



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **131326** (13) **C2**
(51) МПК (2026.01)

C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)
A61K 39/00
G01N 33/575 (2026.01)
A61P 35/02 (2006.01)
A61P 35/04 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2021 06887	(72) Винахідник(и): Куффер Крістіан (DE), Фінгерле - Роусон Гюнтер (DE), Віндерліг Марк (DE), Енделль Ян (DE)
(22) Дата подання заявки: 04.05.2020	(73) Володілець (володільці): ІНСАЙТ КОРПОРЕЙШН, 1801 Augustine Cut-Off, Wilmington, Delaware 19803, United States of America (US)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 22.10.2026	(74) Представник: Бочаров Максим Анатолійович, реєстр. №367
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 19172495.4	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2017/207574 A1, 07.12.2017 W JURCZAK et al. Phase IIa study of the CD19 antibody MOR208 in patients with relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma. ANNALS OF ONCOLOGY. 09.02.2018. Vol. 29. No. 5. P. 1266-1272
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 03.05.2019	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: EP	
(41) Публікація відомостей про заявку: 12.01.2022, Бюл.№ 2	
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 21.10.2026, Бюл.№ 42	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/EP2020/062289, 04.05.2020	

(54) АНТИ-CD19-ТЕРАПІЯ У ПАЦІЄНТІВ З ОБМЕЖЕНОЮ КІЛЬКІСТЮ ПРИРОДНИХ КЛІТИН-КІЛЕРІВ**(57) Реферат:**

Винахід стосується анти-CD19 антитіла для застосування в лікуванні гемобластозу у суб'єкта-людини, причому у суб'єкта-людини кількість НК-клітин у периферичній крові на вихідному рівні становить менше ніж 50 НК-клітин/мкл.

UA 131326 C2

Галузь техніки винаходу

Цей винахід спрямований на визначення характеристик та біомаркерів у пацієнтів, які отримують лікування анти-CD19 антитілами. Крім того, цей винахід стосується анти-CD19 антитіл для лікування лейкемії або лімфоми у пацієнтів з обмеженою кількістю природних клітин-кілерів.

Рівень техніки

CD19 являє собою трансмембранний глікопротеїн із молекулярною масою 95 кДа з надсімейства імуноглобулінів, що містить два позаклітинні імуноглобуліноподібні домени і довгий цитоплазматичний хвіст. Білок являє собою поверхневий рецептор, присутній на всіх В-лімфоцитах і масово експресований, починаючи з ранніх стадій розвитку попередника В-клітин і далі до зниження його кількості в ході кінцевого диференціювання в плазматичні клітини. Зазначений рецептор є лінійно-специфічним для В-лімфоцитів і не експресується на гемопоетичних стовбурових клітинах та інших імунних клітинах, за винятком деяких фолікулярних дендритних клітин. CD19 діє як позитивний регулятор передачі сигналів В-клітинного рецептора (BCR) і відіграє важливу роль в активації та проліферації В-клітин, а також у розвитку гуморальних імунних відповідей. Спільно з CD21 і CD81 він виступає в ролі коstimулюючої молекули і має вирішальне значення для В-клітинних відповідей на Т-залежні антигени. Цитоплазматичний хвіст CD19 структурно зв'язаний із сімейством тирозинкіназ, які індують низхідні сигнальні шляхи за допомогою Src-сімейства білків тирозинкіназ. CD19 є привабливою мішенню для пухлин лімфоїдного походження через свою високу експресію при всіх хронічних лімфоцитарних лейкозах (CLL) і неходжкінських лімфомах (NHL), а також при багатьох інших різних видах лейкозів, включно з гострим лімфоцитарним лейкозом (ALL) і висооклітинним лейкозом (HCL).

MOR00208 (колишня назва: XmAb®5574) являє собою гуманізоване моноклональне антитіло, націлене на антиген CD19, який являє собою трансмембранний білок, що бере участь у передачі сигналу через В-клітинний рецептор. Для посилення антитілозалежної клітинно-опосередкованої цитотоксичності (ADCC) була сконструйована Fc-ділянка IgG MOR00208, тим самим зробивши кращим ключовий механізм лізису пухлинних клітин та забезпечивши можливість підвищеної ефективності порівняно зі звичайними антитілами, тобто антитілами без посилення. MOR00208 вивчали або вивчають в цей час у кількох клінічних дослідженнях, як-от дослідження CLL, ALL та NHL. У деяких із цих досліджень MOR00208 застосовували в комбінації з ідеалісібом, леналідомідом або венетоклаком.

У фазі II/III дослідження, званого В-MIND, вивчали ефективність та безпеку MOR00208 у комбінації з бендамустином (BEN) серед дорослих пацієнтів із рецидивною або рефрактерною дифузною В-великоклітинною лімфомою (r-r DLBCL). У цьому дослідженні комбінацію MOR00208 та BEN порівнювали з комбінацією ритуксимабу (RTX) та BEN. Химерне мишаче/людське антитіло ритуксимаб спочатку було схвалено в 1997 р. Управлінням з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів і медикаментів США (FDA) для лікування пацієнтів із рецидивуючим або рефрактерним низьким ступенем злоякісності або фолікулярної CD20-позитивної В-клітинної неходжкінської лімфоми (NHL). У Європі ритуксимаб був схвалений для лікування пацієнтів із NHL в 1998 р.

Останнім часом збільшилися можливості лікування пацієнтів із В-клітинними злоякісними новоутвореннями, і на численних випадках гемобластозів була продемонстрована клінічна ефективність моноклональних антитіл (mAb) та моноклональної терапії, головним чином у комбінації з хімотерапевтичними препаратами. Однак у відповідь на хімотерапію в комбінації з антитілами значна кількість пацієнтів із В-клітинними злоякісними новоутвореннями виявляються резистентними або мають рецидив після початкової ремісії пухлини. Загалом спостерігається різноманітна частота відповідей пацієнтів на терапію антитілами, заснована на різних профілях пацієнтів. Для подальшої оптимізації успішної терапії потрібні додаткові способи для точного прогнозування у пацієнтів ймовірної відповіді та/або найкращої відповіді на терапію зазначеними антитілами. Можуть бути виявлені конкретні біомаркери або характеристики пацієнта, щодо яких конкретна концентрація або діапазон для кожного біомаркера корелюють з чутливістю до зазначеної терапії.

