) и (SEQ ID NO: 7) соответственно; (b) необязательно удаление любого

неспецифически связанного моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента; и (с) обнаружение и/или количественное определение моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связаны с IL-34 человека. Предпочтительно при этом указанная биологическая жидкость представляет собой кровь, сыворотку или плазму или спинномозговую жидкость, и указанное приведение в контакт происходит *ex vivo*.

Таупатии включают, без ограничений, болезнь Альцгеймера (БА), болезнь Пика (БП), прогрессирующий надъядерный паралич (ПНП), кортикобазальную дегенерацию (КБД), аргирофильную зернистую болезнь, синдром Дауна, хроническую травматическую энцефалопатию (ХТЭ), черепно-мозговую травму (ЧМТ), лобно-височную деменцию с паркинсонизмом, сцепленным с хромосомой 17 (ЛВДП-17), Гуамский комплекс паркинсонизма-деменции, болезнь Ниманна — Пика типа С, миотоническую дистрофию (см. Li, C., Götz, J. *Tau-based therapies in neurodegeneration: opportunities and challenges*. *Nat Rev Drug Discov* 16, 863–883 (2017)).

В вариантах осуществления изобретения пациент представляет собой человека, который был диагностирован как имеющий медицинский риск, состояние или расстройство, такие как одно из заболеваний или расстройств, описанных в настоящем документе, который нуждается в лечении антителом, описанным в настоящем документе. В тех случаях, когда расстройства, которые можно лечить способами настоящего описания, известны по установленным и принятым классификациям, такие как болезнь Альцгеймера; таупатия; синдром Шегрена (SS); ревматоидный артрит (RA); воспалительное заболевание кишечника (IBD), атопический дерматит, заболевание почек, сепсис и/или неалкогольная жировая дистрофия печени (NAFLD), их классификации можно найти в различных общеизвестных медицинских текстах. Например, в настоящее время 5-е издание Диагностического и статистического руководства по психическим нарушениям (DSM-5) предоставляет диагностический инструмент для идентификации некоторых нарушений, описанных в настоящем документе. Кроме того, классификация некоторых расстройств, описанных в настоящем документе, представлена в Международной классификации заболеваний, десятом пересмотренном издании (МКБ-10). Специалист в данной области техники поймет, что существуют альтернативные номенклатуры,

нозологрии и системы классификации для заболеваний или расстройств, описанных в настоящем документе, включая те, которые описаны в DSM-5 и ICD-10, и что системы терминологии и классификации развиваются с развитием медицинской науки.

5 Термин «процесс лечения» (или «лечить», или «лечение») относится к замедлению, прерыванию, приостановке, ослаблению, прекращению, уменьшению или обращению вспять прогрессирующего или тяжести существующего симптома, расстройства, состояния или заболевания у субъекта. Термин «пациент» обозначает человека. В настоящем описании термины
10 «человеческий индивид» и «пациент» применяются на взаимозаменяемой основе.

В настоящем документе термин «способы лечения» в равной степени применим к использованию композиции для лечения заболеваний или расстройств, описанных в настоящем документе, и/или к композициям,
15 предназначенным для использования и/или способов использования в производстве лекарственных средств для лечения заболеваний или расстройств, описанных в настоящем документе.

Термин «предотвращение» или «профилактика» означает профилактическое введение антитела настоящего описания бессимптомному
20 субъекту или субъекту с доклинической болезнью Альцгеймера для предотвращения возникновения или прогрессирующего заболевания.

Термин «замедление прогрессирующего» в контексте настоящего документа означает задержку или замедление прогрессирующего заболевания или его симптомов у субъекта.

25 Термины «заболевание, характеризующееся отложением A β » или «заболевание, характеризующееся отложениями A β » используются взаимозаменяемо и относятся к заболеванию, которое патологически характеризуется отложениями A β в головном мозге или в сосудистой системе головного мозга. Это включает в себя такие заболевания, как болезнь
30 Альцгеймера, синдром Дауна и церебральная амилоидная ангиопатия. Клинический диагноз, стадия или прогрессирующее болезни Альцгеймера может быть легко определен лечащим диагностом или медицинским работником, таким как специалист в данной области, с использованием известных методов и путем наблюдения результатов. Это по существу включает

в себя визуализацию бляшек в головном мозге, оценку психического или когнитивного расстройства (например, по рейтинговой шкале клинической деменции — сумма ячеек (CDR-SB), по краткой шкале оценки психического статуса (MMSE) или шкале оценки болезни Альцгеймера — когнитивный статус (ADAS-Cog)) или функциональную оценку (например, кооперативное исследование болезни Альцгеймера — деятельность повседневной жизни (ADCS-ADL). Когнитивную и функциональную оценку можно использовать для определения изменений когнитивной функции пациента (например, снижения когнитивных функций) и функционального снижения (например, ухудшения функционального состояния). Соответственно, у субъекта может быть установлено «медленно прогрессирующее» снижение когнитивных функций в соответствии с методикой, описанной в настоящем документе. В примере осуществления «медленно прогрессирующее» снижение когнитивных функций можно идентифицировать посредством iADRS, при этом показатели по iADR у субъекта снижаются на менее чем примерно 20 баллов, например за определенный период времени (например, 6, 12, 18 или 24 месяца). В другом примере осуществления «медленно прогрессирующее» снижение когнитивных функций можно идентифицировать посредством генотипирования по APOE-4, причем субъект является гомозиготно-отрицательным по APOE-4 или гетерозиготным по APOE-4. В другом примере осуществления «медленно прогрессирующее» снижение когнитивных функций может быть идентифицировано посредством MMSE, причем субъект определяется как имеющий значение по MMSE примерно на уровне 27 или снижение значения по MMSE менее чем примерно 3 в течение заданного периода времени (например, 6, 12, 18 или 24 месяца). «Клиническая стадия болезни Альцгеймера», как используется в данном описании, представляет собой диагностированную стадию болезни Альцгеймера. Это включает в себя состояния, диагностированные как продромальная болезнь Альцгеймера, легкая болезнь Альцгеймера, умеренная болезнь Альцгеймера и тяжелая болезнь Альцгеймера. Термин «доклиническая стадия болезни Альцгеймера» представляет собой стадию, которая предшествует клинической стадии болезни Альцгеймера, где измеримые изменения в биомаркерах (таких как уровни A β 42 в СМЖ или отложения бляшек в головном мозге по данным ПЭТ-сканирования на амилоид) указывают на самые ранние признаки у пациента с патологией Альцгеймера,

прогрессирующие до клинической стадии болезни Альцгеймера. Обычно это происходит до того, как становятся заметны такие симптомы, как потеря памяти и спутанность сознания. Доклиническая болезнь Альцгеймера также включает досимптоматическое аутосомно-доминантное носительство, а также пациентов с
5 более высоким риском развития БА из-за носительства одного или двух аллелей APOE ε4.

Уменьшение или замедление снижения когнитивных функций может быть измерено с помощью когнитивных оценок, например, по рейтинговой шкале клинической деменции — сумма ячеек (CDR-SB), по краткой шкале оценки
10 психического статуса или шкале оценки болезни Альцгеймера — когнитивный статус. Уменьшение или замедление функционального снижения может быть измерено с помощью функциональных оценок, таких как ADCS-ADL.

Используемый в настоящем документе термин «мг/кг» означает количество в миллиграммах антитела или лекарственного средства, вводимого
15 субъекту с учетом его или ее массы тела в килограммах. Дозу дают однократно. Например, доза антитела 10 мг/кг для субъекта с массой 70 кг будет представлять собой одну дозу 700 мг антитела, вводимую путем однократного введения. Аналогично доза антитела 20 мг/кг для субъекта с массой 70 кг будет представлять собой дозу 1400 мг антитела, вводимую путем однократного
20 введения.

В настоящем документе человеческий индивид имеет «очень низкую нагрузку тау-белком», если нагрузка тау-белком составляет менее 1,10 SUVr (< 1,10 SUVr) с использованием количественного анализа с ¹⁸F-флортауципиром, где количественный анализ относится к вычислениям SUVr, а SUVr
25 представляет собой количество в пределах конкретной представляющей интерес области в головном мозге (мультиблочный барицентрический дискриминантный анализ или MUBADA, см. Devous et al, “Test-Retest Reproducibility for the Tau PET Imaging Agent Flortaucipir F18,” *J. Nucl. Med.* 59:937–943 (2018)) по сравнению с референсной областью (параметрическая оценка интенсивности референсного сигнала или PERSI, см. Southekal et al., “Flortaucipir F 18
30 Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity,” *J. Nucl. Med.* 59:944-951 (2018)). В настоящем документе человеческий индивид имеет «нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной», если нагрузка тау-белком меньше или равна 1,46 SUVr (т. е. ≤ 1,46 SUVr) с использованием

количественного анализа с ^{18}F -флортауципиром, где количественный анализ относится к вычислениям SUVr , а SUVr представляет собой количество в пределах конкретной представляющей интерес области в головном мозге (MUBADA, см. Devous et al, "Test-Retest Reproducibility for the Tau PET Imaging Agent Flortaucipir F18," *J. Nucl. Med.* 59:937–943 (2018)) по сравнению с референсной областью (PERSI, см. Southekal et al., "Flortaucipir F 18 Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity," *J. Nucl. Med.* 59:944-951 (2018)).

В настоящем документе человеческий индивид имеет «нагрузку тау-белком от низкой до умеренной», если нагрузка тау-белком составляет от величины, большей или равной 1,10 SUVr , до величины, меньшей или равной 1,46 (т. е. от $\leq 1,10 \text{ SUVr}$ до $\leq 1,46 \text{ SUVr}$), с использованием количественного анализа с ^{18}F -флортауципиром, где количественный анализ относится к вычислениям SUVr , а SUVr представляет собой количество в пределах конкретной представляющей интерес области в головном мозге (MUBADA, см. Devous et al, "Test-Retest Reproducibility for the Tau PET Imaging Agent Flortaucipir F18," *J. Nucl. Med.* 59:937–943 (2018)) по сравнению с референсной областью (PERSI, см. Southekal et al., "Flortaucipir F 18 Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity," *J. Nucl. Med.* 59:944-951 (2018)). Нагрузка человеческого индивида тау-белком от низкой до умеренной также может называться «промежуточной» нагрузкой тау-белком.

В настоящем документе человеческий индивид имеет «высокую нагрузку тау-белком», если нагрузка тау-белком больше 1,46 SUVr (т. е. $> 1,46 \text{ SUVr}$) с использованием количественного анализа с ^{18}F -флортауципиром, где количественный анализ относится к вычислениям SUVr , а SUVr представляет собой количество в пределах конкретной представляющей интерес области в головном мозге (MUBADA, см. Devous et al, "Test-Retest Reproducibility for the Tau PET Imaging Agent Flortaucipir F18," *J. Nucl. Med.* 59:937–943 (2018)) по сравнению с референсной областью (PERSI, см. Southekal et al., "Flortaucipir F 18 Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity," *J. Nucl. Med.* 59:944-951 (2018)).

При использовании в настоящем документе термин «примерно» обозначает $\pm 10\%$.

Используемый в настоящем документе термин «врожденный иммунитет» включает часть иммунного ответа, которая, в отличие от адаптивной части иммунного ответа, требуется для инициирования и поддержания адаптивного иммунного ответа (ответы антител и Т-клеточные ответы).

- 5 «Эффективное количество» означает такое количество антитела к IL-34 человека настоящего описания или содержащей указанное антитело фармацевтической композиции, которое вызывает необходимый для медицинского работника биологический или медицинский ответ или желательный терапевтический эффект в ткани, системе или организме человека.
- 10 В настоящем документе термин «эффективный ответ» пациента или чувствительность пациента на лечение относится к клинической или терапевтической пользе, которую пациент получает при введении антитела по настоящему изобретению. Эффективное количество антитела может изменяться в зависимости от таких факторов, как течение заболевания, возраст, пол и масса
- 15 индивида, а также от способности антитела вызывать желательный ответ у индивида. Эффективное количество также является таким, при котором любой токсический или вредный эффект антитела перевешивается терапевтически благоприятными эффектами. Такой благоприятный эффект включает любое одно или более из: снижения уровня воспаления или иммунной активации,
- 20 стабилизации иммуноопосредованного заболевания или расстройства; или улучшения признаков или симптомов иммуноопосредованного расстройства. Альтернативно такой благоприятный эффект включает любое одно или более из следующего: повышенную иммунную толерантность трансплантированных органов; стабилизированное аутоиммунное заболевание или расстройство; или
- 25 ослабление признаков или симптомов аутоиммунного расстройства.

- Потенциальным преимуществом способов, описанных в настоящем документе, является возможность достижения выраженного и/или длительного облегчения состояния у пациента, страдающего иммуноопосредованным расстройством или нейровоспалительным расстройством, с приемлемым
- 30 профилем безопасности, включающим приемлемую переносимость, уровень токсичности и/или нежелательные явления, так что пациент получает пользу от способа лечения в целом. Эффективность лечения настоящего описания может быть измерена с помощью различных конечных точек, которые обычно используются при оценке лечения различных иммуноопосредованных

расстройств. Необязательно могут применяться различные другие подходы к определению эффективности любой конкретной терапии настоящего описания, включая, например, маркеры активации иммунных клеток, показатели воспаления, визуализацию измерения зависимых от клеточного цикла биомаркеров и/или измерение ответа иммунных или тканеспецифических биомаркеров.

Эффективное количество может быть легко определено специалистом в данной области техники путем применения известных способов и путем анализа результатов, полученных при аналогичных обстоятельствах. Эффективное количество антитела к ПЛ-34 человека настоящего описания можно вводить в виде однократной дозы или многократных доз. Более того, эффективное количество антитела настоящего описания можно вводить в виде многократных доз в количествах, которые были бы меньше эффективного количества, если бы их не вводили в более чем одной дозе. При определении эффективного количества для пациента лечащий врач учитывает ряд факторов, включая, без ограничений: размер пациента (например, вес или массу), площадь поверхности тела, возраст и общее состояние здоровья; конкретное заболевание или расстройство; степень, или вовлеченность, или степень тяжести заболевания или расстройства; ответ отдельного пациента; конкретное введенное соединение; режим введения; характеристики биодоступности вводимого препарата; выбранный режим дозирования; применение сопутствующего лекарственного средства; и другие соответствующие обстоятельства, известные медработникам.

Еженедельная доза, доза раз в две недели, ежемесячная или ежеквартальная доза для парентерального (включая, без ограничений, подкожное, внутримышечное и/или внутривенное) введения может составлять от примерно 0,5 мг/кг до примерно 50 мг/кг. Используемый в настоящем документе термин «месяц» и его производные относятся к периоду времени, который составляет от 28 до 31 дня подряд.

Потенциальным преимуществом описанных в настоящем документе способов является возможность достижения выраженного и/или длительного облегчения состояния у пациента, страдающего иммуноопосредованным расстройством или нейровоспалительным расстройством, с приемлемым профилем безопасности, включающим приемлемую переносимость, уровень

токсичности и/или нежелательные явления, так что пациент получает пользу от способа лечения в целом, а более конкретно антитела настоящего описания обеспечивают эффективное лечение, избегая при этом клинически нежелательной иммуносупрессии и/или иммуноассоциированных

5 нежелательных явлений, таких как «цитокиновый шторм» или значительное высвобождение цитокинов. Антитела настоящего описания могут быть применимы для лечения цитокинового шторма или иного нежелательного высвобождения цитокинов. Используемый в настоящем документе термин «значительное высвобождение цитокинов» относится к значимому увеличению

10 измеримого количества цитокинов, которое можно обнаружить способами, известными специалисту в данной области. Например, значительное высвобождение цитокинов может быть обнаружено в образцах крови человека путем твердофазного ИФА, причем уровни цитокинов в нестимулированной крови сравнивают с уровнями цитокинов в крови, инкубированной с антителом.

15 В некоторых таких исследованиях, например, может быть обнаружено значительное высвобождение цитокинов, если уровни IL-6 или IL-8, или IFN- γ по меньшей мере в три раза выше в крови, инкубированной с антителом, по сравнению с уровнями в нестимулированной крови. Предпочтительно лечение иммуопосредованного расстройства, как описано в вариантах осуществления

20 в настоящем документе, будет происходить при отсутствии у пациента значительного высвобождения цитокинов.

Варианты комбинированного применения антител настоящего описания

В настоящем описании дополнительно предложены одновременная, раздельная или последовательная комбинации антитела настоящего описания, в

25 частности антитела 1, и антител к N3pGlu A β и способы применения комбинаций для лечения заболеваний, характеризующихся отложением бета-амилоида (A β), таких как БА. Некоторые известные антитела к A β , которые можно применять в настоящих комбинациях, включают донанемаб, бапинеумаб, гантенеумаб, адуканумаб, GSK933776, соланезумаб, кренеумаб,

30 понезумаб и леканемаб (BAN2401). В настоящем описании дополнительно предложены одновременная, раздельная или последовательная комбинации антитела 1 и донанемаба (номер CAS 1931944-80-7, SEQ ID NO: 38 и 39), и способы применения этих комбинаций для лечения заболеваний,

характеризующихся отложением бета-амилоида (A β), таких как БА (Donanemab in early Alzheimer's disease, Mintun, M.A. et al, New England Journal of Medicine (2021), 384(18), 1691-1704). Предпочтительно комбинация предполагает применение антитела 1 последовательно после курса лечения донанемабом.

5 Используемые в настоящем документе взаимозаменяемые термины «антитело к N3pGlu A β », «антитело к N3pG» или «антитело к N3pE» относятся к антителу, которое предпочтительно связывается с N3pGlu A β по сравнению с A β 1-40 или A β 1-42. Специалисту в данной области будет понятно, что «антитело к N3pGlu A β » и несколько конкретных антител, включая «hE8L»,
10 «B12L» и «R17L», идентифицированы и описаны (вместе со способами получения и применения таких антител) в патенте США № 8,679,498 B2 (который полностью включен в настоящий документ путем ссылки). См., например, таблицу 1 патента США № 8,679,498 B2. Каждое из антител, описанных в патенте США № 8,679,498 B2, включая антитела «hE8L», «B12L» и
15 «R17L», можно использовать в качестве антитела к N3pGlu A β настоящего описания или вместо антител к N3pGlu A β , описанных в различных аспектах настоящего изобретения. Антитело к N3pGlu A β по настоящим способам комбинирования представляет собой антитело, содержащее HC и LC SEQ ID NO: 40 и 41 соответственно.

20 Другие типичные виды антител к N3pGlu A β включают, без ограничений, антитела, описанные в патенте США № 8,961,972; патент США № 10,647,759; патент США № 9,944,696; WO 2010/009987A2; WO 2011/151076A2; WO 2012/136552A1, и их эквиваленты, например указанные в статье 35 Свода законов США (35 U.S.C 112(f)).

25 Специалисту в данной области будет понятно, что «антитело к N3pGlu A β » и несколько конкретных антител идентифицированы и описаны (вместе со способами получения и применения таких антител) в патенте США № 8,961,972 (который полностью включен в настоящий документ путем ссылки). патент США № 10,647,759 (который полностью включен в настоящий документ путем
30 ссылки); и патент США № 9,944,696 (который полностью включен в настоящий документ путем ссылки). Любое из антител к N3pGlu A β , описанных в патентах США № 8,961,972; 9,944,696; и 10,647,759, можно использовать в качестве антитела к N3pGlu A β настоящего описания или вместо антител к N3pGlu A β , описанных в различных аспектах настоящего изобретения.

Специалисту в данной области будет понятно, что «антитело к N3pGlu A β » и несколько конкретных антител, включая «Антитело VI», «Антитело VII», «Антитело VIII» и «Антитело IX», идентифицированы и описаны (вместе со способами получения и применения таких антител) в публикации

5 WO2010/009987A2 (которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки). Каждое из этих четырех антител (например, «Антитело VI», «Антитело VII», «Антитело VIII» и «Антитело IX») можно использовать в качестве антитела к N3pGlu A β настоящего описания или вместо антител к N3pGlu A β , описанных в различных аспектах настоящего изобретения.

10 Специалисту в данной области будет понятно, что «антитело к N3pGlu A β » и несколько конкретных антител, включая «Антитело X» и «Антитело XI», идентифицированы и описаны (вместе со способами получения и применения таких антител) в публикации WO 2011/151076A2 (которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки). Каждое из этих двух антител (например,
15 «Антитело X» и «Антитело XI») можно использовать в качестве антитела к N3pGlu A β настоящего описания или вместо антител к N3pGlu A β , описанных в различных аспектах настоящего изобретения.

Специалисту в данной области будет понятно, что «антитело к N3pGlu A β » и несколько конкретных антител, включая «Антитело XII» и «Антитело
20 XIII», идентифицированы и описаны (вместе со способами получения и применения указанных антител) в публикации WO 2012/136552A1 (которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки). Каждое из этих двух антител (например, «Антитело XII» и «Антитело XIII») могут быть использованы в качестве антитела к N3pGlu A β настоящего описания или
25 вместо антител к N3pGlu A β , описанных в различных аспектах настоящего описания.

В аспектах настоящего описания предложены варианты применения комбинаций антитела настоящего описания, в частности антитела 1 и антител к N3pGlu A β , в частности донанемаба, в способах лечения заболевания,
30 характеризующегося отложением A β у субъектов, причем субъекты выбраны на основе i) их уровня/нагрузки тау-белком во всем головном мозге (глобальный тау), ii) их уровня/нагрузки тау-белком в областях головного мозга (например, в разных долях головного мозга) и/или наличия одного или двух аллелей APOE e4 в геноме субъекта. Заболевания, которые можно лечить или предотвращать с

использованием способов комбинирования, описанных в настоящем документе, включают в себя, например, болезнь Альцгеймера (БА), синдром Дауна и церебральную амилоидную ангиопатию (САА). Настоящее описание также относится к применению комбинаций, предложенных в настоящем документе, для замедления прогрессирования заболевания у субъектов с ранней 5 симптоматической болезнью Альцгеймера (БА) при наличии промежуточной нагрузки тау-белком в головном мозге.

