

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202491014** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2024.07.25**

(22) Дата подачи заявки  
**2022.10.21**

(51) Int. Cl. *A61K 47/60* (2017.01)  
*A61K 47/69* (2017.01)  
*A61P 1/16* (2006.01)  
*A61P 37/02* (2006.01)  
*A61P 37/06* (2006.01)  
*A61P 37/08* (2006.01)

---

(54) **ЛЕЧЕНИЕ ПЕРВИЧНОГО БИЛИАРНОГО ХОЛАНГИТА (РВС) ТОЛЕРОГЕННЫМИ  
НАНОЧАСТИЦАМИ**

---

(31) **63/270,447; 63/369,574**

(32) **2021.10.21; 2022.07.27**

(33) **US**

(86) **PCT/US2022/078545**

(87) **WO 2023/070104 2023.04.27**

(71) Заявитель:

**КОР ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ  
ДИВЕЛОПМЕНТ КОМПАНИ ИНК.  
(US)**

(72) Изобретатель:

**Пьюисис Джон Дж., Бойн Майкл,  
Водарчик Грета, Элофи Адам (US)**

(74) Представитель:

**Медведев В.Н. (RU)**

---

(57) Данное изобретение относится к способам лечения первичного билиарного холангита (РВС) с использованием толерогенных иммуномодифицирующих наночастиц, инкапсулирующих ассоциированные с РВС антигены.

**A1**

**202491014**

**202491014**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-581250EA/042

### ЛЕЧЕНИЕ ПЕРВИЧНОГО БИЛИАРНОГО ХОЛАНГИТА (РВС) ТОЛЕРОГЕННЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ

Перекрестная ссылка на родственные заявки

[1] Настоящая заявка заявляет приоритет согласно предварительной заявке на выдачу патента США № 63/270,447, поданной 21 октября 2021 года, и предварительной заявке на выдачу патента США № 63/369,574, поданной 27 июля 2022 года, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

Область изобретения

[2] Данное изобретение относится к способам лечения первичного билиарного холангита (РВС) с использованием толерогенных иммуномодифицирующих наночастиц, инкапсулирующих ассоциированный с РВС антиген.

Уровень техники

[3] Первичный билиарный холангит (РВС), также называемый первичным билиарным циррозом, является редким аутоиммунным заболеванием печени. РВС чаще страдают лица женского пола, при этом в Соединенных Штатах его распространенность оценивается примерно в 580 на миллион лиц женского пола<sup>1</sup>. РВС характеризуется иммуноопосредованным разрушением внутripеченочных желчных протоков посредством аутореактивных Т-клеток и В-клеток, приводящим к холестазу (снижению или прекращению оттока желчи) и последующему прогрессирующему течению, в конечном итоге приводящему к терминальной стадии заболевания печени<sup>2,3</sup>.

[4] Аутоиммунная активность при РВС направлена в первую очередь на внутриклеточные белки (например, митохондриальные и ядерные белки), при этом примерно у 95% пациентов обнаруживаются циркулирующие антimitохондриальные антитела<sup>4,5</sup>. Симптомы РВС включают накопление токсичных желчных кислот в печени, аномальные уровни печеночных ферментов, нарушение функции печени, фиброз печени, цирроз, ноющую боль в костях, утомляемость, пруриг и сухость глаз и ротовой полости.

[5] Метод лечения РВС отсутствует. Существующий на данный момент стандарт лечения РВС основан на применении модуляторов синтеза желчных кислот (например, урсодезоксихолевой кислоты (UDCA))<sup>6,7</sup>. Существующая на данный момент стандартная терапия ассоциирована со значимыми побочными эффектами, которые не позволяют преодолеть первичный иммунный дисбаланс, что приводит к патологии заболевания с низкой частотой ответа. Эти терапевтические подходы могут лишь отсрочить прогрессирование заболевания и сократить время до трансплантации печени.

**Сущность изобретения**

[6] Толерогенные иммуномодифицирующие частицы (TIMP), содержащие один или несколько антигенов, были ранее описаны для лечения иммуноопосредованных нарушений (например, аутоиммунных заболеваний и аллергий) посредством индукции антигенспецифической иммунной толерантности (WO2013/192532 и WO2015/023796,

включенные в данный документ посредством ссылки). В нескольких доклинических моделях заболеваний и аллергий ТИМР продемонстрировали эффективность в отношении индуцирования Т-клеточной толерантности. Индукция антигенспецифической толерантности к аутоантигенам РВС с использованием ТИМР, инкапсулирующих РВС-специфические антигены (ТИМР-РВС), может уменьшить интенсивность или потенциально вылечить РВС.

[7] В данном документе представлен способ лечения РВС у субъекта, включающий введение субъекту ТИМР-РВС, причем ТИМР-РВС вводят в дозе, определенной на основе массы субъекта. В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС вводят в дозе от 0,01 до 12 мг/кг. В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС вводят в фиксированной дозе от 1 мг до 800 мг. В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС вводят в дозе от около от около 0,01 до 12 мг/кг, от около 0,05 до 10 мг/кг, от около 0,01 до 5 мг/кг, от около 0,1 до 10 мг/кг, от около 1 до 8 мг/кг, от около 1,5 до 10 мг/кг, от около 2 до 12 мг/кг, от около 2 до 10 мг/кг, от около 3 до 10 мг/кг, от около 4 до 10 мг/кг, от около 4 до 12 мг/кг или от около 5 до 12 мг/кг. В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,05 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,25 мг/кг, 0,5 мг/кг, 1,0 мг/кг, 2,0 мг/кг, 3,0 мг/кг, 4,0 мг/кг, 5 мг/кг, 6 мг/кг, 8,0 мг/кг, 10 мг/кг или 12 мг/кг. В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС вводят в фиксированной дозе около 1 мг, 2 мг, 5 мг, 10 мг, 25 мг, 50 мг, 75 мг, 100 мг, 125 мг, 150 мг, 175 мг, 200 мг, 225 мг, 250 мг, 275 мг, 300 мг, 325 мг, 350 мг, 400 мг, 425 мг, 450 мг, 475 мг, 500 мг, 525 мг, 550 мг, 575 мг, 600 мг, 625 мг, 650 мг, 675 мг, 700 мг, 725 мг, 750 мг, 775 мг или 800 мг.

[8] В различных вариантах реализации изобретения в ТИМР-РВС инкапсулированы один или несколько РВС-антигенов или антигенных эпитопов. В различных вариантах реализации изобретения РВС-антигены представляют собой митохондриальный белок. В различных вариантах реализации изобретения РВС-антигены представляют собой ядерные белки. В различных вариантах реализации изобретения РВС-антигены выбраны из группы, состоящей из субъединицы E2 пируватдегидрогеназного комплекса (PDC-E2), gp210, нуклеопорина 62, Sp100, PML, CENP A, CENP B, CENP C, dsDNA, гистона, дегидрогеназного комплекса 2-оксокислот с разветвленной цепью (BCOADC), белка гладкомышечных клеток, растворимого печеночного антигена, микросомы печени/почек, белка центромеры, тубулина, актина, виментина, десмина, цитокератина, F-актина, УДФ-глюкуронозилтрансферазы, члена семейства 1 комплекса А (UGT1), формиминотрансферазы-циклодезаминазы, асиалогликопротеинового рецептора (ASGPR), кардиолипина, h-Lamp-2, протеиназы 3, CYP 2C9, CYP 2A6 и CYP P450 2D6.

[9] В различных вариантах реализации изобретения в ТИМР-РВС инкапсулирован пептид PDC-E2, содержащий антигенный эпитоп. В различных вариантах реализации изобретения в ТИМР-РВС инкапсулированы аминокислоты 155-185 PDC-E2 (PDC-E2<sub>155-185</sub>), с аминокислотной последовательностью KVGEKLSEGDLLAEIETDKATIGFEVQEEGY) (SEQ ID NO: 1).

[10] В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС вводят в однократной дозе или в многократных дозах. В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС вводят в двух дозах с интервалом в одну неделю. В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС вводят один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в 4 недели, один раз в два месяца, один раз в три месяца, один раз в 6 месяцев или один раз в год.

[11] В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС состоит из частиц из сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA), инкапсулирующих один или несколько РВС-антигенов и подходящие буферное средство или эксципиент. В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС-частицы подвергнуты поверхностной функционализации. В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС-частицы подвергнуты поверхностной функционализации путем карбоксилирования. В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС-частицы имеют отрицательный дзета-потенциал. В различных вариантах реализации изобретения отрицательный дзета-потенциал ТИМР-РВС-частиц составляет от около -100 мВ до около 0 мВ. В различных вариантах реализации изобретения дзета-потенциал частиц составляет от около -100 мВ до около -25 мВ, от около -100 до около -30 мВ, от около -80 мВ до около -30 мВ, от около -75 мВ до около -30 мВ, от около -70 мВ до около -30 мВ, от около -75 до около -35 мВ, от около -70 до около -25 мВ, от около -60 мВ до около -30 мВ, от около -60 мВ до около -35 мВ или от около -50 мВ до около -30 мВ. В различных вариантах реализации изобретения дзета-потенциал составляет около -25 мВ, -30 мВ, -35 мВ, -40 мВ, -45 мВ, -50 мВ, -55 мВ, -60 мВ, -65 мВ, -70 мВ, -75 мВ, -80 мВ, -85 мВ, -90 мВ, -95 мВ или -100 мВ.

[12] В различных вариантах реализации изобретения размер или диаметр ТИМР-РВС-частиц составляет от 0,05 мкм до около 10 мкм. В различных вариантах реализации изобретения диаметр ТИМР-РВС-частиц составляет от 0,1 мкм до около 10 мкм. В различных вариантах реализации изобретения диаметр ТИМР-РВС-частиц составляет от 0,1 мкм до около 5 мкм. В различных вариантах реализации изобретения диаметр ТИМР-РВС-частиц составляет от 0,1 мкм до около 3 мкм. В различных вариантах реализации изобретения диаметр ТИМР-РВС-частиц составляет от 0,3 мкм до около 5 мкм. В различных вариантах реализации изобретения диаметр ТИМР-РВС-частиц составляет от около 0,3 мкм до около 3 мкм. В различных вариантах реализации изобретения диаметр ТИМР-РВС-частиц составляет от около 0,3 мкм до около 1 мкм. В различных вариантах реализации изобретения диаметр ТИМР-РВС-частиц составляет от около 0,4 мкм до около 1 мкм. В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС-частицы имеют диаметр от около 100 до 10000 нм, от около 100 до 5000 нм, от около 100 до 3000 нм, от около 100 до 2000 нм, от около 300 до 5000 нм, от около 300 до 3000 нм, от около 300 до 1000 нм, от около 300 до 800 нм, от около 400 до 800 нм или от около 200 до 700 нм. В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС-частицы имеют диаметр около 50 нм, 100 нм, 200 нм, 300 нм, 400 нм, 500 нм, 600 нм, 700 нм, 800 нм, 900 нм, 1000 нм, 1100 нм, 1200 нм, 1300 нм, 1400 нм, 1500 нм или 2000 нм. В различных вариантах

реализации изобретения диаметр отрицательно заряженной частицы составляет от 400 нм до 800 нм.

[13] В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС вводят внутривенно, подкожно, внутримышечно, внутривентриально, интраназально или перорально.

[14] В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС вводят в концентрации от около 0,005 мг/мл до около 50 мг/мл. В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС вводят в концентрации около 0,05 мг/мл, 0,1 мг/мл, 0,5 мг/мл, 1 мг/мл, 2 мг/мл, 3 мг/мл, 3,25 мг/мл, 3,5 мг/мл, 4 мг/мл, 5 мг/мл, 6 мг/мл, 7 мг/мл, 8 мг/мл, 9 мг/мл, 10 мг/мл, 11 мг/мл, 12,5 мг/мл, 15 мг/мл, 17,5 мг/мл, 20 мг/мл, 25 мг/мл, 30 мг/мл, 40 мг/мл или 50 мг/мл. В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС вводят посредством внутривенной инфузии продолжительностью около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 часов.

[15] В различных вариантах реализации изобретения введение ТИМР-РВС нуждающемуся в этом субъекту обеспечивает облегчение одного или нескольких симптомов РВС. В различных вариантах реализации изобретения симптомы РВС выбраны из группы, состоящей из воспаления печени, цирроза, холестаза, нарушения функции печени, печеночной недостаточности, фиброза печени, повышенного иммунного инфильтрата печени, повышенных уровней желчных кислот, повышенных уровней ферментов печени (ALT, ALP, AST,  $\gamma$ -глутамилтрансферазы), повышенных уровней билирубина, циркулирующих антимиохондриальных антител (AMA), циркулирующих антинуклеарных антител (ANA), утомляемости, кожного зуда, прурита, сухости глаз и ротовой полости, боли в животе, спленомегалии, скелетно-мышечной боли, отека, накопления жидкости, форм ксантомы кожи, желтухи, гиперпигментации, остеопороза, повышенного холестерина, диареи, стеатореи, гипотиреоза и потери массы тела.

[16] В различных вариантах реализации изобретения введение ТИМР-РВС нуждающемуся в этом субъекту обеспечивает снижение продолжительности и тяжести воспалительного иммунного ответа на один или несколько РВС-антигенов. В различных вариантах реализации изобретения воспалительный иммунный ответ представляет собой Т-клеточный ответ, В-клеточный ответ, Th1-ответ, ответ миелоидных клеток и/или гуморальный иммунный ответ. В различных вариантах реализации изобретения эффективность ТИМР-РВС в отношении облегчения одного или нескольких симптомов РВС и/или снижения продолжительности и тяжести воспалительного иммунного ответа на один или несколько РВС-антигенов определяют с помощью анализа одного или нескольких биологических образцов от субъекта. В различных вариантах реализации изобретения биологические образцы выбраны из группы, состоящей из цельной крови, периферической крови, мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), сыворотки крови, плазмы крови, мочи, спинномозговой жидкости (CSF), кала, биоптата ткани и/или биоптата костного мозга.

[17] В различных вариантах реализации изобретения введение ТИМР-РВС субъекту

обеспечивает снижение уровней активированных антигенспецифических Т-клеток. В различных вариантах реализации изобретения введение ТИМР-РВС субъекту обеспечивает снижение уровней активированных антигенспецифических CD4+ и/или CD8+ Т-клеток.

[18] В различных вариантах реализации изобретения введение ТИМР-РВС субъекту обеспечивает снижение уровней Т-клеточного инфильтрата в печени. В различных вариантах реализации изобретения лечение ТИМР-РВС обеспечивает уменьшение иммунного инфильтрата печени на около 5%-100% или в около 2-100 раз включительно.

[19] В различных вариантах реализации изобретения введение ТИМР-РВС субъекту обеспечивает снижение уровней антимитохондриальных антител в крови. В различных вариантах реализации изобретения лечение ТИМР-РВС обеспечивает уменьшение уровней антимитохондриальных антител на около 5%-100% или в около 2-100 раз включительно по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта.

[20] В различных вариантах реализации изобретения введение ТИМР-РВС субъекту обеспечивает снижение уровней антинуклеарных антител в крови. В различных вариантах реализации изобретения лечение ТИМР-РВС обеспечивает уменьшение уровней антинуклеарных антител на около 5%-100% или в около 2-100 раз включительно по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта.

[21] В различных вариантах реализации изобретения введение ТИМР-РВС субъекту обеспечивает снижение уровней IgM в крови. В различных вариантах реализации изобретения лечение ТИМР-РВС обеспечивает уменьшение уровней IgM на около 5%-100% или в около 2-100 раз по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта.

[22] В различных вариантах реализации изобретения введение ТИМР-РВС субъекту обеспечивает снижение уровней антитела к Gp210, антитела к Sp100, кинуренина и/или растворимого CD14 в крови. В различных вариантах реализации изобретения лечение ТИМР-РВС обеспечивает уменьшение уровней антитела к Gp210, антитела к Sp100, кинуренина и/или CD14 на около 5%-100% или в около 2-100 раз по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта.

[23] В различных вариантах реализации данное изобретение относится к способу лечения РВС или связанных с РВС симптомов у нуждающегося в этом субъекта, включающему введение субъекту композиции, содержащей ТИМР-РВС, отдельно или в комбинации с терапевтическим средством, пригодным для лечения РВС. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство, пригодное для лечения РВС, представляет собой стероид, кортикостероид, нестероидное иммунодепрессивное средство, иммуномодулирующее средство, моноклональное антитело, цитокин- и хемокин-направленную терапию, ингибитор JAK, терапию с использованием Т-клеток с химерными антигенными рецепторами (CAR), терапию с использованием регуляторных

T-клеток (Treg), терапию, направленную на В-клетки, противовирусные лекарственные средства, синтетические желчные кислоты или хирургическое лечение. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство представляет собой урсодезоксихолевую кислоту (UDCA), обетихоловую кислоту (OCA), фибраты, агонист рецептора  $\delta$ , активируемого пролифераторами пероксисом (pparg $\delta$ ), ингибитор транспортера желчных кислот в подвздошной кишке (IBAT), устекинумаб, тауроурсодезоксихолевую кислоту, б $\alpha$ -этилхенодесоксихолевую кислоту, сетанаксиб, мозексиприл, абатацепт, фактор роста фибробластов, статины, колхикон, CD20-направленную терапию, CD19-направленную терапию, CD40/CD40L-направленную терапию, CD80/CD86-направленную терапию, терапию, направленную на нацеленный на В-клетки фактор (BAFF), терапию, направленную на антиген созревания В-клеток (BCMA), анти-IL6 терапию, анти-IFN терапию, амифампридин, циклоспорин, циклофосфамид, батоклимаб, инебилизумаб, нипокалимаб, позелимаб, ритуксимаб, сатрализумаб, селделапар, пентоксифиллин, тоцилизумаб, тофацитиниб, толебрутиниб, аворстатин, фенофибрат, безафибрат, линериксibat, метотрексат, бутират, пальмитат или трансплантацию печени. В различных вариантах реализации изобретения стероид или кортикостероид выбран из группы, включающей беклометазон, циклесонид, флутиказона фуруат, мометазон, будесонид, флутиказон, триамцинолон и лотепреднол, кортизон, преднизон, преднизолон, метилпреднизолон, триамсинолон, дексаметазон, бетаметазон или гидрокортизон.

[24] В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство вводят до, одновременно или после введения ТИМР-РВС. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство вводят за 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 суток до введения ТИМР-РВС. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство вводят за 1, 2, 3 или 4 недели до введения ТИМР-РВС. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство вводят за 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев до введения ТИМР-РВС. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство вводят за 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 лет до введения ТИМР-РВС. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство вводят через 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 суток после введения ТИМР-РВС. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство вводят через 1, 2, 3 или 4 недели после введения ТИМР-РВС. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство вводят через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев после введения ТИМР-РВС. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство вводят через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 лет после введения ТИМР-РВС.

[25] Также предусматривается композиция, содержащая ТИМР-РВС, как описано в данном документе, для лечения первичного билиарного холангита. В различных вариантах реализации данное изобретение относится к использованию композиции, содержащей ТИМР-РВС, как описано в данном документе, для получения лекарственного препарата для лечения первичного билиарного холангита.

[26] Следует понимать, что каждый признак или вариант реализации изобретения, или комбинация, описанные в данном документе, являются неограничивающим иллюстративным примером любого из аспектов данного изобретения, и, таким образом, подразумевается, что они могут комбинироваться с любым другим признаком или вариантом реализации изобретения, или комбинацией, описанными в данном документе. Например, когда признаки описываются такими словами, как «один вариант реализации изобретения», «некоторые варианты реализации изобретения», «определенные варианты реализации изобретения», «дополнительный вариант реализации изобретения», «конкретные типовые варианты реализации изобретения» и/или «другой вариант реализации изобретения», каждый из этих типов вариантов реализации изобретения является неограничивающим примером признака, который предназначен для объединения с любым другим признаком или комбинацией признаков, описанных в данном документе, без необходимости перечисления всех возможных комбинаций. Такие признаки или комбинации признаков применимы к любому из аспектов данного изобретения. Там, где описываются примеры значений, попадающих в диапазоны, любые из этих примеров предполагаются как возможные конечные точки диапазона, предполагаются все возможные значения между такими конечными точками и предусматриваются все возможные комбинации верхних и нижних конечных точек.

#### Краткое описание графических материалов

[27] Фиг. 1. CNP-104 ингибирует пролиферацию антигенспецифических Т-клеток в мышинной модели РВС. Пролиферация PDC-E2-специфических Т-клеток у мышей, обработанных CNP-104, партия 2107GM07. Пролиферацию PDC-E2-специфических Т-клеток в группе обработки CNP-104 сравнивали с контрольной группой, получающей CNP без нагрузки, в мышинной модели РВС. \*\*\*\* соответствует  $p < 0,0001$ .

[28] Фиг. 2. CNP-104 ингибирует антимиохондриальное IgG-антитело в мышинной модели РВС. Титры PDC-E2 специфического IgG-антимиохондриального антитела (АМА) определяли у мышей, примированных PDC-E2155-185 и обработанных CNP-104 или контрольными наночастицами (CNP) без нагрузки, с помощью ELISA.

[29] Фиг. 3А-3В. CNP-104 ингибирует антигенспецифический Т-клеточный ответ в модели DTH. Мышей C57BL/6 примировали PDC-E2-пептидом, эмульгированным в CFA, на 0-е сутки. На 0-е сутки и 7-е сутки после примирования мышей обрабатывали CNP 104 в дозе 2,5 мг доза/мышь (10 мг/кг HED). На 14-е сутки после примирования мышей внутрикожно иммунизировали PDC-E2-пептидом (одна партия, Фиг. 3А; несколько партий, Фиг. 3В) или альбумином куриного яйца (отрицательный контроль). Толщину ушной раковины каждого уха измеряли сразу после стимуляции PDC-E2-пептидом и OVA, а также через 24 часа после стимуляции. Изменение толщины ушной раковины ( $\Delta T$ ) для обеих ушей каждой мыши рассчитывали для оценки DTH-ответа.

[30] Фиг. 4. CNP-104 ингибирует инфильтрацию лейкоцитов в печень в мышинной модели РВС. Уровни инфильтрации лейкоцитов (CD45+) в печень определяли для мышей, примированных PDC-E2155-185, с помощью проточной цитометрии.

[31] Фиг. 5. CNP-104 повышает количество регуляторных Т-клеток в печени. В день начала эксперимента (0-е сутки) мышей примировали 2-октинозой кислотой, конъюгированной с бычьим сывороточным альбумином (20А-BSA)/CFA, путем внутрибрюшинной инъекции (i.p.). Примирование 20А-BSA i.p. повторяли с использованием IFA на 14-е сутки. На 0-сутки и 2-е сутки мышам путем i.p. инъекции вводили 100 нг коклюшного токсина. На 0-сутки и 14-е сутки мышам путем подкожной инъекции вводили 5 мг/кг поли(I:C). На 7-е сутки мышей примировали эмульсией PDC-E2-пептид/CFA. Мышей обрабатывали внутривенно CNP 104 на 7-е сутки и 14-е сутки. Печень анализировали в отношении Treg на 55-е сутки. Обработка CNP 104 обеспечивала повышение частоты встречаемости Treg в печени по сравнению с наивным необработанным контролем.

[32] Фиг. 6А и 6В. График мероприятий клинического испытания для оценки безопасности и эффективности CNP-104.

[33] На Фиг. 7 Проиллюстрированы гаплотип HLA, присутствие антимитохондриальных антител (АМА) и уровни щелочной фосфатазы в крови пациентов с PBC, при этом у 70% пациентов с PBC экспрессируется гаплотип HLA, ограниченный по PDC-E2. У 70% и 76% пациентов с PBC наблюдается положительный результат по АМА и повышенные уровни ALP соответственно.

[34] На Фиг. 8 показаны количества клеток в случае CD4+ Т-клеток, CD8+ Т-клеток и клеток эпителия желчных протоков, оцененные в биоптатах печени с использованием мультиплексной иммунофлуоресцентной панели.

Подробное описание сущности изобретения

[35] Существует потребность в терапевтических средствах для устранения иммунного дисбаланса при PBC, обеспечивающих улучшение в отношении симптомов заболевания и улучшение результатов лечения без риска токсических побочных эффектов. Данное изобретение относится к методологии мониторинга индукции и поддержания иммунологической толерантности у субъекта с PBC после получения иммунотерапии.

[36] Заголовки в данном документе предназначены для удобства читателя и не предназначены для ограничения. Дополнительные аспекты, варианты реализации и варианты данного изобретения будут очевидны из подробного описания, и/или графических материалов, и/или формулы изобретения.

### **Определения**

[37] Если не указано иное, следующие термины, используемые в данной заявке, включая описание и формулу изобретения, имеют приведенные ниже определения.

[38] В контексте данного описания и прилагаемой формулы изобретения формы единственного числа объекта включают множественное число, а также объекты в единственном числе, если контекстом явно не указано иное.

[39] Термин «около» или «приблизительно» означает приемлемую погрешность для конкретного значения, как определено специалистом в данной области техники, которая частично зависит от того, как измеряется или определяется значение. В

определенных вариантах реализации изобретения термин «около» или «приблизительно» означает значение в пределах 1, 2, 3 или 4 стандартных отклонений. В определенных вариантах реализации изобретения термин «около» или «приблизительно» означает в пределах 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% или 0,05% от данного значения или диапазона. Всякий раз, когда термин «около» или «приблизительно» предшествует первому числовому значению в серии из двух или более числовых значений, подразумевается, что термин «около» или «приблизительно» применяется к каждому из числовых значений в этой серии.

[40] В контексте данного документа «частица» относится к любой композиции, происходящей не из ткани, при этом она может быть сферой или сфероподобным объектом, гранулой или липосомой. Термин «частица», термин «иммуномодифицирующая частица», термин «частица-носитель» и термин «гранула» в зависимости от контекста могут использоваться взаимозаменяемо. Кроме того, термин «частица» может использоваться для охвата гранул и сфер.

[41] «Отрицательно заряженная частица» в контексте данного документа относится к частицам, которые были модифицированы так, чтобы они имели суммарный поверхностный заряд меньше нуля.