Таким чином, існує потреба у способі з використанням біомаркерів або спеціальних характеристик пацієнта у зв'язку з лікуванням злоякісної пухлини методами терапії, що включають анти-CD19 антитіла.

Коротке викладення суті винаходу

Вплив числа природних клітин-кілерів (NK) (NKCC) на виживаність пацієнтів із DLBCL, які отримували як лікування ритуксимаб, циклофосфамід, доксорубіцину гідрохлорид (гідроксидауноміцин), вінкрестину сульфат (онковін) і преднізон (застосування їх комбінації

відоме як "R-CHOP"), оцінювалося у роботі Kim et al. (Blood Research, 49:3, 162-169 (Вересень 2014 р.)). Раніше повідомлялося про те, що число NK-клітин у периферичній крові було асоційовано з клінічним результатом у пацієнтів із DLBCL, які мають aalPI (скоригований за віком Міжнародний прогностичний індекс) 2–3 (Plonquet et al., Ann Oncol 2007; 18:1209-15).

На сьогоднішній день з'явилися дані, що вказують на прогностичну цінність показників NKCC на вихідному рівні для лікування В-клітинної лімфоми в режимах, що містять анти-CD20 антитіла (He et al., Blood Cancer J. 2016 Aug; 6(8); Kim et al., Blood Res. 2014 Sep;49(3):162-9; Klanova et al., Blood 2017 130:727). У великих дослідженнях із залученням більш ніж 2 000 пацієнтів із раніше нелікованим FL та DLBCL (GALLIUM, GOYA) за допомогою багатоваріаційного аналізу було показано, що показник NKCC на вихідному рівні є незалежним прогностичним параметром. У пацієнтів із високим показником NKCC на вихідному рівні спостерігали кращі прогнози порівняно з пацієнтами з низьким показником NKCC. У більшості досліджень межі вибирали на основі найвищого диференціального ефекту між двома підгрупами та постійно складали близько 100 NK-клітин/мкл крові. У цілому, позитивний прогноз при терапії анти-CD19 антитілами пацієнтів із високим показником NKCC (> 100 NK-клітин/мкл крові) був також описаний у патенті WO2017/207574, а в дослідженні MOR00208C201 межа щонайменше в 100 NK-клітин/мкл крові була застосована як прогностичний показник для результату лікування у вигляді монотерапії MOR00208 при DLBCL та FL.

Однак також є значне число пацієнтів із низьким показником NKCC, які страждають на гемобластоз. Отже, їх розглядають як пацієнтів із несприятливим прогнозом, що ґрунтуються на низькому показнику у них NKCC, що створює в медицині високу нереалізовану потребу для цієї конкретної підгрупи пацієнтів.

Цей винахід стосується покращених способів лікування пацієнтів із низьким показником NKCC, які страждають на В-клітинні злоякісні новоутворення, як-от неходжкінська лімфома (NHL), хронічний лімфоцитарний лейкоз (CLL) та/або гострий лімфобластний лейкоз (ALL). Цей винахід, зокрема, стосується антитіла, специфічного до CD19, для лікування В-клітинних злоякісних новоутворень, як-от неходжкінська лімфома, хронічний лімфоцитарний лейкоз та/або гострий лімфобластний лейкоз у пацієнтів із низьким показником NKCC.

У цьому винаході ADCC-активність MOR00208 була порівняна з ADCC-активністю анти-CD20 антитіла ритуксимабу в клітинних лініях В-клітинної пухлини при різних співвідношеннях ефектор-мішень (Е:Т). Ритуксимаб можна назвати золотим стандартом лікування зазначених станів. Лінії клітин-мішеней були отримані з DLBCL, MCL і CLL з рівнями експресії CD19 і CD20, що перебувають в діапазоні рівнів експресії у зразках пацієнтів із В-клітинною пухлиною, як повідомлялося в роботах Boltežar et al. 2018 p., Ginaldi et al. 1998 p. і Olejniczak et al. 2006. Для встановлення можливої кореляції між переважанням MOR00208 над ритуксимабом і NKCC застосовувалися відповідні співвідношення Е:Т в аналізах ADCC на деяких клітинних лініях. Отримані дані показали збільшення відносної користі MOR00208 зі зменшенням співвідношень Е:Т, тим самим обґрунтовуючи перевагу застосування MOR00208 у підгрупі з низьким показником NKCC. На основі наявних даних про визначення межі, під підгрупою з низьким показником NKCC розуміють пацієнтів із числом NK-клітин на вихідному рівні, меншим або рівним 100 NK-клітин/мкл.

Таким чином, для пацієнтів із діагнозом В-клітинне злоякісне новоутворення, як-от неходжкінська лімфома, хронічний лімфоцитарний лейкоз та/або гострий лімфобластний лейкоз, з числом NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні меншим або рівним 100 клітин/мкл, лікування за допомогою MOR00208 з більшою ймовірністю є ефективним, порівняно з доступною терапією.

Згідно з цим винаходом запропоновано анти-CD19 антитіло для застосування в лікуванні пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл. В одному варіанті здійснення зазначений пацієнт є резистентним, без відповіді або без адекватної відповіді на лікування однієї та не більше трьох попередніх ліній терапії, включно з однією таргетною терапією анти-CD20 антитілами (наприклад, антитілом ритуксимаб). У додатковому варіанті здійснення зазначений пацієнт не підлягає високодозній хіміотерапії та аутотрансплантації стовбурових клітин. У переважному варіанті здійснення зазначений пацієнт є людиною.

У варіанті здійснення анти-CD19 антитіло для застосування в лікуванні пацієнтів із гемобластозом містить ділянку HCDR1, що включає в себе послідовність SYVMH (SEQ ID NO: 1), ділянку HCDR2, що включає в себе послідовність NPYNDG (SEQ ID NO: 2), ділянку HCDR3, що включає в себе послідовність GTYYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), ділянку LCDR1, що включає в себе послідовність RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), ділянку LCDR2, що включає в себе послідовність RMSNLNS (SEQ ID NO: 5) і ділянку LCDR3, що включає в себе послідовність

MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6).

У додатковому варіанті здійснення анти-CD19 антитіло для застосування в лікуванні пацієнтів із гемобластозом містить варіабельну ділянку важкого ланцюга з послідовністю

EVQLVESGGGLVPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEK
5 FQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYCYCARGTYYYGTRVFDYWGGQTLTVSS (SEQ ID NO: 7)

та варіабельну ділянку легкого ланцюга з послідовністю

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVP
DRFSGSGSGTEFTLTISLSEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 8).