Антитела к N3pGlu A β известны в данной области и описаны в настоящем документе. Например, в патенте США № 8,679,498 (который 10 полностью включен в настоящий документ путем ссылки, включая антитела к N3pGlu A β , описанные в нем) описаны антитела к N3pGlu A β и способы лечения заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, этими антителами. Как было показано, пассивная иммунизация путем длительного введения антител к A β , включая N3pGlu A β , обнаруживаемый в отложениях, разрушает агрегаты A β 15 и способствует клиренсу бляшек в головном мозге на различных животных моделях. Донанемаб (описан в патенте США № 8,679,498, см. также номер CAS 1931944-80-7) представляет собой антитело, направленное на пироглутаматную модификацию третьей аминокислоты эпитопа бета-амилоида (N3pGlu A β), который присутствует только в амилоидных бляшках головного мозга.

20 Механизм действия донанемаба представляет собой нацеливание на существующую амилоидную бляшку, которая является ключевым патологическим отличительным признаком БА, и ее удаление. Вторым нейрпатологическим отличительным признаком БА является присутствие внутриклеточных сплетений нейрофибрилл, содержащих 25 гиперфосфорилированный тау-белок. Возможно, что A β запускает патологию тау-белка, при которой на более поздних стадиях проявляется более сложное и синергичное взаимодействие между A β и тау-белком, приводящее к прогрессированию заболевания (Busche et al., "Synergy Between Amyloid- β and Tau in Alzheimer's disease," *Nature Neuroscience* 23:1183-93 (2020)).

30 Введение антител к A β привело к нежелательным явлениям у людей, таким как связанные с амилоидом аномалии на визуализации (ARIA), указывающие на вазогенный отек и сулькулярные эффузии (ARIA-E), микрокровоизлияния и отложения гемосидерина (ARIA-H), реакции в месте инфузии и риск иммуногенности. См., например, Piazza and Winblad, "Amyloid-

Related Imaging Abnormalities (ARIA) in Immunotherapy Trials for Alzheimer's Disease: Need for Prognostic Biomarkers?" *Journal of Alzheimer's Disease*, 52:417-420 (2016); Sperling, et al., "Amyloid-related Imaging Abnormalities in Patients with Alzheimer's Disease Treated with Bapineuzumab: A Retrospective Analysis," *The Lancet Neurology* 11.3: 241-249 (2012); Brashear et al., "Clinical Evaluation of Amyloid-related Imaging Abnormalities in Bapineuzumab Phase III Studies," *J. of Alzheimer's Disease* 66.4:1409-1424 (2018); Budd et al., "Clinical Development of Aducanumab, an Anti-A β Human Monoclonal Antibody Being Investigated for the Treatment of Early Alzheimer's Disease," *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease* 4.4: 255 (2017).

Стратегия комбинированного лечения настоящего описания для донанемаба и антитела 1 включает нацеливание на N3pGlu A β , специфичную для амилоидной бляшки, в популяции пациентов с БА на стадии проявления ранних симптомов с присутствующей нагрузкой амилоидом в головном мозге и нацеливание на нейровоспаление у этих же пациентов. Такое объяснение основано на амилоидной гипотезе БА, гласящей, что продукция и отложение A β является ранним и необходимым событием в патогенезе БА. См., например, Selkoe, "The Origins of Alzheimer Disease: A is for Amyloid," *JAMA* 283:1615-1617 (2000). Клиническим подтверждением этой гипотезы служит демонстрация того, что уровни паренхимального A β повышаются до появления симптомов БА, и это подтверждается генетическими вариантами БА, которые дают сверхпродукцию A β в головном мозге, и генетическими вариантами, которые защищают от продукции A β . См., например, Jonsson et al., "A Mutation in APP Protects Against Alzheimer's Disease and Age-related Cognitive Decline," *Nature* 488 (7409):96-99 (2012) и Fleisher et al., "Associations Between Biomarkers and Age in the Presenilin 1 E280A Autosomal Dominant Alzheimer Disease Kindred: A Cross-sectional Study," *JAMA Neurol.* 72:316-24 (2015). Таким образом, существует потребность в улучшенных комбинациях средств для лечения субъектов, не вызывающих или не усиливающих проблематические нежелательные явления. Нейровоспаление является важным компонентом нейродегенеративных заболеваний и характеризуется повышенной продукцией провоспалительных цитокинов клетками ЦНС. Считается, что нейровоспаление и микроглиоз являются механизмами, лежащими в основе болезни Альцгеймера и/или гибели и дисфункции нейрональных клеток. Микроглиоз включает

аномальную пролиферацию и/или гипертрофию микроглии в ответ на воспалительные сигналы. IL-34 действует как эффективный и плеiotропный цитокин в регуляции воспалительных и иммунных процессов и экспрессируется нейронами в коре, переднем обонятельном ядре и гиппокампе. Предполагается, что лечение антителом 1 одновременно, отдельно или предпочтительно последовательно после лечения антителами к N3pGlu A β , в частности донанемабом, уменьшит вклад нейровоспаления и/или микроглиоза в патогенез БА и замедлит или предотвратит прогрессирование нейродегенеративных процессов у этих пациентов.

10 Один аспект настоящего описания основан на представлении о том, что пациенты с болезнью Альцгеймера с низким или умеренным уровнем тау-белка, с очень низким или умеренным уровнем тау-белка или не имеющие высокого уровня тау-белка, реагируют на комбинированное лечение антителами к N3pGlu A β , такими как донанемаб, и антителами настоящего описания, такими как

15 антитело 1. Другой аспект настоящего описания основан на представлении о том, что пациенты с болезнью Альцгеймера, имеющие один или два аллеля APOE ϵ 4, реагируют на лечение антителами к N3pGlu A β . Еще один аспект настоящего описания основан на представлении о том, что пациенты с болезнью Альцгеймера, имеющие один или два аллеля APOE ϵ 4, с низким или умеренным

20 уровнем тау-белка, с очень низким или умеренным уровнем тау-белка или не имеющие высокого уровня тау-белка, реагируют на комбинированное лечение антителами к N3pGlu A β , такими как донанемаб, и антителами настоящего описания, такими как антитело 1. Некоторые аспекты настоящего описания относятся к диагностике и лечению пациентов на основании имеющейся у них

25 патологии головного мозга. Выбор пациентов на основании имеющейся у них патологии головного мозга не только обеспечивает более однородную популяцию в клинических исследованиях, но также обеспечивает надлежащую идентификацию стадии БА и ее прогрессирования. Надлежащая идентификация стадии БА также позволяет, например, своевременно направить пациента в

30 клинику лечения памяти, осуществить правильную и раннюю диагностику БА, начать симптоматическое лечение, планирование на будущее, а также начать меняющееся заболевание лечение способами комбинированной терапии антителами к N3pGlu A β , такими как донанемаб, и антителами настоящего описания, такими как антитело 1.

Некоторые аспекты настоящего описания предусматривают комбинированные варианты осуществления для лечения человеческого индивида, страдающего от заболевания, характеризующегося отложениями Аβ в головном мозге, причем субъекту сначала вводят антитело к N3pGlu Аβ, такое как донанемаб, в два этапа в комбинации с одновременным, отдельным или последовательным лечением антителом настоящего описания, таким как антитело 1. На первом этапе человеческому индивиду вводят одну или более первых доз от примерно 100 мг до примерно 700 мг антитела к N3pGlu Аβ, причем каждую из первых доз вводят примерно один раз в 4 недели.

10 Приблизительно через четыре недели после введения одной или более первых доз человеческому индивиду на втором этапе вводят одну или более вторых доз от более 700 мг до примерно 1400 мг антитела, причем каждую из вторых доз вводят один раз примерно каждые четыре недели. Предпочтительно антитело к N3pGlu Аβ представляет собой донанемаб. Антитело 1 вводят одновременно, 15 отдельно или последовательно после курса лечения донанемабом. Предпочтительно антитело 1 вводят последовательно после курса лечения донанемабом.

Некоторые аспекты комбинированных способов лечения связаны с идентификацией стадии/прогрессирования БА у пациента на основании i) 20 полной или общей нагрузки тау-белком в головном мозге человеческого индивида или ii) распространенности тау-белка в головном мозге субъекта или его областях или частях.

В некоторых вариантах осуществления пациенты могут быть стратифицированы/идентифицированы/выбраны/пролечены на основании 25 количества тау-белка, присутствующего в головном мозге субъекта (например, во всем головном мозге или частях головного мозга). В некоторых вариантах осуществления пациенты могут быть стратифицированы/идентифицированы/выбраны/пролечены на основании количества тау-белка, присутствующего в головном мозге субъекта (например, 30 во всем головном мозге или частях головного мозга), и наличия одного или двух аллелей APOE ε4.

В других вариантах осуществления пациентов стратифицируют/идентифицируют/выбирают/лечат на основании стадий прогрессирования БА (например, на основании распространенности тау-белка в

головном мозге). Например, на некоторых стадиях нагрузка тау-белком у пациента с БА ограничивается лобной долей или областями височной доли, которые не включают в себя заднелатеральную височную область (PLT). Другой стадией БА является стадия, при которой нагрузка тау-белком у пациента с БА ограничивается заднелатеральными височными (PLT) или затылочными областями. Еще одна стадия БА представляет собой стадию, при которой нагрузка тау-белком у пациента с БА присутствует в теменной области или области предклинья, или в лобной области, в сочетании с нагрузкой тау-белком в PLT или затылочных областях. В других вариантах осуществления пациентов можно стратифицировать/идентифицировать/выбирать/лечить на основании стадий прогрессирования БА (например, на основании распространенности тау-белка в головном мозге) и/или наличия одного или двух аллелей APOE ϵ 4.

Стратификацию пациентов на основании количества тау-белка в головном мозге, прогрессирования БА в частях головного мозга и/или наличия одного или двух аллелей APOE ϵ 4 можно использовать для определения, например, того, будет ли пациент отвечать на комбинированное лечение антителами к N3pGlu A β , такими как донанемаб, и антителами настоящего описания, такими как антитело 1. В дополнение к лечению для решения проблем, связанных с гетерогенностью пациентов и воспроизводимостью, возникающих во время разработки и проведения клинических исследований, также полезны стратификация/выбор популяции пациентов на основании количества тау-белка в головном мозге или прогрессирования БА в частях головного мозга и/или наличия одного или двух аллелей APOE ϵ 4.

Другие аспекты настоящего описания относятся к человеческим индивидам, которые восприимчивы к комбинированному лечению или профилактике с помощью антител к N3pGlu A β , таких как донанемаб, и антител настоящего описания, таких как антитело 1, заболевания, характеризующегося отложениями амилоида-бета (A β) в головном мозге человеческого индивида. В некоторых вариантах осуществления данного аспекта настоящего описания восприимчивые человеческие индивиды включают в себя человеческих индивидов, имеющих нагрузку тау-белком от низкой до умеренной или нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной и/или один или два аллеля APOE ϵ 4. В некоторых вариантах осуществления данного аспекта настоящего описания из числа восприимчивых человеческих индивидов исключают человеческих

индивидов с высокой нагрузкой тау-белком. В некоторых вариантах осуществления данного аспекта настоящего описания из числа восприимчивых человеческих индивидов исключают человеческих индивидов с высокой нагрузкой тау-белком и/или с одним или двумя аллелями APOE $\epsilon 4$. В некоторых вариантах осуществления комбинации антител к N3pGlu A β , таких как донанемаб, и антител настоящего описания, таких как антитело 1, вводят восприимчивым человеческим индивидам для лечения или предотвращения заболевания, характеризующегося отложениями бета-амилоида (A β) в головном мозге человеческого индивида.

10 В одном аспекте настоящее описание относится к одновременному, отдельному или последовательному комбинированному лечению или профилактике с использованием антител к N3pGlu A β , в частности донанемаба, и антител настоящего описания, в частности антитела 1, заболевания, характеризующегося отложениями A β в головном мозге человеческого индивида, включающим: i) введение человеческому индивиду одной или более первых доз от примерно 100 мг до примерно 700 мг антитела к N3pGlu A β , причем каждую из первых доз вводят примерно один раз в 4 недели, и ii) примерно через четыре недели после введения одной или более первых доз введение субъекту-человеку одной или более вторых доз от более 700 мг до примерно 1400 мг антитела к N3pGlu A β , при этом каждую из вторых доз вводят примерно один раз в 4 недели, причем антитело к N3pGlu A β содержит донанемаб, и введение человеческому индивиду антитела настоящего описания, в частности антитела 1. Предпочтительно антитело 1 вводят последовательно после курса лечения донанемабом.

25 На сегодняшний день клинический подход лечения донанемабом ориентирован на пациентов с ранними симптомами БА и существующей амилоидной нагрузкой в головном мозге. Однако вторым нейрпатологическим признаком БА является наличие внутриклеточных нейрофибриллярных клубков, содержащих гиперфосфорилированный тау-белок. Современные модели заболевания позволяют предположить, что A β запускает патологию тау-белка, при которой на более поздних стадиях проявляется более сложное и синергичное взаимодействие между A β и тау-белком, приводящее к прогрессированию заболевания (Busche et al., "Synergy Between Amyloid- β and Tau in Alzheimer's disease," *Nature Neuroscience* 23:1183-93 (2020)).

В настоящее время не существует болезнь-модифицирующего способа лечения БА. Таким образом, существует потребность в более продвинутых способах лечения заболеваний, включая БА, характеризующихся отложением Аβ у человеческого индивида. Такие способы должны включать варианты идентификации пациентов, которые от такого лечения, скорее всего, получают терапевтическую пользу. Такие методы лечения и способы не должны сопровождаться повышенной цитотоксичностью или другими известными нежелательными явлениями. Настоящее описание удовлетворяет одну или более из указанных потребностей.

10 Doody et al., “Phase 3 Trials of Solanezumab for Mild-to-Moderate Alzheimer’s Disease,” *NEJM*, 370; 4, 311–321 (2014): утверждается, что «[н]е наблюдалось явно выраженной разницы между результатами лечения носителей аллеля ε4 гена АРОЕ и людей, которые не являются носителями».

Предполагается, что введение антитела к N3pGlu Аβ в комбинации с антителом настоящего описания человеческому индивиду, который имеет один или два аллеля АРОЕ ε4 (например, носителю АРОЕ ε4), обеспечивает неожиданную эффективность по сравнению с пациентами, не несущими один или более этих аллелей. Таким образом, настоящие варианты осуществления включают введение одновременных, отдельных или последовательных доз антител к N3pGlu Аβ, в частности донанемаба, в комбинации с антителами настоящего описания, в частности антителом 1, пациентам, которые имеют один или два аллеля АРОЕ ε4, в качестве средства замедления снижения когнитивных функций у этих пациентов.

25 В соответствии с конкретными вариантами осуществления в настоящем описании предложены способы лечения или профилактики заболевания, характеризующегося отложением амилоида-бета (Аβ) в головном мозге человеческого индивида, для которого было определено наличие высокой неврологической нагрузки тау-белком, включающие введение одновременных, отдельных или последовательных доз терапевтически эффективного количества антитела к Аβ, в частности донанемаба, и терапевтически эффективного количества антитела настоящего описания, в частности антитела 1. Кроме того, в соответствии с конкретными вариантами осуществления в настоящем описании предложены комбинированные способы лечения или профилактики заболевания, характеризующегося отложением Аβ в головном

мозге человеческого индивида, для которого было определено наличие нагрузки тау-белком в заднелатеральной височной доле, включающие введение одновременных, отдельных или последовательных доз терапевтически эффективного количества антитела к А β , в частности донанемаба, и

5 терапевтически эффективного количества антитела настоящего описания, в частности антитела 1.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления в настоящем описании предложены комбинированные способы лечения или профилактики заболевания, характеризующегося отложениями бета-амилоида (А β) в головном

10 мозге у человеческого индивида, для которого было определено наличие высокой неврологической нагрузки тау-белком и который имеет один или два аллеля эпсилон-4 гена, кодирующего аполипопротеин Е (называемый в настоящем документе АРОЕ ϵ 4 или АРОЕ4), включающие введение одновременных, отдельных или последовательных доз терапевтически

15 эффективного количества антитела к А β , в частности донанемаба, и терапевтически эффективного количества антитела настоящего описания, в частности антитела 1. Кроме того, в соответствии с конкретными вариантами осуществления в настоящем описании предложены способы лечения или профилактики заболевания, характеризующегося отложениями А β в головном

20 мозге человеческого индивида, для которого было определено наличие нагрузки тау-белком в заднелатеральной височной доле, включающие введение одновременных, отдельных или последовательных доз терапевтически эффективного количества антитела к А β , в частности донанемаба, и

25 терапевтически эффективного количества антитела настоящего описания, в частности антитела 1.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления в настоящем описании предложено антитело к А β , в частности донанемаб, для одновременного, отдельного или последовательного применения с антителом настоящего описания, в частности антителом 1, для лечения или профилактики

30 заболевания, характеризующегося отложениями А β в головном мозге человеческого индивида, для которого было определено наличие высокой неврологической нагрузки тау-белком, включая введение одновременных, отдельных или последовательных доз терапевтически эффективного количества антитела к А β , в частности донанемаба, и терапевтически

эффективного количества антитела настоящего описания, в частности антитела 1. В некоторых вариантах осуществления человеческий индивид определяется как имеющий высокую нейрональную нагрузку тау-белком, а также один или два аллеля APOE ϵ 4.

5 В некоторых вариантах осуществления настоящее описание относится к антителу к A β , в частности донанемабу, для одновременного, отдельного или последовательного применения с антителом настоящего изобретения, в частности антителом 1, для лечения или профилактики заболевания, характеризующегося отложениями A β в головном мозге человеческого
10 индивида, для которого было определено наличие нагрузки тау-белком в заднелатеральной височной доле. В некоторых вариантах осуществления человеческий индивид определяется как имеющий нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле, а также один или два аллеля APOE ϵ 4.

Кроме того, в некоторых вариантах осуществления в настоящем
15 описании предложено антитело к A β , в частности донанемаб, для одновременного, отдельного или последовательного применения с антителом настоящего описания, в частности антителом 1, для лечения, профилактики или замедления прогрессирования болезни Альцгеймера (БА). Кроме того, в некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предложено
20 антитело к A β , в частности донанемаб, для одновременного, отдельного или последовательного применения с антителом настоящего описания, в частности антителом 1, для лечения, профилактики или замедления прогрессирования болезни Альцгеймера (БА) у человеческого индивида, у которого было определено наличие вызванного БА медленно прогрессирующего снижения
25 когнитивных функций. В некоторых вариантах осуществления настоящего описания предложено антитело к A β , в частности донанемаб, для одновременного, отдельного или последовательного применения с антителом настоящего описания, в частности антителом 1, для лечения, профилактики или замедления прогрессирования болезни Альцгеймера (БА) у человеческого
30 индивида, у которого было определено наличие вызванного БА медленно прогрессирующего снижения когнитивных функций и одного или двух аллелей APOE ϵ 4.

Кроме того, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления в настоящем описании предложено применение антитела к A β , в частности

донанемаба, в одновременной, раздельной или последовательной комбинации с антителом настоящего описания, в частности антителом 1, в производстве лекарственного средства для лечения или профилактики болезни Альцгеймера.

5 Кроме того, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления в настоящем описании предложено применение антитела к А β , в частности донанемаба, в одновременной, раздельной или последовательной комбинации с антителом настоящего описания, в частности антителом 1, в производстве лекарственного средства для лечения или профилактики заболевания, характеризующегося отложениями А β в головном мозге человеческого
10 индивида, у которого было определено наличие i) высокой нейрональной нагрузки тау-белком или ii) высокой нейрональной нагрузки тау-белком и одного или двух аллелей АРОЕ ϵ 4.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предложено применение антитела к А β , в частности донанемаба, в
15 одновременной, раздельной или последовательной комбинации с антителом настоящего описания, в частности, антителом 1, в производстве лекарственного средства для лечения или профилактики заболевания, характеризующегося отложениями А β в головном мозге человеческого индивида, у которого было определено наличие i) высокой нейрональной нагрузки тау-белком или ii)
20 высокой нейрональной нагрузки тау-белком и одного или двух аллелей АРОЕ ϵ 4. И в дополнительных вариантах осуществления в настоящем описании предложено применение антитела к А β , в частности донанемаба, в одновременной, раздельной или последовательной комбинации с антителом настоящего описания, в частности антителом 1, в производстве лекарственного
25 средства для лечения, профилактики или замедления прогрессирования болезни Альцгеймера (БА) у человеческого индивида, у которого определено наличие i) вызванного БА медленного прогрессирующего снижения когнитивных функций или ii) одного или двух аллелей АРОЕ ϵ 4 и вызванного БА медленно прогрессирующего снижения когнитивных функций.

30 В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, представленными в настоящем документе, человеческий индивид определяется как имеющий нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доли и в затылочной доле. В некоторых вариантах осуществления человеческий индивид определяется как имеющий нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной

доле, затылочной доле и теменной доле. В некоторых вариантах осуществления человеческого индивид определяется как имеющий нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле, затылочной доле, теменной доле и лобной доле. В некоторых вариантах осуществления человеческого индивид

5 посредством ПЭТ-нейровизуализации определяется как имеющий нагрузку тау-белком в одной или более из заднелатеральной височной доли, затылочной доли, теменной доли и/или лобной доли. В некоторых вариантах осуществления нагрузка тау-белком в одной или более из заднелатеральной височной доли, затылочной доли, теменной доли и/или лобной доли соответствует

10 нейрональной нагрузке тау-белком более 1,46 SUVr (стандартизованный коэффициент поглощения).

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, представленными в настоящем документе, человеческий индивид определяется как имеющий один или два аллеля APOE e4 и нагрузку тау-белком в

15 заднелатеральной височной доле и затылочной доле. В некоторых вариантах осуществления человеческого индивид определяется как имеющий один или два аллеля APOE e4 и нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле, затылочной доле и теменной доле. В некоторых вариантах осуществления человеческого индивид определяется как имеющий один или два аллеля APOE

20 e4 и нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле, затылочной доле, теменной доле и лобной доле. В некоторых вариантах осуществления человеческого индивид посредством ПЭТ-нейровизуализации определяется как имеющий нагрузку тау-белком в одной или более из заднелатеральной височной доли, затылочной доли, теменной доли и/или лобной доли, а также один или два

25 аллеля APOE e4. В некоторых вариантах осуществления нагрузка тау-белком в одной или более из заднелатеральной височной доли, затылочной доли, теменной доли и/или лобной доли соответствует нейрональной нагрузке тау-белком более 1,46 SUVr (стандартизованный коэффициент поглощения).