[42] Термин «карбоксилированные частицы», или «карбоксилированные гранулы», или «карбоксилированные сферы» включает любую частицу, которая была модифицирована так, чтобы она содержала на своей поверхности карбоксильную группу. В некоторых вариантах реализации изобретения добавление карбоксильной группы усиливает поглощение фагоцитами/моноцитами частиц из кровотока, к примеру, посредством взаимодействия со скавенджер-рецепторами, такими как MARCO. Карбоксилирование частиц может быть достигнуто с использованием любого соединения, которое добавляет карбоксильные группы.

[43] В контексте данного документа термин «Th-клетка» или «хелперная Т-клетка» относится к  $CD4^+$  клеткам.  $CD4^+$  Т-клетки помогают другим лейкоцитам в иммунологических процессах, включая созревание В-клеток в плазматические клетки и В-клетки памяти и активацию цитотоксических Т-клеток и макрофагов. Т-клетки становятся активированными после представления им пептидных антигенов молекулами МНС класса II, которые экспрессируются на поверхности антиген-представляющих клеток (АПК).

[44] В контексте данного документа термин «Th1-клетка» относится к субпопуляции Th-клеток, которые продуцируют провоспалительные медиаторы. Th1-клетки секретируют цитокины для содействия иммунного ответа и играют роль в защите хозяина от патогенов, частично путем опосредования привлечения нейтрофилов и макрофагов в инфицированные ткани. Th1-клетки секретируют цитокины, включая IFN-гамма, IL2, IL-10 и TNF альфа/бета, для координации защиты от внутриклеточных патогенов, таких как вирусы и некоторые бактерии.

[45] «Полипептид» и «белок» относятся к полимеру, состоящему из аминокислотных остатков, родственных встречающихся в природе структурных

вариантов и их синтетических не встречающихся в природе аналогов, связанных пептидными связями или изостерами пептидных связей. Синтетические полипептиды могут быть синтезированы, например, с использованием автоматического синтезатора полипептидов. Термины «полипептид» и «белок» не ограничиваются минимальной длиной продукта. Термин «белок», как правило, относится к крупным полипептидам. Термин «пептид», как правило, относится к коротким полипептидам. Таким образом, пептиды, олигопептиды, димеры, мультимеры и т.п. включены в указанное определение. Как полноразмерные белки, так и их фрагменты охватываются указанным определением. Термины «полипептид» и «белок» также включают постэкспрессионные модификации полипептида или белка, например, гликозилирование, ацетилирование, фосфорилирование и т.п. Кроме того, для целей данного изобретения «полипептид» может включать «модификации», такие как делеции, добавления, замены (которые могут быть консервативными по своей природе или могут включать замены на любую из 20 аминокислот, которые обычно присутствуют в белках человека, или любые другие встречающиеся или не встречающиеся в природе, или нетипичные, аминокислоты) и химические модификации (например, добавление или замена пептидомиметиками), в отношении нативной последовательности. Эти модификации могут быть преднамеренными, например, посредством сайт-направленного мутагенеза или химической модификации аминокислот для удаления или присоединения химических фрагментов, или могут быть случайными, например, в результате мутаций, возникающих у клеток-хозяев, в результате которых образуются белки, или в результате ошибок, обусловленных ПЦР-амплификацией, до трансфекции клеток-хозяев.

[46] «Антигенный фрагмент» или «антиген» в контексте данного документа относится к любому фрагменту, например, пептиду, который распознается иммунной системой хозяина. Примеры распознаваемых антигенных фрагментов включают без ограничения аутоантигены, аллергены, ферменты и/или бактериальные или вирусные белки, пептиды, лекарственные средства или их компоненты.

[47] «Фармацевтически приемлемый носитель» относится к любым из стандартных фармацевтических носителей, буферов и т.п., таким как забуференный фосфатом солевой раствор, 5% водный раствор декстрозы и эмульсии (например, эмульсия масло/вода или вода/масло). Неограничивающие примеры эксципиентов включают вспомогательные вещества, связующие вещества, наполнители, разбавители, разрыхлители, эмульгирующие вещества, смачивающие вещества, смазывающие вещества, вещества, способствующие скольжению, подсластители, ароматизаторы и красители. Подходящие фармацевтические носители, эксципиенты и разбавители описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Ed. (Mack Publishing Co., Easton, 1995). Предпочтительные фармацевтические носители зависят от предполагаемого способа введения активного средства. Типичные способы введения включают энтеральный (например, пероральный) или парентеральный (например, подкожную, внутримышечную, внутривенную или внутрибрюшинную инъекцию; или местное, трансдермальное или трансмукозальное

введение).

[48] Под «фармацевтически приемлемым» или «фармакологически приемлемым» подразумевается вещество, которое не является биологически или иным образом неприемлемым, т.е. вещество можно вводить индивидууму без стимуляции нежелательных биологических эффектов или без негативного взаимодействия с какими-либо из компонентов композиции, в которой он содержится, или с какими-либо из компонентов, присутствующих на теле или в организме индивидуума.

[49] В контексте данного документа термин «субъект» охватывает млекопитающих и отличных от млекопитающих животных. Примеры млекопитающих включают без ограничения любого представителя класса млекопитающие: людей, отличных от человека приматов, таких как шимпанзе и другие виды человекообразных обезьян и обезьянообразных; сельскохозяйственных животных, таких как крупный рогатый скот, лошади, овца, козы, свиньи; домашних животных, таких как кролики, собаки и кошки; лабораторных животных, включая грызунов, таких как крысы, мыши и морские свинки и т. д. Примеры отличных от млекопитающих животных включают без ограничения птиц, рыбу и т. д. Этот термин не обозначает конкретный возраст или пол.

[50] Термин «эпитоп» относится к той части любой молекулы, способной распознаваться и связываться селективным связывающим средством в одной или нескольких антигенсвязывающих областях. Эпитопы обычно состоят из химически активных групп на поверхности молекул, таких как аминокислоты и боковые цепи углеводов, и обладают специфическими характеристиками трехмерной структуры, а также специфическими характеристиками заряда. В контексте данного документа эпитопы могут быть смежными или несмежными. Более того, эпитопы могут быть миметическими (мимотопами) в том смысле, что они содержат трехмерную структуру и/или аминокислотную последовательность, которая идентична или подобна эпитопу, используемому для образования антитела, но не содержат ни одного или содержат только некоторые аминокислотные остатки, обнаруженные в мишени, которые были использованы для стимуляции опосредованного антителом иммунного ответа. В контексте данного документа мимотоп не считается антигеном, отличным от эпитопа, связываемого селективным связывающим средством; селективное связывающее средство распознает одну и ту же трехмерную структуру и/или аминокислотную последовательность эпитопа и мимотопа.

[51] Под используемым в данном документе термином «симптом» подразумевается любое физическое или наблюдаемое проявление нарушения, независимо от того, является ли оно в целом характерным для этого нарушения или нет. Термин «симптомы» может означать все такие проявления или любое их подмножество.

[52] Термин «терапевтически эффективное количество» используется в данном документе для обозначения количества антигенспецифической композиции по данному изобретению, которое является эффективным для уменьшения интенсивности или ослабления симптомов или признаков подлежащего лечению заболевания.

[53] Термины «лечить», «леченый», «осуществление лечения» и «лечение», используемые по отношению к способам в данном документе, относятся к устранению, снижению, подавлению или уменьшению интенсивности, либо временно, либо на постоянной основе, одного или нескольких из клинического симптома, проявления или прогрессирования события, заболевания или состояния. Такое лечение не обязательно должно быть абсолютным, чтобы быть полезным. Для целей данного изобретения благоприятные или требуемые клинические результаты включают без ограничения ослабление симптомов, уменьшение степени заболевания, стабилизированное (т. е. без ухудшения) течение заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания, уменьшение интенсивности или смягчение течения заболевания и ремиссию (частичную или полную), выявляемую или невыявляемую. «Лечение» также может означать продление выживания по сравнению с ожидаемым выживанием в случае отсутствия получения лечения. К нуждающимся в лечении относятся лица, у которых уже имеется состояние или нарушение, а также лица, склонные к развитию состояния или нарушения, или лица, у которых состояние или нарушение необходимо предупредить.

#### **Частицы**

[54] Для индукции толерантности важны размер и заряд частиц. Хотя частицы будут различаться по размеру и заряду в зависимости от инкапсулированного в них антигена, в целом частицы, описанные в данном документе, эффективны для индукции толерантности, если их размер составляет от около 100 нанометров до около 1500 нанометров, и они имеют отрицательный заряд от 0 до около -100 мВ. В различных вариантах реализации изобретения диаметр частиц составляет 400-800 нанометров и они имеют заряд от около -25 мВ до -70 мВ. Средний размер частиц и заряд частиц могут слегка изменяться в процессе лиофилизации, поэтому описаны как средние значения после синтеза, так и средние значения после лиофилизации. В контексте данного документа термин «размер после синтеза» и «заряд после синтеза» относятся к размеру и заряду частицы до лиофилизации. Термин «размер после лиофилизации» и «заряд после лиофилизации» относятся к размеру и заряду частицы после лиофилизации.

[55] В некоторых вариантах реализации изобретения частица является неметаллической. В таких вариантах реализации изобретения частица может быть образована из полимера. В предпочтительном варианте реализации изобретения частица является биоразлагаемой в организме индивидуума. В таком варианте реализации изобретения частицы могут быть доставлены в организм индивидуума посредством многократных доз без накопления частиц в организме индивидуума. Примеры подходящих частиц включают частицы из полистирола, PGA-частицы, PLA-частицы, PLGA-частицы, PLURONICS-стабилизированные частицы из сульфида полипропилена и алмазные частицы.

[56] Предпочтительно поверхность частиц состоит из материала, который сводит к минимуму неспецифические или нежелательные биологические взаимодействия. Взаимодействия между поверхностью частиц и интерстициальной тканью может быть

фактором, который играет роль в лимфатическом поглощении. Поверхность частиц может быть покрыта материалом для предотвращения или снижения неспецифических взаимодействий. Стерическая стабилизация путем покрытия частиц гидрофильными слоями, такими как поли(этиленгликоль) (PEG) и его сополимеры, такие как PLURONICS® (включая блок-сополимеры поли(этиленгликоль)-поли(пропиленгликоль)-поли(этиленгликоль)) может снизить неспецифические взаимодействия с белками интерстициальной ткани, о чем свидетельствует улучшение лимфатического поглощения после подкожных инъекций. Все эти факты предполагают значимость физических свойств частиц с точки зрения лимфатического поглощения. Биоразлагаемые полимеры можно использовать для изготовления всех или некоторых полимеров и/или частиц и/или слоев. Биоразлагаемые полимеры могут подвергаться разрушению, например, в результате реакции функциональных групп с водой в растворе. Термин «разрушение» в контексте данного документа относится к растворению либо за счет уменьшения молекулярной массы, либо за счет превращения гидрофобных групп в гидрофильные группы. Полимеры со сложноэфирными группами обычно подвергаются спонтанному гидролизу, например, полилактиды и полигликолиды.

[57] Частицы, описанные в данном документе, могут также содержать дополнительные компоненты. Например, носители могут иметь визуализирующие средства, включенные в носитель или конъюгированные с ним. Примером наносферы-носителя, имеющей визуализирующее средство, которая в настоящее время является коммерчески доступной, является наносфера Kodak X-Sight. Неорганические квантово-размерные люминесцентные нанокристаллы, известные как квантовые точки (QD), стали идеальными донорами для применения во FRET: их высокий квантовый выход и произвольно подбираемый зависимый от размера стоксов сдвиг позволяют при различных размерах излучать в диапазоне от голубого до инфракрасного, будучи возбужденными ультрафиолетом с одной и той же длиной волны. (Bruchez, et al., *Science*, 1998, 281, 2013; Niemeyer, C. M *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003, 42, 5796; Waggoner, A. *Methods Enzymol.* 1995, 246, 362; Brus, L. E. *J. Chem. Phys.* 1993, 79, 5566). Квантовые точки, такие как гибридные органические/неорганические квантовые точки на основе класса полимеров, известного как дендримеры, можно использовать для биологического мечения, визуализации и в оптических биосенсорных системах. (Lemon, et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 12886). В отличие от традиционного синтеза неорганических квантовых точек, синтез этих гибридных наночастиц-квантовых точек не требует высоких температур или высокотоксичных нестабильных реагентов. (Etienne, et al., *Appl. Phys. Lett.* 87, 181913, 2005).

[58] Частицы могут быть образованы из широкого спектра материалов. Частица предпочтительно состоит из материала, подходящего для биологического применения. Например, частицы могут состоять из стекла, силикагеля, полиэфиров гидроксикарбоновых кислот, полиангидридов дикарбоновых кислот или сополимеров гидроксикарбоновых кислот и дикарбоновых кислот. В более общем случае, частица-

носитель может состоять из полиэфиров прямоцепочечных или разветвленных, замещенных или незамещенных, насыщенных или ненасыщенных, линейных или поперечно сшитых, алканил-, галогеналкил-, тиаалкил-, аминоалкил-, арил-, аралкил-, алкенил-, аралкенил-, гетероарил- или алкоксигидроксикислот или полиангидридов прямоцепочечных или разветвленных, замещенных или незамещенных, насыщенных или ненасыщенных, линейных или поперечно сшитых, алканил-, галогеналкил-, тиаалкил-, аминоалкил-, арил-, аралкил-, алкенил-, аралкенил-, гетероарил- или алкоксидикарбоновых кислот. Кроме того, частицы-носители могут представлять собой квантовые точки или состоять из квантовых точек, как, например, частицы из полистирола, представляющие собой квантовые точки (Joumaa et al. (2006) *Langmuir* 22: 1810-6). Также можно использовать частицы-носители, включающие смеси сложноэфирных и ангидридных связей (например, сополимеры гликолевой и себациновой кислот). Например, частицы-носители могут содержать материалы, включающие полимеры, представляющие собой полигликолевую кислоту (PGA), полимеры, представляющие собой полимолочную кислоту (PLA), полимеры, представляющие собой полисебациновую кислоту (PSA), сополимеры молочной и гликолевой кислоты (PLGA или PLG; термины являются взаимозаменяемыми), сополимеры молочной и себациновой кислот (PLSA), сополимеры гликолевой и себациновой кислот (PGSA), полимеры, представляющие собой сульфид полипропилена, поли(капролактон), хитозан и т.д. Другие биологически совместимые биоразлагаемые полимеры, пригодные в данном изобретении, включают полимеры или сополимеры капролактонов, карбонатов, амидов, аминокислот, ортоэфиров, ацеталей, цианоакрилатов и разрушаемых уретанов, а также сополимеры вышеуказанного с прямоцепочечными или разветвленными, замещенными или незамещенными, алканил-, галогеналкил-, тиаалкил-, аминоалкил-, алкенил- или ароматическими гидрокси- или дикарбоновыми кислотами. Кроме того, важные с биологической точки зрения аминокислоты с реакционноспособными группами боковых цепей, такие как лизин, аргинин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, серин, треонин, тирозин и цистеин, или их энантимеры, могут быть включены в сополимеры с любым из вышеупомянутых материалов для обеспечения реакционноспособных групп для конъюгации с антигенными пептидами и белками или конъюгирующими фрагментами. Биоразлагаемые материалы, подходящие для данного изобретения, включают полимерные композиты с алмазами, PLA, PGA, сульфид полипропилена и PLGA-полимеры. Биологически совместимые, но не являющиеся биоразлагаемыми материалы также можно использовать в частицах-носителях по данному изобретению. Например, можно использовать не являющиеся биоразлагаемыми полимеры акрилатов, этиленвинилацетатов, ацилзамещенных ацетатов целлюлозы, неразлагающихся уретанов, стиролов, винилхлоридов, винилфторидов, винилимидазолов, хлоросульфированных олефинов, этиленоксида, виниловых спиртов, TEFLON<sup>®</sup> (DuPont, Уилмингтон, Делавэр) и нейлонов.

[59] В определенных вариантах реализации изобретения частица является

сополимером, имеющим молярное соотношение от около 80:20 до около 100:0 или от около 20:80 до 100:0. Подходящее сополимерное соотношение толерогенных иммуномодифицирующих частиц по данному изобретению может составлять 25:75, 30:70, 35:65, 40:60, 45:55, 50:50, 55:45, 60:40, 65:35, 70:30, 75:25, 80:20, 81:19, 82:18, 83:17, 84:16, 85:15, 86:14, 87:13, 88:12, 89:11, 90:10, 91:9, 92:8, 93:7, 94:6, 95:5, 96:4, 97:3, 98:2, 99:1 или 100:0. В определенных вариантах реализации изобретения частица представляет собой PLURONICS-стабилизированную частицу из сульфида полипропилена, частицу из полигликолевой кислоты (PGA), частицу из полимолочной кислоты (PLA) или частицу из сополимера молочной и гликолевой кислот или частицу из карбоксилированной полигликолевой кислоты (PGA), частицу из карбоксилированной полимолочной кислоты (PLA) или частицу из карбоксилированного сополимера молочной и гликолевой кислот. В определенных вариантах реализации изобретения частица имеет сополимерное соотношение полимолочная кислота/полигликолевая кислота 80:20: полимолочная кислота/полигликолевая кислота 90:10: полимолочная кислота/полигликолевая кислота 50:50. В различных вариантах реализации изобретения частица представляет собой частицу из сополимера молочной и гликолевой кислот и имеет сополимерное соотношение полимолочная кислота:полигликолевая кислота около 50:50.

[60] Предполагается, что частица может дополнительно содержать поверхностно-активное вещество. Поверхностно-активное вещество может быть анионным, катионным или неионогенным. В синтезе частиц обычно используются поверхностно-активные вещества семейства полочсамеров и полочсаминов. Поверхностно-активные вещества, которые можно использовать, включают без ограничения PEG, Tween-80, желатин, декстран, Pluronic L-63, поливиниловый спирт (PVA), полиакриловую кислоту (PAA), метилцеллюлозу, лецитин, диметиламинобензальдегид (DMAВ) и поли(этилметакрилат) (PEМА). Кроме того, можно использовать биоразлагаемые и биологически совместимые поверхностно-активные вещества, включая без ограничения витамин Е ТPGS (D-α-токоферол полиэтиленгликоль 1000 сукцинат), полиаминокислоты (например, полимеры лизина, аргинина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, серина, треонина, тирозина и цистеина или их энантиомеров) и сульфатированные полимеры. В определенных вариантах реализации изобретения используются два поверхностно-активных вещества. Например, если частицу получают способом двойного эмульгирования, два поверхностно-активных вещества могут включать гидрофобное поверхностно-активное вещество для первой эмульсии и гидрофобное поверхностно-активное вещество для второй эмульсии. В определенных вариантах реализации изобретения полипептидные антигены инкапсулируют в частицы с помощью процесса однократного эмульгирования. В дополнительном варианте реализации изобретения полипептидные антигены являются более гидрофобными. Иногда процесс двойной эмульсации приводит к образованию крупных частиц, что может привести к утечке гидрофильного активного компонента и низкой эффективности захвата. Слияние и оствальдовское созревание представляют собой два механизма, которые могут

дестабилизировать полученную путем двойного эмульгирования каплю, и диффузия через органическую фазу гидрофильного активного компонента является основным механизмом, ответственным за низкие уровни захваченного активного компонента. В некоторых вариантах реализации изобретения может быть полезно уменьшить размер наночастиц. Одной из стратегий достижения этой цели является применение второй высокой скорости сдвига. Эффект утечки можно снизить за счет использования высокой концентрации полимера и высокой молекулярной массы полимера, что сопровождается повышением вязкости внутренней водной фазы и повышением молекулярной массы поверхностно-активного вещества. В определенных вариантах реализации изобретения частицы, инкапсулирующие антигены, производят путем наноразмерного осаждения, совместного осаждения, конденсации в инертном газе, распыления, микроэмульгирования, процесса золь-гель, послойной методики или метода ионного гелеобразования. Некоторые способы производства наночастиц описаны в литературе, и они включены в данный документе посредством ссылки.

### **Антигены**

[61] Антиген относится к отдельной части молекулы, такой как полипептидная или пептидная последовательность, 3-мерное структурное образование полипептида или пептида, полисахарид или полинуклеотид, которая может распознаваться иммунными клетками хозяина. Термин «антигенспецифический» относится к способности клеток субъекта-хозяина распознавать и генерировать иммунный ответ против самого антигена или молекул, которые очень похожи на антиген, как в случае с эпитопом или мимотопом.

[62] «Анергия», «толерантность» или «антигенспецифическая толерантность» относится к нечувствительности Т-клеток к опосредованной Т-клеточными рецепторами стимуляции, или перепрограммированию указанных клеток. Такое перепрограммирование обычно является антигенспецифичным и сохраняется после прекращения воздействия антигенного пептида. Это перепрограммирование приводит к индукции регуляторных Т-клеток, T<sub>h</sub>1-клеток и анергии Т-клеток. Например, нечувствительность Т-клеток характеризуется отсутствием эффекторной продукции цитокинов, отсутствием пролиферации или отсутствием активации. Перепрограммирование происходит, когда Т-клетки подвергаются воздействию антигена и получают первый сигнал (сигнал от Т-клеточного рецептора или CD3-опосредованный сигнал) в отсутствие второго сигнала (костимулирующий сигнал) или в присутствии ингибирующего сигнала (отрицательная костимуляция или регуляторные цитокины). В этих условиях повторное воздействие на клетки того же антигена (даже если повторное воздействие происходит в присутствии костимулирующей молекулы) приводит к неспособности продуцировать цитокины и, как следствие, неспособности к пролиферации. Таким образом, неспособность продуцировать цитокины препятствует пролиферации. Однако анергические Т-клетки могут пролиферировать при культивировании с цитокинами (например, IL-2).

[63] Предполагается, что толерогенная терапия, описанная в данном документе, является антигенспецифической. Например, в ТИМР, вводимые в качестве толерогенной

терапии, инкапсулированы один или несколько антигенов, ассоциированных с указанной толерогенной терапией, и ассоциированных с заболеванием или состоянием, подлежащим лечению. Предполагается, что ТИМР, используемые в толерогенной терапии, содержат один или несколько РВС-антигенов. Один или несколько РВС-антигенов могут представлять собой целые белки, полипептиды или пептиды, содержащие связанные с РВС антигенные эпитопы.

[64] В определенных вариантах реализации изобретения в ТИМР используются один, два, три или большее число антигенов или антигенных пептидов. В определенных вариантах реализации изобретения один или несколько РВС-антигенов инкапсулированы в ТИМР посредством ковалентной связи с внутренней поверхностью частицы (см., например, публикацию заявки на патент США US20190282707, включенную в данный документ посредством ссылки). В определенных вариантах реализации изобретения предполагается, что последовательности двух или более РВС-антигенов соединены с образованием слитого белка и инкапсулированы в ТИМР, описанные в данном документе. Определенные РВС-эпитопы описаны в Shimoda et al. (*Gastroenterology* 124:1915-1925, 2003). Способы получения ТИМР со связанными эпитопами описаны в публикации заявки на патент США US20190365656, включенной в данный документ посредством ссылки.

#### **Способы применения**

[65] Первичный билиарный холангит (РВС, ранее называемый первичным билиарным циррозом) представляет собой типичное аутоиммунное заболевание печени, характеризующееся деструктивным лимфоцитарным холангитом и специфическими антимитохондриальными аутоантителами (АМА), нацеленными главным образом на компонент Е2 митохондриального пируватдегидрогеназного комплекса (PDC-E2).<sup>1</sup> Распространенность РВС в Соединенных Штатах оценивается примерно в 580 на миллион лиц женского пола.<sup>2</sup> Существует значительная неудовлетворенная медицинская потребность в отношении лечения этого редкого заболевания и возможности оказания положительного влияния ТИМР-РВС у субъектов, страдающих от этого заболевания.

[66] Наиболее распространенной причиной смерти среди пациентов с РВС является печеночная недостаточность.<sup>2</sup> Современный стандарт лечения РВС (урсодезоксихолевая кислота) снижает вероятность необходимости трансплантации печени и увеличивает продолжительность жизни пациента. Однако до 40% пациентов с РВС имеют неоптимальный биохимический ответ на лечение, как определено по критериям бинарного ответа и/или прогностическими моделями.<sup>1</sup>

[67] Варианты лечения, находящиеся в настоящее время на стадии клинических испытаний для РВС, делятся на множественные категории: синтетические желчные кислоты, ингибиторы желчных кислот, агонисты рецептора гамма, активируемого пролифераторами пероксисом (PPAR), и иммунодепрессанты, такие как ритуксимаб и абатацепт. Однако эти классы средств терапии не устраняют первопричину патологии печени, которая обусловлена антигенспецифической аутоиммунной атакой на печень, как непосредственно CD8 Т-клетками, так и косвенно посредством антител.

[68] В данном документе представлен способ лечения РВС у субъекта, включающий введение субъекту ТИМР-РВС, причем ТИМР-РВС вводят при величине дозы, определенной на основе массы субъекта. Также предусматривается, что ТИМР-РВС можно вводить в фиксированной дозе независимо от массы субъекта. В различных вариантах реализации изобретения предусматривается способ лечения РВС у субъекта, включающий введение субъекту ТИМР-РВС, причем ТИМР-РВС вводят в дозе от 0,01 до 12 мг/кг на основе массы субъекта или в фиксированной дозе от 1 мг до 800 мг. Также в данном документе представлен способ снижения воспалительного иммунного ответа на РВС-антигены у субъекта, страдающего РВС, включающий введение субъекту ТИМР-РВС, причем ТИМР-РВС вводят в дозе от 0,01 до 12 мг/кг на основе массы субъекта или в фиксированной дозе от 1 мг до 800 мг.

