

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202491139 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.07.04

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

(22) Дата подачи заявки
2022.11.02

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА И ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ
БИСПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ GPRC5DxCD3

(31) 63/275,356

(32) 2021.11.03

(33) US

(86) PCT/US2022/079144

(87) WO 2023/081704 2023.05.11

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

(72) Изобретатель:

Голдберг Джenna, Ван Линь Шунь
Синь, Приор Томас Дж., Верона
Ралука, Вайс Брендан (US)

(74) Представитель:

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

(57) Описаны способы лечения рака и повышения эффективности перенаправляющих Т-клетки терапевтических средств. В частности, описаны способы применения биспецифического антитела GPRC5DxCD3, антитела к CD38 и/или помалидомида для лечения рака.



202491139

A1

A1

202491139

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА И ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИСПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ GPRC5DXCD3

5

ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА СМЕЖНЫЕ ЗАЯВКИ

Настоящая заявка истребует приоритет предварительной заявки № 63/275,356, поданной 3 ноября 2021 г., полное содержание которой полностью включено в настоящий документ путем ссылки.

10

ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПОДАННЫЙ В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ

Рассматриваемая в данный момент заявка содержит перечень последовательностей, представленный в электронном виде в формате XML и в полном объеме включенный в настоящий документ путем ссылки. Копия указанного перечня в формате XML, созданная 28 октября 2022 г., называется 258199.060802_PRD4189WOPCT1_SL.xml и имеет размер 64,2 килобайта.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Описаны способы лечения рака и повышения эффективности биспецифических антител GPRC5DxCD3.

20

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

С 1990 по 2016 гг. число случаев множественной миеломы (ММ) во всем мире увеличилось на 126%, а смертность увеличилась на 94%. По оценкам, в Соединенных Штатах Америки в 2020 г. будет выявлено 32 270 новых случаев ММ, и 140 779 человек уже живут с этим заболеванием. В Европе множественная миелома является второй по распространенности гематологической злокачественной опухолью: по оценкам, в 2020 г. в 27 европейских странах были зарегистрированы 35 842 новых случая (Европейская онкологическая информационная система, 2020 г.). Несмотря на множество терапевтических вариантов заболевание чаще всего рецидивирует и остается неизлечимым. При каждом последующем рецидиве симптомы возвращаются, качество жизни ухудшается, а вероятность и продолжительность ответа, как правило, уменьшается.

25
30

Рецидивирующая и рефрактерная множественная миелома представляет собой конкретную неудовлетворенную медицинскую потребность. Пациенты, заболевание которых прогрессирует после получения стандартной терапии (такой как ингибиторы протеасом [ИП] или иммуномодулирующие лекарственные средства [IMiD]), трудно поддаются лечению, поскольку они уже подвергались воздействию 2 основных классов препаратов, и необходимы новые эффективные и удобные варианты лечения. Несмотря на то что миелома остается неизлечимым заболеванием, < 40% пациентов получают третью линию терапии. Схемы лечения, содержащие леналидомид, все чаще становятся стандартной терапией первой линии в США и в большинстве стран Европы как для пациентов, подходящих для трансплантации, так и для пациентов, не подходящих для трансплантации. В результате этих клинических подходов большинство пациентов с рецидивирующей множественной миеломой подвергаются воздействию леналидомида при первом рецидиве.

Уничтожение перенаправленными Т-клетками является желаемым механизмом действия во многих терапевтических областях. Как правило, молекулы, перенаправляющие Т-клетки, конструируют так, чтобы они имели по меньшей мере два антигенсвязывающих сайта, причем один сайт связывается с поверхностным антигеном клетки-мишени, а другой сайт связывается с поверхностным антигеном Т-клетки. Среди поверхностных антигенов Т-клеток для уничтожения перенаправленными Т-клетками в качестве мишени наиболее часто используется эпсилон-субъединица человеческого CD3 из белкового комплекса TCR. Как в доклинических, так и в клинических исследованиях было показано, что перенаправление Т-клеток опосредуют различные форматы биспецифических антител.

Опухоли обходят иммунное распознавание за счет создания иммуносупрессивного микроокружения опухоли (ТМЕ). В условиях устойчивого антигена и воспаления в ТМЕ Т-клетки становятся истощенными или нефункциональными и постепенно теряют свою эффекторную функцию и способность к пролиферации. Нарушение функции и сокращение числа Т-клеток, доступных для зацепления с терапевтическими средствами, которые опосредуют уничтожение перенаправленными Т-клетками, может снизить противоопухолевую эффективность терапевтического средства. Существует потребность в повышении

функциональности Т-клеток для оптимальной эффективности терапевтических средств, опосредующих уничтожение перенаправленными Т-клетками.

Талкветамаб (Tal) представляет собой биспецифическое антитело, которое связывается с членом D группы 5 сопряженного с G-белком рецептора класса C (GPRC5D) и CD3. Даратумумаб (Dara) представляет собой моноклональное антитело, одобренное для лечения ММ, которое нацелено на CD38 на клетках ММ, что приводит к непосредственной цитотоксичности для клеток ММ. Необходимы новые препараты для лечения рака, в частности множественной миеломы (ММ), которая остается неизлечимой у большинства пациентов с рецидивами или развивающейся устойчивостью к стандартной терапии.

ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящее время обнаружено, что с применением схемы введения, описанной в настоящей заявке, комбинацию биспецифического антитела GPRC5DxCD3 и антитела к CD38 в форме лекарственного препарата DARZALEX[®] (даратумумаб), каждое из которых опосредует уничтожение клеток множественной миеломы при взаимодействии с мишенью на одной и той же клетке, можно безопасно вводить субъекту для лечения рака, в частности рецидивирующей/рефрактерной ММ.

В одном общем аспекте настоящая заявка относится к способу лечения рака, такого как множественная миелома, у субъекта, нуждающегося в этом, включая:

- (1) введение субъекту биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в дозе от 60 мкг/кг до 1200 мкг/кг каждые 1–2 недели и
- (2) подкожное введение субъекту антитела к CD38 в дозе от 1200 мг до 2400 мг каждые 1–4 недели.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят субъекту в дозе от 60 мкг/кг до 1200 мкг/кг, например 60 мкг/кг, 70 мкг/кг, 80 мкг/кг, 90 мкг/кг, 100 мкг/кг, 200 мкг/кг, 250 мкг/кг, 300 мкг/кг, 350 мкг/кг, 400 мкг/кг, 450 мкг/кг, 500 мкг/кг, 550 мкг/кг, 600 мкг/кг, 650 мкг/кг, 700 мкг/кг, 750 мкг/кг, 800 мкг/кг, 200 мкг/кг, 250 мкг/кг, 300 мкг/кг, 400 мкг/кг, 450 мкг/кг, 500 мкг/кг, 550 мкг/кг, 600 мкг/кг, 700 мкг/кг, 750 мкг/кг, 800 мкг/кг, 850 мкг/кг, 900 мкг/кг, 950 мкг/кг, 1000 мкг/кг, 1050 мкг/кг, 1100 мкг/кг, 1150 мкг/кг или 1200 мкг/кг или любую промежуточную дозу, каждые 1–2 недели.

В некоторых вариантах осуществления способ включает следующие этапы:

- (1) подкожное введение субъекту биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в дозе от 300 мкг/кг до 1200 мкг/кг каждые 1–2 недели и
- (2) подкожное введение субъекту антитела к CD38 в дозе от 1600 мг до 2000 мг каждые 1–4 недели.

5 В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает подкожное введение субъекту биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в дозе, которая меньше, чем доза, применяемая на стадии (1), перед стадией (1).

Согласно вариантам осуществления, представленным в заявке, биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят субъекту подкожно в дозе около
 10 300 мкг/кг, 400 мкг/кг, 450 мкг/кг, 500 мкг/кг, 550 мкг/кг, 600 мкг/кг, 700 мкг/кг, 750 мкг/кг, 800 мкг/кг, 850 мкг/кг, 900 мкг/кг, 950 мкг/кг или 1000 мкг/кг или в любой промежуточной дозе один раз в неделю или один раз в две недели. Например, биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 можно вводить субъекту подкожно в дозе 400 мкг/кг еженедельно или один раз в две недели или 800 мкг/кг
 15 один раз в две недели

В одном варианте осуществления, представленном в заявке, биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят субъекту подкожно в дозе 400 мкг/кг еженедельно или 800 мкг/кг один раз в две недели, а антитело к CD38 вводят субъекту подкожно в дозе 1800 мг один раз в неделю в течение периода
 20 лечения с недели 1 по неделю 8, один раз в две недели в течение периода лечения с недели 9 по неделю 24 и один раз в четыре недели после недели 24 лечения. Антитело к CD38 вводят или обеспечивают для введения вместе с гHuPH20, например около 30 000 ед. гHuPH20.

В способе согласно заявке может применяться любое приемлемое биспецифическое антитело GPRC5DxCD3. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3, пригодное для применения, содержит:

- (i) GPRC5D-связывающий домен, содержащий переменную область тяжелой цепи (VH), имеющую определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) HCDR1, HCDR2 и HCDR3
 30 аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28 и SEQ ID NO: 29 соответственно, и переменную область легкой цепи (VL), имеющую определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR) LCDR1, LCDR2 и LCDR3 аминокислотных последовательностей с SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32 соответственно, и

(ii) CD3-связывающий домен, содержащий VH, имеющую HCDR1, HCDR2 и HCDR3 аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 и SEQ ID NO: 19 соответственно, и VL, имеющую LCDR1, LCDR2 и LCDR3 аминокислотных последовательностей с SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 22 соответственно.

5

В некоторых вариантах осуществления GPRC5D-связывающий домен содержит VH, имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 33, и VL, имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 34. CD3-связывающий домен содержит VH, имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 23, и VL, имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 24. Предпочтительно биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит первую тяжелую цепь (HC1), имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 35, первую легкую цепь (LC1), имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 36, вторую тяжелую цепь (HC2), имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 25, и вторую легкую цепь (LC2), имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 26. Более предпочтительно биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 представляет собой талкветамаб.

10

15

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит VH, имеющую HCDR1, HCDR2 и HCDR3 аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 и SEQ ID NO: 9 соответственно, и VL, имеющую LCDR1, LCDR2 и LCDR3 аминокислотных последовательностей с SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12 соответственно. Предпочтительно антитело к CD38 содержит VH, имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 5, и VL, имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 6. Более предпочтительно антитело к CD38 представляет собой даратумумаб.

20

25

В одном варианте осуществления заявка относится к способу лечения множественной миеломы у субъекта, нуждающегося в этом, включая:

30

- (1) подкожное введение субъекту пересчитанной на массу тела лечебной дозы 400 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 еженедельно или 800 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 один раз в две недели и
- (2) подкожное введение субъекту 1800 мг антитела к CD38 один раз в неделю в течение периода лечения с недели 1 по неделю 8, один раз в две недели в

течение периода лечения с недели 9 по неделю 24 и один раз в четыре недели после недели 24 лечения,

5 причём биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит первую тяжёлую цепь (HC1) с SEQ ID NO: 35, первую лёгкую цепь (LC1) с SEQ ID NO: 36, вторую тяжёлую цепь (HC2) с SEQ ID NO: 25 и вторую лёгкую цепь (LC2) с SEQ ID NO: 26, и антитело к CD38 содержит HC с SEQ ID NO: 13 и LC с SEQ ID NO: 14.

10 В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает подкожное введение субъекту ступенчато нарастающих доз 10 мкг/кг и 60 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 до первоначального подкожного введения пересчитанной на массу тела лечебной дозы 400 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 или способ дополнительно включает подкожное введение субъекту ступенчато нарастающих доз 10 мкг/кг, 60 мкг/кг и 300 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 до первоначального

15 подкожного введения пересчитанной на массу тела лечебной дозы 800 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3.

В некоторых вариантах осуществления, представленных в заявке, субъект получил по меньшей мере одну предшествующую терапию множественной миеломы, предпочтительно у субъекта имеет место рецидив или рефрактерность к

20 по меньшей мере одной форме предшествующей терапии, более предпочтительно предшествующая терапия включает в себя по меньшей мере одно из ингибитора протеасом (ИП) и иммуномодулирующего препарата (IMiD). У субъекта может иметь место рефрактерность или рецидив по отношению к терапии, такой как терапия, выбранная из группы, состоящей из антитела к CD38, леналидомида,

25 бортезомиба, помалидомида, карфилзомиба, элутузумаба, иксазомиба, мелфалана и талидомида или любой их комбинации. Предпочтительно, если субъект получал только 1 предшествующую линию терапии, у субъекта имеет место рефрактерность к леналидомиду.

30 В некоторых вариантах осуществления способ, представленный в заявке, дополнительно включает введение субъекту другой терапии против рака, такой как помалидомид и/или дексаметазон.

В некоторых вариантах осуществления способ согласно вариантам осуществления, представленным в заявке, приводит к активации Т-клеток, такой как увеличение по меньшей мере одного из CD25, PD-1, CD38 на Т-клетках CD4

и/или CD8. Способ согласно вариантам осуществления, представленным в заявке, также может приводить к увеличению частоты по меньшей мере одного из CD38+ CD8+ Т-клеток, CD38+ CD4+ Т-клеток и/или регуляторных Т-клеток (Treg).

5 Другой общий аспект заявки относится к антителу к CD38, описанному в настоящем документе, для применения в способе лечения рака, такого как ММ, более конкретно рецидивирующей или рефрактерной ММ, при этом способ включает:

- 10 (1) введение субъекту биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в дозе от 60 мкг/кг до 1200 мкг/кг или от 300 мкг/кг до 1200 мкг/кг каждые 1–2 недели и
- (2) подкожное введение субъекту антитела к CD38 в дозе от 1200 мг до 2400 мг каждые 1–4 недели.

15 Другой общий аспект заявки относится к биспецифическому антителу GPRC5DxCD3, описанному в настоящем документе, для применения при лечении рака, такого как ММ, более конкретно рецидивирующей или рефрактерной ММ, при этом лечение включает в себя:

- 20 (1) введение субъекту биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в дозе от 60 мкг/кг до 1200 мкг/кг или от 300 мкг/кг до 1200 мкг/кг каждые 1–2 недели и
- (2) подкожное введение субъекту антитела к CD38 в дозе от 1200 мг до 2400 мг каждые 1–4 недели.

25 Другой общий аспект заявки относится к комбинации или набору антитела к CD38, описанного в настоящем документе, и биспецифического антитела GPRC5DxCD3, описанного в настоящем документе, для применения при лечении рака, такого как ММ, более конкретно рецидивирующей или рефрактерной ММ, при этом лечение включает в себя:

- 30 (1) введение субъекту биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в дозе от 60 мкг/кг до 1200 мкг/кг или от 300 мкг/кг до 1200 мкг/кг каждые 1–2 недели и
- (2) подкожное введение субъекту антитела к CD38 в дозе от 1200 мг до 2400 мг каждые 1–4 недели.

Заявка дополнительно относится к применению комбинации антитела к CD38, описанному в настоящем документе, и биспецифического антитела GPRC5DxCD3, описанному в настоящем документе, при изготовлении

лекарственного средства для лечения рака, такого как MM, более конкретно рецидивирующей или рефрактерной MM, при этом лечение включает в себя:

- 5 (1) введение субъекту биспецифического антитела GPRC5D \times CD3 в дозе от 60 мкг/кг до 1200 мкг/кг или от 300 мкг/кг до 1200 мкг/кг каждые 1–2 недели и
- (2) подкожное введение субъекту антитела к CD38 в дозе от 1200 мг до 2400 мг каждые 1–4 недели.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

10 Вышеупомянутое краткое изложение, а также последующее подробное описание изобретения станут более понятными при рассмотрении вместе с прилагаемыми графическими материалами. Необходимо понимать, что изобретение не ограничено точными вариантами осуществления, показанными на графических материалах.

15 На Фиг. 1 представлен схематический обзор части 1 и части 2 исследования фазы 1 в отношении талкветамба, вводимого в комбинации с подкожным введением даратумумаба при рецидивирующей или рефрактерной множественной миеломе.

20 На Фиг. 2 показана доля ответов пациентов, получавших даратумумаб и талкветамаб (дата завершения учета данных для анализа — 20 сентября 2021 г.).

^a Пациенты, которые получали ≥ 1 исследуемое лечение и имели ≥ 1 оценку ответа после определения исходного уровня. Dara 1800 мг плюс Tal (400 мкг/кг еженедельно + 400 мкг/кг и 800 мкг/кг два раза в неделю). ^b Dara = даратумумаб; Tal = талкветамаб; sCR = строгий полный ответ; CR = полный ответ;

25 PR = частичный ответ; VGPR = очень хороший частичный ответ.

30 На Фиг. 3 показано, что синдром высвобождения цитокинов (CRS) был ограничен степенью 1 или 2 у всех пациентов и, как правило, ограничивался повышающими и первыми полными дозами. ^c CRS оценивали в соответствии с критериями ASTCT (Американского общества трансплантации и клеточной терапии). CRS был устранен у всех пациентов.

На Фиг. 4 показано увеличение частоты CD38⁺ Т-клеток после введения талкветамба в присутствии даратумумаба у пациентов с рецидивирующей или рефрактерной множественной миеломой. Даратумумаб (Dara) вводили еженедельно, начиная с C1D1 (цикл 1, день 1). ^A Каждая линия представляет

отдельного пациента; все пациенты получали Dapa 1800 мг = Tal (талкветамаб) п/к;

^b Повышающие дозы Tal.

На Фиг. 5 показано логарифмическое изменение количества Т-клеток CD8⁺ и Т-клеток CD4⁺ в указанные моменты времени у пациентов с RRMM, получавших 400 мкг/кг талкветамаб и даратумумаба. Показаны данные от одного репрезентативного субъекта.

На Фиг. 6 показан процент CD25⁺ CD4⁺ Т-клеток и CD25⁺ CD8⁺ Т-клеток в указанные моменты времени у пациентов с RRMM, получавших 400 мкг/кг талкветамаб и 1800 мг даратумумаба. Показаны данные от одного репрезентативного субъекта.

На Фиг. 7 показан уровень отдельных цитокинов у пациентов с RRMM, получавших даратумумаб 1800 мг плюс повышающие дозы талкветамаб п/к (10 мкг/кг и 60 мкг/кг), а затем 400 мкг/кг талкветамаб один раз в неделю (1 р/нед). На ФИГ. 7А показаны уровни интерферона-гамма (ИФН- γ). На ФИГ. 7Б показаны уровни фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- α). На ФИГ. 7В показаны уровни интерлейкина-6 (ИЛ-6). На ФИГ. 7Г показаны уровни интерлейкина-8 (ИЛ-8). Для каждой панели показаны данные от одного репрезентативного субъекта.

На Фиг. 8 показана продолжительность ответа у пациентов, получавших даратумумаб 1800 мг плюс талкветамаб (400 мкг/кг п/к 1 р/нед, или 400 мкг/кг п/к 1 р/2 нед, или 800 мкг/кг п/к 1 р/2 нед (один раз в две недели)). + — пента-рефрактерность; НЯ — нежелательное явление; CD38E — подвергнутый воздействию антителом к CD38; CD38RE — рефрактерный к анти-CD38-терапии; CR — полный ответ; D/C — прекращенный; MR — минимальный ответ; PD — прогрессирующее заболевание; PR — частичный ответ; п/к — подкожно; sCR — строгий полный ответ; SD — стабильное заболевание; TR — рефрактерность к трем классам препаратов; VGPR — очень благоприятный частичный ответ.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Описанные способы будут более понятны со ссылкой на приведенное ниже подробное описание в сочетании с прилагаемыми фигурами, которые являются частью настоящего описания. Следует понимать, что описанные способы не ограничены конкретными способами, описанными и/или приведенными в настоящем документе, и что применяемая в настоящем документе терминология предназначена для описания конкретных вариантов осуществления исключительно

в качестве примера и не призвана носить ограничивающий характер в отношении заявленных способов. Все патенты, опубликованные заявки на патенты и публикации, процитированные в настоящем документе, включены в него путем ссылки, как если бы они были полностью изложены в настоящем документе.

5 Применяемые в настоящем документе формы единственного числа включают в себя и множественное число.

В настоящем описании и формуле изобретения применяют различные термины, относящиеся к аспектам настоящего описания. Такие термины должны иметь обычное для них значение в данной области техники, если не указано иное.

10 Другие конкретно определенные термины следует толковать согласно приведенным в настоящем документе определениям.

Термин «около», применяемый в отношении числовых диапазонов, отсечек и удельных величин, означает «в пределах приемлемого диапазона ошибки» для конкретного значения, определенного рядовым специалистом в данной области, 15 причем ошибка отчасти зависит от того, каким образом измерено или определено это значение, т. е. от ограничений системы измерения. Если в примерах или в других разделах настоящего описания в контексте анализа, результата или варианта осуществления явным образом не указано иное, термин «около» означает «в пределах одного среднеквадратичного отклонения» в соответствии с практикой, 20 принятой в данной области, или «в диапазоне до 5%», в зависимости от того, что больше.

Термин «антитела» подразумевается в широком значении и включает в себя молекулы иммуноглобулинов, включая моноклональные антитела, в том числе мышинные, человеческие, гуманизированные и химерные моноклональные 25 антитела, антигенсвязывающие фрагменты, мультиспецифические антитела, такие как биспецифические, триспецифические, тетраспецифические и т. д., димерные, тетрамерные или мультимерные антитела, одноцепочечные антитела, доменные антитела и любую другую модифицированную конфигурацию молекулы иммуноглобулина, которая содержит антигенсвязывающий сайт требуемой 30 специфичности. «Полноразмерные антитела» состоят из двух тяжелых цепей (HC) и двух легких цепей (LC), соединенных между собой дисульфидными связями, а также из их мультимеров (например, IgM). Каждая тяжелая цепь состоит из переменной области тяжелой цепи (VH) и константной области тяжелой цепи (состоящей из доменов CH1, шарнирной области, CH2 и CH3). Каждая легкая цепь

состоит из вариабельной области легкой цепи (VL) и константной области легкой цепи (CL). Области VH и VL можно дополнительно подразделять на области гипервариабельности, называемые областями, определяющими комплементарность (CDR), между которыми расположены каркасные области (FR). Каждая из VH и VL состоит из трех CDR и четырех сегментов FR, расположенных в направлении от 5 амино- к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена тяжелой цепи иммуноглобулины могут относиться к пяти основным классам — IgA, IgD, IgE, IgG и IgM. IgA и IgG дополнительно подразделяются на 10 изотипы IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Легкие цепи антител любых видов позвоночных в зависимости от аминокислотных последовательностей их константных доменов можно отнести к одному из двух четко отличающихся типов, а именно, каппа (κ) и лямбда (λ).

Термин «антигенсвязывающий фрагмент» или «антигенсвязывающий 15 домен» относится к части молекулы иммуноглобулина, которая связывает антиген. Антигенсвязывающие фрагменты могут представлять собой синтетические, ферментативно получаемые или модифицированные методами генной инженерии полипептиды, и они включают в себя VH, VL, VH и VL, фрагменты Fab, F(ab')₂, Fd и Fv, доменные антитела (dAb), состоящие из одного домена VH или одного 20 домена VL, вариабельные домены IgNAR акулы, адаптированные к верблюду VH-домены, минимальные единицы распознавания, состоящие из аминокислотных остатков, имитирующих CDR-области антитела, например участки FR3-CDR3-FR4, HCDR1, HCDR2 и/или HCDR3, а также LCDR1, LCDR2 и/или LCDR3. Домены VH и VL могут быть связаны вместе посредством синтетического линкера с 25 образованием различных типов конфигураций одноцепочечных антител, в которых домены VH/VL можно объединять в пару внутримолекулярно или межмолекулярно в тех случаях, когда домены VH и VL экспрессируются отдельными одноцепочечными конструктами антител с образованием моновалентного антигенсвязывающего сайта, такими как одноцепочечный Fv (scFv) или диатело; 30 они описаны, например, в международных патентных публикациях № WO1998/44001, WO1988/01649, WO1994/13804 и WO1992/01047.

Термин «биспецифический» относится к антителу, которое специфически связывает два разных антигена или два разных эпитопа в пределах одного антигена. Биспецифическое антитело может иметь перекрестную реактивность с

другими родственными антигенами, например таким же антигеном от других видов (гомологов), таких как человек или обезьяна, например *Macaca cynomolgus* (яванский макак, крабоед) или *Pan troglodytes*, или может связывать эпитоп, который имеется в двух или более разных антигенах.

5 Термин «рак» обозначает широкую группу различных заболеваний, характеризующихся неконтролируемым ростом ненормальных клеток в организме. Нерегулируемое деление и рост клеток приводят к образованию злокачественных опухолей, которые прорастают в соседние ткани и могут также метастазировать в отдаленные части тела через лимфатическую систему или кровоток. «Рак» или
10 «раковая ткань» может включать в себя опухоль.

Термин «CD3» относится к человеческому антигену, который экспрессируется на Т-клетках в составе мультимолекулярного комплекса Т-клеточного рецептора (TCR) и который состоит из гомодимера или гетеродимера, образованного в результате ассоциации двух или четырех цепей рецептора: CD3-
15 эпсилон, CD3-дельта, CD3-дзета и CD3-гамма. CD3-эпсилон человека содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 1. SEQ ID NO: 2 демонстрирует внеклеточный домен CD3-эпсилон.

Термин «CD38» относится к человеческому белку CD38 (учетный номер UniProt P28907) (синонимы: АДФ-рибозилциклазу 1, цАДФ-гидролазу 1, циклическую АДФ-рибозогидролазу 1). Человеческий CD38 имеет
20 аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 3. CD38 представляет собой трансмембранный одноцепочечный белок типа II с аминокислотными остатками 1–21, представляющими цитозольный домен, аминокислотными остатками 22–42, представляющими трансмембранный домен, и
25 остатками 43–300, представляющими внеклеточный домен.

Термин «GPRC5D» относится к сопряженному с G-белком рецептору, семейство C, группа 5, член D человека, имеющему аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 4.

Термин «область CH3» или «домен CH3» относится к области CH3
30 иммуноглобулина. Область CH3 антитела IgG1 человека соответствует аминокислотным остаткам 341–446. Однако область CH3 может также представлять собой любой из других изотипов антител, описанных в настоящем документе.

Термин «химерный антигенный рецептор», или «CAR», относится к сконструированным Т-клеточным рецепторам, которые прививают лиганд или антигенную специфичность на Т-клетки (например, наивные Т-клетки, центральные Т-клетки памяти, эффекторные Т-клетки памяти или их комбинации).

5 CAR также известны как искусственные Т-клеточные рецепторы, химерные Т-клеточные рецепторы или химерные иммунорецепторы. CAR содержат
внеклеточный домен, способный связываться с антигеном, трансмембранный домен и по меньшей мере один внутриклеточный домен. Внутриклеточный домен
10 CAR содержит полипептид, который, как известно, выполняет функцию домена, передающего сигнал для активации или ингибирования биологического процесса в
клетке. Трансмембранный домен содержит любой пептид или полипептид, который, как известно, охватывает клеточную мембрану и может выполнять
функцию связывания внеклеточного и сигнального доменов. Химерный антигенный рецептор может дополнительно содержать шарнирный домен, который
15 служит в качестве линкера между внеклеточным и трансмембранным доменами.

Термин «комбинация» означает, что два или более терапевтических средства вместе вводят субъекту в смеси, одновременно в виде отдельных агентов или последовательно в виде отдельных агентов в любом порядке.

«Определяющие комплементарность области» (CDR) представляют собой
20 области антигенов, которые связывают антиген. CDR можно определять по различным схемам, например по Кабату (Wu et al. *J Exp Med* 132: 211–50, 1970) (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991), по Чотиа (Chothia et al. *J Mol Biol* 196: 901–17, 1987), IMGT (Lefranc et al. *Dev Comp Immunol* 27: 55–77,
25 2003) и AbM (Martin and Thornton *J Biol Chem* 271: 800–15, 1996). Описано соответствие между различными схемами и нумерацией переменных областей (см., например, Lefranc et al. *Dev Comp Immunol* 27: 55–77, 2003; Honegger and Pluckthun, *J Mol Biol* 309:657–70, 2001; база данных International ImMunoGeneTics (IMGT); веб-ресурсы, [http://www_imgt_org](http://www.imgt.org)). Для разметки CDR можно применять
30 доступные программы, такие как abYsis от UCL Business PLC. Применяемые в настоящем документе термины «CDR», «HCDR1», «HCDR2», «HCDR3», «LCDR1», «LCDR2» и «LCDR3» включают в себя CDR, определенные любым из способов, описанных выше, по Кабату, по Чотиа, IMGT или AbM, если в описании явным образом не указано иное. Соответствие между системой нумерации, включая,

например, нумерацию по Кабату и уникальную систему нумерации IMGT, хорошо известно специалисту в данной области (см., например, Kabat; Chothia; Martin; Lefranc et al.).

Таблица 1. Системы нумерации по Кабату, IMGT, AbM и по Чотиа

	IMGT	По Кабату	По AbM	По Чотиа
CDR1 V _H	27–38	31–35	26–35	26–32
CDR2 V _H	56–65	50–65	50–58	53–55
CDR3 V _H	105–117	95–102	95–102	96–101
CDR1 V _L	27–38	24–34	24–34	26–32
CDR2 V _L	56–65	50–56	50–56	50–52
CDR3 V _L	105–117	89–97	89–97	91–96

5

Предполагается, что термин «содержащий» служит для включения примеров, которые охватываются терминами «состоящий по существу из» и «состоящий из»; аналогичным образом предполагается, что термин «состоящий по существу из» включает в себя примеры, которые охватываются термином «состоящий из». Если из контекста явно не следует иное, в данном описании и формуле изобретения слова «включать в себя», «включающий в себя» и т. п. следует толковать в охватывающем смысле, в отличие от исключающего или исчерпывающего смысла; то есть в смысле «включая, без ограничений».

10

Термин «усиливать» или «усиленный» относится к усилению одной или более функций исследуемой молекулы по сравнению с контрольной молекулой или комбинации исследуемых молекул по сравнению с одной или более контрольными молекулами. Примерами функций, которые можно измерить, являются уничтожение опухолевых клеток, активация Т-клеток, относительное или абсолютное число Т-клеток, опосредованная Fc эффекторная функция (например, ADCC, CDC и/или ADCP) или связывание с Fcγ-рецептором (FcγR) или FcRn. Термин «усиленный» может означать усиление на около 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или более или статистически значимое усиление.

15

20

Термин «Fc-гамма-рецептор» (FcγR) относится к хорошо известным рецепторам FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb или FcγRIII. К активирующим FcγR относятся рецепторы FcγRI, FcγRIIa и FcγRIII.

25

Термин «человеческое антитело» относится к антителу, которое оптимизировано для обеспечения минимального иммунного ответа при введении человеческому индивиду. Вариабельные области человеческого антитела получают из последовательностей иммуноглобулинов человека. Если антитело содержит константную область или часть константной области, константную область также получают из последовательностей иммуноглобулинов человека. Человеческое антитело содержит вариабельные области тяжелой и легкой цепей, которые «получены из» последовательностей человеческого происхождения, если вариабельные области человеческого антитела получены из системы, в которой применяют иммуноглобулин зародышевой линии человека или перестроенные гены иммуноглобулина. Такими примерами систем являются библиотеки генов человеческих иммуноглобулинов, отображаемых на фаге, и трансгенные животные, отличные от человека, такие как мыши или крысы, несущие локусы человеческих иммуноглобулинов. «Человеческое антитело», как правило, содержит аминокислотные отличия по сравнению с иммуноглобулинами, экспрессируемыми у людей, из-за различий между системами, применяемыми для получения человеческих антител и локусов человеческих иммуноглобулинов, внедрения соматических мутаций, намеренного введения замен в каркасные участки или CDR или и то, и другое. Как правило, «человеческое антитело» по аминокислотной последовательности на по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентично аминокислотной последовательности, кодируемой генами иммуноглобулина зародышевой линии человека или перестроенными генами иммуноглобулина. В некоторых случаях «человеческое антитело» может содержать консенсусные каркасные последовательности, полученные в результате анализов каркасных последовательностей человека, например, как описано в Knappik et al., (2000) *J Mol Biol* 296:57–86, или синтетическую HCDR3, включенную в библиотеки генов иммуноглобулинов человека, отображаемых на фаге, например, как описано в публикации Shi et al., (2010) *J Mol Biol* 397:385–96 и международной патентной публикации № WO2009/085462. Антитела, в которых по меньшей мере одна CDR получена от видов, отличных от человека, не подходят под определение «человеческого антитела».

Термин «гуманизированное антитело» относится к антителу, в котором по меньшей мере одна CDR получена из биологического вида, отличного от человека,

а по меньшей мере один каркас получен из последовательностей человеческого иммуноглобулина. Гуманизированное антитело может включать в себя замены в каркасных областях, в результате чего каркасы могут не быть точной копией экспрессированного человеческого иммуноглобулина или человеческих генных последовательностей зародышевой линии.

Термин «выделенный» относится к однородной популяции молекул (таких как синтетические полинуклеотиды или белок, такой как антитело), которые были по существу отделены и/или очищены от других компонентов той системы, в которой данные молекулы формировались, такой как рекомбинантная клетка, а также к белку, который был подвергнут по меньшей мере одной стадии очистки или выделения. Термин «выделенное антитело» относится к антителу, которое по существу не содержит иных клеточных материалов и/или химических веществ, и охватывает антитела, которые выделены с более высокой чистотой, такой как 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или с чистотой 100%.