В соответствии с дополнительными вариантами осуществления в

30 настоящем описании предложены способы лечения, профилактики или замедления прогрессирования болезни Альцгеймера (БА) у человеческого индивида, у которого определено наличие вызванного БА медленно прогрессирующего снижения когнитивных функций, включающие введение одновременных, отдельных или последовательных доз терапевтически

эффективного количества антитела к Аβ, в частности донанемаба, и терапевтически эффективного количества антитела настоящего описания, в частности антитела 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления человеческий индивид определяется как имеющий высокую нейрональную

5 нагрузку тау-белком. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления человеческий индивид определяется как имеющий один или два аллеля АРОЕ е4. В некоторых вариантах осуществления человеческий индивид определяется как имеющий нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле. В некоторых вариантах осуществления человеческий индивид определяется как

10 имеющий нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле и в затылочной доле. В некоторых вариантах осуществления человеческий индивид определяется как имеющий нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле, затылочной доле и теменной доле. В некоторых вариантах осуществления человеческий индивид определяется как имеющий нагрузку тау-белком в

15 заднелатеральной височной доле, затылочной доле, теменной доле и лобной доле. В некоторых вариантах осуществления человеческий индивид определяется как имеющий нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле и один или два аллеля АРОЕ е4. В некоторых вариантах осуществления человеческий индивид определяется как имеющий один или два аллеля АРОЕ

20 е4 и нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле и в затылочной доле. В некоторых вариантах осуществления человеческий индивид определяется как имеющий один или два аллеля АРОЕ е4 и нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле, затылочной доле и теменной доле. В некоторых вариантах осуществления человеческий индивид определяется как

25 имеющий один или два аллеля АРОЕ е4 и нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле, затылочной доле, теменной доле и лобной доле.

В соответствии с вариантами осуществления настоящего описания, предложенными в настоящем документе, человеческий индивид определяется

30 как имеющий вызванное БА медленно прогрессирующее снижение когнитивных функций посредством одного или более из следующих: ADAS-Cog, шкала оценки инструментальной повседневной активности (iADL), CDR-SB, MMSE, генотипирование АРОЕ-4 и/или интегрированная рейтинговая шкала оценки болезни Альцгеймера (iADRS). В некоторых вариантах

5 осуществления посредством человеческого индивид определяется посредством iADRS как имеющий вызванное БА медленное снижение когнитивных функций. В некоторых вариантах осуществления iADRS снижается менее чем на 20. В некоторых вариантах осуществления iADRS снижается менее чем на 20 в течение 6-месячного периода. В некоторых вариантах осуществления iADRS снижается менее чем на 20 в течение 12-месячного периода. В некоторых вариантах осуществления iADRS снижается менее чем на 20 в течение 18-месячного периода. В некоторых вариантах осуществления iADRS снижается менее чем на 20 в течение 24-месячного периода.

10 осуществления посредством генотипирования по APOE-4 человеческий индивид определяется как имеющий вызванное БА медленное прогрессирование снижения когнитивных функций. В некоторых вариантах осуществления человеческого индивид определяется как гетерозиготный по APOE-4. В некоторых вариантах осуществления человеческого индивид

15 определяется как гомозиготно-негативный по APOE-4. В некоторых вариантах осуществления посредством MMSE человеческого индивид определяется как имеющий вызванное БА медленное прогрессирование снижения когнитивных функций. В некоторых вариантах осуществления человеческого индивид определяется как имеющий MMSE выше 27. В некоторых вариантах

20 осуществления MMSE снижается менее чем на 3. В некоторых вариантах осуществления MMSE снижается менее чем на 3 в течение 6-месячного периода. В некоторых вариантах осуществления MMSE снижается менее чем на 3 в течение 12-месячного периода. В некоторых вариантах осуществления MMSE снижается менее чем на 3 в течение 18-месячного периода. В некоторых

25 вариантах осуществления MMSE снижается менее чем на 3 в течение 24-месячного периода.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего описания, представленного в настоящем документе, человеческий индивид определяется посредством ПЭТ-нейровизуализации как имеющий высокую

30 нейрональную нагрузку тау-белком. В некоторых вариантах осуществления человеческого индивид определяется как имеющий высокую нейрональную нагрузку тау-белком посредством ПЭТ-нейровизуализации при значении SUVr выше 1,46. В некоторых вариантах осуществления посредством количественного определения человеческого тау, фосфорилированного по

треонину в положении 217 (hTau-pT217), человеческий индивид определяется как имеющий высокую нейрональную нагрузку тау-белком. В некоторых вариантах осуществления количество hTau-pT217 определяют в биологическом образце человеческого индивида. В некоторых вариантах осуществления биологическая проба представляет собой спинномозговую жидкость. В некоторых вариантах осуществления биологическая проба представляет собой образец крови, плазмы или сыворотки.

Для целей настоящего изобретения уровень тау-белка или нагрузка тау-белком (эти понятия используют в настоящем документе взаимозаменяемо) у человеческого индивида могут быть определены с использованием методик или способов, которые, например, позволяют обнаруживать или количественно определять i) мозговое или нейрональное отложение тау-белка, ii) тау-белок в крови, сыворотке и/или плазме крови или iii) тау-белок в спинномозговой жидкости. В некоторых вариантах осуществления нейрональную нагрузку тау-белком (определяемую с помощью ПЭТ или с помощью анализа крови, сыворотки, плазмы или спинномозговой жидкости) можно использовать для стратификации субъектов на основании нейрональной нагрузки тау-белком (например, низкая, умеренная или высокая нейрональная нагрузка тау-белком).

Нейрональную нагрузку тау-белком можно определять с использованием таких способов, как тау-визуализация с помощью ПЭТ-радиоактивно меченных соединений (см. Leuzy et al., "Diagnostic Performance of RO948 F18 Tau Positron Emission Tomography in the Differentiation of Alzheimer Disease from Other Neurodegenerative Disorders," *JAMA Neurology* 77.8:955-965 (2020); Ossenkoppele et al., "Discriminative Accuracy of [¹⁸F]-flortaucipir Positron Emission Tomography for Alzheimer Disease vs Other Neurodegenerative Disorders," *JAMA* 320, 1151-1162, doi:10.1001/jama.2018.12917 (2018), которые полностью включены в настоящий документ путем ссылки), включая использование [¹⁸F]-флортауципира, который является лигандом для ПЭТ. ПЭТ-изображения тау-белка можно, например, количественно оценивать для определения SUVr (соотношения стандартизованных значений накопления) с помощью опубликованных способов (Pontecorvo et al., "A Multicentre Longitudinal Study of Flortaucipir (18F) in Normal Ageing, Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease Dementia," *Brain* 142:1723-35 (2019); Devous et al., "Test-Retest Reproducibility for the Tau PET Imaging Agent Flortaucipir F18," *Journal of Nuclear*

Medicine 59:937-43 (2018); Southekal et al., “Flortaucipir F18 Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity,” *J. Nucl. Med.* 59:944-51 (2018), которые полностью включены в настоящий документ путем ссылки) и/или для визуальной оценки пациентов, например, в целях определения того, имеет ли

5 пациент характерные для БА особенности (публикация Fleisher et al., “Positron Emission Tomography Imaging With [¹⁸F]-flortaucipir and Postmortem Assessment of Alzheimer Disease Neuropathologic Changes,” *JAMA Neurology* 77:829-39 (2020), которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки). Более низкие значения SUVr указывают на меньшую нагрузку тау-белком, тогда как

10 более высокие значения SUVr указывают на более высокую нагрузку тау-белком. В одном варианте осуществления количественная оценка при сканировании с флортауципиром осуществляется с помощью автоматизированного конвейера обработки изображений, как описано в публикации Southekal et al., “Flortaucipir F18 Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity,” *J. Nucl.*

15 *Med.* 59:944–951 (2018), которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки. В некоторых вариантах осуществления подсчет в пределах конкретной представляющей интерес области головного мозга (например, мультиблочный барицентрический дискриминантный анализ или MUBADA, см. публикацию Devous et al., “Test-Retest Reproducibility for the Tau PET Imaging

20 Agent Flortaucipir F18,” *J. Nucl. Med.* 59:937–943 (2018), которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки) сравнивают с референсной областью, причем референсная область представляет собой, например, весь мозжечок (wholeCere), серое вещество мозжечка (cereCrus), белое вещество на основе атласа (atlasWM), специфичное для субъекта белое вещество (ssWM,

25 например, с использованием параметрической оценки интенсивности референсного сигнала (PERSI), см. публикацию Southekal et al., “Flortaucipir F18 Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity,” *J. Nucl. Med.* 59:944-951 (2018), которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки). Пример способа определения нагрузки тау-белком представляет

30 собой количественный анализ, описанный как соотношение стандартизованных значений накопления (SUVr), что отображает количественные значения в пределах конкретной представляющей интерес области в головном мозге (например, с использованием способа MUBADA) по сравнению с референсной областью (например, с использованием способа PERSI).

В некоторых вариантах осуществления фосфорилированный тау-белок (P-тау; фосфорилированный либо по треонину 181 или 217, либо по их комбинации), можно использовать для измерения нагрузки тау-белком / содержания тау-белка для целей настоящего описания (Barthelemy et al.,

5 “Cerebrospinal Fluid Phospho-tau T217 Outperforms T181 as a Biomarker for the Differential Diagnosis of Alzheimer's Disease and PET Amyloid-positive Patient Identification,” *Alzheimer's Res. Ther.* 12, 26, doi:10.1186/s13195-020-00596-4 (2020); Mattsson et al., “A β Deposition is Associated with Increases in Soluble and Phosphorylated Tau that Precede a Positive Tau PET in Alzheimer's Disease,” *Science*

10 *Advances* 6, eaaz2387 (2020), которые включены в настоящий документ путем ссылки в полном объеме). В определенном варианте осуществления антитела, направленные против тау-белка человека, фосфорилированного по треонину в положении 217, можно использовать для измерения нагрузки тау-белком / содержания тау-белка у субъекта (см. International Patent Application Publication

15 No. WO 2020/242963, которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки). Настоящее изобретение включает в некоторых вариантах осуществления применение антител к тау-белку, описанных в WO 2020/242963, для измерения нагрузки тау-белком / содержания тау-белка у субъекта. Антитела к тау-белку, описанные в WO 2020/242963, направлены против изоформ тау-

20 белка человека, экспрессируемых в ЦНС (например, распознают изоформы, экспрессируемые в ЦНС, и не распознают изоформы тау-белка человека, экспрессируемые исключительно вне ЦНС).

Субъект является позитивным в отношении амилоидных отложений, когда амилоид обнаруживается в головном мозге способами, такими как

25 визуализация амилоида с использованием радиоактивно меченных соединений для ПЭТ, или с использованием диагностического средства для обнаружения A β или биомаркера A β . Пример способа определения амилоидной нагрузки в головном мозге, включают, например, использование флорбетапира (публикация Carpenter, et al., “The Use of the Exploratory IND in the Evaluation and Development of ¹⁸F-PET Radiopharmaceuticals for Amyloid Imaging in the Brain: A Review of One

30 Company's Experience,” *The Quarterly Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 53.4:387 (2009), которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки); флорбетабен (публикация Syed et al., “[¹⁸F]Florbetaben: A Review in β -Amyloid PET Imaging in Cognitive Impairment,” *CNS Drugs* 29, 605–613

(2015), которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки); и флуметамол (публикация Heurling et al., “Imaging β -amyloid Using [^{18}F] Flutemetamol Positron Emission Tomography: From Dosimetry to Clinical Diagnosis,” *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 43.2: 362-373 (2016), которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки). [^{18}F]-флорбетапир может обеспечивать качественное и количественное измерение нагрузки бляшками в головном мозге у пациентов, включая пациентов с продромальной стадией БА или легкой БА-деменцией, а также может использоваться для оценки уменьшения количества амилоидных бляшек в головном мозге.

Дополнительно для измерения амилоидной нагрузки можно использовать анализ спинномозговой жидкости или плазмы крови на β -амилоид. Например, A β 42 можно использовать для измерения амилоида головного мозга (публикация Palmqvist, S. et al., “Accuracy of Brain Amyloid Detection in Clinical Practice Using Cerebrospinal Fluid Beta-amyloid 42: a Cross-validation Study Against Amyloid Positron Emission Tomography. *JAMA Neurol* 71, 1282-1289 (2014), которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки). В некоторых вариантах осуществления в качестве биомаркера бета-амилоида можно использовать соотношение A β 42/A β 40 или A β 42/A β 38 (публикация Janelidze et al., “CSF Abeta42/Abeta40 and Abeta42/Abeta38 Ratios: Better Diagnostic Markers of Alzheimer Disease,” *Ann Clin Transl Neurol* 3, 154-165 (2016), которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки). В некоторых вариантах осуществления отложения амилоидных бляшек в головном мозге или A β в спинномозговой жидкости или плазме крови можно использовать для разделения субъектов на группы на основании амилоидной нагрузки.

Применение антитела 1 для лечения или профилактики ARIA

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предложено применение антитела 1 для лечения или профилактики ARIA. Несколько терапевтических нацеленных на амилоид антител продемонстрировали дозозависимые улучшения ответа при ARIA-E. См., например, Brashear et al., “Clinical Evaluation of Amyloid-related Imaging Abnormalities in Bapineuzumab Phase III Studies,” *J. of Alzheimer’s Disease*

66.4:1409-1424 (2018); Budd et al., “Clinical Development of Aducanumab, an Anti-A β Human Monoclonal Antibody Being Investigated for the Treatment of Early Alzheimer's Disease,” *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease* 4.4: 255 (2017). ARIA-E и ARIA-H ассоциировались с терапией по удалению амилоидных бляшек (публикации Sperling et al., “Amyloid-related imaging abnormalities in amyloid-modifying therapeutic trials: Recommendations from the Alzheimer’s Association Research Roundtable Workgroup,” *Alzheimer's & Dementia* 7:367-85 (2011); Sevigny et al., “The Antibody Aducanumab Reduces A β Plaques in Alzheimer’s Disease,” *Nature* 537:50-6 (2016); Ostrowitzki et al., “Mechanism of Amyloid Removal in Patients With Alzheimer Disease Treated With Gantenerumab,” *Archives of Neurology* 69:198-207 (2012); Salloway et al., “Two Phase 3 Trials of Bapineuzumab in Mild-to-Moderate Alzheimer's Disease,” *New England Journal of Medicine* 370:322-33 (2014); Salloway et al., “A Phase 2 Multiple Ascending Dose Trial of Bapineuzumab in Mild to Moderate Alzheimer Disease,” *Neurology* 73:2061-70 (2009); и Sperling et al., “Amyloid-related Imaging Abnormalities in Patients with Alzheimer's Disease Treated with Bapineuzumab: A Retrospective Analysis,” *Lancet Neurol.* 11:241-9 (2012), которые полностью включены в настоящий документ путем ссылки).

Используемые в настоящем документе термины «связанные с амилоидом аномалии на визуализации» и «ARIA-E» являются взаимозаменяемыми, включают в себя вазогенный отек и сулькулярные эффузии (ARIA-e), микрокровоизлияния и отложения гемосидерина (ARIA-H) и представляют собой основные патологические состояния, распознаваемые специалистом в данной области (см., например, Amyloid-Related Imaging Abnormalities and β -Amyloid-Targeting Antibodies, A Systematic Review, Massimo Filippi, MD; et al., *JAMA Neurol.* 2022;79(3):291-304., и Amyloid-Related Imaging Abnormalities with Emerging Alzheimer Disease Therapeutics: Detection and Reporting Recommendations for Clinical Practice, P.M. Cogswell, et al., *Am J Neuroradiol* 43:E19-E35 Sep 2022). ARIA могут быть оценены по шкале от 0 до 5. Несмотря на то что точная причина таких нежелательных явлений неизвестна, по существу считается, что лечение антиамилоидным антителом нарушает гематоэнцефалический барьер посредством взаимодействия с амилоидом сосудов в мозжечке, и это нарушение приводит к проницаемости барьера и проявлению отека у пациентов. Постулируется несколько возможных

механизмов действия, например, что удаление амилоида со стенки сосуда дестабилизирует нейрососудистую ячейку, локализует воспаление/инфильтрат в нейрососудистой ячейке, повышает уровни амилоида в сосудах мозжечка из-за более высоких уровней интерстициального растворимого Аβ в ответ на паренхимальный клиренс бляшек или изменяет локализацию AQP-4 на отростках астроцитарных синаптических нервных окончаний в нейрососудистой ячейке.

Отложение амилоида на стенках сосуда (САА) может приводить к потере целостности сосуда и снижению периваскулярного клиренса и может быть связано со спонтанно возникающими микрокровоизлияниями. При начале терапии антиамилоидным моноклональным антителом опосредованное антителом разрушение амилоидной бляшки и мобилизация паренхимального и сосудистого Аβ повышают нагрузку на периваскулярный дренаж. Перегрузка периваскулярных дренажных путей может временно увеличивать отложение амилоида на артериальной стенке. В то же время в стенке сосуда также происходит опосредованное антителом воспаление и разрушение амилоида. Эти процессы вызывают дополнительную потерю целостности сосуда и нарушение гематоэнцефалического барьера. В результате, белковоподобная жидкость и/или эритроциты попадают в паренхиму и/или лептоменингеальное пространство и приводят к отеку/эффузии (ARIA-E) или микрокровоизлияниям / поверхностному сидерозу (ARIA-H).

Способы идентификации пациента, нуждающегося в лечении или профилактике ARIA, известны специалисту в данной области, например, как описано в публикациях Amyloid-Related Imaging Abnormalities with Emerging Alzheimer Disease Therapeutics: Detection and Reporting Recommendations for Clinical Practice, P.M. Cogswell, et al., Am J Neuroradiol 43:E19-E35 Sep 2022, Detection and Management of Amyloid-Related Imaging Abnormalities in Patients with Alzheimer's Disease Treated with Anti-Amyloid Beta Therapy, J. Barakos et al., J Prev Alz Dis 2022;2(9):211-220 (включенных в настоящий документ путем ссылки), и других вышеупомянутых в настоящем документе источниках.

ARIA-E чаще всего обнаруживают при стандартной заданной протоколами контрольной МРТ у пациентов, у которых клинические симптомы отсутствуют. Если ARIA-E является симптоматическим, симптомы наиболее часто являются нелокализованными, например головная боль или спутанность сознания, но

могут дополнительно включать нарушения зрения, зрительно-пространственные нарушения или нарушения праксиса с учетом относительной предрасположенности к вовлечению задних отделов в ARIA-E. Буква E в ARIA-E означает отек, эффузию и экссудат. Утечка белковоподобной жидкости в паренхиму приводит к отеку с видом визуализации, похожим на вазогенный отек, и лучше визуализирующемуся на последовательности T2-FLAIR. T2-гиперинтенсивный сигнал возникает в белом веществе и/или сером веществе. Возможен эффект локально сосредоточенной массы и набухание извилин. Результаты можно дифференцировать от цитотоксического отека по отсутствию ограничений диффузии; сильное ограничение диффузии, связанное с острым инфарктом, не характерно для ARIA. Когда происходит утечка в лептоменингеальном пространстве, результатом является сулькулярная эффузия или экссудат, оцениваемые только на последовательностях T2-FLAIR из-за укорочения T1, связанного с содержанием белка. ARIA-E может присутствовать либо как паренхимальный отек, либо как сулькулярная эффузия, либо оба явления могут происходить вместе; сулькулярная эффузия является наиболее распространенным проявлением ARIA-E в некоторых анализах исследований антител, по другим анализам — паренхимальный отек. ARIA-E чаще всего затрагивает затылочные доли, за которыми следуют теменные, лобные и височные доли и, с наименьшей частотой, мозжечок. Интенсивность и размер аномалии сигнала носят переменный характер, от исчезающе малых, 1–2 см, зон кортикальной-подкортикальной аномалии до многоочаговых / почти общеполушарных изменений T2-гиперинтенсивного сигнала. Эти области аномалии сигнала по существу имеют слабоопределимые края, хотя редко они могут иметь очерченные краевые зоны и имитировать неопластическое поражение. (См., например, Amyloid-Related Imaging Abnormalities with Emerging Alzheimer Disease Therapeutics: Detection and Reporting Recommendations for Clinical Practice, P.M. Cogswell, et al., Am J Neuroradiol 43:E19-E35 Sep 2022).

ARIA-H, кровоизлияния, включают микрокровоизлияния и поверхностный сидероз. При утечке гем-содержащих продуктов в паренхиму развиваются микрокровоизлияния. Микрокровоизлияния являются точечными, закругленными и заметно гипоинтенсивными очагами в паренхиме головного мозга на T2-последовательностях, имея размер < 10 мм в диаметре. Утечка гем-

содержащих продуктов в лептоменингеальное или субпиальное пространство приводит к поверхностному сидерозу, который проявляется как криволинейная гипоинтенсивность вдоль поверхности головного мозга. Долевое макрокровоизлияние (очаг кровоизлияния, идентифицируемый на T1- или T2-
5 взвешенной визуализации, и обычно диаметром > 10 мм на последовательностях градиент-восстановленного эхо [GRE]) редко возникает при применении антиамилоидных агентов, и если оно происходит, это может быть результатом течения основного заболевания, такого как САА. (См., например, Amyloid-Related Imaging Abnormalities with Emerging Alzheimer
10 Disease Therapeutics: Detection and Reporting Recommendations for Clinical Practice, P.M. Cogswell, et al., Am J Neuroradiol 43:E19-E35 Sep 2022).

В некоторых случаях наблюдается более высокая частота возникновения ARIA-E у пациентов, несущих аллель эпислон-4 аполипопротеина E (называемого в настоящем документе APOE ε4 или APOE4). Субъекты,
15 имеющие одну или более копий APOE4, подвержены более высокому риску и, вероятно, имеют более высокую потребность в профилактике и/или лечении. Мониторинг необходимости профилактики или лечения может включать генотипирование, семейный анамнез, а также МРТ или КТ-визуализацию, как описано выше, и отслеживание известных симптомов, согласующихся с ARIA.
20 Пациенты с амилоидным заболеванием кровеносных сосудов или паренхимы головного мозга могут быть подвержены риску ARIA и являются субъектами, нуждающимися в антителе 1 для профилактики или лечения ARIA.