[69] Также предусматриваются, что ТИМР-РВС вводят в дозе от около 0,01 до 12 мг/кг, от около 0,05 до 10 мг/кг, от около 0,01 до около 5 мг/кг, от около 0,1 до около 10 мг/кг, от около 1 до 8 мг/кг, от около 1,5 до 10 мг/кг, от около 2 до 12 мг/кг, от около 2 до 10 мг/кг, от около 3 до 10 мг/кг, от около 4 до 10 мг/кг, от около 4 до 12 мг/кг или от около 5 до 12 мг/кг. Необязательно, ТИМР-РВС вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,02 мг/кг, 0,05 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,25 мг/кг, 0,5 мг/кг, 1,0 мг/кг, 2,0 мг/кг, 4,0 мг/кг, 6 мг/кг, 8,0 мг/кг, 10 мг/кг или 12 мг/кг. В альтернативном варианте, ТИМР-РВС вводят в дозе около 1 мг, 2 мг, 5 мг, 10 мг, 25 мг, 50 мг, 75 мг, 100 мг, 125 мг, 150 мг, 175 мг, 200 мг, 225 мг, 250 мг, 275 мг, 300 мг, 325 мг, 350 мг, 400 мг, 425 мг, 450 мг, 475 мг, 500 мг, 525 мг, 550 мг, 575 мг, 600 мг, 625 мг, 650 мг, 675 мг, 700 мг, 725 мг, 750 мг, 775 мг или 800 мг. В другом варианте реализации изобретения ТИМР-РВС вводят в концентрации от около 0,005 мг/мл до около 50 мг/мл, необязательно около 0,05 мг/мл, 0,1 мг/мл, 0,5 мг/мл, 1 мг/мл, 2 мг/мл, 3 мг/мл, 3,25 мг/мл, 3,5 мг/мл, 4 мг/мл, 5 мг/мл, 6 мг/мл, 7 мг/мл, 8 мг/мл, 9 мг/мл, 10 мг/мл, 11 мг/мл, 12,5 мг/мл, 15 мг/мл, 17,5 мг/мл, 20 мг/мл, 25 мг/мл, 30 мг/мл, 40 мг/мл или 50 мг/мл.

[70] Предполагается, что ТИМР-РВС вводят в однократной дозе или в многократных дозах. В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС вводят один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в 4 недели, один раз в два месяца, один раз в три месяца, один раз в 6 месяцев, один раз в год, один раз в два года, один раз в три года, один раз в четыре года, один раз в пять лет, один раз в шесть лет, один раз в семь лет, один раз в восемь лет, один раз в девять лет или один раз в десять лет. В определенных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС вводят в двух дозах с интервалом в одну неделю.

[71] В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС вводят внутривенно, подкожно, внутримышечно, внутривнутрино, интраназально или перорально. Предполагается, что если ТИМР-РВС вводят внутривенно, такое введение может осуществляться посредством внутривенной инфузии продолжительностью около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 часов.

[72] Предусматривается, что терапия с помощью ТИМР-РВС обеспечивает

облегчение, ослабление или уменьшение интенсивности одного или нескольких симптомов РВС. Симптомы РВС включают без ограничения воспаление печени, цирроз, холестаза, нарушение функции печени, печеночную недостаточность, фиброз печени, повышенный иммунный инфильтрат печени, повышенные уровни желчных кислот, повышенные уровни ферментов печени (ALT, ALP, AST,  $\gamma$ -глутамилтрансферазы), повышенные уровни билирубина, циркулирующие антимитохондриальные антитела (АМА), циркулирующие антинуклеарные антитела (АНА), утомляемость, кожный зуд, пруриг, сухость глаз и ротовой полости, боль в животе, спленомегалию, скелетно-мышечную боль, отек, накопление жидкости, формы ксантомы кожи, желтуху, гиперпигментацию, остеопороз, повышенный холестерин, диарею, стеаторею, гипотиреоз и потерю массы тела.

[73] Также предусматривается, что терапия с помощью ТИМР-РВС обеспечивает снижение, сокращение продолжительности или уменьшение интенсивности воспалительного иммунного ответа на один или несколько РВС-антигенов у субъекта. Воспалительный иммунный ответ включает Т-клеточный ответ, В-клеточный ответ, Th1-ответ, ответ миелоидных клеток и/или гуморальный иммунный ответ. В различных вариантах реализации изобретения эффективность ТИМР-РВС в отношении облегчения одного или нескольких симптомов РВС и/или снижения продолжительности и тяжести воспалительного иммунного ответа на один или несколько РВС-антигенов определяют с помощью анализа одного или нескольких биологических образцов от субъекта, как описано в данном документе.

#### **Способы скрининга**

[74] Предполагается, что индукция и поддержание иммунологической толерантности подлежит мониторингу у субъекта, страдающего РВС, причем субъект лечится или собирается пройти лечение с помощью антигенспецифической толерогенной терапии, включающей ТИМР, инкапсулирующие РВС-антигены, как описано в данном документе.

[75] Способы скрининга в отношении типов клеток, цитокинов или других показателей толерантности у субъекта, проходящего толерогенную терапию, как описано в данном документе, известны в данной области техники. Способы оценки толерантности выполняют с использованием таких методик, как проточная цитометрия, масс-цитометрия (СyTOF), ELISA, ELISPOT, анализы со стимуляцией клеток *in vitro* или *ex vivo* (включая без ограничения анализы клеточной пролиферации, анализы со стимуляцией макрофагов), определение аутоантител или определение серотипа иммуноглобулина (Ig), например, с помощью анализа ImmunoCap.

[76] В различных вариантах реализации изобретения статус иммунной толерантности субъекта определяют на основе анализа одного или нескольких биологических образцов от субъекта. Биологические образцы включают цельную кровь, периферическую кровь, мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC), сыворотку крови, плазму крови, мочу, спинномозговую жидкость (CSF), кал, биоптат

ткани и/или биоптат костного мозга. В различных вариантах реализации изобретения анализ биологического(биологических) образца(образцов) включает анализ уровней и/или присутствия или отсутствия белков клеточной поверхности, внеклеточных белков, внутриклеточных белков, нуклеиновых кислот, метаболитов, ферментов и/или их комбинаций, релевантных для заболевания или нарушения.

[77] Клетки, анализируемые в биологическом образце, включают иммунные клетки, клетки, отличные от иммунных, и/или их комбинации. Иммунные клетки включают клетки врожденного иммунитета, клетки адаптивного иммунитета и/или их комбинации. Клетки врожденного иммунитета, анализируемые в биологическом(биологических) образце(образцах), представляют собой антигенпредставляющие клетки (APC). Иллюстративные клетки врожденного иммунитета, анализируемые в биологическом образце, включают моноциты, макрофаги, нейтрофилы, гранулоциты, дендритные клетки, тучные клетки, эозинофилы, базофилы и/или их комбинации. Клетки адаптивного иммунитета, анализируемые в биологическом(биологических) образце(образцах), включают эффекторные иммунные клетки, такие как CD4<sup>+</sup> Т-клетки, CD8<sup>+</sup> Т-клетки, В-клетки, NK-клетки, NK-Т-клетки и/или их комбинации. В различных вариантах реализации изобретения Т-клетки представляют собой Th1-клетки, Th2а-клетки, Treg-клетки и Tr1-клетки.

[78] В определенных вариантах реализации изобретения клетки, анализируемые в биологическом(биологических) образце(образцах), представляют собой эпителиальные клетки, стромальные клетки, эндотелиальные клетки, фибробласты, перициты, адипоциты, мезенхимальные стволовые клетки, гемопоэтические стволовые клетки, гемопоэтические клетки-предшественники, гепатоциты, синусоидальные эндотелиальные клетки печени (LSEC) и/или клетки Купфера.

[79] В одном аспекте статус иммунной толерантности субъекта и иммунную сигнатуру определяют путем анализа одного или нескольких белков в одном или нескольких биологических образцах от субъекта. В различных вариантах реализации изобретения белки представляют собой цитокины и/или хемокины. В различных вариантах реализации изобретения белки представляют собой белки, участвующие в передаче сигналов в клетке. В различных вариантах реализации изобретения цитокины и хемокины выбраны из группы, состоящей из IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-12p70, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-17, IL-18, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-27b, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-35, IL-36, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL6, CCL7, CCL8, CCL9, CCL10, CCL11, CCL12, CCL14, CCL15, CCL16, CCL17, CCL18, CCL19, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, CCL28, CXCL1, CXCL2 (MCP-1), CXCL3 (MIP-1 $\alpha$ , CXCL4 (MIP-1 $\beta$ , CXCL5 (RANTES), CXCL6, CXCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCL14, CXCL15, CXCL16, CXCL17, GM-CSF, IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3, растворимого CD14 и/или их комбинаций. В различных вариантах реализации изобретения белок представляет собой протеазу. В

различных вариантах реализации изобретения протеаза представляет собой аспарагиновую протеазу, цистеиновую протеазу, металлопротеазу, сериновую протеазу и/или треониновую протеазу. В различных вариантах реализации изобретения протеаза выбрана из группы, состоящей из ADAM1, ADAM2, ADAM7, ADAM8, ADAM9, ADAM10, ADAM11, ADAM12, ADAM15, ADAM17, ADAM18, ADAM19, ADAAM20, ADAM21, ADAM22, ADAM23, ADAM28, ADAM29, ADAM30, ADAM33, MMP1, MMP2, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, MMP10, MMP11, MMP12, MMP13, MMP14, MMP15, MMP16, MMP17, MMP18, MMP19, MMP20, MMP21, MMP23A, MMP23B, MMP24, MMP25, MMP26, MMP27 и MMP28. В различных вариантах реализации изобретения белки, ассоциированные с апоптозом, выбраны из группы, состоящей из P53, каспазы 1, каспазы 2, каспазы 3, каспазы 4, каспазы 5, каспазы 6, каспазы 7, каспазы 8, каспазы 9, каспазы 10, каспазы 11, каспазы 12, каспазы 13, каспазы 14, BCL-2, BCL-XL, MCL-1, CED-9, A1, BFL1, BAX, BAK, DIVA, BCL-XS, BIK, BIM, BAD, BID и EGL-1. В литературе описано несколько способов анализа белков в биологическом образце, включая ферментный иммуносорбентный анализ (ELISA), варианты вестерн-блота и масс-спектрометрию. В различных вариантах реализации изобретения белок представляет собой один или несколько иммуноглобулинов (Ig). В различных вариантах реализации изобретения Ig выбраны из группы, состоящей из IgA, IgD, IgE, IgM и/или их вариантов. В различных вариантах реализации изобретения иммуноглобулины являются антигенспецифическими. В литературе описано несколько способов выявления иммуноглобулинов в биологическом образце, включая ELISA и ImmunoCap.

[80] В одном аспекте статус иммунной толерантности субъекта и иммунную сигнатуру определяют путем анализа одного или нескольких белков клеточной поверхности в биологическом(биологических) образце(образцах). В различных вариантах реализации изобретения белки клеточной поверхности включают CD1c, CD2, CD3, CD4, CD5, CD8, CD9, CD10, CD11b, CD11c, CD14, CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, TACI, CD25, CD27, CD28, CD30, CD30L, CD31, CD32, CD32b, CD34, CD33, CD38, CD39, CD40, CD40-L, CD41b, CD42a, CD42b, CD43, CD44, CD45, CD45RA, CD47, CD45RA, CD45RO, CD48, CD52, CD55, CD56, CD58, CD61, CD66b, CD69, CD70, CD72, CD79, CD68, CD84, CD86, CD93, CD94, CD95, CRACC, BLAME, BCMA, CD103, CD107, CD112, CD120a, CD120b, CD123, CD125, CD127, CD134, CD135, CD140a, CD141, CD154, CD155, CD160, CD161, CD163, CD172a, XCR1, CD203c, CD204, CD206, CD207, CD226, CD244, CD267, CD268, CD269, CD355, CD358, CRTH2, NKG2A, NKG2B, NKG2C, NKG2D, NKG2E, NKG2F, NKG2H, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIR3DL4, KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS4, KIR2DS5, DAP12, KIR3DS, NKp44, NKp46, TCR, BCR, интегрины, Fc $\beta$ RI, MHC-I, MHC-II, IL-1R, IL-2R $\alpha$ , IL-2R $\beta$ , IL-2R $\gamma$ , IL-3R $\alpha$ , CSF2RB, IL-4R, IL-5R $\alpha$ , CSF2RB, IL-6R $\alpha$ , gp130, IL-7R $\alpha$ , IL-9R, IL-10R, IL-12R $\beta$ 1, IL-12R $\beta$ 2, IL-13R $\alpha$ 1, IL-13R $\alpha$ 2, IL-15R $\alpha$ , IL-21R, IL23R, IL-27R $\alpha$ , IL-31R $\alpha$ , OSMR, CSF-1R, IL-15 клеточной поверхности, IL-10R $\alpha$ , IL-10R $\beta$ , IL-20R $\alpha$ , IL-20R $\beta$ , IL-22R $\alpha$ 1, IL-22R $\alpha$ 2, IL-22R $\beta$ , IL-28RA, PD-1, PD-1H, BTLA,

CTLA-4, PD-L1, PD-L2, 2B4, B7-1, B7-2, B7-H1, B7-H4, B7-DC, DR3, LIGHT, LAIR, LT $\alpha$ 1 $\beta$ 2, LT $\beta$ R, TIM-1, TIM-3, TIM-4, TIGIT, LAG-3, ICOS, ICOS-L, SLAM, SLAMF2, OX-40, OX-40L, GITR, GITRL, TL1A, HVEM, 41-BB, 41BB-L, TL-1A, TRAF1, TRAF2, TRAF3, TRAF5, BAFF, BAFF-R, APRIL, TRAIL, RANK, AITR, TRAMP, CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10, CCR11, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR6, CXCR7, CLECL9a, DC-SIGN, IGSF4A, SIGLEC, EGFR, PDGFR, VEGFR, FAP,  $\alpha$ -SMA, FAS, FAS-L, FC, ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, ICAM-4, ICAM-5, PECAM-1, MICA, MICB, UL16, ULBP1, ULBP2, ILBP3, ULBP4, ULBP5, ULBP6, MULT1, RAE1  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  и  $\epsilon$ , H60a, H60b, H60c, GPR15, ST2 и/или их комбинации. Интегрины включают  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2,  $\alpha$ IIb,  $\alpha$ 3,  $\alpha$ 4,  $\alpha$ 5,  $\alpha$ 6,  $\alpha$ 7,  $\alpha$ 8,  $\alpha$ 9,  $\alpha$ 10,  $\alpha$ 11,  $\alpha$ D,  $\alpha$ E,  $\alpha$ L,  $\alpha$ M,  $\alpha$ V,  $\alpha$ X,  $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\beta$ 3,  $\beta$ 4,  $\beta$ 5,  $\beta$ 6,  $\beta$ 7,  $\beta$ 8 и/или их комбинации. TCR включают цепи  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$  и/или их комбинации. В литературе описано несколько способов анализа экспрессии белков клеточной поверхности, включая проточную цитометрию и масс-цитометрию (CyTOF).

[81] В различных вариантах реализации изобретения статус иммунной толерантности субъекта и иммунную сигнатуру определяют путем анализа функции печени субъекта. В различных вариантах реализации изобретения функцию печени субъекта определяют с помощью анализа общего холестерина, триглицерида, LDL-холестерина, аспаратаминотрансферазы (AST), аланинаминотрансферазы (ALT), гамма-глутамилтрансферазы (GGT), щелочной фосфатазы (ALP), альбумина, общего белка, общего билирубина, глобулина, креатинкиназы (СК) и лактатдегидрогеназы (LDH).

[82] В одном аспекте статус иммунной толерантности субъекта и иммунную сигнатуру определяют путем анализа одного или нескольких метаболитов в биологическом(биологических) образце(образцах). В различных вариантах реализации изобретения метаболит представляет собой воспалительный метаболит. В различных вариантах реализации изобретения метаболит представляет собой противовоспалительный метаболит. В различных вариантах реализации изобретения примеры воспалительных метаболитов включают кислоты, липиды, сахара, аминокислоты, лактат, триметиламин-N-оксид, O-ацетилкарнитин, L-карнитин, холин, сукцинат, глутамин, жирные кислоты, холестерин, 3-гидроксibuтират, 3'-сиалиллактозу, арахидоновую кислоту, простагландин (G2 и H2), PGD2, PGE2, PGF2a, PGI2, TXA2, лейкотриены (A4, B4, C4, D4, E4), кинуренин, 3-гидроксикинуренин, липоксин A4 и липоксин B4. В различных вариантах реализации изобретения примеры противовоспалительных метаболитов включают 2-амино-3-карбоксимуконат-6-полуальдегид, пиколиновую кислоту, антраниловую кислоту, 3-гидроксиантраниловую кислоту, глутарил-КоА, NAD<sup>+</sup>, хинолиновую кислоту, аргинин, бутират и аденозин.

[83] Список метаболитов человека, которые можно анализировать в биологическом образце, можно найти в литературе, в том числе в (Psychogios et al., 2011), (Wishart et al., HMDB: the Human Metabolome Database. Nucleic Acids Res. 2007 Jan; 35(Database issue):D521-6, 2007), и в базе метаболома человека (HMDB), и они включены в данный документ посредством ссылки.

[84] В определенных вариантах реализации изобретения статус толерантности субъекта определяют путем анализа нуклеиновых кислот в биологическом(биологических) образце(образцах). В различных вариантах реализации изобретения нуклеиновые кислоты представляют собой ДНК и/или РНК, включая без ограничения однонитевую ДНК, двунитевую ДНК, мРНК, рРНК, тРНК, siRNA, miRNA, длинные некодирующие РНК (длинные ncRNA, lncRNA), некодирующие РНК (ncRNA) и митохондриальную РНК. В различных вариантах реализации изобретения статус иммунной толерантности субъекта определяют путем анализа экспрессии генов в биологическом(биологических) образце(образцах). В различных вариантах реализации изобретения статус иммунной толерантности определяют путем анализа экспрессии генов, ассоциированных с иммунной функцией, антителом, ответом на инородное тело, метаболизмом, апоптозом, гибелью клеток, некрозом, ферроптозом, аутофагией, миграцией клеток, эндоцитозом, фагоцитозом, пиноцитозом, регуляцией плотных контактов, адгезией клеток, дифференцировкой и/или их комбинациями. В различных вариантах реализации изобретения статус иммунной толерантности определяют путем анализа экспрессии генов, ассоциированных с иммунной супрессией. В различных вариантах реализации изобретения статус иммунной толерантности определяют путем анализа экспрессии генов, ассоциированных с иммунной активацией. В различных вариантах реализации изобретения статус иммунной толерантности определяют путем анализа экспрессии генов, ассоциированных с иммунорегуляторными функциями. В различных вариантах реализации изобретения анализ нуклеиновых кислот используют для получения сигнатуры иммунной толерантности. В литературе описано несколько методик высокопроизводительного анализа экспрессии генов, включая секвенирование РНК (RNA-seq), секвенирование РНК единичных клеток (scRNA-seq), секвенирование экзона и анализы с использованием микроматриц.

[85] Биологический образец необязательно анализируют после стимуляции *in vivo* и/или *ex vivo* одним или несколькими стимулами, такими как антиген и одно или несколько активирующих средств. Предполагается, что Т-клетки, В-клетки и иммуноглобулины, используемые в анализе, являются антигенспецифическими. Иллюстративные Т-клетки включают эффекторные Т-клетки памяти, антигенспецифические Т-клетки, активированные антигенспецифические Т-клетки, Th1-клетки, Th17-клетки, фолликулярные хелперные Т-клетки (TFH), ТНО-клетки или другие антигенспецифические Т-клетки. В-клетки включают эффекторные В-клетки, В-клетки памяти, плазматические клетки и Вreg-клетки. В определенных вариантах реализации изобретения Т-клетки идентифицируют на основе экспрессии белков, описанных в таблице 1.

[86] Таблица 1.

ТИП КЛЕТОК	МАРКЕР ЭКСПРЕССИИ
ЭФФЕКТОРНАЯ Т-КЛЕТКА ПАМЯТИ (EM)	CD45RA <sup>LO</sup> CD4 <sup>+</sup>

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ Т-КЛЕТКА	ДЛЯ	CD45RA <sup>LO</sup> CD4 <sup>+</sup> CD154 <sup>+</sup> CD137 <sup>+</sup>
АКТИВИРОВАННАЯ СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ДЛЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ Т-КЛЕТКА		CD45RA <sup>LO</sup> CD4 <sup>+</sup> CD154 <sup>+</sup> CD137 <sup>+</sup> CD38 <sup>+</sup>
ТН2-КЛЕТКА		CD45RA <sup>LO</sup> CD4 <sup>+</sup> CD154 <sup>+</sup> CD137 <sup>+</sup> CXCR4
ТН1-КЛЕТКА		CXCR5 <sup>-</sup> CRTH2 <sup>-</sup> CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>-</sup>
ТН17-КЛЕТКА		CXCR5 <sup>-</sup> CRTH2 <sup>-</sup> CXCR3 <sup>-</sup> CCR6 <sup>+</sup>
ТФН-КЛЕТКА		CD45RA <sup>LO</sup> CD4 <sup>+</sup> CXCR5 <sup>+</sup>
TREG		CD154 <sup>-</sup> CD127 <sup>-</sup> CD25 <sup>+</sup> TIGIT <sup>+</sup> CD137 <sup>+</sup> GARP <sup>+/-</sup> OX40 <sup>+/-</sup>
ТНО-КЛЕТКА		CXCR5 <sup>-</sup> CRTH2 <sup>-</sup> CXCR3 <sup>-</sup> CCR6 <sup>-</sup> CCR4 <sup>-</sup>
СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ CD8 Т-КЛЕТКИ	ДЛЯ	CD8 <sup>+</sup> CD137 <sup>+</sup> CD69 <sup>+</sup> CD355 <sup>+</sup>
АКТИВИРОВАННАЯ АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКАЯ CD8 Т- КЛЕТКА		CD8 <sup>+</sup> CD137 <sup>+</sup> CD69 <sup>+</sup> CD355 <sup>+</sup> CD38 <sup>+</sup>
ИСТОЩЕННЫЕ Т-КЛЕТКИ		CD4 <sup>+</sup> TIGIT <sup>+</sup> KLRG1 <sup>+</sup> PD-1 <sup>+</sup>

[87] В различных вариантах реализации изобретения статус иммунной толерантности субъекта определяют путем получения одного или нескольких образцов, например, цельной крови, от субъекта до введения препарата в день первого введения ТИМР-РВС (1-е сутки), через 14 суток после введения второй дозы, а затем каждые 90 суток после второй дозы (например, 90-е, 180-е, 270-е и 360-е сутки после второй дозы). Затем цельную кровь можно обрабатывать с выделением моноклеарных клеток периферической крови (РВМС), базофилов, нейтрофилов, плазмы крови и сыворотки крови для последующих анализов. Анализ клеток, выделенных из одного или нескольких образцов, взятых у субъекта и проанализированных с использованием таких способов, описан ниже.

[88] В различных вариантах реализации изобретения статус иммунной толерантности субъекта, определенный до введения ТИМР-РВС, служит исходным уровнем. В различных вариантах реализации изобретения исходный уровень у субъекта определяют с помощью анализа одного или нескольких биологических образцов за 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 суток до введения ТИМР-РВС. В различных вариантах реализации изобретения исходный уровень у субъекта определяют с помощью анализа одного или нескольких биологических образцов за 1, 2, 3 или 4 недели до введения ТИМР-РВС. В различных вариантах реализации изобретения исходный уровень у субъекта определяют с помощью анализа одного или нескольких биологических образцов за 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев до введения ТИМР-РВС.

[89] В различных вариантах реализации изобретения статус иммунной толерантности субъекта определяют после введения ТИМР-РВС. В различных вариантах реализации изобретения статус иммунной толерантности субъекта определяют с помощью анализа одного или нескольких биологических образцов через 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 суток после введения ТИМР-РВС. В различных вариантах реализации изобретения исходный уровень у субъекта определяют с помощью анализа одного или нескольких биологических образцов через 1, 2, 3 или 4 недели после введения ТИМР-РВС. В различных вариантах реализации изобретения исходный уровень у субъекта определяют с помощью анализа одного или нескольких биологических образцов через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев после введения ТИМР-РВС. В различных вариантах реализации изобретения статус иммунной толерантности субъекта, определенный после введения ТИМР-РВС, сравнивают с исходным уровнем. В различных вариантах реализации изобретения статус иммунной толерантности субъекта, определенный после введения ТИМР-РВС, сравнивают с таковым здорового субъекта.

[90] В различных вариантах реализации изобретения статус иммунной толерантности субъекта определяют на основе оценки фиброза печени. В различных вариантах реализации изобретения фиброз печени оценивают с помощью визуализации. В различных вариантах реализации изобретения фиброз печени оценивают с помощью FibroScan, ультразвукового исследования, компьютерной томографии (СТ), магнитно-резонансной томографии (MRI), магнитно-резонансной эластографии (MRA), ультразвуковой эластографии, транзистентной эластографии, точечной эластографии сдвиговой волны или двухмерной эластографии сдвиговой волны. В различных вариантах реализации изобретения фиброз печени оценивают на основе одного или нескольких биологических маркеров. В различных вариантах реализации изобретения биохимические маркеры происходят из цельной крови, периферической крови, мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), сыворотки крови, плазмы крови, мочи, спинномозговой жидкости (CSF), кала, биоптата ткани и/или биоптата костного мозга. В различных вариантах реализации изобретения биологические маркеры идентифицируют с помощью анализа клеток, белков, пептидов, ферментов, метаболитов, клеток и/или одного или нескольких биохимических веществ. В различных вариантах реализации изобретения белки представляют собой цитокины, хемокины, протеазы, белки клеточной поверхности, растворимые белки и/или антитела. В различных вариантах реализации изобретения клетки представляют собой иммунные клетки или клетки, отличные от иммунных. В различных вариантах реализации изобретения иммунные клетки представляют собой Т-клетки, В-клетки, NK-клетки, NK-Т-клетки, моноциты, макрофаги, дендритные клетки, эозинофилы или базофилы. В различных вариантах реализации изобретения клетки представляют собой эпителиальные клетки, стромальные клетки, эндотелиальные клетки, фибробласты, перициты, адипоциты, мезенхимальные стволовые клетки, гемопоэтические стволовые клетки, гемопоэтические клетки-предшественники, гепатоциты, синусоидальные эндотелиальные клетки печени (LSEC), эритроциты, тромбоциты и/или

клетки Купфера. В различных вариантах реализации изобретения биохимические маркеры представляют собой общий холестерин, триглицерид, LDL-холестерин, аспаратаминотрансферазу (AST), аланинаминотрансферазу (ALT), гамма-глутамилтрансферазу (GGT), щелочную фосфатазу (ALP), альбумин, общий белок, общий билирубин, глобулин, креатинкиназу (СК) и лактатдегидрогеназу (LDH), гиалуроновую кислоту, PIIIP, TIMP-1, коллаген 7S 4 типа, ProC3 или M2BPGi. В различных вариантах реализации изобретения метаболиты представляют собой кислоты, липиды, сахара, аминокислоты, лактат, триметиламин-N-оксид, O-ацетилкарнитин, L-карнитин, холин, сукцинат, глутамин, жирные кислоты, холестерин, 3-гидроксibuтират, 3'-сиалиллактозу, арахидоновую кислоту, простагландин (G2 и H2), PGD2, PGE2, PGF2a, PGI2, TXA2, лейкотриены (A4, B4, C4, D4, E4), кинуренин, 3-гидроксикинуренин, липоксин A4, липоксин B4, 2-амино-3-карбоксимуконат-6-полуальдегид, пиколиновую кислоту, антраниловую кислоту, 3-гидроксиантраниловую кислоту, глутарил-КоА, NAD<sup>+</sup>, хинолиновую кислоту, аргинин, бутират и аденозин.