10 В іншому варіанті здійснення цього винаходу анти-CD19 антитіло являє собою людське, гуманізоване або химерне антитіло. В іншому варіанті здійснення цього винаходу анти-CD19 антитіло належить до ізотипу IgG. В іншому варіанті здійснення антитіло являє собою IgG1, IgG2 або химерне IgG1/IgG2. В іншому варіанті здійснення цього винаходу ізотип анти-CD19 був сконструйований для посилення антитілозалежної клітинно-опосередкованої цитотоксичності. В
15 іншому варіанті здійснення константна ділянка важкого ланцюга анти-CD19 антитіла містить амінокислоти 239D і 332E, причому нумерація Fc відповідає EU-індексу, представленому в Kabat. В іншому варіанті здійснення антитіло являє собою IgG1, IgG2 або IgG1/IgG2, а константна ділянка химерного важкого ланцюга анти-CD19 антитіла містить амінокислоти 239D і 332E, причому нумерація Fc відповідає EU-індексу, представленому в Kabat.

20 У додатковому варіанті здійснення анти-CD19 антитіло для застосування в лікуванні пацієнтів із гемобластозом містить важкий ланцюг із послідовністю

EVQLVESGGGLVPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEK
FQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYCYCARGTYYYGTRVFDYWGGQTLTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL
25 GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPMLDSGDSFLLYSLKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 11)

і легкий ланцюг із послідовністю

30 DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVP
DRFSGSGSGTEFTLTISLSEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE
VTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 12)

Короткий опис графічних матеріалів

35 Фіг. 1. Репрезентативні аналізи ADCC MOR00208 та ритуксимабу при збільшуваних співвідношеннях Е:Т. Результати специфічного лізису, виражені у % загиблих клітин-мішеней, опосередкованого MOR00208 (чорний) або ритуксимабом (білий) та NK-клітинами від здорових донорів, зображені для трьох ліній клітин-мішеней MEC-1, JVM-2 та Toledo. Показані зразкові дані, отримані з NK-клітинами від одного репрезентативного донора в одиночному
40 експерименті. Планки та планки похибки відображають середнє геометричне значення та геометричне стандартне відхилення специфічного лізису, виміряних у трьох паралельних випробуваннях окремого експерименту.

Фіг. 2. Репрезентативні аналізи ADCC MOR00208 та ритуксимабу при збільшуваних співвідношеннях Е:Т. Відповідні співвідношення специфічного лізису, нормовані до ритуксимабу, опосередкованого MOR00208 (синій) або ритуксимабом (помаранчевий) та NK-клітинами від здорових донорів, зображені для трьох ліній клітин-мішеней MEC-1, JVM-2 та Toledo. Кореляційні діаграми ілюструють окремі значення співвідношення специфічного лізису при застосуванні MOR00208 (трикутник) та ритуксимабу (коло) порівняно з медіанним значенням при застосуванні ритуксимабу у репрезентативному експерименті. Пунктирна лінія
50 відображає середнє геометричне значення з 95 % довірчим інтервалом за методом бутстрап.

Фіг. 3. Співвідношення специфічного лізису при застосуванні MOR00208 та ритуксимабу з NK-клітинами, отриманими від 33 здорових донорів та клітинами MEC-1, JVM-2 та Toledo в аналізах ADCC при збільшуваних співвідношеннях Е:Т. ADCC-активність MOR00208 (білий трикутник) та ритуксимабу (чорне коло) аналізували з клітинами MEC-1 (8 донорів NK-клітин, 2 незалежні експерименти, 9 донорів NK-клітин у одиничних експериментах), JVM-2 (8 донорів NK-клітин, 2 незалежні експерименти на донора) і клітинами Toledo (10 донорів NK-клітин, 2 незалежні експерименти). Співвідношення специфічного лізису розраховували від % специфічного лізису, визначеного для кожного антитіла, шляхом нормування до медіанного значення ритуксимабу. Відповідні кола та трикутники відображають середнє геометричне
60 значення одного або двох незалежних експериментів, проведених у трьох паралельних

випробуваннях із NK-клітинами від одного окремого донора крові.

Детальний опис винаходу

Неходжкінська лімфома (NHL) являє собою гетерогенне злоякісне новоутворення, що виникає з лімфоцитів. У Сполучених Штатах (США) захворюваність обчислюється 65 000 випадків/рік, зі смертністю приблизно 20 000 (Американське онкологічне товариство (American Cancer Society), 2006 р.; та Огляд онкологічної статистики (Cancer Statistics Review) SEER). Захворювання може розвинути в будь-якому віці, з дебютом зазвичай у дорослих старше 40 років і з захворюваністю, що збільшується з віком. NHL характеризується клональною проліферацією лімфоцитів, які накопичуються в лімфатичних вузлах, крові, кістковому мозку та селезінці, при тому, що уражатися може будь-який великий орган. Системою класифікації, що застосовується на цей час патологами та клініцистами, є класифікація пухлин Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), яка відносить NHL до неоплазмів із клітин-попередників і зрілих В-клітин або Т-клітин. Для включення в клінічні дослідження на цей час PDQ підрозділяє NHL на повільно зростаючу та агресивну форми. Група повільно зростаючих NHL складається, в основному, з фолікулярних підтипів, дрібноклітинної лімфоцитарної лімфоми, MALT-лімфоми (лімфоїдна тканина слизових оболонок) і лімфоми маргінальної зони, і включає приблизно 50 % пацієнтів із вперше діагностованою В-клітинною NHL. Агресивна форма NHL включає пацієнтів з гістологічним діагнозом первинної дифузної В-великоклітинної лімфоми (DLBL, DLBCL або DLCL) (40 % пацієнтів із вперше діагностованим NHL мають дифузну великоклітинну форму), лімфоми Беркітта та мантийноклітинної лімфоми (MCL). Клінічний перебіг NHL вкрай варіабельний. Основною детермінантою клінічного перебігу є гістологічний підтип. Більшість повільно зростаючих варіантів NHL вважаються невиліковними захворюваннями. Спочатку пацієнти відповідають на хіміотерапію або терапію антитілами, але у більшості виникає рецидив. До цього часу в дослідженнях не доведено збільшення виживаності при ранньому втручанні. Відносно безсимптомних пацієнтів допустимим є тактика "спостереження та вичікування" доти, доки у пацієнта не з'являться симптоми або розвиток захворювання не прискориться. З часом захворювання може трансформуватися на більш агресивний гістологічний підтип. Медіана виживаності становить від 8 до 10 років, і пацієнти з пухлиною, що повільно зростає, часто отримують 3 або більше курсів лікування в ході фази лікування їх захворювання. Традиційно початкова стадія лікування симптомного пацієнта з повільно зростаючою NHL являла собою комбіновану хіміотерапію. Найчастіше застосовувані засоби включають: циклофосфамід, вінкрестин і преднізон (СVP), або циклофосфамід, адриаміцин, вінкрестин, преднізон (СНОР). Приблизно від 70 до 80 % пацієнтів відповідають на стартову хіміотерапію, при цьому тривалість ремісій становить близько 2-3 років. Зрештою, у більшості пацієнтів настає рецидив. Винахід та клінічне застосування анти-CD20 антитіла, ритуксимабу, значно підвищили частоту відповіді та показник виживаності. Сучасний стандарт лікування для більшості пацієнтів являє собою ритуксимаб + СНОР (R-CHOP) або ритуксимаб + CVP (R-CVP). Як було доведено, терапія ритуксимабом є ефективною відносно кількох варіантів NHL, і на цей час затверджена в якості терапії першої лінії як при повільно зростаючій (фолікулярна лімфома), так і при агресивній NHL (дифузна В-великоклітинна лімфома). Однак, існують суттєві обмеження для застосування анти-CD20 антитіла (mAb), що включають первинну резистентність (50 % відповідь у пацієнтів із рецидивами пухлини, що повільно зростає), набуту резистентність (50 % частота відповіді після відновлення лікування), рідкісна повна відповідь (2 % частота повної відповіді у популяції з рецидивами) та тривалий характер рецидиву. І, нарешті, багато з В-клітин не експресують CD20, а значить багато з порушень В-клітинної ланки не піддаються лікуванню за допомогою терапії анти-CD20 антитілами.