Таким образом, существует потребность в улучшенных способах лечения или профилактики ARIA у пациентов, таких как пациенты с БА, получающих
25 лечение терапевтическими антителами, нацеленными на амилоид. В частности, существует потребность в одновременных, отдельных или последовательных комбинациях антитела настоящего описания, в частности антитела 1, и одного или более терапевтических антител, нацеленных на амилоид, причем антитело 1 используют для профилактики или лечения ARIA.
30 Некоторые известные антитела к Aβ, при использовании которых нацеленное на амилоид лечение может приводить к ARIA, включают донанемаб, бапинеузумаб, гантенерумаб, адуканумаб, GSK933776, соланезумаб, кренезумаб, понезумаб и леканемаб (BAN2401) или антитело к N3pGlu Aβ.

В настоящем описании дополнительно предложены одновременные, раздельные или последовательные комбинации антитела 1 и одного или более терапевтических антител, нацеленных на амилоид, для профилактики или лечения ARIA. В некоторых вариантах осуществления терапевтические антитела, нацеленные на амилоид, для которых лечение может быть ассоциировано с ARIA, включают донанемаб, бапинеумаб, гантенеумаб, адуканумаб, GSK933776, соланезумаб, кренезумаб, понезумаб и леканемаб (BAN2401) или антитело к N3pGlu A β .

В этих вариантах осуществления термины «антитело к N3pGlu A β », «антитело к N3pG» или «антитело к N3pE» могут использоваться взаимозаменяемо и относятся к антителу, которое предпочтительно связывает N3pGlu A β по сравнению с A β 1-40 или A β 1-42. Специалисту в данной области будет понятно, что «антитело к N3pGlu A β » и несколько конкретных антител, включая «hE8L», «B12L» и «R17L», идентифицированы и описаны (вместе со способами получения и применения таких антител) в патенте США № 8,679,498 B2 (который полностью включен в настоящий документ путем ссылки). См., например, таблицу 1 патента США № 8,679,498 B2. Каждое из антител, описанных в патенте США № 8,679,498 B2, включая антитела «hE8L», «B12L» и «R17L», можно использовать в качестве антитела к N3pGlu A β настоящего описания или вместо антител к N3pGlu A β , описанных в различных аспектах настоящего изобретения. Антитело к N3pGlu A β по настоящим способам комбинирования представляет собой антитело, содержащее HC и LC SEQ ID NO: 40 и 41 соответственно. Другие типичные виды антител к N3pGlu A β включают, без ограничений, антитела, описанные в патенте США № 8,961,972; патент США № 10,647,759; патент США № 9,944,696; WO 2010/009987A2; WO 2011/151076A2; WO 2012/136552A1, и их эквиваленты, например указанные в статье 35 Свода законов США (35 U.S.C 112(f)). В одном аспекте настоящего описания предложено применение антитела 1 для профилактики или лечения ARIA, наблюдаемых у пациентов, получающих антитело к N3pGlu A β .

В одном аспекте настоящего описания предложено применение антитела 1 для профилактики или лечения ARIA, наблюдаемых у пациентов, получающих терапевтические антитела, которые связываются с отложениями амилоида и имеют дозовые ограничения в некоторых программах клинической разработки.

В одном варианте осуществления в настоящем описании предложен способ профилактики ARIA, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту эффективного количества антитела к IL-34 настоящего описания. В одном варианте осуществления в настоящем описании предложен способ профилактики ARIA, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту эффективного количества антитела 1. В одном варианте осуществления в настоящем описании предложен способ лечения ARIA, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту эффективного количества антитела к IL-34 настоящего описания. В одном варианте осуществления в настоящем описании предложен способ лечения ARIA, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту эффективного количества антитела 1.

В настоящем описании также предложено антитело к IL-34 настоящего описания для применения в профилактике или лечении ARIA. В настоящем описании также предложено антитело 1 для применения в профилактике или лечении ARIA.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предложено применение антитела к IL-34 настоящего описания в производстве лекарственного средства для профилактики или лечения ARIA.

Дополнительные варианты осуществления вариантов комбинированного применения и способов применения антитела настоящего описания представлены ниже. Комбинированные варианты осуществления могут относиться к антителу 1, однако варианты осуществления дополнительно включают аналогичные способы, варианты применения и все ограничения, описанные в настоящем документе для антител настоящего описания, как описано в настоящем документе. Комбинированные варианты осуществления могут относиться к «антителу к N3pG Aβ», что относится к каждому из антител к N3pG Aβ, описанных в настоящем документе, однако для ясности эти варианты осуществления дополнительно включают аналогичные способы, варианты применения и все ограничения, описанные в настоящем документе, для каждого из антител к N3pG Aβ по отдельности и, например, предпочтительно для вариантов комбинированного применения донанемаба. Ниже приведены дополнительные варианты осуществления настоящего описания, пронумерованные и включающие внутренние ссылки на другие пронумерованные варианты осуществления. Для ясности эти варианты

осуществления следует читать вместе с пронумерованными вариантами осуществления, на которые они ссылаются, по отдельности и/или совместно. Описанные ниже варианты осуществления начинаются с номера 26. Термин «курс лечения» относится к конкретному пациенту или субъекту, указанным 5 антителам, указанным дозировкам, указанным частотам и/или длительностям, указанному порядку и любым другим ограничениям в пределах, описанных в каждом случае.

Дополнительные варианты осуществления настоящего описания включают в себя:

- 10 26. Способ лечения или профилактики заболевания, характеризующегося отложениями бета-амилоида (A β) в головном мозге человеческого индивида, включающий введение нуждающемуся в этом человеческому индивиду эффективного количества антитела к N3pG A β в одновременной, отдельной или последовательной комбинации с эффективным количеством антитела 1.
- 15 27. Способ по варианту осуществления 26, в котором антитело к N3pG A β представляет собой донанемаб.
28. Способ по варианту осуществления 26, в котором заболевание представляет собой болезнь Альцгеймера.
29. Способ по варианту осуществления 26, в котором антитело к N3pG A β 20 представляет собой донанемаб, а заболевание представляет собой болезнь Альцгеймера.
30. Способ по варианту осуществления 29, в котором антитело 1 вводят последовательно после курса лечения донанемабом.
31. Способ лечения или профилактики заболевания, характеризующегося 25 отложениями бета-амилоида (A β) в головном мозге человеческого индивида, включающий:

i) введение человеческому индивиду одной или более первых доз от примерно 100 мг до примерно 700 мг антитела к N3pG A β , причем каждую из первых доз вводят один раз примерно каждые четыре недели; и

5 ii) введение человеческому индивиду одной или более вторых доз от более 700 мг до примерно 1400 мг антитела к N3pG A β через примерно четыре недели после введения одной или более первых доз, при этом каждую из вторых доз вводят один раз примерно каждые 4 недели,

причем антитело к N3pGlu A β представляет собой донанемаб, и

10 iii) одновременное, раздельное или последовательное введение человеческому индивиду эффективного количества антитела 1.

32. Способ по варианту осуществления 31, в котором человеческому индивиду вводят первую дозу донанемаба один, два или три раза перед введением второй дозы.

15 33. Способ по вариантам осуществления 31 или 32, в котором человеческому индивиду вводят первые дозы донанемаба, составляющие примерно 700 мг.

34. Способ по любому из вариантов осуществления 31–33, в котором человеческому индивиду вводят одну или более вторых доз донанемаба, составляющих примерно 800 мг, примерно 900 мг, примерно 1000 мг, примерно 1100 мг, примерно 1200 мг, примерно 1300 мг или примерно 1400 мг.

20 35. Способ по любому из вариантов осуществления 31–34, в котором человеческому индивиду вводят одну или более вторых доз донанемаба, составляющих примерно 1400 мг.

25 36. Способ по любому из вариантов осуществления 31–35, в котором антитело к N3pGlu A β вводят человеческому индивиду в ходе курса лечения продолжительностью до 72 недель или до достижения нормального уровня амилоида.

37. Способ по любому из вариантов осуществления 31–36, в котором антитело к N3pGlu A β вводят человеческому индивиду до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у пациента не составит примерно 25 центилоидов или ниже.

5 38. Способ по любому из вариантов осуществления 31–36, в котором антитело к N3pGlu A β вводят человеческому индивиду в течение курса лечения до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у человеческого индивида не составит примерно 25 центилоидов или ниже при двух последовательных ПЭТ-визуализациях, причем необязательно эти две последовательные ПЭТ-визуализации проводят с интервалом по меньшей мере 6 месяцев, или не
10 составит примерно 11 центилоидов или ниже при одной ПЭТ-визуализации.

39. Способ по любому из вариантов осуществления 31–36, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы донанемаба по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы 1400 мг один раз каждые четыре недели в течение курса лечения продолжительностью до 72 недель.

15 40. Способ по любому из вариантов осуществления 31–36, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы 1400 мг один раз каждые четыре недели до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у субъекта не составит примерно 25 центилоидов или ниже.

20 41. Способ по любому из вариантов осуществления 31–36, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы донанемаба по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы 1400 мг один раз каждые четыре недели до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у субъекта не составит примерно 25 центилоидов или ниже при двух последовательных ПЭТ-визуализациях, причем необязательно эти две последовательные ПЭТ-визуализации проводят с интервалом по меньшей мере 6 месяцев, или не
25 составит примерно 11 центилоидов или ниже при одной ПЭТ-визуализации.

42. Способ по любому из вариантов осуществления 31–41, в котором человеческому индивиду вводят вторую дозу донанемаба в течение курса

лечения с продолжительностью, достаточной для лечения или профилактики заболевания.

43. Способ по любому из вариантов осуществления 31–42, в котором лечение или профилактика заболевания вызывает i) снижение уровня отложений Аβ в
5 головном мозге человеческого индивида и/или ii) замедление снижения когнитивных функций или функционального состояния у человеческого индивида.
44. Способ по варианту осуществления 43, в котором снижение уровня отложений Аβ в головном мозге человеческого индивида определяют с
10 помощью ПЭТ-визуализации амилоида в головном мозге или диагностики, которая обнаруживает биомаркер Аβ.
45. Способ по вариантам осуществления 43 или 44, в котором вторую дозу вводят человеческому индивиду до тех пор, пока не будет обнаружено снижение
15 уровня отложений Аβ в головном мозге человеческого индивида на примерно 20–100%.
46. Способ по вариантам осуществления 45, в котором отложения Аβ в головном мозге человеческого индивида снижаются на примерно 20%,
примерно 25%, примерно 30%, примерно 35%, примерно 40%, примерно 45%,
примерно 50%, примерно 75% или примерно 100%.
- 20 47. Способ по любому из вариантов осуществления 31–44, в котором вторую дозу донаманеаба вводят человеческому индивиду до тех пор, пока отложения Аβ в головном мозге человеческого индивида не снизятся на i) примерно в среднем от примерно 25 центилоидов до примерно 100 центилоидов, ii) примерно в среднем от примерно 50 центилоидов до примерно 100 центилоидов, iii)
25 примерно 100 центилоидов или iv) примерно 84 центилоида.
48. Способ по любому из вариантов осуществления 31–47, в котором заболевание, характеризующееся отложениями Аβ в головном мозге человеческого индивида, выбрано из доклинической болезни Альцгеймера (БА), клинической БА, продромальной БА, легкой БА, умеренной БА, тяжелой БА,

синдрома Дауна, клинической церебральной амилоидной ангиопатии или доклинической церебральной амилоидной ангиопатии.

49. Способ по любому из вариантов осуществления 31–48, в котором человеческий индивид представляет собой пациента с БА на стадии проявления ранних симптомов.
50. Способ по варианту осуществления 49, в котором человеческий индивид имеет продромальную БА и легкую деменцию, вызванную БА.
51. Способ по любому из вариантов осуществления 26–50, в котором человеческий индивид имеет: i) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от очень низкой до умеренной, ii) нагрузку тау-белком от низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от низкой до умеренной, iii) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от очень низкой до умеренной, а также один или два аллеля APOE e4, iv) нагрузку тау-белком от низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от низкой до умеренной, а также один или два аллеля APOE e4 или v) один или два аллеля APOE e4.
52. Способ по варианту осуществления 51, в котором человеческий индивид имеет i) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной, если нагрузка тау-белком, измеренная с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга, составляет $\leq 1,46 \text{ SUVr}$, или ii) нагрузку тау-белком от низкой до умеренной, если нагрузка тау-белком, измеренная с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга, составляет от 1,10 SUVr до 1,46 SUVr.
53. Способ по любому из вариантов осуществления 26–50, в котором человеческий индивид i) не имеет высокой нагрузки тау-белком, или было определено, что он не имеет высокой нагрузки тау-белком, или ii) несет один или два аллеля APOE e4 и не имеет высокой нагрузки тау-белком, или было определено, что он не имеет высокой нагрузки тау-белком.

54. Способ по варианту осуществления 53, в котором человеческий индивид имеет высокую нагрузку тау-белком, если нагрузка тау-белком при измерении с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга превышает 1,46 SUVr.

55. Способ по варианту осуществления 51 или 53, в котором нагрузку тау-белком у человеческого индивида определяют с использованием ПЭТ-визуализации головного мозга или диагностики, которая обнаруживает биомаркер тау-белка.

56. Применение антитела к N3pGlu A β в одновременной, отдельной или последовательной комбинации с антителом 1 в производстве лекарственного средства для лечения или профилактики заболевания, характеризующегося отложениями A β в головном мозге человеческого индивида,

причем вводят одну или более первых доз от примерно 100 мг до примерно 700 мг антитела к N3pGlu A β , при этом каждую из первых доз вводят один раз каждые 4 недели с последующим введением одной или более вторых доз от более 700 мг до примерно 1400 мг через четыре недели после введения одной или более первых доз, причем каждую из вторых доз антитела к N3pGlu A β вводят один раз примерно каждые 4 недели, и

при этом антитело к N3pGlu A β представляет собой донанемаб.

57. Применение по варианту осуществления 56, в котором человеческому индивиду вводят первую дозу донанемаба один, два или три раза перед введением вторых доз донанемаба.

58. Применение по варианту осуществления 56 или 57, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы донанемаба, составляющие примерно 700 мг.

59. Применение по любому из вариантов осуществления 56–58, в котором человеческому индивиду вводят одну или более вторых доз донанемаба, составляющих примерно 800 мг, примерно 900 мг, примерно 1000 мг, примерно 1100 мг, примерно 1200 мг, примерно 1300 мг или примерно 1400 мг.

60. Применение по любому из вариантов осуществления 56–59, в котором человеческому индивиду вводят одну или более вторых доз донанемаба, составляющих примерно 1400 мг.

5 61. Применение по любому из вариантов осуществления 56–60, в котором антитело к N3pGlu A β вводят человеческому индивиду в ходе курса лечения продолжительностью до 72 недель или до достижения нормального уровня амилоида.

10 62. Применение по любому из вариантов осуществления 56–61, в котором антитело к N3pGlu A β вводят человеческому индивиду до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у пациента не составит примерно 25 центилоидов или ниже.

15 63. Применение по любому из вариантов осуществления 56–61, в котором антитело к N3pGlu A β вводят человеческому индивиду до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у пациента не составит примерно 25 центилоидов или ниже при двух последовательных ПЭТ-визуализациях, причем необязательно эти две последовательные ПЭТ-визуализации проводят с интервалом по меньшей мере 6 месяцев, или не составит примерно 11 центилоидов или ниже при одной ПЭТ-визуализации.

20 64. Применение по любому из вариантов осуществления 56–61, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы донанемаба по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы донанемаба по 1400 мг один раз каждые четыре недели в течение периода до 72 недель.

25 65. Применение по любому из вариантов осуществления 56–61, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы донанемаба по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы донанемаба по 1400 мг один раз каждые четыре недели до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у пациента не составит примерно 25 центилоидов или ниже.

30 66. Применение по любому из вариантов осуществления 56–61, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы донанемаба по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы донанемаба по 1400 мг один раз

- каждые четыре недели до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у пациента не составит примерно 25 центилоидов или ниже при двух последовательных ПЭТ-визуализациях, причем необязательно эти две последовательные ПЭТ-визуализации проводят с интервалом по меньшей мере 6 месяцев, или не
- 5 составит примерно 11 центилоидов или ниже при одной ПЭТ-визуализации.
67. Применение по любому из вариантов осуществления 56–66, в котором человеческому индивиду вводят вторую дозу донанемаба в течение курса лечения с продолжительностью, достаточной для лечения или профилактики заболевания.
- 10 68. Применение по любому из вариантов осуществления 56–67, в котором лечение или профилактика заболевания вызывает i) снижение уровня отложений Аβ в головном мозге человеческого индивида и/или ii) замедление снижения когнитивных функций или функционального состояния у человеческого индивида.
- 15 69. Применение по варианту осуществления 68, в котором снижение уровня отложений Аβ в головном мозге человеческого индивида определяют с помощью ПЭТ-визуализации амилоида в головном мозге или диагностики, которая обнаруживает биомаркер Аβ.
70. Применение по варианту осуществления 68 или 69, в котором вторую дозу донанемаба вводят человеческому индивиду до тех пор, пока не будет
- 20 обнаружено снижение уровня отложений Аβ в головном мозге человеческого индивида на примерно 20–100%.
71. Применение по варианту осуществления 70, в котором отложения Аβ в головном мозге человеческого индивида снижаются на примерно 20%, примерно
- 25 25%, примерно 30%, примерно 35%, примерно 40%, примерно 45%, примерно 50%, примерно 75% или примерно 100%.
72. Применение по вариантам осуществления 70 или 71, в котором отложения Аβ в головном мозге пациента снижаются на 100%.

73. Применение по любому из вариантов осуществления 56–72, в котором вторую дозу донанемаба вводят человеческому индивиду до тех пор, пока отложения A β в головном мозге человеческого индивида не снизятся на i) примерно в среднем от примерно 25 центилоидов до примерно 100 центилоидов, ii) примерно в среднем от примерно 50 центилоидов до примерно 100 центилоидов, iii) примерно 100 центилоидов или iv) примерно 84 центилоида.

74. Применение по любому из вариантов осуществления 56–73, в котором заболевание, характеризующееся отложениями A β в головном мозге человеческого индивида, выбрано из доклинической болезни Альцгеймера, клинической БА, продромальной БА, легкой БА, умеренной БА, тяжелой БА, синдрома Дауна, клинической церебральной амилоидной ангиопатии или доклинической церебральной амилоидной ангиопатии.

75. Применение по любому из вариантов осуществления 56–74, в котором человеческий индивид представляет собой пациента с БА на стадии проявления ранних симптомов, или при этом человеческий индивид имеет продромальную БА или легкую деменцию, вызванную БА.

76. Применение по любому из вариантов осуществления 56–75, в котором человеческий индивид имеет: i) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от очень низкой до умеренной, ii) нагрузку тау-белком от низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от низкой до умеренной, iii) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от очень низкой до умеренной, а также один или два аллеля APOE e4, iv) нагрузку тау-белком от низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от низкой до умеренной, а также один или два аллеля APOE e4 или v) один или два аллеля APOE e4.

77. Применение по варианту осуществления 76, в котором человеческий индивид имеет i) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной, если нагрузка тау-белком, измеренная с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга, составляет $\leq 1,46$ SUV_r, или ii) нагрузку тау-белком от низкой до

умеренной, если нагрузка тау-белком, измеренная с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга, составляет от 1,10 SUVr до 1,46 SUVr.

78. Применение по любому из вариантов осуществления 56–75, в котором человеческий индивид i) не имеет высокой нагрузки тау-белком, или было
5 определено, что он не имеет высокой нагрузки тау-белком, или ii) несет один или два аллеля APOE ε4 и не имеет высокой нагрузки тау-белком, или было определено, что он не имеет высокой нагрузки тау-белком.

79. Применение по варианту осуществления 78, в котором человеческий индивид имеет высокую нагрузку тау-белком, если нагрузка тау-белком при
10 измерении с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга превышает 1,46 SUVr.

80. Применение по варианту осуществления 76 или 78, в котором нагрузку тау-белком у человеческого индивида определяют с использованием ПЭТ-визуализации головного мозга или диагностики, которая обнаруживает
15 биомаркер тау-белка.

81. Способ лечения или профилактики заболевания, характеризующегося отложениями бета-амилоида (Aβ) в головном мозге человеческого индивида, который, как было определено, имеет i) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной или нагрузку тау-белком от низкой до умеренной или ii) нагрузку тау-
20 белком от очень низкой до умеренной или нагрузку тау-белком от низкой до умеренной и один или два аллеля APOE ε4, включающий:

(i) введение человеческому индивиду одной или более первых доз донанемаба от примерно 100 мг до примерно 700 мг, причем каждую из первых доз донанемаба вводят один раз примерно каждые 4 недели; и

25 ii) через 4 недели после введения одной или более первых доз, введение человеческому индивиду одной или более вторых доз донанемаба от более 700 мг до примерно 1400 мг, при этом каждую из вторых доз вводят один раз примерно каждые 4 недели;

в одновременной, раздельной или последовательной комбинации с эффективным количеством антитела 1.

82. Способ лечения или профилактики заболевания, характеризующегося отложениями бета-амилоида ($A\beta$) в головном мозге человеческого индивида, включающий:

определение того, имеет ли человеческий индивид нагрузку тау-белком в височной доле, затылочной доле, теменной доле или лобной доле головного мозга, и если человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком в височной доле, затылочной доле, теменной доле или лобной доле головного мозга, то:

- 10 i) введение человеческому индивиду одной или более первых доз от примерно 100 мг до примерно 700 мг антитела к N3pGlu $A\beta$, причем каждую из первых доз вводят один раз примерно каждые четыре недели; и
- ii) введение человеческому индивиду одной или более вторых доз от более 700 мг до примерно 1400 мг антитела к N3pGlu $A\beta$ через примерно четыре 15 недели после введения одной или более первых доз, при этом каждую из вторых доз вводят один раз примерно каждые 4 недели,

в одновременной, раздельной или последовательной комбинации с эффективным количеством антитела 1.

83. Способ по варианту осуществления 82, в котором человеческий индивид 20 имеет нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле или височной доле головного мозга.

84. Способ по варианту осуществления 82, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком в затылочной доле головного мозга.

85. Способ по варианту осуществления 82, в котором человеческий индивид 25 имеет нагрузку тау-белком в теменной доле головного мозга.

86. Способ по варианту осуществления 82, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком в лобной доле головного мозга.

87. Способ по варианту осуществления 82, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной (PLT) и/или затылочной доле головного мозга.