[91] Сигнатуру иммунной толерантности субъекта получают, используя один или несколько из следующих параметров, анализируемых в одном или нескольких биологических образцах, полученных от субъекта, и стимулированных *in vivo* и/или *ex vivo*:

- доля эффекторных Т-клеток в общей популяции Т-клеток,
- доля Treg-клеток в общей популяции Т-клеток,
- доля эффекторных В-клеток в общей популяции В-клеток,
- уровни специфических IgG и/или IgM,
- уровни воспалительных цитокинов и хемокинов,
- уровни противовоспалительных цитокинов и хемокинов,
- уровни ферментов печени,
- уровни воспалительных метаболитов и
- уровни противовоспалительных метаболитов.

[92] Сигнатура иммунной толерантности свидетельствует о поддержании иммунной толерантности, если 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 параметров, перечисленных в (a)-(i) выше, указывают на поддержание иммунной толерантности. В различных вариантах реализации изобретения сигнатура иммунной толерантности свидетельствует о поддержании иммунной толерантности, если по меньшей мере 2/9 параметров, перечисленных в (a)-(i), указывают на поддержание иммунной толерантности. В различных вариантах реализации изобретения субъект определен как не требующий лечения TIMP, если 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 параметров, перечисленных в (a)-(i) выше, указывают на поддержание иммунной толерантности. В различных вариантах реализации изобретения субъект определен как не требующий лечения TIMP, если по меньшей мере 3/9 параметров, перечисленных в (a)-(i) выше, указывают на поддержание иммунной толерантности.

[93] Сигнатура иммунной толерантности субъекта, полученная с использованием

одного или нескольких параметров, описанных в данном документе, указывает на ослабление и/или отсутствие иммунной толерантности до или после лечения ТИМР-РВС, если:

[94] а. доля эффекторных Т-клеток в общей популяции Т-клеток составляет 0,01%-100% (например, около 0,01%, около 0,05%, около 0,1%, около 0,2%, около 0,5%, около 1%, около 1,5%, около 2%, около 2,5%, около 3%, около 3,5%, около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями), по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта, и/или

[95] б. доля Treg-клеток в общей популяции Т-клеток составляет 0,01-100% (например, около 0,01%, около 0,05%, около 0,1%, около 0,2%, около 0,5%, около 1%, около 1,5%, около 2%, около 2,5%, около 3%, около 3,5%, около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями) по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта, и/или

[96] с. доля эффекторных В-клеток в общей популяции В-клеток составляет 0,01%-100% (например, около 0,01%, около 0,05%, около 0,1%, около 0,2%, около 0,5%, около 1%, около 1,5%, около 2%, около 2,5%, около 3%, около 3,5%, около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями), по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта, и/или

[97] d. уровни IgG и/или IgM повышаются на около 0,01%-100% (например, на около 0,01%, около 0,05%, около 0,1%, около 0,2%, около 0,5%, около 1%, около 1,5%, около 2%, около 2,5%, около 3%, около 3,5%, около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями), 10-95%, 15-90%, 20-85%, 25-75%, 30-70%, 35-65%, 40-60%, 45-55% или 50% или в около 2-100 раз (например, в около 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 раз, включая все значения и диапазоны между этими значениями) по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта, и/или

[98] е. уровни воспалительных цитокинов/хемокинов повышаются на около 0,01%-100% (например, на около 0,01%, около 0,05%, около 0,1%, около 0,2%, около 0,5%, около

1%, около 1,5%, около 2%, около 2,5%, около 3%, около 3,5%, около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями), 10-95%, 15-90%, 20-85%, 25-75%, 30-70%, 35-65%, 40-60%, 45-55% или 50% или в около 2-100 раз (например, в около 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 раз, включая все значения и диапазоны между этими значениями) по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта, и/или

[99] ф. уровни противовоспалительных цитокинов и хемокинов уменьшаются на около 0,01%-100% (например, на около 0,01%, около 0,05%, около 0,1%, около 0,2%, около 0,5%, около 1%, около 1,5%, около 2%, около 2,5%, около 3%, около 3,5%, около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями), 10-95%, 15-90%, 20-85%, 25-75%, 30-70%, 35-65%, 40-60%, 45-55% или 50% или в около 2-100 раз (например, в около 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 раз, включая все значения и диапазоны между этими значениями) по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта, и/или

[100] г. уровни ферментов печени повышаются на около 0,01%-100% (например, на около 0,01%, около 0,05%, около 0,1%, около 0,2%, около 0,5%, около 1%, около 1,5%, около 2%, около 2,5%, около 3%, около 3,5%, около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями), 10-95%, 15-90%, 20-85%, 25-75%, 30-70%, 35-65%, 40-60%, 45-55% или 50% или в около 2-100 раз (например, в около 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 раз, включая все значения и диапазоны между этими значениями) по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта, и/или

[101] д. уровни воспалительных метаболитов повышаются на около 0,01%-100% (например, на около 0,01%, около 0,05%, около 0,1%, около 0,2%, около 0,5%, около 1%, около 1,5%, около 2%, около 2,5%, около 3%, около 3,5%, около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями), 10-95%, 15-90%, 20-85%, 25-75%, 30-70%, 35-65%, 40-60%, 45-55% или 50% или в около 2-100 раз (например, в около 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 раз, включая все значения и диапазоны между этими значениями)

значениями) по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта, и/или

[102] i. уровни противовоспалительных метаболитов уменьшаются на около 0,01%-100% (например, на около 0,01%, около 0,05%, около 0,1%, около 0,2%, около 0,5%, около 1%, около 1,5%, около 2%, около 2,5%, около 3%, около 3,5%, около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями), 10-95%, 15-90%, 20-85%, 25-75%, 30-70%, 35-65%, 40-60%, 45-55% или 50% или в около 2-100 раз (например, в около 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 раз, включая все значения и диапазоны между этими значениями) по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта.

[103] Эффективность TIMP-PBC в отношении облегчения одного или нескольких симптомов PBC и/или снижения продолжительности и тяжести воспалительного иммунного ответа на PBC-антигены определяют с помощью анализа одного или нескольких биологических образцов от субъекта. Биологические образцы включают цельную кровь, периферическую кровь, мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC), сыворотку крови, плазму крови, мочу, спинномозговую жидкость (CSF), кал, биоптат ткани и/или биоптат костного мозга. В различных вариантах реализации изобретения анализ биологического(биологических) образца(образцов) включает анализ уровней и/или присутствия или отсутствия белков клеточной поверхности, внеклеточных белков, внутриклеточных белков, нуклеиновых кислот, метаболитов, ферментов и/или их комбинаций.

[104] В различных вариантах реализации изобретения эффективность TIMP-PBC в отношении облегчения одного или нескольких симптомов PBC и/или снижения продолжительности и тяжести воспалительного иммунного ответа на PBC-антигены определяют на основе анализа клеток из одного или нескольких биологических образцов от субъекта до и после лечения TIMP-PBC. В различных вариантах реализации изобретения клетки представляют собой иммунные клетки, клетки, отличные от иммунных, и/или их комбинации. В различных вариантах реализации изобретения иммунные клетки включают клетки врожденного иммунитета, клетки адаптивного иммунитета и/или их комбинации. Клетки врожденного иммунитета, анализируемые в биологическом(биологических) образце(образцах), представляют собой антигенпредставляющие клетки (APC). Иллюстративные клетки врожденного иммунитета, анализируемые в биологическом образце, включают моноциты, макрофаги, нейтрофилы, гранулоциты, дендритные клетки, тучные клетки, эозинофилы, базофилы и/или их комбинации. Клетки адаптивного иммунитета, анализируемые в биологическом(биологических) образце(образцах), включают эффекторные иммунные клетки, такие как CD4<sup>+</sup> Т-клетки, CD8<sup>+</sup> Т-клетки, В-клетки, NK-клетки, NK-Т-клетки

и/или их комбинации. В различных вариантах реализации изобретения Т-клетки представляют собой Th1-клетки, Th2а-клетки, Treg-клетки и Tr1-клетки.

[105] В определенных вариантах реализации изобретения клетки, анализируемые в биологическом(биологических) образце(образцах), представляют собой эпителиальные клетки, стромальные клетки, эндотелиальные клетки, фибробласты, перициты, адипоциты, мезенхимальные стволовые клетки, гемопоэтические стволовые клетки, гемопоэтические клетки-предшественники, гепатоциты, синусоидальные эндотелиальные клетки печени (LSEC) и/или клетки Купфера.

[106] В различных вариантах реализации изобретения эффективность ТИМР-РВС в отношении облегчения одного или нескольких симптомов РВС и/или снижения продолжительности и тяжести воспалительного иммунного ответа на РВС-антигены определяют на основе анализа белков клеточной поверхности из одного или нескольких биологических образцов от субъекта до и после лечения ТИМР-РВС. В различных вариантах реализации изобретения белки клеточной поверхности выбраны из группы, состоящей из CD1с, CD2, CD3, CD4, CD5, CD8, CD9, CD10, CD11b, CD11с, CD14, CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, TACI, CD25, CD27, CD28, CD30, CD30L, CD31, CD32, CD32b, CD34, CD33, CD38, CD39, CD40, CD40-L, CD41b, CD42a, CD42b, CD43, CD44, CD45, CD45RA, CD47, CD45RA, CD45RO, CD48, CD52, CD55, CD56, CD58, CD61, CD66b, CD69, CD70, CD72, CD79, CD68, CD84, CD86, CD93, CD94, CD95, CRACC, BLAME, BCMA, CD103, CD107, CD112, CD120a, CD120b, CD123, CD125, CD127, CD134, CD135, CD140a, CD141, CD154, CD155, CD160, CD161, CD163, CD172a, XCR1, CD203с, CD204, CD206, CD207, CD226, CD244, CD267, CD268, CD269, CD355, CD358, CRTH2, NKG2A, NKG2B, NKG2C, NKG2D, NKG2E, NKG2F, NKG2H, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIR3DL4, KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS4, KIR2DS5, DAP12, KIR3DS, NKp44, NKp46, TCR, BCR, интегринов, Fc $\beta$ RI, MHC-I, MHC-II, IL-1R, IL-2R $\alpha$ , IL-2R $\beta$ , IL-2R $\gamma$ , IL-3R $\alpha$ , CSF2RB, IL-4R, IL-5R $\alpha$ , CSF2RB, IL-6R $\alpha$ , gp130, IL-7R $\alpha$ , IL-9R, IL-10R, IL-12R $\beta$ 1, IL-12R $\beta$ 2, IL-13R $\alpha$ 1, IL-13R $\alpha$ 2, IL-15R $\alpha$ , IL-21R, IL23R, IL-27R $\alpha$ , IL-31R $\alpha$ , OSMR, CSF-1R, IL-15 клеточной поверхности, IL-10R $\alpha$ , IL-10R $\beta$ , IL-20R $\alpha$ , IL-20R $\beta$ , IL-22R $\alpha$ 1, IL-22R $\alpha$ 2, IL-22R $\beta$ , IL-28RA, PD-1, PD-1H, BTLA, CTLA-4, PD-L1, PD-L2, 2B4, B7-1, B7-2, B7-H1, B7-H4, B7-DC, DR3, LIGHT, LAIR, LT $\alpha$ 1 $\beta$ 2, LT $\beta$ R, TIM-1, TIM-3, TIM-4, TIGIT, LAG-3, ICOS, ICOS-L, SLAM, SLAMF2, OX-40, OX-40L, GITR, GITRL, TL1A, HVEM, 41-BB, 41BB-L, TL-1A, TRAF1, TRAF2, TRAF3, TRAF5, BAFF, BAFF-R, APRIL, TRAIL, RANK, AITR, TRAMP, CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10, CCR11, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR6, CXCR7, CLECL9a, DC-SIGN, IGSF4A, SIGLEC, EGFR, PDGFR, VEGFR, FAP,  $\alpha$ -SMA, FAS, FAS-L, FC, ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, ICAM-4, ICAM-5, PECAM-1, MICA, MICB, UL16, ULBP1, ULBP2, ILBP3, ULBP4, ULBP5, ULBP6, MULT1, RAE1  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  и  $\epsilon$ , H60a, H60b, H60с, GPR15, ST2 и/или их комбинаций. Интегрины включают  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2,  $\alpha$ IIb,  $\alpha$ 3,  $\alpha$ 4,  $\alpha$ 5,  $\alpha$ 6,  $\alpha$ 7,  $\alpha$ 8,  $\alpha$ 9,  $\alpha$ 10,  $\alpha$ 11,  $\alpha$ D,  $\alpha$ E,  $\alpha$ L,  $\alpha$ M,  $\alpha$ V,  $\alpha$ X,  $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\beta$ 3,  $\beta$ 4,  $\beta$ 5,  $\beta$ 6,  $\beta$ 7,  $\beta$ 8 и/или их комбинации. TCR включают

цепи  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$  и/или их комбинации. В литературе описано несколько способов анализа экспрессии белков клеточной поверхности, включая проточную цитометрию и масс-цитометрию (CyTOF).

[107] В различных вариантах реализации изобретения лечение TIMP-RBC обеспечивает уменьшение экспрессии воспалительных белков клеточной поверхности на 5%-100% (например, на около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями), 10-95%, 15-90%, 20-85%, 25-75%, 30-70%, 35-65%, 40-60%, 45-55% или 50% или в около 2-100 раз (например, в около 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 раз, включая все значения и диапазоны между этими значениями) по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта. В различных вариантах реализации изобретения белок клеточной поверхности представляет собой CD14.

[108] В различных вариантах реализации изобретения лечение TIMP-RBC обеспечивает повышение экспрессии противовоспалительных белков клеточной поверхности на 5%-100% (например, на около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями), 10-95%, 15-90%, 20-85%, 25-75%, 30-70%, 35-65%, 40-60%, 45-55% или 50% или в около 2-100 раз (например, в около 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 раз, включая все значения и диапазоны между этими значениями) по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта.

[109] В различных вариантах реализации изобретения эффективность TIMP-RBC в отношении облегчения одного или нескольких симптомов RBC и/или снижения продолжительности и тяжести воспалительного иммунного ответа на RBC-антигены определяют на основе анализа белков из одного или нескольких биологических образцов от субъекта до и после лечения TIMP-RBC. В различных вариантах реализации изобретения белки представляют собой цитокины и/или хемокины. В различных вариантах реализации изобретения белки представляют собой белки, участвующие в передаче сигналов в клетке. В различных вариантах реализации изобретения цитокины и хемокины выбраны из группы, состоящей из IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-12p70, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-17, IL-18, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-27b, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-35, IL-36, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL6, CCL7, CCL8, CCL9, CCL10, CCL11, CCL12, CCL14, CCL15, CCL16, CCL17, CCL18, CCL19, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, CCL28, CXCL1, CXCL2 (MCP-1), CXCL3 (MIP-

1 $\alpha$ , CXCL4 (MIP-1 $\beta$ ), CXCL5 (RANTES), CXCL6, CXCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCL14, CXCL15, CXCL16, CXCL17, GM-CSF, IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3 и/или их комбинаций.

[110] В различных вариантах реализации изобретения белок представляет собой протеазу. В различных вариантах реализации изобретения протеаза представляет собой аспарагиновую протеазу, цистеиновую протеазу, металлопротеазу, сериновую протеазу и/или треониновую протеазу. В различных вариантах реализации изобретения протеаза выбрана из группы, состоящей из ADAM1, ADAM2, ADAM7, ADAM8, ADAM9, ADAM10, ADAM11, ADAM12, ADAM15, ADAM17, ADAM18, ADAM19, ADAAM20, ADAM21, ADAM22, ADAM23, ADAM28, ADAM29, ADAM30, ADAM33, MMP1, MMP2, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, MMP10, MMP11, MMP12, MMP13, MMP14, MMP15, MMP16, MMP17, MMP18, MMP19, MMP20, MMP21, MMP23A, MMP23B, MMP24, MMP25, MMP26, MMP27 и MMP28. В различных вариантах реализации изобретения белки, ассоциированные с апоптозом, выбраны из группы, состоящей из P53, каспазы 1, каспазы 2, каспазы 3, каспазы 4, каспазы 5, каспазы 6, каспазы 7, каспазы 8, каспазы 9, каспазы 10, каспазы 11, каспазы 12, каспазы 13, каспазы 14, BCL-2, BCL-XL, MCL-1, CED-9, A1, BFL1, BAX, BAK, DIVA, BCL-XS, BIK, BIM, BAD, BID и EGL-1. В литературе описано несколько способов анализа белков в биологическом образце, включая ферментный иммуносорбентный анализ (ELISA), варианты вестерн-блота и масс-спектрометрию. В различных вариантах реализации изобретения белок представляет собой один или несколько иммуноглобулинов (Ig). В различных вариантах реализации изобретения Ig выбраны из группы, состоящей из IgA, IgD, IgE, IgM и/или их вариантов. В различных вариантах реализации изобретения иммуноглобулины являются антигенспецифическими. В литературе описано несколько способов выявления иммуноглобулинов в биологическом образце, включая ELISA и ImmunoCap.

[111] В различных вариантах реализации изобретения лечение TIMP-PBC обеспечивает уменьшение уровней воспалительных белков на 5%-100% (например, на около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями), 10-95%, 15-90%, 20-85%, 25-75%, 30-70%, 35-65%, 40-60%, 45-55% или 50% или в около 2-100 раз (например, в около 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 раз, включая все значения и диапазоны между этими значениями) по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта. В различных вариантах реализации изобретения лечение TIMP-PBC обеспечивает повышение уровней противовоспалительных белков на 5%-100% (например, на около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими

значениями), 10-95%, 15-90%, 20-85%, 25-75%, 30-70%, 35-65%, 40-60%, 45-55% или 50% или в около 2-100 раз (например, в около 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 раз, включая все значения и диапазоны между этими значениями) по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта.

[112] В различных вариантах реализации изобретения лечение TIMP-PBC обеспечивает уменьшение уровней антинуклеарных антител (ANA), антитела к Gp210, антитела к Sp100, IgM или антимитохондриального антитела на 5%-100% (например, на около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями), 10-95%, 15-90%, 20-85%, 25-75%, 30-70%, 35-65%, 40-60%, 45-55% или 50% или в около 2-100 раз (например, в около 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 раз, включая все значения и диапазоны между этими значениями) по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта.

[113] В различных вариантах реализации изобретения эффективность TIMP-PBC в отношении облегчения одного или нескольких симптомов PBC и/или снижения продолжительности и тяжести воспалительного иммунного ответа на PBC-антигены определяют на основе анализа метаболитов из одного или нескольких биологических образцов от субъекта до и после лечения TIMP-PBC. В различных вариантах реализации изобретения метаболит представляет собой воспалительный метаболит. В различных вариантах реализации изобретения метаболит представляет собой противовоспалительный метаболит. В различных вариантах реализации изобретения примеры воспалительных метаболитов включают кислоты, липиды, сахара, аминокислоты, лактат, триметиламин-N-оксид, O-ацетилкарнитин, L-карнитин, холин, сукцинат, глутамин, жирные кислоты, холестерин, 3-гидроксибутират, 3'-сиалиллактозу, арахидоновую кислоту, простагландин (G2 и H2), PGD2, PGE2, PGF2a, PGI2, TXA2, лейкотриены (A4, B4, C4, D4, E4), кинуренин, 3-гидроксикинуренин, липоксин A4 и липоксин B4. В различных вариантах реализации изобретения примеры противовоспалительных метаболитов включают 2-амино-3-карбоксимуконат-6-полуальдегид, пиколиновую кислоту, антраниловую кислоту, 3-гидроксиантраниловую кислоту, глутарил-КоА, NAD<sup>+</sup>, хинолиновую кислоту, аргинин, бутират и аденозин. В различных вариантах реализации изобретения лечение TIMP-PBC обеспечивает уменьшение уровней воспалительных метаболитов на 5%-100% (например, на около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями), 10-95%, 15-90%, 20-85%, 25-75%, 30-70%, 35-65%, 40-60%, 45-55% или 50% или в около 2-100 раз (например, в около 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45,

50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 раз, включая все значения и диапазоны между этими значениями) по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта. В различных вариантах реализации изобретения лечение TIMP-PBC обеспечивает повышение уровней противовоспалительных метаболитов на 5%-100% (например, на около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями), 10-95%, 15-90%, 20-85%, 25-75%, 30-70%, 35-65%, 40-60%, 45-55% или 50% или в около 2-100 раз (например, в около 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 раз, включая все значения и диапазоны между этими значениями) по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта.

[114] В различных вариантах реализации изобретения эффективность TIMP-PBC в отношении облегчения одного или нескольких симптомов PBC и/или снижения продолжительности и тяжести воспалительного иммунного ответа на PBC-антигены определяют на основе анализа фиброза печени в одном или нескольких биоптатах печени. В различных вариантах реализации изобретения эффективность TIMP-PBC в отношении облегчения одного или нескольких симптомов PBC и/или снижения продолжительности и тяжести воспалительного иммунного ответа на PBC-антигены определяют на основе оценки фиброза печени с помощью визуализации. В различных вариантах реализации изобретения фиброз печени оценивают с помощью FibroScan, ультразвукового исследования, компьютерной томографии (СТ), магнитно-резонансной томографии (MRI), магнитно-резонансной эластографии (MRA), ультразвуковой эластографии, транзистентной эластографии, точечной эластографии сдвиговой волны или двухмерной эластографии сдвиговой волны.

[115] В различных вариантах реализации изобретения эффективность TIMP-PBC в отношении облегчения одного или нескольких симптомов PBC и/или снижения продолжительности и тяжести воспалительного иммунного ответа на PBC-антигены определяют на основе анализа уровней иммунного инфильтрата печени в одном или нескольких биоптатах печени.

[116] В различных вариантах реализации изобретения биоптат печени представляет собой пункционный биоптат печени. В различных вариантах реализации изобретения лечение TIMP-PBC обеспечивает уменьшение фиброза печени на 5%-100% (например, на около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями), 10-95%, 15-90%, 20-85%, 25-75%, 30-70%, 35-65%, 40-60%, 45-55% или 50% или в около 2-100 раз (например, в около 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 раз, включая все значения и

диапазоны между этими значениями) по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта.

[117] В различных вариантах реализации изобретения лечение TIMP-PBC обеспечивает уменьшение иммунного инфильтрата печени на 5%-100% (например, на около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями), 10-95%, 15-90%, 20-85%, 25-75%, 30-70%, 35-65%, 40-60%, 45-55% или 50% или в около 2-100 раз (например, в около 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 раз, включая все значения и диапазоны между этими значениями) по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта.

[118] В различных вариантах реализации изобретения эффективность TIMP-PBC в отношении облегчения одного или нескольких симптомов PBC и/или снижения продолжительности и тяжести воспалительного иммунного ответа на PBC-антигены определяют на основе балла субъекта по шкале для оценки заболевания, проявляющегося клинически. В различных вариантах реализации изобретения шкала для оценки заболевания, проявляющегося клинически, представляет собой шкалу PBC-40, модифицированную шкалу PBC-40, расширенную шкалу для оценки фиброза печени (ELS), шкалу PBC-27, шкалу GLOBE, шкалу UK-PBC, шкалу для оценки средней наибольшей выраженности кожного зуда за сутки, шкалу для оценки степени тяжести зуда по 5 показателям, визуальную аналоговую шкалу (VAS), шкалу Scheuer, систему оценки стадии заболевания по Nakanuma, шкалу для оценки фиброза, шкалу для оценки потери желчных протоков, индекс FIB-4 или APRI. В литературе описан ряд систем оценки заболеваний, проявляющихся клинически, которые включены в данный документ посредством ссылки 8-10.

[119] В различных вариантах реализации изобретения эффективность TIMP-PBC в отношении облегчения одного или нескольких симптомов PBC и/или снижения продолжительности и тяжести воспалительного иммунного ответа на PBC-антигены определяют на основе нижеследующих оценок до и после введения TIMP-PBC:

Уровни Т-клеточного инфильтрата в пункционном биоптате печени.

Уровни антигенспецифической продукции IFN- $\gamma$  в крови.

Уровни ALP в сыворотке крови.

Уровни билирубина в сыворотке крови.

Уровни ALT в сыворотке крови.

Уровни AST в сыворотке крови.

Уровни GGT в сыворотке крови.

Уровни антитела к Grp210 в крови.

Уровни антитела к Sp100 в крови.

Уровни растворимого CD14 в сыворотке крови.

Уровни кинуренина в сыворотке крови.

Уровни IgM в сыворотке крови.

Балл по расширенной шкале для оценки фиброза печени (ELF).

Уровни воспаления печени и фиброза в пункционном биоптате печени.

Балл по шкале для оценки средней наибольшей выраженности кожного зуда за сутки.

Балл по шкале PBC-40.