Крім NHL, існує кілька типів лейкозу, які є наслідком порушення регуляції В-клітин. Хронічний лімфоцитарний лейкоз (також відомий як "хронічний лімфолейкоз" або "CLL") являє собою вид лейкозу дорослих, викликаного патологічним скупченням В-лімфоцитів. При CLL злоякісні лімфоцити можуть бути нормальними і зрілими, але вони не здатні ефективно впоратися з інфекцією. CLL є найбільш частою формою лейкозу у дорослих. Серед чоловіків CLL розвивається вдвічі частіше, ніж серед жінок. Незважаючи на це, основним фактором ризику є вік. Понад 75 % нових випадків діагностують серед пацієнтів віком від 50 років. Щорічно діагностують понад 10 000 випадків, а смертність становить майже 5 000 випадків на рік (American Cancer Society, 2006 р.; SEER Cancer Statistics Review). CLL є невиліковним захворюванням, але здебільшого прогресує повільно. Багато людей з CLL ведуть нормальний та активний спосіб життя протягом багатьох років. Через повільний початок захворювання на CLL на ранній стадії зазвичай не лікують, оскільки передбачається, що втручання на ранній стадії CLL не збільшує час виживаності або не підвищує якість життя. Натомість спостерігають за станом у динаміці. Стартова терапія CLL варіюється в залежності від точного діагнозу та

прогресування захворювання. Існують десятки засобів, які застосовуються для терапії CLL. Режими комбінованої хіміотерапії, як-от FCR (флударабін, циклофосфамід та ритуксимаб) та BR (ібрутиніб та ритуксимаб), ефективні як при вперше діагностованій, так і при рецидивуючій формі CLL. Через наявний ризик алогенна трансплантація кісткового мозку (стовбурових клітин) рідко застосовується в якості терапії першої лінії CLL.

Іншим видом лейкозу є дрібноклітинна лімфоцитарна лімфома (SLL), яка вважається варіантом CLL без клонального лімфоцитозу, необхідного для діагнозу CLL, але при цьому має ті ж патологічні та імунофенотипічні властивості (Campo et al., 2011 г.). Згідно із визначенням, при SLL повинні бути присутніми лімфаденопатія та/або спленомегалія. Крім того, кількість В-лімфоцитів у периферичній крові не має перевищувати $5 \times 10^9/\text{л}$. Діагноз SLL, наскільки можливо, слід підтверджувати за допомогою патогістологічного дослідження біопсії лімфатичного вузла (Halleket al., 2008 p.). У США частка випадків із SLL становить приблизно 25 % від усіх випадків CLL (Dores et al., 2007 p.).

Іншим видом лейкозу є гострий лімфобластний лейкоз (ALL), також званий гострим лімфоцитарним лейкозом. ALL характеризується гіперпродукцією та безперервним розмноженням злякисних та незрілих лейкоцитів (також відомих як лімфобласти) у кістковому мозку. Термін "гострий" вказує на недиференційований, незрілий стан циркулюючих лімфоцитів ("бластні клітини"), а також на швидке прогресування захворювання із тривалістю життя від тижнів до місяців, якщо захворювання не лікують. ALL найчастіше зустрічається у дитячому віці з піком частоти в 4–5 років. Діти 12–16 років помирають від нього частіше, ніж діти інших вікових груп. На даний час щонайменше 80 % випадків ALL у дитячому віці вважаються виліковними. Щорічно діагностують до 4 000 випадків, а смертність становить майже 1 500 випадків на рік (American Cancer Society, 2006 p.; SEER Cancer Statistics Review).

Застосування антитіла до CD19 при неспецифічних В-клітинних лімфомах обговорено в WO2007076950 (US2007154473), причому обидва включені в цей документ за допомогою посилання. Застосування антитіла до CD19 при CLL, NHL та ALL описано в роботі Scheuermann et al. (CD19 Antigen in Leukemia and Lymphoma Diagnosis and Immunotherapy, Leukemia and Lymphoma, Vol. 18, 385-397 (1995)), яка включена в цей документ у повному обсязі шляхом посилання.