5 88. Способ по любому из вариантов осуществления 82–87, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком i) в теменной или предклиновой области или ii) в лобной области, а также нагрузку тау-белком в PLT или затылочной областях головного мозга.

10 89. Способ по любому из вариантов осуществления 82–86, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком, i) ограниченную лобной долей, или ii) в областях височной доли, которые не включают в себя заднелатеральную височную область (PLT) головного мозга.

90. Способ по любому из вариантов осуществления 82–88, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле, затылочной доле и теменной доле головного мозга.

15 91. Способ по любому из вариантов осуществления 82–88, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле, затылочной доле, теменной доле и лобной доле головного мозга.

20 92. Способ по любому из вариантов осуществления 82–88, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле, затылочной доле, теменной доле и/или лобной доле головного мозга.

93. Способ по любому из вариантов осуществления 82–92, в котором человеческому индивиду вводят первую дозу один, два или три раза перед введением второй дозы

25 94. Способ по любому из вариантов осуществления 82–93, в котором человеческому индивиду вводят первые дозы, составляющие примерно 700 мг.

95. Способ по любому из вариантов осуществления 82–94, в котором человеческому индивиду вводят одну или более вторых доз, составляющих примерно 800 мг, примерно 900 мг, примерно 1000 мг, примерно 1100 мг, примерно 1200 мг, примерно 1300 мг или примерно 1400 мг.

96. Способ по любому из вариантов осуществления 82–95, в котором человеческому индивиду вводят одну или более вторых доз, составляющих примерно 1400 мг.

5 97. Способ по любому из вариантов осуществления 82–96, в котором антитело к N3pGlu A β вводят человеческому индивиду в течение периода до 72 недель или до достижения нормального уровня амилоида.

10 98. Способ по любому из вариантов осуществления 82–97, в котором антитело к N3pGlu A β вводят человеческому индивиду до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у пациента не составит примерно 25 центилоидов или ниже.

15 99. Способ по любому из вариантов осуществления 82–98, в котором антитело к N3pGlu A β вводят человеческому индивиду до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у человеческого индивида не составит примерно 25 центилоидов или ниже при двух последовательных ПЭТ-визуализациях, причем
15 необязательно эти две последовательные ПЭТ-визуализации проводят с интервалом по меньшей мере 6 месяцев, или не составит примерно 11 центилоидов или ниже при одной ПЭТ-визуализации.

20 100. Способ по любому из вариантов осуществления 82–99, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы по 1400 мг один раз каждые четыре недели в течение периода до 72 недель.

25 101. Способ по любому из вариантов осуществления 82–100, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы 1400 мг один раз каждые четыре недели до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у субъекта не составит примерно 25 центилоидов или ниже.

30 102. Способ по любому из вариантов осуществления 82–101, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы по 1400 мг один раз каждые четыре недели до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у субъекта не составит примерно

25 центилоидов или ниже при двух последовательных ПЭТ-визуализациях, причем необязательно эти две последовательные ПЭТ-визуализации проводят с интервалом по меньшей мере 6 месяцев, или не составит примерно 11 центилоидов или ниже при одной ПЭТ-визуализации.

5 103. Способ по любому из вариантов осуществления 82–102, в котором человеческому индивиду вводят вторую дозу в течение периода с продолжительностью, достаточной для лечения или профилактики заболевания.

104. Способ по любому из вариантов осуществления 82–103, в котором лечение или профилактика заболевания вызывает i) снижение уровня отложений Аβ в головном мозге человеческого индивида и/или ii) замедление снижения когнитивных функций или функционального состояния у человеческого индивида.

105. Способ по варианту осуществления 97, в котором снижение уровня отложений Аβ в головном мозге человеческого индивида определяют с помощью ПЭТ-визуализации амилоида в головном мозге или диагностики, которая обнаруживает биомаркер Аβ.

106. Способ по вариантам осуществления 97 или 98, в котором вторую дозу вводят человеческому индивиду до тех пор, пока не будет обнаружено снижение уровня отложений Аβ в головном мозге человеческого индивида на примерно 20–100%.

107. Способ по вариантам осуществления 106, в котором отложения Аβ в головном мозге человеческого индивида снижаются на примерно 20%, примерно 25%, примерно 30%, примерно 35%, примерно 40%, примерно 45%, примерно 50%, примерно 75% или примерно 100%.

25 108. Способ по любому из вариантов осуществления 82–107, в котором вторую дозу вводят человеческому индивиду до тех пор, пока отложения Аβ в головном мозге человеческого индивида не снизятся на i) примерно в среднем от примерно 25 центилоидов до примерно 100 центилоидов, ii) примерно в среднем от примерно 50 центилоидов до примерно 100 центилоидов, iii) примерно 100 центилоидов или iv) примерно 84 центилоида.

109. Способ по любому из вариантов осуществления 82–108, в котором заболевание, характеризующееся отложениями $A\beta$ в головном мозге человеческого индивида, выбрано из доклинической болезни Альцгеймера (БА), клинической БА, продромальной БА, легкой БА, умеренной БА, тяжелой БА, синдрома Дауна, клинической церебральной амилоидной ангиопатии или доклинической церебральной амилоидной ангиопатии.
110. Способ по любому из вариантов осуществления 82–109, в котором человеческий индивид представляет собой пациента с БА на стадии проявления ранних симптомов.
- 10 111. Способ по варианту осуществления 109, в котором человеческий индивид имеет продромальную БА и легкую деменцию, вызванную БА.
112. Способ по любому из вариантов осуществления 82–111, в котором человеческий индивид имеет: i) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от очень низкой до умеренной, или ii) нагрузку тау-белком от низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от низкой до умеренной.
- 15 113. Способ по варианту осуществления 112, в котором человеческий индивид имеет i) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной, если нагрузка тау-белком, измеренная с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга, составляет $\leq 1,46 \text{ SUVr}$, или ii) нагрузку тау-белком от низкой до умеренной, если нагрузка тау-белком, измеренная с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга, составляет от $1,10 \text{ SUVr}$ до $1,46 \text{ SUVr}$.
114. Способ по любому из вариантов осуществления 82–113, в котором человеческий индивид не имеет высокой нагрузки тау-белком или было определено, что он не имеет высокой нагрузки тау-белком.
- 25 115. Способ по варианту осуществления 114, в котором человеческий индивид имеет высокую нагрузку тау-белком, если нагрузка тау-белком при измерении с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга превышает $1,46 \text{ SUVr}$.

116. Способ по варианту осуществления 114 или 115, в котором нагрузку тау-белком у человеческого индивида определяют с использованием ПЭТ-визуализации головного мозга или диагностики, которая обнаруживает биомаркер тау-белка.
- 5 117. Способ по любому из вариантов осуществления 82–116, в котором антитело к N3pGlu A β содержит донанемаб.
118. Способ по любому из вариантов осуществления 82–117, в котором пациент имеет один или два аллеля APOE ϵ 4.
119. Способ снижения/предотвращения дальнейшего увеличения нагрузки тау-белком или замедления скорости накопления тау-белка в височной доле, затылочной доле, теменной доле или лобной доле головного мозга человека, включающий введение человеческому индивиду антитела к N3pGlu A β в одновременной, отдельной или последовательной комбинации с эффективным количеством антитела 1.
- 10
120. Способ лечения ARIA у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела 1 или содержащей его фармацевтической композиции.
- 15
121. Способ профилактики ARIA у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела 1 или содержащей его фармацевтической композиции.
- 20

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На **Фиг. 1** представлена нейтрализация антителом 1 активности репортерного гена люциферазы, индуцированной IL-34 человека, в клетках 293 SRE, экспрессирующих hCSF1R.

- 25 На **Фиг. 2** представлена способность антитела 1 ингибировать фосфорилирование ERK в клетках NIH-3T3/CSF1R. Треугольники представляют клетки, обработанные изотипическим контрольным антителом, круги представляют клетки, обработанные антителом 1, а звезды представляют группу без добавления IL-34 (фон для анализа).

30

ПРИМЕРЫ

Следующие примеры предложены для иллюстрации, без ограничений, заявленного изобретения. Результаты следующих анализов демонстрируют, что приведенные в качестве примеров моноклональные антитела, такие как антитело 1 настоящего описания, связывают и/или нейтрализуют IL-34 и, следовательно, могут быть использованы для лечения иммуноопосредованных и воспалительных заболеваний, описанных в настоящем документе.

Пример 1. Создание, экспрессия и очистка антител

Панель антител к IL-34 человека получают с использованием полностью человеческих библиотек дрожжевого дисплея и подвергают скринингу для идентификации реагентов, которые могут быть эффективными антителами, нейтрализующими IL-34 человека. Мутации систематически вводят в отдельные области, определяющие комплементарность (CDR), каждого антитела, и полученные библиотеки подвергают многократной селекции с уменьшением концентрации антигена и/или увеличением периода диссоциации, чтобы выделить клоны с улучшенной аффинностью. Последовательности отдельных вариантов определяют и используют для создания комбинаторной библиотеки, которая подвергается дополнительному раунду селекции с повышенной строгостью для выявления аддитивных или синергических мутационных пар между отдельными областями CDR. Отдельные комбинаторные клоны секвенируют и определяют характеристики связывания. Для дальнейшего повышения аффинности к IL-34 эти комбинаторные клоны могут быть подвергнуты дополнительным раундам одиночного и комбинаторного мутагенеза. Этот скрининг может быть проведен относительно IL-34 человека или яванского макака для повышения аффинности к выбранным биологическим видам. Выбранные антитела также могут быть подвергнуты мутагенезу для исправления посттрансляционных модификаций, таких как изомеризация, при сохранении аффинности связывания с IL-34. Кроме того, в антителе могут быть сделаны замены каркасной (FW) области или CDR, чтобы вернуть эти последовательности в их состояние, присущее зародышевой линии, для снижения потенциального риска иммуногенности.

Получают сконструированные и/или оптимизированные антитела к IL-34, например, называемые в настоящем документе антитело 1, имеющие аминокислотные последовательности переменных областей тяжелой цепи и

легкой цепи, а также полные аминокислотные последовательности тяжелой цепи и легкой цепи и кодирующие их нуклеотидные последовательности, представленные ниже в разделе, озаглавленном «Перечень аминокислотных и нуклеотидных последовательностей». SEQ ID NO, соответствующие этим последовательностям, а также аминокислотные последовательности CDR легкой цепи и тяжелой цепи показаны в таблице 1.

Приведенные в качестве примера антитела к IL-34 настоящего описания могут быть экспрессированы и очищены по существу следующим образом. Соответствующую клетку-хозяина, такую как HEK 293, NS0 или CHO, можно временно или стабильно трансфицировать экспрессионной системой для секреции антител, используя оптимальное, предварительно определенное соотношение векторов HC : LC (такое как 1 : 3, или 1 : 2, или 1 : 1) или одновекторную систему, кодирующую как HC, так и LC.

Экспрессионная плаزمида содержит, например, ДНК, кодирующую LC и HC антитела 1 (последовательность ДНК SEQ ID NO: 11, кодирующую HC примера антитела 1, и последовательность ДНК SEQ ID NO: 12, кодирующую аминокислотную последовательность LC примера антитела 1); и экспрессируется с широко используемого и подходящего для этой цели конструкта. Полученные клональным способом клеточные линии размножают и подвергают скринингу на продукцию антитела 1 и полученную клональным способом клеточную линию отбирают и наращивают. Эта клеточная линия получена без использования каких-либо материалов, содержащих компоненты животного происхождения, и используется для производства.

Осветленная среда, в которую было секретировано антитело, может быть очищена традиционными методиками, такими как смешанные методы ионообменной хроматографии и хроматографии гидрофобного взаимодействия. Например, среду можно наносить на колонку с белком А или G и проводить из нее элюирование посредством традиционных методов; также могут использоваться смешанные методы ионообменной хроматографии и хроматографии гидрофобного взаимодействия. Растворимые агрегаты и мультимеры могут быть эффективно удалены с помощью обычных методик, включая эксклюзионную хроматографию, хроматографию гидрофобного взаимодействия, ионообменную или гидроксиапатитную хроматографию. Иллюстративное антитело к IL-34 настоящего описания концентрируют и/или

стерильно фильтруют, используя стандартные методики. Чистота иллюстративного антитела после этих этапов хроматографии составляет более 95%. Иллюстративное антитело к IL-34 настоящего описания может быть немедленно заморожено при -70 °С или храниться при 4 °С в течение 5 нескольких месяцев.

Пример 2. Определение характеристик антител к IL-34

Аффинность связывания с IL-34 человека и яванского макака

Аффинность связывания моноклональных антител к IL-34 настоящего описания с IL-34 человека и/или яванского макака (супо), можно определить 10 способами, известными в данной области. Если коротко, аффинность и кинетику связывания антитела оценивают с помощью поверхностного плазмонного резонанса на приборе VIAcore™ 8K (Cytiva) при 37 °С. Аффинность связывания измеряют путем иммобилизации антитела к IL-34 на сенсорном чипе VIAcore™ 15 Sensor Chip Protein A (Cytiva) и пропускают IL-34 человека или яванского макака, начиная с 25 нМ или 12,5 нМ с 2-кратными последовательными разведениями в буфере HBS-EP+ (Teknova). Для каждого цикла пропускают над 20 иммобилизованным антителом 200 мкл IL-34 со скоростью 100 мкл/минута, а затем диссоциируют в течение 20 минут. Поверхность чипа регенерируют 50 мкл глицинового буфера при pH 1,5 и скорости потока 100 мкл/мин. Данные аппроксимируют моделью связывания 1 : 1 Ленгмюра с получением k_{on} , k_{off} и вычислением KD . В таблице 3 показано среднее для по меньшей мере трех экспериментов с IL-34 человека и яванского макака для примера антитела 1.

Таблица 3. Аффинность связывания (KD) комплексов антитело — IL-34 человека и яванского макака при 37 °С

Антитело	Аффинность и кинетика связывания			
	Антиген	K_{on} (1/Мс)	K_{off} (1/с)	K_D (пМ)
Пример антитела 1	Человек	$6,6E+06 \pm 3,8E+05$	$1,7E-04 \pm 1,5E-05$	$25,9 \pm 1,7$
Пример антитела 1	Яванская макака	$6,0E+06 \pm 1,5E+06$	$1,8E-04 \pm 1,6E-05$	$31,0 \pm 5,9$

25

Пример 3. Функциональная характеристика *in vitro* антител к IL-34 человека

Антитела настоящего описания исследовали на способность
нейтрализовать связывание и/или активность IL-34. Нейтрализация связывания
и/или активности IL-34 антителами настоящего описания может быть оценена с
помощью одного или более форматов анализа связывания рецептора IL-
5 34/CSF1R, а также анализов активности IL-34 на основе клеток, например, как
описано ниже.

Способность антитела 1 вытеснять IL-34 из CSF1R

Анализы на наличие нейтрализующих антител, связывающих IL-
34/CSF1R, могут быть выполнены с использованием ферментативного анализа.
10 В таких анализах можно использовать рекомбинантно экспрессированные белки
внеклеточного домена CSF1R, способные связываться с IL-34. Эти белки могут
быть связаны с планшетом для ИФА для захвата растворимого IL-34. Затем IL-
34 можно обнаружить посредством либо биотинилирования антигена, либо
путем обнаружения с помощью фермента с помощью фермента пероксидазы или
15 фосфатазы, конъюгированной со стрептавидином/нейтравидином. Такие
анализы нейтрализации включают предварительную инкубацию исследуемого
антитела с меченым IL-34 (например, в течение 1 часа) перед добавлением в
анализ связывания (а также контрольные образцы, в которых отсутствует
антитело, нацеленное на IL-34).
20 Белки внеклеточного домена CSF1R (hCSF1R_Fc предлагается к продаже
R&D кат. № 329-MR, CSF1R ECD-Fc яванского макака (AAA представляет собой
линкер между внеклеточным доменом CSF1R и Fc) (SEQ ID NO: 34)) можно
связать с планшетом для твердофазного ИФА в концентрациях 30 нМ для
захвата растворимого биотинилированного IL-34 и дать связаться в течение
25 одного часа. После промывки и блокирования планшета можно добавлять
биотинилированный IL-34, а затем обнаруживать с помощью конъюгированной
с стрептавидином пероксидазы. Для определения концентрации антитела,
необходимой для вытеснения IL-34 из CSF1R можно использовать концентрации
меченого IL-34 вблизи 80%-го уровня связывания (EC80) (3,7 нМ) в сочетании с
30 диапазоном концентраций антитела (0–100 нМ). После 1 ч инкубации IL-34,
связанный с CSF1R, обнаруживали с помощью конъюгированной со
стрептавидином пероксидазы. Анализировали антитела (n = 2) и вычисляли
среднее значение и стандартное отклонение для каждой концентрации.

Эффективность антитела для вытеснения IL-34 из CSF1R приводится в виде IC₅₀ (нМ) с вычисленным доверительным интервалом (CI) в таблице 4 и таблице 5.

Таблица 4. Вытеснение IL-34 человека из CSF1R человека

Антитело 1	IL-34 человека, связанный с CSF1R человека	
нМ	Среднее	Станд. откл.
100	0,1633	0,023
33	0,1676	0,076
11,1	0,1997	0,077
3,7	0,2703	0,117
1,2	0,1780	0,029
0,4	0,3116	0,044
0,14	0,8309	0,063
0,05	2,3993	0,010
0,02	3,1070	0,210
0,005	2,9406	0,032
0,002	2,9686	0,001
0,001	3,1566	0,113
IC ₅₀ (нМ)	0,07882	
Доверительный интервал	от 0,06896 до 0,09007	

5 **Таблица 5. Вытеснение IL-34 яванского макака из CSF1R яванского макака**

Антитело 1	IL-34 яванского макака, связанный с
------------	--

	CSF1R яванского макака	
нМ	Среднее	Станд. откл.
100	0,1730	0,054
33	0,1578	0,033
11,1	0,1813	0,033
3,7	0,2183	0,021
1,2	0,3055	0,042
0,4	0,6367	0,058
0,14	1,5441	0,133
0,05	1,6924	0,100
0,02	1,8093	0,166
0,005	1,6164	0,168
0,002	1,5831	0,008
0,001	1,7761	0,024
IC ₅₀ (нМ)	0,2996	
Доверительный интервал	от 0,2405 до 0,3731	

IL-34 связывается с CSF1R человека с аффинностью приблизительно 50–100 пМ, из-за чего необходимо высокоаффинное антитело для эффективной нейтрализации этого цитокина в ЦНС. Результаты, представленные в таблице 4, показывают, что антитело 1 обладает высокой аффинностью к IL-34 человека и может вытеснять IL-34 из CSF1R человека с IC₅₀ 0,07882 нМ. Результаты, представленные в таблице 4, показывают, что антитело 1 обладает высокой аффинностью к IL-34 человека, и, в частности, антитело 1 демонстрирует аффинность к IL-34 человека, сравнимую с hCSF1R, и, таким образом, обладает

связывающими свойствами, которые позволяют ему эффективно нейтрализовать IL-34 *in vivo*. Считается, что блокирование IL-34 обеспечивает полезные средства для модификации заболевания, избегая при этом проблем безопасности, связанных с некоторыми существующими

5 иммуномодулирующими способами лечения. Следовательно, нейтрализация IL-34-опосредованной передачи сигналов представляет собой терапевтический подход к лечению нейровоспаления, микроглиоза и нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера и другие таупатии и воспалительные заболевания. (См., например, Lelios, I. et al. Emerging roles of

10 IL-34 in health and disease, *J Exp Med* (2020) 217 (3): e20190290).

Способность антитела 1 нейтрализовать димеризацию CSF1R в анализе димеризации PathHunter® eXpress

Нейтрализацию IL-34 человека можно дополнительно оценить путем посева клеток U2OS CSF1R/CSF1R (Path Hunter® eXpress Dimerization Assay,

15 DiscoverX) в 96-луночные планшеты для оценки способности антител к IL-34 ингибировать димеризацию CSF1R. В этих анализах используется технология комплементации фрагментов фермента (EFC), в которой фермент b-галактозидаза (b-gal) расщепляется на два фрагмента: ProLink (PK) и акцептор фермента (EA). По отдельности эти фрагменты не обладают активностью b-gal;

20 однако при принудительном комплементировании посредством белок-белковых взаимодействий они образуют активный фермент b-gal. Анализ димеризации PathHunter® eXpress обнаруживает индуцированную лигандом димеризацию двух субъединиц пары рецептор-димер CSF1R. Клетки были сконструированы для коэкспрессии одной субъединицы рецептора CSF1R, слитой с донором

25 фермента (ED), и второго димерного партнера CSF1R, слитого с акцептором фермента (EA). Связывание IL-34 человека с одной субъединицей рецептора побуждает его взаимодействовать со своим димерным партнером, вызывая комплементацию двух фрагментов фермента. Это приводит к образованию функционального фермента, который гидролизует субстрат с образованием

30 хемилюминесцентного сигнала. Уменьшение относительных единиц флуоресценции (RFU), представленное в таблице 6, отражает способность антитела 1 нейтрализовать IL-34 человека и снижать хемилюминесценцию. Значение концентрации полумаксимального ингибирования (IC₅₀) для антитела

1 составляет 1,035 нМ. CSF1R-Fc человека используют в качестве
положительного контроля в этом анализе, и он ингибирует активность
люциферазы с IC₅₀ 1,025 нМ. Данные в таблице 6 подтверждают способность
антитела 1 блокировать взаимодействие IL-34 человека с CSF1R, тем самым
5 ингибируя димеризацию CSF1R в этом анализе. Эти данные подтверждают
возможность использования антител настоящего описания для нейтрализации
IL-34 человека.