Термин «моноклональное антитело» относится к антителу, полученному из по существу гомогенной популяции молекул антител, т. е. индивидуальных антител, составляющих популяцию, идентичных за исключением возможных хорошо известных изменений, таких как удаление С-концевого лизина из тяжелой цепи антитела или посттрансляционные модификации, такие как изомеризация или деамидирование аминокислот, окисление метионина или аспарагина или деамидирование глутамина. Моноклональные антитела, как правило, связывают один антигенный эпитоп. Биспецифическое моноклональное антитело связывает два разных антигенных эпитопа. В пределах популяции антител моноклональные антитела могут иметь гетерогенное гликозилирование. Моноклональное антитело может быть моноспецифическим или мультиспецифическим, например биспецифическим, моновалентным, двухвалентным или мультивалентным.

Термин «мутация» относится к искусственному или естественному изменению в полипептидной или полинуклеотидной последовательности по сравнению с эталонной последовательностью. Изменение может представлять собой замену, вставку или делецию одной или более аминокислот или полинуклеотидов.

Термин «несвязанная комбинация» относится к отдельным фармацевтическим композициям перенаправляющего Т-клетки терапевтического

средства и антитела к CD38, вводимым в виде отдельных элементов одновременно, параллельно или последовательно без конкретных ограничивающих временных рамок, причем указанное введение обеспечивает эффективные концентрации двух соединений в организме субъекта.

5 Термин «мультиспецифический» относится к антителу, которое специфически связывает по меньшей мере два разных антигена или по меньшей мере два разных эпитопа в пределах одного антигена. Мультиспецифическое антитело может связывать, например, два, три, четыре или пять разных антигенов или разных эпитопов в пределах одного и того же антигена.

10 Если речь идет о дозировке, «мкг/кг» или «мг/кг» относится к количеству активного агента, такого как биспецифическое антитело или антитело, в микрограммах (мкг) или миллиграммах (мг), вводимому субъекту на килограмм (кг) массы тела субъекта.

15 Термин «фармацевтическая композиция» относится к композиции, которая включает в себя активный ингредиент и фармацевтически приемлемый носитель.

 Термин «фармацевтически приемлемый носитель» или «эксципиент» относится к ингредиенту в фармацевтической композиции, за исключением активного ингредиента, который нетоксичен для субъекта.

20 Термин «филадельфийская хромосома» или «Ph-хромосома» относится к хорошо известной хромосомной транслокации между хромосомами 9 и 22, которая приводит к образованию онкогенного составного гена BCR-ABL с конститутивной тирозинкиназной активностью. Транслокация приводит к тому, что часть гена BCR хромосомы 22q11 сливается с частью гена ABL хромосомы 9q34, и результат обозначается как t(9;22)(q34;q11) в соответствии с Международной системой цитогенетической номенклатуры человека (ISCN). В зависимости от точного месторасположения слияния молекулярный вес получающегося составного белка может находиться в диапазоне от 185 до 210 кДа. Термин «филадельфийская хромосома» распространяется на все составные белки BCR-ABL, образованные в результате транслокации (9;22)(q34;q11).

30 Термин «рекомбинантный» относится к ДНК, антителам и другим белкам, которые получены, экспрессированы, созданы или выделены рекомбинантными способами, когда сегменты из разных источников соединены с получением рекомбинантной ДНК, антител или белков.

- Термин «снижать» или «сниженный» относится к снижению одной или более функций исследуемой молекулы по сравнению с контрольной молекулой или комбинации исследуемых молекул по сравнению с одной или более контрольными молекулами. Примерами функций, которые можно измерить, являются
- 5 уничтожение опухолевых клеток, активация Т-клеток, относительное или абсолютное число Т-клеток, опосредованная Fc эффекторная функция (например, ADCC, CDC и/или ADCP) или связывание с Fcγ-рецептором (FcγR) или FcRn. Термин «снижение» может означать снижение на около 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или более или статистически значимое улучшение.
- 10 Термин «гHuPh20» относится к рекомбинантной человеческой гиалуронидазе, имеющей аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 37, которая представляет собой рекомбинантную гиалуронидазу (HYLENEX[®], рекомбинантная), описанную в международной патентной публикации № WO2004/078140.
- 15 Термин «рефрактерный» относится к раку, который является неоперабельным и изначально невосприимчив к терапии.
- Термин «рецидивирующий» относится к раку, который отвечал на лечение, но затем вернулся.
- Термин «субъект» включает в себя любого человека или не относящееся к человеку животное. Термин «не относящееся к человеку животное» включает в
- 20 себя всех позвоночных, например млекопитающих и не млекопитающих, таких как приматы, овцы, собаки, кошки, лошади, коровы, цыплята, амфибии, рептилии и т. д. Если не указано иное, термин «пациент» или «субъект» применяется взаимозаменяемо.
- 25 Термин «биспецифическое антитело GPRC5DхCD3» относится к молекуле, содержащей две или более связывающих областей, причем одна из связывающих областей специфически связывает антиген клеточной поверхности сопряженного с G-белком рецептора, семейство C, группа 5, член D человека (GPRC5D) на клетке-мишени или ткани, и при этом вторая связывающая область молекулы
- 30 специфически связывает Т-клеточный антиген CD3. Такая способность связываться с двумя/множеством мишеней рекрутирует Т-клетки к клетке-мишени или ткани, что приводит к уничтожению клетки-мишени или ткани.
- Термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для

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

Термин «лечить» или «лечение» обозначает как терапевтическое лечение, так и профилактические или превентивные меры, причем целью является предотвращение или замедление (уменьшение) нежелательного физиологического изменения или расстройства. Преимущественные или желательные клинические результаты включают в себя ослабление симптомов, уменьшение степени заболевания, стабилизацию (т. е. отсутствие ухудшения) течения заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания, облегчение или временное улучшение болезненного состояния и ремиссию (частичную или полную), как обнаруживаемые, так и не обнаруживаемые. Термин «лечение» может также означать увеличение выживаемости по сравнению с ожидаемым, если субъект не получал лечения. Нуждающиеся в лечении пациенты включают в себя тех, кто уже имеет состояние или расстройство, а также тех, кто имеет предрасположенность к развитию состояния или расстройства, или тех, у кого такое состояние или расстройство необходимо предотвратить.

Термин «опухолевая клетка» или «раковая клетка» относится к раковой, предраковой или трансформированной клетке, либо *in vivo*, либо *ex vivo*, либо в культуре тканей, которая имеет спонтанные или индуцированные фенотипические изменения. Эти изменения не обязательно затрагивают поступление нового генетического материала. Хотя трансформация может быть вызвана инфекцией от трансформирующего вируса и встраиванием новой геномной нуклеиновой кислоты, поглощением экзогенной нуклеиновой кислоты, она может также возникать спонтанно или после воздействия канцерогена, в результате чего происходит мутация эндогенного гена. Трансформация/рак проявляются в морфологических изменениях, иммортализации клеток, нарушении контроля роста, образовании очагов, пролиферации, злокачественности, модулировании уровней маркера, специфичных для опухоли, инвазивности, росте опухоли у приемлемых животных-хозяев, таких как бестимусные мыши и т. п., *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo*.

Нумерация аминокислотных остатков в константной области антитела в тексте описания приведена в соответствии с индексом EU, как описано в Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991), если явно не указано иное.

- 5 Нумерация константной цепи антитела приведена, например, на веб-сайте ImMunoGeneTics, на веб-ресурсах IMGT на диаграммах IMGT Scientific.

Замены в CH3-области указаны как модифицированное (-ые) положение (-я) в первом домене CH3 первой тяжелой цепи / модифицированное (-ые) положение (-я) во втором домене CH3 второй тяжелой цепи. Например, F405L/K409R

- 10 обозначает мутацию F405L в первой области CH3 и мутацию K09R во второй области CH3. L351Y_F405A_Y407V/T394W относится к мутациям L351Y, F40FA и Y407V в первой области CH3 и мутации T394W во второй области CH3.

D399FHKRQ/K409AGRH относится к мутации, в которой D399 может быть заменен на F, H, K R или Q, а K409 может быть заменен на A, G, R или H.

- 15 В настоящем документе применяются традиционные одно- и трехбуквенные коды обозначения аминокислот, как показано в таблице 2.

Таблица 2. Сокращения названий аминокислот

Аминокис- лота	Трехбуквен- ный код	Однбуквен- ный код
Аланин	Ala	A
Аргинин	Arg	R
Аспарагин	Asn	N
Аспарат	Asp	D
Цистеин	Cys	C
Глутамат	Gln	E
Глутамин	Glu	Q
Глицин	Gly	G
Гистидин	His	H
Изолейцин	Ile	I
Лейцин	Leu	L
Лизин	Lys	K
Метионин	Met	M
Фенилаланин	Phe	F
Пролин	Pro	P
Серин	Ser	S
Треонин	Thr	T
Триптофан	Trp	W
Тирозин	Tyr	Y
Валин	Val	V

«Помалидомид», также называемый «POMALYST®», относится к аналогу талидомида, который представляет собой IMiD (иммуномодулирующее лекарственное средство) третьего поколения с противоопухолевой активностью. IMiD, такие как леналидомид и помалидомид, составляют основу нескольких текущих схем лечения множественной миеломы. Их точный механизм действия 5 полностью не изучен, но IMiD оказывают иммуномодулирующее действие на микроокружение опухоли множественной миеломы и могут влиять на экспрессию генов-супрессоров опухоли, способствовать апоптозу клеток миеломы и усиливать опосредованный NK-клетками лизис клеток миеломы. Комбинация даратумумаба с 10 IMiD была оценена в нескольких исследованиях и продемонстрировала значительное улучшение эффективности.

В одном общем аспекте заявка относится к способу лечения рака, такого как ММ, предпочтительно рефрактерной или рецидивирующей ММ, включающему введение субъекту биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в дозе от 60 мкг/кг до 15 1200 мкг/кг каждые 1–2 недели и подкожное введение субъекту антитела к CD38 в дозе от 1200 мг до 2400 мг каждые 1–4 недели.

В описании также предложен способ уничтожения опухолевой клетки у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в дозе от 60 мкг/кг до 1200 мкг/кг 20 каждые 1–2 недели и подкожное введение субъекту антитела к CD38 в дозе от 1200 мг до 2400 мг каждые 1–4 недели для уничтожения таким образом опухолевой клетки у субъекта.

В описании дополнительно предложен способ усиления активности по меньшей мере одного из биспецифического антитела GPRC5DxCD3 и/или антитела 25 к CD38 у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в дозе от 60 мкг/кг до 1200 мкг/кг каждые 1–2 недели и подкожное введение субъекту антитела к CD38 в дозе от 1200 мг до 2400 мг каждые 1–4 недели для уничтожения таким образом опухолевой клетки у субъекта.

30 В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 вводят перед введением биспецифического антитела GPRC5DxCD3. Например, антитело к CD38 вводят за около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 часов до введения биспецифического антитела GPRC5DxCD3. В определенных вариантах осуществления антитело к CD38 и биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят в один и тот же день, а

антитело к CD38 вводят за около 3 часа до подкожного введения биспецифического антитела GPRC5DxCD3.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят еженедельно или один раз в две недели.

5 В некоторых вариантах осуществления каждое из биспецифического антитела GPRC5DxCD3 и антитела к CD38 вводят субъекту, имеющему рак, такой как множественная миелома, в количестве, достаточном для ослабления или по меньшей мере частичной остановки заболевания, подлежащего лечению («терапевтически эффективное количество»).

10 В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят в дозе от 60 мкг/кг до 1200 мкг/кг еженедельно или один раз в две недели. Например, биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 можно вводить внутривенно в дозе от 60 до 100 мкг/кг, такой как 60 мкг/кг, 70 мкг/кг, 80 мкг/кг, 90 мкг/кг, 100 мкг/кг или любая промежуточная доза, и введение может
15 осуществляться еженедельно, один раз в две недели или с любой промежуточной частотой. Биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 также можно вводить подкожно в дозе от 300 до 1200 мкг/кг, например 300 мкг/кг, 350 мкг/кг, 400 мкг/кг, 450 мкг/кг, 500 мкг/кг, 550 мкг/кг, 600 мкг/кг, 650 мкг/кг, 700 мкг/кг, 750 мкг/кг, 800 мкг/кг, 850 мкг/кг, 900 мкг/кг, 950 мкг/кг или 1200 мкг/кг или любая
20 промежуточная доза, и введение может осуществляться еженедельно, один раз в две недели или с любой промежуточной частотой.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят подкожно в дозе 400 мкг/кг еженедельно. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят
25 подкожно в дозе 800 мкг/кг еженедельно или один раз в две недели.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят подкожно в дозе 400 мкг/кг один раз в две недели.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят подкожно с по меньшей мере одной, двумя или тремя
30 повышающими дозами 10–300 мкг/кг, такими как 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 или 300 мкг/кг, биспецифического антитела GPRC5DxCD3 до введения первой лечебной дозы.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает подкожное введение субъекту повышающих доз биспецифического антитела GPRC5DxCD3, составляющих 10 мкг/кг и 60 мкг/кг, до первоначального подкожного введения пересчитанной на массу тела лечебной дозы 400 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3. В другом варианте осуществления способ дополнительно включает подкожное введение субъекту повышающих доз 10 мкг/кг, 60 мкг/кг и 300 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 до первоначального подкожного введения пересчитанной на массу тела лечебной дозы 800 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 вводят подкожно в дозе от около 8 мг/кг до около 16 мг/кг каждые 1–4 недели. Например, антитело к CD38 можно вводить подкожно в дозе 8 мг/кг, 8,5 мг/кг, 9 мг/кг, 9,5 мг/кг, 10 мг/кг, 10,5 мг/кг, 11 мг/кг, 11,5 мг/кг, 12 мг/кг, 12,5 мг/кг, 13 мг/кг, 13,5 мг/кг, 14 мг/кг, 14,5 мг/кг, 15 мг/кг, 15,5 мг/кг, 16 мг/кг или любой промежуточной дозе, и введение может осуществляться один раз в неделю, каждые 2 недели, каждые 3 недели или каждые 4 недели или с любой промежуточной периодичностью.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 вводят подкожно в фиксированной дозе от 1200 до 2400 мг каждые 1–4 недели. Например, антитело к CD38 можно вводить подкожно в дозе 1200 мг, 1250 мг, 1300 мг, 1350 мг, 1400 мг, 1450 мг, 1500 мг, 1550 мг, 1600 мг, 1650 мг, 1700 мг, 1750 мг, 1800 мг, 1850 мг, 1900 мг, 1950 мг, 2000 мг, 2050 мг, 2100 мг, 2150 мг, 2200 мг, 2250 мг, 2300 мг, 2350 мг, 2400 мг или любой промежуточной дозе, и введение может осуществляться один раз в неделю, каждые 2 недели, каждые 3 недели или каждые 4 недели или с любой промежуточной периодичностью. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 антитело вводят подкожно в диапазоне доз от 1600 до 2000 мг каждые 1–4 недели. Например, антитело к CD38 можно вводить подкожно в дозе 1600 мг, 1650 мг, 1700 мг, 1750 мг, 1800 мг, 1850 мг, 1900 мг, 1950 мг, 2000 мг или любой промежуточной дозе, и введение может осуществляться один раз в неделю, каждые 2 недели, каждые 3 недели или каждые 4 недели или с любой промежуточной периодичностью.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 вводят подкожно в дозе 1800 мг еженедельно, один раз в две недели, один раз в 2 недели или один раз в 4 недели.

Повышающие дозы биспецифического антитела GPRC5DxCD3 можно вводить в начальном цикле. В некоторых вариантах осуществления введение повышающих доз биспецифического антитела GPRC5DxCD3 можно повторить через некоторое время. Одна или более повышающих доз биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в более низкой дозировке могут быть введены субъекту до первоначального введения уровня дозировки для еженедельного или двухнедельного лечения в соответствии с вариантом осуществления, представленным в заявке. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят субъекту подкожно с по меньшей мере одной, двумя или тремя повышающими дозами 5–300 мкг/кг, такими как 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 или 300 мкг/кг или любая промежуточная доза, биспецифического антитела GPRC5DxCD3 до первого введения лечебной дозы с периодичностью один раз в неделю или один раз в две недели.

В определенных вариантах осуществления способ согласно заявке дополнительно включает подкожное введение субъекту от 5 до 100 мкг/кг, например 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или 100 мкг/кг или любая промежуточная доза, биспецифического антитела GPRC5DxCD3 до первоначального подкожного введения 400 мкг/кг биспецифического GPRC5DxCD3. В других вариантах осуществления способ согласно заявке дополнительно включает подкожное введение субъекту от 5 до 350 мкг/кг, например 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300 или 350 мкг/кг или любая промежуточная доза, биспецифического антитела GPRC5DxCD3 до первоначального введения 800 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3. В других вариантах осуществления способ включает введение первой повышающей дозы в день 2, второй повышающей дозы в день 4 и необязательно третьей повышающей дозы в день 8 лечения.

В определенных вариантах осуществления способ согласно заявке включает подкожное введение субъекту 10 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в день 2 лечения и 60 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в день 4 лечения перед первоначальным подкожным введением 400 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 еженедельно или один раз в две недели. В определенных других вариантах осуществления способ согласно заявке включает подкожное введение субъекту 10 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3

в день 2 лечения, 60 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в день 4 лечения и 300 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в день 8 лечения перед первоначальным подкожным введением 800 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 еженедельно или один раз в две недели.

5 Введение биспецифического антитела GPRC5DxCD3 и/или антитела к CD38 может осуществляться 28-дневными циклами, и лечение может включать в себя множество циклов, например 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более циклов. Также возможны повторные курсы лечения в виде длительного введения. Повторное введение можно проводить в той же дозе или в другой дозе. Например,

10 биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 можно вводить подкожно в дозе 400 мкг/кг или 800 мкг/кг с еженедельными интервалами в течение 8 недель и в дозе 400 мкг/кг или 800 мкг/кг один раз в две недели в течение дополнительного периода. В другом примере биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 можно вводить подкожно в дозе 400 мкг/кг или 800 мкг/кг с двухнедельными интервалами

15 в течение 8 недель с последующим дополнительным периодом введения один раз в две недели в той же или другой дозе. В других вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят подкожно в дозе 200 мкг/кг, 300 мкг/кг или 400 мкг/кг еженедельно, предпочтительно 400 мкг/кг еженедельно, в течение 8 недель с последующим подкожным введением 800 мкг/кг

20 биспецифического антитела GPRC5DxCD3 один раз в две недели. В других вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят подкожно в дозе 400 мкг/кг еженедельно в течение 8 недель с последующим подкожным введением 400 мкг/кг или 800 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 один раз в две недели.

25 Согласно вариантам осуществления, представленным в заявке, частота введения антитела к CD38 может быть снижена с течением времени лечения. Например, антитело к CD38 вводят субъекту подкожно в дозе 1800 мг один раз в неделю в течение периода лечения с недели 1 по неделю 8, один раз в две недели в течение периода лечения с недели 9 по неделю 24 и один раз в четыре недели после

30 недели 24 лечения.

Биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 и антитело к CD38 можно вводить в виде поддерживающей терапии, например один раз в неделю, один раз в 2 недели, один раз в 3 недели или один раз в 4 недели, в течение периода 6 или более месяцев.

Биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 и антитело к CD38 можно также вводить профилактически, чтобы снизить риск развития рака, такого как множественная миелома, замедлить начало развития явлений при прогрессировании рака и/или снизить риск рецидива в случае ремиссии рака.

5 В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят субъекту после введения субъекту антитела к CD38. Биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 и антитело к CD38 можно вводить в один и тот же день. Биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 можно также вводить через один или более дней, одну неделю, две недели, три недели, один
10 месяц, пять недель, шесть недель, семь недель, два месяца, три месяца, четыре месяца, пять месяцев, шесть месяцев или более после введения антитела к CD38.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает проведение субъекту одного или более видов противораковой терапии.

15 В некоторых вариантах осуществления один или более видов противораковой терапии выбран из группы, состоящей из трансплантации аутогенных стволовых клеток (ASCT), лучевой терапии, хирургического вмешательства, химиотерапевтического препарата, иммуномодулятора и средства для таргетной противораковой терапии.

20 В некоторых вариантах осуществления один или более видов противораковой терапии представляет собой трансплантацию аутогенных стволовых клеток (ASCT). В некоторых вариантах осуществления один или более видов противораковой терапии представляет собой лучевую терапию. В некоторых вариантах осуществления один или более видов противораковой терапии представляет собой хирургическое вмешательство. В некоторых вариантах
25 осуществления один или более видов противораковой терапии представляет собой химиотерапевтический препарат. В некоторых вариантах осуществления один или более видов противораковой терапии представляет собой иммуномодулирующий препарат. В некоторых вариантах осуществления один или более видов противораковой терапии представляет собой средство для таргетной
30 противораковой терапии. В некоторых вариантах осуществления один или более видов противораковой терапии выбран из группы, состоящей из леналидомида, талидомида, помалидомида, бортезомиба, карфилзомиба, элотузумаба, иксазомиба, мелфалана, изатуксимаба, CELMoD, дексаметазона, винкристина, циклофосамида, гидроксидоноуробуцина, преднизона, ритуксимаба, иматиниба,

дазатиниба, нилотиниба, бозутиниба, понатиниба, бафетиниба, саракатиниба, тозасертиба или данусертиба, цитарабина, даунорубицина, идарубицина, митоксантрона, гидроксимочевины, децитабина, кладрибина, флударабина, топотекана, этопозида б-тиогуанина, кортикостероида, метотрексата, б-
 5 меркаптопурина, азациитидина, триоксида мышьяка и полностью транс-ретиноевой кислоты или любых их комбинаций.

В некоторых вариантах осуществления один или более видов противораковой терапии выбран из группы, состоящей из леналидомида, талидомида, помалидомида, бортезомиба, карфилзомиба, элотузумаба, иксазомиба,
 10 мелфалана, преднизона или дексаметазона или любой их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления один или более видов противораковой терапии представляет собой помалидомид.

В некоторых вариантах осуществления помалидомид вводят перорально в дозе 2 мг или 4 мг.

15 В некоторых вариантах осуществления один или более видов противораковой терапии представляет собой помалидомид и дексаметазон.

В некоторых вариантах осуществления помалидомид вводят по схеме дозирования с отсроченным введением препарата. Схема дозирования с отсроченным введением препарата может осуществляться в день 15 цикла 1
 20 (C1D15) или в день 1 цикла 2 (C2D1).

В некоторых вариантах осуществления помалидомид вводят одновременно с биспецифическим антителом GPRC5DхCD3 и антителом к CD38.

В некоторых вариантах осуществления дексаметазон вводят в течение по меньшей мере 3 полных начальных циклов, включающих в себя IMiD.

25 CD38 представляет собой многофункциональный белок, функцией которого является опосредованная рецепторами адгезия и сигнализация, а также опосредование мобилизации кальция за счет своей эктоферментативной активности, катализ образования циклической АДФ-рибозы (цАДФР) и АДФР. CD38 опосредует секрецию цитокинов, а также активацию и пролиферацию лимфоцитов (Funaro et al., J
 30 Immunol 145:2390–6, 1990; Terhorst et al., Cell 771–80, 1981; Guse et al., Nature 398:70–3, 1999). Благодаря своей НАД-гликогидролазной активности CD38 также регулирует уровни внеклеточного НАД⁺, который задействован в модуляции компартмента регуляторных Т-клеток (Adriouch et al., Microbes infect 14:1284–92, 2012; Chiarugi et al., Nature Reviews 12:741–52, 2012). Помимо сигнализации посредством Ca²⁺

сигнализация CD38 происходит посредством перекрестного обмена с комплексами антиген — рецептор на Т- и В-клетках или рецепторными комплексами других типов, например молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС), с участием CD38 в нескольких клеточных ответах, а также при переключении и секреции IgG1.

5 Любое приемлемое антитело к CD38 может применяться в способе по заявке.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 7, HCDR2 с SEQ ID NO:8, HCDR3 с SEQ ID NO: 9, LCDR1 с SEQ ID NO: 10, LCDR2 с SEQ ID NO: 11 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12.

CDR, приведенные выше, относятся к системе нумерации по Кабату.

10 Однако, как представлено в настоящем документе, CDR по настоящему описанию могут быть представлены по любой подходящей системе нумерации, такой как системы нумерации по Кабату, по Чотиа, IMGT или AbM. В таблице 3 представлены типовые CDR с использованием систем нумерации по Кабату, по Чотиа, IMGT и AbM:

15 ТАБЛИЦА 3. Примеры CDR антитела к CD38

Об- ласть	По Кабату	По Чотиа	По AbM	IMGT
HCDR1	SFAMS (SEQ ID NO: 7)	GFTFNSF (SEQ ID NO: 46)	GFTFNSFAM S (SEQ ID NO: 48)	GFTFNSFA (SEQ ID NO: 50)
HCDR2	AISGSGGGTYYA DSVKG (SEQ ID NO: 8)	SGSGGG (SEQ ID NO: 47)	AISGSGGGT Y (SEQ ID NO: 49)	ISGSGGGT (SEQ ID NO: 51)
HCDR3	DKILWFGEPVFD Y (SEQ ID NO: 9)	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 9	AKDKILWFG E PVFDY (SEQ ID NO: 52)
LCDR1	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO: 10)	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 10	QSVSSY (SEQ ID NO: 53)
LCDR2	DASNRAT (SEQ ID NO: 11)	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 11	DAS
LCDR3	QQRSNWPPT (SEQ ID NO: 12)	SEQ ID NO: 12	SEQ ID NO: 12	SEQ ID NO: 12

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 7, HCDR2 с SEQ ID NO: 8, HCDR3 с SEQ ID NO: 9, LCDR1 с SEQ ID NO: 10, LCDR2 с SEQ ID NO: 11 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 46, HCDR2 с SEQ ID NO: 47, HCDR3 с SEQ ID NO: 9, LCDR1 с SEQ ID NO: 10, LCDR2 с SEQ ID NO: 11 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12.

5 В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 48, HCDR2 с SEQ ID NO: 49, HCDR3 с SEQ ID NO: 9, LCDR1 с SEQ ID NO: 10, LCDR2 с SEQ ID NO: 11 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12.

10 В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит HCDR1 с SEQ ID NO: 50, HCDR2 с SEQ ID NO: 51, HCDR3 с SEQ ID NO: 52, LCDR1 с SEQ ID NO: 53, LCDR2, имеющую аминокислотную последовательность DAS, и LCDR3 с SEQ ID NO: 12.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит VH с SEQ ID NO: 5 и VL с SEQ ID NO: 6.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит HC с SEQ ID NO: 13 и LC с SEQ ID NO: 14.

15 Другие антитела к CD38, применяемые в способах изобретения, могут быть известными антителами, такими как mAb003, описанное в патенте США № 7,829,673. VH и VL mAb003 могут экспрессироваться в виде IgG1/κ; описание mAb024 представлено в патенте США № 7,829,673. VH и VL mAb024 могут экспрессироваться в виде IgG1/κ; MOR-202 (MOR-03087), включая описание в патенте США № 8,088,896. VH и VL MOR-202 могут экспрессироваться в виде IgG1/κ; или изатуксимаб; описание представлено в патенте США № 8,153,765. VH и VL изатуксимаба могут экспрессироваться в виде IgG1/κ. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 содержит а) VH с SEQ ID NO: 38 и VL с SEQ ID NO: 39; б) VH с SEQ ID NO: 40 и VL с SEQ ID NO: 41; в) VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 43 или д) VH с SEQ ID NO: 44 и VL с SEQ ID NO: 45.

В одном варианте осуществления антитело к CD38 представляет собой DARZALEX[®] (даратумумаб).

В некоторых вариантах осуществления даратумумаб содержит VH с SEQ ID NO: 5 и VL с SEQ ID NO: 6.

30 В некоторых вариантах осуществления даратумумаб содержит HC с SEQ ID NO: 13 и LC с SEQ ID NO: 14.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 является химерным, гуманизированным или человеческим.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 относится к изотипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 относится к изотипу IgG1.

5 Сопряженный с G-белком рецептор, класс C, группа 5, член D (GPRC5D) представляет собой 7-спиральный трансмембранный рецепторный белок, который классифицируется как сопряженный с G-белком рецептор типа C на основе оценки гомологии последовательностей, и представляет собой орфанный рецептор, лиганд и сигнальные механизмы которого еще предстоит идентифицировать. Матричная
10 рибонуклеиновая кислота (мРНК) GPRC5D преимущественно экспрессируется в клетках с фенотипом плазматических клеток и также экспрессируется во всех злокачественных плазматических клетках пациентов с множественной миеломой. Экспрессия GPRC5D на линии плазматических клеток делает ее мишенью для терапии, опосредованной Т-клетками, для лечения нарушений плазматических
15 клеток, таких как множественная миелома. Биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 нацеливается на рецепторный комплекс CD3 на Т-клетках и GPRC5D на плазматических клетках. Двойные сайты связывания позволяют биспецифическому антителу GPRC5DxCD3 притягивать Т-клетки CD3+ в непосредственной близости от клеток миеломы независимо от специфичности Т-
20 клеточного рецептора или от молекул МНС класса I на поверхности антигенпредставляющих клеток для активации, что приводит к гибели GPRC5D-положительных клеток.

В способе согласно заявке может применяться любое приемлемое биспецифическое антитело GPRC5DxCD3. К примерам мультиспецифических и/или
25 биспецифических форматов относятся молекулы с двойным нацеливанием, включающие в себя молекулы (DT)-Ig с двойным нацеливанием (GSK/Domantis), антитело «два в одном» (Genentech) и mAb2 (F-Star), молекулы с двойным переменным доменом (DVD)-Ig (Abbott), Ts2Ab (MedImmune/AZ) и BsAb (Zymogenetics), HERCULES (Biogen Idec) и TvAb (Roche), слитые белки ScFv/Fc
30 (Academic Institution), SCORPION (Emergent BioSolutions/Trubion, Zymogenetics/BMS) и перенацеливающиеся антитела с двойной аффинностью (Fc-DART) (MacroGenics), F(ab)₂ (Medarex/AMGEN), антитела «двойного действия» или Bis-Fab (Genentech), Dock-and-Lock (DNL) (ImmunoMedics), двухвалентное биспецифическое антитело (Biotecnol) и Fab-Fv (UCB-Celltech), биспецифический Т-клеточный активатор (BITE)

(Micromet), тандемное диатело (Tandab) (Affimed), перенацеливающиеся антитела с двойной аффинностью (DART) (MacroGenics), одноцепочечное диатело (Academic), TCR-подобные антитела (AIT, ReceptorLogics), слитый белок ScFv и человеческого сывороточного альбумина (Merrimack) и COMBODY (Epigen Biotech), нанотела с двойным нацеливанием (Ablynx), доменные антитела с двойным нацеливанием, имеющие только тяжелую цепь. Были описаны разные форматы биспецифических антител, например, в публикации Chames and Baty (2009) *Curr Opin Drug Disc Dev* 12: 276 и Nunez-Prado et al., (2015) *Drug Discovery Today* 20(5):588–594.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое GPRC5DxCD3 и антитело к CD38 представляют собой антигенсвязывающие фрагменты. Примерами антигенсвязывающих фрагментов являются фрагменты Fab, F(ab')₂, Fd и Fv.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 является химерным, гуманизированным или человеческим.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит GPRC5D-связывающий домен, содержащий VH, имеющую HCDR1 с SEQ ID NO: 27, HCDR2 с SEQ ID NO: 28, HCDR3 с SEQ ID NO: 29 и VL, имеющую LCDR1 с SEQ ID NO: 30, LCDR2 с SEQ ID NO: 31 и LCDR3 с SEQ ID NO: 32, и CD3-связывающий домен, содержащий VH, имеющую HCDR1 с SEQ ID NO: 17, HCDR2 с SEQ ID NO: 18, HCDR3 с SEQ ID NO: 19, и VL, имеющую LCDR1 с SEQ ID NO: 20, LCDR2 с SEQ ID NO: 21 и LCDR3 с SEQ ID NO: 22. HCDR и LCDR биспецифического антитела GPRC5DxCD3 описаны в таблице 4 ниже:

ТАБЛИЦА 4. Примеры CDR биспецифического антитела GPRC5DxCD3

Связывающееся плечо	Область	Последовательность	SEQ ID NO:
GPRC5D	HCDR1	GYTMN	27
	HCDR2	LINPYNSDTNYAQKLQG	28
	HCDR3	VALRVALDY	29
	LCDR1	KASQNVATHVG	30
	LCDR2	SASYRYS	31
	LCDR3	QQYNRYPYT	32
CD3	HCDR1	TYAMN	17
	HCDR2	RIRSKYNNYATYYAASVKG	18
	HCDR3	HGNFGNSYVSWFAY	19
	LCDR1	RSSTGAVTTSNYAN	20
	LCDR2	GTNKRAP	21
	LCDR3	ALWYSNLWV	22

CDR, описанные в таблице выше, определены согласно системе нумерации по Кабату. Однако, как представлено в настоящем документе, CDR по настоящему описанию могут быть представлены в соответствии с любой подходящей системой нумерации, такой как любая из систем нумерации по Кабату, по Чотиа, IMGT или AbM. В таблицах 5–7 ниже представлены примеры CDR с использованием систем нумерации по Чотиа, AbM и IMGT:

ТАБЛИЦА 5. Примеры CDR биспецифического антитела GPRC5DxCD3 — система нумерации по Чотиа:

Связывающееся плечо	Область	Последовательность	SEQ ID NO:
GPRC5D	HCDR1	GYSFTGY	54
	HCDR2	NPYNSD	55
	HCDR3	VALRVALDY	29
	LCDR1	KASQNVATHVG	30
	LCDR2	SASYRYS	31
	LCDR3	QQYNRYPYT	32
CD3	HCDR1	GFTFNTY	56
	HCDR2	RSKYNNYA	57
	HCDR3	HGNFGNSYVSWFAY	19
	LCDR1	RSSTGAVTTSNYAN	20
	LCDR2	GTNKRAP	21
	LCDR3	ALWYSNLWV	22

10 ТАБЛИЦА 6. Примеры CDR биспецифического антитела GPRC5DxCD3 — система нумерации AbM:

Связывающееся плечо	Область	Последовательность	SEQ ID NO:
GPRC5D	HCDR1	GYSFTGYTMN	58
	HCDR2	LINPYNSDTN	59
	HCDR3	VALRVALDY	29
	LCDR1	KASQNVATHVG	30
	LCDR2	SASYRYS	31
	LCDR3	QQYNRYPYT	32
CD3	HCDR1	GFTFNTYAMN	60
	HCDR2	RIRSKYNNYATY	61
	HCDR3	HGNFGNSYVSWFAY	19
	LCDR1	RSSTGAVTTSNYAN	20
	LCDR2	GTNKRAP	21
	LCDR3	ALWYSNLWV	22

ТАБЛИЦА 7. Примеры CDR биспецифического антитела GPRC5DxCD3 — система нумерации IMGT:

Связывающееся плечо	Область	Последовательность	SEQ ID NO:
GPRC5D	HCDR1	GYSFTGYT	62
	HCDR2	INPYNSDT	63
	HCDR3	ARVALRVALDY	64
	LCDR1	QNVATH	65
	LCDR2	SAS	Н/П
	LCDR3	QQYNRYPYT	32
CD3	HCDR1	GFTFNTYA	66
	HCDR2	IRSKYNNYAT	67
	HCDR3	ARHGNGNSYVSWFAY	68
	LCDR1	TGAVTTSNY	69
	LCDR2	GTN	Н/П
	LCDR3	ALWYSNLWV	22

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит GPRC5D-связывающий домен, содержащий VH, имеющую HCDR1 с SEQ ID NO: 27, HCDR2 с SEQ ID NO: 28, HCDR3 с SEQ ID NO: 29, и VL, имеющую LCDR1 с SEQ ID NO: 30, LCDR2 с SEQ ID NO: 31 и LCDR3 с SEQ ID NO: 32, и CD3-связывающий домен, содержащий VH, имеющую HCDR1 с SEQ ID NO: 17, HCDR2 с SEQ ID NO: 18, HCDR3 с SEQ ID NO: 19, и VL, имеющую LCDR1 с SEQ ID NO: 20, LCDR2 с SEQ ID NO: 21 и LCDR3 с SEQ ID NO: 22.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит GPRC5D-связывающий домен, содержащий VH, имеющую HCDR1 с SEQ ID NO: 54, HCDR2 с SEQ ID NO: 55, HCDR3 с SEQ ID NO: 29, и VL, имеющую LCDR1 с SEQ ID NO: 30, LCDR2 с SEQ ID NO: 31 и LCDR3 с SEQ ID NO: 32, и CD3-связывающий домен, содержащий VH, имеющую HCDR1 с SEQ ID NO: 56, HCDR2 с SEQ ID NO: 57, HCDR3 с SEQ ID NO: 19, и VL, имеющую LCDR1 с SEQ ID NO: 20, LCDR2 с SEQ ID NO: 21 и LCDR3 с SEQ ID NO: 22.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит GPRC5D-связывающий домен, содержащий VH, имеющую HCDR1 с SEQ ID NO: 58, HCDR2 с SEQ ID NO: 59, HCDR3 с SEQ ID NO: 29, и VL, имеющую LCDR1 с SEQ ID NO: 30, LCDR2 с SEQ ID NO: 31 и LCDR3 с SEQ ID NO: 32, и CD3-связывающий домен, содержащий VH, имеющую

HCDR1 с SEQ ID NO: 60, HCDR2 с SEQ ID NO: 61, HCDR3 с SEQ ID NO: 19, и VL, имеющую LCDR1 с SEQ ID NO: 20, LCDR2 с SEQ ID NO: 21 и LCDR3 с SEQ ID NO: 22.