Додаткові антитіла, специфічні до CD19, описані в WO2005012493 (US7109304), WO2010053716 (US12/266,999) (Immunomedics); WO2007002223 (US US8097703) (Medarex); WO2008022152 (12/377,251) і WO2008150494 (Xencor), WO2008031056 (US11/852,106) (Medimmune); WO 2007076950 (US 11/648,505) (Merck Patent GmbH); WO 2009/052431 (US12/253,895) (Seattle Genetics); і WO2010095031 (12/710,442) (Glenmark Pharmaceuticals), WO2012010562 і WO2012010561 (International Drug Development), WO2011147834 (Roche Glycart), і WO 2012/156455 (Sanofi), всі з яких включені в цей документ в повному обсязі за допомогою посилання.

Фармацевтична композиція включає в себе діючу речовину, наприклад, антитіло для терапевтичного застосування на людині. Фармацевтична композиція може додатково включати в себе фармацевтично прийнятні носії та ексципієнти.

Визначення

Термін "CD19" позначає білок, відомий як CD19 і має такі синоніми: B4, В-лімфоцитарний антиген CD19, В-лімфоцитарний поверхневий антиген B4, CVID3, диференційний антиген CD19, MGC12802 і Т-клітинний поверхневий антиген Leu-12.

Людський CD19 має амінокислотну послідовність:

MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTWSRESPLKPFLKLS
LGLPGLGIHMRPLAIFNVSQQMGGFYLCQPGPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLG
GLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSLNLQSLSQDLTMAPGSTL
WLSCGVPPDSVSRGPLSWTHVHPKGPCKSLLSELKDDRPARDMWVMMETGLLLPRATAQDAGKYCYC
HRGNLTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRKRKRMTDP
TRRFFKVTPPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGALGSR
SPPGVGPEEEEGEGYEEDSEEDSEFYENDSNLGDQDLSQDGSYENPEDEPLGPEDEDSFSNAE
SYENEDEELTQPVARTMDFLSPHGSADWPSREATSLGSQSYEDMRGILYAAPQLRSIRGQPGPNHE
EDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRMGTWSTR (SEQ ID NO: 13)

"MOR00208" являє собою анти-CD19 антитіло. Амінокислотні послідовності наведені в таблиці 1. MOR00208 та XmAb 5574 застосовуються як синоніми для опису антитіла, вказаного в таблиці 1. Антитіло MOR00208 описано в заявці на патент США номер 12/377 251, яка включена в цей документ в повному обсязі за допомогою посилання. У заявці на патент США номер 12/377 251 описується антитіло, що називається 4G7 H1.52 гібрид S239D/I332E/4G7 L1.155 (пізніше назване MOR00208).

Термін "антитіло" у контексті цього документа означає білок, що містить щонайменше два важкі (H) ланцюги та два легкі (L) ланцюги, з'єднані між собою дисульфідними зв'язками, який взаємодіє з антигеном. Кожен важкий ланцюг складається з варіабельної ділянки важкого ланцюга (у цьому документі називається скорочено VH) та константної ділянки важкого ланцюга. Константна ділянка важкого ланцюга складається з трьох доменів - CH1, CH2 і CH3. Кожен легкий ланцюг складається з варіабельної ділянки легкого ланцюга (у цьому документі називається скорочено VL) та константної ділянки легкого ланцюга. Константна ділянка легкого ланцюга складається з одного домену - CL. Ділянки VH і VL можуть бути додатково поділені на ділянки гіперваріабельності, які називаються гіперваріабельними ділянками (CDR), які перемежуються з більш стабільними ділянками, що називають каркасними ділянками (FR). Кожна з ділянок VH і VL складається з трьох CDR та чотирьох FR, розташованих у напрямку від амінового кінця до карбоксильного кінця в такому порядку: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, і FR4. Варіабельні ділянки важкого та легкого ланцюгів містять зв'язувальний домен, який взаємодіє з антигеном. Термін "антитіло" включає в себе, наприклад, моноклональні антитіла, людські антитіла, гуманізовані антитіла, верблужі антитіла та химерні антитіла. Антитіла можуть являти собою будь-який ізотип (наприклад, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA і IgY), клас (наприклад, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 і IgA2) або підклас. Як легкі, і важкі ланцюга розділені на ділянки структурної та функціональної гомології.

Вираз "фрагмент антитіла" у контексті цього документа означає одну або більше частин антитіла, які створюють можливість специфічно взаємодіяти з (наприклад, за допомогою зв'язування, стеричного утруднення, стабілізуючого просторового розподілу) антигеном. Приклади зв'язувальних фрагментів включають, крім іншого, Fab-фрагмент, який являє собою моновалентний фрагмент, що складається з доменів VL, VH, CL і CH1; F(ab)2-фрагмент, бівалентний фрагмент, що містить два Fab-фрагменти, з'єднані дисульфідним місточком у шарнірній ділянці; Fd-фрагмент, який складається з доменів VH та CH1; Fv-фрагмент, який складається з доменів VL та VH одного плеча антитіла; dAb-фрагмент (Ward et al., (1989 p.) Nature 341:544-546), який складається з домену VH, та ізольована гіперваріабельна ділянка (CDR). Крім того, незважаючи на те, що два домени Fv-фрагменту, VL і VH, кодуються окремими генами, вони можуть бути об'єднані за допомогою рекомбінантних методик за допомогою синтетичного лінкеру, який дозволяє їм набути форму одиночного білкового ланцюга, в якому ділянки VL і VH спаровуються для утворення моновалентних молекул (відомі як одноланцюгові Fv (scFv); див., наприклад, Bird et al., (1988 p.) Science 242:423-426; і Huston et al., (1988 г.) Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879-5883). Такі одноланцюгові антитіла також включаються до сфери охоплення терміну "фрагмент антитіла". Ці фрагменти антитіл отримують за допомогою традиційних методик, відомих спеціалістам у цій галузі техніки, при цьому придатність фрагментів перевіряють таким самим способом, яким перевіряють інтактні антитіла. Фрагменти антитіл також можуть бути включені в односторонні антитіла, макроантитіла, мініантитіла, інтраантитіла, діатіла, триатіла, тетратіла, v-NAR та біспецифічні scFv (див., наприклад, Hollinger і Hudson, (2005 p.) Nature Biotechnology 23:1126-1136). Фрагменти антитіл можуть бути прищеплені на каркаси на основі поліпептидів, як-от фібрoneктин тип III (Fn3) (див. патент США № 6 703 199, в якому описані моноіла поліпептиду фібрoneктину). Фрагменти антитіл можуть бути включені в одноланцюгові молекули, що містять пару тандемних сегментів Fv (VH-CH1-VH-CH1), які разом із комплементарними легкими поліпептидними ланцюгами утворюють пару антигензв'язувальних ділянок (Zapata et al., (1995 p.) Protein Eng. 8:1057-1062; і патент США № 5 641 870).