[120] Эффективность TIMP-PBC в улучшении в отношении одного или нескольких симптомов PBC определяют с помощью одного или нескольких из параметров, оцениваемых для одного или нескольких биологических образцов, полученных от субъекта:

A. доля эффекторных Т-клеток в общей популяции Т-клеток,

B. доля Treg-клеток в общей популяции Т-клеток,

C. доля эффекторных В-клеток в общей популяции В-клеток,

D. уровни специфических IgG и/или IgM,

E. уровни воспалительных цитокинов и хемокинов,

F. уровни противовоспалительных цитокинов и хемокинов,

G. уровни ферментов печени,

H. уровни воспалительных метаболитов и

I. уровни противовоспалительных метаболитов.

[121] В различных вариантах реализации изобретения эффективность TIMP-PBC в улучшении в отношении одного или нескольких симптомов PBC определяют на основе результатов анализа 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 параметров, перечисленных в (a)-(i) выше.

[122] В различных вариантах реализации изобретения эффективность TIMP-PBC в улучшении в отношении одного или нескольких симптомов PBC определяют на основе гаплотипа HLA, наличия/уровней антимитохондриальных антител и уровней щелочной фосфатазы в крови.

[123] В различных вариантах реализации изобретения эффективность TIMP-PBC в улучшении в отношении одного или нескольких симптомов PBC и/или снижения продолжительности и тяжести воспалительного ответа на PBC-антигены определяют на основе использования альтернативных средств терапии PBC. В различных вариантах реализации изобретения введение TIMP-PBC обеспечивает уменьшение использования альтернативных средств терапии PBC. В различных вариантах реализации изобретения средство терапии представляет собой стероид, кортикостероид, нестероидное иммунодепрессивное средство, иммуномодулирующее средство, моноклональное антитело, цитокин- и хемокин-направленную терапию, ингибитор JAK, терапию с использованием Т-клеток с химерными антигенными рецепторами (CAR), терапию с использованием регуляторных Т-клеток (Treg), терапию, направленную на В-клетки, противовирусные лекарственные средства или хирургическое лечение.

[124] В различных вариантах реализации изобретения средство терапии

представляет собой урсодезоксихолевую кислоту (UDCA), обетихоловую кислоту (OCA), фибраты, агонист рецептора  $\delta$ , активируемого пролифераторами пероксисом (pparg $\delta$ ), ингибитор транспортера желчных кислот в подвздошной кишке (IBAT), тауроурсодезоксихолевую кислоту, б $\alpha$ -этилхенодесоксихолевую кислоту, сетанаксиб, моэксиприл, абатацепт, фактор роста фибробластов, статины, колхикон, устекинумаб, CD20-направленную терапию, CD19-направленную терапию, CD40/CD40L-направленную терапию, CD80/CD86-направленную терапию, терапию, направленную на нацеленный на В-клетки фактор (BAFF), терапию, направленную на антиген созревания В-клеток (BCMA), ингибитор цитокина/хемокина, анти-IL6 терапию, анти-IFN терапию, амифампридин, циклоспорин, циклофосфамид, батоклимаб, инебилизумаб, нипокалимаб, позелимаб, ритуксимаб, сатрализумаб, селделапар, пентоксифиллин, тоцилизумаб, тофацитиниб, толебрутиниб, аворстатин, фенофибрат, безафибрат, линериксibat, метотрексат или трансплантацию печени.

[125] В различных вариантах реализации изобретения стероид или кортикостероид выбран из группы, включающей беклометазон, циклесонид, флутиказона фуруат, мометазон, будесонид, флутиказон, триамцинолон и лотепреднол, кортизон, преднизон, преднизолон, метилпреднизолон, триамсинолон, дексаметазон, бетаметазон или гидрокортизон.

[126] В различных вариантах реализации изобретения введение TIMP-PBC обеспечивает уменьшение использования альтернативных средств терапии PBC на 1%-100% (например, на около 1%, около 2%, около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95% или около 100%, включая все значения и диапазоны между этими значениями), 10-95%, 15-90%, 20-85%, 25-75%, 30-70%, 35-65%, 40-60%, 45-55% или 50% по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта. В различных вариантах реализации изобретения использование альтернативных средств терапии PBC снижается или устраняется через 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 суток после введения TIMP-PBC. В различных вариантах реализации изобретения использование альтернативных средств терапии PBC снижается или устраняется через 1, 2, 3 или 4 недели после введения TIMP-PBC. В различных вариантах реализации изобретения использование альтернативных средств терапии PBC снижается или устраняется через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев после введения TIMP-PBC. В различных вариантах реализации изобретения использование альтернативных средств терапии PBC снижается или устраняется через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 лет после введения TIMP-PBC.

[127] Клетки, анализируемые в биологическом образце, включают иммунные клетки, клетки, отличные от иммунных, и/или их комбинации. Иммунные клетки включают клетки врожденного иммунитета, клетки адаптивного иммунитета и/или их комбинации. Клетки врожденного иммунитета, анализируемые в

биологическом(биологических) образце(образцах), представляют собой антигенпредставляющие клетки (АПК). Иллюстративные клетки врожденного иммунитета, анализируемые в биологическом образце, включают моноциты, макрофаги, нейтрофилы, гранулоциты, дендритные клетки, тучные клетки, эозинофилы, базофилы и/или их комбинации. Клетки адаптивного иммунитета, анализируемые в биологическом(биологических) образце(образцах), включают эффекторные иммунные клетки, такие как CD4<sup>+</sup> Т-клетки, CD8<sup>+</sup> Т-клетки, В-клетки, NK-клетки, NK-Т-клетки и/или их комбинации. В различных вариантах реализации изобретения Т-клетки представляют собой Th1-клетки, Th2a-клетки, Treg-клетки и Tr1-клетки.

[128] В определенных вариантах реализации изобретения клетки, анализируемые в биологическом(биологических) образце(образцах), представляют собой эпителиальные клетки, стромальные клетки, эндотелиальные клетки, фибробласты, перициты, адипоциты, мезенхимальные стволовые клетки, гемопоэтические стволовые клетки, гемопоэтические клетки-предшественники, гепатоциты, синусоидальные эндотелиальные клетки печени (LSEC) и/или клетки Купфера.

#### **Комбинированная терапия**

[129] Параллельное введение двух терапевтических средств не требует, чтобы средства вводились одномоментно или одним и тем же путем, при условии, что имеет место перекрытие по периоду времени, в течение которого средства оказывают свой терапевтический эффект. Предполагается предварительное, одновременное или последовательное введение, а также введение в разные дни или недели.

[130] Предполагается, что ТИМР-РВС и терапевтическое средство для лечения РВС можно вводить параллельно, или одновременно, в одном составе или в отдельных составах. Дополнительно предполагается, что ТИМР-РВС и терапевтическое средство для лечения РВС вводят в отдельных составах и вводят параллельно, при этом параллельное введение касается средств, вводимых в пределах от 30 минут до 12 часов друг от друга.

[131] В другом аспекте ТИМР-РВС и терапевтическое средство для лечения РВС вводят до введения другой композиции. Предшествующее введение относится к введению ТИМР-РВС и терапевтического средства для лечения РВС в пределах одной недели до лечения другим средством терапии, вплоть до 30 минут до применения другого средства терапии.

[132] В другом аспекте ТИМР-РВС и терапевтическое средство для лечения РВС вводят после введения другой композиции. Последующее введение относится к введению ТИМР-РВС и терапевтического средства для лечения РВС в пределах одной недели после лечения другим средством терапии, вплоть до 30 минут после применения другого средства терапии.

[133] Также предполагается, что можно применять другие вспомогательные или альтернативные средства терапии, когда это уместно.

[134] В различных вариантах реализации изобретения ТИМР-РВС вводят отдельно или в комбинации с терапевтическим средством для лечения РВС. В различных вариантах

реализации изобретения терапевтическое средство вводят до, параллельно, или одновременно, или после введения TIMP-PBC.

[135] В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство выбрано из группы, состоящей из стероида, кортикостероида, нестероидного иммунодепрессивного средства, иммуномодулирующего средства, моноклонального антитела, цитокин- и хемокин-направленной терапии, ингибитора JAK, терапии с использованием Т-клеток с химерными антигенными рецепторами (CAR), терапии с использованием регуляторных Т-клеток (Treg), терапии, направленной на В-клетки, противовирусных лекарственных средств и хирургического лечения. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство выбрано из группы, состоящей из урсодезоксихолевой кислоты (UDCA), обетихоловой кислоты (OCA), фибратов, агониста рецептора  $\delta$ , активируемого пролифераторами пероксисом (pparg $\delta$ ), ингибитора транспортера желчных кислот в подвздошной кишке (IBAT), устекинумаба, тауроурсодезоксихолевой кислоты,  $\beta\alpha$ -этилхенодесоксихолевой кислоты, сетанаксиба, мозкисприла, абатацепта, фактора роста фибробластов, статина, колхикона, CD20-направленной терапии, CD19-направленной терапии, CD40/CD40L-направленной терапии, CD80/CD86-направленной терапии, терапии, направленной на нацеленный на В-клетки фактор (BAFF), терапии, направленной на антиген созревания В-клеток (BCMA), анти-IL6 терапии, анти-IFN терапии, амифампридина, циклоспорина, циклофосамида, батоклимаба, инебилизумаба, нипокалимаба, позелимаба, ритуксимаба, сатрализумаба, селделапара, пентоксифиллина, тоцилизумаба, тофацитиниба, толебрутиниба, аворстатина, фенофибрата, безафибрата, линериксибата, метотрексата, трансплантации печени, беклометазона, циклесонида, флутиказона фууроата, мометазона, будесонида, флутиказона, триамцинолона, лотепреднола, кортизона, преднизона, преднизолона, метилпреднизолона, триамсинолона, дексаметазона, бетаметазона и гидрокортизона.

[136] В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство вводят за 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 суток до введения TIMP-PBC. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство вводят за 1, 2, 3 или 4 недели до введения TIMP-PBC. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство вводят за 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев до введения TIMP-PBC. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство вводят за 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 лет до введения TIMP-PBC. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство вводят через 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 суток после введения TIMP-PBC. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство вводят через 1, 2, 3 или 4 недели после введения TIMP-PBC. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство вводят через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев после введения TIMP-PBC. В различных вариантах реализации изобретения терапевтическое средство вводят через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 лет после введения TIMP-PBC.

#### **Фармацевтические составы**

[137] Фармацевтические композиции по данному изобретению, содержащие описанные в данном документе ТИМР-РВС в качестве активного ингредиента, могут содержать фармацевтически приемлемые носители или добавки, в зависимости от пути введения. Примеры таких носителей или добавок включают воду, фармацевтически приемлемый органический растворитель, коллаген, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, карбоксивиниловый полимер, натрий-карбоксиметилцеллюлозу, полиакрилат натрия, альгинат натрия, водорастворимый декстран, карбоксиметилкрахмал натрия, пектин, метилцеллюлозу, этилцеллюлозу, ксантановую камедь, гуммиарабик, казеин, желатин, агар, диглицерин, глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, вазелин, парафин, стеариловый спирт, стеариновую кислоту, сывороточный альбумин человека (HSA), маннит, сорбит, лактозу, фармацевтически приемлемое поверхностно-активное вещество и т.п. Используемые добавки выбраны, без ограничения, из вышеперечисленного или их комбинаций, при необходимости, в зависимости от лекарственной формы по данному изобретению.

[138] Состав фармацевтической композиции будет варьироваться согласно выбранному пути введения (например, раствор, эмульсия). Соответствующую композицию, содержащую терапевтический препарат, подлежащий введению, можно готовить в физиологически приемлемой основе или носителе. Для растворов или эмульсий, подходящие носители включают, например, водные или спиртовые/водные растворы, эмульсии или суспензии, включая солевой раствор и забуференные среды. Основы для парентерального применения могут включать раствор хлорида натрия, раствор Рингера с декстрозой, декстрозу и хлорид натрия, лактат Рингера или нелетучие масла. Основы для внутривенного применения могут включать различные добавки, консерванты или жидкость, питательное вещество или электролит.

[139] Различные водные носители включают, например, стерильные забуференные фосфатом солевые растворы, бактериостатическую воду, воду, забуференную воду, 0,4% солевой раствор, 0,3% глицин и т.п., и они могут включать другие белки для повышенной стабильности, такие как альбумин, липопротеин, глобулин и т.д., подвергнутые незначительным химическими модификациям и т.п.

[140] Терапевтические составы ингибиторов с возможностью хранения получают путем смешивания ингибитора требуемой степени чистоты с необязательными физиологически приемлемыми носителями, эксципиентами или стабилизаторами (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)) в форме лиофилизированных составов или водных растворов. Приемлемые носители, эксципиенты или стабилизаторы нетоксичны для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях, и они включают буферы, такие как фосфатный, цитратный и на основе других органических кислот; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония; хлорид гексаметония; хлорид бензалкония; хлорид бензетония; фенол, бутиловый или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен; катехол; резорцин; циклогексанол;

3-пентанол и м-крезол); низкомолекулярные (менее чем приблизительно 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие средства, такие как EDTA; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; металл-комплексы (например, комплексы Zn-белок); и/или неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, PLURONICS™ или полиэтиленгликоль (PEG).

[141] Составы, предназначенные для *in vivo* введения, должны быть стерильными. Это легко достигается путем фильтрации через стерильные фильтрующие мембраны.

[142] Водные суспензии могут содержать активное соединение в смеси с эксципиентами, подходящими для изготовления водных суспензий. Такие эксципиенты представляют собой суспендирующие средства, например, карбоксиметилцеллюлозу натрия, метилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, альгинат натрия, поливинилпирролидон, трагакантовую камедь и гуммиарабик; диспергирующие или смачивающие вещества могут представлять собой встречающийся в природе фосфатид, например, лецитин, или продукты конденсации алкиленоксида с жирными кислотами, например, полиоксиэтилена стеарат, или продукты конденсации этиленоксида с длинноцепочечными алифатическими спиртами, например, гептадекаэтиленоксиэтанол, или продукты конденсации этиленоксида с неполными сложными эфирами, образованными из жирных кислот и гексита, такие как полиоксиэтиленсорбитмоноолеат, или продукты конденсации этиленоксида с неполными сложными эфирами, образованными из жирных кислот и ангидридов гексита, например, полиэтиленсорбитанмоноолеат. Водные суспензии могут также содержать один или несколько консервантов, например, этил- или н-пропил-п-гидроксibenзоат.

[143] TИMP-PBC, описанные в данном документе, можно лиофилизировать для хранения и восстанавливать в подходящем носителе перед применением.

[144] Твердые лекарственные формы для перорального применения включают капсулы, таблетки, пилюли, порошки и гранулы. В случае таких твердых лекарственных форм модифицированные частицы смешивают по меньшей мере с одним инертным фармацевтически приемлемым эксципиентом или носителем, таким как цитрат натрия или дикальцийфосфат и/или а) наполнителями или разбавителями, такими как виды крахмала, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и кремниевая кислота, б) связующими веществами, такими как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидинон, сахароза и гуммиарабик, в) увлажняющими веществами, такими как глицерин, г) средствами для улучшения распадаемости таблеток, такими как агар, карбонат кальция, картофельный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, определенные силикаты и карбонат натрия, е) веществами, замедляющими растворение, такими как парафин, ф) ускорителями всасывания, такими как четвертичные аммониевые

соединения, g) смачивающими веществами, такими как, например, цетиловый спирт и глицерилмоностеарат, h) сорбентами, такими как каолин и бентонитовая глина, и i) смазывающими веществами, такими как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия и их смеси. В случае капсул, таблеток и пилюлей лекарственная форма также может содержать буферные средства.

### **Наборы**

[145] В качестве дополнительного аспекта, данное изобретение включает наборы, которые содержат одно или несколько соединений или композиций, упакованных таким способом, который облегчает их использование для осуществления на практике способов по данному изобретению. В одном варианте реализации изобретения такой набор включает соединение или композицию, описанные в данном документе (например, композицию, содержащую TIMP, отдельно или в комбинации со вторым средством), упакованные в контейнер, такой как герметичная бутылка или сосуд, с этикеткой, прикрепленной к контейнеру или включенной в упаковку, в которой описывается применение соединения или композиции при практическом применении способа. Предпочтительно соединение или композиция упакованы в виде стандартной лекарственной формы. Набор может дополнительно включать устройство, подходящее для введения композиции согласно конкретному пути введения или для проведения скринингового анализа. Предпочтительно набор содержит этикетку, в которой описывается применение композиций на основе ингибитора.

[146] В дополнительном варианте реализации данное изобретение относится к изделию или единичной дозированной форме, содержащим: (a) композицию, содержащую TIMP-PBC, как описано в данном документе; (b) контейнер, содержащий указанную композицию; и (c) этикетку, прикрепленную к указанному контейнеру, или листок-вкладыш, включенный в указанный контейнер, в которых описывается использование указанной TIMP-PBC при лечении PBC, как описано в данном документе.

[147] Дополнительные аспекты и подробности данного изобретения будут очевидны из нижеследующих примеров, которые предназначены для иллюстрации, но не для ограничения.

### **Примеры**

#### **Пример 1: TIMP-PBC ингибирует антигенспецифические Т-клеточные ответы в животных моделях**

[148] Эффективность TIMP-PBC (CNP-104), инкапсулирующей PBC-антиген PDC-E2<sub>155-185</sub> (KVGEKLSEGDLLAEIETDKATIGFEVQEEGY) (SEQ ID NO: 1), в отношении индуцирования толерантности Т-клеток исследовали в терапевтической модели PBC.

[149] У грызунов модель PBC может быть индуцирована с помощью химического ксенобиотика 20A BSA, который индуцирует PBC-подобный холангит у мышей C57BL/6. В модели PBC у мышей вырабатывались PDC-E2-специфические антимитохондриальные антитела (AMA) в сыворотке крови, а также имела место инфильтрация патогенными Т-клетками желчных протоков печени, что имитировало заболевание человека. Добавление

обработки поли(I:C) к этой модели усиливает инфильтрацию CD8 Т-клетками и приводит к фиброзу печени, который является характерным признаком РВС человека.

[150] В день эксперимента (0-сутки) наивных ~шестинедельных мышей C57BL/6 примировали 20А-BSA путем внутривентриальной (i.p) инъекции. Примирование 20А-BSA i.p повторяли с использованием неполного адьюванта Фрейнда (IFA) на 14-е сутки.

[151] На 0-сутки и 2-е сутки мышам путем i.p. инъекции вводили 100 нг коклюшного токсина (РТХ). На 0-сутки и 14-е сутки мышам путем подкожной инъекции (s.c.) вводили 5 мг/кг поли(I:C). На 7-е сутки мышей примировали эмульсией PDC-E2<sub>155-185</sub>/CFA. На 7-е сутки и 14-е сутки мышей обрабатывали CNP-104 (2,5 мг доза/мышь или ~10 мг/кг HED) или контрольными наночастицами.

[152] На 22-е сутки мышей в каждой группе обработки (N=5 на группу) умерщвляли и собирали их селезенки для оценки антигенспецифических Т-клеточных ответов и титров антимиохондриального антитела (АМА) в сыворотке крови.

[153] **Антигенспецифический Т-клеточный ответ в случае спленоцитов:** В общей сложности  $5 \times 10^5$  спленоцитов высевали в лунки в трех повторах в 96-луночные планшеты с лунками с плоским дном с полной средой RPMI с антителом к CD3 (0,5 мкг/мл) и антителом к CD28 (1 мкг/мл) (положительный контроль) или специфическим для Т-клеток PDC-E2<sub>155-185</sub> (титровали до 1,5 мкг/мл, 15 мкг/мл, 75 мкг/мл).

[154] Клетки собирали через 72 часа после старта культуры и оценивали уровень пролиферации клеток с помощью реагента для оценки пролиферации клеток WST-1 (Roche, № по каталогу 11644807001) в соответствии с протоколом производителя.

[155] Как показано на Фиг. 1, обработка CNP-104 обеспечивала значимое ингибирование Т-клеточного ответа на PDC-E2<sub>155-185</sub> при сравнении с обработкой контрольными наночастицами без нагрузки ( $p < 0,0001$ ).

[156] **Титры антимиохондриального антитела в крови:** У мышей собирали цельную кровь из ретроорбитального синуса и помещали ее в пробирки для сбора сыворотки крови. Крови давали свернуться при комнатной температуре в течение 2 часов. Сыворотку крови собирали путем центрифугирования (3000 g в течение 5 минут при 4 °C). Уровни АМА оценивали с использованием набора для ELISA QUANTA Lite® M2 EP (M1T3) с использованием покрытых PDC-E2 микролунок/полосок в соответствии с протоколом производителя. Образцы сыворотки крови мыши добавляли в лунки в двух повторах (100 мкл образца/лунка). Планшет инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа с последующей промывкой 1x PBS+0,05% Tween-20 четыре раза.

[157] IgG АМА выявляли путем добавления конъюгированного с HRP вторичного антитела к IgG мыши (разведение 1:4000 в 1x PBS+5% BSA) в каждую лунку с последующей инкубацией в течение 1 часа при комнатной температуре.

[158] Планшет промывали четыре раза 1x PBS+0,05% Tween-20. В каждую лунку добавляли 100 мкл однокомпонентного субстрата HRP ТМР для микролунок и проявляли при комнатной температуре до достаточного проявления цвета. Для остановки реакции добавляли 100 мкл стоп-реагента и считывали планшет при 450 нм с использованием

планшет-ридера для ELISA.

[159] Регистрировали показания оптической плотности для всех тестируемых образцов. Как показано на Фиг. 2, обработка CNP-104 приводила к снижению титров IgG АМА в сыворотке крови, по сравнению с контрольными наночастицами без нагрузки.

[160] *Реакция гиперчувствительности замедленного типа:* Мышей C57BL/6 примировали 200 мкг (объем инъекции 100 мкл) PDC-E2-пептида, эмульгированного в CFA на 0-е сутки. На 0-е сутки и 7-е сутки после примирования мышей обрабатывали партиями CNP 104, соответствующими процессу производства GLP, вводимым посредством IV инъекции в дозе 2,5 мг доза/мышь (10 мг/кг HED). На 14-е сутки после примирования мышей внутрикожно иммунизировали 10 мкг PDC-E2-пептида (в правое ухо, объем инъекции 10 мкл) или альбумином куриного яйца (в левое ухо, объем инъекции 10 мкл). Толщину ушной раковины каждого уха измеряли сразу после стимуляции PDC-E2-пептидом и OVA, а также через 24 часа после стимуляции. Изменение толщины ушной раковины ( $\Delta T$ ) для обеих ушей каждой мыши рассчитывали для оценки DTH-ответа. CNP-104 значимо ингибировал DTH-ответ по сравнению с контрольными частицами без нагрузки при 2,5 мг/доза (10 мг/кг HED).

[161] В эксперименте с последующим наблюдением за DTH с использованием CNP-104, соответствующего процессу производства GLP, CNP-104 значимо ингибировал DTH-ответ по сравнению с контрольными частицами без нагрузки при 2,5 мг/доза (10 мг/кг HED) (Фигуры 3А, 3В).

**Пример 2: TIMP-PBC ингибирует инфильтрацию лейкоцитов в печень в животной модели PBC**

[162] Эффективность TIMP-PBC (CNP-104), инкапсулирующей PBC-антиген PDC-E2<sub>155-185</sub>, в отношении ингибирования инфильтрации лейкоцитов в печень, изучали в терапевтической модели PBC.

[163] В день эксперимента (0-сутки) наивных ~шестинедельных мышей C57BL/6 примировали 20А-BSA путем внутрибрюшинной инъекции (i.p). Примирование 20А-BSA i.p повторяли с использованием неполного адьюванта Фрейнда (IFA) на 14-е сутки.

[164] На 0-сутки и 2-е сутки мышам путем i.p. инъекции вводили 100 нг коклюшного токсина (PTX). На 0-сутки и 14-е сутки мышам путем подкожной инъекции (s.c.) вводили 5 мг/кг поли(I:C). На 7-е сутки мышей примировали эмульсией PDC-E2<sub>155-185</sub>/CFA. На 7-е сутки и 14-е сутки мышей обрабатывали CNP-104 или контрольными наночастицами (N=6 на группу).

[165] Отдельная группа животных (N=3) оставалась непримированной и служила в качестве наивного контроля.

[166] На 55-е сутки животных умерщвляли и собирали печень. Печень обрабатывали с выделением лейкоцитов с использованием разделения в градиенте плотности и в каждой группе оценивали уровни лейкоцитарного инфильтрата с помощью проточной цитометрии путем гейтирования живых CD45+ клеток. Как показано на Фиг. 4, обработка CNP-104 приводила к снижению уровней лейкоцитарного инфильтрата в

печени по сравнению с обработкой контрольными наночастицами. Как показано на Фиг. 5, обработка CNP-104 приводила к повышению уровня Treg ( $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ ) в печени по сравнению с наивными необработанными мышами.

### **Пример 3: Клиническое испытание фазы 2А TIMP-PBC с участием пациентов с PBC**

[167] Изначально для CNP-104 проводили подбор доз препарата при многократном его введении и основные токсикологические исследования GLP (исследование CNP-104-2.001 и исследование CNP-104-2.002). Эти исследования охватывают и подтверждают величины доз, частоту введения и путь введения, предназначенные для исследования фазы 2а CNP-104.

[168] Не предусматривающее использование требований GLP исследование с введением многократных доз проводили для CNP-104, вводимого путем внутривенной инфузии (IV), на 1-е, 8-е и 15-е сутки при величинах дозы 0 мг/кг, 25 мг/кг, 75 мг/кг и 125 мг/кг (исследование CNP-104-2.001). Не было отмечено каких-либо связанных с лекарственным средством эффектов в отношении увеличения массы тела, потребления пищи, результатов офтальмологического обследования, результатов физикального обследования, результатов клинических наблюдений, батареи стандартных тестов поведенческого фенотипирования, температуры тела и уровней цитокинов в сыворотке крови. Временные наблюдения клинической патологии, не являющиеся неблагоприятными, быстро устранялись. Ни один из этих результатов не был расценен как неблагоприятный. Для наиболее высокой вводимой внутривенно дозы 125 мг/кг, используемой в этом исследовании (введение на 1-е, 8-е и 15-е сутки), не наблюдался нежелательный эффект, и, следовательно, она была определена как NOAEL.