5 В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит GPRC5D-связывающий домен, содержащий VH, имеющую HCDR1 с SEQ ID NO: 62, HCDR2 с SEQ ID NO: 63, HCDR3 с SEQ ID NO: 64, и VL, имеющую LCDR1 с SEQ ID NO: 65, LCDR2, имеющую аминокислотную последовательность SAS, и LCDR3 с SEQ ID NO: 32, и CD3-связывающий домен, содержащий VH, имеющую HCDR1 с SEQ ID NO: 66, HCDR2 с SEQ ID NO: 67, HCDR3 с SEQ ID NO: 68, и VL, имеющую LCDR1 с SEQ ID NO: 69, LCDR2, имеющую аминокислотную последовательность GTN, и LCDR3 с SEQ ID NO: 22.

15 В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит GPRC5D-связывающий домен, содержащий VH с SEQ ID NO: 33 и VL с SEQ ID NO: 34, и CD3-связывающий домен, содержащий VH с SEQ ID NO: 23 и VL с SEQ ID NO: 24.

20 В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3, которое связывает GPRC5D, содержит первую тяжелую цепь (HC1) с SEQ ID NO: 35, первую легкую цепь (LC1) с SEQ ID NO: 36, вторую тяжелую цепь (HC2) с SEQ ID NO: 25 и вторую легкую цепь (LC2) с SEQ ID NO: 26.

В некоторых вариантах осуществления связывающееся с CD3 плечо биспецифического антитела GPRC5DxCD3 и связывающееся с GPRC5D плечо биспецифического антитела GPRC5DxCD3 содержат аминокислотные последовательности, представленные в таблицах 8a и 8b.

25 **Таблица 8a.** Последовательности связывающегося с CD3 плеча биспецифического антитела GPRC5DxCD3

	Область	Последовательность	SEQ ID NO:
CD3B219	HCDR1	TYAMN	17
	HCDR2	RIRSKYNNYATYYAASVKG	18
	HCDR3	HGNFGNSYVSWFAY	19
	LCDR1	RSSTGAVTTSNYAN	20
	LCDR2	GTNKRAP	21
	LCDR3	ALWYSNLWV	22
	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAM	23

	Область	Последовательность	SEQ ID NO:
		NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAASV KGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR HGNGNSYVSWFAFWGQGLVTVSS	
	VL	QTVVTQEPSTLVSPGGTVLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSL GGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYNSLWVFGG GTKLTVLGQP	24
	HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAM NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAASV KGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR HGNGNSYVSWFAFWGQGLVTVSSASTKGPSV FPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGT KTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP EAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSLGK	25
	LC	QTVVTQEPSTLVSPGGTVLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSL GGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYNSLWVFGG GTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVC LISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSQRSYSCQVTHEGSTV EKTVAPECS	26

Таблица 8b. Последовательности связывающегося с GPRC5D плеча биспецифического антитела GPRC5DxCD3

PS3B27	Область	Последовательность	SEQ ID NO:
GC5B596	HCDR1	GYTMN	27
	HCDR2	LINPYNSDTNYAQKLG	28
	HCDR3	VALRVALDY	29
	LCDR1	KASQNVATHVG	30
	LCDR2	SASYRYS	31
	LCDR3	QQYNRYPYT	32
	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYT MNWVRQAPGQGLEWMGLINPYNSDTNYAQKLG GRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARV ALRVALDYWGQGLVTVSS	33
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVATHVG WYQQKPGKAPKRLIYSASYRYSVPSRFSGSGSGT EFTLTISNLPEDFATYYCQQYNRYPYTFGQGTKL EIK	34
	HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYT MNWVRQAPGQGLEWMGLINPYNSDTNYAQKLG GRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARV ALRVALDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSV HTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQF	35

PS3B27	Область	Последовательность	SEQ ID NO:
		NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQP REPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNYHTQKSLSLGK	
	LC	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVATHVG WYQQKPGKAPKRLIYSASYRYSGVPSRFSGSGSGT EFTLTISNLPEDFATYYCQQYNRYPTFGQGTKL EIKKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPG AVTVAWKGDSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTEC S	36

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 может представлять собой, без ограничений, талкветамаб (также называемый JNJ-564 или JNJ-64407564), биспецифическое антитело GPRC5DxCD3, описанное в Kodama et al. *Mol Cancer Ther.* 2019. 18(9): 1555–1564, полное содержание которого включено в настоящий документ путем ссылки, или биспецифическое антитело, в котором применяется домен, связывающий GPRC5D человека, описанный в патенте США № 10,590,196, полное содержание которого включено в настоящий документ путем ссылки, или GPRC5D-связывающий домен, который конкурирует с талкветамабом или доменом, связывающим GPRC5D человека, описанным в патенте США № 10,590,196, за связывание с GPRC5D человека.

В некоторых вариантах осуществления талкветамаб содержит первую тяжелую цепь (HC1), первую легкую цепь (LC1), вторую тяжелую цепь (HC2) и вторую легкую цепь (LC2), в которой HC1 связана с LC1, а HC2 связана с LC2, при этом HC1 и LC1 образуют первый антигенсвязывающий сайт, который иммуноспецифически связывается с GPRC5D, и при этом HC2 и LC2 образуют второй антигенсвязывающий сайт, который иммуноспецифически связывается с CD3. В некоторых вариантах осуществления талкветамаб содержит HC1 с SEQ ID NO: 35, LC1 с SEQ ID NO: 36, HC2 с SEQ ID NO: 25 и LC2 с SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления плечо CD3 и плечо GPRC5D талкветамоба образуют функциональное биспецифическое антитело посредством взаимодействия между их соответствующими Fc-доменами.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит любой из связывающих доменов GPRC5D, описанных в патенте США № 10,906,956 или WO2020/092854, полное содержание которых

включено в данный документ путем ссылки, или связывающий домен GPRC5D, который конкурирует с указанным связывающим доменом GPRC5D за связывание с GPRC5D человека.

5 В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 относится к изолипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 относится к изолипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 относится к изолипу IgG2.

10 В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 относится к изолипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 относится к изолипу IgG4.

15 Биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 может относиться к любому аллотипу. Иммуногенность терапевтических антител связана с повышенным риском реакций на инфузию и сниженной длительностью терапевтического ответа (Baert et al., (2003) *N Engl J Med* 348:602–08). Степень, с которой терапевтические антитела индуцируют иммунный ответ в организме-хозяине, отчасти может определяться аллотипом антитела (Stickler et al., (2011) *Genes and Immunity* 12:213–
20 21). Аллотип антитела связан с вариациями аминокислотной последовательности в конкретных положениях в последовательностях константных областей антитела. В таблице 9 приведены выбранные аллотипы IgG1, IgG2 и IgG4.

Таблица 9. Аллотипы IgG1, IgG2 и IgG4

Аллотип	Аминокислотный остаток в позиции различия (нумерация остатков: индекс ЕС)							
	IgG2		IgG4		IgG1			
	189	282	309	422	214	356	358	431
G2m(n)	T	M						
G2m(n-)	P	V						
G2m(n)/(n	T	V						
nG4m(a)			L	R				
G1m(17)					K	E	M	A
G1m(17,1)					K	D	L	A

25 В некоторых вариантах осуществления мультиспецифическое антитело содержит одну или более замен в Fc-области, которые уменьшают связывание

мультиспецифического антитела с Fc γ -рецептором (Fc γ R). Замены, которые уменьшают связывание мультиспецифического антитела с Fc γ R, снижают эффекторные функции Fc, такие как ADCC, ADCP и/или CDC мультиспецифического антитела. Конкретные замены можно выполнять при сравнении с IgG1 дикого типа с SEQ ID NO: 15 или IgG4 дикого типа с SEQ ID NO: 16.

В некоторых вариантах осуществления одна или более замен в Fc-области выбраны из группы, состоящей из F234A/L235A в IgG4, L234A/L235A в IgG1, V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S в IgG2, F234A/L235A в IgG4, S228P/F234A/L235A в IgG4, N297A во всех изотипах Ig, V234A/G237A в IgG2, K214T/E233P/L234V/L235A/G236-делеции/A327G/P331A/D365E/L358M в IgG1, H268Q/V309L/A330S/P331S в IgG2, S267E/L328F в IgG1, L234F/L235E/D265A в IgG1, L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S в IgG1, S228P/F234A/L235A/G237A/P238S в IgG4 и S228P/F234A/L235A/G236-делеции/G237A/P238S в IgG4, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.

В некоторых вариантах осуществления одна или более замен в Fc-области представляют собой F234A/L235A в IgG4.

В некоторых вариантах осуществления одна или более замен в Fc-области представляют собой L234A/L235A в IgG1.

В некоторых вариантах осуществления одна или более замен в Fc-области представляют собой V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S в IgG2.

В некоторых вариантах осуществления одна или более замен в Fc-области представляют собой F234A/L235A в IgG4.

В некоторых вариантах осуществления одна или более замен в Fc-области представляют собой S228P/F234A/L235A в IgG4.

В некоторых вариантах осуществления одна или более замен в Fc-области представляют собой N297A во всех изотипах Ig.

В некоторых вариантах осуществления одна или более замен в Fc-области представляют собой V234A/G237A в IgG2.

В некоторых вариантах осуществления одна или более замен в Fc-области представляют собой K214T/E233P/L234V/L235A/G236-делецию/A327G/P331A/D365E/L358M в IgG1.

В некоторых вариантах осуществления одна или более замен в Fc-области представляют собой H268Q/V309L/A330S/P331S в IgG2.

В некоторых вариантах осуществления одна или более замен в Fc-области представляют собой S267E/L328F в IgG1. В некоторых вариантах осуществления
5 одна или более замен в Fc-области представляют собой L234F/L235E/D265A в IgG1.

В некоторых вариантах осуществления одна или более замен в Fc-области представляют собой L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S в IgG1.

В некоторых вариантах осуществления одна или более замен в Fc-области
10 представляют собой S228P/F234A/L235A/G237A/P238S в IgG4 и S228P/F234A/L235A/G236-делецию/G237A/P238S в IgG4.

В некоторых вариантах осуществления мультиспецифическое антитело дополнительно содержит замену S228P.

В некоторых вариантах осуществления мультиспецифическое антитело
15 содержит одну или более асимметричных замен в первом домене CH3 или во втором домене CH3, либо как в первом домене CH3, так и во втором домене CH3.

В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен выбраны из группы, состоящей из F450L/K409R, дикого типа/F409L_R409K, T366Y/F405A, T366W/F405W, F405W/Y407A, T394W/Y407T, T394S/Y407A,
20 T366W/T394S, F405W/T394S и T366W/T366S_L368A_Y407V, L351Y_F405A_Y407V/T394W, T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V, T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V, L351Y_Y407A/T366A_K409F, L351Y_Y407A/T366V_K409F, Y407A/T366A_K409F и T350V_L351Y_F405A_Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W.

25 В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен представляют собой F450L/K409R.

В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен представляют собой замены дикого типа/F409L_R409K.

В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных
30 замен представляют собой T366Y/F405A.

В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен представляют собой T366W/F405W.

В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен представляют собой F405W/Y407A.

В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен представляют собой T394W/Y407T.

В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен представляют собой T394S/Y407A.

5 В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен представляют собой T366W/T394S.

В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен представляют собой F405W/T394S.

10 В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен представляют собой T366W/T366S_L368A_Y407V.

В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен представляют собой L351Y_F405A_Y407V/T394W.

В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен представляют собой T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V.

15 В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен представляют собой T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V.

В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен представляют собой L351Y_Y407A/T366A_K409F.

20 В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен представляют собой L351Y_Y407A/T366V_K409F.

В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен представляют собой Y407A/T366A_K409F.

25 В некоторых вариантах осуществления одна или более асимметричных замен представляют собой T350V_L351Y_F405A_Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W.

30 В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 относится к изотипу IgG4 и содержит фенилаланин в положении 405 и аргинин в положении 409 в первой тяжелой цепи (HC1), а также лейцин в положении 405 и лизин в положении 409 во второй тяжелой цепи (HC2), причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 дополнительно содержит пролин в положении 228, аланин в положении 234 и аланин в положении 235 как в HC1, так и в HC2.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологическое злокачественное новообразование или солидную опухоль.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой множественную миелому, вялотекущую множественную миелому, моноклональную гаммапатию неясного генеза (МГНГ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), лимфому Беркитта (ЛБ), фолликулярную лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), макроглобулинемию Вальденстрема, плазмноклеточный лейкоз, амилоидоз легкой цепи (АЛЦ), В-клеточный лимфобластный лейкоз из клеток-предшественников, острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), миелодиспластический синдром (МДС), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), злокачественную В-клеточную опухоль, хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), лейкоз ворсистых клеток (ЛВК), бластную плазмцитойдную дендритноклеточную опухоль, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, В-клеточную лимфому маргинальной зоны (ЛМЗ), лимфому лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками (МАЛТ), плазмноклеточный лейкоз, анапластическую крупноклеточную лимфому (АККЛ), лейкоз или лимфому.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой множественную миелому.

В некоторых вариантах осуществления множественная миелома представляет собой впервые выявленную множественную миелому.

В некоторых вариантах осуществления множественная миелома представляет собой рецидивирующую или рефрактерную множественную миелому (RRMM).

В некоторых вариантах осуществления множественная миелома представляет собой множественную миелому высокого риска. Известно, что субъекты с множественной миеломой высокого риска раньше испытывают рецидивы и имеют неблагоприятный прогноз и исход. Субъектов можно классифицировать как имеющих множественную миелому высокого риска, если они имеют одну или более из следующих цитогенетических аномалий: $t(4;14)(p16;q32)$, $t(14;16)(q32;q23)$, $del17p$, $1qAmp$, $t(4;14)(P16;q32)$ и $t(14;16)(q32;q23)$, $t(4;14)(p16;q32)$ и $del17p$, $t(14;16)(q32;q23)$ и $del17p$ или $t(4;14)(p16;q32)$, $t(14;16)(q32;q23)$ и $del17p$.

В некоторых вариантах осуществления субъект с множественной миеломой высокого риска имеет одну или более хромосомных аномалий, включающих в себя: $t(4;14)(p16;q32)$, $t(14;16)(q32;q23)$, $del17p$, $1qAmp$, $t(4;14)(P16;q32)$ и $t(14;16)(q32;q23)$, $t(4;14)(p16;q32)$ и $del17p$, $t(14;16)(q32;q23)$ и $del17p$ или $t(4;14)(P16;q32)$, $t(14;16)(q32;q23)$ и $del17p$ или любую их комбинацию.

Различные качественные и/или количественные способы могут применяться для определения рецидивирующих или рефрактерных форм заболевания. Симптомами, которые могут быть связаны, например, с ухудшением или отсутствием улучшения состояния пациента или возвратом или ухудшением различных симптомов, связанных с солидными опухолями, и/или распространением раковых клеток в организме из одного места в другие органы, ткани или клетки.

Цитогенетические аномалии можно обнаружить, например, с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH). При хромосомных транслокациях онкоген перемещается в область IgH на хромосоме 14q32, что приводит к дисрегуляции этих генов. $t(4;14)(P16;q32)$ включает транслокацию рецептора фактора роста фибробластов 3 (FGFR3) и белка, содержащего домен множественной миеломы SET (MMSET) (также называемого WHSC1/NSD2), а $t(14;16)(q32;q23)$ включает транслокацию фактора транскрипции MAF C-MAF. Делеция 17p ($del17p$) включает утрату локуса гена p53.

В некоторых вариантах осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной к лечению антителом к CD38 (например, даратумумабом, изатуксимабом и т. д.), леналиномидом, бортезомибом, помалидомидом, карфилзомибом, элотузумабом, иксазомибом, мелфаланом или талидомидом или любой их комбинацией.

В некоторых вариантах осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной к лечению антителом к CD38. В некоторых вариантах осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной к лечению леналидомидом. В некоторых вариантах осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной к лечению бортезомибом. В некоторых вариантах осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной к лечению помалидомидом. В некоторых вариантах осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной к лечению карфилзомибом. В некоторых

вариантах осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной к лечению элутузумабом. В некоторых вариантах осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной к лечению иксазомибом. В некоторых вариантах осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной к лечению мелфаланом. В некоторых вариантах осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной к лечению талидомидом.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой ОМЛ.

В некоторых вариантах осуществления ОМЛ представляет собой ОМЛ с по меньшей мере одной генетической аномалией. В некоторых вариантах осуществления ОМЛ представляет собой ОМЛ с мультилинейной дисплазией. В некоторых вариантах осуществления ОМЛ представляет собой связанный с терапией ОМЛ. В некоторых вариантах осуществления ОМЛ представляет собой недифференцированный ОМЛ. В некоторых вариантах осуществления ОМЛ представляет собой ОМЛ с минимальным созреванием. В некоторых вариантах осуществления ОМЛ представляет собой ОМЛ с созреванием. В некоторых вариантах осуществления ОМЛ представляет собой острый миеломоноцитарный лейкоз. В некоторых вариантах осуществления ОМЛ представляет собой острый моноцитарный лейкоз. В некоторых вариантах осуществления ОМЛ представляет собой острый эритроидный лейкоз. В некоторых вариантах осуществления ОМЛ представляет собой острый мегакариобластный лейкоз. В некоторых вариантах осуществления ОМЛ представляет собой острый базофильный лейкоз. В некоторых вариантах осуществления ОМЛ представляет собой острый панмиелоз с фиброзом. В некоторых вариантах осуществления ОМЛ представляет собой миелоидную саркому.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой транслокацию между хромосомами 8 и 21, транслокацию или инверсию в хромосоме 16, транслокацию между хромосомами 15 и 17, изменения в хромосоме 11 или мутацию связанной с FMS тирозинкиназы-3 (FLT3), нуклеофосмина (NPM1), изоцитратдегидрогеназы-1 (IDH1), изоцитратдегидрогеназы-2 (IDH2), ДНК-(цитозин-5)-метилтрансферазы-3 (DNMT3A), ССААТ/энхансер-связывающего белка-альфа (CEBPA), вспомогательного фактора-1 U2 малой ядерной РНК (U2AF1), энхансера белка

Zeste 2 субъединицы ингибиторного комплекса-2 polycomb (EZH2), структурного сохранения хромосом 1A (SMC1A) или структурного сохранения хромосом 3 (SMC3).

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой транслокацию между хромосомами 8 и 21. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой транслокацию или инверсию в хромосоме 16. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой транслокацию между хромосомами 15 и 17. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой изменения в хромосоме 11. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой мутацию связанной с FMS тирозинкиназы-3 (FLT3). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой мутацию нуклеофосмина (NPM1). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой мутацию изоцитратдегидрогеназы-1 (IDH1). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой мутацию изоцитратдегидрогеназы-2 (IDH2). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой мутацию ДНК-(цитозин-5)-метилтрансферазы-3 (DNMT3A). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой мутацию ССАТ/энхансер-связывающего белка-альфа (CEBPA). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой мутацию вспомогательного фактора-1 U2 малой ядерной РНК (U2AF1). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой мутацию энхансера белка Zeste 2 субъединицы ингибиторного комплекса-2 polycomb (EZH2). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой мутацию структурного сохранения хромосом 1A (SMC1A). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой мутацию структурного сохранения хромосом 3 (SMC3).

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой транслокацию t(8; 21)(q22; q22), инверсию

inv(16)(p13; q22), транслокацию t(16; 16)(p13; q22), транслокацию t(15; 17)(q22; q12), мутацию FLT3-ITD, мутации R132H или R100Q/R104V/F108L/R119Q/I130V в IDH1 или мутации R140Q или R172 в IDH2.

5 В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой транслокацию t(8; 21)(q22; q22). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой инверсию inv(16)(p13; q22). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой транслокацию t(16; 16)(p13; q22). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой транслокацию t(15; 17)(q22; q12). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой мутацию FLT3-ITD. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой мутацию R132H в IDH1. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой мутацию R100Q/R104V/F108L/R119Q/I130V в IDH1. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой мутацию R140Q в IDH2. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна генетическая аномалия представляет собой мутацию R172 в IDH2.

20 В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой ОЛЛ.

В некоторых вариантах осуществления ОЛЛ представляет собой ОЛЛ В-клеточной линии, ОЛЛ Т-клеточной линии, ОЛЛ у взрослых или ОЛЛ у детей.

25 В некоторых вариантах осуществления ОЛЛ представляет собой ОЛЛ В-клеточной линии. В некоторых вариантах осуществления ОЛЛ представляет собой ОЛЛ Т-клеточной линии. В некоторых вариантах осуществления ОЛЛ представляет собой ОЛЛ у взрослых. В некоторых вариантах осуществления ОЛЛ представляет собой ОЛЛ у детей.

30 В некоторых вариантах осуществления субъект с ОЛЛ имеет филадельфийскую хромосому или является резистентным или приобрел резистентность к лечению ингибитором BCR-ABL-киназы.

В некоторых вариантах осуществления у пациента с ОЛЛ имеется филадельфийская хромосома. В некоторых вариантах осуществления субъект с

ОЛЛ является резистентным или приобрел резистентность к лечению ингибитором BCR-ABL-киназы.

Ph-хромосома присутствует у около 20% взрослых с ОЛЛ и у небольшого процента детей с ОЛЛ, и она ассоциируется с неблагоприятным прогнозом. На момент рецидива пациенты с Ph⁺-положительным ОЛЛ могут получать схему лечения с ингибитором тирозинкиназы (ТКИ), а потому могут стать резистентными к ТКИ. Таким образом, антитела анти-CD38 можно вводить пациенту, который приобрел резистентность к селективным или частично селективным ингибиторам BCR-ABL. К примерам ингибиторов BCR-ABL относятся, например, иматиниб, дазатиниб, нилотиниб, босутиниб, понатиниб, бафетиниб, саракатиниб, тозасертиб или данусертиб.

К другим хромосомным перестройкам, идентифицированным у пациентов с ОЛЛ В-клеточной линии, относятся t(v;11q23) (перестройка MLL), t(1;19)(q23;p13.3); TCF3-PBX1 (E2A-PBX1), t(12;21)(p13;q22); ETV6-RUNX1 (TEL-AML1) и t(5;14)(q31;q32); IL3-IGH.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется ОЛЛ с t(v;11q23) (перестройкой MLL), t(1;19)(q23;p13.3); TCF3-PBX1 (E2A-PBX1), t(12;21)(p13;q22); ETV6-RUNX1 (TEL-AML1) или t(5;14)(q31;q32); хромосомной перестройкой IL3-IGH.

Хромосомные перестройки можно идентифицировать с применением хорошо известных методов, например флуоресцентной гибридизацией *in situ*, кариотипированием, гель-электрофорезом в пульсирующем поле или секвенированием.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой вялотекущую множественную миелому.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой МГНГ.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой ОЛЛ.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой DLBCL.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой ЛБ.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой ФЛ.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой МКЛ.

5 В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой макроглобулинемию Вальденстрема.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой плазмноклеточный лейкоз.

10 В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой АЛЦ.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой В-клеточный лимфобластный лейкоз из клеток-предшественников.

15 В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой В-клеточный лимфобластный лейкоз из клеток-предшественников.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой миелодиспластический синдром (МДС).

20 В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой ХЛЛ.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой злокачественную В-клеточную опухоль.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой ХМЛ.

25 В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой ЛВК.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой бластную плазмцитойдную дендритноклеточную опухоль.

30 В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой лимфому Ходжкина.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой неходжкинскую лимфому.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой ЛМЗ.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой MALT.

5 В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой плазмноклеточный лейкоз.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой АККЛ.

10 В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой лейкоз.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой лимфому.

В одном варианте осуществления в описании также предложен способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества биспецифического антитела GPRC5DxCD3 для лечения рака, причем перед введением биспецифического антитела GPRC5DxCD3 субъект получает лечение антителом к CD38.

20 В описании также предложен способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества биспецифического антитела GPRC5DxCD3 для лечения рака, когда у субъекта наблюдается рецидив или рефрактерность к лечению предшествующим противораковым терапевтическим средством.

25 В некоторых вариантах осуществления субъект, которому вводят антитело GPRC5DxCD3, является резистентным и/или рефрактерным к лечению антителом к CD38.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак с экспрессией GPRC5D.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологическую злокачественную опухоль.

30 В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой множественную миелому, вялотекущую миелому, моноклональную гаммапатию неясного генеза (МГНГ), В-клеточный острый лимфобластный лейкоз, диффузную В-крупноклеточную лимфому, лимфому Беркитта, фолликулярную лимфому, мантийноклеточную лимфому, макроглобулинемию Вальденстрема,

плазмноклеточный лейкоз, амилоидоз легких цепей или неходжкинскую лимфому.
Рак диагностирует опытный врач.

5 В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается рецидив или рефрактерность к лечению антителом к CD38 или леналидомидом или их комбинацией.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается рецидив или рефрактерность к лечению антителом к CD38. В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается рецидив или рефрактерность к лечению леналидомидом.

10 В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается рецидив или рефрактерность к лечению предшествующим противораковым терапевтическим средством, таким как терапевтическое средство, применяемое для лечения множественной миеломы или других гематологических злокачественных опухолей.

15 В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается рецидив или рефрактерность к лечению препаратами THALOMID[®] (талидомид), REVLIMID[®] (леналидомид), POMALYST[®] (помалидомид), VELCADE[®] (бортезомиб), NINLARO (иксазомиб), KYPROLIS[®] (карфилзомиб), FARADYK[®] (панобиностат), AREDIA[®] (памидронат), ZOMETA[®] (золедроновая кислота), DARZALEX[®] (даратумумаб), Empliciti[®] (элотузумаб), SARCLISA[®] (изатуксимаб) или Alkeran[®] (мелфалан).

20

В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается рецидив при лечении препаратом DARZALEX[®] (даратумумаб).

25 В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 вводят или обеспечивают для введения в фармацевтической композиции, содержащей от около 20 мг/мл до около 120 мг/мл антитела к CD38 в около 25 мМ уксусной кислоты, около 60 мМ хлорида натрия, около 140 мМ маннита и около 0,04% масс./об. полисорбата-20 (PS-20); при pH около 5,5.

30 В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 вводят или обеспечивают для введения в фармацевтической композиции, содержащей около 1800 мг антитела к CD38 и около 30 000 ед. гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 вводят или обеспечивают для введения в фармацевтической композиции, содержащей около 120 мг/мл антитела к CD38 и около 2000 ед./мл гHuPH20.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 вводят или обеспечивают для введения в фармацевтической композиции, содержащей от около 5 мМ до около 15 мМ гистидина;

от около 100 мМ до около 300 мМ сорбита;

5 от около 0,01% масс./об. до около 0,04% масс./об. PS-20 и

от около 1 мг/мл до около 2 мг/мл метионина при pH около 5,5–5,6.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 вводят или обеспечивают для введения в фармацевтической композиции, содержащей

около 1800 мг антитела к CD38;

10 около 30 000 ед. гHuPH20;

около 10 мМ гистидина;

около 300 мМ сорбита;

около 0,04% (масс./об.) PS-20 и

около 1 мг/мл метионина при pH около 5,6.

15 В некоторых вариантах осуществления антитело к CD38 вводят или обеспечивают для введения в фармацевтической композиции, содержащей

около 120 мг/мл антитела к CD38;

около 2000 ед./мл гHuPH20;

около 10 мМ гистидина;

20 около 300 мМ сорбита;

около 0,04% (масс./об.) PS-20 и

около 1 мг/мл метионина при pH около 5,6.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая биспецифическое антитело к GPRC5DxCD3 и антитело к CD38, как

25 описано в настоящем документе. Например, композиция может содержать

GPRC5D-связывающий домен, содержащий VH с SEQ ID NO: 33 и VL с SEQ ID

NO: 34, и CD3-связывающий домен, содержащий VH с SEQ ID NO: 23 и VL с SEQ

ID NO: 24, и антитело к CD38, содержащее VH с SEQ ID NO: 5 и VL с SEQ ID NO:

6.

30 В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция

содержит биспецифическое антитело GPRC5DxCD3, содержащее HC1 с SEQ ID

NO: 35, LC1 с SEQ ID NO: 36, HC2 с SEQ ID NO: 25, LC2 с SEQ ID NO: 26, и

антитело к CD38, содержащее HC с SEQ ID NO: 13 и LC с SEQ ID NO: 14. В

некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело GPRC5DxCD3

относится к изотипу IgG4 и содержит фенилаланин в положении 405 и аргинин в положении 409 в первой тяжелой цепи (HC1), а также лейцин в положении 405 и лизин в положении 409 во второй тяжелой цепи (HC2), причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС. В некоторых вариантах осуществления

5 биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 дополнительно содержит пролин в положении 228, аланин в положении 234 и аланин в положении 235 как в HC1, так и в HC2.

В описании также предложен набор или комбинация, содержащая биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 и антитело к CD38, для применения в способе согласно заявке.