Термін "введений" або "введення" включає в себе, крім іншого, доставку лікарського засобу ін'єкційним способом, як-от, наприклад, внутрішньовенний, внутрішньом'язовий, внутрішньошкірний або підшкірний шлях, або через слизову оболонку, наприклад, у вигляді назального спрею або аерозолу для інгаляції, або у вигляді розчину для прийому всередину, капсули або таблетки. Переважно, введення являє собою ін'єкційну форму.

Термін "ефекторна функція" стосується тих видів біологічної активності, які властиві ділянці Fc антитіла і варіюються в залежності від ізотипу антитіла. Необмежувальні приклади ефекторних функцій антитіла включають зв'язування C1q і комплементозалежну цитотоксичність (CDC); зв'язування Fc-рецептора та антитілозалежну клітинно-опосередковану цитотоксичність (ADCC) та/або антитілозалежний клітинний фагоцитоз (ADCP); зниження експресії поверхневих рецепторів клітини (наприклад, рецептора В-клітини); та активацію В-клітин.

"Антитілозалежна клітинно-опосередкована цитотоксичність" або ADCC означає форму цитотоксичності, при якій антитіла зв'язуються з Fc-рецепторами (FcR), присутніми на деяких цитотоксичних клітинах (наприклад, NK-клітини, нейтрофіли і макрофаги), дозволяючи

цитотоксичним ефекторним клітинам специфічно зв'язуватися з клітиною-мішенню, що несе антиген, і в подальшому знищувати клітину-мішень за допомогою цитотоксинів. Первинні клітини, що опосередковують ADCC, NK-клітини, які експресують тільки FcγRIII, тоді як моноцити експресують FcγRI, FcγRII і FcγRIII.

5 "Комплементозалежна цитотоксичність" або CDC означає лізис клітини-мішені у присутності комплементу. Класичний шлях активації комплементу починається зі зв'язування першого компонента системи комплементу (C1q) з антитілами (відповідного підкласу) за цим винаходом, які зв'язані з розпізнаним ними антигеном.

10 "Антитілозалежний клітинний фагоцитоз" або ADCP означає механізм елімінації навантажених антитілами клітин-мішеней шляхом інтерналізації клітинами-фагоцитами, як-от макрофаги або дендритні клітини.

Термін "гемобластоз" включає пухлини та захворювання або розлади системи крові, пов'язані з патологічним клітинним зростанням та/або проліферацією в тканинах гематопоетичного походження, як-от лімфоми, лейкози та мієломи.

15 "Суб'єкт" або "пацієнт" у цьому контексті означає будь-якого ссавця, включно з гризунами, як-от миша або щур, а також приматами, як-от яванський макак (*Macaca fascicularis*), макак-резус (*Macaca mulatta*) або люди (*Homo sapiens*). Переважно суб'єкт або пацієнт є приматом, найбільш переважно людиною.

20 Терміни "сконструйований" або "модифікований" у контексті цього документа включають маніпуляцію з нуклеїновими кислотами або поліпептидами за допомогою засобів для синтезу (наприклад, за допомогою рекомбінантних технологій, синтезу пептидів *in vitro*, ферментативного або хімічного утворення пептидного зв'язку, або комбінації цих методик). Переважно антитіла або фрагменти антитіл за цим винаходом сконструйовані або модифіковані для поліпшення однієї або більше властивостей, як-от зв'язування антигену, стабільність, період напівжиття, ефекторна функція, імуногенність, безпека, тощо. Переважно антитіла та фрагменти антитіл відповідно до цього винаходу сконструйовані або модифіковані для поліпшення ефекторної функції, такої як ADCC.

25 "Варіант" у контексті цього документа позначає поліпептид, який відрізняється від еталонного поліпептиду однією або більшим числом модифікацій, наприклад, замінами амінокислот, вставками або делеціями.

Термін "антагоністичне" антитіло в контексті цього документа означає антитіло або фрагмент антитіла, який взаємодіє з антигеном і частково або повністю інгібує або нейтралізує біологічну активність або функцію, або будь-яку іншу фенотипічну характеристику антигену-мішені.

35 Термін "Fc-ділянка" застосовується для визначення C-кінцевої ділянки важкого ланцюга імуноглобуліну. Fc-ділянка імуноглобуліну зазвичай містить два константні домени, CH2-домени і CH3-домени. Якщо цим документом не встановлено інше, нумерація амінокислотних залишків у Fc-ділянці проводиться відповідно до системи нумерації EC, також званої EU-індекс, як описано в роботі Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

40 Антитіло, що вводиться згідно з цим винаходом, вводять пацієнту у терапевтично ефективній кількості. "Терапевтично ефективна кількість" означає кількість, достатню для забезпечення поліпшення клінічних проявів конкретного захворювання або розладу. Кількість, ефективна для конкретної терапевтичної мети, залежатиме від тяжкості захворювання або ушкодження, а також від маси та загального стану суб'єкта. Зрозуміло, що відповідну дозу можна встановити за допомогою постановки стандартного експерименту, при якому створюють матрицю значень і мають різні значення в матриці, всі етапи з яких знаходяться в межах звичайних навичок навченого лікаря або клінічного дослідника.

45 "Вихідний рівень" або "на вихідному рівні" означає рівень перед застосуванням необхідної терапії. Наприклад, перед застосуванням необхідного анти-CD19 антитіла.