[169] Основное исследование с введением многократных доз согласно GLP проводили для CNP-104, вводимого путем внутривенной инфузии (IV), на 1-е, 8-е и 15-е сутки при величинах дозы 0 мг/кг, 25 мг/кг, 75 мг/кг и 125 мг/кг (исследование CNP-104-2.002). Не было отмечено каких-либо связанных с лекарственным средством эффектов в отношении результатов клинических наблюдений или изменений массы тела, потребления пищи, температуры тела или результатов макроскопического исследования при вскрытии. У нескольких самок крыс наблюдалось повышение параметров цитокинов IL-5, IL-1 $\beta$ , IL-6 и IFN- $\gamma$ , однако оно не рассматривалось как неблагоприятное. Для наиболее высокой вводимой внутривенно дозы 125 мг/кг, используемой в этом исследовании (введение на 1-е, 8-е и 15-е сутки), не наблюдался нежелательный эффект, и, следовательно, она была определена как NOAEL.

[170] Будет проведено двойное слепое плацебо-контролируемое исследование фазы 2а для оценки безопасности, переносимости, фармакодинамики и эффективности CNP-104 у субъектов в возрасте 22-72 года с первичным билиарным холангитом, который не поддается лечению UDCA и/или OCA.

[171] CNP-104 состоит из PLGA-наночастиц, инкапсулирующих пептид PDC-E2<sub>155-185</sub>. Частицы CNP-104 имеют средний диаметр примерно 400-800 нм и отрицательный

дзета-потенциал от -30 мВ до -60 мВ. CNP-104 поставляется в виде лиофилизированного состава. CNP-104 восстанавливают в стерильной воде для инъекций и разбавляют в стерильном солевом растворе (0,9% хлорид натрия, USP) перед введением.

[172] Субъекты в возрасте 22-72 года и 18-75 лет с первичным билиарным холангитом будут проходить скрининг на протяжении периода вплоть до 14 суток до включения в исследование. Если субъекты на момент исследования проходят стандартную терапию, они будут продолжать получать текущую стандартную терапию в течение исследования по усмотрению исследователя независимо от группы лечения (CNP-104 или плацебо).

[173] Скрининг будет выполняться для оценки соответствия критериям для участия в исследовании, получения физиологических показателей, сбора образцов для лабораторных исследований и фармакодинамических (PD) показателей, получения результатов FibroScan фиброза печени и для сбора пункционного биоптата печени для оценки воспаления/фиброза.

[174] Субъекты завершат первичную оценку PBC-40 и начнут вести дневник интенсивности зуда, опросник и шкалу оценки, который пациент будет заполнять каждое утро и вечер в течение первых 120 суток исследования, а затем еженедельно на протяжении всего исследования. PBC-40 заполняется ежемесячно с 1-х суток исследования до его окончания. Субъекты, соответствующие всем критериям включения и ни одному из критериев невключения, по завершении скринингового визита будут включены в исследование.

[175] До введения исследуемого лекарственного средства на 1-е сутки у субъектов будет взят второй набор образцов печени для лабораторных исследований. Результаты этих тестов будут усреднены с результатами, полученными во время скринингового визита, для получения исходных значений ALT, общего и прямого билирубина и значений ALP для мониторинга безопасности для печени и выявления индуцированную лекарственным средством поражения печени (DILI) на протяжении всего исследования.

[176] Субъекты затем будут рандомизированы на 1-е сутки в открытую на данный момент когорту по величине дозы при соотношении 1:1 для двух отдельных введений внутривенного CNP-104 или плацебо на 1-е сутки и 8-е сутки (Фиг. 6). Исследуемое лекарственное средство будет вводиться путем IV инфузии (3,25 мг/мл) на протяжении примерно 3-4 часов с использованием ступенчатой скорости инфузии следующим образом:

- 20 мл/ч в течение первых 15 мин, затем
- 40 мл/ч в течение следующих 15 мин, затем
- 80 мл/ч до конца инфузии.

[177] Субъекты будут проходить медицинское наблюдение в клинике на предмет наличия острых АЕ в течение 4 часов после инфузии на 1-е сутки и 8-е сутки. Субъекты будут выписаны через 4 часа, если все запланированные оценки в день посещения завершены, если основные физиологические показатели (артериальное давление в

положении сидя или в положении лежа, частота сердечных сокращений и температура тела), измеряемые через 4 часа после инфузии, находятся в пределах ожидаемых для субъекта диапазонов и если исследователем не отмечено никаких других проблем со здоровьем.

[178] Субъекты будут возвращаться для визита к врачу через 2 суток после каждой инфузии (сутки 3 и 10) для сбора показателей лабораторных тестов безопасности, обзора принимаемых лекарственных препаратов и оценки АЕ и будут проходить ежедневное наблюдение посредством контакта по телефону между инфузиями (сутки 4-7 и 11-14) для оценки и документирования каких-либо АЕ и изменений в отношении приема лекарственных препаратов.

[179] В период после введения дозы субъекты будут возвращаться в клинику для прохождения лабораторных тестов иммунологической безопасности, измерений PD, оценки PBC-40, оценки АЕ и изменений в отношении приема лекарственных препаратов (сутки 15, 60, 90, 120, 180, 270, 365, 450, 540, 630, 700 и/или 730), FibroScan (сутки 60, 90, 120, 180, 270, 365, 450, 540, 630, 700 и/или 730) и пункционной биопсии печени (сутки 60) (Фиг. 6). Субъекты продолжат заполнять два раза в сутки дневник интенсивности зуда на протяжении всего исследования вплоть до 730-х суток. Субъекты будут возвращаться в клинику для визита окончания исследования на 730-е сутки для сбора показателей лабораторных тестов безопасности, измерений PD, оценки PBC-40, FibroScan и конечной оценки АЕ и изменений в отношении приема лекарственных препаратов.

[180] Планируется включение в исследование 2 когорты для двух величин дозы. Субъекты будут рандомизированы при соотношении 1:1 для получения либо CNP-104, либо плацебо (инъекция 0,9% хлорида натрия, USP) в виде внутривенной инфузии объемом 200 мл на 1-е сутки и 8-е сутки. Ниже представлены запланированные величины дозы:

1. Когорта 1: 4 мг/кг (N=6 субъектов, рандомизированных 1:1)
2. Когорта 2: 8 мг/кг (N=до 34 субъектов, рандомизированных 1:1)

[181] Введение доз субъектам в пределах данной когорты по величине дозы будет происходить с интервалом по меньшей мере 48 часов. После завершения всеми субъектами в когорте по величине дозы на 15-е сутки визита к врачу (7 суток после второй дозы), созывается DMC для рассмотрения всех имеющихся данных о безопасности и определения приемлемости перехода в следующую когорту по величине дозы, если гарантируется расширение когорты или если следует дать любые другие клинические рекомендации.

**[182] Критерии включения:**

Субъекты, желающие и способные предоставить Институциональному наблюдательному совету (IRB) письменное информированное согласие и обеспечение соблюдения конфиденциальности в соответствии с национальными правилами.

Мужчины и небеременные не кормящие грудью женщины в возрасте 22-27 лет или 18-75 лет включительно.

Субъекты с подтвержденным диагнозом первичный билиарный холангит на основе по меньшей мере двух из следующих критериев:

Положительный тест на титр AMA (например,  $> 1:40$ ) или, если тест на AMA отрицательный или наблюдается низкий титр ( $< 1:40$ ), положительный тест на PBC-специфические антитела (антитела к GP210 и/или к SP100 и/или антитела к основным компонентам M2 [PDC-E2, дегидрогеназный комплекс 2-оксоглутаровой кислоты

Щелочная фосфатаза  $> 1,5x$  ULN (верхняя граница нормы) в течение по меньшей мере 6 месяцев

Результаты биопсии печени соответствуют PBC

Субъекты с баллом класса А по шкале Чайлда-Пью.

Субъекты, у которых отсутствует ответ на UDCA и/или OCA спустя 6 месяцев лечения при стабильной дозе, как измерено по ALP  $> 1,5x$  ULN, или у которых наблюдается непереносимость UDCA и/или OCA

Субъекты ALP  $> 1,5x$  ULN.

Субъекты с AST и ALT  $\leq 10x$  ULN.

Субъекты с положительным тестом на антигенспецифические CD8+ Т-клетки.

Субъекты мужского и женского пола, не способные к деторождению, или женщины способные к деторождению, которые согласились не беременеть в ходе исследования, имеют отрицательный результат теста на беременность как на момент скрининговых визитов, так и до введения каждой дозы, и дают согласие применять высокоэффективный способ контрацепции, который может включать без ограничения воздержание, секс только с лицами того же пола, моногамные отношения с партнером, прошедшим вазэктомию, гистерэктомию, двустороннюю перевязку маточных труб, лицензированные гормональные методы, внутриматочную спираль (IUD), начиная с первоначального скрининга и продолжая на протяжении всего исследования до 90-х суток.

Субъекты женского пола, которые согласились не кормить грудью, начиная с первоначального скрининга и на протяжении всего исследования до 120-х суток.

Субъекты женского пола, которые согласились не сдавать яйцеклетки, начиная с первоначального скрининга и на протяжении всего исследования до 90-х суток.

Субъекты мужского пола, которые согласились не сдавать сперму, начиная со скрининга и на протяжении всего исследования до 90-х суток.

**[183] Критерии невключения:**

Субъекты с первичным билиарным холангитом выше 3 стадии.

Субъекты с баллом класса В или класса С по шкале Чайлда-Пью.

Субъекты с сопутствующим заболеванием печени, включая вирусный гепатит, PSC, алкогольную болезнь печени, болезнь Вильсона, гемохроматоз или синдром Жильбера.

Субъекты, которые ранее проходили трансплантацию печени.

Субъекты с декомпенсированным циррозом, определенным по наличию или

наличию в анамнезе любого из следующего:

Балл MELD > 15

Гепатическая энцефалопатия

Асциты

Гепаторенальный синдром или креатинин в сыворотке крови > 2 мг/дл

Общий билирубин > 3,0 мг/дл

INR > 1,8 за исключением случаев приема антикоагулянтов, таких как кумадин

Наличие в анамнезе кровотечения из варикозно расширенных вен

Субъекты с наличием в анамнезе инсульта за последние 12 месяцев

Субъекты с наличием в анамнезе инфаркта миокарда, определенным по любому из следующего:

Появление патологических зубцов Q с симптомами или без них

Признаки при визуализации области потери жизнеспособного миокарда, которая истончена и не может сокращаться при отсутствии неишемической причины

Обнаруженная патология излеченного или заживающего миокарда

Субъекты с хроническим заболеванием почек, как определено по скорости клубочковой фильтрации (GFR) < 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> в течение по меньшей мере 3 месяцев, где GFR рассчитывают на основе формулы СКД-EPI:

$$eGFR = 142 \times \min(\text{Scr}/\kappa, 1)^\alpha \times \max(\text{Scr}/\kappa, 1)^{-1,200} \times 0,9938^{\text{Возраст}} \times 1,018 \text{ [для женщин]}$$

или:

$$GFR = 141 \times \min(\text{Scr}/\kappa, 1)^\alpha \times \max(\text{Scr}/\kappa, 1)^{-1,209} \times 0,993^{\text{Возраст}} \times 1,018 \text{ [для женщин]} \\ \times 1,159 \text{ [для чернокожих]}, \text{ где:}$$

Scr представляет собой уровень креатинина в сыворотке крови в мг/дл

$\kappa$  равен 0,7 для женщин и 0,9 для мужчин

$\alpha$  равен -0,329 для женщин и -0,411 для мужчин

Min обозначает минимальный Scr / $\kappa$  или 1

Max обозначает максимальный Scr / $\kappa$  или 1

Субъекты с неконтролируемым сахарным диабетом, как определено по HbA1c >7%.

Субъекты, которые принимали биологические средства, включая препараты, направленные против определенных типов клеток, и антицитоклиновые препараты, в пределах 12 месяцев от 0-х суток или перед скринингом.

Субъекты с наличием в анамнезе туберкулеза или положительным результатом кожной пробы на PPD.

Субъекты, которые получали любую живую вакцину (отличную от интраназальной вакцины от сезонного гриппа) в пределах 28 суток или субъединичную вакцину в пределах 14 суток до скрининга 1 или планируют любую вакцинацию до 90-х суток.

Субъекты, которые получали любую вакцину от COVID-19 (первую или вторую дозу) в пределах 14 суток до скрининга. Субъекты, которые получали первую дозу любой вакцины от COVID-19, могут не проходить скрининг для исследования в течение 14 суток

после второй дозы вакцины, если это применимо.

Субъекты, которые принимали системные стероиды в пределах 3 месяцев до скрининга.

Субъекты с результатами лабораторных исследований при скрининге или до введения дозы исследуемого препарата, которые выходят за пределы нормальных значений и считаются исследователем клинически значимыми. Этот критерий не применяется к результатам печеночных проб. Кроме того, клинически значимые результаты лабораторных исследований при скрининге, которые связаны с состоянием (РВС), являются приемлемыми.

Субъекты с положительным результатом теста на поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg), антитело к вирусу гепатита С (HCV) или антиген/антитело к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ), как определено при скрининге.

Субъекты с наличием в анамнезе или активными в настоящий момент нарушениями, связанными с иммунной системой, отличными от РВС (включая аутоиммунное заболевание), за исключением случаев, когда состояние после обсуждения с медицинским наблюдателем было сочтено приемлемым для участия субъекта в этом исследовании

Субъекты с наличием в анамнезе или активными в настоящий момент заболеваниями, требующими приема иммунодепрессивных лекарственных средств (включая азатиоприн, преднизон, преднизолон, будесонид, циклоспорин, такролимус, метотрексат или микофенолата мофетил), за исключением случаев, когда состояние после обсуждения с медицинским наблюдателем было сочтено приемлемым для участия субъекта в этом исследовании

Субъекты с наличием в анамнезе значимого сердечно-сосудистого заболевания, как определено исследователем.

Субъекты с осложнением или наличием в анамнезе злокачественного новообразования в пределах последних 5 лет, которое, по мнению исследователя, делает субъекта неподходящим для участия в исследовании.

Субъекты, которые, по мнению исследователя, не смогут соблюдать процедуры исследования.

Субъекты, которые проходили терапию экспериментальными средствами, отличными от CNP-104, в пределах 28 суток или 5 периодов полувыведения, в зависимости от того, что дольше, до скрининга.

Субъекты с любым состоянием, которое, по мнению исследователя, делает субъекта неподходящим для участия в исследовании.

Известная чувствительность к любым компонентам CNP-104.

[184] Первичные цели исследования включают оценку безопасности и переносимости CNP-104 и оценку изменения уровней щелочной фосфатазы (ALP) в сыворотке крови среди пациентов, которые проходили лечение CNP-104 или плацебо.

[185] Вторичные конечные точки включают оценку изменения уровней

билирубина, альбумина, ALT, AST, IFN- $\gamma$ , GGT, Gp210, Sp100, растворимого CD14, IgM в сыворотке крови, кинуренина в сыворотке крови, воспаления печени, фиброза печени у пациентов, получающих CNP-104, по сравнению с плацебо, и оценку изменения Т-клеточного инфильтрата печени с помощью пункционной биопсии среди пациентов, которых лечили CNP-104 или плацебо. Также у пациентов оценивали балл ELF, балл по шкале для оценки наибольшей выраженности кожного зуда за сутки и балл по шкале PBC-40.

[186] Субъекты, рандомизированные для тестирования исследуемого препарата, будут получать либо 4 мг/кг, либо 8 мг/кг (вплоть до максимальной дозы 650 мг в сутки) CNP-104 в виде внутривенной инфузии объемом 200 мл на 1-е сутки и 8-е сутки.

[187] На протяжении исследования у субъектов будет проведен тщательный мониторинг потенциальных признаков как гепатоцеллюлярного, так и холестатического индуцированного лекарственным средством поражения печени (DILI). Мониторинг показателей функции печени делится на три категории: Субъекты с нормальными исходными значениями (специфический для субъекта средний исходный уровень) ALT с признаками гепатоцеллюлярного DILI, субъекты с повышенными исходными значениями (специфический для субъекта средний исходный уровень) ALT с признаками гепатоцеллюлярного DILI и субъекты с признаками холестатического DILI. Все значения функции печени будут сравнивать со специфическим для субъекта средним исходным значением («исходный уровень») из двух тестов, полученных до воздействия препарата, который, как предполагается, вызвал изменение.

[188] Для субъектов с нормальными исходными значениями ALT будет иметь место следующий мониторинг в отношении признаков гепатоцеллюлярного DILI:

<b>ВОЗНИКШЕЕ ПОСЛЕ НАЧАЛА ЛЕЧЕНИЯ ИЗМЕНЕНИЕ ALT</b>	<b>БИЛИРУБИН</b>	<b>СВЯЗАННЫЕ С ПЕЧЕНЬЮ СИМПТОМЫ</b>	<b>ДЕЙСТВИЕ</b>
ALT $\geq$ 5 $\times$ ULN	НОРМАЛЬНЫЙ	ОТСУТСТВУЕТ	АНАЛИЗЫ КРОВИ БУДУТ ПОВТОРЕНА ЧЕРЕЗ 2-5 СУТОК. ЗА СУБЪЕКТОМ БУДУТ НАБЛЮДАТЬ В ОТНОШЕНИИ СИМПТОМОВ.
ALT $\geq$ 8 $\times$ ULN	НОРМАЛЬНЫЙ ИЛИ ПОВЫШЕННЫЙ	ОТСУТСТВУЕТ ИЛИ ПРИСУТСТВУЕТ	ПРИОСТАНОВКА ПРИЕМА ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА. АНАЛИЗЫ КРОВИ БУДУТ ПОВТОРЕНА В ПРЕДЕЛАХ 2-5 СУТОК. БУДЕТ НАЧАТ ТЩАТЕЛЬНЫЙ МОНИТОРИНГ И

			<p>ИССЛЕДОВАНИЕ КОНКУРИРУЮЩИХ ЭТИОЛОГИЙ. ПРИМЕНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО ТОЛЬКО ЕСЛИ ИДЕНТИФИЦИРОВАНА ДРУГАЯ ЭТИОЛОГИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ ФЕРМЕНТОВ ПЕЧЕНИ ВЕРНУЛИСЬ К ИСХОДНОМУ УРОВНЮ.</p> <p>ПРИМЕНЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НЕ МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО, ЕСЛИ ВОЗНИКЛА ПЕЧЕНОЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ.</p>
ALT $\geq$ 3 $\times$ ULN	<p>ОБЩИЙ БИЛИРУБИН В <math>\geq</math> 2<math>\times</math> ПРЕВЫШАЕТ ИСХОДНЫЙ УРОВЕНЬ</p>	<p>ОТСУТСТВУЕТ ИЛИ ПРИСУТСТВУЕТ</p>	<p>ПРИОСТАНОВКА ПРИЕМА ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА. АНАЛИЗЫ КРОВИ БУДУТ ПОВТОРЕНА В ПРЕДЕЛАХ 2-5 СУТОК.</p> <p>БУДЕТ НАЧАТ ТЩАТЕЛЬНЫЙ МОНИТОРИНГ И ИССЛЕДОВАНИЕ КОНКУРИРУЮЩИХ ЭТИОЛОГИЙ. ПРИМЕНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО ТОЛЬКО ЕСЛИ ИДЕНТИФИЦИРОВАНА ДРУГАЯ ЭТИОЛОГИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ ФЕРМЕНТОВ ПЕЧЕНИ ВЕРНУЛИСЬ К ИСХОДНОМУ УРОВНЮ.</p> <p>ПРИМЕНЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НЕ МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО, ЕСЛИ ВОЗНИКЛА ПЕЧЕНОЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ.</p>

ALT $\geq 5 \times$ ULN	НОРМАЛЬНЫЙ ИЛИ ПОВЫШЕННЫЙ	ПРИСУТСТВУЕТ	<p>ПРИМЕНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА БУДЕТ ПРИОСТАНОВЛЕНО. АНАЛИЗЫ КРОВИ БУДУТ ПОВТОРЕНЫ В ПРЕДЕЛАХ 2-5 СУТОК.</p> <p>БУДЕТ НАЧАТ ТЩАТЕЛЬНЫЙ МОНИТОРИНГ И ИССЛЕДОВАНИЕ КОНКУРИРУЮЩИХ ЭТИОЛОГИЙ. ПРИМЕНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО ТОЛЬКО ЕСЛИ ИДЕНТИФИЦИРОВАНА ДРУГАЯ ЭТИОЛОГИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ ФЕРМЕНТОВ ПЕЧЕНИ ВЕРНУЛИСЬ К ИСХОДНОМУ УРОВНЮ.</p> <p>ПРИМЕНЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НЕ МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО, ЕСЛИ ВОЗНИКЛА ПЕЧЕНОЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ.</p>
-------------------------	---------------------------------	--------------	---

[189] Для субъектов с повышенными исходными значениями ALT будет иметь место следующий мониторинг в отношении признаков гепатоцеллюлярного DILI:

ВОЗНИКШЕЕ ПОСЛЕ НАЧАЛА ЛЕЧЕНИЯ ИЗМЕНЕНИЕ ALT	БИЛИРУБИН	СВЯЗАННЫЕ С ПЕЧЕНЬЮ СИМПТОМЫ	ДЕЙСТВИЕ
ALT в $\geq 3 \times$ ПРЕВЫШАЕТ ИСХОДНЫЙ УРОВЕНЬ ИЛИ $\geq$ 300 ЕД/Л (В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТОГО, ЧТО	НОРМАЛЬН ЫЙ	ОТСУТСТВУЕТ	<p>АНАЛИЗЫ КРОВИ БУДУТ ПОВТОРЕНЫ ЧЕРЕЗ 2-5 СУТОК. ЗА СУБЪЕКТОМ БУДУТ НАБЛЮДАТЬ В ОТНОШЕНИИ СИМПТОМОВ.</p>

ВОЗНИКЛО ПЕРВЫМ)			
<p>ALT В <math>\geq</math> 5x ПРЕВЫШАЕТ ИСХОДНЫЙ УРОВЕНЬ ИЛИ <math>\geq</math> 500 ЕД/Л (В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТОГО, ЧТО ВОЗНИКЛО ПЕРВЫМ)</p>	<p>НОРМАЛЬН ЫЙ ИЛИ ПОВЫШЕНН ЫЙ</p>	<p>ОТСУТСТВУЕТ ИЛИ ПРИСУТСТВУ ЕТ</p>	<p>ПРИОСТАНОВКА ПРИЕМА ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА. АНАЛИЗЫ КРОВИ БУДУТ ПОВТОРЕНЫ В ПРЕДЕЛАХ 2-5 СУТОК. БУДЕТ НАЧАТ ТЩАТЕЛЬНЫЙ МОНИТОРИНГ И ИССЛЕДОВАНИЕ КОНКУРИРУЮЩИХ ЭТИОЛОГИЙ. ПРИМЕНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО ТОЛЬКО ЕСЛИ ИДЕНТИФИЦИРОВАНА ДРУГАЯ ЭТИОЛОГИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ ФЕРМЕНТОВ ПЕЧЕНИ ВЕРНУЛИСЬ К ИСХОДНОМУ УРОВНЮ. ПРИМЕНЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НЕ МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО, ЕСЛИ ВОЗНИКЛА ПЕЧЕНОЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ.</p>
<p>ALT В <math>\geq</math> 2x ПРЕВЫШАЕТ ИСХОДНЫЙ УРОВЕНЬ ИЛИ <math>\geq</math> 300 ЕД/Л (В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТОГО, ЧТО ВОЗНИКЛО ПЕРВЫМ)</p>	<p>ОБЩИЙ БИЛИРУБИН В <math>\geq</math> 2x ПРЕВЫШАЕТ ИСХОДНЫЙ УРОВЕНЬ</p>	<p>ОТСУТСТВУЕТ ИЛИ ПРИСУТСТВУ ЕТ</p>	<p>ПРИОСТАНОВКА ПРИЕМА ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА. АНАЛИЗЫ КРОВИ БУДУТ ПОВТОРЕНЫ В ПРЕДЕЛАХ 2-5 СУТОК. БУДЕТ НАЧАТ ТЩАТЕЛЬНЫЙ МОНИТОРИНГ И ИССЛЕДОВАНИЕ КОНКУРИРУЮЩИХ ЭТИОЛОГИЙ. ПРИМЕНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО</p>

			<p>ТОЛЬКО ЕСЛИ ИДЕНТИФИЦИРОВАНА ДРУГАЯ ЭТИОЛОГИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ ФЕРМЕНТОВ ПЕЧЕНИ ВЕРНУЛИСЬ К ИСХОДНОМУ УРОВНЮ.</p> <p>ПРИМЕНЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НЕ МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО, ЕСЛИ ВОЗНИКЛА ПЕЧЕНОЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ.</p>
<p>ALT В <math>\geq 2 \times</math> ПРЕВЫШАЕТ ИСХОДНЫЙ УРОВЕНЬ ИЛИ <math>\geq 300</math> ЕД/Л (В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТОГО, ЧТО ВОЗНИКЛО ПЕРВЫМ)</p>	<p>НОРМАЛЬН ЫЙ ИЛИ ПОВЫШЕНН ЫЙ</p>	<p>ПРИСУТСТВУ ЕТ</p>	<p>ПРИМЕНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА БУДЕТ ПРИОСТАНОВЛЕНО.</p> <p>АНАЛИЗЫ КРОВИ БУДУТ ПОВТОРЕНА В ПРЕДЕЛАХ 2-5 СУТОК. БУДЕТ НАЧАТ ТЩАТЕЛЬНЫЙ МОНИТОРИНГ И ИССЛЕДОВАНИЕ КОНКУРИРУЮЩИХ ЭТИОЛОГИЙ.</p> <p>ПРИМЕНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО ТОЛЬКО ЕСЛИ ИДЕНТИФИЦИРОВАНА ДРУГАЯ ЭТИОЛОГИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ ФЕРМЕНТОВ ПЕЧЕНИ ВЕРНУЛИСЬ К ИСХОДНОМУ УРОВНЮ.</p> <p>ПРИМЕНЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НЕ МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО, ЕСЛИ ВОЗНИКЛА ПЕЧЕНОЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ.</p>