Способы получения антител, применяемые в способах изобретения

Антитела, применяемые в способах изобретения, связывающие специфические антигены, могут также быть выбраны *de novo*, например, из библиотеки фагового дисплея, в которой фаг конструируется таким образом, чтобы экспрессировать иммуноглобулины человека или их участки, такие как Fab, одноцепочечные антитела (scFv) или неспаренные или спаренные переменные области антитела (Knappik et al., *J Mol Biol* 296:57–86, 2000; Krebs et al., *J Immunol Meth* 254:67–84, 2001; Vaughan et al., *Nature Biotechnology* 14:309–14, 1996; Sheets et al., *PITAS (USA)* 95:6157–62, 1998; Hoogenboom and Winter, *J Mol Biol* 227:381, 1991; Marks et al., *J Mol Biol* 222:581, 1991). Библиотеки фаговых дисплеев, экспрессирующие переменные области тяжелой и легкой цепей антитела в виде гибридных белков с белком оболочки бактериофага рIX, как описано в Shi et al (2010) *J. Mol. Biol.* 397:385–96 и международной патентной публикации № WO2009/085462. Можно проводить скрининг библиотек антител в отношении связывания с требуемым антигеном, таким как GPRC5D, дополнительно характеризовать полученные положительные клоны и из лизатов клонов выделять Fab и впоследствии клонировать в виде полноразмерных антител. Такое применение способов фагового дисплея для выделения человеческих антител принято в данной области. См., например: патент США № 5,223,409; патент США № 5,403,484; патент США № 5,571,698; патент США № 5,427,908; патент США № 5,580,717; патент США № 5,969,108; патент США № 6,172,197; патент США № 5,885,793; патент США № 6,521,404; патент США № 6,544,731; патент США № 6,555,313; патент США № 6,582,915 и патент США № 6,593,081.

Перенаправляющие Т-клетки биспецифические антитела можно создавать *in vitro* в бесклеточной среде, вводя асимметричные мутации в области СНЗ двух моноспецифических гомодимерных антител и образуя биспецифическое гетеродимерное антитело из двух родительских моноспецифических гомодимерных антител в восстановительных условиях для обеспечения изомеризации дисульфидной связи в соответствии со способами, описанными в международной патентной публикации № WO2011/131746. В способах два моноспецифических бивалентных антитела конструируют так, чтобы они имели определенные замены в домене СНЗ, способствующие стабильности гетеродимера; антитела инкубируют вместе в восстановительных условиях, достаточных для обеспечения подверженности цистеинов в шарнирной области изомеризации дисульфидной связи; получая таким образом биспецифическое антитело в результате обмена Fab-плечами. Условия инкубации можно оптимально возвращать к невозстанавливающим. Примерами восстанавливающих агентов, которые можно применять, являются 2-меркаптоэтиламин (2-МЕА), дитиотреитол (DTT), дитиозеритрит (DTE), глутатион, трис(2-карбоксиэтил)фосфин (ТСЕР), L-цистеин и бета-меркаптоэтанол, предпочтительно восстанавливающий агент выбран из группы, состоящей из: 2-меркаптоэтиламина, дитиотреитола и трис(2-карбоксиэтил)фосфина. Например, можно применять инкубацию в течение по меньшей мере 90 мин при температуре по меньшей мере 20 °С в присутствии по меньшей мере 25 мМ 2-МЕА или в присутствии по меньшей мере 0,5 мМ дитиотреитола при pH 5–8, например при pH = 7,0 или при pH = 7,4.

К примерам мутаций СНЗ, которые можно применять в первой тяжелой цепи и во второй тяжелой цепи биспецифического антитела, относятся K409R и/или F405L.

Дополнительные мутации СНЗ, которые можно применять, включают в себя такие технологии, как мутации Duobody® (Genmab), мутации «выступ во впадину» (Genentech), электростатически спариваемые мутации (Chugai, Amgen, NovoNordisk, Oncomed), сконструированное посредством обмена цепей доменное тело (SEEDbody) (EMD Serono) и другие асимметричные мутации (например, Zymeworks).

Мутации Duobody® (Genmab) описаны, например, в US9150663 и US2014/0303356 и включают в себя мутации F405L/K409R, дикого типа/F405L_R409K, T350I_K370T_F405L/K409R, K370W/K409R, D399AFGHILMNRSTVWY/K409R, T366ADEFHILMQVY/K409R,

L368ADEGHNRSTVQ/K409AGRH, D399FHKRQ/K409AGRH,
F405IKLSTVW/K409AGRH и Y407LWQ/K409AGRH.

Мутации типа «выступ во впадину» описаны, например, в WO1996/027011,
и включают в себя мутации на границе раздела области СНЗ, в которой
5 аминокислоту с небольшой боковой цепью (впадина) вносят в первую область
СНЗ, а аминокислоту с большой боковой цепью (выступ) вносят во вторую область
СНЗ, что приводит к предпочтительному взаимодействию между первой областью
СНЗ и второй областью СНЗ. К примерам мутаций в области СНЗ, образующих
выступ и впадину, относятся T366Y/F405A, T366W/F405W, F405W/Y407A,
10 T394W/Y407T, T394S/Y407A, T366W/T394S, F405W/T394S и
T366W/T366S_L368A_Y407V.

Образование гетеродимера тяжелой цепи можно стимулировать путем
применения электростатических взаимодействий посредством замены
положительно заряженных остатков в первой области СНЗ и отрицательно
15 заряженных остатков во второй области СНЗ, как описано в US2010/0015133,
US2009/0182127, US2010/028637 или US2011/0123532.

Другими асимметричными мутациями, которые можно применять для
стимуляции гетеродимеризации тяжелых цепей, являются
L351Y_F405A_Y407V/T394W, T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V,
20 T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V, L351Y_Y407A/T366A_K409F,
L351Y_Y407A/T366V_K409F, Y407A/T366A_K409F или
T350V_L351Y_F405A_Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W, как описано в
US2012/0149876 или US2013/0195849.

Мутации SEEDbody включают замещение выбранных остатков IgG
25 остатками IgA для стимуляции гетеродимеризации тяжелых цепей, как описано в
US20070287170.

К другим примерам мутаций, которые можно применять, относятся
R409D_K370E/D399K_E357K, S354C_T366W/Y349C_T366S_L368A_Y407V,
Y349C_T366W/S354C_T366S_L368A_Y407V, T366K/L351D, L351K/Y349E,
30 L351K/Y349D, L351K/L368E, L351Y_Y407A/T366A_K409F,
L351Y_Y407A/T366V_K409F, K392D/D399K, K392D/E356K,
K253E_D282K_K322D/D239K_E240K_K292D, K392D_K409D/D356K_D399K,
описанные в WO2007/147901, WO 2011/143545, WO2013157954, WO2013096291 и
US2018/0118849.

Дополнительные биспецифические или мультиспецифические структуры, которые можно применять в качестве биспецифических антител GPRC5DxCD3, включают в себя иммуноглобулины с двойными вариабельными доменами (DVD) (международная патентная публикация № WO2009/134776; DVD представляют собой полноразмерные антитела, содержащие тяжелую цепь, имеющую структуру VH1-линкер-VH2-CH, и легкую цепь, имеющую структуру VL1-линкер-VL2-CL; где линкер необязателен), структуры, включающие в себя различные димеризационные домены для соединения двух плеч антител с разной специфичностью, такие как «лейциновая застежка» или коллагеновые димеризационные домены (международная патентная публикация № WO2012/022811, патент США № 5,932,448; патент США № 6,833,441), два или более доменных антитела (dAb), конъюгированных вместе, диатела, антитела, имеющие только тяжелую цепь, такие как антитела верблюжьего типа и сконструированные антитела верблюжьего типа, антитела с двойным нацеливанием (DT)-Ig (GSK/Domantis), антитело «два в одном» (Genentech), поперечно-сшитые мАт (Karmanos Cancer Center), mAb2 (F-Star) и CovX-тело (CovX/Pfizer), IgG-подобные биспецифические антитела (InnClone/Eli Lilly), Ts2Ab (MedImmune/AZ) и бсАт (Zymogenetics), HERCULES (Biogen Idec) и TvAb (Roche), слитые белки ScFv/Fc (Academic Institution), SCORPION (Emergent BioSolutions/Trubion, Zymogenetics/BMS), перенацеливающиеся антитела с двойной аффинностью (Fc-DART) (MacroGenics) и Dual(ScFv)₂-Fab (National Research Center for Antibody Medicine, Китай), антитела «двойного действия» или Bis-Fab (Genentech), Dock-and-Lock (DNL) (ImmunoMedics), двухвалентное биспецифическое антитело (Biotecnol) и Fab-Fv (UCB-Celltech). Антитела на основе ScFv, диател и доменные антитела включают в себя, без ограничений, биспецифический Т-клеточный активатор (BiTE) (Micromet), тандемное диатело (Tandab) (Affimed), технологию перенацеливания с двойной аффинностью (DART) (MacroGenics), одноцепочечное диатело (Academic), TCR-подобные антитела (AIT, ReceptorLogics), слитный белок ScFv и человеческого сывороточного альбумина (Merrimack), COMBODY (Epigen Biotech), нанотела с двойным нацеливанием (Ablynx), доменные антитела с двойным нацеливанием, имеющие только тяжелую цепь.

Конструирование Fc-области антител

Fc-область биспецифических антител GPRC5DxCD3, таких как биспецифические или мультиспецифические антитела или антитела к CD38, может содержать по меньшей мере одну замену в Fc-области, которая снижает связывание биспецифических антител GPRC5DxCD3 с активирующим рецептором Fc γ (Fc γ R) и/или уменьшает эффекторные функции Fc, такие как связывание C1q, комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC), антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (ADCC) или фагоцитоз (ADCP).

Положения в Fc-области, в которых можно произвести замену для снижения связывания Fc-области с активирующим рецептором Fc γ R и для снижения эффекторной функции впоследствии, представляют собой замены L234A/L235A в IgG1, V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S в IgG2, F234A/L235A в IgG4, S228P/F234A/L235A в IgG4, N297A во всех изоформах Ig, V234A/G237A в IgG2, K214T/E233P/L234V/L235A/G236-делецию/A327G/P331A/D365E/L358M в IgG1, H268Q/V309L/A330S/P331S в IgG2, S267E/L328F в IgG1, L234F/L235E/D265A в IgG1, L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S в IgG1, S228P/F234A/L235A/G237A/P238S в IgG4 и S228P/F234A/L235A/G236-делецию/G237A/P238S в IgG4.

Замены в Fc-области, которые могут применяться для снижения CDC, представляют собой замену K322A.

Для дополнительного усиления стабильности IgG4 в антителах IgG4 можно выполнять известную замену S228P.

Пример IgG1 дикого типа содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 16. Пример IgG4 дикого типа содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 17.

«Антителозависимая клеточная цитотоксичность», «антителозависимая клеточноопосредованная цитотоксичность» или «ADCC» представляет собой механизм индукции гибели клеток, который зависит от взаимодействия покрытых антителами клеток-мишеней с эффекторными клетками, обладающими литической активностью, такими как естественные клетки-киллеры (NK), моноциты, макрофаги и нейтрофилы, посредством Fc-гамма-рецепторов (Fc γ R), экспрессируемых на эффекторных клетках. Например, NK-клетки экспрессируют Fc γ RIIIa, тогда как моноциты экспрессируют Fc γ RI, Fc γ RII и Fc γ RIIIa. ADCC-активность антител можно оценить с помощью анализа *in vitro* с применением клеток, экспрессирующих белок, с которым связывается антитело, в качестве

клеток-мишеней и НК-клеток в качестве эффекторных клеток. Цитолиз может быть обнаружен по высвобождению из лизированных клеток метки (например, радиоактивных субстратов, флуоресцентных красителей или природных внутриклеточных белков). В типовом анализе клетки-мишени применяют в соотношении 1 клетка-мишень на 4 эффекторные клетки. Клетки-мишени предварительно метят BATDA и объединяют с эффекторными клетками и исследуемым антителом. Образцы инкубируют в течение 2 часов и измеряют лизис клеток путем измерения высвобождения BATDA в супернатант. Данные нормализуют относительно максимальной цитотоксичности с 0,67% Тритон X-100 (Sigma Aldrich) и минимального контроля, определяемого по высвобождению BATDA из клеток-мишеней в отсутствие любого антитела.

«Антителозависимый клеточный фагоцитоз» (ADCP) относится к механизму уничтожения покрытых антителами клеток-мишеней путем интернализации фагоцитарными клетками, такими как макрофаги или дендритные клетки. ADCP можно оценить с помощью моноцитарных макрофагов в качестве эффекторных клеток и клеток, экспрессирующих белок, с которым связывается антитело, в качестве клеток-мишеней, также сконструированных с возможностью экспрессии GFP или другой меченой молекулы. В типовом анализе соотношение эффекторных клеток и клеток-мишеней может составлять, например, 4 : 1. Эффекторные клетки можно инкубировать с клетками-мишенями в течение 4 часов с антителом по изобретению или без него. После инкубации клетки можно отделять с помощью аккутазы. Идентификацию макрофагов можно проводить с помощью антител к CD11b и к CD14, связанных с флуоресцентной меткой, а процентное значение фагоцитоза можно определять на основании % флуоресцентного ЗФБ в макрофагах CD11 + CD14⁺ с помощью стандартных способов.

«Комплемент-зависимая цитотоксичность» или «CDC» относится к механизму индукции гибели клеток, в рамках которого эффекторный домен Fc связанного с мишенью антитела связывает и активирует компонент комплемента C1q, который, в свою очередь, активирует каскад реакций комплемента, приводящий к гибели клетки-мишени. Активация комплемента может также приводить к осаждению компонентов комплемента на поверхности клеток-мишеней, что облегчает CDC посредством связывания на лейкоцитах рецепторов комплемента (например, CR3). CDC для клеток можно измерять, например,

посредством высевания клеток Дауди при 1×10^5 клеток/лунка (50 мкл/лунка) в RPMI-B (RPMI с добавлением 1% BSA), добавления 50 мкл исследуемых антител в лунки до конечной концентрации в диапазоне 0–100 мкг/мл, инкубации реакционной смеси в течение 15 мин при комнатной температуре, добавления 5 11 мкл пулированной человеческой сыворотки в лунки и инкубации реакционной смеси в течение 45 мин при 37 °С. Процентное значение (%) лизированных клеток можно определять как % окрашенных пропидия йодидом клеток в анализе FACS с помощью стандартных способов.

Связывание антитела с Fc γ R или FcRn можно оценивать с применением 10 проточной цитометрии на клетках, сконструированных для экспрессии каждого из рецепторов. В примере анализа связывания в 96-луночный планшет высевают 2×10^5 клеток на лунку и блокируют буферным раствором для окрашивания с бычьим сывороточным альбумином (БСА) (BD Biosciences, г. Сан-Хосе, США) в течение 30 мин при 4 °С. Клетки инкубируют с исследуемым антителом на льду в 15 течение 1,5 ч при 4 °С. После двукратного промывания буферным раствором для окрашивания БСА клетки инкубируют с меченым R-фикоэритрином (R-PE) вторичным антителом к человеческому IgG (Jackson ImmunoResearch Laboratories) в течение 45 мин при 4 °С. Клетки дважды промывают в буферном растворе для 20 окрашивания, после чего повторно суспендируют в 150 мкл буферного раствора для окрашивания, содержащего разведенный в соотношении 1 : 200 краситель DRAQ7 для живых/мертвых клеток (Cell Signaling Technology, г. Данверс, США). Сигналы PE и DRAQ7 от окрашенных клеток определяют с помощью проточного цитометра Miltenyi MACSQuant (Miltenyi Biotec, г. Оберн, США) с применением 25 каналов B2 и B4 соответственно. Проводят гейтинг живых клеток по исключению DRAQ7, а среднее геометрическое значение сигналов флуоресценции определяют для по меньшей мере 10 000 случаев живых клеток. Для анализа применяют программное обеспечение FlowJo (Tree Star). По данным строят график зависимости логарифма концентрации антитела от среднего значения сигналов флуоресценции. Проводят нелинейный регрессионный анализ.

30 **Химерные антигенные рецепторы (CAR)**

Химерные антигенные рецепторы (CAR) представляют собой рецепторы, сконструированные методами генной инженерии. Эти сконструированные рецепторы могут быть легко вставлены в иммунные клетки, включая Т-клетки, и экспрессированы ими в соответствии с методиками, известными в данной области.

С помощью CAR один рецептор может быть запрограммирован как на распознавание специфического антигена, так и на активацию иммунной клетки для атаки и разрушения клетки, несущей этот антиген, при связывании с этим антигеном. Если эти антигены существуют на опухолевых клетках, иммунная
 5 клетка, которая экспрессирует CAR, может нацеливаться на опухолевую клетку и уничтожать ее.

CAR, как правило, содержит внеклеточный домен, который связывает антиген (например, неоантиген предстательной железы или антиген созревания В-клеток (BCMA)), необязательный линкер, трансмембранный домен и цитозольный
 10 домен, содержащий костимулирующий домен и/или сигнальный домен.

Внеклеточный домен в составе CAR может содержать любой полипептид, который связывает нужный антиген (например, неоантиген предстательной железы). Внеклеточный домен может содержать scFv, часть антитела или альтернативную каркасную молекулу. CAR также могут быть сконструированы с
 15 возможностью связывания с двумя или более нужными антигенами, которые могут быть расположены в тандеме и разделены линкерными последовательностями. Например, одно или более доменных антител, антител scFv, llama VHH или других фрагментов антител, содержащих только VH, могут быть расположены в тандеме посредством линкера для обеспечения биспецифичности или
 20 мультиспецифичности к CAR.

Трансмембранный домен CAR может быть получен из трансмембранного домена CD8, альфа-, бета- или дзета-цепи Т-клеточного рецептора, CD28, CD3-эпсилон, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD11a, CD18),
 25 ICOS (CD278), 4-1 BB (CD137), 4-1 BBL, GITR, CD40, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRK1), CD160, CD119, IL2R-бета, IL2R-гамма, IL7R α , ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD118, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4),
 30 CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKp44, NKp30, NKp46, NKG2D и/или NKG2C.

Внутриклеточный костимулирующий домен CAR может быть получен из внутриклеточных доменов одной или более костимулирующих молекул. Костимулирующие молекулы хорошо известны как молекулы клеточной поверхности, отличные от антигенных рецепторов или Fc-рецепторов, которые

5 обеспечивают второй сигнал, необходимый для эффективной активации и функционирования Т-лимфоцитов при связывании с антигеном. К примерам костимулирующих доменов, которые можно применять в CAR, относятся

10 внутриклеточные домены 4-1BB, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CD54 (ICAM), CD83, CD134 (OX40), CD150 (SLAMF1), CD152 (CTLA4), CD223 (LAG3), CD270 (HVEM), CD278 (ICOS), DAP10, LAT, NKD2C SLP76, TRIM и ZAP70.

Внутриклеточный сигнальный домен CAR может быть получен из сигнальных доменов рецепторов, например рецепторов $\text{O}3\zeta$ CD3 ϵ , CD22, CD79a, CD66d или CD39. «Внутриклеточный сигнальный домен» относится к части

15 полипептида CAR, которая участвует в передаче сообщения об эффективном связывании CAR с целевым антигеном во внутреннюю часть иммунной эффекторной клетки для запуска функции эффекторной клетки, например, активации, выработки цитокинов, пролиферации и цитотоксической активности, включая высвобождение цитотоксических факторов в клетку-мишень, связанную с

20 CAR, или других клеточных ответов, запускаемых после связывания антигена с внеклеточным доменом CAR.

Необязательный линкер CAR, расположенный между внеклеточным доменом и трансмембранным доменом, может представлять собой полипептид длиной от около 2 до около 100 аминокислот. Линкер может включать в себя

25 гибкие остатки, такие как глицин и серин, или состоять из них, так что смежные домены белка могут свободно перемещаться относительно друг друга. Можно применять более длинные линкеры, если желательно обеспечить, чтобы два смежных домена не создавали стерических помех друг для друга. Линкеры могут быть расщепляемыми или нерасщепляемыми. К примерам расщепляемых линкеров относятся линкеры 2A (например, T2A), 2A-подобные линкеры или их

30 функциональные эквиваленты, а также их комбинации. Линкер также может быть получен из шарнирной области или части шарнирной области любого иммуноглобулина.

К примерам CAR, которые могут применяться, относится, например, CAR, содержащий внеклеточный домен, который связывает неоантиген предстательной

железы согласно изобретению, трансмембранный домен CD8 и сигнальный домен CD3 ζ . К другим примерам CAR относится внеклеточный домен, который связывает неоантиген предстательной железы согласно изобретению, трансмембранный домен CD8 или CD28, костимулирующий домен CD28, 41BB или OX40 и

5 сигнальный домен CD3 ζ .

CAR получают с помощью стандартных методов молекулярной биологии. Внеклеточный домен, который связывает нужный антиген, может быть получен из антител или их антигенсвязывающих фрагментов, полученных с применением технологий, описанных в настоящем документе.

10

Клинические результаты

В некоторых вариантах осуществления субъект, получающий лечение способами, предложенными в настоящем документе, имеет частичный ответ (PR) или более хороший ответ. В некоторых вариантах осуществления субъект,

15 получающий лечение способами, предложенными в настоящем документе, имеет очень хороший частичный ответ (VGPR) или более хороший ответ. В некоторых вариантах осуществления субъект, получающий лечение способами, предложенными в настоящем документе, имеет полный ответ (CR) или более хороший ответ. В некоторых вариантах осуществления субъект, получающий

20 лечение способами, предложенными в настоящем документе, имеет строгий полный ответ (sCR) или более хороший ответ. В некоторых вариантах осуществления PR, VGPR, CR и sCR соответствуют определениям критериев IMWG 2016. В некоторых вариантах осуществления PR определяется как более чем 50% снижение содержания М-белка в сыворотке и снижение уровня М-белка в

25 моче в течение 24 часов на $> 90\%$ или до < 200 мг/24 часа. В некоторых вариантах осуществления VGPR определяется как уровень М-белка в сыворотке и моче, определяемый иммунофиксацией, но не с помощью электрофореза, или $> 90\%$ снижение уровня М-белка в сыворотке и М-белка в моче < 100 мг/24 часа. В некоторых вариантах осуществления CR определяется как отрицательный

30 результат иммунофиксации в сыворотке и моче и исчезновение любых плазмочитом мягких тканей и $< 5\%$ плазматических клеток в костном мозге. В некоторых вариантах осуществления в качестве определения sCR используется определение CR, как указано выше, плюс нормальное соотношение FLC и

отсутствие клональных клеток в костном мозге, определенное с помощью иммуногистохимии или иммунофлуоресценции.

В некоторых вариантах осуществления лечение с помощью способов, предложенных в настоящем документе, приведет к активации Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления активация Т-клеток приводит к увеличению по меньшей мере одного из CD25, PD-1, CD38 на Т-клетках CD4+, CD38 на Т-клетках CD8+ или любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления активация Т-клеток приводит к увеличению CD25. В некоторых вариантах осуществления активация Т-клеток приводит к увеличению PD-1. В некоторых вариантах осуществления активация Т-клеток приводит к увеличению CD38 на Т-клетках CD4+. В некоторых вариантах осуществления активация Т-клеток приводит к увеличению CD38 на Т-клетках CD8+. В некоторых вариантах осуществления лечение с помощью способов, предложенных в настоящем документе, приведет к увеличению частоты по меньшей мере одного из CD38+ CD8+ Т-клеток, CD38+ CD4+ Т-клеток, регуляторных Т-клеток или любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления лечение с помощью способов, предложенных в настоящем документе, приведет к увеличению частоты CD38+ CD8+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления лечение с помощью способов, предложенных в настоящем документе, приведет к увеличению частоты CD38+ CD4+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления лечение с помощью способов, предложенных в настоящем документе, приведет к увеличению частоты регуляторных Т-клеток.

В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, приводят к повышенной активности или приводят к повышенной эффективности компонентов способа при введении в виде монотерапии. В некоторых вариантах осуществления лечение с помощью способов, предложенных в настоящем документе, приводит к повышению активности биспецифического антитела GPRC5DxCD3 по сравнению с лечением без антитела к CD38. В некоторых вариантах осуществления лечение с помощью способов, предложенных в настоящем документе, приводит к повышению активности антитела к CD38 по сравнению с лечением без биспецифического антитела GPRC5DxCD3.

Пронумерованные варианты осуществления

В настоящем описании также предложены следующие пронумерованные варианты осуществления:

1. Способ лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включающий:
 - 5 (1) введение субъекту биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в дозе от 60 мкг/кг до 1200 мкг/кг каждые 1–2 недели и
 - (2) подкожное введение субъекту антитела к CD38 в дозе от 1200 мг до 2400 мг каждые 1–4 недели.
- 1a. Способ лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включающий:
 - 10 (1) внутривенное введение субъекту биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в дозе от 60 мкг/кг до 1200 мкг/кг каждые 1–2 недели и
 - (2) подкожное введение субъекту антитела к CD38 в дозе от 1200 мг до 2400 мг каждые 1–4 недели.
- 1a1. Способ по варианту осуществления 1a, в котором биспецифическое антитело
15 GPRC5DxCD3 вводят субъекту внутривенно в дозе 60 мкг/кг еженедельно.
- 1a2. Способ по варианту осуществления 1a или 1a1, в котором антитело к CD38 вводят подкожно в дозе 1800 мг еженедельно, один раз в две недели, один раз в три недели или один раз в четыре недели.
- 1a3. Способ по варианту осуществления 1a1, в котором антитело к CD38 вводят
20 подкожно в дозе 1800 мг один раз в неделю в течение периода лечения с недели 1 по неделю 8, один раз в две недели в течение периода лечения с недели 9 по неделю 24 и один раз в четыре недели после недели 24 лечения.
2. Способ по варианту осуществления 1, включающий:
 - 25 (1) подкожное введение субъекту биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в дозе от 300 мкг/кг до 1200 мкг/кг каждые 1–2 недели и
 - (2) подкожное введение субъекту антитела к CD38 в дозе от 1600 мг до 2000 мг каждые 1–4 недели.
3. Способ по варианту осуществления 2, дополнительно включающий подкожное введение субъекту биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в дозе, меньшей,
30 чем доза, применяемая на стадии (1), перед стадией (1).
- 3a. Способ по варианту осуществления 3, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 в дозе, меньшей, чем доза, применяемая на стадии (1), вводят субъекту подкожно после первоначального введения антитела к CD38, предпочтительно биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 в дозе, меньшей,

чем доза, применяемая на стадии (1), первоначально вводят по меньшей мере через 20 часов после первоначального введения антитела к CD38.

- 3b. Способ по варианту осуществления 3 или 3а, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят субъекту подкожно в дозе от 5 до 100 мкг/кг, такой как 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или 100 мкг/кг или любая промежуточная доза, до первоначального подкожного введения 400 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 на стадии (1).
- 3с. Способ по варианту осуществления 3b, в котором вводят по меньшей мере две повышающие дозы GPRC5DxCD3, предпочтительно первую повышающую дозу вводят в день 2 лечения, а вторую повышающую дозу вводят в день 4 лечения.
- 3d. Способ по варианту осуществления 3с, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят субъекту подкожно в дозе 10 мкг/кг, например, в день 2 лечения, и в дозе 60 мкг/кг, например, в день 4 лечения, до первоначального подкожного введения 400 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 на стадии (1).
- 3е. Способ по любому из вариантов осуществления 3–3d, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят субъекту подкожно в дозе от 5 до 350 мкг/кг, такой как 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300 или 350 мкг/кг или любая промежуточная доза, до первоначального подкожного введения 800 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 на стадии (1).
- 3f. Способ по варианту осуществления 3е, в котором вводят по меньшей мере три повышающие дозы GPRC5DxCD3, предпочтительно первую повышающую дозу вводят в день 2 лечения, вторую повышающую дозу вводят в день 4 лечения, а третью повышающую дозу вводят в день 8 лечения.
- 3g. Способ по варианту осуществления 3f, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят субъекту подкожно в дозе 10 мкг/кг, например, в день 2 лечения, в дозе 60 мкг/кг, например, в день 4 лечения, и в дозе 300 мкг/кг, например, в день 8 лечения, до первоначального подкожного введения 800 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 на стадии (1).
4. Способ по любому из вариантов осуществления 2–3g, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят субъекту подкожно в дозе 300 мкг/кг, 400 мкг/кг, 450 мкг/кг, 500 мкг/кг, 550 мкг/кг, 600 мкг/кг, 700 мкг/кг,

750 мкг/кг, 800 мкг/кг, 850 мкг/кг, 900 мкг/кг, 950 мкг/кг, 1000 мкг/кг, 1050 мкг/кг, 1200 мкг/кг или любой промежуточной дозе один раз в неделю или один раз в две недели.

- 5 4а. Способ по варианту осуществления 4, в котором биспецифическое антитело GPRC5D \times CD3 вводят субъекту подкожно в дозе 300 мкг/кг, 400 мкг/кг, 450 мкг/кг, 500 мкг/кг, 550 мкг/кг, 600 мкг/кг, 700 мкг/кг, 750 мкг/кг, 800 мкг/кг, 850 мкг/кг, 900 мкг/кг, 950 мкг/кг, 1000 мкг/кг, 1050 мкг/кг или 1200 мкг/кг один раз в неделю.
- 10 4б. Способ по варианту осуществления 4, в котором биспецифическое антитело GPRC5D \times CD3 вводят субъекту подкожно в дозе 300 мкг/кг, 400 мкг/кг, 450 мкг/кг, 500 мкг/кг, 550 мкг/кг, 600 мкг/кг, 700 мкг/кг, 750 мкг/кг, 800 мкг/кг, 850 мкг/кг, 900 мкг/кг, 950 мкг/кг, 1000 мкг/кг, 1050 мкг/кг или 1200 мкг/кг один раз в две недели.
- 15 5. Способ по варианту осуществления 4, в котором биспецифическое антитело GPRC5D \times CD3 вводят субъекту подкожно в дозе 400 мкг/кг один раз в неделю, или 400 мкг/кг один раз в две недели, или 800 мкг/кг один раз в две недели.
6. Способ по варианту осуществления 5, в котором биспецифическое антитело GPRC5D \times CD3 вводят субъекту подкожно в дозе 400 мкг/кг один раз в неделю.
- 20 6а. Способ по варианту осуществления 5, в котором биспецифическое антитело GPRC5D \times CD3 вводят субъекту подкожно в дозе 400 мкг/кг один раз в две недели.
- 6б. Способ по варианту осуществления 5, в котором биспецифическое антитело GPRC5D \times CD3 вводят субъекту подкожно в дозе 400 мкг/кг один раз в две недели или 800 мкг/кг один раз в две недели.
- 25 6с. Способ по варианту осуществления 5, в котором биспецифическое антитело GPRC5D \times CD3 вводят субъекту подкожно в дозе 800 мкг/кг один раз в две недели.
- 30 6д. Способ по варианту осуществления 5, в котором биспецифическое антитело GPRC5D \times CD3 вводят субъекту подкожно в дозе 400 мкг/кг один раз в неделю в течение первых 8 недель с последующим введением биспецифического антитела GPRC5D \times CD3 в дозе 800 мкг/кг один раз в две недели.
- 6е. Способ по варианту осуществления 5, в котором биспецифическое антитело GPRC5D \times CD3 вводят субъекту подкожно в дозе 400 мкг/кг один раз в неделю в

течение 8 недель с последующим введением биспецифического антитела GPRC5DхCD3 в дозе 400 мкг/кг один раз в две недели.

- 5 7. Способ по любому из вариантов осуществления 1–6е, в котором антитело к CD38 антитело вводят подкожно субъекту в дозе 1800 мг один раз в неделю в течение периода лечения с недели 1 по неделю 8, один раз в две недели в течение периода лечения с недели 9 по неделю 24 и один раз в четыре недели после недели 24 лечения.
- 7а. Способ по любому из вариантов осуществления 1–6е, в котором антитело к CD38 вводят подкожно субъекту в дозе 1800 мг один раз в неделю.
- 10 7б. Способ по любому из вариантов осуществления 1–6е, в котором антитело к CD38 вводят подкожно субъекту в дозе 1800 мг один раз в две недели.
- 7с. Способ по любому из вариантов осуществления 1–6е, в котором антитело к CD38 вводят подкожно субъекту в дозе 1800 мг один раз в три недели.
- 7д. Способ по любому из вариантов осуществления 1–6е, в котором антитело к CD38 вводят подкожно субъекту в дозе 1800 мг один раз в четыре недели.
- 15 8. Способ по любому из вариантов осуществления 1–7д, в котором антитело к CD38 вводят или обеспечивают для введения вместе с гHuPH20, например около 30 000 ед. гHuPH20.
- 8а. Способ по любому из вариантов осуществления 1–7д, дополнительно включающий введение субъекту гHuPH20 для уменьшения требуемого объема инъекции, облегчающий подкожное введение антитела к CD38.
- 20 8б. Способ по варианту осуществления 8а, в котором гHuPH20 вводят подкожно вместе с антителом к CD38.
- 8с. Способ по варианту осуществления 8а, в котором гHuPH20 вводят подкожно отдельно от антитела к CD38.
- 25 8д. Способ по любому из вариантов осуществления 8а–8д, в котором гHuPH20 вводят подкожно в дозе 10 000–50 000 ед., такой как 10 000, 20 000, 30 000, 40 000 или 50 000 ед. или любая промежуточная доза.
- 8е. Способ по любому из вариантов осуществления 8а–8д, в котором гHuPH20 вводят подкожно в дозе 30 000 ед.
- 30 8д. Способ по любому из вариантов осуществления 8–8е, в котором гHuPH20 и антитело к CD38 вводят вместе в одной и той же фармацевтической композиции.