50 Для вивчення прогностичності, чутливості, специфічності з метою встановлення меж для можливих біомаркерів, як-от число NK-клітин, може бути застосований аналіз графіка залежності чутливості від частоти хибнопозитивних висновків (ROC). Для оцінки оптимальної межі існують такі додаткові способи: а) Max.Accuracy - межа, що підвищує точність до максимуму; б) Max.DOR - межа, що максимально збільшує відношення шансів діагностичного тесту; в) Error.rate - межа, що знижує ймовірність помилки до мінімуму; г) Max.Accuracy.area - межа, що максимально збільшує область точності; е) Max.Sens+Spec - межа, що максимально збільшує суму чутливості та специфічності; ф) Max.Youden - межа, що максимально збільшує індекс Юдена; г) Se=Sp - межа, при якій чутливість дорівнює специфічності; х) Min.ROC.Dist - межа, що зменшує до мінімуму відстань між кривою і верхнім лівим кутом графіка; і)

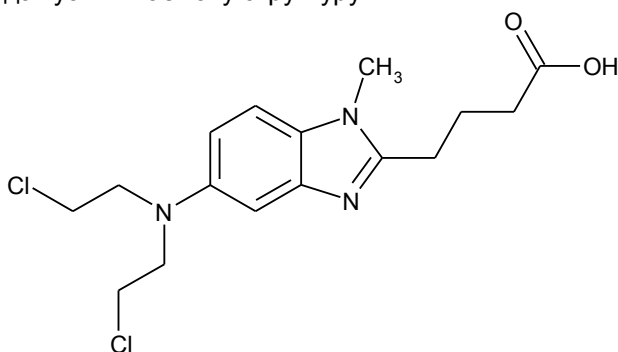
Max.Efficiency - межа, що максимально підвищує ефективність; та j) Min.MCT - межа, що знижує до мінімуму параметр ціни помилкової класифікації. See Lopez-Raton, M., Rodriguez-Alvarez, M.X, Cadarso-Suarez, C. and Gude-Sampedro, F. (2014 p.). Optimal Cutpoints: An R Package for Selecting Optimal Cutpoints in Diagnostic Tests. Journal of Statistical Software 61(8), 1-36.

Антитіла, специфічні до CD19, також випробовували на доклінічному етапі в комбінації з іншими лікарськими засобами. Наприклад, MOR00208 випробовували в комбінації з азотистими іпритами, аналогами пурину, аналогами талідоміду, інгібітором фосфоінозитид-3-кінази, інгібіторами BCL-2 та інгібіторами тирозинкінази (BTK).

"У комбінації" означає застосування однієї терапії на додаток до іншої терапії. Як такий, вираз "у комбінації з" включає одночасне (наприклад, супутнє) і послідовне застосування в будь-якому порядку. У вигляді необмежувального прикладу, першу терапію (наприклад, засіб, як-от анти-CD19 антитіло) можна застосовувати на пацієнті до початку (наприклад, за 1 хвилину, 15 хвилин, 30 хвилин, 45 хвилин, 1 годину, 2 години, 3 години, 4 години, 5 годин, 6 годин, 7 годин, 8 годин, 12 годин, 24 години, 48 годин, 72 години, 96 годин, 1 тиждень, 2 тижні, 3 тижні, 4 тижні, 5 тижнів, 6 тижнів, 7 тижнів, 8 тижнів, 9 тижнів, 10 тижнів, 11 тижнів або 12 тижнів), одночасно або після (наприклад, через 1 хвилину, 15 хвилин, 30 хвилин, 45 хвилин, 1 година, 2 години, 3 години, 4 години, 5 годин, 6 годин, 7 годин, 8 годин, 12 годин, 24 години, 48 годин, 72 години, 96 годин, 1 тиждень, 2 тижні, 3 тижні, 4 тижні, 5 тижнів, 6 тижнів, 7 тижнів, 8 тижнів, 9 тижнів, 10 тижнів, 11 тижнів або 12 тижнів або більш тривалий час) застосування другої терапії (наприклад, фармацевтичний агент або його фармацевтично прийнятна сіль). У деяких варіантах здійснення термін "комбінація" означає, що анти-CD19 антитіло та фармацевтичний агент або його фармацевтично прийнятну сіль вводять одночасно або послідовно. У деяких варіантах здійснення анти-CD19 антитіло і фармацевтичний агент або його фармацевтично прийнятну сіль вводять у композиції різних композицій, тобто при цьому анти-CD19 антитіло та фармацевтичний агент або його фармацевтично прийнятну сіль вводять у вигляді окремих стандартних лікарських форм. Передбачається, що анти-CD19 антитіло і фармацевтичний агент або його фармацевтично прийнятну сіль вводять в один і той самий день або в різні дні та в різній послідовності згідно з належним протоколом дозування.

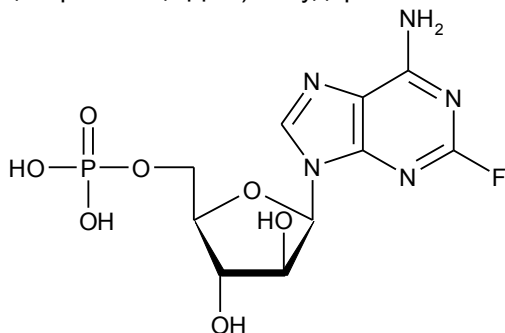
"Азотистий іприт" являє собою неспецифічний ДНК-алкілюючий агент, який застосовують в якості хіміотерапевтичного засобу. Алкілюючі агенти додають алкільну групу (C_nH_{2n+1}) до основ нуклеїнової кислоти, наприклад, додаючи алкільну групу до гуанінової основи ДНК, у 7 атома нітрогену імідазольного кільця. Реакції алкілювання призводять до створення міжниткових поперечних зшивок (ICL). Ці ICL мають високу цитотоксичність, оскільки вони блокують фундаментальні метаболічні процеси, як-от реплікація та транскрипція. Азотисті іприти включають циклофосфамід, хлорамбуцил, урамустин, іфосфамід, мелфалан і бендамустин.

Бендамустин представлений на ринку під назвою Рибомустин® та Треанда®, а також відомий як SDX-105. Бендамустин призначений для лікування хронічних лімфоцитарних лейкозів (CLL), повільно зростаючої В-клітинної неходжкінської лімфоми (NHL) та інших лімфом. Бендамустин має таку структуру:



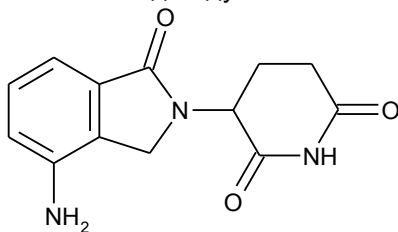
Аналог пурину є антиметаболітом, який імітує структуру пуринових метаболітів, тим самим перешкоджаючи синтезу нуклеїнових кислот. Флударабін, наприклад, можна включати в РНК та ДНК шляхом заміни пуринового нуклеотиду, аденіну та гуаніну. Аналоги пурину інгібують зростання клітин, що швидко проліферують, у людини, наприклад, злоякісних клітин, клітин кісткового мозку, або клітин шлунково-кишкового тракту. Аналоги пурину включають меркаптопурин, азатіоприн, тіогуанін і флударабін. Флударабін або флударабін фосфат (Флудара®) є хіміотерапевтичним засобом, що застосовується в лікуванні хронічного лімфоцитарного лейкозу та повільно зростаючих неходжкінських лімфом. Флударабін являє собою аналог пурину. Флударабін інгібуює синтез ДНК, впливаючи на рибонуклеотидредуктазу і ДНК-полімеразу, і є специфічним для S-фази (оскільки ці ферменти є високоактивними в