[190] Будет иметь место следующий мониторинг в отношении признаков холестатического DILI:

ВОЗНИКШЕЕ ПОСЛЕ НАЧАЛА	БИЛИРУБИН	СВЯЗАННЫЕ С ПЕЧЕНЬЮ	ДЕЙСТВИЕ
------------------------	-----------	---------------------	----------

ЛЕЧЕНИЯ ИЗМЕНЕНИЕ ALT		СИМПТОМЫ	
ALP В $\geq 2\times$ ПРЕВЫШАЕТ ИСХОДНЫЙ УРОВЕНЬ БЕЗ АЛЬТЕРНАТИВНОГ О ОБЪЯСНЕНИЯ	НОРМАЛЬНЫ Й	ОТСУТСТВУЕТ	АНАЛИЗЫ КРОВИ БУДУТ ПОВТОРЕНА ЧЕРЕЗ 7-10 СУТОК. ЗА СУБЪЕКТОМ БУДУТ НАБЛЮДАТЬ В ОТНОШЕНИИ СИМПТОМОВ.
ALP В $\geq 2\times$ ПРЕВЫШАЕТ ИСХОДНЫЙ УРОВЕНЬ БЕЗ АЛЬТЕРНАТИВНОГ О ОБЪЯСНЕНИЯ	ОБЩИЙ БИЛИРУБИН В $\geq 2\times$ ПРЕВЫШАЕТ ИСХОДНЫЙ УРОВЕНЬ	ОТСУТСТВУЕТ ИЛИ ПРИСУТСТВУ ЕТ	ПРИОСТАНОВКА ПРИЕМА ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА. АНАЛИЗЫ КРОВИ БУДУТ ПОВТОРЕНА В ПРЕДЕЛАХ 7-10 СУТОК. БУДЕТ НАЧАТ ТЩАТЕЛЬНЫЙ МОНИТОРИНГ И ИССЛЕДОВАНИЕ КОНКУРИРУЮЩИХ ЭТИОЛОГИЙ. ПРИМЕНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО ТОЛЬКО ЕСЛИ ИДЕНТИФИЦИРОВАНА ДРУГАЯ ЭТИОЛОГИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ ФЕРМЕНТОВ ПЕЧЕНИ ВЕРНУЛИСЬ К ИСХОДНОМУ УРОВНЮ. ПРИМЕНЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НЕ МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО, ЕСЛИ ВОЗНИКЛА ПЕЧЕНОЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ.
ALP В $\geq 2\times$ ПРЕВЫШАЕТ ИСХОДНЫЙ УРОВЕНЬ БЕЗ АЛЬТЕРНАТИВНОГ О ОБЪЯСНЕНИЯ	НОРМАЛЬНЫ Й ИЛИ ПОВЫШЕНН ЫЙ	ПРИСУТСТВУ ЕТ	ПРИОСТАНОВКА ПРИЕМА ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА. АНАЛИЗЫ КРОВИ БУДУТ ПОВТОРЕНА В ПРЕДЕЛАХ 7-10 СУТОК. БУДЕТ НАЧАТ ТЩАТЕЛЬНЫЙ МОНИТОРИНГ И ИССЛЕДОВАНИЕ КОНКУРИРУЮЩИХ ЭТИОЛОГИЙ. ПРИМЕНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА

			<p>МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО ТОЛЬКО ЕСЛИ ИДЕНТИФИЦИРОВАНА ДРУГАЯ ЭТИОЛОГИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ ФЕРМЕНТОВ ПЕЧЕНИ ВЕРНУЛИСЬ К ИСХОДНОМУ УРОВНЮ.</p> <p>ПРИМЕНЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НЕ МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО, ЕСЛИ ВОЗНИКЛА ПЕЧЕНОЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ.</p>
<p>ALP В <math>\geq 3 \times</math> ПРЕВЫШАЕТ ИСХОДНЫЙ УРОВЕНЬ БЕЗ АЛЬТЕРНАТИВНОГО ОБЪЯСНЕНИЯ</p>	<p>НОРМАЛЬНЫЙ ИЛИ ПОВЫШЕННЫЙ</p>	<p>ОТСУТСТВУЕТ ИЛИ ПРИСУТСТВУЕТ</p>	<p>ПРИМЕНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА БУДЕТ ПРИОСТАНОВЛЕНО.</p> <p>АНАЛИЗЫ КРОВИ БУДУТ ПОВТОРЕНА В ПРЕДЕЛАХ 2-5 СУТОК.</p> <p>БУДЕТ НАЧАТ ТЩАТЕЛЬНЫЙ МОНИТОРИНГ И ИССЛЕДОВАНИЕ КОНКУРИРУЮЩИХ ЭТИОЛОГИЙ.</p> <p>ПРИМЕНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО ТОЛЬКО ЕСЛИ ИДЕНТИФИЦИРОВАНА ДРУГАЯ ЭТИОЛОГИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ ФЕРМЕНТОВ ПЕЧЕНИ ВЕРНУЛИСЬ К ИСХОДНОМУ УРОВНЮ.</p> <p>ПРИМЕНЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НЕ МОЖЕТ БЫТЬ ВОЗОБНОВЛЕНО, ЕСЛИ ВОЗНИКЛА ПЕЧЕНОЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ.</p>

[191] Анализы крови (ALT, общий и прямой билирубин и ALP) следует повторять в пределах 2-5 суток, если имеется подозрение на гепатоцеллюлярное DILI, и в пределах 7-10 суток, если имеется подозрение на холестатическое DILI, для подтверждения воспроизводимости исходного значения, а также направленность изменения от первоначального значения.

[192] **Оценки безопасности будут включать следующее:**

Полное физикальное обследование при скрининге и на 1-е и 8-е сутки и связанные с симптомами физикальные обследования на 3-и, 10-е, 15-е, 60-е, 90-е, 120-е, 180-е, 270-е, 365-е, 450-е, 540-е, 630-е, 700-е и 720-е сутки;

Основные физиологические показатели при скрининге и на 1-е, 3-и, 8-е, 10-е, 15-е, 60-е, 90-е, 120-е, 180-е, 270-е, 365-е, 450-е, 540-е, 630-е, 700-е и 720-е сутки; необязательно с последующими связанными с симптомами физикальными обследованиями на 15-е, 60-е, 90-е, 120-е, 180-е, 270-е, 365-е, 450-е, 540-е, 630-е, 700-е и 720-е сутки;

Электрокардиограммы в 12 отведениях (ECG) при скрининге и на 1-е, 3-и, 8-е и 10-е сутки;

АЕ при скрининге, после чего на 1-е, 3-и, 4-7-е (удаленно), 8-е, 10-е, 11-14-е (удаленно), 15-е, 60-е, 90-е, 120-е, 180-е, 270-е, 365-е, 450-е, 540-е, 630-е, 700-е и 720-е сутки;

Лабораторные исследования безопасности (биохимия, анализ крови, коагуляция и анализ мочи) при скрининге, после чего на 1-е, 3-и, 8-е, 10-е, 15-е, 60-е, 90-е, 120-е, 180-е, 270-е, 365-е, 450-е, 540-е, 630-е, 700-е и 720-е сутки;

Профилирование цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10) при скрининге, после чего на 1-е, 3-и, 8-е, 10-е и 15-е сутки;

Антимитохондриальные антитела при скрининге, после чего на 1-е, 3-и, 8-е, 10-е, 15-е, 60-е, 90-е, 120-е, 180-е, 270-е, 365-е, 450-е, 540-е, 630-е, 700-е и 720-е сутки.

**[193] Лабораторные исследования/оценки PD будут включать следующее:**

Т-клеточный инфильтрат (в пункционном биоптате печени) при скрининге, после чего на 60-е сутки;

Антигенспецифические CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клетки при скрининге, после чего на 1-е, 8-е, 15-е, 60-е и 90-е сутки;

Щелочная фосфатаза в сыворотке крови (ALP) при скрининге, после чего на 1-е, 8-е, 15-е, 60-е, 90-е, 120-е, 180-е, 270-е, 365-е, 450-е, 540-е, 630-е, 700-е и 720-е сутки;

Биохимический анализ крови (билирубин, альбумин, ALT, AST) при скрининге, после чего на 1-е, 8-е, 15-е, 60-е, 90-е, 120-е, 180-е, 270-е, 365-е, 450-е, 540-е, 630-е, 700-е и 720-е сутки;

Антинуклеарные аутоантитела (Gp210 и Sp100) при скрининге, после чего на 1-е, 8-е, 15-е, 60-е, 90-е, 120-е, 180-е, 270-е, 365-е, 450-е, 540-е, 630-е, 700-е и 720-е сутки;

IgM в сыворотке крови при скрининге, после чего на 1-е, 8-е, 15-е, 60-е, 90-е, 120-е, 180-е, 270-е, 365-е, 450-е, 540-е, 630-е, 700-е и 720-е сутки;

Воспаление/фиброз (в пункционном биоптате печени) при скрининге, после чего на 60-е сутки;

Растворимый CD14 в сыворотке крови при скрининге, после чего на 1-е, 8-е, 15-е, 60-е, 90-е, 120-е, 180-е, 270-е, 365-е, 450-е, 540-е, 630-е, 700-е и 730-е сутки;

Кинуренин в сыворотке крови на 1-е сутки, после чего на 15-е, 60-е, необязательно на 1-е, 8-е, 90-е, 120-е, 180-е, 270-е, 365-е, 450-е, 540-е, 630-е, 700-е и 720-е сутки.

**[194] Оценки клинической эффективности будут включать следующее:**

Эластичность печени (FibroScan) при скрининге, после чего на 60-е, 90-е, 120-е, 180-е, 270-е, 365-е, 450-е, 540-е, 630-е, 700-е и 720-е сутки;

Балл ELF при скрининге, после чего на 60-е, 90-е, 120-е, 180-е, 270-е, 365-е, 450-е,

540-е, 630-е, 700-е и 720-е сутки;

Оценка РВС-40 на 1-е сутки, после чего на 8-е, 15-е, 60-е, 90-е, 120-е, 180-е, 270-е, 365-е, 450-е, 540-е, 630-е, 700-е и 720-е сутки.

Дневник оценки зуда на 1-е сутки, после чего каждые последующие сутки исследования до 120-х суток, а затем еженедельно до 730-х суток.

Пример 4: Критерии выбора пациентов для лечения CNP 104

[195] РВМС получали от 17 пациентов с РВС для определения того, имела ли место корреляция между положительным по АМА статусом, положительным по HLA с ограничением PDC-E2 статусом и уровнями ALP. У 70% пациентов в исследовании наблюдалась экспрессия HLA, HLA-A\*02 или HLA-DRB4\*01, или как одного, так и другого, ограниченного по PDC-E2. Поскольку в CNP 104 инкапсулирован PDC-E2, статус HLA-A\*02 или HLA-DRB4\*01 у субъектов может быть критерием для включения в клиническое испытание CNP 104. У 75% пациентов наблюдался положительный статус по АМА. У четырех пациентов из 17 наблюдался отрицательный статус по АМА, однако у 3 из 4 наблюдались положительные фенотипы HLA в отношении CNP-104. У 70% пациентов с РВС наблюдались повышенные уровни ALP в крови. Выбор критериев для лечения CNP 104 может основываться на ограничении гаплотипа HLA, положительном статусе по АМА, уровнях ALP. Выбор критериев может позволить идентифицировать пациентов, у которых, вероятно, можно достичь эффективности при применении CNP 104. (Фиг. 7). Пациенты с РВС, у которых заболевание обусловлено аутореактивностью на антиген PDC-E2, соответствуют критериям включения в исследование для лечения CNP 104, и они могут быть идентифицированы на основе гаплотипа HLA, антимитохондриальных антител и уровней щелочной фосфатазы в крови.

[196] Биоптаты печени от пациентов с РВС оценивали в отношении присутствия инфильтрирующих Т-клеток как потенциального критерия для включения в клиническое испытание CNP 104. Тяжесть поражения печени оценивалась по шкале от 1 до 4, при этом балл 4 соответствует наиболее тяжелой патологии печени. Количество клеток в случае CD4+ Т-клеток (Фиг. 8А), CD8+ Т-клеток (Фиг. 8В) и клеток эпителия желчных протоков PanCK+ (Фиг. 8С) выявляли в печени на стадии 1, 3 и 4 РВС по сравнению с изотипическим контролем. Выбор критериев для лечения CNP 104 может основываться на присутствии PDC-E2-специфических CD4+ и/или CD8+ Т-клеток в крови или печени (Фиг. 8).

[197] Следует понимать, что каждый вариант реализации данного изобретения, описанный в данном документе, необязательно можно комбинировать с любым одним или несколькими другими вариантами реализации, описанными в данном документе. Каждая патентная литература и каждая непатентная литература, цитируемая в данном документе, полностью включена в данный документ посредством ссылки.

[198] Следовательно, следует понимать, что данное изобретение не ограничивается конкретными описанными вариантами реализации, а подразумевается, что оно охватывает все модификации, которые находятся в пределах сущности и объема данного изобретения,

как определено прилагаемой формулой изобретения; вышеизложенным описанием и/или показано в прилагаемых графических материалах. Следовательно, на данное изобретение следует налагать только такие ограничения, которые обозначаются в прилагаемой формуле изобретения.

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Lu M, Zhou Y, Haller IV, et al. Increasing Prevalence of Primary Biliary Cholangitis and Reduced Mortality With Treatment. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2018;16(8):1342-1350.e1341.
2. Webb GJ, Siminovitch KA, Hirschfield GM. The immunogenetics of primary biliary cirrhosis: A comprehensive review. *J Autoimmun.* 2015;64:42-52.
3. Gershwin ME, Ansari AA, Mackay IR, et al. Primary biliary cirrhosis: an orchestrated immune response against epithelial cells. *Immunol Rev.* 2000;174:210-225.
4. Jones DEJ. Autoantigens in primary biliary cirrhosis. *Journal of Clinical Pathology.* 2000;53(11):813-821.
5. Hu CJ, Zhang FC, Li YZ, Zhang X. Primary biliary cirrhosis: what do autoantibodies tell us? *World J Gastroenterol.* 2010;16(29):3616-3629.
6. Bowlus CL, Kenney JT, Rice G, Navarro R. Primary Biliary Cholangitis: Medical and Specialty Pharmacy Management Update. *J Manag Care Spec Pharm.* 2016;22(10-a-s Suppl):S3-s15.
7. Aguilar MT, Chascas DM. Update on Emerging Treatment Options for Primary Biliary Cholangitis. *Hepat Med.* 2020;12:69-77.
8. Lindor KD, Bowlus CL, Boyer J, Levy C, Mayo M. Primary Biliary Cholangitis: 2018 Practice Guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2019;69(1):394-419.
9. Hiramatsu K, Aoyama H, Zen Y, Aishima S, Kitagawa S, Nakanuma Y. Proposal of a new staging and grading system of the liver for primary biliary cirrhosis. *Histopathology.* 2006;49(5):466-478.
10. Kakuda Y, Harada K, Sawada-Kitamura S, et al. Evaluation of a new histologic staging and grading system for primary biliary cirrhosis in comparison with classical systems. *Hum Pathol.* 2013;44(6):1107-1117.

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Lu M, Zhou Y, Haller IV, et al. Increasing Prevalence of Primary Biliary Cholangitis and Reduced Mortality With Treatment. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2018;16(8):1342-1350.e1341.
2. Webb GJ, Siminovitch KA, Hirschfield GM. The immunogenetics of primary biliary cirrhosis: A comprehensive review. *J Autoimmun.* 2015;64:42-52.
3. Gershwin ME, Ansari AA, Mackay IR, et al. Primary biliary cirrhosis: an orchestrated immune response against epithelial cells. *Immunol Rev.* 2000;174:210-225.
4. Jones DEJ. Autoantigens in primary biliary cirrhosis. *Journal of Clinical Pathology.* 2000;53(11):813-821.

5. Hu CJ, Zhang FC, Li YZ, Zhang X. Primary biliary cirrhosis: what do autoantibodies tell us? *World J Gastroenterol*. 2010;16(29):3616-3629.
6. Bowlus CL, Kenney JT, Rice G, Navarro R. Primary Biliary Cholangitis: Medical and Specialty Pharmacy Management Update. *J Manag Care Spec Pharm*. 2016;22(10-a-s Suppl):S3-s15.
7. Aguilar MT, Chascas DM. Update on Emerging Treatment Options for Primary Biliary Cholangitis. *Hepat Med*. 2020;12:69-77.
8. Lindor KD, Bowlus CL, Boyer J, Levy C, Mayo M. Primary Biliary Cholangitis: 2018 Practice Guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2019;69(1):394-419.
9. Hiramatsu K, Aoyama H, Zen Y, Aishima S, Kitagawa S, Nakanuma Y. Proposal of a new staging and grading system of the liver for primary biliary cirrhosis. *Histopathology*. 2006;49(5):466-478.
10. Kakuda Y, Harada K, Sawada-Kitamura S, et al. Evaluation of a new histologic staging and grading system for primary biliary cirrhosis in comparison with classical systems. *Hum Pathol*. 2013;44(6):1107-1117.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Способ лечения первичного билиарного холангита (РВС) у субъекта, включающий введение субъекту толерогенных иммуномодифицирующих частиц, инкапсулирующих один или несколько РВС-антигенов (TIMP-РВС), причем TIMP-РВС вводят при величине дозы от около 0,01 мг/кг до 12 мг/кг.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что РВС-антиген представляет собой E-2 пируватдегидрогеназного комплекса (PDC-E2).

3. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что РВС-антиген содержит аминокислотные остатки 155-185 PDC-E2 (PVC<sub>155-185</sub>) (SEQ ID NO: 1).

4. Способ по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что РВС-антиген представляет собой пептид PVC<sub>155-185</sub> (SEQ ID NO: 1).

5. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что TIMP-РВС-частицы имеют средний диаметр от 100 нм до 1500 нм.

6. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что TIMP-РВС-частицы имеют отрицательный дзета-потенциал.

7. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что частицы имеют отрицательный дзета-потенциал от -30 мВ до -100 мВ.

8. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что TIMP-РВС вводят в концентрации от около 0,005 мг/мл до около 50 мг/мл, необязательно около 0,05 мг/мл, 0,1 мг/мл, 0,5 мг/мл, 1 мг/мл, 2 мг/мл, 3 мг/мл, 3,25 мг/мл, 3,5 мг/мл, 4 мг/мл, 5 мг/мл, 6 мг/мл, 7 мг/мл, 8 мг/мл, 9 мг/мл, 10 мг/мл, 11 мг/мл, 12,5 мг/мл, 15 мг/мл, 17,5 мг/мл, 20 мг/мл, 25 мг/мл, 30 мг/мл, 40 мг/мл или 50 мг/мл.

9. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что TIMP-РВС вводят при величине дозы около 0,01 мг/кг, 0,05 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,25 мг/кг, 0,5 мг/кг, 1,0 мг/кг, 2,0 мг/кг, 4,0 мг/кг, 6 мг/кг, 8,0 мг/кг, 10 мг/кг или 12 мг/кг.

10. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что TIMP-РВС вводят при величине дозы от около 1 мг до 800 мг.

11. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что TIMP-РВС вводят в дозе около 1 мг, 2 мг, 5 мг, 10 мг, 25 мг, 50 мг, 75 мг, 100 мг, 125 мг, 150 мг, 175 мг, 200 мг, 225 мг, 250 мг, 275 мг, 300 мг, 325 мг, 350 мг, 400 мг, 425 мг, 450 мг, 475 мг, 500 мг, 525 мг, 550 мг, 575 мг, 600 мг, 625 мг, 650 мг, 675 мг, 700 мг, 725 мг, 750 мг, 775 мг или 800 мг.

12. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что TIMP-РВС вводят в однократной дозе или в многократных дозах.

13. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что TIMP-РВС вводят один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в 4 недели, один раз в два месяца, один раз в три месяца, один раз в 6 месяцев или один раз в год.

14. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что TIMP-РВС вводят в двух дозах с интервалом в одну неделю.

15. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что TIMP-РВС вводят внутривенно, подкожно, внутримышечно, внутривентриально, интраназально или перорально.

16. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что введение TIMP-РВС субъекту обеспечивает снижение или уменьшение интенсивности одного или нескольких симптомов РВС.

17. Способ по п. 16, отличающийся тем, что один или несколько симптомов РВС выбраны из группы, состоящей из воспаления печени, цирроза, холестаза, нарушения функции печени, печеночной недостаточности, фиброза печени, повышенного иммунного инфильтрата печени, повышенных уровней желчных кислот, повышенных уровней ферментов печени (ALT, ALP, AST,  $\gamma$ -глутамилтрансферазы), повышенных уровней билирубина, циркулирующих антимитохондриальных антител (AMA), циркулирующих антинуCLEARных антител (ANA), утомляемости, кожного зуда, прурита, сухости глаз и ротовой полости, боли в животе, спленомегалии, скелетно-мышечной боли, отека, накопления жидкости, форм ксантомы кожи, желтухи, гиперпигментации, остеопороза, повышенного холестерина, диареи, стеатореи, гипотиреоза и потери массы тела.

18. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что введение TIMP-РВС субъекту обеспечивает снижение продолжительности и/или тяжести воспалительного иммунного ответа на РВС-антигены.

19. Способ по п. 18, отличающийся тем, что воспалительный иммунный ответ представляет собой Т-клеточный, В-клеточный ответ или ответ миелоидных клеток.

20. Способ по п. 18 или 19, отличающийся тем, что воспалительный иммунный ответ анализируют в одном или нескольких биологических образцах, полученных от субъекта.

21. Способ по п. 19, отличающийся тем, что биологический образец выбран из группы, состоящей из цельной крови, периферической крови, мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), сыворотки крови, плазмы крови, мочи, спинномозговой жидкости (CSF), кала, биоптата ткани и/или биоптата костного мозга.

22. Способ по п. 21, отличающийся тем, что биоптат ткани представляет собой биоптат печени.

23. Способ по п. 22, отличающийся тем, что биоптат печени представляет собой функциональный биоптат печени.

24. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что введение TIMP-РВС субъекту обеспечивает снижение уровней активированных антигенспецифических Т-клеток.

25. Способ по п. 24, отличающийся тем, что введение TIMP-РВС субъекту обеспечивает снижение уровней активированных антигенспецифических CD4<sup>+</sup> и/или CD8<sup>+</sup> Т-клеток.

26. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что введение TIMP-РВС субъекту обеспечивает снижение уровней Т-клеточного инфильтрата

в печени.

27. Способ по п. 26, отличающийся тем, что лечение TIMP-PBC обеспечивает уменьшение иммунного инфильтрата печени на около 5%-100% или в около 2-100 раз.

28. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что введение TIMP-PBC субъекту обеспечивает снижение уровней антимитохондриальных антител в крови.

29. Способ по п. 28, отличающийся тем, что лечение TIMP-PBC обеспечивает уменьшение уровней антимитохондриальных антител на около 5%-100% или в около 2-100 раз по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта.

30. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что введение TIMP-PBC субъекту обеспечивает снижение уровней антинуклеарных антител в крови.

31. Способ по п. 30, отличающийся тем, что лечение TIMP-PBC обеспечивает уменьшение уровней антинуклеарных антител на около 5%-100% или в около 2-100 раз по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта.

32. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что введение TIMP-PBC субъекту обеспечивает снижение уровней IgM в крови.

33. Способ по п. 32, отличающийся тем, что лечение TIMP-PBC обеспечивает уменьшение уровней IgM на около 5%-100% или в около 2-100 раз по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта.

34. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что введение TIMP-PBC субъекту обеспечивает снижение уровней антитела к Gr210 в крови.

35. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что введение TIMP-PBC субъекту обеспечивает снижение уровней антитела к Sp100 в крови.

36. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что введение TIMP-PBC субъекту обеспечивает снижение уровней кинуренина в крови.

37. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что введение TIMP-PBC субъекту обеспечивает снижение уровней растворимого CD14 в крови.

38. Способ по любому из пп. 34-37, отличающийся тем, что лечение TIMP-PBC обеспечивает уменьшение уровней антитела к Gr210, антитела к Sp100, кинуренина и/или CD14 на около 5%-100% или в около 2-100 раз по сравнению с исходным показателем у субъекта и/или по сравнению с показателем у здорового субъекта.

39. Способ по п. 16, отличающийся тем, что уменьшение интенсивности одного или нескольких симптомов PBC определяют с использованием шкалы PBC-40, расширенной шкалы для оценки фиброза печени (ELF), шкалы PBC-27, шкалы GLOBE, шкалы UK-PBC, шкалы для оценки средней наибольшей выраженности кожного зуда за

сутки, шкалы для оценки степени тяжести зуда по 5 показателям, визуальной аналоговой шкалы (VAS), системы оценки стадии заболевания по Scheuer, системы оценки стадии заболевания по Nakanuma, шкалы для оценки фиброза, шкалы для оценки потери желчных протоков, индекса FIB-4 или APRI.

40. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что введение TIMP-РВС субъекту обеспечивает снижение фиброза печени.

41. Способ по п. 40, отличающийся тем, что фиброз печени оценивают в биоптате печени.

42. Способ по п. 40, отличающийся тем, что фиброз печени оценивают с помощью визуализации.

43. Способ по п. 42, отличающийся тем, что фиброз печени оценивают с помощью FibroScan, ультразвукового исследования, компьютерной томографии (СТ), магнитно-резонансной томографии (MRI), магнитно-резонансной эластографии (MRA), ультразвуковой эластографии, транзистентной эластографии, точечной эластографии сдвиговой волны или двухмерной эластографии сдвиговой волны.

44. Способ по любому из пп. 40-43, отличающийся тем, что лечение TIMP-РВС обеспечивает уменьшение фиброза печени на около 5%-100% или в около 2-100 раз.

45. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что введение TIMP-РВС субъекту обеспечивает изменение коагулограммы.

46. Способ по п. 45, отличающийся тем, что коагулограмма состоит из активированного частичного тромбопластинового времени [aPTT], протромбинового времени [PT], международного нормализованного отношения [INR]).

47. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что введение TIMP-РВС обеспечивает снижение использования альтернативных средств терапии.

48. Способ по п. 47, отличающийся тем, что средство терапии выбрано из группы, состоящей из стероида, кортикостероида, нестероидного иммунодепрессивного средства, иммуномодулирующего средства, моноклонального антитела, цитокин- и хемокин-направленной терапии, ингибитора JAK, терапии с использованием Т-клеток с химерными антигенными рецепторами (CAR), терапии с использованием регуляторных Т-клеток (Treg), терапии, направленной на В-клетки, противовирусных лекарственных средств, синтетических желчных кислот и хирургического лечения.

49. Способ по п. 47 или 48, отличающийся тем, что средство терапии представляет собой урсодезоксихолевую кислоту (UDCA), обетихоловую кислоту (OCA), фибраты, агонист рецептора  $\delta$ , активируемого пролифераторами пероксисом (pparg $\delta$ ), ингибитор транспортера желчных кислот в подвздошной кишке (IBAT), тауроурсодезоксихолевую кислоту, 6 $\alpha$ -этилхенодесоксихолевую кислоту, сетанаксиб, мозксиприл, абатацепт, фактор роста фибробластов, статины, колхикон, устекинумаб, CD20-направленную терапию, CD19-направленную терапию, CD40/CD40L-направленную терапию, CD80/CD86-направленную терапию, терапию, направленную на нацеленный на В-клетки фактор (BAFF), терапию,

направленную на антиген созревания В-клеток (BCMA), анти-IL6 терапию, анти-IFN терапию, амифампридин, циклоспорин, циклофосфамид, батоклимаб, инебилизумаб, нипокалимаб, позелимаб, ритуксимаб, сатрализумаб, селделапар, пентоксифиллин, тоцилизумаб, тофацитиниб, толебрутиниб, аворстатин, фенофибрат, безафибрат, линериксibat, метотрексат, бутират, пальмитат, трансплантацию печени, беклометазон, циклесонид, флутиказона фуруат, мометазон, будесонид, флутиказон, триамцинолон, лотепреднол, кортизон, преднизон, преднизолон, метилпреднизолон, триамсинолон, дексаметазон, бетаметазон или гидрокортизон.

50. Способ по любому из пп. 47-49, отличающийся тем, что введение TIMP-PBC обеспечивает уменьшение использования альтернативных средств терапии PBC у субъекта на 1%-100%.

51. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что TIMP-PBC вводят отдельно или в комбинации с терапевтическим средством для лечения PBC.

52. Способ по п. 51, отличающийся тем, что терапевтическое средство выбрано из группы, состоящей из стероида, кортикостероида, нестероидного иммунодепрессивного средства, иммуномодулирующего средства, моноклонального антитела, цитокин- и хемокин-направленной терапии, ингибитора JAK, терапии с использованием Т-клеток с химерными антигенными рецепторами (CAR), терапии с использованием регуляторных Т-клеток (Treg), терапии, направленной на В-клетки, противовирусных лекарственных средств, синтетических желчных кислот и хирургического лечения.

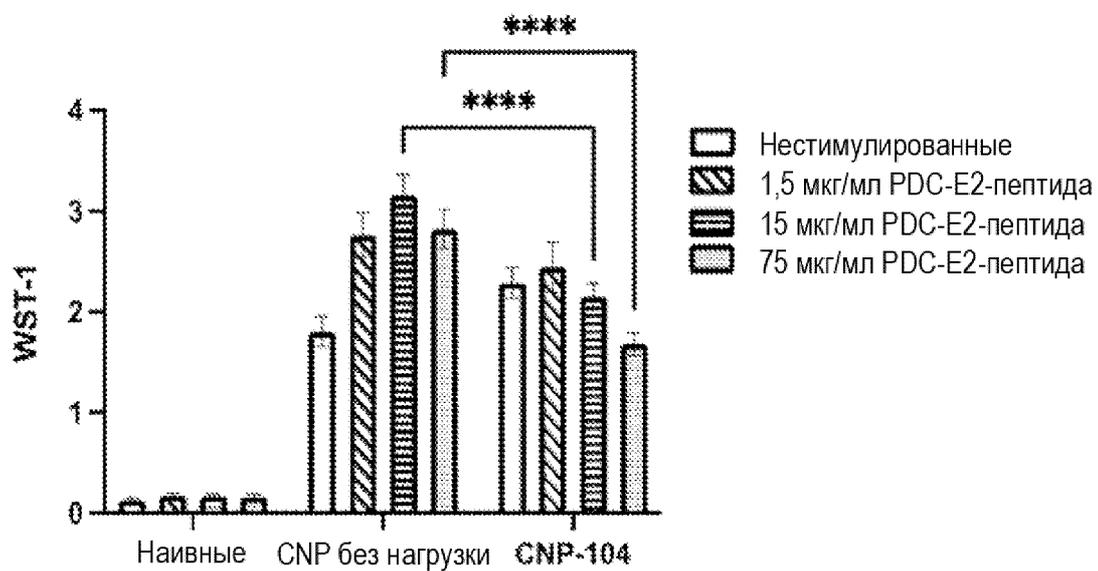
53. Способ по п. 51 или 52, отличающийся тем, что терапевтическое средство выбрано из группы, состоящей из урсодезоксихолевой кислоты (UDCA), обетихолевой кислоты (OCA), фибратов, агониста рецептора  $\delta$ , активируемого пролифераторами пероксисом (pparg $\delta$ ), ингибитора транспортера желчных кислот в подвздошной кишке (IBAT), устекинумаба, тауроурсодезоксихолевой кислоты, 6 $\alpha$ -этилхенодесоксихолевой кислоты, сетанаксиба, мозкисприла, абатацепта, фактора роста фибробластов, статина, колхикона, CD20-направленной терапии, CD19-направленной терапии, CD40/CD40L-направленной терапии, CD80/CD86-направленной терапии, терапии, направленной на нацеленный на В-клетки фактор (BAFF), терапии, направленной на антиген созревания В-клеток (BCMA), анти-IL6 терапии, анти-IFN терапии, амифампридина, циклоспорина, циклофосфамида, батоклимаба, инебилизумаба, нипокалимаба, позелимаба, ритуксимаба, сатрализумаба, селделапара, пентоксифиллина, тоцилизумаба, тофацитиниба, толебрутиниба, аворстатина, фенофибрата, безафибрата, линериксибата, метотрексата, бутирата, пальмитата, трансплантации печени, беклометазона, циклесонида, флутиказона фуруата, мометазона, будесонида, флутиказона, триамцинолона, лотепреднола, кортизона, преднизона, преднизолон, метилпреднизолон, триамсинолон, дексаметазона, бетаметазона и гидрокортизона.

54. Способ по любому из пп. 51-53, отличающийся тем, что терапевтическое средство вводят до, одновременно или после введения TIMP-PBC.

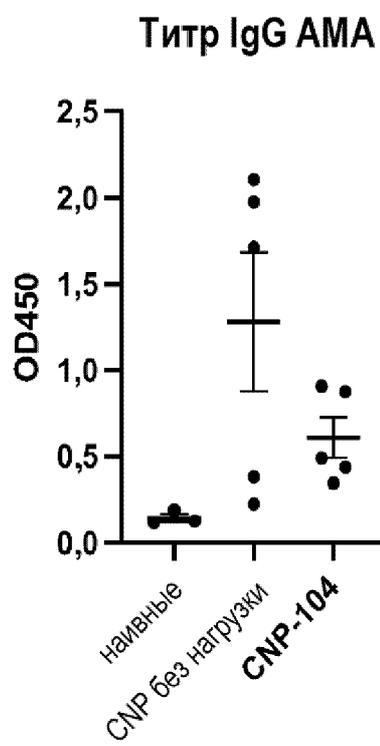
По доверенности

1/8

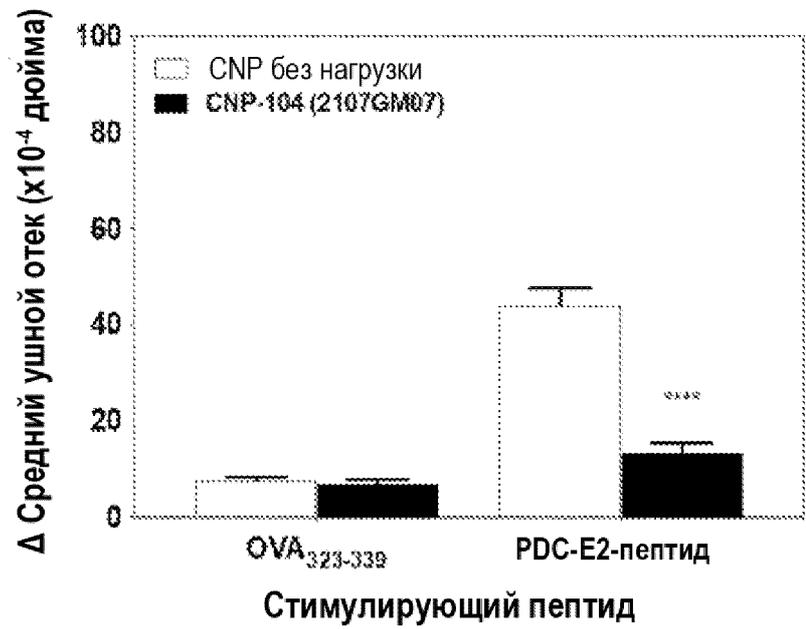
Фиг. 1



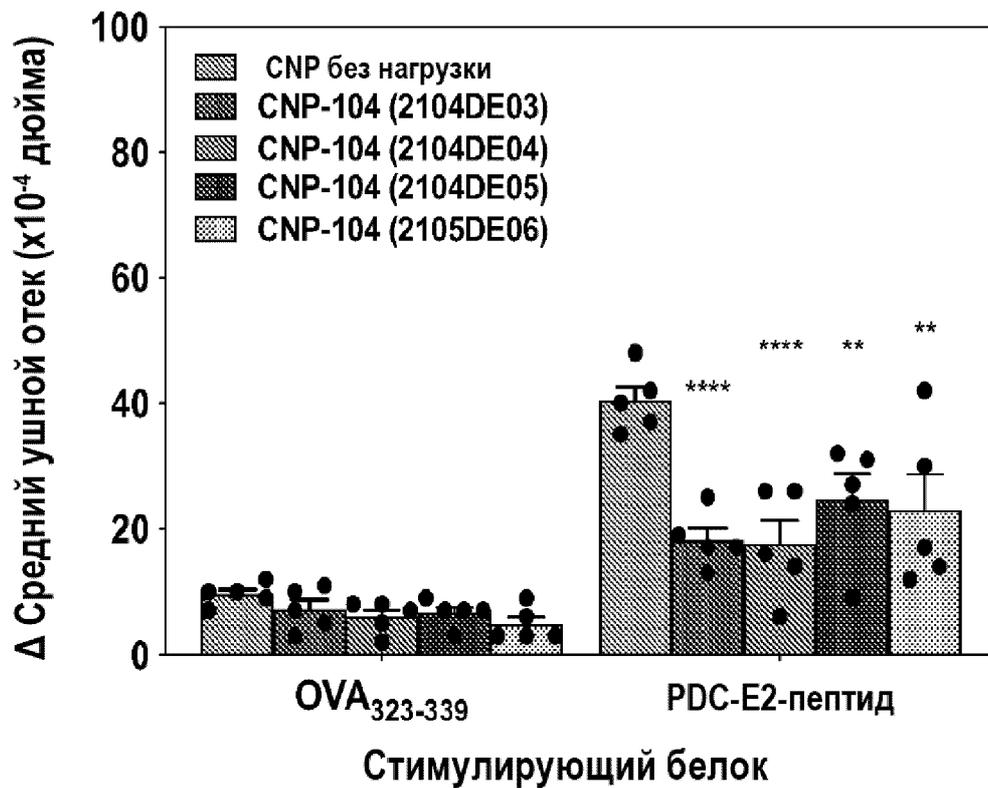
Фиг. 2



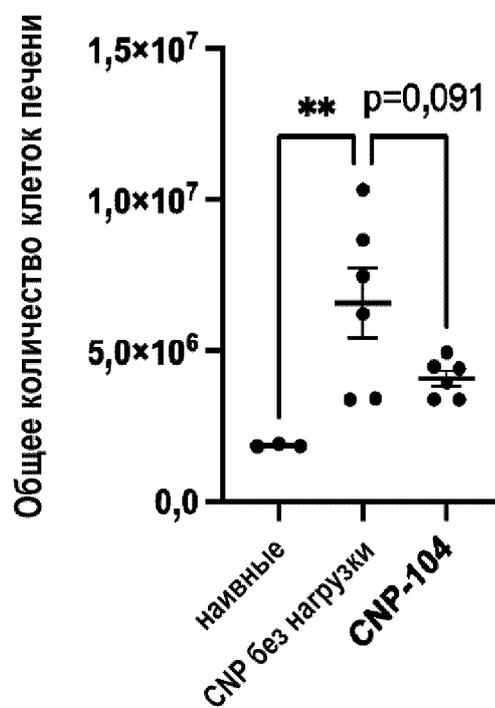
Фиг. 3А



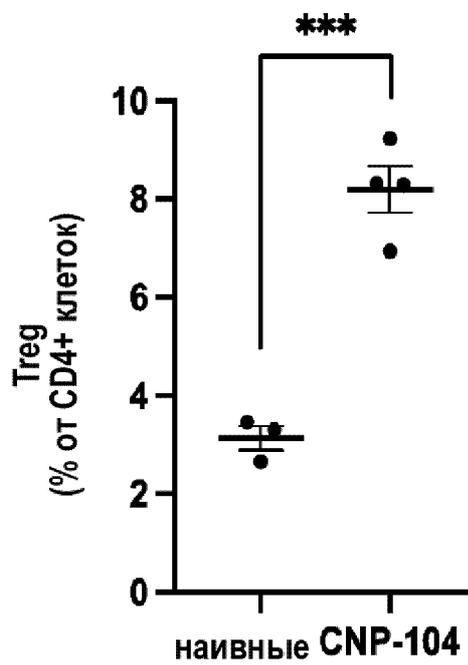
Фиг. 3В



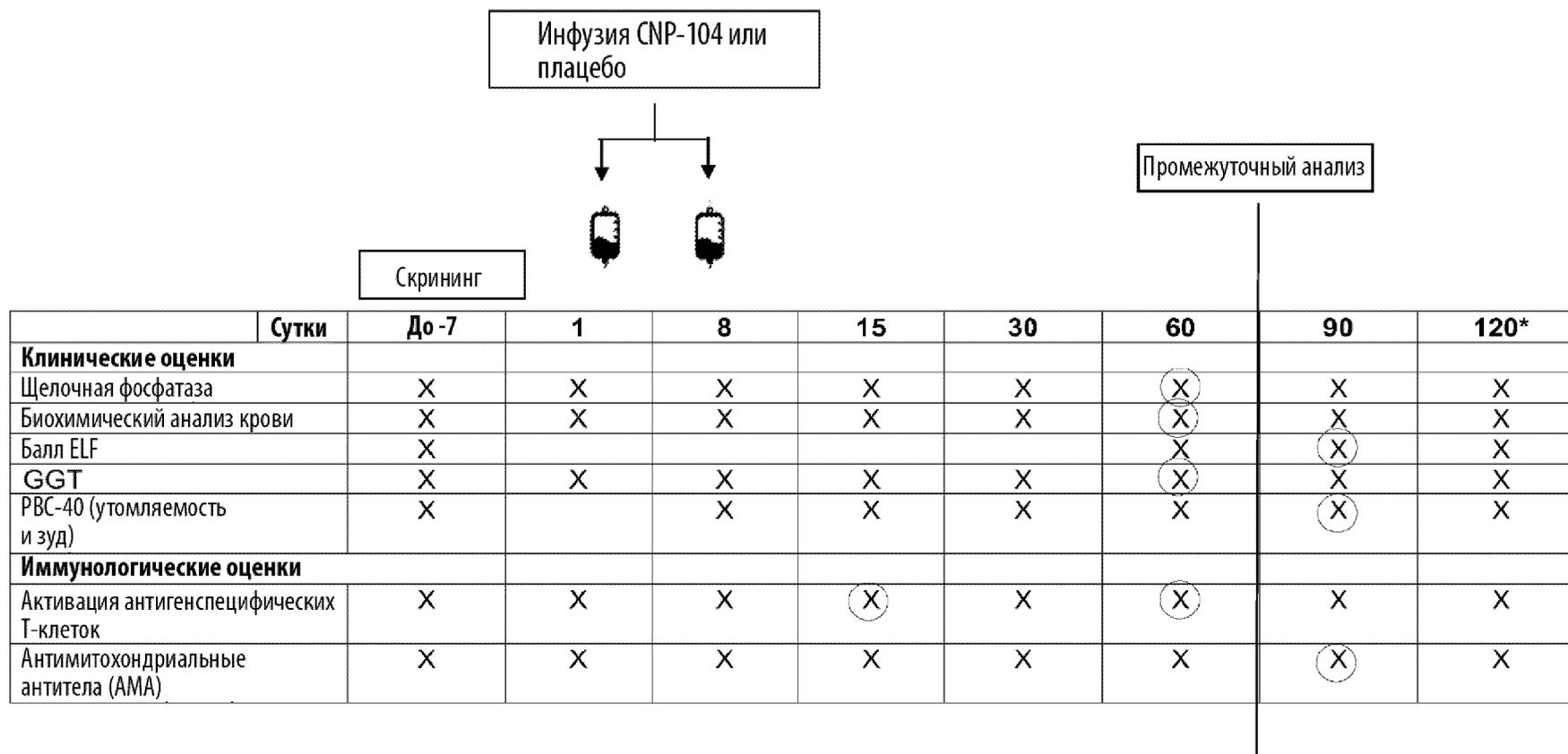
Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6А



Фиг. 6В

Сутки исследования Окно Тип визита	Скрининг	Период введения дозы и последующее наблюдение для острой фазы										Долгосрочное последующее наблюдение						EOS/ ET	
	От -28 до -2	1	3	4-7	8	10	11-14	15	60	90	120	180	270	365	450	540	630	720	
	OV	IP	OV	T	IP	OV	T	OV	OV	OV	OV	t14	t14	t14	t14	t14	t14	t14	
Письменное информированное согласие	X																		
Анамнез, включая РВС	X																		
Демографические данные	X																		
Полный медицинский осмотр	X	X			X														
Рост	X																		
Масса (кг)	X	X																	
Подтверждение соответствия критериям для участия в исследовании	X	X																	
Рандомизация		X																	
IP введение		X			X														
Медицинский осмотр в связи с симптомами			X			X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Основные физиологические показатели	X	X*	X		X*	X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Электрокардиограмма	X	X <sup>o</sup>	X		X <sup>o</sup>	X													
Фиброскан (визуализация печени)	X								X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Дневник оценки зуда		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
РВС-40d		X							X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
AE/SAE		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Сопутствующие лекарственные препараты	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<b>Лабораторные анализы</b>																			
Биохимический анализ сыворотки крови, включая ALP и печеночные пробы	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Анализ крови	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Коагуляция	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Анализ мочи	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Серологический анализ на HBsAg, HCV и ВИЧ	X																		
HbA1c	X																		

Фиг. 6В продолжение

Сутки исследования Окно Тип визита	Скрининг	Период введения дозы и последующее наблюдение для острой фазы										Долгосрочное последующее наблюдение						EOS/ ET	
	От -28 до -2	1	3	4-7	8	10	11-14	15	60	90	120	180	270	365	450	540	630	720	
	OV	IP	OV	T	IP	OV	T	OV	OV	OV	OV	OV	OV	OV	OV	OV	OV	OV	
HLAe																			
Тест на беременность (WOCBP)	S	U			U					S'									
FSHg	X																		
Цитокины	X	X <sup>a</sup>	X		X <sup>a</sup>	X		X											
Плазма крови для будущего исследования	X	X	X		X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Кинурунин в плазме крови		X						X	X										
Растворимый CD14 в сыворотке крови	X	X			X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Антигенспецифические CD4+ и CD8+ Т-клетки	X	X			X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Антитела к Gp210, -Sp100	X	X			X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
IgM в сыворотке крови	X	X			X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
AMA	X	X	X		X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Балл ELF	X							X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

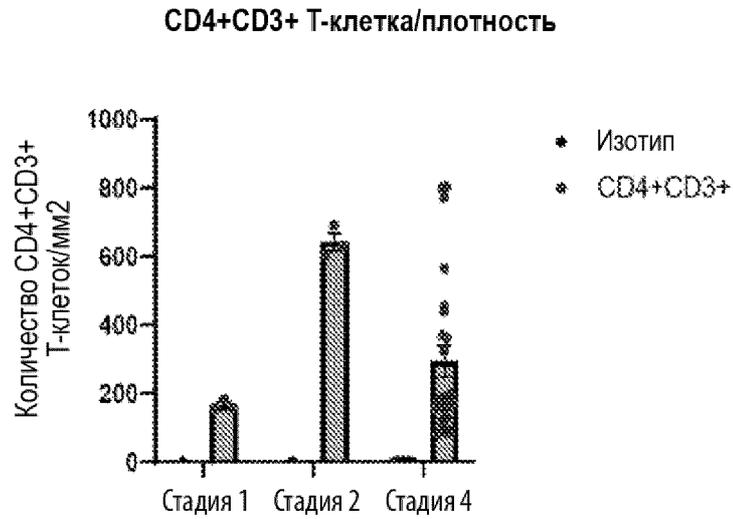
EOS = конец исследования, ET = преждевременное прекращение испытания; S = сыворотка крови; U = моча

- На 1-е и 8-е сутки будут получены результаты по основным физиологическим показателям до введения IP, через 15, 30 и 60 минут (+/-5 минут) после начала инфузии, в конце инфузии (+5 минут) и через 2 часа и 4 часа (+/-15 минут) после окончания инфузии.
- На 1-е и 8-е сутки будет получена ECG до введения IP и через 4 часа (+/-15 минут) после окончания инфузии.
- Дневник оценки зуда заполняют каждое утро и вечер на протяжении исследования, начиная с момента до введения дозы на 1-е сутки исследования и до 120-х суток, а затем еженедельно до EOS/ET. Оценка регистрируется субъектом в мобильном приложении.
- PBC-40 заполняют ежемесячно, начиная с момента до введения дозы на 1-е сутки исследования и до EOS/ET. Эта оценка регистрируется субъектом в мобильном приложении.
- Если субъект был включен в исследование до выполнения протокола v4.0, редакция 3, данные по HLA могут быть получены при любом визите.
- Серологический тест на беременность требуется только для WOCBP, которые завершили исследование до 90-х суток
- FSH-тест для подтверждения менопаузы требуется для женщин, которые не проходили хирургическую стерилизацию И возраст которых > 50 лет
- Кровь для анализа цитокинов будет получена до введения дозы и через 4 часа (+/-15 минут) после окончания инфузии.
- В период с 90-х суток по 720-е сутки кровь для анализа на антигенспецифические CD4+ и CD8+ Т-клетки будут брать только у субъектов с положительным ответом в любой момент времени до или на 60-е сутки.

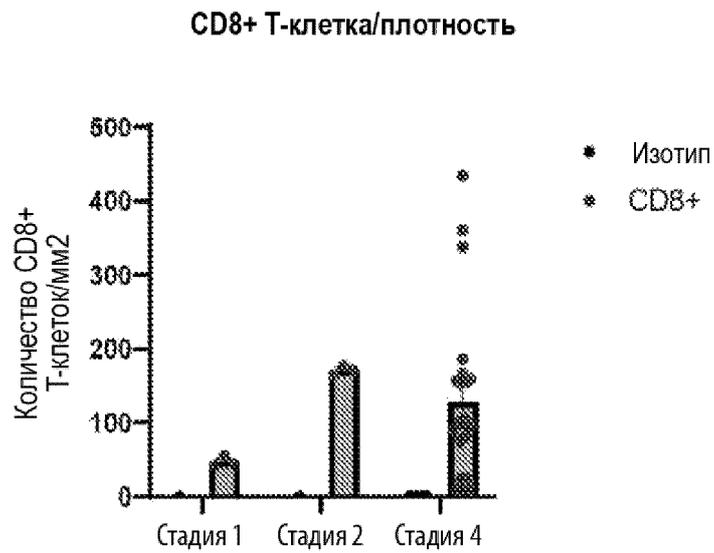
Фиг. 7

ID пациента	ALP (Ед/л) (известные ранее значения)	АМА-статус	HLA-A*02-статус	HLA-DRB4*01-статус#
<b>PBC-001</b>	239	Положительный	Отрицательный	Положительный
<b>PBC-002</b>	203	Положительный	Отрицательный	Отрицательный
<b>PBC-003</b>	1081	Положительный	Отрицательный	Отрицательный
<b>PBC-004</b>	411	Положительный	Отрицательный	Положительный
PBC-005	164	Положительный	Положительный	Отрицательный
<b>PBC-006</b>	203	Положительный	Отрицательный	Отрицательный
PBC-007	85	Отрицательный	Положительный	Положительный
PBC-008	175	Отрицательный	Положительный	Положительный
<b>PBC-009</b>	599	Положительный	Отрицательный	Положительный
<b>PBC-010</b>	346	Положительный	Положительный	Положительный
PBC-011	358	Отрицательный	Отрицательный	Положительный
<b>PBC-012</b>	214	Положительный	Отрицательный	Положительный
<b>PBC-013</b>	N/A	Положительный	Положительный	Отрицательный
<b>PBC-014</b>	80	Положительный	Положительный	Отрицательный
PBC-015	45	Положительный	Отрицательный	Отрицательный
<b>PBC-016</b>	296	Положительный	Положительный	Положительный
PBC-017	900	Отрицательный	Отрицательный	Отрицательный

Фиг. 8А



Фиг. 8В



Фиг. 8С