9. Способ по любому из вариантов осуществления 1–8d, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит:

- 5 (i) GPRC5D-связывающий домен, содержащий переменную область тяжелой цепи (VH), имеющую определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) HCDR1, HCDR2 и HCDR3 аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28 и SEQ ID NO: 29 соответственно, и переменную область легкой цепи (VL), имеющую определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR) LCDR1, LCDR2 и LCDR3 аминокислотных последовательностей с SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32 соответственно, и
- 10 (j) CD3-связывающий домен, содержащий VH, имеющую HCDR1, HCDR2 и HCDR3 аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 и SEQ ID NO: 19 соответственно, и VL, имеющую LCDR1, LCDR2 и LCDR3 аминокислотных последовательностей с SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 22 соответственно.

9a. Способ по варианту осуществления 9, в котором GPRC5D-связывающий домен содержит VH, имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 33, и VL, имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 34; причем CD3-связывающий домен содержит VH, имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 23, и VL, имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 24.

20

10. Способ по варианту осуществления 9a, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит первую тяжелую цепь (HC1), имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 35, первую легкую цепь (LC1), имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 36, вторую тяжелую цепь (HC2), имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 25, и вторую легкую цепь (LC2), имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 26.

25

11. Способ по любому из вариантов осуществления 1–8d, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит талкветамаб (также называемый JNJ-564 или JNJ-64407564), биспецифическое антитело GPRC5DxCD3, описанное в Kodama et al. *Mol Cancer Ther.* 2019. 18(9): 1555–1564, или биспецифическое антитело, в котором применяется связывающий домен GPRC5D человека, описанный в патентах США № 10,590,196, 10,906,956

30

или WO2020/092854, или связывающий домен GPRC5D, который конкурирует с талкветамабом или указанным связывающим доменом GPRC5D за связывание с GPRC5D человека.

- 11a. Способ по любому из вариантов осуществления 1–8d, в котором
5 биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит антигенсвязывающий фрагмент, такой как фрагмент Fab, F(ab')₂, Fd или Fv.
- 11b. Способ по любому из вариантов осуществления 1–8d, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 является химерным, гуманизированным или человеческим.
- 10 11c. Способ по любому из вариантов осуществления 1–8d, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 относится к изотипу IgG1, IgG2 и IgG3 или IgG4.
- 11d. Способ по любому из вариантов осуществления 1–8d, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 относится к изотипу IgG4.
- 15 12. Способ по любому из вариантов осуществления 1–11d, в котором антитело к CD38 содержит VH, имеющую HCDR1, HCDR2 и HCDR3 аминокислотных последовательностей с SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 и SEQ ID NO: 9 соответственно, и VL, имеющую LCDR1, LCDR2 и LCDR3 аминокислотных последовательностей с SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12
20 соответственно.
- 12a. Способ по любому из вариантов осуществления 1–11d, в котором антитело к CD38 содержит а) VH с SEQ ID NO: 38 и VL с SEQ ID NO: 39; б) VH с SEQ ID NO: 40 и VL с SEQ ID NO: 41; в) VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 43 или д) VH с SEQ ID NO: 44 и VL с SEQ ID NO: 45.
- 25 12b. Способ по любому из пп. 1–11d, в котором антитело к CD38 содержит VH, имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 5, и VL, имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 6.
13. Способ по любому из вариантов осуществления 1–11d, в котором антитело к CD38 выбрано из группы, состоящей из mAb003, описанного в патенте США № 7,829,673; mAb024, описанного в патенте США № 7,829,673; MOR-202 (MOR-03087), описанного в патенте США № 8,088,896; или изатуксимаба, описанного в патенте США № 8,153,765, и даратумумаба.
- 30 13a. Способ по любому из вариантов осуществления 1–11d, в котором антитело к CD38 содержит HC с SEQ ID NO: 13 и LC с SEQ ID NO: 14.

- 13b. Способ по любому из вариантов осуществления 1–11d, в котором антитело к CD38 является химерным, гуманизированным или человеческим.
- 13c. Способ по любому из вариантов осуществления 1–11d, в котором антитело к CD38 относится к изотипу IgG1, IgG2 и IgG3 или IgG4.
- 5 13d. Способ по любому из вариантов осуществления 1–11a, в котором антитело к CD38 относится к изотипу IgG1.
- 13e. Способ по любому из вариантов осуществления 1–13d, в котором биспецифическое антитело GPRC5DхCD3 и/или антитело к CD38 содержат одну или более замен Fc, описанных в настоящем документе.
- 10 13f. Способ по варианту осуществления 13e, в котором Fc-замена выбрана из группы, состоящей из F234A/L235A на IgG4, L234A/L235A на IgG1, V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S на IgG2, F234A/L235A на IgG4, S228P/F234A/L235A на IgG4, N297A на всех изотипах Ig, V234A/G237A на IgG2, K214T/E233P/L234V/L235A/G236-
- 15 делеции/A327G/P331A/D365E/L358M на IgG1, H268Q/V309L/A330S/P331S на IgG2, S267E/L328F на IgG1, L234F/L235E/D265A на IgG1, L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S на IgG1, S228P/F234A/L235A/G237A/P238S на IgG4 и S228P/F234A/L235A/G236-
- 20 делеции/G237A/P238S на IgG4, причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.
- 13g. Способ по варианту осуществления 13e, в котором замена Fc выбрана из группы, состоящей из:
- (1) F234A/L235A на IgG4;
- (2) L234A/L235A на IgG1;
- 25 (3) V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S на IgG2;
- (4) F234A/L235A на IgG4;
- (5) S228P/F234A/L235A на IgG4;
- (6) N297A на всех изотипах Ig;
- (7) V234A/G237A на IgG2;
- 30 (8) K214T/E233P/L234V/L235A/G236-делеция/A327G/P331A/D365E/L358M на IgG1;
- (9) H268Q/V309L/A330S/P331S на IgG2;
- (10) S267E/L328F на IgG1;
- (11) L234F/L235E/D265A на IgG1;

(12) L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S на IgG1;

(13) S228P/F234A/L235A/G237A/P238S на IgG4 и S228P/F234A/L235A/G236-
делеция/G237A/P238S на IgG4 и/или

(14) замена S228P.

- 5 13h. Способ по любому из вариантов осуществления 1–13e, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит одну или более асимметричных замен в первом домене CH3, или во втором домене CH3, или как в первом домене CH3, так и во втором домене CH3.
- 10 13i. Способ по варианту осуществления 13h, в котором одна или более асимметричных замен выбраны из группы, состоящей из F450L/K409R, дикого типа/F409L_R409K, T366Y/F405A, T366W/F405W, F405W/Y407A, T394W/Y407T, T394S/Y407A, T366W/T394S, F405W/T394S и T366W/T366S_L368A_Y407V, L351Y_F405A_Y407V/T394W, T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V, T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V, 15 L351Y_Y407A/T366A_K409F, L351Y_Y407A/T366V_K409F, Y407A/T366A_K409F и T350V_L351Y_F405A_Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W.
- 20 13j. Способ по любому из вариантов осуществления 1–13e, в котором биспецифическое антитело к GPRC5DxCD3 относится к изотипу IgG4 и содержит фенилаланин в положении 405 и аргинин в положении 409 в первой тяжелой цепи (HC1), а также лейцин в положении 405 и лизин в положении 409 во второй тяжелой цепи (HC2), причем нумерация остатков соответствует индексу ЕС.
- 25 13k. Способ по варианту осуществления 13j, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 дополнительно содержит пролин в положении 228, аланин в положении 234 и аланин в положении 235 как в HC1, так и в HC2.
14. Способ по любому из вариантов осуществления 1–13k, в котором рак представляет собой гематологическую злокачественную опухоль или солидную опухоль.
- 30 14a. Способ по варианту осуществления 14, в котором гематологическая злокачественная опухоль представляет собой множественную миелому, вялотекущую множественную миелому, моноклональную гаммапатию неясного генеза (МГНГ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), лимфому Беркитта (ЛБ), фолликулярную

- лимфому (ФЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), макроглобулинемию Вальденстрема, плазмноклеточный лейкоз, амилоидоз легкой цепи (АЛЦ), В-клеточный лимфобластный лейкоз из клеток-предшественников, острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), миелодиспластический синдром (МДС),
- 5 хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), злокачественную В-клеточную опухоль, хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), лейкоз ворсистых клеток (ЛВК), бластную плазмоцитоидную дендритноклеточную опухоль, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, В-клеточную лимфому маргинальной зоны (ЛМЗ), лимфому лимфоидной ткани слизистых оболочек (MALT),
- 10 плазмноклеточный лейкоз, анапластическую крупноклеточную лимфому (АККЛ), лейкоз или лимфому.
- 14b. Способ по варианту осуществления 14а, в котором гематологическая злокачественная опухоль представляет собой множественную миелому.
- 14с. Способ по варианту осуществления 14b, в котором множественная миелома
- 15 представляет собой впервые диагностированную множественную миелому.
- 14d. Способ по варианту осуществления 14b, в котором множественная миелома представляет собой рецидивирующую или рефрактерную множественную миелому (RRMM).
- 14е. Способ по варианту осуществления 14b, в котором множественная миелома
- 20 представляет собой множественную миелому высокого риска.
- 14f. Способ по варианту осуществления 14b, в котором субъект с множественной миеломой высокого риска имеет одну или более хромосомных аномалий, включающих в себя: $t(4;14)(p16;q32)$, $t(14;16)(q32;q23)$, $del17p$, $1qAmp$, $t(4;14)(P16;q32)$ и $t(14;16)(q32;q23)$, $t(4;14)(p16;q32)$ и $del17p$, $t(14;16)(q32;q23)$ и
- 25 $del17p$ или $t(4;14)(P16;q32)$, $t(14;16)(q32;q23)$ и $del17p$ или любую их комбинацию.
- 14g. Способ по любому из вариантов осуществления 1–14f, в котором рак представляет собой множественную миелому, которая является рецидивирующей или рефрактерной к лечению.
- 30 14h. Способ по варианту осуществления 14g, в котором рак включает в себя множественную миелому, которая является рецидивирующей или рефрактерной к лечению антителом к CD38, леналиномидом, бортезомибом, помалидомидом, карфилзомибом, изатуксимабом, элутузумабом, иксазомибом, мелфаланом или талидомидом или любой их комбинацией.

- 14i. Способ по любому варианту осуществления 1–14, в котором рак включает в себя ОМЛ.
- 14j. Способ по варианту осуществления 14i, в котором ОМЛ представляет собой ОМЛ с по меньшей мере одной генетической аномалией, ОМЛ с мультилинейной дисплазией, связанный с терапией ОМЛ, недифференцированный ОМЛ, ОМЛ с минимальным созреванием, ОМЛ с созреванием, острый миеломоноцитарный лейкоз, острый моноцитарный лейкоз, острый эритроидный лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, острый базофильный лейкоз, острый панмиелоз с фиброзом или миелоидную саркому.
- 10 14k. Способ по любому из вариантов осуществления 1–14, в котором рак включает в себя любой GPRC5D-экспрессирующий рак, такой как множественная миелома, вялотекущая миелома, моноклональная гаммапатия неясного генеза (МГНГ), В-клеточный острый лимфобластный лейкоз, диффузная В-крупноклеточная лимфома, лимфома Беркитта, фолликулярная лимфома, 15 мантийноклеточная лимфома, макроглобулинемия Вальденстрема, плазмоклеточный лейкоз, амилоидоз легких цепей или неходжкинская лимфома.
- 14l. Способ по любому из вариантов осуществления 1–14, в котором у субъекта имеется рецидив или рефрактерность к лечению антителом к CD38, или 20 леналиномидом, или любой их комбинацией.
- 14m. Способ по любому варианту осуществления 1–14, причем у субъекта наблюдается рецидив или рефрактерность к лечению препаратами THALOMID[®] (талидомид), REVLIMID[®] (леналидомид), POMALYST[®] (помалидомид), VELCADE[®] (бортезомиб), NINLARO (иксазомиб), KYPROLIS[®] 25 (карфилзомиб), FARADYK[®] (панобиностат), AREDIA[®] (памидронат), ZOMETA[®] (золедроновая кислота), DARZALEX[®] (даратумумаб), Empliciti[®] (элотузумаб), SARCLISA[®] (изатуксимаб) или Alkeran[®] (мелфалан).
- 14n. Способ по любому из вариантов осуществления 1–14, в котором у субъекта наблюдается рецидив при лечении DARZALEX[®] (даратумумаб).
- 30 15. Способ лечения множественной миеломы у субъекта, нуждающегося в этом, включающий:
- (1) подкожное введение субъекту по меньшей мере одного из 400 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 еженедельно или 800 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 один раз в две недели и

- (2) подкожное введение субъекту 1800 мг антитела к CD38 один раз в неделю в течение периода лечения с недели 1 по неделю 8, один раз в две недели в течение периода лечения с недели 9 по неделю 24 и один раз в четыре недели после недели 24 лечения,
- 5 причём биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит первую тяжёлую цепь (HC1) с SEQ ID NO: 35, первую лёгкую цепь (LC1) с SEQ ID NO: 36, вторую тяжёлую цепь (HC2) с SEQ ID NO: 25 и вторую лёгкую цепь (LC2) с SEQ ID NO: 26, и при этом антитело к CD38 содержит HC с SEQ ID NO: 13 и LC с SEQ ID NO: 14.
- 10 16. Способ по варианту осуществления 15, дополнительно включающий подкожное введение субъекту от 10 до 300 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 до первоначального подкожного введения 400 мкг/кг или 800 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3.
- 15 17. Способ по любому из вариантов осуществления 14–16, в котором субъект получил по меньшей мере одно предшествующее лечение множественной миеломы, предпочтительно у субъекта наблюдается рецидив или рефрактерность к по меньшей мере одному предшествующему лечению, более предпочтительно предшествующее лечение включает в себя по меньшей мере одно из ингибитора протеасом (ИП) и иммуномодулирующего препарата (IMiD).
- 20 18. Способ по варианту осуществления 17, в котором у субъекта наблюдается рефрактерность или рецидив по отношению к лечению, выбранному из группы, состоящей из антитела к CD38, леналидомида, бортезомиба, помалидомида, карфилзомиба, элутузумаба, иксазомиба, изатуксимаба, мелфалана и
- 25 талидомида или любой их комбинации, причём предпочтительно у субъекта наблюдается рефрактерность к леналидомиду.
19. Способ по любому из вариантов осуществления 1–18, дополнительно включающий введение субъекту другого лечения, такого как помалидомид и/или дексаметазон.
- 30 20. Способ по любому из вариантов осуществления 1–19, в котором лечение приводит к активации Т-клеток, такой как увеличение по меньшей мере одного из CD25, PD-1, CD38 на Т-клетках CD4+ и CD8+.

21. Способ по любому из вариантов осуществления 1–19, в котором лечение приводит к увеличению частоты по меньшей мере CD38+ CD8+ Т-клеток, CD38+ CD4+ Т-клеток и Т-регуляторных Т-клеток.
- 5 22. Способ по любому из вариантов осуществления 1–19, в котором лечение приводит к повышению активности биспецифического антитела GPRC5DxCD3 по сравнению с лечением без антитела к CD38.
23. Способ по любому из вариантов осуществления 1–19, в котором лечение приводит к повышению активности антитела к CD38 по сравнению с лечением без биспецифического антитела GPRC5DxCD3.
- 10 24. Биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 для применения при лечении рака у субъекта, нуждающегося в этом, с применением способа по любому из вариантов осуществления 1–23.
25. Антитело к CD38 для применения при лечении рака у субъекта, нуждающегося в этом, с применением способа по любому из вариантов осуществления 1–23.
- 15 26. Комбинация биспецифического антитела GPRC5DxCD3 и антитела к CD38 для применения при лечении рака у субъекта, нуждающегося в этом, с применением способа по любому из вариантов осуществления 1–23.
27. Применение биспецифического антитела GPRC5DxCD3 при получении лекарственного препарата для лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, с применением способа по любому из вариантов осуществления 1–23.
- 20 28. Применение антитела к CD38 при получении лекарственного препарата для лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, с применением способа по любому из вариантов осуществления 1–23.
29. Применение комбинации биспецифического антитела GPRC5DxCD3 и антитела к CD38 при получении лекарственного препарата для лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, с применением способа по любому из вариантов осуществления 1–23.
- 25 30. Набор, содержащий биспецифическое антитело GPRC5DxCD3, антитело к CD38 и инструкцию по применению антител для лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, с применением способа по любому из вариантов осуществления 1–23.
- 30

Хотя изобретение описано в общих чертах, варианты осуществления изобретения будут дополнительно описаны в следующих примерах, которые не следует толковать как ограничивающие объем формулы изобретения.

ПРИМЕРЫ

Представленные ниже примеры приведены для дополнительного описания некоторых из описанных в настоящем документе вариантов осуществления. Целью 5 примеров является иллюстрация, а не ограничение описанных вариантов осуществления.

Общие способы и материалы

Антитела и реагенты

10 Антитело к GPRC5D/CD3 JNJ-564 (также называемое JNJ-64407564, талкветамаб) и даратумумаб были произведены компанией Janssen Pharmaceuticals. 3930 (изотипический контроль IgG), контроль GPFC5DxNull и 7008 (контроль NullxCD3) были произведены компанией Janssen Pharmaceuticals и применялись в качестве контрольных антител.

15 JNJ-564 содержит CD3-связывающее плечо CD3B219 и GPRC5D-связывающее плечо GC5B596, аминокислотные последовательности которых представлены в таблице 8a и таблице 8b соответственно.

Клетки костного мозга и мононуклеарные клетки периферической крови

20 Мононуклеарные клетки периферической крови (МНК ПК), полученные от здоровых доноров и пациентов с ММ, и мононуклеарные клетки костного мозга (МНК КМ), полученные из аспириатов КМ от пациентов с ММ, выделяли путем центрифугирования в градиенте плотности с фиколлом и гипаком.

Анализ методом проточной цитометрии проб костного мозга и крови пациентов с ММ

25 Локализованные в КМ клетки ММ идентифицировали и анализировали на уровни экспрессии маркеров клеточной поверхности путем окрашивания $1,0 \times 10^6$ клеток/мл NuMax-003 (CD38) FITC (это антитело связывается с эпитопом, отличным от эпитопа, связанного даратумумабом, производства компании Janssen Pharmaceuticals), CD138 PE, CD56 PC7, CD45 Krome Orange (все производства 30 компании Beckman Coulter), CD269 (BCMA) APC (производства компании Biolegend), CD274 (PD-L1) BV421 и CD19 APC-H7 (оба производства компании Becton Dickinson). Подмножества иммунных клеток КМ или ПК были идентифицированы и проанализированы на предмет уровней экспрессии маркеров клеточной поверхности путем окрашивания $1,0 \times 10^6$ клеток/мл с помощью CD45

Krome Orange, CD56 PC7 (оба — Beckman Coulter), CD14 APC-H7, CD19 APC-H7, CD3 V450, CD4 APC-H7 или PE, CD8 FITC, CD45-RA APC, CD127 PE.Cy7, CD62L PE, CD274 (PD-1) BV421, CD16 APC, HLA-DR APC-H7 (все — Becton Dickinson) и CD25 PE (Dako) или с CD4 BUV395 (BD Biosciences), CD8 BUV737 (BD Biosciences), PD-1 BV421 (BD Biosciences), TIM-3 BV650 (BD Biosciences), CD3 BV711 (BD Biosciences), CD45RO BV786 (BD Biosciences), CD38 Humab-003-FITC (Janssen), CD45RA PerCP-Cy5.5 (BD Biosciences), HLA-DR PE (BD Biosciences), LAG-3 PE-eF610 (ThermoFisher), CD25 PE-Cy7 (BD Biosciences), CCR7 AF647 (BD Biosciences), CD127 APC-eF780 (ThermoFisher). Все пробы КМ анализировали в течение 24 часов с момента сбора пробы.

Проточную цитометрию выполняли с применением анализатора LSRFORTESSA с 7 лазерами (производства компании Becton Dickinson). Меченные флуоресцентным красителем гранулы (гранулы CS&T, Becton Dickinson) ежедневно применяли для мониторинга эффективности проточного цитометра и контроля оптического пути и скорости потока. Эта процедура позволяет получать управляемые стандартизированные результаты, а также определять долговременные смещения и случайные изменения в проточном цитометре. Никаких изменений, которые могли бы повлиять на результаты, не наблюдалось. Для определения наложения спектров применяли компенсирующие гранулы, а компенсацию автоматически рассчитывали с помощью программного обеспечения Diva. Данные проточной цитометрии анализировали с применением программного обеспечения FACS Diva.

Цитогенетический анализ

Цитогенетические аномалии в очищенных клетках ММ оценивали по флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) и чипу однонуклеотидного полиморфизма (SNP). Заболевание высокого риска определялось наличием аномалий del(17p), del(1p), ampl(1q), t(4;14) или t(14;16)².

Мультиплексный анализ цитокинов

Цитокины [интерферон-гамма (ИФН- γ), интерлейкин (ИЛ)-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 и фактор некроза опухоли-альфа (ФНО- α)] в надосадочной жидкости клеточных культур анализировали с применением набора V-Plex proinflammatory Panel 1 Human Kit (Meso Scale Diagnostics) в соответствии с протоколом производителя.

Статистика

Сравнение между переменными проводили с применением двухстороннего (парного) *t*-критерия Стьюдента, *U*-критерия Манна — Уитни или знакового рангового критерия с сопряженными парами Уилкоксона, в случае если данные не соответствуют нормальному распределению. Корреляции между переменными осуществляли с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Значимыми считали *p*-значения ниже 0,05. В случае комбинаторного лечения JNJ-564 и даратумумабом рассчитывали ожидаемые значения лизиса для проверки нулевой гипотезы о наличии только кумулятивного эффекта между JNJ-564 и даратумумабом, применяя следующую формулу: % ожидаемого лизиса = (% лизиса с JNJ-564 + % лизиса с даратумумабом) – (% лизиса с JNJ-564 × % лизиса с даратумумабом). Нулевую гипотезу о «кумулятивных эффектах» отклоняли, если наблюдаемые значения были значительно выше ($P < 0,05$), чем ожидаемые значения.

Пример 1. Исследование фазы 1 талкветамба (JNJ-564), вводимого в комбинации с подкожным введением даратумумаба при рецидивирующей или рефрактерной множественной миеломе (RRMM) (TRIMM-2)

Было проведено открытое многоцентровое многокогортное исследование фазы 1b талкветамба в комбинации с подкожными (п/к) схемами дозирования даратумумаба, вводимого взрослым субъектам с множественной миеломой. Две комбинации лечения также включали в себя помалидомид (и сопутствующий дексаметазон в течение по меньшей мере начальных циклов). В комбинациях лечения, содержащих помалидомид, введение дексаметазона требовалось в течение первых 3 полных циклов, включающих в себя иммуномодулирующий препарат (IMiD), для усиления IMiD-опосредованного антимиеломного действия и в качестве премедикации для даратумумаба и талкветамба. Общая цель исследования заключалась в том, чтобы оценить безопасность даратумумаба в комбинации с талкветамбом, с помалидомидом или без него (и сопутствующим введением дексаметазоном по меньшей мере в начальных циклах), а также оценить предварительную противоопухолевую активность. Безопасность отслеживала группа оценки исследования (SET).

Цели и конечные точки

Таблица 10. Цели и конечные точки исследования фазы 1 талкветамба (JNJ-564), вводимого в комбинации с подкожным введением даратумумаба для лечения RRMM

Цели	Конечные точки
Первичные	
Часть 1. Идентифицировать RP2D для каждой комбинации лечения	Частота и выраженность ограничивающей дозу токсичности
Часть 2. Определить характеристики безопасности каждой RP2D для выбранной (-ых) комбинации (-ий) лечения	Частота и степень тяжести нежелательных явлений и серьезных нежелательных явлений
Вторичные	
<ul style="list-style-type: none"> ● Определить особенности фармакокинетики и фармакодинамики каждого исследуемого лечения 	<ul style="list-style-type: none"> ● Концентрации в сыворотке и фармакодинамические маркеры
<ul style="list-style-type: none"> ● Оценить иммуногенность каждого исследуемого лечения 	<ul style="list-style-type: none"> ● Наличие антител против лекарственных средств
<ul style="list-style-type: none"> ● Оценить противоопухолевую активность каждой комбинации лечения 	<ul style="list-style-type: none"> ● ORR ● Частота клинической эффективности (MR или лучше) ● Длительность и время до ответа
Поисковые	
<ul style="list-style-type: none"> ● Изучить взаимосвязи между фармакокинетикой, фармакодинамикой, профилем нежелательных явлений и клинической активностью ● Исследовать прогностические биомаркеры ответа или резистентности ● Исследовать иммуномодулирующую активность каждой комбинации лечения ● Оценить частоту MRD-отрицательного статуса ● Оценить PFS ● Оценить соотношение уровень воздействия — ответ 	

5 Сокращения: MR — минимальный ответ; MRD — минимальное остаточное заболевание. ORR — общая частота ответа; PFS — выживаемость без прогрессирования; RP2D — рекомендованная доза для фазы 2.

Дизайн исследования

Исследование проводили в 2 частях:

- часть 1: повышение дозы для определения RP2D для каждой комбинации лечения;
- 5 ● часть 2: фаза терапии достигнутой дозой при RP2D для выбранной (-ых) комбинации (-ий) лечения.

Схематический обзор части 1 и части 2 представлен на Фиг. 1. Были изучены следующие комбинации лечения:

- п/к даратумумаб и в/в талкветумаб;
- 10 ● п/к даратумумаб и п/к талкветумаб;
- п/к даратумумаб, п/к талкветумаб и помалидомид.

Часть 1 (часть с повышением дозы)

В части 1 (части с повышением дозы) все субъекты получали даратумумаб в утвержденной дозе при множественной миеломе. Субъекты, получавшие
15 помалидомид, получали его в утвержденной дозе или в более низкой модифицированной дозе в зависимости от обстоятельств. Схема дозирования В была одобрена для применения в исследовании, в котором дозирование с повышением дозы начинается в день 2 цикла 1. Для последующих когорт SET должна была определять схему дозирования с повышением дозы и лечебную дозу
20 на основе статистической модели с применением всех доступных данных по безопасности, фармакокинетике и фармакодинамике для выявления безопасных и переносимых RP2D. Повышающие и лечебные дозы, рассмотренные в этом исследовании, не должны были превышать те, которые ранее были подтверждены SET в исследованиях монотерапии талкветумабом. Соответствующую лечебную
25 дозу препарата планировалось вводить еженедельно в 28-дневных циклах после ступенчатого наращивания дозы; однако в когортах также исследовали другие схемы, включая введение один раз в две недели. По меньшей мере 30 субъектов подлежали оценке в части 1. Общее число включенных в исследование пациентов зависело от числа исследованных уровней доз, исследованных для идентификации
30 RP2D, и числа пациентов, включенных для получения каждого уровня дозы.

Часть 2 (фаза терапии достигнутой дозой)

RP2D для каждой комбинации лечения, выбранной для дальнейшего исследования в части 2 (NCT04108195CTX), должны были основываться на дозе, рекомендованной BLRM (моделью байесовской логистической регрессии) на

основе результатов из части 1. Кроме того, SET рассматривала все доступные данные по безопасности, фармакокинетике, фармакодинамике и эффективности для каждой комбинации лечения в части 1, прежде чем определять RP2D для этой комбинации лечения в части 2, если применимо. SET может выбрать 1 или более RP2D для каждой комбинации лечения. Приблизительно до 40 субъектов подлежали оценке для каждой RP2D для каждой комбинации лечения, выбранной для исследования в части 2.

Популяция субъектов

Исследование проводили с участием субъектов в возрасте ≥ 18 лет с множественной миеломой, которые получили по меньшей мере 3 предшествующих линии терапии, включая ингибитор протеасом (ИП) и IMiD, или имели заболевание с двойной рефрактерностью к ИП и IMiD. Были исключены субъекты, получавшие анти-CD38-терапию в течение ≤ 90 дней. Для субъектов, которые должны были быть включены в группу лечебной комбинации, включавшей в себя помалидомид, предшествующая терапия IMiD должна была включать в себя леналидомид.

Критерии включения и исключения для регистрации в исследовании субъектов описаны ниже. Были выполнены все критерии включения на момент проведения скрининга и перед первой дозой исследуемого лекарственного средства.

Критерии включения

Каждый субъект должен был удовлетворять всем из перечисленных ниже критериев для включения в исследование:

1. Возраст ≥ 18 лет.
2. Задokumentированный исходный диагноз множественной миеломы в соответствии с диагностическими критериями IMWG.
3. Соответствие одному из следующих пунктов:
 - Получал по меньшей мере 3 предшествующие линии терапии (см. определение ниже), включая ИП (≥ 2 цикла или 2 месяца лечения) и IMiD (≥ 2 цикла или 2 месяца лечения) в любом порядке во время лечения (за исключением субъектов, которые прекратили любое из этих вариантов лечения из-за тяжелой аллергической реакции в течение первых 2 циклов/месяцев).

- о Пройшел по меньшей мере 1 полный цикл лечения для каждой линии терапии, если прогрессирующее заболевание не было лучшим ответом на линию терапии.
- о Для предшествующих линий терапии без ИП и/или IMiD, чтобы соответствовать критериям по меньшей мере трех предшествующих линий терапии, субъект должен был пройти по меньшей мере 1 полный цикл или месяц лечения, если прогрессирование заболевания не было лучшим ответом на линию терапии, или если субъект не прекратил лечение из-за нежелательной реакции; или
- Заболевание, которое демонстрирует двойную рефрактерность к ИП и IMiD. Для субъектов, которые получали более 1 типа ИП, заболевание должно было быть рефрактерным к последнему получаемому варианту лечения. Аналогичным образом, для тех, кто получал более 1 типа IMiD, заболевание должно было быть рефрактерным к последнему получаемому варианту лечения.

Примечание. Субъект должен был иметь задокументированные доказательства прогрессирующего заболевания, основанные на определении исследователем ответа по критериям IMWG 2016 в соответствии с определениями Kumar et al. 2016 (Lancet Oncol. 2016;17(8):e328–346) через или в течение 12 месяцев после их последней линии терапии. Подтверждение может быть получено в результате централизованного или местного тестирования. Кроме того, для участия подходят субъекты с документально подтвержденными доказательствами прогрессирования заболевания в течение предыдущих 6 месяцев и демонстрирующие рефрактерность или не отвечающие на их последнюю линию терапии после этого. Для субъектов, которые должны быть включены в группу лечебной комбинации, включавшей в себя помалидомид, предшествующая терапия IMiD должна была включать в себя леналидомид. Одиночная линия терапии может состоять из 1 или более агентов и может включать в себя индукцию, трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток и поддерживающую терапию. В частности, линия терапии состоит из ≥ 1 полного цикла одного агента, схемы, состоящей из комбинации нескольких препаратов, или запланированной последовательной терапии различных схем (например, 3–6

циклов начальной терапии бортезомибом/дексаметазоном с последующей трансплантацией стволовых клеток, закрепляющим лечением и поддержанием леналидомида считаются 1 линией).

5 Радиотерапия, бисфосфонат или однократный короткий курс стероидов (т. е. меньший или равный эквиваленту дексаметазона 40 мг/сутки в течение 4 дней) не будут рассматриваться в качестве предшествующих линий терапии.

4. Поддающееся измерению заболевание на момент скрининга, определяемое как любое из следующих состояний:

- 10
- уровень моноклонального белка (М-белка) в сыворотке $\geq 1,0$ г/дл (при миеломе без IgG уровень М-белка $\geq 0,5$ г/дл); или
 - уровень М-белка в моче ≥ 200 мг/24 ч; или
 - множественная миелома легких цепей: концентрация свободных легких цепей Ig в сыворотке (FLC) ≥ 10 мг/дл и ненормальное соотношение FLC Ig каппа и лямбда.
- 15

5. Оценка общего состояния по шкале Восточной объединенной группы онкологов (ECOG) 0 или 1 при скрининге и в день 1 цикла 1 до введения дозы.

6. Клинические лабораторные показатели, соответствующие следующим критериям до введения даратумамаба в день 1 цикла 1:

20 **Таблица 11. Критерии клинических лабораторных показателей**

Гематология	
Гемоглобин	$\geq 8,0$ г/дл (≥ 5 ммоль/л) (без переливания эритроцитов в предыдущие 7 дней; было разрешено применение рекомбинантного эритропоэтина человека)
Тромбоциты	$\geq 50 \times 10^9$ /л (без поддержки путем переливания в течение предыдущих 7 дней)
Абсолютное количество нейтрофилов (ANC)	$\geq 1,0 \times 10^9$ /л (предварительная поддержка фактора роста допускается, но не должно быть поддержки в течение 7 дней для G-CSF или GM-CSF или 14 дней для пегилированного-G-CSF)
Химический состав	
Аспартатаминотрансфераза (АСТ) и аланинаминотрансфераза (АЛТ)	$\leq 2,5 \times \text{ULN}$

Клиренс креатинина	≥ 30 мл/мин/1,73 м ² на основании расчета формулы модифицированной диеты при заболевании почек
Общий билирубин	$\leq 1,5 \times \text{ULN}$; за исключением субъектов с врожденной билирубинемией, такой как синдром Жильбера (в этом случае требовался прямой билирубин $\leq 1,5 \times \text{ULN}$)
Сывороточный кальций с коррекцией на альбумин	≤ 14 мг/дл ($\leq 3,5$ ммоль/л) или свободный ионизированный кальций $< 6,5$ мг/дл ($< 1,6$ ммоль/л)

1. Сокращения: G-CSF — гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; GM-CSF — гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; ULN — верхняя граница нормы; RBC — эритроцит

7. Женщины с репродуктивным потенциалом должны иметь отрицательный результат высокочувствительного теста на беременность, основанного на уровне β -хорионического гонадотропина человека (β -ХГЧ), (< 5 МЕ/мл) при скрининге и

5 отрицательный тест мочи или сыворотки на беременность в течение 1 дня до первой дозы исследуемого препарата и должны согласиться на дальнейшие тесты сыворотки или мочи на беременность во время исследования.