Таблица 6. Способность антитела 1 нейтрализовать димеризацию CSF1R в анализе димеризации PathHunter® eXpress

Конц. [нМ]	hCSF1R-Fc		Антитело 1	
	Среднее RLU	Стандартное отклонение	Среднее RLU	Стандартное отклонение
0,546329	141 750	20 954,54	143 149,3	9354,359
1,092657	143 284,3	20 595,3	118 715,3	4747,809
2,185315	144 715,3	25 275,37	129 736,3	16 011,77
4,370629	143 242	28 247,42	134 560,3	11 616,16
8,741259	57 958,75	3264,96	44 840,33	6203,152
17,48252	28 603,25	5328,141	24 513,67	4104,652
34,96503	27 502	3611,769	20 570,33	896,7309
69,93007	33 178,5	4226,004	24 025	4493,348
139,8601	27 519,5	5065,463	21 793	1757,859
279,7203	30 378,5	6216,018	28 330,33	3597,572
IC₅₀ (нМ)	1,025		1,035	

10

Ингибирование индуцированных IL-34 ответов *in vitro*

Нейтрализацию активности IL-34 антителами настоящего описания
можно оценить с помощью одного или более клеточных анализов IL-34,
например, как описано ниже. Способность антител настоящего описания
15 нейтрализовать индуцированную IL-34 человека активность люциферазного
репортера можно оценить в клетках 293 hCSF1R SRE, трансфицированных
кДНК для экспрессии CSF1R человека (номер доступа: NP_001275634.1).
Например, клетки 293/SRE, стабильно сверхэкспрессирующие CSF1R человека

(hCSF1R), диссоциируют в 0,05%-й трипсин-PBS и высевают в количестве 70 000 клеток на 100 мкл в 96-луночные планшеты, обработанные для тканевого культивирования. На следующий день среду для выращивания удаляют, а к клеткам добавляют обедненную среду DMEM-F12 (модифицированная по 5 Дульбекко среда Игла: питательная смесь F-12) с добавлением 1% термоинактивированной FBS (эмбриональная бычья сыворотка). Через 24 ч после культивирования в обедненной среде, клетки обрабатывают 100 нг/мл IL-34 человека и несколькими концентрациями либо hCSF1R-Fc, либо антитела 1 в течение 6 ч. После инкубации клетки лизируют 50 мкл лизирующего буфера 10 Promega™ Glo™ (Promega™ E266A) в течение 5 минут при осторожном перемешивании. Добавляют 50 мкл люминесцентного реагента BrightGlo™ (Promega™ E2620) и инкубируют на лизированных клетках в течение 2 минут. Люминесценцию считывают с помощью считывателя микропланшетов Perkin Elmer Wallace 1420 Victor2™. Снижение относительных единиц флуоресценции 15 (RFU), представленное в таблице 7 и на Фиг. 1, отражает способность антитела 1 нейтрализовать индуцированную IL-34 человека активность люциферазы. Значение концентрации полумаксимального ингибирования (IC₅₀) для антитела 1 составляет 0,05037 мкг/мл для нейтрализации hIL-34. CSF1R-Fc человека используют в качестве положительного контроля в этом анализе, и он 20 ингибирует активность люциферазы с IC₅₀ 0,09603 мкг/мл.

Таблица 7. Нейтрализация активности репортерного гена люциферазы, индуцированной IL-34 человека, в клетках 293 SRE, экспрессирующих hCSF1R

Концентрация [мкг/мл]	hCSF1R		Антитело 1	
	Среднее LU	Стандартное отклонение	Среднее LU	Стандартное отклонение
20	1691	77,782	1543	9,899
4,000	1737	180,312	1604	63,640
0,800	2244	154,856	2024	14,142
0,160	4819	53,033	3474	80,610
0,032	14 728,5	1003,385	12 877	186,676
0,006	16 495	544,472	15 464,5	1830,699

0,001	17 608,5	478,711	16 380	638,517
IC₅₀ (мкг/мл)	0,09603		0,05037	
ДИ (мкг/мл)	от 0,06301 до 0,1464		от 0,03634 до 0,06981	
Положительный контроль (+) IL34	16 903,33	2169,549		
Отрицательный контроль (-) IL34	3502	344,114		

Способность антител к IL-34 ингибировать фосфорилирование ERK в клетках NIH-3T3/CSF1R

Нейтрализацию IL-34 можно определить путем оценки способности антител к IL-34 ингибировать фосфорилирование киназы, регулируемой 5 внеклеточными сигналами (ERK) в NIH-3T3/CSF1R. В этом анализе клетки высевают в день 1 в среду DMEM с добавлением 10% FBS и инкубируют в течение ночи при 37 °C. На день 2 среду удаляют, клетки промывают в бессывороточной среде DMEM и инкубируют в течение дополнительных 24 10 часов. На третий день среду заменяют бессывороточным DMEM, содержащим антитело к IL-34. IL-34 человека или яванского макака добавляют на 5 минут до конечной концентрации 1 мкг/мл. IL-34 человека или яванского макака и изотипическое контрольное антитело служат положительным и отрицательным контролем соответственно. Уровни фосфо/общей ERK1/2 оценивают по 15 измерению сигнала электрохемилюминесценции с помощью набора для лизата цельных клеток (Meso Scale Discovery, кат. № K15107D). Данные вычисляют как соотношение электрохемилюминесцентного сигнала для фосфо-ERK1/2 по сравнению с таковым для общего белка ERK1/2. Уменьшение соотношения сигналов, представленное в таблице 8 и/или на Фиг. 2, отражает способность 20 антитела 1 нейтрализовать IL-34 человека. Значение концентрации полумаксимального ингибирования (IC₅₀) для антитела 1 в отношении IL-34 человека составляет 26 нМ, а в отношении IL-34 яванского макака составляет 53 нМ.

Таблица 8. Способность антитела 1 ингибировать индуцированное IL-34 человека фосфорилирование ERK в клетках NIH-3T3/CSF1R

Концентрация (нМ)	Соотношение сигналов	Стандартное отклонение
0	0,139165	0,003242
0,43	0,156491	5,86E-05
2,13	0,141003	0,020171
10,64	0,111073	0,013866
53,2	0,066085	0,004829
266	0,035514	0,001473
1330	0,026086	0,000562
IC₅₀ (нМ)	26	

Таблица 9. Способность антитела 1 ингибировать индуцированное IL-34 яванского макака фосфорилирование ERK в клетках NIH-3T3/CSF1R

5

Концентрация (нМ)	Соотношение сигналов	Стандартное отклонение
0	0,120146	0,00083
0,43	0,122052	0,011009
2,13	0,127126	0,000818
10,64	0,12391	0,004007
53,2	0,091267	0,007267
266	0,052691	0,002386
1330	0,049513	0,003252
IC₅₀ (нМ)	53	

Способность антител к IL-34 ингибировать индуцированную IL-34 экспрессию CD163 в моноцитах человека, исследованная с помощью проточной цитометрии

10

Нейтрализацию IL-34 также можно оценить путем измерения экспрессии антигена клеточной поверхности CD163 в моноцитах человека после воздействия IL-34 с помощью проточной цитометрии (см., например, Boulakirba, S., et al. *IL-34 and CSF-1 display an equivalent macrophage differentiation ability but a different polarization potential. Sci Rep* **8**, 256 (2018). CD14-положительные

15

моноциты обрабатывают IL-34 в течение 6 дней и оценивают экспрессию CD163

с помощью проточной цитометрии после окрашивания с использованием антител к CD163. В экспериментах изменение числа клеток, экспрессирующих CD163, указывает на то, что обработка IL-34 увеличивает экспрессию этого антигена в моноцитах. Увеличение экспрессии CD163 ингибируется добавлением антитела 1. Антитело IgG4, соответствующего изотипа, используется в качестве отрицательного контроля в этом эксперименте. Результаты представлены в таблице 10.

Моноциты CD14+ человека могут дифференцироваться в макрофаги при добавлении IL-34 (100 нг/мл). Маркер макрофагов CD163 можно использовать для контроля степени дифференцировки. Такую дифференцировку макрофагов можно ингибировать добавлением антител к IL-34. Моноциты CD14+ человека высевали в 6-луночные планшеты с IL-34 или без него. Клетки обрабатывали антителами к IL-34, например антителом 1 или IgG4 PAA, при 15 мкг/мл в течение всего 6 дней с добавлением новой обработочной среды на день 3. На день 6 клетки удаляли с планшета ферментативным буфером для диссоциации клеток, собирали и промывали в буфере для FACS (PBS + 2% FBS + 0,1% азида натрия + 2% EDTA). Клетки блокируют в течение 30 минут с помощью TruStain FcX (кат. № 422302) согласно рекомендации производителя. После блокирования клетки промывали в буфере для FACS и окрашивали антителами к CD163-PE или IgGk-изотипическим контролем-PE в течение 1 ч при 4С. После инкубации клетки промывали и проводили проточный анализ на приборе Accuri, с использованием минимум 10 000 событий. Для каждой обработки получали уровни медиана-PE-A.

Таблица 10. Ингибирование IL-34 индуцировало экспрессию CD163 в человеческих моноцитах по данным проточной цитометрии

Лечение	Окрашивание IgG (среднее PE-A)	Окрашивание CD163 (среднее PE-A)
(-) IL-34	7750,56	130 783,14
(+) IL-34	5204,62	1 245 847,72

(+) IL-34 и антитело 1 (15 мкг/мл)	5693,60	104 350,32
(+) IL-34 и IgG4 РАА (15 мкг/мл)	6011,43	715 201,30
Неокрашенные клетки	2622,87	

Ингибирование антителом 1 экспрессии CD163 в моноцитах человека в ответ на IL-34 демонстрирует способность антител настоящего описания модулировать число моноцитов/макрофагов и/или фенотипическую

5 дифференциацию в ответ на IL-34 и подтверждает возможность использования настоящих антител для лечения иммуноопосредованных заболеваний, таких как нейровоспаление и другие воспалительные состояния (см., например, Lelios, I. et al. *Emerging roles of IL-34 in health and disease*, J Exp Med (2020) 217 (3): e20190290).

10 **Пример 4. Характеристика потенциала иммуногенности антитела 1**

Анализ интернализации дендритных клеток (DC)

Культивирование полученных из моноцитов DC (MDDC)

Моноциты CD14⁺ выделяют из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), культивируют и дифференцируют в DC по стандартным
15 протоколам. Вкратце, PBMC выделяют центрифугированием в градиенте плотности с Ficoll (№ 17-1440-02, GE Healthcare) и Sepmate 50 (№ 15450, STEMCELL Technologies) из LRS-WBC (белых клеток крови, собранных с помощью системы удаления лейкоцитов). Моноциты CD14⁺ выделяют методом
20 положительной селекции с использованием набора микрогранул CD14⁺ (№ 130-050-201, Miltenyi Biotec) в соответствии с руководством производителя. Затем клетки культивируют в концентрации 1 миллион/мл с GM-CSF в концентрации 1000 единиц/мл и IL-4 в концентрации 600 единиц/мл в течение 6 дней для

доставки к незрелым дендритным клеткам (MDDC) в среде RPMI с L-глутамином и 25 мМ HEPES, дополненной 10% FBS, 1 мМ пирувата натрия, раствором 1х пенициллина-стрептомицина, раствором 1х заменимых аминокислот и 55 мкМ 2-меркаптоэтанола (далее называется полной средой RPMI или средой, приобретенной у компании Life Technologies). Среду меняют дважды: на 2-й и 5-й дни. На 6-й день клетки осторожно собирают скребком для клеток и используют в эксперименте. MDDC визуально определяют на предмет дендритной морфологии под микроскопом, а на экспрессию CD14, CD11с и HLA-DR — посредством проточной цитометрии. Способность клеток реагировать на обработку ЛПС подтверждается измерением повышения экспрессии CD80, CD83 и CD86 методом проточной цитометрии.

Конъюгация Fab-TAMRA-QSY7

Фрагмент F(ab')₂ козьего античеловеческого IgG (Jackson ImmunoResearch) дважды метят QSY7-NHS и TAMRA-SE (молекулярные зонды) для получения Fab-TAMRA-QSY7, применяемого в качестве универсального зонда для отслеживания интернализации тестового продукта. В каждой виале F(ab')₂ (приблизительно 1 мл с концентрацией 1,3 мг/мл) концентрируют до примерно 2 мг/мл посредством центрифугирования при 14 000 RCF в течение 2 минут с использованием центробежного фильтрующего устройства Amico Ultra-0.5 (№ UFC501096, Millipore). pH доводят до основного (pH > 8) с помощью 10% (об./об.) 1 М бикарбоната натрия, добавляют 6,8 мкл маточного раствора QSY-NHS (10 мМ) в DMSO и перемешивают. Реакционную виалу выдерживают в темноте при комнатной температуре в течение 30 мин. Промежуточный продукт Fab-QSY7 очищают на обессоливающей колонке Zeba Spin (№ 89890, Thermo Scientific) посредством центрифугирования в течение 2 мин при относительном центробежном ускорении (RCF), равном 1000. Концентрацию и степень мечения (DOL) рассчитывают посредством измерения оптической плотности при 280 нм и 560 нм на NanoDrop (ThermoFisher). Затем Fab-QSY7 снова концентрируют до приблизительно 2 мг/мл посредством центрифугирования при 14 000 RCF в течение 2 минут с помощью центробежного фильтрующего устройства Amico Ultra-0.5. После корректировки pH с помощью 10% (об./об.) 1 М бикарбоната натрия добавляют 4,3 мкл 15 мМ маточного раствора TAMRA-SE в DMSO и перемешивают. Через

30 мин при комнатной температуре в темноте конечный продукт Fab-TAMRA-QSY7 очищают и собирают с использованием обессоливающей колонки Zeba Spin посредством центрифугирования при 1000 RCF в течение 2 мин. Снова проводят количественное определение концентрации и DOL, считывая
5 оптическую плотность при 280 нм, 555 нм и 560 нм на спектрофотометре NanoDrop. Используя этот протокол, получают примерно 300 мкл Fab-TAMRA-QSY7 при концентрации примерно 1,5 мг/мл с приблизительно двумя QSY7 и двумя TAMRA на F(ab')₂.

*Стандартизированное исследование интернализации, проведенное цитометрией
10 посредством сортировки с активацией флуоресценции (FACS)*

Отдельные тестируемые молекулы нормализуют до 1 мг/мл с помощью PBS, а затем дополнительно разбавляют до 8 мкг/мл в полной среде RPMI. Fab-TAMRA-QSY7 разбавляют до 5,33 пг/мл в полной среде RPMI. Антитело и Fab-TAMRA-QSY7 смешивают в равных объемах и инкубируют в течение 30 мин
15 при 4 °C в темноте для образования комплекса. MDDC ресуспендируют в концентрации 4 миллиона/мл в полной среде RPMI и высевают по 50 мкл на лунку в 96-луночный планшет с круглым дном, после чего в каждую лунку добавляют 50 мкл комплекса антитело/зонд. Клетки инкубируют в течение 24 ч
20 при 37 °C в инкубаторе с CO₂. Клетки промывают 2% FBS PBS и ресуспендируют в 100 мкл 2% FBS PBS с красителем Cyttox Green live/dead. Данные собирают посредством BD LSR Fortessa X-20 и анализируют в FlowJo. Живые одиночные клетки гейтируют и в качестве показаний записывают процент положительных по TAMRA-флуоресценции клеток.

Представление данных и статистический анализ

25 Молекулы тестируют на трех или более донорах в двух или трех повторностях. Для каждого донора учитывается процент TAMRA-положительной популяции. Чтобы обеспечить сравнение данных по молекулам, полученным при тестировании с разными донорами, применяется нормализованный индекс интернализации (НИ). Сигнал интернализации
30 нормализуется по изотипу IgG1 (НИ = 0) и внутреннему положительному контролю PC (НИ = 100) по формуле:

$$100 \times \frac{X_{TAMRA} - IgG1_{изотип_{TAMRA}}}{PC_{TAMRA} - IgG1_{изотип_{TAMRA}}}$$

где X_{TAMRA} , $(\text{изотип } IgG1)_{TAMRA}$ и PC_{TAMRA} представляют собой процент TAMRA-положительной популяции для тестируемой молекулы X, изотипа IgG1 и PC соответственно. Данные анализируют в JMP® 14.1.0 или Graphpad Prism 8.1.2. Рассчитывают и отмечают среднее значение процента TAMRA-положительной популяции и ИИ. Повышенная интернализация в антигенпредставляющих клетках, таких как DC, связана с повышенным риском иммуногенности. Среднее геометрическое для двух повторностей экспериментов с антителом 1 показано в таблице 11.

10 **Таблица 11. Результаты интернализации в DC**

Тестовое антитело	Нормализованный индекс интернализации
Антитело 1	53,2

(См., например, Wen, Y., Cahya, S., Zeng, W. *et al.* Development of a FRET-Based Assay for Analysis of mAbs Internalization and Processing by Dendritic Cells in Preclinical Immunogenicity Risk Assessment. *AAPS J* 22, 68 (2020))

15 Методы MAPP-анализа (MHC-ассоциированная протеомика пептидов)

Первичные дендритные клетки человека от 10 нормальных доноров-людей получали из лейкоцитарных пленок посредством выделения клеток CD14+ и дифференцировали в незрелые дендритные клетки посредством инкубации с 20 нг/мл IL-4 и 40 нг/мл GM-CSF в полной среде RPMI, содержащей 5% заменителя сыворотки (Thermo Fisher Scientific, кат. № A2596101) в течение 3 дней при 37 °C и 5% CO₂, как описано (Knierman et al., "The Human Leukocyte Antigen Class II Immunopeptidome of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein", *Cell Reports*, 33, 108454 (2020)). Три микромолярного антитела добавляли к приблизительно 5 x 10⁶ клеток на день 4 и после 5-часовой инкубации заменяли на свежую среду, содержащую 5 мкг/мл LPS, для трансформации клеток в зрелые дендритные клетки. На следующий день созревшие клетки лизировали в 1 мл буфера RIPA с ингибиторами протеаз и ДНКазой. Лизаты хранили при температуре -80 °C до анализа образцов.

Для выделения молекул HLA-II из размороженного лизата с использованием биотинилированных анти-pan HLA антител класса II (клон Tu39) использовали автоматизированную систему обработки жидкостей. Связанный комплекс рецептор-пептид элюировали 5%-й уксусной кислотой, 0,1% ТФУ. Элюированные пептиды МНС-II пропускают через предварительно промытый фильтр MWCO 10k для удаления белков с высокой молекулярной массой. Выделенные пептиды МНС-II анализировали с помощью нано-ЖХ/МС с использованием системы Thermo easy 1200 nLC-HPLC с масс-спектрометром Thermo LUMOS. Для разделения использовали колонку YMC-ODS C18 размером 75 мкм x 7 см для 65-минутного градиента со скоростью потока 250 нл/мин и 0,1% муравьиной кислоты в воде в качестве растворителя А и 80% ацетонитрила с 0,1% муравьиной кислоты в качестве растворителя В. Масс-спектрометрию осуществляли в режиме полного сканирования с разрешением 240 000, за которым следовал 3-секундный цикл МС/МС, зависящий от данных, состоящий из быстрых сканирований с ионной ловушкой с фрагментацией HCD и EThcD.

Идентификации пептидов генерируются внутренним конвейером для проведения протеомного анализа (Higgs et al., "Label-free LC-MS method for the identification of biomarkers", *Methods in Molecular Biology*, 428, 209–230 (2008)) с использованием множества алгоритмов поиска без параметра ферментативного поиска по базе данных по крупному рогатому скоту / людям, содержащей тестовые последовательности антител. Рабочий процесс KNIME использовали для обработки идентификационных файлов для образцов. Пептиды, идентифицированные в тестовых образцах, выравнивали по исходной последовательности. Для всех доноров создавали сводные данные, в которых указывали процент доноров, у которых обнаруживаются остатки не зародышевой линии, количество различных областей, в которых проявляются пептиды с остатками не зародышевой линии, и глубина отображения пептидов в каждой области с остатками не зародышевой линии. Увеличение степени обнаружения пептидов не зародышевой линии связано с повышенным риском иммуногенности. Результаты для антитела 1 представлены в таблице 12.

Таблица 12. Результаты MAPP-анализов

Тестовое антитело	% Доноров с кластером (-ами) не зародышевой линии	Кол-во кластеров с остатком (-ами) не зародышевой линии
Антитело 1	66% (6/9)	2

Анализ Т-клеточной пролиферации

Этот анализ оценивает способность тестируемого кандидата или полученных методом MAPP, пептидных кластеров тестируемого кандидата активировать CD4⁺ Т-клетки, индуцируя клеточную пролиферацию, как описано (Walsh et al., “Post-hoc assessment of the immunogenicity of three antibodies reveals distinct immune stimulatory mechanisms”, mAbs, 12, 1764829 (2020)). Использовали криоконсервированные PBMC от 10 здоровых доноров, CD8⁺ Т-клетки удаляли из PBMC и метили 1 мкМ карбоксифлуоресцеиндиацетат-сукцинимидилового эфира (CFSE). PBMC высевали в количестве 4 x 10⁶ клеток/мл/лунку в среде AIM-V (Life Technologies, кат. № 12055-083), содержащей 5% CTSTM Immune Cell SR (Gibco, кат. № A2596101), и тестировали в трех повторностях в 2,0 мл, содержащих различные испытуемые образцы, DMSO-контроль, контроль со средой и гемоцианин лимфы улитки (KLH; положительный контроль). Культуры инкубировали в течение 7 дней при 37 °C с 5% CO₂. На 7-й день образцы окрашивали следующими маркерами клеточной поверхности: анти-CD3, анти-CD4, анти-CD14, анти-CD19 и DAPI для определения жизнеспособности с помощью проточной цитометрии с использованием BD LSRFortessaTM, оснащенного пробоотборником высокой пропускной способности (HTS). Данные анализировали с использованием программного обеспечения FlowJo® (FlowJo, LLC, TreeStar) и рассчитывали индекс клеточного деления (CDI). Вкратце CDI для каждой тестируемой молекулы вычисляли путем деления процента пролиферирующих CFSE^{dim} CD4⁺ Т-клеток в лунках, стимулированных пептидом, на процент пролиферирующих CFSE^{dim} CD4⁺ Т-клеток в нестимулированных лунках. CDI ≥ 2,5 считался положительным ответом. Оценивали процентную частоту доноров среди всех доноров. Результаты для антитела 1 представлены в таблице 13.