8. Женщины должны соответствовать одному из следующих пунктов:

a. не обладать репродуктивным потенциалом;

10 b. обладать репродуктивным потенциалом и

- практиковать полное воздержание;
- или иметь единственного партнера, которому была проведена вазэктомия;
- или практиковать по меньшей мере 1 высокоэффективный

15 независимый от пользователя способ контрацепции (например, внутриматочную спираль (ВМС), внутриматочную гормональную систему (ВГС), двустороннее лигирование/окклюзию маточных труб или имплантируемую гормональную систему контрацепции, содержащую только прогестаген, связанную с ингибированием

20 овуляции). Если применяется гормональная контрацепция (например, пероральный эстроген/прогестин), также необходимо применять мужской или женский презерватив со спермицидом или без него (например, спермицидной пеной / гелем / пленкой / кремом / суппозиторием).

5 -Для субъектов, получающих помалидомид, женщины с репродуктивным потенциалом должны использовать 2 способа надежного контроля над рождаемостью одновременно во время приема исследуемого препарата и в течение 100 дней после приема последней дозы исследуемого препарата: одну из указанных эффективную форму контрацепции (лигирование маточных труб, внутриматочная спираль, гормональные средства [пероральные, инъекционные, трансдермальные пластыри, вагинальные кольца или имплантаты] или вазэктомия партнера) и 1 дополнительный эффективный способ контрацепции (мужской латексный или синтетический презерватив, диафрагма или шеечный колпачок).

10
15 -Для пациентов, не получающих помалидомид, женщины детородного возраста, применяющие оральные контрацептивы, должны применять дополнительный способ контрацепции.

Субъект должен согласиться продолжать использовать вышеуказанные методы контрацепции во время приема исследуемого препарата и до 100 дней после последней дозы. Женщины с репродуктивным потенциалом должны согласиться на прохождение тестов на беременность (сыворотка или моча) в течение 100 дней после последнего введения исследуемого лекарственного средства.

20 **Примечание.** Если женщина приобретает репродуктивный потенциал после начала исследования, она должна соблюдать пункт (b), как описано выше.

25 Женщина, применяющая оральные контрацептивы, должна применять дополнительный способ контрацепции в дополнение к перечисленным выше требованиям.

9. Мужчины должны использовать презерватив (со спермицидной пеной / гелем / пленкой / кремом / суппозиторием или без них) при занятии любой деятельностью, которая позволяет передавать эякулят другому лицу, во время исследования и в течение 100 дней после последней дозы исследуемого препарата. Его партнерша, если она обладает репродуктивным потенциалом, также должна практиковать высокоэффективный способ контрацепции (например, внутриматочную спираль (ВМС), внутриматочную гормональную систему (ВГС),

комбинированную (содержащую эстроген и прогестаген) гормональную контрацепцию, связанную с ингибированием овуляции и т. д.).

Если субъект-мужчина прошел вазэктомию, он по-прежнему должен использовать презерватив (со спермицидом или без него), но его партнерша не обязана

5 применять контрацепцию.

10. Женщина должна отказаться от донорства яйцеклеток (ооцитов) или заморозить их для дальнейшего применения в целях вспомогательной репродукции во время исследования и в течение по меньшей мере 100 дней после приема последней дозы исследуемого лекарственного средства.

10 11. Мужчины должны согласиться не выступать донором спермы для искусственного оплодотворения во время исследования и в течение по меньшей мере 100 дней после получения последней дозы исследуемого лекарственного средства.

15 12. Необходимо подписать форму информированного согласия (ICF), в которой указано, что он или она понимает цели и процедуры, которые требуются для исследования, и добровольно участвует в исследовании. Согласие необходимо получить до начала любых исследований или процедур, связанных с исследованием, которые не являются частью стандартного лечения заболевания субъекта.

20 13. Готовность и возможность соблюдать указанные в настоящем протоколе запреты и ограничения.

Критерии исключения

Любой потенциальный субъект, удовлетворяющий любому из следующих критериев, будет исключен из исследования:

1. Лечение в течение предшествующих 90 дней анти-CD38-терапией (например, даратумумабом) или прекращение предшествующей анти-CD38-терапии в любое время из-за нежелательного явления, связанного с анти-CD38-терапией.

2. Предшествующая противоопухолевая терапия перед введением первой дозы исследуемого лекарственного средства:
 - таргетная терапия, эпигенетическая терапия или лечение экспериментальным лекарственным средством или инвазивным медицинским устройством в пределах 21 дня или по меньшей мере 5 периодов полувыведения в зависимости от того, какой период является более коротким;
 - лечение моноклональными антителами в пределах 21 дня (анти-CD38-терапия не может применяться в течение предшествующих 90 дней);
 - цитотоксическая терапия в пределах 21 дня;
 - терапия ИП в пределах 14 дней;
 - терапия IMiD в пределах 7 дней;
 - радиотерапия в пределах 21 дня. Однако если радиационный портал покрывал $\leq 5\%$ резерва костного мозга, субъект соответствовал критериям независимо от даты окончания радиотерапии;
 - генно-модифицированная адоптивная клеточная терапия (например, модифицированные химерным антигенным рецептором Т-клетки, НК-клетки) в пределах 90 дней.
3. Накопленная доза кортикостероидов, эквивалентная ≥ 140 мг преднизолона, в пределах 14-дневного периода до первой дозы исследуемых лекарственных средств.
4. Живая ослабленная вакцина в течение 4 недель до первой дозы исследуемого лекарственного средства, если она не одобрена спонсором.
5. Токсичность от предыдущей противоопухолевой терапии, которая не разрешилась до исходного уровня или до степени ≤ 1 (за исключением алопеции [любой степени] или периферической нейропатии степени ≤ 3).
6. Трансплантация стволовых клеток:
 - субъекты, проходившие аллогенную трансплантацию, должны были отказаться от всех иммуносупрессивных препаратов в течение ≥ 42 дней без признаков реакции «трансплантат против хозяина»;
 - аутологичная трансплантация стволовых клеток за ≤ 12 недель до первой дозы исследуемого лекарственного средства.

7. Активное поражение центральной нервной системы или клинические признаки поражения мозговых оболочек множественной миеломой. При подозрении на любое из них требуется магнитно-резонансная томография (МРТ) всего мозга и поясничная цитология.
8. Активный плазмоклеточный лейкоз, макроглобулинемия Вальденстрема, синдром РОЕМС (полинейропатия, органомегалия, эндокринопатия, М-белок и изменения кожи) или первичный амилоидный амилоидоз легкой цепи.
9. Подтвержденная серопозитивность к вирусу иммунодефицита человека.
10. Серопозитивность к гепатиту В (определяется положительным тестом на поверхностный антиген гепатита В [HBsAg]). Субъекты с разрешенной инфекцией (т. е. субъекты с отрицательным HBsAg и антителами к общему коровому антигену вируса гепатита В [Anti-HBc] с наличием или без наличия поверхностных антител к вирусу гепатита В [Anti-HBs]) должны пройти скрининг с использованием измерения уровней ДНК ВГВ с применением полимерной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени. Продемонстрировавшие ПЦР-положительный результат будут исключены. ИСКЛЮЧЕНИЕ: субъектам с серологическими данными, указывающими на вакцинацию против ВГВ (анти-HBs-положительный результат в качестве единственного серологического маркера), И подтвержденной предшествующей вакцинацией против ВГВ в анамнезе не требуется проходить тестирование на ДНК ВГВ с помощью ПЦР.
11. Активная инфекция гепатита С, определяемая положительным тестом на РНК вируса гепатита С (ВГС). Субъекты, ранее имевшие положительный результат на антитела к вирусу гепатита С, должны пройти тестирование на РНК ВГС.
12. Любое из нижеперечисленного:
 - Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) с объемом форсированного выдоха за 1 секунду (FEV1) < 50% от прогнозируемого нормального значения. ПРИМЕЧАНИЕ. Требуется исследование FEV1 для субъектов с подозрением на ХОБЛ, и субъекты с FEV1 < 50% от прогнозируемого нормального значения должны быть исключены.
 - Умеренная или тяжелая персистирующая астма в течение последних 2 лет или неконтролируемая астма любой классификации. ПРИМЕЧАНИЕ: субъекты с текущей управляемой периодической астмой или управляемой стойкой астмой легкой степени допускаются к участию в исследовании.

13. Аллергии, гиперчувствительность или непереносимость исследуемого препарата или его эксципиентов (см. брошюру исследователя и инструкцию по применению лекарственного препарата).
14. Любое серьезное основное медицинское состояние, например:
 - наличие подтвержденной серьезной активной вирусной, бактериальной или неконтролируемой системной грибковой инфекции;
 - активное аутоиммунное заболевание, требующее системной иммуносупрессивной терапии в течение 6 месяцев до начала исследуемого лечения. **ИСКЛЮЧЕНИЕ:** участники с витилиго, диабетом I типа и предшествующим аутоиммунным тиреоидитом, который в настоящее время является эутиреоидным на основании клинических симптомов и лабораторных исследований, имеют право на участие независимо от того, когда эти состояния были диагностированы;
 - инвалидизирующие психические расстройства (например, злоупотребление алкоголем или наркотиками), тяжелая деменция или измененное психическое состояние;
 - любая другая проблема, которая ухудшит способность субъекта получать, воспринимать или переносить запланированное лечение в исследовательском центре, понимать информированное согласие или любое условие, участие в котором, по мнению исследователя, не отвечало бы интересам субъекта (например, поставит под угрозу благополучие) или которое может предотвратить, ограничить или запутать оценки, указанные в протоколе.

15. Следующие сердечные заболевания:

- хроническая сердечная недостаточность стадии III или IV согласно Нью-Йоркской ассоциации кардиологов;
- инфаркт миокарда или нестабильная стенокардия в пределах ≤ 6 месяцев до включения в исследование;
- в анамнезе клинически значимая желудочковая аритмия или необъяснимый обморок, не считающийся вазовагальным по своей природе или связанный с обезвоживанием;
- в анамнезе тяжелая неишемическая кардиомиопатия;
- скрининговая электрокардиограмма (ЭКГ) в 12 отведениях, средний интервал QT, скорректированный относительно исходных показателей по формуле Фридеричиа (QTc), > 470 мс.

16. Беременность, грудное вскармливание либо планирование беременности во время участия в данном исследовании или в пределах 100 дней после последней дозы исследуемого лекарственного средства.

17. Планирование мужчиной зачатия ребенка во время участия в этом исследовании или в пределах 100 дней после последней дозы исследуемого лекарственного средства.

18. Обширная хирургическая операция не позднее 2 недель перед первой дозой, не полное восстановление после операции или хирургическая операция, запланированная на время, когда ожидается лечение субъекта в рамках исследования.

Примечание. К участию допускаются пациенты с запланированными хирургическими вмешательствами, которые проводятся под местной анестезией.

Любой потенциальный субъект, удовлетворяющий любому из следующих критериев, будет исключен из участия в приеме лечебной комбинации, содержащей помалидомид:

19. У субъекта ранее наблюдалось нежелательное явление, связанное с помалидомидом, которое требовало прекращения лечения.

Исследуемое лечение

Виды лечения проводили 28-дневными циклами. Даратумумаб вводили всем субъектам путем п/к инъекции в дозе 1800 мг следующим образом: еженедельно в циклах 1–2, каждые 2 недели (1 p/2 нед) в циклах 3–6 и каждые 4 недели после этого. Следует обратить внимание на то, что для уменьшения требуемого объема

инъекции применяли рекомбинантную человеческую гиалуронидазу PH20 (rHuPH20), что облегчало п/к введение даратумумаба.

Даратумумаб п/к (Dara) вводили в комбинации с различными уровнями дозировки талкветумаба (Tal), включая Dara 1800 мг + Tal 60 мкг/кг п/к еженедельно, Dara 1800 мг + Tal 400 мкг/кг п/к еженедельно, Dara 1800 мг + Tal 400 мкг/кг п/к еженедельно, начиная со дня 1 цикла 3 (Tal 400 мкг/кг п/к еженедельно в циклах 1–2), и Dara 1800 мг + Tal 800 мкг/кг п/к один раз в две недели. Некоторые субъекты в когорте Dara 1800 мг + Tal 400 мкг/кг п/к еженедельно были переведены на Tal 800 мкг/кг один раз в две недели п/к после дня 1 цикла 3. За исключением когорты 60 мкг/кг талкветумаба п/к еженедельно, в которой ступенчатое наращивание дозы началось в день 9 цикла 1, ступенчатое наращивание дозы талкветумаба начиналось в день 2 цикла 1. Если даратумумаб и талкветумаб вводили в один и тот же день, даратумумаб вводили в первую очередь. Повышающую дозу 1 талкветумаба вводили по меньшей мере через 20 часов после подкожного введения даратумумаба. Последующую (-ие) повышающую (-ие) дозу (-ы), если применимо, и первую лечебную дозу талкветумаба вводили приблизительно через 3 часа после п/к введения даратумумаба. Последующие лечебные дозы талкветумаба вводили приблизительно через 1 час после п/к введения даратумумаба (если оба исследуемых лекарственных средства вводили в один и тот же день).

В случае вариантов лечения, включающих комбинацию даратумумаба п/к, талкветумаба п/к и помалидомида, помалидомид вводили перорально один раз в сутки в дозе 2 мг, 4 мг или их комбинации. Когорты помалидомида включали в себя 2 мг, начиная с C2D1, 4 мг, начиная с начала лечения, и 2 мг, начиная с C2D1, с повышением до 4 мг, начиная с C4D1. Помалидомид можно принимать до или после приема исследуемых лекарственных средств в лечебной комбинации. Чтобы свести к минимуму вероятность повышенного риска синдрома высвобождения цитокинов (CRS) при одновременном введении биспецифического антитела и помалидомида, для исходной когорты субъектов должны были использовать схему отсроченного дозирования помалидомида. Если SET считала это целесообразным, для помалидомида для последующих когорт могла применяться уменьшенная начальная доза или более поздняя дата начала (например, начало дня 1 цикла 2) на основании обзора данных по безопасности для схемы. Дексаметазон подлежит введению одновременно с первыми 3 полными циклами, содержащими IMiD. В

течение первой недели цикла 1 дексаметазон в дозе 20 мг вводили в день 1 цикла 1 до п/к введения даратумумаба и вводили 2 дополнительные дозы дексаметазона в дозе 16 мг, по 1 до повышающей дозы 1 и повышающей дозы 2 биспецифического антитела. В течение оставшейся части цикла 1 и последующих требуемых циклов 5 дексаметазон вводили в дозе 40 мг (перорально или в/в) еженедельно (за исключением пациентов в возрасте > 75 лет или с индексом массы тела [ИМТ] < 18,5, которые должны были получать 20 мг дексаметазона только до п/к введения даратумумаба). Дексаметазон вводят приблизительно за 1–3 часа до п/к введения даратумумаба (или биспецифического антитела в дни, когда даратумумаб п/к не 10 вводят). После требуемых циклов дексаметазона, указанных выше, продолжение введения и схема введения дексаметазона для усиления антимиеломного действия, вызванного IMiD, должны были основываться на клинической оценке исследователя. Если помалидомид был окончательно отменен из-за токсичности или непереносимости, то высокая доза дексаметазона также может быть отменена 15 на основании клинической оценки исследователя.

Чтобы свести к минимуму вероятность повышенного риска синдрома высвобождения цитокинов (CRS) при одновременном введении биспецифического антитела и помалидомида, исходная когорта субъектов получала отсроченную схему введения помалидомида (C2D1 (цикл 2, день 1) или C1D15 (цикл 1, день 20 15)). Первого субъекта в каждой когорте в части 1 наблюдали в течение по меньшей мере 36 часов после первого введения талкветумаба или до лечения последующих субъектов лечебной дозой.

Лечение также включает в себя требуемое и необязательное введение препаратов до и после лечения, связанного с п/к введением даратумумаба и 25 помалидомида. Необходимыми и необязательными препаратами для введения до и после лечения даратумумабом могут быть 2-недельный курс глюкокортикоидов с постепенным уменьшением дозы. Это может быть, например, требуемое в/в или пероральное введение глюкокортикоида (например, метилпреднизолона от 20 до 100 мг, дексаметазона от 4 до 12 мг) до и после введения даратумумаба для 30 субъектов, не получающих помалидомид; требуемое внутривенное или пероральное введение антигистаминного препарата (например, дифенгидрамина от 25 до 50 мг или его эквивалента) или жаропонижающего средства (ацетаминофена от 650 до 1000 мг) перед введением даратумумаба всем субъектам и необязательное в/в или пероральное введение глюкокортикоида

(метилпреднизолона 60 мг (или дексаметазона 12 мг) или пероральное введение ингибитора лейкотриена (например, монтелукаста 10 мг) перед введением даратумумаба всем субъектам. В/в или пероральное введение глюкокортикоидов (например, дексаметазона от 8 до 16 мг), антигистаминных препаратов (например, димедрола от 25 до 50 мг или эквивалента) или жаропонижающих средств (ацетаминофена от 650 до 1000 мг) также может потребоваться в качестве предварительного лечения для талкветамаба, например, перед всеми повышающими дозами и первой лечебной дозой или для субъектов, у которых наблюдается CRS/IRR ≥ 2 степени, для следующих 2 последующих доз талкветамаба.

Для субъектов в любой комбинации лечения с более высоким риском респираторных осложнений (например, субъекты с легкой астмой или субъекты с ХОБЛ с FEV1 < 80% при скрининге или с развитием FEV1 < 80% во время исследования без какого-либо анамнеза) следует рассмотреть следующие постинъекционные лекарственные средства: антигистаминные препараты, агонисты β 2-адренергических рецепторов короткого действия, такие как сальбутамол, контрольные препараты для лечения заболеваний легких (например, ингаляционные кортикостероиды \pm агонисты β 2-адренергических рецепторов длительного действия для субъектов с астмой; бронходилататоры длительного действия, такие как тиотропий или сальметерол \pm ингаляционные кортикостероиды для пациентов с ХОБЛ).

Предусмотренные исследованием оценки

Должны были проводиться измерения безопасности, фармакокинетики, иммуногенности, биомаркеров, эффективности и другие измерения.

Безопасность должны были оценивать, например, с помощью физических обследований (включая неврологическую оценку), показателя общего состояния по шкале Восточной объединенной группы онкологов (ECOG), клинических лабораторных анализов, основных показателей жизнедеятельности, мониторинга нежелательных явлений и приема сопутствующих лекарств. Все неблагоприятные явления и ситуации, требующие специальной отчетности, серьезные или несерьезные, будут регистрироваться с момента получения подписанной и датированной ICF и до 100 дней после приема последней дозы исследуемого препарата или до начала последующей системной противоопухолевой терапии, если это произойдет раньше, и могут включать в себя контакт для последующего

контроля безопасности. Нежелательные явления (НЯ) оцениваются с помощью NCI-CTCAE v5.0 за исключением синдрома высвобождения цитокинов (CRS) и синдрома нейротоксичности, ассоциированного с иммунными эффекторными клетками (ICANS), которые были классифицированы в соответствии с
5 рекомендациями Американского общества трансплантации и клеточной терапии (ASTCT). Следует следить за событиями CRS (любой степени) до восстановления или до тех пор, пока не будет наблюдаться дальнейшее улучшение.

Образцы крови и сыворотки или плазмы собирали для оценки фармакокинетики и иммуногенности (например, антитела к даратумумабу, гHuPH20 или талкветамабу). Выбор схемы дозирования (уровень дозы и частота) для фазы терапии достигнутой дозой определяли на основании информации о фармакокинетики и фармакодинамике, полученной при повышении дозы. Образец для анализа фармакокинетики и иммуногенности собирали в запланированное время, и во время исследования наблюдали наличие любых подозрительных
10 событий IRR или CRS (в случае события CRS образцы собирали в начале, через 24 часа и 72 часа).

Каждый образец сыворотки был равномерно разделен на 3 аликвоты (1 для оценки фармакокинетики и иммуногенности даратумумаба, 1 для оценки фармакокинетики и иммуногенности талкветамаба и 1 резервная). Каждый образец плазмы для антител против гHuPH20 разделяли на 5 аликвот (3 для антител к гHuPH20 и 2 для нейтрализующих антител к гHuPH20). Образцы, собранные для оценки фармакокинетики и иммуногенности, можно применять для оценки маркера заболевания, такого как sVCMA, или для оценки аспектов безопасности или эффективности, касающихся проблем, возникающих в течение или после периода исследования, при дальнейшем определении характеристик иммуногенности. Для фармакокинетического анализа образцы сыворотки анализировали с целью определения концентраций даратумумаба и талкветамаба с применением валидированных, специфических и чувствительных методов анализа.
25 Фармакокинетические параметры включают в себя, без ограничений, площадь под кривой $(AUC)_{(0-t)}$, AUC_{τ} , C_{\max} и T_{\max} , которые можно было бы рассчитать при наличии достаточного количества данных для оценки. Для анализа иммуногенности проводили обнаружение и определение характеристик антител к даратумумабу, гHuPH20 и талкветамабу с применением валидированных методов анализа. Образцы, продемонстрировавшие положительные результаты на
30

связывающие антитела, тестировали на нейтрализующие антитела к даратумумабу или талкветамабу. Для оценки иммуногенности гHuPH20 образцы плазмы подвергали скринингу на антитела, связывающиеся с гHuPH20, и при необходимости оценивали с помощью подтверждающих анализов и анализов титров.

Оценки биомаркеров проводили как в части 1, так и в части 2. Оценки биомаркеров были сконцентрированы на нескольких основных целях:

(1) иммунные ответы, указывающие на перенаправление Т-клеток, на предмет потенциального вклада в ответ на исследуемое лекарственное средство;

(2) способность каждой комбинации лечения индуцировать отрицательный результат MRD у субъектов с множественной миеломой, которые достигли CR;

(3) протеомное профилирование сыворотки на цитокины (такие как ИЛ-6, ИЛ-2 и ИЛ-10) или другие сывороточные белки, указывающие на иммунный ответ; (4)

биомаркеры ответа/резистентности на клетках миеломы (такие как GPRC5D и PD-

L1); (5) клиническая польза (ORR, продолжительность ответа [DOR] и время до ответа) каждой комбинации лечения у субъектов с цитогенетическими

модификациями (del17p, t(4;14), t(14;16) или другие молекулярные подтипы

высокого риска) и (6) иммунофенотипы подмножеств иммунных клеток, таких как Т-клетки CD4+ и CD8+ и регуляторные Т-клетки, которые могут непосредственно

влиять на механизмы действия. Могут собираться дополнительные образцы биомаркеров, чтобы помочь понять необъяснимое нежелательное явление.

Дополнительный (-ые) образец (образцы) для цитокинов также можно было

сбирать в любое время, когда в ходе исследования наблюдалось или сообщалось о предполагаемом событии IRR или CRS.

Оценки заболевания должны были проводиться центральной лабораторией (дополнительные образцы могут быть собраны для анализа местной лабораторией)

до прогрессирования заболевания. В этом исследовании применяли критерии ответа на основе IMWG (2016), описанные Kumar et al. (*Lancet Oncol.*

2016;17(8):e328–346.) Для субъектов с подозрением на интерференцию

даратумумаба при электрофорезе с иммунофиксацией (IFE) сыворотки применяли второй рефлекторный анализ с помощью антиидиотипического моноклонального

антитела для подтверждения миграции даратумумаба на IFE. Субъекты, которые соответствуют всем другим критериям IMWG для CR и чей положительный

результат IFE подтвержден как интерференция даратумумаба, считаются

полностью ответившими. Для субъектов с множественной миеломой легких цепей анализ IFE и FLC сыворотки и мочи и анализ FLC сыворотки проводили каждые 4 недели. Дополнительные образцы сыворотки могут применяться для мониторинга потенциальной интерференции даратумумаба с IFE и ответа, 5 подтвержденного в соответствии с критериями ответа на основе IMWG. Количественные измерения иммуноглобулина (QIg, например, IgG, IgA, IgM, IgE и IgD), М-белка посредством электрофореза (SPEP), FLC и IFE сыворотки и мочи и сывороточный β -микроглобулин анализировали в центральной лаборатории. Прогрессирование заболевания на основании только одного из лабораторных 10 анализов должно быть подтверждено на по меньшей мере 1 повторном исследовании, которое проводили через 1–3 недели. Оценки заболевания продолжались и после рецидива при CR, пока прогрессирование заболевания не было подтверждено. Анализы IFE сыворотки и мочи и FLC сыворотки должны были проводить при скрининге и после этого при подозрении на CR или sCR (если 15 результаты электрофореза М-белка в сыворотке крови или суточном образце мочи [измеренные посредством SPEP или UPEP] были равны 0 или не поддавались количественной оценке). Развитие гиперкальциемии (скорректированный уровень кальция > 11 мг/дл) может указывать на прогрессирование заболевания или рецидив, если его нельзя объяснить какой-либо другой причиной. Таким образом, 20 скорректированный уровень кальция сыворотки или свободного ионизированного кальция также анализировали в образцах крови до развития подтвержденного прогрессирования заболевания.

Для клинических оценок и оценок биомаркеров должна была выполняться аспирация или биопсия костного мозга. Определение клинической стадии 25 (методами морфологии, цитогенетики и иммуногистохимии, или иммунофлуоресценции, или проточной цитометрии) может быть выполнено местной лабораторией. Часть аспирата костного мозга применяли для иммунофенотипирования и мониторинга на GPRC5D, CD38, экспрессию лигандов контрольных точек в CD138-положительных клетках множественной миеломы и 30 экспрессии контрольных точек на Т-клетках. Образец аспирата костного мозга требовался для подтверждения CR и sCR до следующей запланированной дозы исследуемого лекарственного средства. Негативный статус MRD оценивали на местах в качестве потенциальной суррогатной замены параметра «выживаемость без прогрессирования» (PFS) и OS. Исходные аспираты костного мозга применяли

для определения клонов миеломы, а образцы после лечения будут применять для оценки негативного статуса MRD у тех субъектов, у которых отмечался CR/sCR. ДНК аспирата костного мозга может применяться для мониторинга MRD с помощью секвенирования нового поколения, в то время как отрицательный результат MRD в сыворотке будет оцениваться с помощью масс-спектрометрии.

Полное обследование скелета (включая череп, весь позвоночный столб, таз, грудную клетку, плечевые кости, бедренные кости и все прочие кости, которые, по подозрению исследователя, затронуты заболеванием) выполнялся в период скрининга и оценивался либо посредством рентгенографии, либо с помощью низкодозового сканирования с помощью компьютерной томографии (КТ) (или позитронно-эмиссионной томографии [ПЭТ]/КТ) без применения в/в контраста. При оценке прогрессирования в течение периода лечения следует применять ту же методологию, которая применялась на исходном уровне. Также для оценки заболевания костей может быть включена МРТ.

15 **Статистический анализ**

В данном исследовании не проводили формальную проверку статистической гипотезы. Поддержку части 1 (части с повышением дозы) осуществляли по модифицированному способу непрерывной переоценки (mCRM) на основе статистической модели, байесовской регрессионной логистической модели (BLRM) с использованием принципа повышения дозы с контролем вероятности передозировки (EWOC). Можно идентифицировать одну или более RP2D для каждой комбинации лечения. В части 2 (фаза терапии достигнутой дозой) субъекты получали лечение при каждом RP2D для дальнейшей оценки безопасности и противоопухолевой активности выбранной (-ых) комбинации (-ий) лечения.

Определения конечных точек

- **ORR** определяется как доля субъектов, которые демонстрируют PR или лучший ответ, в соответствии с критериями IMWG. Ответ на лечение будет оцениваться исследователем.
- **Частота клинической эффективности (ORR + MR)** определяется как доля субъектов, которые достигли MR или лучшего ответа в соответствии с критериями IMWG по оценке исследователя.

- **Частота отрицательного статуса MRD** определяется как доля субъектов, которые достигли MRD-отрицательного статуса.
- **DOR** определяется как время с даты первоначального документирования ответа (PR или лучше) до даты первых документально подтвержденных признаков прогрессирующего заболевания, как определено в критериях IMWG, или смерти по причине прогрессирующего заболевания в зависимости от того, что произойдет раньше. Рецидив CR не рассматривается как прогрессирование заболевания. Для пациентов с отсутствием прогрессирования данные будут подвергнуты цензуре при последней оценке заболевания перед началом любой последующей антимиеломной терапии.
- **Время до ответа определяется** как время от даты введения первой дозы исследуемого лекарственного средства до первой оценки эффективности, при которой субъект удовлетворял всем критериям для PR или лучшего ответа.
- **PFS** определяется как время от даты введения первой дозы лекарственного средства до даты первого документированного прогрессирования заболевания, как определено в критериях IMWG, или смерти из-за любой причины в зависимости от того, что наступит раньше. Для живых пациентов с отсутствием прогрессирования данные будут подвергнуты цензуре при последней оценке заболевания перед началом любой последующей антимиеломной терапии.

20 **Предварительные результаты (дата завершения сбора данных для проведения анализов — 6 апреля 2022 г.)**

Исследование продолжается, и на дату завершения сбора данных для проведения анализов были обследованы 129 пациентов, получавших талкветамаб и даратумумаб +/- помалидомид.

25 **Когорты талкветамаб п/к + даратумумаб п/к**

Даратумумаб и талкветамаб п/к вводили 28-дневными циклами (со ступенчатым наращиванием дозы для талкветамаб). Данные объединяли в «даратумумаб 1800 мг плюс талкветамаб (400 мкг/кг еженедельно + 400 мкг/кг или 800 мкг/кг один раз в две недели +/- помалидомид)».

30 Предварительные данные по состоянию на 6 апреля 2022 г. включали в себя результаты для 14 участников, получавших п/к талкветамаб в дозах 400 мкг/кг еженедельно в комбинации с даратумумабом 1800 мг п/к. Пять участников получали п/к талкветамаб в дозах 400 мкг/кг каждую вторую неделю, начиная с C2D1 (цикл 2 день 1), в комбинации с даратумумабом 1800 мг п/к. Дополнительная

когорта из 44 участников получала п/к талкветамаб в дозах 800 мкг/кг каждые вторую неделю, начиная с C1D15 (цикл 1, день 15), в комбинации с даратумумабом 1800 мг п/к. В когортах, которые включали в себя помалидомид, участники получали талкветамаб п/к 400 мкг/кг еженедельно (n = 26) или 800 мкг/кг каждую вторую неделю (n = 32) в комбинации с даратумумабом 1800 мг п/к и 2 мг помалидомида, начиная с C2D1 (цикл 2, день 1; n = 18), или 4 мг помалидомида, начиная с C1D15 (цикл 1, день 15; n = 8). Кроме того, 8 участников получали талкветамаб п/к 800 мкг/кг каждую вторую неделю в комбинации с даратумумабом 1800 мг п/к и 2 мг помалидомида, начиная с C2D1 (цикл 2, день 1), с запланированным увеличением дозы помалидомида 4 мг C4D1 (цикл 4, день 1). Все участники получали талкветамаб в комбинации с 1800 мг даратумумаба п/к. Дексаметазон вводился в качестве премедикации перед лечением во время ступенчатого наращивания дозы и для первой лечебной дозы талкветамабом п/к, а также для первых 2 доз даратумумаба п/к, после чего прием дексаметазона был прекращен. Сводная информация по когортам дозирования талкветамаб и даратумумаба представлена в таблице 12.

Таблица 12. Когорты дозирования талкветамаб и даратумумаба (n = 129)

Талкветамаб ^a	Даратумумаб	Число пациентов
400 мкг/кг п/к 1 р/нед	1800 мг п/к Циклы 1–2: 1 р/нед Цикл 3–6: 1 р/2 нед Циклы 7 +: ежемесячно	14
400 мкг/кг п/к 1 р/2 нед		5
800 мкг/кг п/к 1 р/2 нед		44
400 мкг/кг п/к 1 р/нед + 2 мг Rom C2D1 или 4 мг Rom с отсрочкой введения препарата		26
800 мкг/кг п/к 1 р/2 нед + 2 мг rom C2D1		32
800 мкг/кг п/к 1 р/2 нед + 2 мг rom C2D1, 4 мг C4D1		8

п/к — подкожно, 1 р/нед — один раз в неделю, 1 р/2 нед — один раз в 2 недели, rom — помалидомид; C2D1 — цикл 2, день 1; C4D1 — цикл 4, день 1
а. 1–3 повышающие дозы, предоставляемые в течение 1 недели перед полной дозой. Следует обратить внимание на то, что премедикация (например, глюкокортикоид, антигистаминный препарат и жаропонижающее средство)

ограничивалась повышающими дозами и первой полной дозой (нет необходимости в стероидах после первой полной дозы).

Медианный возраст для 129 оцениваемых субъектов составлял 63 года (диапазон 33–81), и 58 субъектов были женщинами (45,0%). Медианное количество предшествующих курсов терапии составляло 5 (диапазон 2–18), 79,1% субъектов проявили рефрактерность к последней линии терапии, 65,1% проявили рефрактерность к трем классам препаратов, 67,4% получали пять классов, а 33,3% проявили рефрактерность к пяти классам препаратов. Сводная информация по демографическим данным субъектов и характеристикам на исходном уровне представлена в таблице 13.

Таблица 13. Демографические данные пациентов и исходные характеристики

Характеристика	Dara + Tal ^a (n = 63)	Dara + Tal + Pom ^b (n = 66)	Dara + Tal (n = 129)
Возраст, медиана (диапазон), годы	64 (44–81)	63 (33–81)	63 (33–81)
Женский пол, n %	33 (52,4)	25 (37,9)	58 (45,0)
Расовая принадлежность, n (%)			
Европеиды	49 (77,8)	49 (74,2)	98 (76,0)
Негроиды/афроамериканцы	9 (14,3)	7 (10,6)	16 (12,4)
Не указано	5 (7,9)	9 (13,6)	14 (12,9)
Время с момента постановки диагноза, лет, медиана (диапазон)	6,53 (1,6–18,0)	6,78 (0,3–18,3)	6,6 (0,3–18,3)
Исходный уровень, стадия ISS^c, n (%)			
I	23 (46,0)	34 (56,7)	57 (51,8)
II	19 (38,0)	14 (23,3)	33 (30,0)
III	8 (16,0)	12 (20,0)	20 (18,2)
Высокий цитогенетический риск ^d , n (%)	8 (19,5)	16 (27,1)	24 (24,0)
Экстремедуллярные плазмцитомы $\geq 1^e$, n (%)	15 (23,8)	12 (18,2)	27 (20,9)
Предшествующие линии терапии, n, медиана (диапазон)	5 (2–18)	6 (3–17)	5 (2–18)
Ранее перенесенная трансплантация	49 (77,8)	52 (78,8)	101 (78,3)
Статус воздействия, n (%)			

Антитело к CD38 ^f	53 (84,1)	58 (87,9)	111 (86,0)
IMiD ^g	62 (98,4)	65 (98,5)	127 (98,4)
Предшествующая терапия ВСМА ^h	31 (49,2)	40 (60,6)	71 (55,0)
Три класса ⁱ	52 (82,5)	58 (87,9)	110 (85,3)
Пять лек. средств ^j	41 (65,1)	46 (69,7)	87 (67,4)
Статус рефрактерности, n (%)			
Антитело к CD38 ^f	48 (76,2)	48 (72,7)	96 (74,4)
IMiD ^g	58 (92,1)	58 (87,9)	116 (89,9)
Три класса ⁱ	40 (63,5)	44 (66,7)	84 (65,1)
Пять лек. средств ^j	20 (31,7)	23 (34,8)	43 (33,3)
К последнему времени проведения терапии	46 (73,0)	56 (84,8)	102 (79,1)

^a Dara 1800 мг плюс Tal (400 мкг/кг п/к 1 р/нед, или 400 мкг/кг п/к 1 р/2 нед, или 800 мкг/кг п/к 1 р/2 нед); ^b Dara 1800 мг плюс Tal (400 мкг/кг п/к или 800 мкг/кг п/к) плюс помалидомид;

- ^c Процентные доли, рассчитанные из n = 50 для Dara + Tal, n = 60 для Dara + Tal + Pom, n = 110 для общего числа; ^d del(17p), t(4;14) и/или t(14;16); процентные доли, рассчитанные из n = 41 для Dara + Tal, n = 50 для Dara + Tal + Pom, n = 100 для общего числа; ^e Были включены плазмоцитомы мягких тканей, не связанные с костью; ^f Dara или Isa; ^g Талидомид, len и/или pom; ^h ВСМА CAR-T-терапия или ВСМА не-CAR-T-терапия; ⁱ ≥ 1 ИП, ≥ 1 IMiD и 1 анти-CD38 мАт; ^j ≥ 2 ИП, ≥ 2 IMiD и 1 анти-CD38 мАт.
- ВСМА — антиген созревания В-клеток; CAR T — химерная Т-клетка с химерным антигенным рецептором; Dara — даратумумаб; IMiD — иммуномодулирующее лекарственное средство. Isa — изатуксимаб; ISS — Международная система определения стадий; Len — леналидомид; мАт — моноклональное антитело; ИП — ингибитор протеасом; Pom — помалидомид; 1 р/2 нед — один раз в две недели; 1 р/нед — еженедельно; п/к — подкожно; Tal — талкветамаб.

Среди всех когорт «даратумумаб плюс талкветамаб» (1800 мг даратумумаб плюс талкветамаб (400 мкг/кг п/к 1 р/нед, или 400 мкг/кг п/к 1 р/2 нед, или 800 мкг/кг п/к 1 р/2 нед)) комбинированная терапия была переносимой и демонстрировала сопоставимый профиль безопасности с обеими монотерапиями. Новых явлений токсичности не было выявлено, и большинство нежелательных явлений (НЯ) были 1 или 2 степени. Было 62 пациента (98,4%), которые испытывали НЯ, а 49 пациентов (77,8%) испытывали НЯ 3 или 4 степени.

Инфекции были зарегистрированы у 34 (54%) пациентов (степень ≥ 3 : 19%). Связанные с кожей НЯ (например, СОС для «нарушений со стороны кожи и подкожных тканей» за исключением заболевания ногтей, бугристости ногтей, онихомадезиса, онихомадезиса, дистрофии ногтей) возникали у 51 (81%) пациента и в основном были 1 или 2 степени. Следует обратить внимание на то, что у 3 пациентов (10,3%) была макулопапулезная сыпь 3 степени, а у 31% пациентов

наблюдались нарушения ногтей (включая заболевание ногтей, бугристость ногтей, онихомадезис, онихомадезис, дистрофия ногтей). У трех (4,8%) пациентов наблюдались явления ICANS (степень ≥ 3 : 1 (1,6%)), и все явления разрешились. Явление ICANS степени 3 у одного пациента привело к прекращению лечения, связанного с талкветамабом. Сводная информация о нежелательных явлениях (НЯ) у пациентов, получавших талкветамаб и даратумумаб, представлена в таблице 14.

Таблица 14. Нежелательные явления (НЯ)

Наиболее частые НЯ ($\geq 20\%$), n (%)	Tal + Dara ^a (N = 63)	
	Любая степень	Степень 3/4
Гематологические		
Анемия	29 (46)	14 (22,2)
Тромбоцитопения	23 (36,5)	13 (20,6)
Нейтропения	22 (34,9)	16 (25,4)
Лимфопения	17 (27,0)	17 (27,0)
Негематологические		
CRS	45 (71,4)	0 (0)
Дисгевзия	37 (58,7)	Н/П
Сухость во рту	28 (44,4)	0 (0) (G4 Н/П)
Шелушение кожи	24 (38,1)	0 (0)
Утомляемость	20 (31,7)	1 (1,6)
Пирексия	16 (25,4)	1 (1,6)
Головная боль	15 (23,8)	0 (0)
Тошнота	14 (22,2)	0 (0)
Снижение веса	14 (22,2)	0 (0)
Боль в спине	14 (22,2)	1 (1,6)
Снижение аппетита	13 (20,6)	0 (0)
Артральгия	13 (20,6)	0 (0)
Головокружение	13 (20,6)	0 (0)
Кашель	13 (20,6)	0 (0)
Боль в ротоглотке	13 (20,6)	0 (0)

^a Dara 1800 мг плюс Tal (400 мкг/кг п/к 1 р/нед, или 400 мкг/кг п/к 1 р/2 нед, или 800 мкг/кг п/к 1 р/2 нед)

НЯ — нежелательное явление; CRS — синдром высвобождения цитокинов. Dara — даратумумаб; ICANS = синдром нейротоксичности, ассоциированный с иммунными эффекторными клетками; Н/П — неприменимо; PD — прогрессирующее заболевание; 1 р/2 нед — один раз в две недели; 1 р/нед — еженедельно; п/к — подкожно; SOC — системно-органный класс; Tal — талкветамаб.

Среди всех когорт «даратумумаб плюс талкветамаб» (1800 мг даратумумаб плюс талкветамаб (400 мкг/кг п/к 1 р/нед, или 400 мкг/кг п/к 1 р/2 нед, или

800 мкг/кг п/к 1 р/2 нед)) явлений синдрома высвобождения цитокинов (CRS) 3 или 4 степени не было. Все явления CRS были ограничены 1 и 2 степенями и в основном ограничивались повышающими и полными дозами талкветамаба. Все явления CRS разрешились. В таблице 15 представлены явления CRS.

- 5 **Таблица 15.** Явления синдрома высвобождения цитокинов (CRS) для всех когорт «даратумумаб плюс талкветамаб»

Параметр	Tal + Dara ^a (n = 63)
Пациенты с CRS, n (%)	45 (71,4)
Время до начала, дни ^b , медиана (диапазон)	2 (1–4)
Продолжительность, дни, медиана (диапазон)	2 (1–28)
Поддерживающие меры ^c , n (%)	40 (63,5)
Тоцилизумаб ^d	20 (31,7)
Стероиды	2 (3,2)
Кислород	3 (4,8)

^a Dara 1800 мг плюс Tal (400 мкг/кг 1 р/нед + 400 мкг/кг и 800 мкг/кг 1 р/2 нед);

^b Относительно самой последней дозы; ^c Пациент может получить

> 1 поддерживающей терапии; ^d Тоцилизумаб был разрешен для всех явлений CRS

- 10 1 р/2 нед — один раз в две недели; 1 р/нед — еженедельно.

В когорте «даратумумаб плюс талкветамаб 400 мкг/кг еженедельно» шесть (42,9%) участников прекратили лечение талкветамабом; четыре (28,6%) участника из-за прогрессирования заболевания, а 2 (14,3%) участника отказались от

15 дальнейшего лечения в рамках исследования. Четыре из 5 участников в когорте «даратумумаб плюс талкветамаб 400 мкг/кг каждые две недели» прекратили лечение по причине смерти (n = 2 [40%]), НЯВЛ (n = 1 [20%]) (нежелательные явления, возникшие во время лечения) и по решению врача (n = 1 [20%]). В когорте «даратумумаб плюс талкветамаб 800 мкг/кг каждые две недели» пять (11,4%)

20 участников прекратили лечение талкветамабом из-за прогрессирования заболевания, по одному (2,3%) по причине смерти, НЯВЛ и по решению врача.

Участники в каждой когорте даратумумаба плюс 400 мкг/кг еженедельно (n = 10 [71,4%]), 800 мкг/кг два раза в неделю (n = 34 [77,3%]) п/к талкветамаба и 400 мкг/кг один раз в две недели (n = 1 [20%]) испытывали явления CRS,

- 25 возникшего после начала лечения, все из которых были несерьезными, 1–

2 степени, и разрешились. Ни один из участников не испытывал симптомов CRS 3 или 4 степени, возникших после начала лечения. У всех участников, получавших талкветамаб п/к, за исключением одного в когорте «даратумумаб плюс талкветамаб 400 мкг/кг еженедельно», наблюдалось ≥ 1 НЯВЛ.

5 НЯВЛ были зарегистрированы у 14 (100%), 5 (100%) и 43 (97,7%)
участников в когортах даратумумаба в комбинации с талкветамабом 400 мкг/кг
еженедельно, 400 мкг/кг один раз в две недели и 800 мкг/кг один раз в две недели
соответственно. Самые высокие доли НЯВЛ составляли дисгевзия, лимфопения,
нейтропения, тромбоцитопения, заболевание ногтей, сыпь (у 3 участников была
10 степень ≥ 3), шелушение кожи и CRS. Наиболее распространенными
гематологическими НЯ всех степеней являлись анемия (46% любой степени, 22,2%
степени 3 или 4), тромбоцитопения (36,5% любой степени, 20,6% степени 3 или 4)
и нейтропения (34,9% любой степени, 25,4% степени 3 или 4). Наиболее
распространенными негематологическими НЯ всех степеней являлись CRS (71,4%
15 любой степени, 0 степени 3 или 4), дисгевзия (58,7% любой степени, степень 3 или
4 не применима), и сухость во рту (44,4% любой степени, 0 степени 3, степень 4 не
применима). 34 (54%) участника испытали НЯВЛ, связанное с инфекцией; у 19%
участников было НЯВЛ ≥ 3 степени, связанное с инфекцией. НЯВЛ, связанными с
инфекцией, являлись пневмония, Covid-19 и инфекция верхних дыхательных
20 путей. Сообщалось о НЯВЛ, представляющих собой реакцию, связанную с
инъекцией, и все они были 1–2 степеней тяжести. У одного субъекта в когорте,
получавшей один раз в две недели 800 мкг/кг талкветамаба, наблюдалась DLT
(ограничивающая дозу токсичность).

25 Пятьдесят шесть участников во всех уровнях дозы талкветамаба и
даратумумаба имели ≥ 1 оценку заболевания после введения дозы по состоянию на
6 апреля 2022 г. (т. е. являлись пригодными для оценки эффективности). Ответы
включали 7 субъектов (12,5%) со строгим полным ответом (sCR), 9 субъектов
(16,1%) с полным ответом (CR), 20 субъектов (35,7%) с очень хорошим частичным
ответом (VGPR) и 9 субъектов (16,1%) с частичным ответом (PR). Дополнительно 8
30 субъектов (14,3%) имели стабильное заболевание и 3 субъекта (5,4%) имели
прогрессирующее заболевание в качестве наилучшего ответа. Общая частота
ответов у пациентов, получавших даратумумаб и талкветамаб, составила 80,4%
(45 субъектов). Сводная информация об общей частоте ответов у пациентов,
получавших 400 и 800 мкг/кг талкветамаба, представлена в таблице 10.

Для субъектов, получавших лечебную дозу 1800 мг п/к даратумумаба и 400 мкг/кг п/к талкветумаба еженедельно (n = 14 оцениваемых субъектов), ответы включали 2 субъекта (14,3%) с sCR, 2 субъекта (14,3%) с CR, 4 субъекта (28,6%) с VGPR, 2 субъекта (14,3%) с PR и 4 субъекта (28,6%) со стабильным заболеванием.

5 Для субъектов, получавших лечебную дозу 1800 мг п/к даратумумаба и 400 мкг/кг п/к талкветумаба каждые две недели (n = 5 оцениваемых субъектов), ответы включали 1 субъекта (20%) с CR, 3 субъекта (60%) с VGPR и 1 субъекта (20%) с прогрессирующим заболеванием. Для субъектов, получавших лечебную дозу 1800 мг п/к даратумумаба и 800 мкг/кг п/к талкветумаба каждые две недели (n = 37

10 оцениваемых субъектов), ответы включали 5 субъектов (13,5%) с sCR, 6 (16,2%) с CR, 13 субъектов (35,1%) с VGPR, 7 субъектов (18,9%) с PR и 4 субъекта (28,6%) со стабильным заболеванием. См. таблицу 11 для получения дополнительной информации о пациентах, получавших даратумумаб и талкветумаб (400 мкг/кг еженедельно или 400 мкг/кг и 800 мкг/кг один раз в две недели).

15 Следовательно, лечение даратумумабом (1800 мг) и талкветумабом (400 мкг/кг еженедельно или 400 мкг/кг или 800 мкг/кг один раз в две недели) продемонстрировало предварительную эффективность у пациентов с множественной миеломой, получавших интенсивное предварительное лечение (включая пациентов с предшествующим анти-CD38-лечением). Медианное время

20 последующего наблюдения составило 5,59 месяца (диапазон: 0,2–19,6). Ответы возникали рано (в течение 1 месяца) и продолжали усиливаться с течением времени. Доля ответов у пациентов, которые получали ≥ 1 исследуемого препарата и имели ≥ 1 оценку ответа после определения исходного уровня, показана на Фиг. 2. Медианное время до первого подтвержденного ответа составило 1 месяц

25 (диапазон: 0,9–6,5). Ответы были стойкими и усиливались с течением времени (Фиг. 8). Смертельных случаев из-за прогрессирующего заболевания (PD) в когортах дозирования талкветумаба и даратумумаба не было. Во время медианного периода последующего наблюдения в течение 6,5 месяца (диапазон 1,6–19,6) 37/41 пациентов (90,2%) продолжали получать лечение. Следует обратить

30 внимание на то, что 31 из 41 ответивших на лечение пациентов (75,6%) ранее подвергались воздействию анти-CD38.

Данные по биомаркерам указывали на фармакодинамические изменения, характерные для механизма действия талкветумаба и даратумумаба, которые соответствовали монотерапии талкветумабом. Они включали в себя

перераспределение Т-клеток, о чем свидетельствуют изменения абсолютного числа Т-клеток CD3+, и повышенную экспрессию нескольких маркеров активации Т-клеток, таких как PD-1, LAG-3, TIM-3, HLA-DR, CD38 и CD25 на Т-клетках CD3+. В частности, доля Т-клеток CD38+/CD8+ уменьшилась после первоначального введения даратумумаба в C1D1, что согласуется с предыдущими данными для даратумумаба, но, в частности, введение талкветумаба приводило к индукции Т-клеток CD38+ CD8 + после начальных доз талкветумаба, несмотря на одновременное введение даратумумаба. Повышение уровня цитокинов также наблюдалось после введения талкветумаба и даратумумаба, что согласовывалось с показателями, отмеченными при монотерапии талкветумабом; они включали ИЛ-10, ИЛ-6 и ИЛ-2R α . Кроме того, фармакокинетический профиль талкветумаба в присутствии даратумумаба соответствовал профилю, наблюдаемому при монотерапии талкветумабом фазы 1.

Наблюдалось временное снижение количества Т-клеток на ранней стадии после введения талкветумаба и даратумумаба, за которым последовало восстановление количества Т-клеток в течение одной недели (Фиг. 5). Также наблюдалось увеличение количества Т-клеток к дню 1 цикла 3 (C3D1). Кроме того, активацию Т-клеток индуцировали комбинацией талкветумаба с даратумумабом (Фиг. 6). Индукция провоспалительных цитокинов происходила после лечения даратумумабом и талкветумабом (Фиг. 7).

Предварительные данные также включали в себя результаты для: 8 участников, получавших 400 мкг/кг п/к талкветумаба еженедельно в комбинации с 1800 мг даратумумаба п/к и 4 мг помалидомида (Tal400qwDaraPom4); 18 участников, получавших 400 мкг/кг п/к талкветумаба еженедельно в комбинации с 1800 мг даратумумаба п/к и 2 мг помалидомида (Tal400qwDaraPom2); и 60 участников, получавших 800 мкг/кг п/к талкветумаба один раз в две недели в комбинации с 1800 мг даратумумаба п/к и 2 мг помалидомида (Tal800q2wDaraPom2). В когортах 400 мкг/кг и 800 мкг/кг два раза в неделю помалидомид вводили, начиная с дня 1 цикла 2. Дексаметазон вводили в качестве премедикации перед лечением во время ступенчатого наращивания дозы и для первой лечебной дозы талкветумабом п/к, а также в течение цикла 4. Демографические данные участников приведены в таблице 13. Подробная сводная информация о доле ответов у пациентов, получавших талкветумаб, даратумумаб и помалидомид, представлена в таблице 16.

Данные по безопасности представлены в 3 отдельных популяциях для талкветамаба с помалидомидом в комбинации с даратумумабом 1800 мг: талкветамаб 800 мкг/кг и 2 мг помалидомида, начиная с дня 1 цикла 2, с последующим увеличением до 4 мг в C4D1, если были соблюдены определенные критерии (когорты 19, n = 8), талкветамаб 400 мкг/кг еженедельно и помалидомид 4 мг, начиная с дня 15 цикла 1 (когорты 8, n = 8), и объединенная популяция — талкветамаб 400 мкг/кг еженедельно или талкветамаб 800 мкг/кг еженедельно с Rom 2 мг, начиная с дня 1 цикла 2 (когорты 12, 13 и 18, n = 50).

Из восьми участников, получавших талкветамаб 800 мкг/кг и Rom, начиная с дня 1 цикла 2, в комбинации с даратумумабом 1800 мг, пять (62,5%) участников сообщали о серьезных нежелательных явлениях. Пять (62,5%) участников испытывали CRS, все из которых были 1 степени. У шести участников (75%) было ≥ 1 НЯВЛ, наиболее распространенными явлениями были лимфопения (50%), головная боль (37,5%), шелушение кожи (25%) и дисгевзия (25%).

Из восьми субъектов, получавших даратумумаб в дозе 1800 мг с талкветамабом в дозе 400 мкг/кг еженедельно и Rom в дозе 4 мг, начиная с дня 1 цикла 4, было зарегистрировано одно явление DLT (тромбоцитопения). Четыре (50%) участника сообщили о серьезных нежелательных явлениях. Пять (62,5%) участников испытывали CRS, все из которых были 1–2 степени. Ни один из участников не сообщал о нейротоксичности, связанной с талкветамабом п/к. У восьми участников (100%) было ≥ 1 НЯВЛ, наиболее распространенными явлениями были нейтропения (75%), дисгевзия (75%), пирексия (75%), утомляемость (62,5%), анемия (50%), диарея (50%), головная боль (50%), сухость во рту (37,5%), снижение аппетита (37,5%), зуд (37,5%), заболевание ногтей (37,5%), бессонница (37,5%) и Covid-19 (37,5%).

Из 50 участников в объединенной популяции талкветамаба 400 мкг/кг еженедельно или талкветамаба 800 мкг/кг еженедельно с Rom 2 мг в комбинации с даратумумабом 1800 мг было зарегистрировано одно явление DLT (нейтропения). 22 (44%) участника сообщали о серьезных нежелательных явлениях. 34 (68%) участника испытывали CRS, все из которых были 1–2 степени. У 48 участников (96%) было ≥ 1 НЯВЛ. Наиболее распространенными явлениями были дисгевзия (72%), нейтропения (64%), сухость во рту (62%), шелушение кожи (44%), утомляемость (42%), лимфопения (36%), головная боль (34%), тромбоцитопения (30%) и анемия (30%).

Таблица 16. Сводная информация об общем наилучшем ответе на основе оценки исследователя для указанных когорт

TEFRESP02A1_ASH:	Сводная информация об общем наилучшем ответе на основе оценки исследователя; субъекты, пригодные для оценки ответа исследователями (исследование 64407564MMY1002)	
	Талкветамаб	
	400 мкг/кг (SC3 и SC6) + 800 мкг/кг (SC7 и SC15)	
Выборка для анализа: субъекты, пригодные для оценки ответа исследователями	56	
Категория по ответу		
Строгий полный ответ (sCR)	7 (12,5%)	
Неподтвержденный	0	
Полный ответ (CR)	9 (16,1%)	
Неподтвержденный	3	
Очень хороший частичный ответ (VGPR)	20 (35,7%)	
Неподтвержденный	5	
Частичный ответ (PR)	9 (16,1%)	
Неподтвержденный	4	
Минимальный ответ (MR)	0	
Неподтвержденный	—	
Стабильное заболевание (SD)	8 (14,3%)	
Прогрессирующее заболевание (PD)	3 (5,4%)	
Не подлежит оценке (H/O)	0	
Общий ответ (sCR + CR + VGPR + P R)	45 (80,4%)	
Клиническая польза (общий ответ + MR)	45 (80,4%)	
VGPR или выше (sCR + CR + VGPR)	36 (64,3%)	
CR или лучше (sCR + CR)	16 (28,6%)	

TEFRESP02A1_ASH: Сводная информация об общем наилучшем ответе на основе оценки исследователя; субъекты, пригодные для оценки ответа исследователями (исследование 64407564MMY1002)

Талкветамаб
400 мкг/кг (SC3 и SC6) +
800 мкг/кг (SC7 и SC15)

Субъекты, пригодные для оценки ответа исследователями: субъекты получали по меньшей мере одно исследуемое лечение и имели по меньшей мере одну оценку ответа после определения исходного уровня.

Примечание. Ответ был оценен исследователями на основе критериев IMWG.

Подтвержденный ответ требует по меньшей мере двух последовательных идентичных оценок ответа исследователями.

Неподтвержденные ответившие на лечение пациенты не имеют двух последовательных оценок ответа исследователями для подтверждения ответа на момент этого обзора данных.

Процентные значения рассчитывали с числом испытуемых в каждой группе в качестве знаменателя.

[TEFRESP02A1_ASH.RTF] [JNJ-64407564\MMY1002\DBR_TAL_EOP2\RE_TAL_EOP2\PROD\TEFRESP02A1_ASH.SAS] 20SEP2021, 15:36

Таблица 17. Сводная информация об общем наилучшем ответе на основе оценки исследователя (ответы субъектов, пригодных для оценки ответа исследователями)

TEFRESP02A1: Сводная информация об общем наилучшем ответе на основе оценки исследователя; субъекты, пригодные для оценки ответа исследователями (исследование 64407564MMY1002)

	Талкветамаб							
	п/к еженедельно		п/к один раз в две недели				В общей сумме (полн. показатель)	
Выборка для анализа: субъекты, пригодные для оценки ответа исследователями	Pom 4 мг del + D Dara 1800 м г + Tal 400 мк г/кг	Pom 2 мг + Dara 1800 м г + Tal 400 мк г/кг C2D1	Dara 1800 м г + Tal 400 мк г/кг C2D1	Dara 1800 м г + Tal 800 мк г/кг C1D15	Pom 2 мг + Dara 1800 м г + Tal 800 мк г/кг C2D1	Tal, общее число		186
	14	8	18	5	37	26	108	186

TEFRESP02A1: Сводная информация об общем наилучшем ответе на основе оценки исследователя; субъекты, пригодные для оценки ответа исследователями (исследование 64407564MMY1002)

	Талкветамаб							В общей сумме (полн. показа- тель)
	п/к еженедельно			п/к один раз в две недели				
	Pom 4 мг del + D		Pom 2 мг + Dara	Dara		Pom 2 мг + Dara		
	Dara 1800 м г + Tal 400 мк г/кг	aga 1800 м г + Tal 400 мк г/кг	1800 м г + Tal 400 мк г/кг C2D1	1800 м г + Tal 400 мк г/кг C2D1	1800 м г + Tal 800 мк г/кг C1D15	1800 м г + Tal 800 мк г/кг C2D1	Tal, общее число	
Ста- биль- ное заболе- вание (SD)	4 (28,6%)	0	2 (11,1%)	0	4 (10,8%)	5 (19,2%)	15 (13,9%)	29 (15,6%)
Прогрес- сирую- щее заболе- вание (PD)	0	0	0	1 (20,0%)	2 (5,4%)	1 (25,0%)	4 (3,7%)	11 (5,9%)
Не подле- жит оценке (N/O)	0	0	0	0	0	0	0	1 (1,2%)
Общий ответ (sCR + CR + V GPR + PR)	10 (71,4%)	8 (100%)	16 (88,9%)	4 (80,0%)	31 (83,8%)	20 (76,9%)	89 (82,4%)	146 (78,5%)
Клини- ческая польза (общий ответ + MR)	10 (71,4%)	8 (100%)	16 (88,9%)	4 (80,0%)	31 (83,8%)	20 (76,9%)	89 (82,4%)	146 (78,5%)
VGPR или выше (sCR + CR + V GPR)	8 (57,1%)	7 (87,5%)	11 (61,1%)	3 (60,0%)	24 (64,9%)	17 (65,4%)	71 (65,7%)	124 (66,7%)

TEFRESP02A1: Сводная информация об общем наилучшем ответе на основе оценки исследователя; субъекты, пригодные для оценки ответа исследователями (исследование 64407564MMY1002)

Талкветамаб								
п/к еженедельно		п/к один раз в две недели						
Pom 4 мг del + D		Pom 2 мг + Dara		Pom 2 мг + Dara		В		
Dara	ara	1800 м	1800 м	1800 м	1800 м	общей		
1800 м	1800 м	г + Tal	г + Tal	г + Tal	г + Tal	сумме		
г + Tal	г + Tal	400 мк	400 мк	800 мк	800 мк	Tal,	(полн.	
400 мк	400 мк	г/кг	г/кг	г/кг	г/кг	общее	показа-	
г/кг	г/кг	C2D1	C2D1	C1D15	C2D1	число	тель)	
CR или лучше (sCR + CR)	4 (28,6%)	3 (37,5%)	3 (16,7%)	1 (20,0%)	11 (29,7%)	6 (23,1%)	28 (25,9%)	46 (24,7%)

Субъекты, пригодные для оценки ответа исследователями: субъекты получали по меньшей мере одно исследуемое лечение и имели по меньшей мере одну оценку ответа после определения исходного уровня.

Примечание. Ответ был оценен исследователями на основе критериев IMWG.

Подтвержденный ответ требует по меньшей мере двух последовательных идентичных оценок ответа исследователями.

Неподтвержденные ответившие на лечение пациенты не имеют двух последовательных оценок ответа исследователями для подтверждения ответа на момент этого обзора данных.

Процентные значения рассчитывали с числом испытуемых в каждой группе в качестве знаменателя.

[TEFRESP02A1.RTF] [JNJ-64407564\MMY1002\DBR_TAL_EOP2\RE_TAL_EOP2\PROD\TEFRESP02A1.SAS] 20SEP2021, 15:36

Сорок четыре участника во всех уровнях доз талкветамаб, даратумумаба и помалидомида имели ≥ 1 оценку заболевания после введения дозы по состоянию на 6 апреля 2022 г. (т. е. были пригодны для оценки эффективности). Ответы включали 6 субъектов (13,6%) со строгим полным ответом (sCR), 3 субъекта (6,8%) с полным ответом (CR), 19 субъектов (43,2%) с очень хорошим частичным ответом (VGPR) и 8 субъектов (18,2%) с частичным ответом (PR). Дополнительно 7 субъектов (15,9%) имели стабильное заболевание и 1 субъект (2,3%) имел прогрессирующее заболевание в качестве наилучшего ответа. См. также Фиг. 2.

Для субъектов, получавших лечебную дозу 1800 мг п/к даратумумаба и 400 мкг/кг п/к талкветамаб еженедельно и 4 мг помалидомида (n = 8 оцениваемых субъектов), ответы включали 1 субъекта (12,5%) с sCR, 2 субъекта (25%) с CR,

4 субъектов (50%) с VGPR и 1 субъекта (12,5%) с частичным ответом. Для субъектов, получавших лечебную дозу 1800 мг п/к даратумумаба и 400 мкг/кг п/к талкветумаба еженедельно и 2 мг помалидомида (n = 18 оцениваемых субъектов), ответы включали 3 субъекта (16,7%) с sCR, 8 субъектов (44,4%) с VGPR, 5
5 субъектов (27,8%) с PR и 2 субъекта (11,1%) со стабильным заболеванием. Для субъектов, получавших лечебную дозу 1800 мг п/к даратумумаба, 800 мкг/кг п/к талкветумаба каждые две недели и 2 мг помалидомида (n = 26 оцениваемых
10 субъектов), ответы включали 3 субъекта (11,5%) с sCR, 3 субъекта (11,5%) с CR, 11 субъектов (54,3%) с VGPR, 3 субъекта (11,5%) с PR, 5 субъектов (19,2%) со стабильным заболеванием и 1 субъекта (3,8%) с прогрессирующим заболеванием. Для когорты из восьми субъектов, получавших талкветумаб 400 мкг/кг еженедельно и помалидомид, 2 мг, а затем 4 мг, начиная с дня 1 цикла 4, по состоянию на 6 апреля 2022 г. данные об эффективности не были доступны.

В целом, данные были многообещающими и заслуживали дальнейшего
15 изучения. Следовательно, будет проведено исследование фазы 3, в котором будет исследоваться введение талкветумаба, даратумумаба п/к и помалидомида (Tal-Dara-Pom), по сравнению с талкветумабом и даратумумабом п/к (Tal-Dara), по сравнению с даратумумабом п/к, помалидомидом и дексаметазоном (DPd) у пациентов с RRMM.

20 Специалистам в данной области техники будет очевидно, что предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения допускают множество изменений и модификаций и что такие изменения и модификации могут быть сделаны без отклонения от сущности изобретения. Таким образом, предполагается, что прилагаемые пункты формулы изобретения включают в себя
25 все указанные эквивалентные вариации, которые соответствуют истинной сущности и объему настоящего изобретения.

Описания каждого патента, патентной заявки и публикации, цитируемой или описанной в этом документе, включены в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включающий:
 - (1) введение субъекту биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в дозе от
5 60 мкг/кг до 1200 мкг/кг каждые 1–2 недели; и
 - (2) введение субъекту антитела к CD38 в дозе от 1200 мг до 2400 мг каждые
1–4 недели.
2. Способ по п. 1, включающий:
 - (1) подкожное введение субъекту биспецифического антитела
10 GPRC5DxCD3 в дозе от 300 мкг/кг до 1200 мкг/кг каждые 1–2 недели; и
 - (2) подкожное введение субъекту антитела к CD38 в дозе от 1600 мг до
2000 мг каждые 1–4 недели.
3. Способ по п. 2, дополнительно включающий подкожное введение субъекту
биспецифического антитела GPRC5DxCD3 в дозе, которая меньше, чем доза,
15 применяемая на стадии (1), перед стадией (1).
4. Способ по п. 2 или 3, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3
вводят субъекту подкожно в дозе около 300 мкг/кг, 400 мкг/кг, 450 мкг/кг,
500 мкг/кг, 550 мкг/кг, 600 мкг/кг, 700 мкг/кг, 750 мкг/кг, 800 мкг/кг, 850 мкг/кг,
900 мкг/кг, 950 мкг/кг или 1000 мкг/кг или в любой дозе от около 300 мкг/кг до
20 около 1000 мкг/кг один раз в неделю или один раз в две недели.
5. Способ по п. 4, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят
субъекту подкожно в дозе 400 мкг/кг один раз в неделю или один раз в две
недели или 800 мкг/кг один раз в две недели.
6. Способ по п. 5, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 вводят
25 субъекту подкожно в дозе 400 мкг/кг один раз в неделю или 800 мкг/кг один раз
в две недели.
7. Способ по любому из пп. 1–6, в котором антитело к CD38 вводят субъекту
подкожно в дозе 1800 мг один раз в неделю в течение периода лечения с
недели 1 по неделю 8, один раз в две недели в течение периода лечения с
30 недели 9 по неделю 24 и один раз в четыре недели после недели 24 лечения.
8. Способ по любому из пп. 1–7, в котором антитело к CD38 вводят или
обеспечивают для введения вместе с ${}^{\text{r}}\text{HuPH20}$, например около 30 000 ед.
 ${}^{\text{r}}\text{HuPH20}$.