Таблица 13. Частота ответов CD4⁺ Т-клеток

				Диапазон	
--	--	--	--	----------	--

Протестированная молекула	% положительных доноров	Медиана CDI (положительные доноры)	Медиана CDI (все доноры)	Высокая	Низкая	Количество доноров
Антитело 1	10	2,8	1,0	2,8	0,3	1/10

Пример 5. Фармакокинетика антител у яванского макака

Самцам яванского макака вводят однократную внутривенную (в/в) дозу 3 мг/кг антитела 1 в PBS (рН 7,4) в объеме 1 мл/кг. Для фармакокинетической 5 характеристики собирают кровь от 2 животных/временную точку через 1, 3, 6, 24, 48, 72, 96, 120, 168, 240, 336, 408, 504 и 672 часа после введения дозы и выделяют сыворотку. Концентрации антитела 1 в сыворотке определяют с помощью квалифицированного метода иммуноаффинной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией. Антитело 1 и внутренний стандарт 10 антитела человека (меченный стабильным изотопом IgG человека) экстрагируют из 100%-й сыворотки яванского макака с использованием биотинилированного козьего антитела к IgG человека с последующим количественным определением триптического суррогатного пептида с использованием масс-спектрометра Q-Exactive™ Orbitrap®. Фармакокинетические параметры рассчитывают с 15 использованием некомпартментного анализа (NCA) для каждого животного (N = 2) и параметры обобщают по среднему значению. Расчеты NCA и сводные статистические расчеты выполняют с использованием Phoenix. Как показано в таблице 14, антитело 1 демонстрирует у яванских макаков длительный фармакокинетический профиль.

20 **Таблица 14. Фармакокинетические параметры антитела 1 в плазме после однократного в/в введения дозы 3 мг/кг яванским макакам**

Способ	Доза (мг/кг)	C ₀ (мкг/мл)	AUC _{0-бескон.} (ч*мкг/мл)	CL (мл/ч/кг)	V _{ss} (мл/кг)	t _{1/2} (час)
IV	3	77,2	14400	0,209	65,3	216

Перечень аминокислотных и нуклеотидных последовательностей

Тяжелая цепь антитела 1 (SEQ ID NO: 1)

EVQLLES GGGLVQP GGSRLRSCAASGF AFSNYAMSWVRQAPGK GLEWVSAIS
ASGGKTY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRGYLW
5 HAFDHWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTKTYTCNVDHKPS
NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLT
10 CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SLG

Легкая цепь антитела 1 (SEQ ID NO: 2)

EIVLTQSPGTL SLSLSPGERATLSCRASQSVSSLYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
A
15 TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQVVGSSPPFTFGGGTKVEIKRTV
A
APSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQ DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

HCVR антитела 1 (SEQ ID NO: 3)

20 EVQLLES GGGLVQP GGSRLRSCAASGF AFSNYAMSWVRQAPGK GLEWVSAIS
AS
GGKTY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRGYLWHA
FD H

LCVR антитела 1 (SEQ ID NO: 4)

25 EIVLTQSPGTL SLSLSPGERATLSCRASQSVSSLYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
A TGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQVVGSSPPFT

HCDR1 антитела 1 (SEQ ID NO: 5)

AASGF AFSNYAMS

HCDR2 антитела 1 (SEQ ID NO: 6)

30 AISASGGKTY

HCDR3 антитела 1 (SEQ ID NO: 7)

AKRGYLWHAFDH

LCDR1 антитела 1 (SEQ ID NO: 8)

RASQSVSSLYLA

5 LCDR2 антитела 1 (SEQ ID NO: 9)

YGASSRAT

LCDR3 антитела 1 (SEQ ID NO: 10)

QVVGSSPPFT

ДНК, кодирующая тяжелую цепь антитела 1 (SEQ ID NO: 11)

10 gaagtccagttgctggaatctggcggcggtctcgttcagccagggggcagcttgcgtcttagttgtgcagcatccgggttg
cctt
ttccaattacgctatgtcatgggtaaggcaagccccaggcaaggactcgaatgggttccgccattagtcctcaggaggc
aag
acatactatgccgattctgtaaagggcagattfactatatctcgggacaattctaaaaatacactctatcttcagatgaatagcct
15 tag
agctgaagataccgctgtctactactgtgccaaacgtggctacctttggcacgcctttgatcactggggctgggggtactctcg
taac
tgtaagctccgcctccaccaagggcccatcggcttcccgtagcgcctgctccaggagcacctccgagagcacagccg
ccc
20 tgggctgcctggtcaaggactactccccgaaccggtgacggtgctggtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcac
acc
ttcccggctgtcctacagtctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacgaag
acct
acacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagttgagtccaatatggtccccatgccca
25 ccc
tgcccagcacctgaggccgcccgggggaccatcagtcttctgttcccccaaaaccaaggacactctcatgatctcccgg
acc
cctgaggtcacgtgcgtggtggggacgtgagccaggaagaccccaggtccagttcaactggtacgtggatggcgtgg
aggt
30 gcataatgccaagacaaagccgcgaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcac
cag

gactggctgaacggcaaggagtacaagtcaaggtctccaacaaggcctcccgctcctccatcgagaaaacctctccaa
agc

caaagggcagccccgagagccacaggtgtacaccctgccccatcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcct
gac

5 ctgcctgggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggaaagcaatgggcagccggagaacaactacaag
acc

acgcctcccgtgctggactccgacggctccttctctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggaggg
gaa tgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctcctgtctctgggt

ДНК, кодирующая легкую цепь антитела 1 (SEQ ID NO: 12)

10 gaaatagtctcactcagtcacctgggacactctccctgagtcaggagaacgtgcaacactcagttgccgtgcaagccagt
ccg

tctcatccttgatcttgcttggtaccaaaaaaacctggacaggccccctcttcttatctatggtgcctccagtgcgcaac
tgg

15 tattcccaccggttcagcggcagtggtccggcactgacttcaccctgactataagtcggttgagccagaggactttgcc
gtg

tactattccaagtggtgggaagctcccctccctcacttctcggcggaggaccaaggtagaaatcaaaagaactgtggcg
gcg

ccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatccggaactgcctctgttgtgctgctgaataacttctatcc
cag

20 agaggccaaagtacagtggaaggtggataacgcctccaatcgggtaactcccaggagagtgctcacagagcaggacag
caa

ggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgctgcga
agtc acccatcagggcctgagctcgcccgtcacaagagcttcaacaggggagagtgc

HCDR1 антитела 1 (по Кабату) (SEQ ID NO: 13)

25 NYAMS

HCDR2 антитела 1 (по Кабату) (SEQ ID NO: 14)

AISASGGKTYADSVKG

HCDR3 антитела 1 (по Кабату) (SEQ ID NO: 15)

RGYLWHAFDH

LCDR1 антитела 1 (по Кабату) (SEQ ID NO: 16)

RASQSVSSLYLA

LCDR2 антитела 1 (по Кабату) (SEQ ID NO: 17)

GASSRAT

5 **LCDR3 антитела 1 (по Кабату) (SEQ ID NO: 18)**

QVVGSSPPFT

HCDR1 антитела 1 (по Чотиа) (SEQ ID NO: 19)

GFAFSNY

HCDR2 антитела 1 (по Чотиа) (SEQ ID NO: 20)

10 SASGGK

HCDR3 антитела 1 (по Чотиа) (SEQ ID NO: 21)

RGYLWHAFDH

LCDR1 антитела 1 (по Чотиа) (SEQ ID NO: 22)

RASQSVSSLYLA

15 **LCDR2 антитела 1 (по Чотиа) (SEQ ID NO: 23)**

GASSRAT

LCDR3 антитела 1 (по Чотиа) (SEQ ID NO: 24)

QVVGSSPPFT

HCDR1 антитела 1 (IMGT) (SEQ ID NO: 25)

20 GFAFSNYA

HCDR2 антитела 1 (IMGT) (SEQ ID NO: 26)

ISASGGKT

HCDR3 антитела 1 (IMGT) (SEQ ID NO: 27)

AKRGYLWHAFDH

LCDR1 антитела 1 (IMGT) (SEQ ID NO: 28)

QSVSSLY

LCDR2 антитела 1 (IMGT) (SEQ ID NO: 29)

GAS

5 LCDR3 антитела 1 (IMGT) (SEQ ID NO: 30)

QVVGSSPPFT

IL-34 человека (SEQ ID NO: 31)

NEPLEMWPLTQNEECTVTGFLRDKLQYRSRLQYMKHYFPINYKISVPYEGVF
RIA

10 NVTRLQRAQVSERELRYLWVLVLSLATESVQDVLLEGHPSWKYLQEVETLLL
NV

QQGLTDVEVSPKVESVLSLLNAPGPNLKLVRPKALLDNCFRVMELLYCSCCKQ
S

SVLNWQDCEVSPQSCSPEPSLQYAATQLYPPPPWSPSSPPHSTGSRPVRAQG
15 E GLLP

Шарнирная область IgG4PAA (SEQ ID NO: 32)

ESKYGPPCPPCP

Область Fc IgG4PAA (SEQ ID NO: 33)

APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGV

20 EV

HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
K

AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
K

25 TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSL
G

Последовательность CSF1R ECD-Fc яванского макака (SEQ ID NO: 34)

IPVIEPSGPELVVKPGETVTLRCVGNNGSVEWDGPISPHWTLYSDGPSSVLTTNN
AT

FQNTRTYRCTEPGDPLGGSAAIHLYVKDPAWPVNLAKEVVVFEDQDALLPC
LL

TDPVLEAGVSLVRLRGRPLLRHTNYSFSPWHGFIHRAKFIQGQDYQCSALMG
GR

5 KVMSISIRLKVQKVIPGPPALTLVPAELVRIRGEAAQIVCSASNIDVDFDVFLQH
NT

TKLAIPQRSDFHDNRYQKVLTLSLGQVDFQHAGNYSCVASNVQGKHSTSMFF
RV

VESAYLDLSSEQNLIQEVTVGEGNLKVMVEAYPGLQGFNWTYLGPFSDHQF
10 EP

KLANATTKD TYRHTFTLSLPR LK PSEAGRY SFLARN PGGWRALTFELTLRYPPE
V

SVIWTSINGSGTLLCAASGYQPNTWLQCAGHTDRCDEAQLQVWVDPHP
EVL

15 SQEPFQKVTVQSLLTAETLEHNQTYECRAHNSVSGSGWAFIPISAGARTHPPDE
A

AAEPKSSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS
HE

DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
20 KC

KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
DI

AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMH
E ALHNHYTQKSLSLSP

25 **Тяжелая цепь антитела 2 (SEQ ID NO: 35)**

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIS
AS

GGKTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRGYLWHA
FD

30 HWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NS

GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
V

EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DP

EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KV

5 SNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
V
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA
LH NHYTQKSLSLSPGK

Тяжелая цепь антитела 3 (SEQ ID NO: 36)

10 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIS
AS

GGKTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRGYLWHA
FD

15 HWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NS

GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK
V

EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DP

20 EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KV

SNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
V

25 EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA
LH NHYTQKSLSLSPG

Тяжелая цепь антитела 4 (SEQ ID NO: 37)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIS
AS

GGKTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRGYLWHA
30 FD

HWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NS

GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKV
TV

ERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
QF

5 N WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSN
KG

LPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
S

NGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN

10 HY TQKSLSLSPG

Тяжелая цепь донанемаба (SEQ ID NO: 38)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWI
NP

GSGNTKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREGITVYWG

15 Q

GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LT

SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV
DKKVEPKS

20 CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KF

NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KA

LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
S

25

NGQPENNYKTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
Y TQKSLSLSPG

Легкая цепь донанемаба (SEQ ID NO: 39)

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLLIY

30 AVSKLDSGVPDRFSGSGGTDFLTKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPTFGQG

TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL

QSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTK
SFNRGEC

Тяжелая цепь антитела к N3pG (SEQ ID NO: 40)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEWVSAIS
5 GSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGS
YYNGFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH
KPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
10 LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV
KSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

Легкая цепь антитела к N3pG (SEQ ID NO: 41)

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSLGNWLAWYQQKPGKAPKLLIYQAS
15 TLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEYFYYCQHYKGSFVTFGQGTKVEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело, которое связывает IL-34 человека, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), при этом VH содержит определяющие комплементарности области тяжелой цепи (HCDR) HCDR1, HCDR2 и HCDR3, а VL содержит определяющие комплементарности области легкой цепи (LCDR) LCDR1, LCDR2 и LCDR3, причем

HCDR1 содержит SEQ ID NO: 5,

HCDR2 содержит SEQ ID NO: 6,

HCDR3 содержит SEQ ID NO: 7,

LCDR1 содержит SEQ ID NO: 8,

LCDR2 содержит SEQ ID NO: 9, и

LCDR3 содержит SEQ ID NO: 10.

2. Антитело по п. 1, в котором VH содержит SEQ ID NO: 3, а VL содержит SEQ ID NO: 4.

3. Антитело по п. 1 или 2, содержащее тяжелую цепь (HC), содержащую SEQ ID NO: 1, и легкую цепь (LC), содержащую SEQ ID NO: 2.

4. Нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, кодирующую SEQ ID NO: 11 или 12.

5. Вектор, содержащий нуклеиновую кислоту по п. 4.

6. Вектор по п. 5, содержащий первую нуклеотидную последовательность, кодирующую SEQ ID NO: 11, и вторую нуклеотидную последовательность, кодирующую SEQ ID NO: 12.

7. Композиция, содержащая первый вектор, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую SEQ ID NO: 11, и второй вектор, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую SEQ ID NO: 12.

8. Клетка, содержащая вектор по п. 5 или 6.

9. Клетка, содержащая первый вектор, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую SEQ ID NO: 11, и второй вектор, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую SEQ ID NO: 12.
10. Клетка по п. 8 или 9, представляющая собой клетку млекопитающего.
11. Способ получения антитела, включающий культивирование клетки по любому из пп. 8–10 в таких условиях, что осуществляется экспрессия антитела, и выделение экспрессируемого антитела из культуральной среды.
12. Антитело, полученное способом по п. 11.
13. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из пп. 1–3 или 12 и фармацевтически приемлемый эксципиент, разбавитель или носитель.
14. Способ лечения иммуноопосредованного заболевания у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп. 1–3 или 12 или фармацевтической композиции по п. 13.
15. Способ по п. 14, в котором иммуноопосредованное заболевание выбрано из группы, состоящей из болезни Альцгеймера; таупатии; синдрома Шегрена (SS); ревматоидного артрита (RA); воспалительного заболевания кишечника (IBD), атопического дерматита, заболевания почек, сепсиса и/или неалкогольной жировой дистрофии печени (NAFLD).
16. Способ по п. 15, в котором иммуноопосредованное заболевание представляет собой болезнь Альцгеймера.
17. Антитело по любому из пп. 1–3 или 12 для применения в терапии.
18. Антитело по любому из пп. 1–3 или 12 или фармацевтическая композиция по п. 13 для применения в лечении иммуноопосредованного заболевания.

19. Антитело или фармацевтическая композиция по п. 18, причем иммуноопосредованное заболевание выбрано из группы, состоящей из болезни Альцгеймера; таупатии; синдрома Шегрена (SS); ревматоидного артрита (RA); воспалительного заболевания кишечника (IBD), атопического дерматита, заболевания почек, сепсиса, бокового амиотрофического склероза (ALS) и/или неалкогольной жировой дистрофии печени (NAFLD).

20. Антитело или фармацевтическая композиция по п. 18, причем иммуноопосредованное заболевание представляет собой болезнь Альцгеймера.

21. Применение антитела по любому из пп. 1–3 или 12 в производстве лекарственного средства для лечения иммуноопосредованного заболевания.

22. Применение по п. 21, в котором иммуноопосредованное заболевание выбрано из группы, состоящей из болезни Альцгеймера; таупатии; синдрома Шегрена (SS); ревматоидного артрита (RA); воспалительного заболевания кишечника (IBD), атопического дерматита, заболевания почек, сепсиса и/или неалкогольной жировой дистрофии печени (NAFLD).

23. Применение по п. 21, в котором иммуноопосредованное заболевание представляет собой болезнь Альцгеймера.

24. Способ определения уровня IL-34 человека в биологической жидкости, включающий:

- (a) приведение биологической жидкости в контакт с диагностическим моноклональным антителом к IL-34 человека или его антигенсвязывающим фрагментом, которые специфически связываются с IL-34 человека и содержат аминокислотную последовательность, как в SEQ ID NO: 31, антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, содержащими: определяющие комплементарность области легкой цепи LCDR1, LCDR2 и LCDR3, содержащие аминокислотные последовательности (SEQ ID NO: 8), (SEQ ID NO: 9) и (SEQ ID NO: 10) соответственно, и определяющие комплементарность области тяжелой цепи HCDR1, HCDR2 и HCDR3,

содержащие аминокислотные последовательности (SEQ ID NO: 5), (SEQ ID NO: 6) и (SEQ ID NO: 7) соответственно;

(b) необязательно удаление любого неспецифически связанного моноклонального антитела

или его антигенсвязывающего фрагмента; и

(c) обнаружение и/или количественную оценку количества моноклонального антитела или

его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связаны с ПЛ-34 человека.

25. Способ по п. 24, в котором упомянутая биологическая жидкость представляет собой кровь, сыворотку, или плазму, или спинномозговую жидкость, а упомянутое приведение в контакт происходит *ex vivo*.

26. Способ лечения или профилактики заболевания, характеризующегося отложениями бета-амилоида (A β) в головном мозге человеческого индивида, включающий введение нуждающемуся в этом человеческому индивиду эффективного количества антитела к N3pG A β в одновременной, отдельной или последовательной комбинации с эффективным количеством антитела по любому из пп. 1–3 или 12.

27. Способ по п. 26, в котором антитело к N3pG A β представляет собой донанемаб, а антитело по любому из пп. 1–3 или 12 представляет собой антитело 1.

28. Способ по п. 26, в котором заболевание представляет собой болезнь Альцгеймера.

29. Способ по п. 26, в котором антитело к N3pG A β представляет собой донанемаб, а заболевание представляет собой болезнь Альцгеймера.

30. Способ по п. 29, в котором антитело 1 вводят последовательно после курса лечения донанемабом.

31. Способ лечения или профилактики заболевания, характеризующегося отложениями бета-амилоида (A β) в головном мозге человеческого индивида, включающий:

i) введение человеческому индивиду одной или более первых доз от примерно 100 мг до примерно 700 мг антитела к N3pG Aβ, причем каждую первую дозу вводят один раз примерно каждые четыре недели; и

ii) введение человеческому индивиду одной или более вторых доз от более 700 мг до примерно 1400 мг антитела к N3pG Aβ через примерно четыре недели после введения одной или более первых доз, причем каждую вторую дозу вводят один раз примерно каждые 4 недели,

причем антитело к N3pGlu Aβ представляет собой донанемаб, и

iii) одновременное, раздельное или последовательное введение человеческому индивиду эффективного количества антитела 1.

32. Способ по п. 31, в котором человеческому индивиду вводят первую дозу донанемаба один, два или три раза перед введением второй дозы.

33. Способ по п. 31 или 32, в котором человеческому индивиду вводят первые дозы донанемаба, составляющие примерно 700 мг.

34. Способ по любому из пп. 31–33, в котором человеческому индивиду вводят одну или более вторых доз донанемаба, составляющих примерно 800 мг, примерно 900 мг, примерно 1000 мг, примерно 1100 мг, примерно 1200 мг, примерно 1300 мг или примерно 1400 мг.

35. Способ по любому из пп. 31–34, в котором человеческому индивиду вводят одну или более вторых доз донанемаба, составляющих примерно 1400 мг.

36. Способ по любому из пп. 31–35, в котором антитело к N3pGlu Aβ вводят человеческому индивиду в ходе курса лечения продолжительностью до 72 недель или до достижения нормального уровня амилоида.

37. Способ по любому из пп. 31–36, в котором антитело к N3pGlu Aβ вводят человеческому индивиду до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у пациента не составит примерно 25 центилоидов или ниже.

38. Способ по любому из пп. 31–36, в котором антитело к N3pGlu A β вводят человеческому индивиду в течение курса лечения до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у человеческого индивида не составит примерно 25 центилоидов или ниже при двух последовательных ПЭТ-визуализациях, причем необязательно эти две последовательные ПЭТ-визуализации проводят с интервалом по меньшей мере 6 месяцев, или не составит примерно 11 центилоидов или ниже при одной ПЭТ-визуализации.

39. Способ по любому из пп. 31–36, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы донанемаба по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы по 1400 мг один раз каждые четыре недели в течение курса лечения продолжительностью до 72 недель.

40. Способ по любому из пп. 31–36, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы 1400 мг один раз каждые четыре недели до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у субъекта не составит примерно 25 центилоидов или ниже.

41. Способ по любому из пп. 31–36, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы донанемаба по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы 1400 мг один раз каждые четыре недели до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у субъекта не составит примерно 25 центилоидов или ниже при двух последовательных ПЭТ-визуализациях, причем необязательно эти две последовательных ПЭТ-визуализации проводят с интервалом по меньшей мере 6 месяцев, или не составит примерно 11 центилоидов или ниже при одной ПЭТ-визуализации.

42. Способ по любому из пп. 31–41, в котором человеческому индивиду вводят вторую дозу донанемаба в течение курса лечения с продолжительностью, достаточной для лечения или профилактики заболевания.

43. Способ по любому из пп. 31–42, в котором лечение или профилактика заболевания вызывает i) снижение уровня отложений A β в головном мозге

человеческого индивида и/или ii) замедление снижения когнитивных функций или функционального состояния у человеческого индивида.

44. Способ по п. 43, в котором снижение уровня отложений A β в головном мозге человеческого индивида определяют с помощью ПЭТ-визуализации амилоида в головном мозге или диагностики, которая обнаруживает биомаркер A β .

45. Способ по п. 43 или 44, в котором вторую дозу вводят человеческому индивиду до тех пор, пока не будет обнаружено снижение уровня отложений A β в головном мозге человеческого индивида на примерно 20–100%.

46. Способ по п. 45, в котором отложения A β в головном мозге человеческого индивида снижаются на примерно 20%, примерно 25%, примерно 30%, примерно 35%, примерно 40%, примерно 45%, примерно 50%, примерно 75% или примерно 100%.

47. Способ по любому из пп. 31–44, в котором вторую дозу донанемаба вводят человеческому индивиду до тех пор, пока отложения A β в головном мозге человеческого индивида не снизятся на i) примерно в среднем от примерно 25 центилоидов до примерно 100 центилоидов, ii) примерно в среднем от примерно 50 центилоидов до примерно 100 центилоидов, iii) примерно 100 центилоидов или iv) примерно 84 центилоида.

48. Способ по любому из пп. 31–47, в котором заболевание, характеризующееся отложениями A β в головном мозге человеческого индивида, выбрано из доклинической болезни Альцгеймера (БА), клинической БА, продромальной БА, легкой БА, умеренной БА, тяжелой БА, синдрома Дауна, клинической церебральной амилоидной ангиопатии или доклинической церебральной амилоидной ангиопатии.