9. Способ по любому из пп. 1–8, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит:

(1) GPRC5D-связывающий домен, содержащий переменную

область тяжелой цепи (VH), имеющую определяющие

5 комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) HCDR1,

HCDR2 и HCDR3 аминокислотных последовательностей с SEQ

ID NO: 27, SEQ ID NO: 28 и SEQ ID NO: 29 соответственно, и

переменную область легкой цепи (VL), имеющую

определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR)

10 LCDR1, LCDR2 и LCDR3 аминокислотных последовательностей
с SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31 и SEQ ID NO: 32

соответственно, и

(2) CD3-связывающий домен, содержащий VH, имеющую HCDR1,

HCDR2 и HCDR3 аминокислотных последовательностей с SEQ

15 ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 и SEQ ID NO: 19 соответственно, и VL,

имеющую LCDR1, LCDR2 и LCDR3 аминокислотных

последовательностей с SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 и

SEQ ID NO: 22 соответственно.

10. Способ по п. 9, в котором GPRC5D-связывающий домен содержит VH,

20 имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 33, и VL,

имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 34; причем CD3-

связывающий домен содержит VH, имеющую аминокислотную

последовательность с SEQ ID NO: 23, и VL, имеющую аминокислотную

последовательность с SEQ ID NO: 24.

25 11. Способ по п.10, в котором биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит

первую тяжелую цепь (HC1), имеющую аминокислотную последовательность с

SEQ ID NO: 35, первую легкую цепь (LC1), имеющую аминокислотную

последовательность с SEQ ID NO: 36, вторую тяжелую цепь (HC2), имеющую

аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 25, и вторую легкую цепь

30 (LC2), имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 26.

12. Способ по любому из пп. 1–11, в котором антитело к CD38 содержит VH,

имеющую HCDR1, HCDR2 и HCDR3 аминокислотных последовательностей с

SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 и SEQ ID NO: 9 соответственно, и VL, имеющую

LCDR1, LCDR2 и LCDR3 аминокислотных последовательностей с SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12 соответственно.

13. Способ по п. 12, в котором антитело к CD38 содержит VH, имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 5, и VL, имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 6.
14. Способ по любому из пп. 1–13, причем рак представляет собой множественную миелому.
15. Способ лечения множественной миеломы у субъекта, нуждающегося в этом, включающий:
- 10 (1) подкожное введение субъекту 400 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 еженедельно или 800 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 один раз в две недели и
- (2) подкожное введение субъекту 1800 мг антитела к CD38 один раз в неделю в течение периода лечения с недели 1 по неделю 8, один раз в две недели в течение периода лечения с недели 9 по неделю 24 и один раз в четыре недели после недели 24 лечения,
- 15 причем биспецифическое антитело GPRC5DxCD3 содержит первую тяжелую цепь (HC1) с SEQ ID NO: 35, первую легкую цепь (LC1) с SEQ ID NO: 36, вторую тяжелую цепь (HC2) с SEQ ID NO: 25 и вторую легкую цепь (LC2) с SEQ ID NO: 26, и антитело к CD38 содержит HC с SEQ ID NO: 13 и LC с SEQ ID NO: 14.
- 20 16. Способ по п. 15, дополнительно включающий подкожное введение субъекту одной или более повышающих доз биспецифического антитела GPRC5DxCD3, таких как 10 мкг/кг в день 2 лечения и 60 мкг/кг в день 4 лечения, до начальной дозы 400 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3 или подкожное введение субъекту одной или более повышающих доз биспецифического антитела GPRC5DxCD3, таких как 10 мкг/кг в день 2 лечения, 60 мкг/кг в день 4 лечения и 300 мкг/кг в день 8 лечения, до начальной дозы 800 мкг/кг биспецифического антитела GPRC5DxCD3.
- 25 17. Способ по любому из пп. 1–16, в котором субъект получил по меньшей мере одно предшествующее лечение в отношении множественной миеломы или у субъекта наблюдается рецидив или рефрактерность к по меньшей мере одному предшествующему лечению, причем предшествующее лечение может включать
- 30

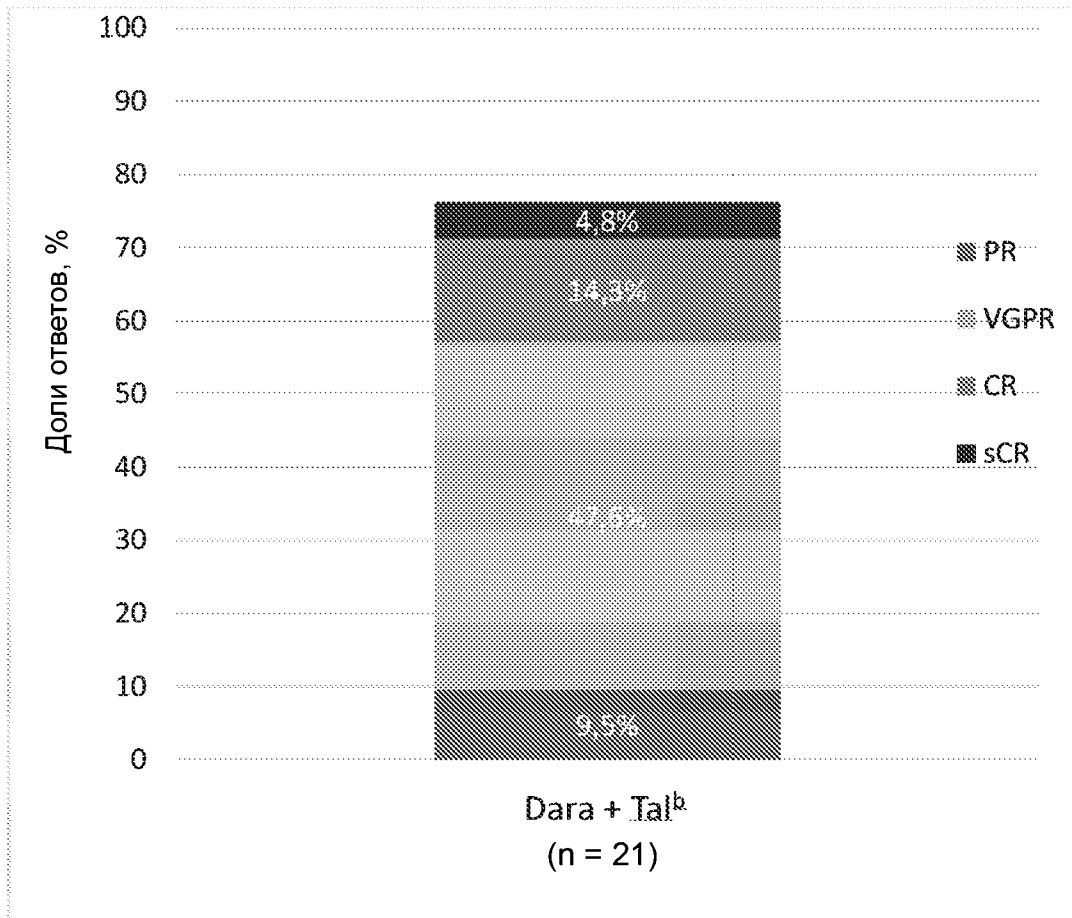
по меньшей мере одно из ингибитора протеасом (ИП) или иммуномодулирующего препарата (IMiD).

- 5 18. Способ по п. 17, в котором у субъекта наблюдается рефрактерность или рецидив по отношению к лечению, выбранному из группы, состоящей из антитела к CD38, леналидомида, бортезомиба, помалидомида, карфилзомиба, элутузумаба, иксазомиба, изатуксимаба, мелфалана и талидомида или любой их комбинации, предпочтительно у субъекта наблюдается рефрактерность к леналидомиду.
- 10 19. Способ по любому из пп. 1–18, дополнительно включающий введение субъекту дополнительного терапевтического средства, такого как помалидомид и/или дексаметазон.
- 15 20. Способ по любому из пп. 1–19, в котором лечение приводит к активации Т-клеток, такой как увеличение по меньшей мере одного из CD25, PD-1, CD38 на Т-клетках CD4 и CD8, или лечение приводит к увеличению частоты по меньшей мере Т-клеток CD38⁺ CD8⁺, Т-клеток CD38⁺ CD4⁺ и Т-регуляторных Т-клеток.

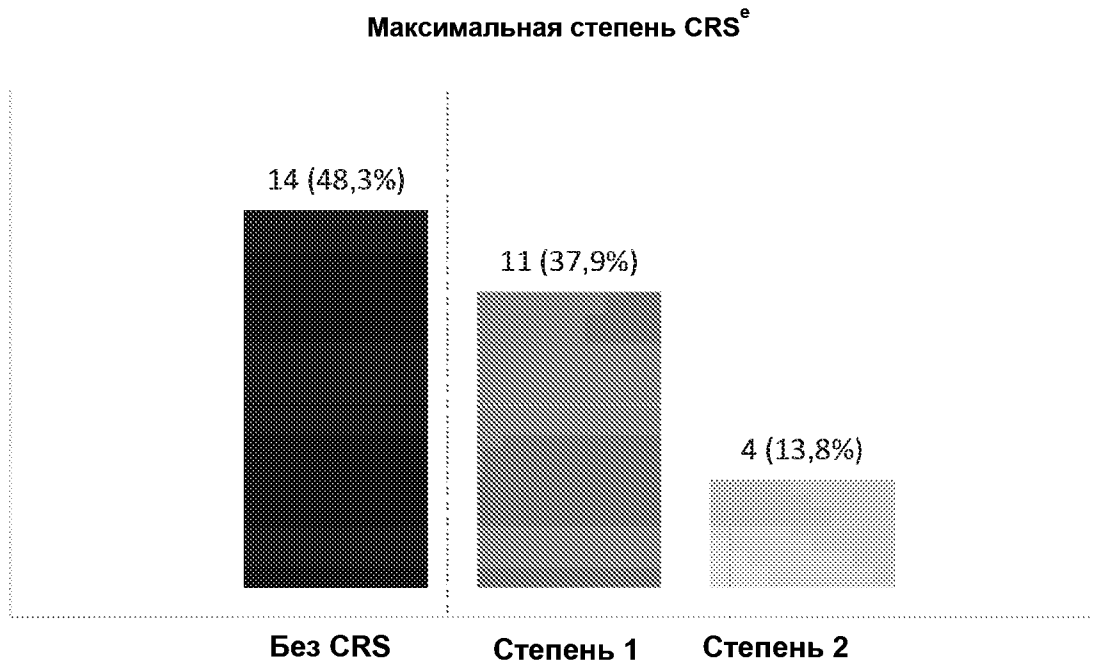


Сокращения: RP2D — рекомендованная доза для фазы 2.

ФИГ. 1

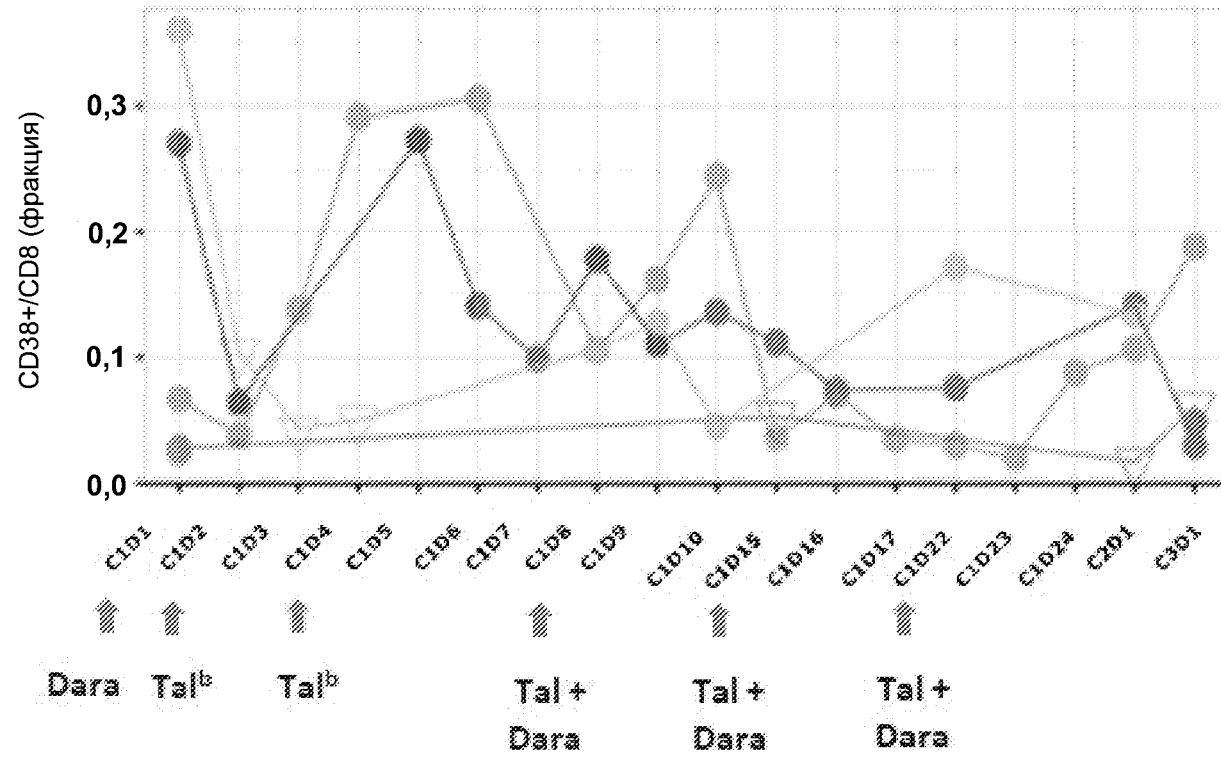
Доли ответов^a

ФИГ. 2



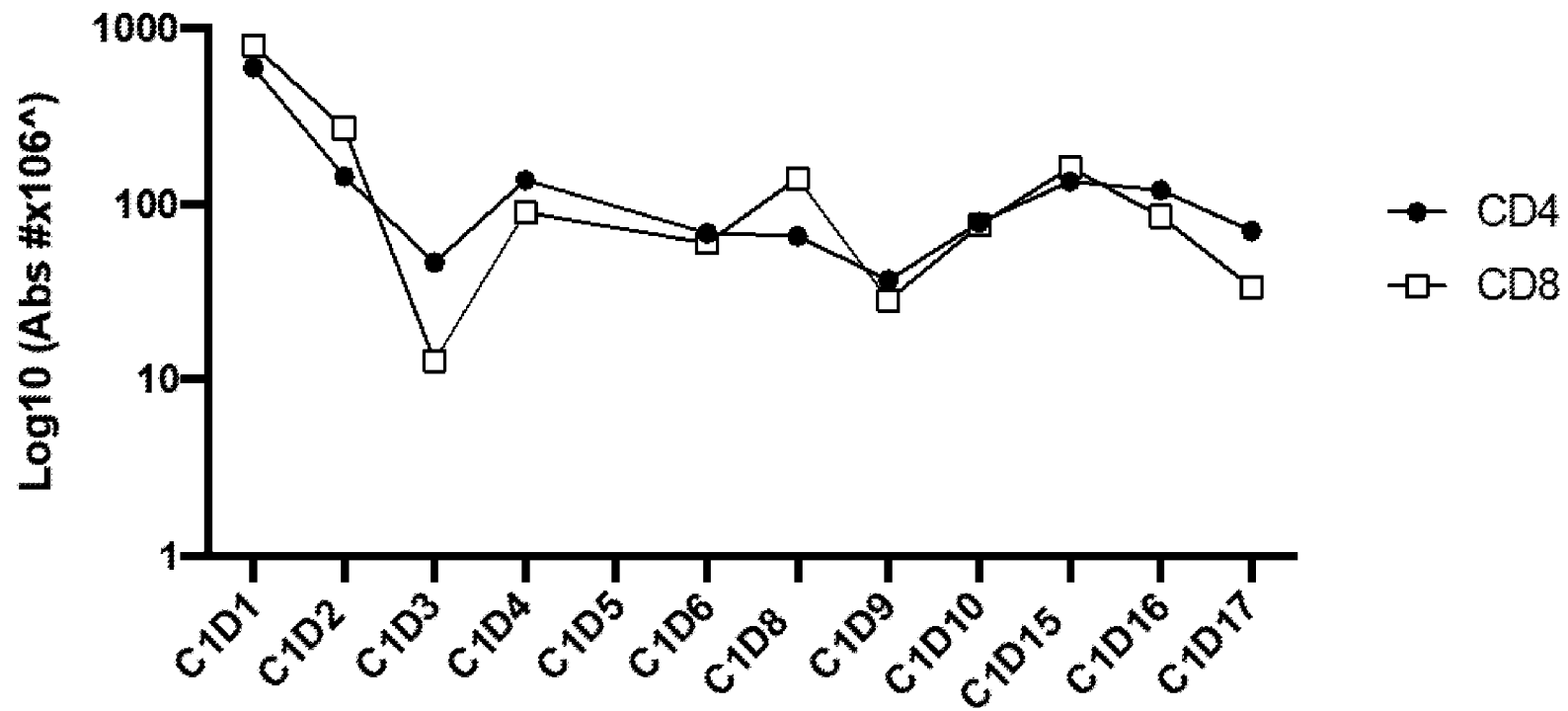
ФИГ. 3

Tal + Dara (n = 4)^a

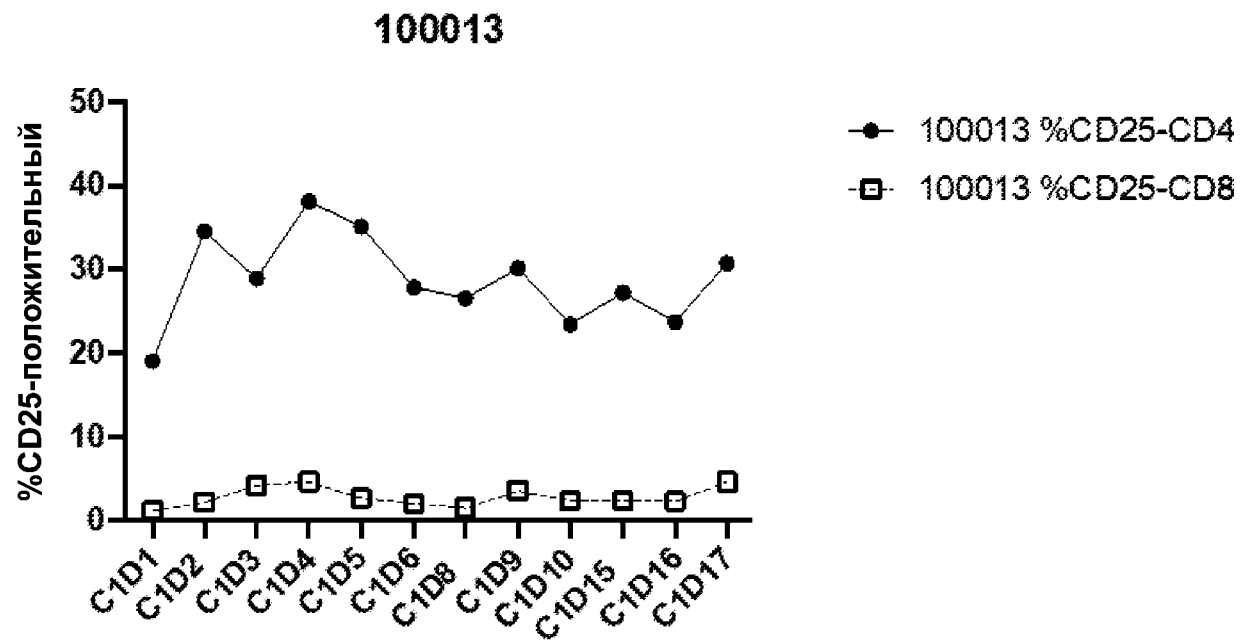


ФИГ. 4

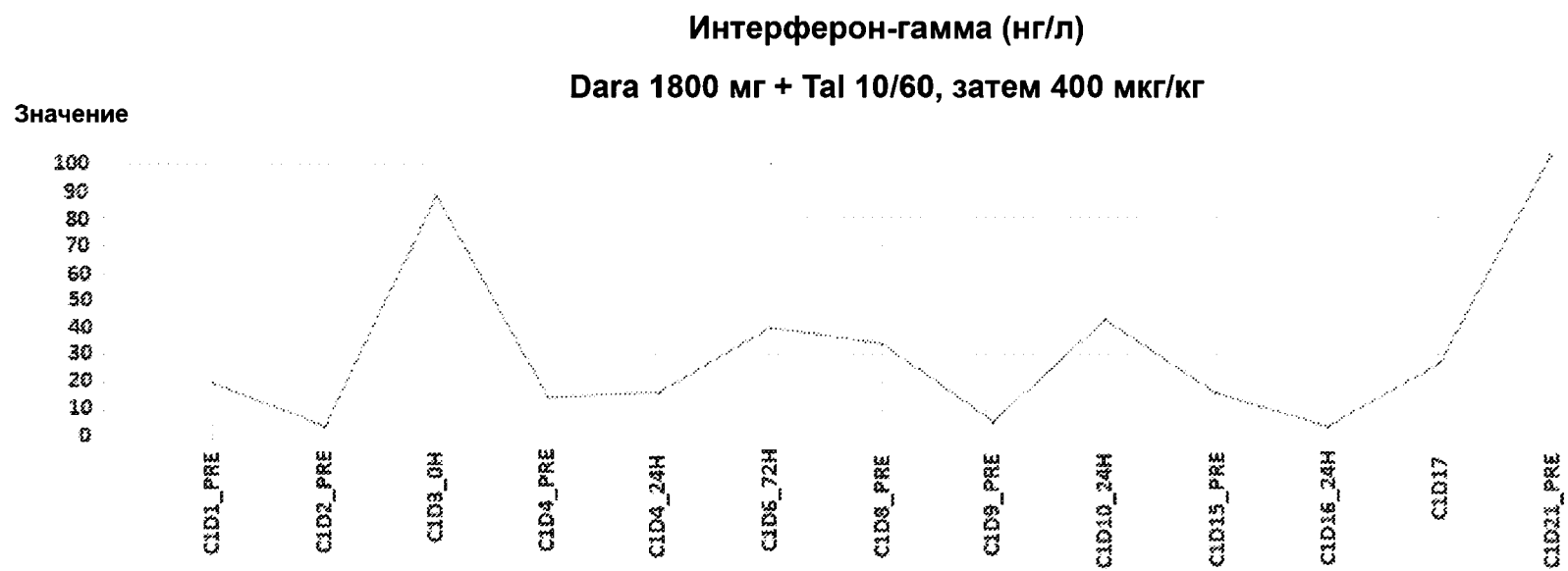
100013



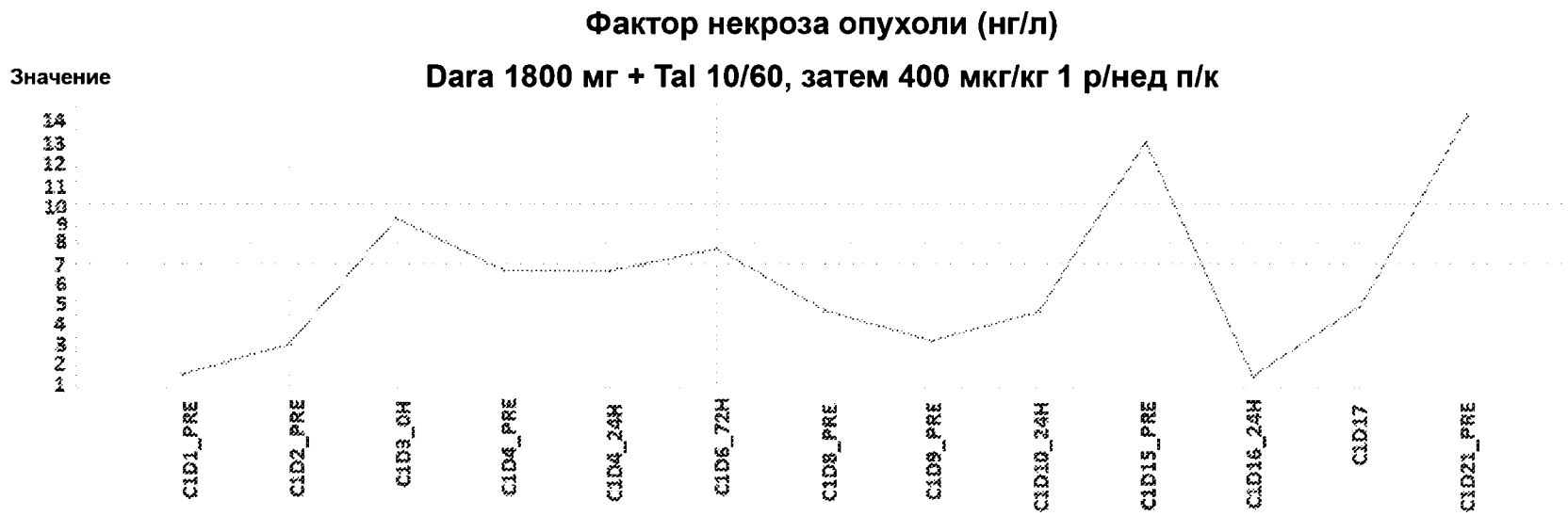
ФИГ. 5



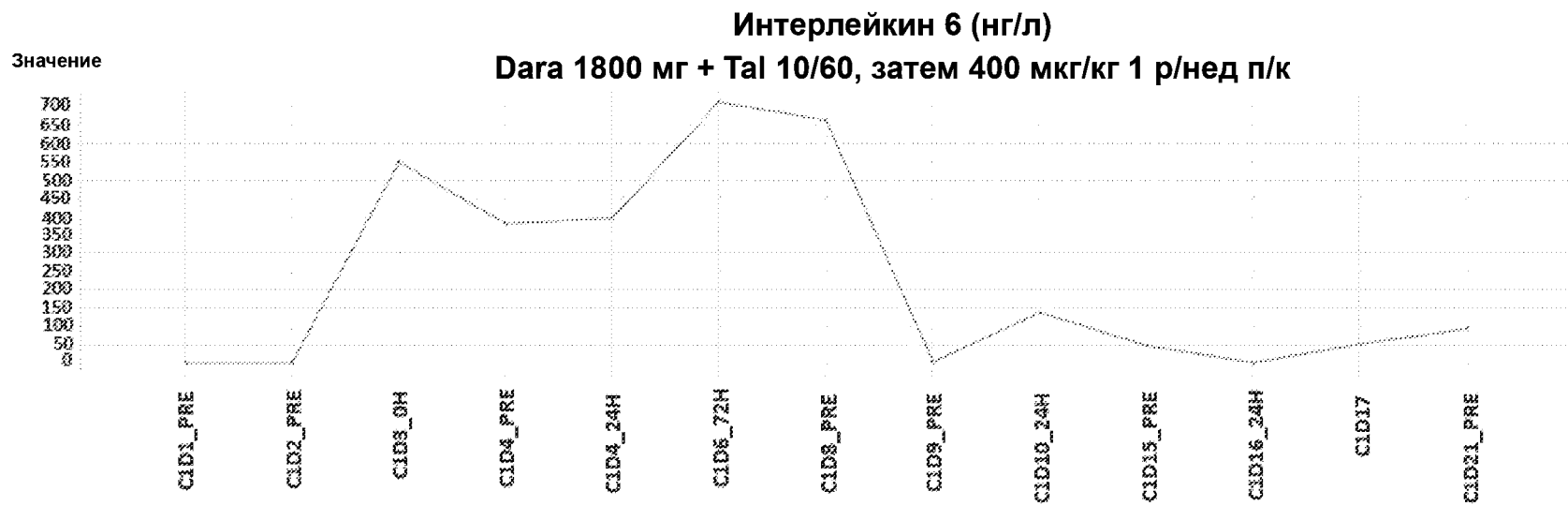
ФИГ. 6



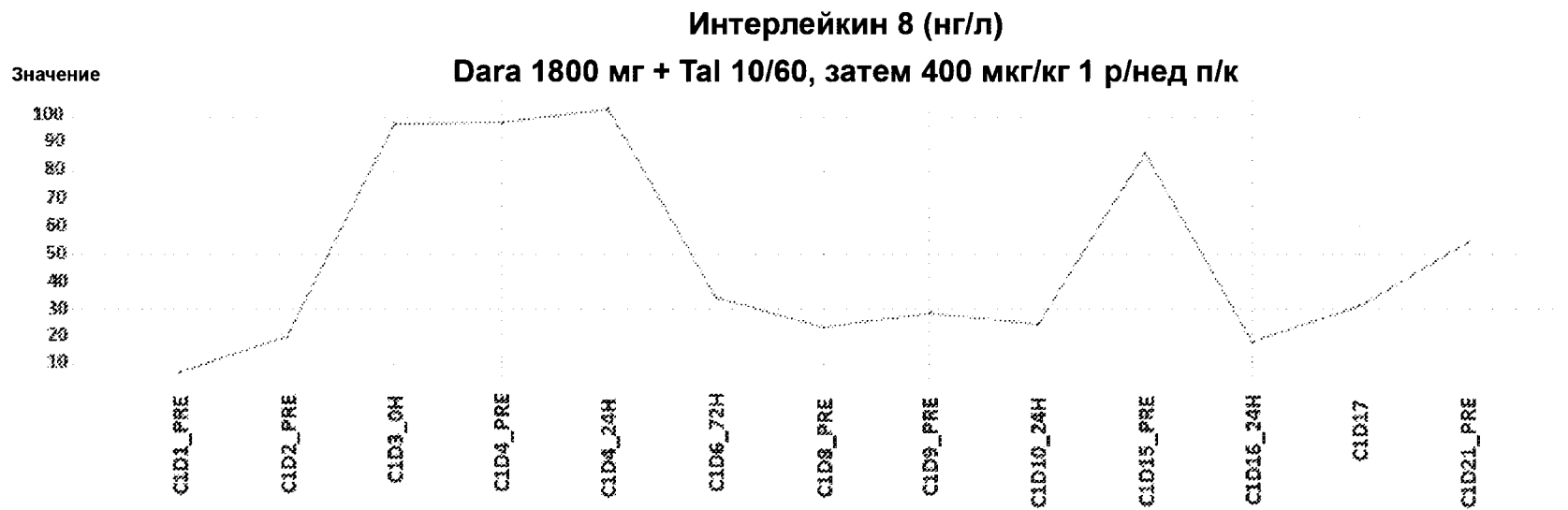
ФИГ. 7А



ФИГ. 7Б



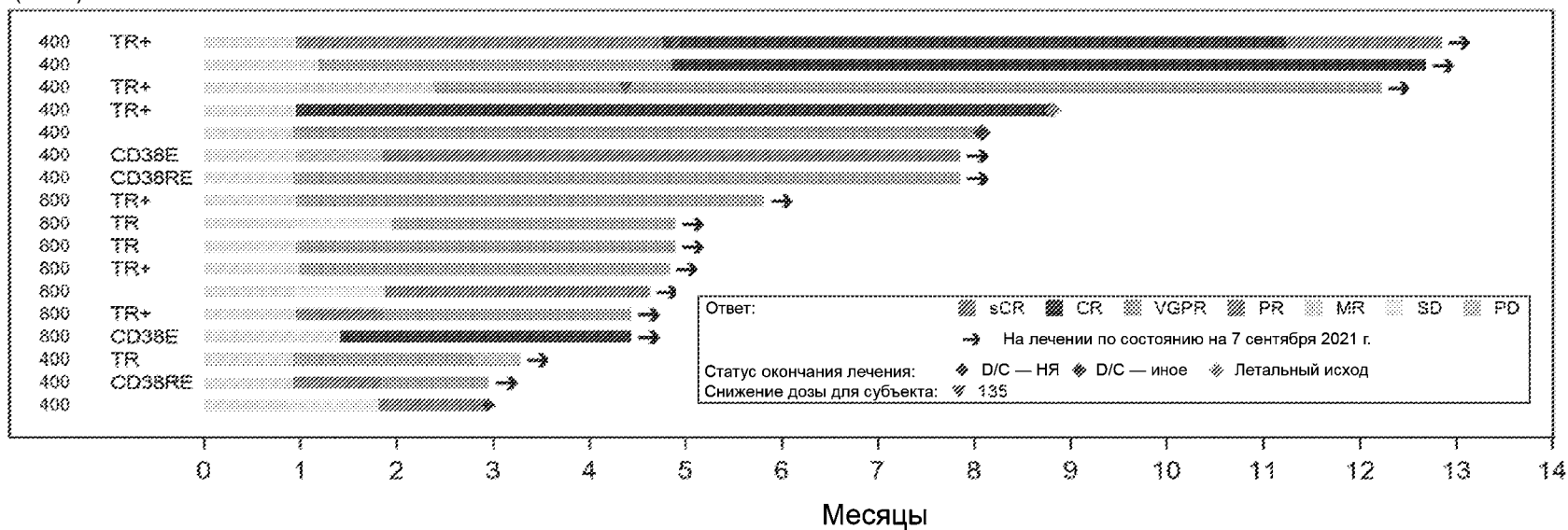
ФИГ. 7В



ФИГ. 7Г

Талкветамаб + даратумумаб

Уровень
дозы
(мкг/кг)



ФИГ. 8