49. Способ по любому из пп. 31–48, в котором человеческий индивид представляет собой пациента с БА на стадии проявления ранних симптомов.

50. Способ по п. 49, в котором человеческий индивид имеет продромальную БА и легкую деменцию из-за БА.

51. Способ по любому из пп. 26–50, в котором человеческий индивид имеет:

i) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от очень низкой до умеренной, ii) нагрузку тау-белком от низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от низкой до умеренной, iii) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от очень низкой до умеренной, а также один или два аллеля APOE e4, iv) нагрузку тау-белком от низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от низкой до умеренной, а также один или два аллеля APOE e4 или v) один или два аллеля APOE e4.

52. Способ по п. 51, в котором человеческий индивид имеет i) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной, если нагрузка тау-белком, измеренная с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга, составляет $\leq 1,46 \text{ SUVr}$, или ii) нагрузку тау-белком от низкой до умеренной, если нагрузка тау-белком, измеренная с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга, составляет от 1,10 SUVr до 1,46 SUVr.

53. Способ по любому из пп. 26–50, в котором человеческий индивид i) не имеет высокой нагрузки тау-белком, или было определено, что он не имеет высокой нагрузки тау-белком, или ii) несет один или два аллеля APOE e4 и не имеет высокой нагрузки тау-белком, или было определено, что он не имеет высокой нагрузки тау-белком.

54. Способ по п. 53, в котором человеческий индивид имеет высокую нагрузку тау-белком, если нагрузка тау-белком при измерении с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга превышает 1,46 SUVr.

55. Способ по п. 51 или 53, в котором нагрузку тау-белком у человеческого индивида определяют с использованием ПЭТ-визуализации головного мозга или диагностики, которая обнаруживает биомаркер тау-белка.

56. Применение антитела к N3pGlu A β в одновременной, отдельной или последовательной комбинации с антителом 1 в производстве лекарственного средства для лечения или профилактики заболевания, характеризующегося отложениями A β в головном мозге человеческого индивида,

причем вводят одну или более первых доз от примерно 100 мг до примерно 700 мг антитела к N3pGlu A β , при этом каждую из первых доз вводят один раз каждые 4 недели с последующим введением одной или более вторых доз от более 700 мг до примерно 1400 мг через четыре недели после введения одной или более первых доз, причем каждую из вторых доз антитела к N3pGlu A β вводят один раз примерно каждые 4 недели, и

при этом антитело к N3pGlu A β представляет собой донанемаб.

57. Применение по п. 56, в котором человеческому индивиду вводят первую дозу донанемаба один, два или три раза перед введением вторых доз донанемаба.

58. Применение по п. 56 или 57, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы донанемаба, составляющие примерно 700 мг.

59. Применение по любому из пп. 56–58, в котором человеческому индивиду вводят одну или более вторых доз донанемаба, составляющих примерно 800 мг, примерно 900 мг, примерно 1000 мг, примерно 1100 мг, примерно 1200 мг, примерно 1300 мг или примерно 1400 мг.

60. Применение по любому из пп. 56–59, в котором человеческому индивиду вводят одну или более вторых доз донанемаба, составляющих примерно 1400 мг.

61. Применение по любому из пп. 56–60, в котором антитело к N3pGlu A β вводят человеческому индивиду в ходе курса лечения продолжительностью до 72 недель или до достижения нормального уровня амилоида.

62. Применение по любому из пп. 56–61, в котором антитело к N3pGlu A β вводят человеческому индивиду до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у пациента не составит примерно 25 центилоидов или ниже.

63. Применение по любому из пп. 56–61, в котором антитело к N3pGlu A β вводят человеческому индивиду до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у пациента не составит примерно 25 центилоидов или ниже при двух последовательных ПЭТ-визуализациях, причем необязательно эти две последовательные ПЭТ-визуализации проводят с интервалом по меньшей мере 6 месяцев, или не составит примерно 11 центилоидов или ниже при одной ПЭТ-визуализации.

64. Применение по любому из пп. 56–61, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы донанемаба по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы донанемаба по 1400 мг один раз каждые четыре недели в течение периода до 72 недель.

65. Применение по любому из пп. 56–61, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы донанемаба по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы донанемаба по 1400 мг один раз каждые четыре недели до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у пациента не составит примерно 25 центилоидов или ниже.

66. Применение по любому из пп. 56–61, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы донанемаба по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы донанемаба по 1400 мг один раз каждые четыре недели до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у пациента не составит примерно 25 центилоидов или ниже при двух последовательных ПЭТ-визуализациях, причем необязательно эти две последовательные ПЭТ-визуализации проводят с интервалом по меньшей мере 6 месяцев, или не составит примерно 11 центилоидов или ниже при одной ПЭТ-визуализации.

67. Применение по любому из пп. 56–66, в котором человеческому индивиду вводят вторую дозу донанемаба в течение курса лечения с продолжительностью, достаточной для лечения или профилактики заболевания.

68. Применение по любому из пп. 56–67, в котором лечение или профилактика заболевания вызывает i) снижение уровня отложений A β в головном мозге человеческого индивида и/или ii) замедление снижения когнитивных функций или функционального состояния у человеческого индивида.

69. Применение по п. 68, в котором снижение уровня отложений Аβ в головном мозге человеческого индивида определяют с помощью ПЭТ-визуализации амилоида в головном мозге или диагностики, которая обнаруживает биомаркер Аβ.

70. Применение по п. 68 или 69, в котором вторую дозу донанемаба вводят человеческому индивиду до тех пор, пока не будет обнаружено снижение уровня отложений Аβ в головном мозге человеческого индивида на примерно 20–100%.

71. Применение по п. 70, в котором отложения Аβ в головном мозге человеческого индивида снижаются на примерно 20%, примерно 25%, примерно 30%, примерно 35%, примерно 40%, примерно 45%, примерно 50%, примерно 75% или примерно 100%.

72. Применение по п. 70 или 71, в котором отложения Аβ в головном мозге пациента снижаются на 100%.

73. Применение по любому из пп. 56–72, в котором вторую дозу донанемаба вводят человеческому индивиду до тех пор, пока отложения Аβ в головном мозге человеческого индивида не снизятся на i) примерно в среднем от примерно 25 центилоидов до примерно 100 центилоидов, ii) примерно в среднем от примерно 50 центилоидов до примерно 100 центилоидов, iii) примерно 100 центилоидов или iv) примерно 84 центилоида.

74. Применение по любому из пп. 56–73, в котором заболевание, характеризующееся отложениями Аβ в головном мозге человеческого индивида, выбрано из доклинической болезни Альцгеймера, клинической БА, продромальной БА, легкой БА, умеренной БА, тяжелой БА, синдрома Дауна, клинической церебральной амилоидной ангиопатии или доклинической церебральной амилоидной ангиопатии.

75. Применение по любому из пп. 56–74, в котором человеческий индивид представляет собой пациента с БА на стадии проявления ранних симптомов, или

при этом человеческий индивид имеет продромальную БА или легкую деменцию, вызванную БА.

76. Применение по любому из пп. 56–75, в котором человеческий индивид имеет: i) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от очень низкой до умеренной, ii) нагрузку тау-белком от низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от низкой до умеренной, iii) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от очень низкой до умеренной, а также один или два аллеля APOE e4, iv) нагрузку тау-белком от низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от низкой до умеренной, а также один или два аллеля APOE e4 или v) один или два аллеля APOE e4.

77. Применение по п. 76, в котором человеческий индивид имеет i) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной, если нагрузка тау-белком, измеренная с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга, составляет $\leq 1,46 \text{ SUV}_T$, или ii) нагрузку тау-белком от низкой до умеренной, если нагрузка тау-белком, измеренная с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга, составляет от $1,10 \text{ SUV}_T$ до $1,46 \text{ SUV}_T$.

78. Применение по любому из пп. 56–75, в котором человеческий индивид i) не имеет высокой нагрузки тау-белком, или было определено, что он не имеет высокой нагрузки тау-белком, или ii) несет один или два аллеля APOE e4 и не имеет высокой нагрузки тау-белком, или было определено, что он не имеет высокой нагрузки тау-белком.

79. Применение по п. 78, в котором человеческий индивид имеет высокую нагрузку тау-белком, если нагрузка тау-белком при измерении с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга превышает $1,46 \text{ SUV}_T$.

80. Применение по п. 76 или 78, в котором нагрузку тау-белком у человеческого индивида определяют с использованием ПЭТ-визуализации головного мозга или диагностики, которая обнаруживает биомаркер тау-белка.

81. Способ лечения или профилактики заболевания, характеризующегося отложениями бета-амилоида (A β) в головном мозге человеческого индивида, который, как было определено, имеет i) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной или нагрузку тау-белком от низкой до умеренной или ii) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной или нагрузку тау-белком от низкой до умеренной и один или два аллеля APOE ϵ 4, включающий:

i) введение человеческому индивиду одной или более первых доз донанемаба от примерно 100 мг до примерно 700 мг, причем каждую первую дозу донанемаба вводят один раз примерно каждые 4 недели; и

ii) введение человеческому индивиду одной или более вторых доз донанемаба от более 700 мг до примерно 1400 мг через 4 недели после введения одной или более первых доз, при этом каждую вторую дозу вводят один раз примерно каждые 4 недели;

в одновременной, раздельной или последовательной комбинации с эффективным количеством антитела 1.

82. Способ лечения или профилактики заболевания, характеризующегося отложениями бета-амилоида (A β) в головном мозге человеческого индивида, включающий:

определение того, имеет ли человеческий индивид нагрузку тау-белком в височной доле, затылочной доле, теменной доле или лобной доле головного мозга, и если человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком в височной доле, затылочной доле, теменной доле или лобной доле головного мозга, то:

i) введение человеческому индивиду одной или более первых доз от примерно 100 мг до примерно 700 мг антитела к N3pGlu A β , причем каждую первую дозу вводят один раз примерно каждые четыре недели; и

ii) введение человеческому индивиду одной или более вторых доз от более 700 мг до примерно 1400 мг антитела к N3pGlu A β через примерно четыре недели после введения одной или более первых доз, причем каждую вторую дозу вводят один раз примерно каждые 4 недели,

в одновременной, раздельной или последовательной комбинации с эффективным количеством антитела 1.

83. Способ по п. 82, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле или височной доле головного мозга.

84. Способ по любому из пп. 82, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком в затылочной доле головного мозга.

85. Способ по п. 82, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком в теменной доле головного мозга.

86. Способ по п. 82, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком в лобной доле головного мозга.

87. Способ по п. 82, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной (PLT) и/или затылочной доле головного мозга.

88. Способ по любому из пп. 82–87, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком i) в теменной или предклиновой области или ii) в лобной области, а также нагрузку тау-белком в PLT или затылочной областях головного мозга.

89. Способ по любому из пп. 82–86, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком, i) ограниченную лобной долей, или ii) в областях височной доли, которые не включают в себя заднелатеральную височную область (PLT) головного мозга.

90. Способ по любому из пп. 82–88, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле, затылочной доле и теменной доле головного мозга.

91. Способ по любому из пп. 82–88, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле, затылочной доле, теменной доле и лобной доле головного мозга.
92. Способ по любому из пп. 82–88, в котором человеческий индивид имеет нагрузку тау-белком в заднелатеральной височной доле, затылочной доле, теменной доле и/или лобной доле головного мозга.
93. Способ по любому из пп. 82–92, в котором человеческому индивиду вводят первую дозу один, два или три раза перед введением второй дозы
94. Способ по любому из пп. 82–93, в котором человеческому индивиду вводят первые дозы, составляющие примерно 700 мг.
95. Способ по любому из пп. 82–94, в котором человеческому индивиду вводят одну или более вторых доз, составляющих примерно 800 мг, примерно 900 мг, примерно 1000 мг, примерно 1100 мг, примерно 1200 мг, примерно 1300 мг или примерно 1400 мг.
96. Способ по любому из пп. 82–95, в котором человеческому индивиду вводят одну или более вторых доз, составляющих примерно 1400 мг.
97. Способ по любому из пп. 82–96, в котором антитело к N3pGlu A β вводят человеческому индивиду в течение периода до 72 недель или до достижения нормального уровня амилоида.
98. Способ по любому из пп. 82–97, в котором антитело к N3pGlu A β вводят человеческому индивиду до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у пациента не составит примерно 25 центилоидов или ниже.
99. Способ по любому из пп. 82–98, в котором антитело к N3pGlu A β вводят человеческому индивиду до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у человеческого индивида не составит примерно 25 центилоидов или ниже при двух последовательных ПЭТ-визуализациях, причем необязательно эти две

последовательные ПЭТ-визуализации проводят с интервалом по меньшей мере 6 месяцев, или не составит примерно 11 центилоидов или ниже при одной ПЭТ-визуализации.

100. Способ по любому из пп. 82–99, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы по 1400 мг один раз каждые четыре недели в течение периода до 72 недель.

101. Способ по любому из пп. 82–100, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы по 1400 мг один раз каждые четыре недели до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у субъекта не составит примерно 25 центилоидов или ниже.

102. Способ по любому из пп. 82–101, в котором человеческому индивиду вводят три первые дозы по 700 мг один раз каждые четыре недели, а затем вторые дозы по 1400 мг один раз каждые четыре недели до тех пор, пока уровень амилоидных бляшек у субъекта не составит примерно 25 центилоидов или ниже при двух последовательных ПЭТ-визуализациях, причем необязательно эти две последовательные ПЭТ-визуализации проводят с интервалом по меньшей мере 6 месяцев, или не составит примерно 11 центилоидов или ниже при одной ПЭТ-визуализации.

103. Способ по любому из пп. 82–102, в котором человеческому индивиду вводят вторую дозу в течение периода с продолжительностью, достаточной для лечения или профилактики заболевания.

104. Способ по любому из пп. 82–103, в котором лечение или профилактика заболевания вызывает i) снижение уровня отложений А β в головном мозге человеческого индивида и/или ii) замедление снижения когнитивных функций или функционального состояния у человеческого индивида.

105. Способ по п. 97, в котором снижение уровня отложений А β в головном мозге человеческого индивида определяют с помощью ПЭТ-визуализации

амилоида в головном мозге или диагностики, которая обнаруживает биомаркер Аβ.

106. Способ по п. 97 или 98, в котором вторую дозу вводят человеческому индивиду до тех пор, пока не будет обнаружено снижение уровня отложений Аβ в головном мозге человеческого индивида на примерно 20–100%.

107. Способ по п. 106, в котором отложения Аβ в головном мозге человеческого индивида снижаются на примерно 20%, примерно 25%, примерно 30%, примерно 35%, примерно 40%, примерно 45%, примерно 50%, примерно 75% или примерно 100%.

108. Способ по любому из пп. 82–107, в котором вторую дозу вводят человеческому индивиду до тех пор, пока отложения Аβ в головном мозге человеческого индивида не снизятся на i) примерно в среднем от примерно 25 центилоидов до примерно 100 центилоидов, ii) примерно в среднем от примерно 50 центилоидов до примерно 100 центилоидов, iii) примерно 100 центилоидов или iv) примерно 84 центилоида.

109. Способ по любому из пп. 82–108, в котором заболевание, характеризующееся отложениями Аβ в головном мозге человеческого индивида, выбрано из доклинической болезни Альцгеймера (БА), клинической БА, продромальной БА, легкой БА, умеренной БА, тяжелой БА, синдрома Дауна, клинической церебральной амилоидной ангиопатии или доклинической церебральной амилоидной ангиопатии.

110. Способ по любому из пп. 82–109, в котором человеческий индивид представляет собой пациента с БА на стадии проявления ранних симптомов.

111. Способ по п. 109, в котором человеческий индивид имеет продромальную БА и легкую деменцию из-за БА.

112. Способ по любому из пп. 82–111, в котором человеческий индивид имеет: i) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной, или у него

определена нагрузка тау-белком от очень низкой до умеренной, или ii) нагрузку тау-белком от низкой до умеренной, или у него определена нагрузка тау-белком от низкой до умеренной.

113. Способ по п. 112, в котором человеческий индивид имеет i) нагрузку тау-белком от очень низкой до умеренной, если нагрузка тау-белком, измеренная с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга, составляет $\leq 1,46 \text{ SUVr}$, или ii) нагрузку тау-белком от низкой до умеренной, если нагрузка тау-белком, измеренная с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга, составляет от 1,10 SUVr до 1,46 SUVr.

114. Способ по любому из пп. 82–113, в котором человеческий индивид не имеет высокой нагрузки тау-белком или было определено, что он не имеет высокой нагрузки тау-белком.

115. Способ по п. 114, в котором человеческий индивид имеет высокую нагрузку тау-белком, если нагрузка тау-белком при измерении с помощью ПЭТ-визуализации головного мозга превышает 1,46 SUVr.

116. Способ по п. 114 или 115, в котором нагрузку тау-белком у человеческого индивида определяют с использованием ПЭТ-визуализации головного мозга или диагностики, которая обнаруживает биомаркер тау-белка.

117. Способ по любому из пп. 82–116, в котором антитело к N3pGlu A β содержит донанемаб.

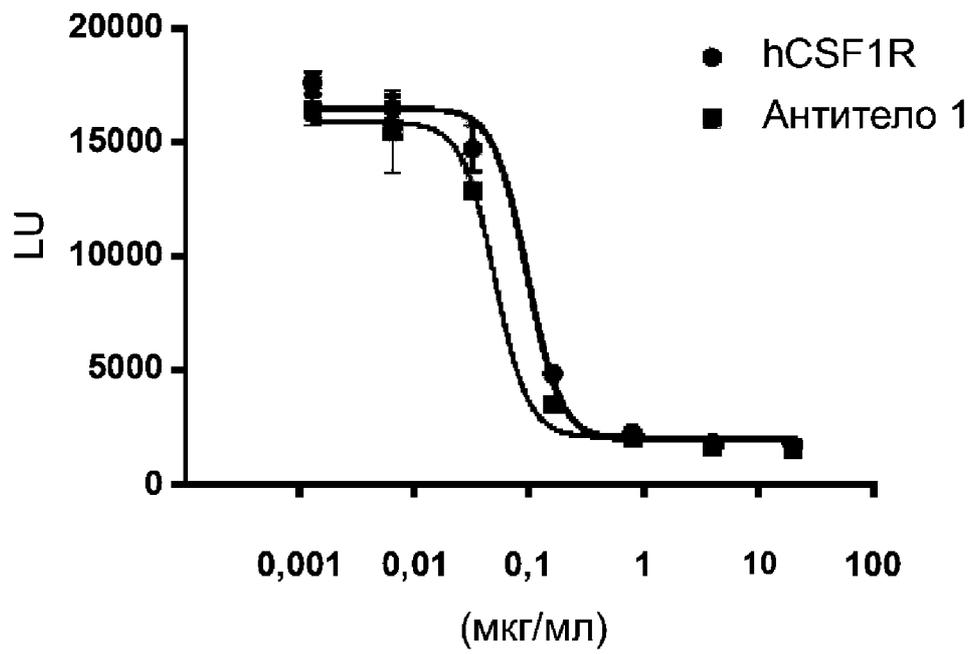
118. Способ по любому из пп. 82–117, в котором пациент имеет один или два аллеля APOE e4.

119. Способ снижения/предотвращения дальнейшего увеличения нагрузки тау-белком или замедления скорости накопления тау-белка в височной доле, затылочной доле, теменной доле или лобной доле головного мозга человека, включающий введение человеческому индивиду антитела к N3pGlu A β в одновременной, отдельной или последовательной комбинации с эффективным количеством антитела 1.

120. Способ лечения связанных с амилоидом аномалий на визуализации (ARIA) у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп. 1–3 или 12 или фармацевтической композиции по п. 13.

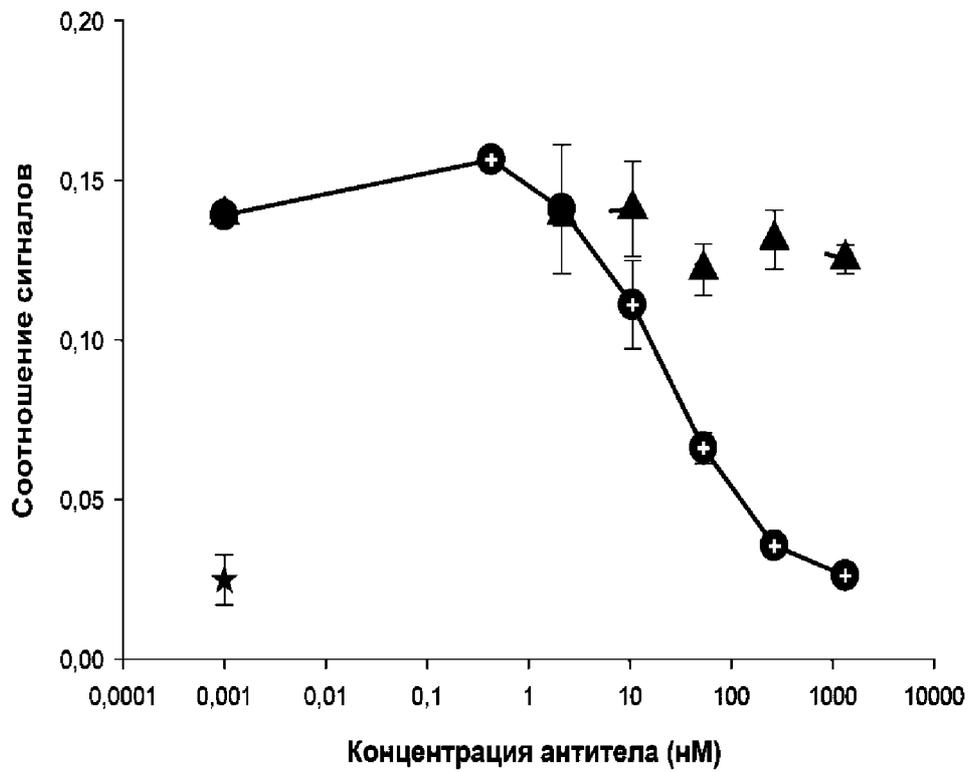
121. Способ профилактики ARIA у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп. 1–3 или 12 или фармацевтической композиции по п. 13.

Анализ нейтрализации hIL34



ФИГ. 1

Фосфо/общая ERK1/2 в клетках hCSF1R-NIH3T3
(ингибирование 1 мкг/мл hIL34)



ФИГ. 2