процесі реплікації ДНК). Флударабін має таку структуру:



"Аналог талідоміду" включає в себе, крім іншого, власне талідомід, леналідомід (CC-5013, Ревлімід™), помалідомід (CC4047, Актимід™) і сполуки, описані в патентах WO2002068414 і WO2005016326, які включені в цей документ в повному обсязі за допомогою посилання. Термін означає синтетичну хімічну сполуку, в якій структура талідоміду застосовується в якості скелету молекули (наприклад, у вихідну структуру додані або видалені бічні групи). Аналог відрізняється за структурою від талідоміду та сполук із його метаболітами, зокрема за довжиною алкільного ланцюга, фрагментом молекули, за однією або більше функціональними групами, або за зміною 4w5wwwwa при іонізації. Термін "аналог талідоміду" також включає метаболіти талідоміду. Аналоги талідоміду включають рацемічну суміш S- і R-енантіомерів відповідної сполуки і окремо S-енантіомер або R-енантіомер. Рацемічна суміш є переважною.

Аналоги талідоміду включають в себе сполуки, як-от леналідомід, який має таку структуру:

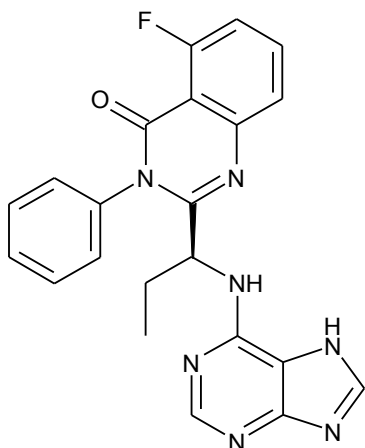


"Інгібітор фосфоінозитид-3-кінази" являє собою клас лікарських засобів, які інгібують один або більше ферментів фосфоінозитид-3-кіназ, що беруть участь у метаболічному шляху PI3K/AKT/mTOR, важливого шляху передачі сигналу активації багатьох клітинних функцій, як-от контроль зростання, ініціація метаболізму та трансляції.

Існує ціла низка різних класів та ізоформ PI3K. У PI3K класу 1 є каталітична субодиниця, відома як p110, представлена чотирма типами (ізоформ) - p110-альфа, p110-бета, p110-гама і p110-дельта. Досліджувані інгібітори інгібують одну або більше ізоформ PI3K класу I.

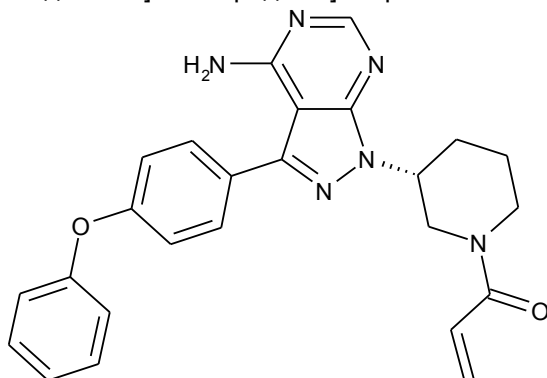
Інгібітори фосфоінозитид-3-кінази включають щонайменше іделалісиб, дувелісиб і копанлісиб. Іделалісиб постачає на ринок Gilead Sciences, Inc. (торгова назва Зіделіг, також званий GS-1101 або CAL-101). На даний час іделалісиб маркований як засіб для лікування рецидивуючого хронічного лімфоцитарного лейкозу (CLL) у комбінації з ритуксимабом у пацієнтів, для яких застосування тільки ритуксимабу може вважатися належною терапією у зв'язку із супутніми захворюваннями; рецидивуючої фолікулярної В-клітинної неходжкінської лімфоми (FL) у пацієнтів, які отримали раніше щонайменше два курси системної терапії; рецидивуючої дрібноклітинної лімфоцитарної лімфоми (SLL) у пацієнтів, які раніше отримали щонайменше два курси системної терапії. Речовина діє як інгібітор фосфоінозитид-3-кінази, зокрема, вона блокує P110δ, дельта-ізоформу ферменту фосфоінозитид-3-кінази.

Формула іделалісибу являє собою таке:



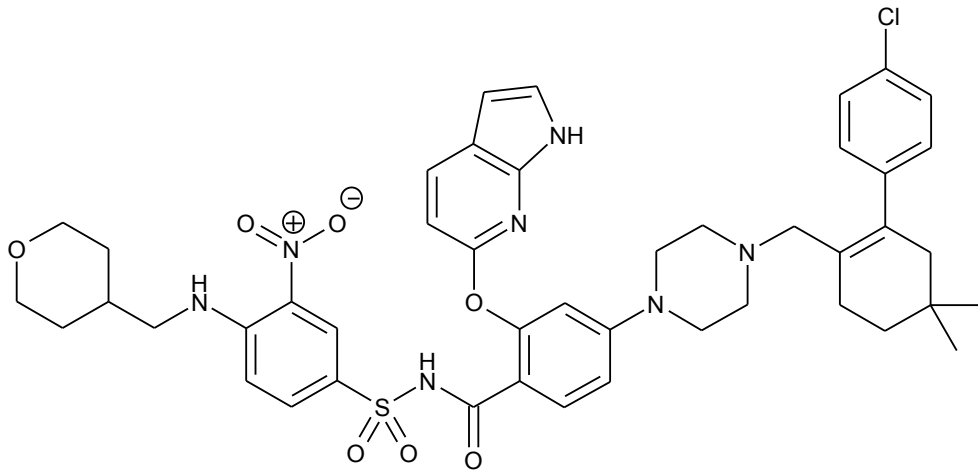
"Інгібітор тирозинкінази Брутона (ВТК)" являє собою клас лікарських засобів, які інгібують фермент тирозин-протеїнкіназу ВТК, який відіграє важливу роль у розвитку В-клітин. Зокрема, ВТК містить домен РН, який зв'язує фосфатидилінозитол-3,4,5-трисфосфат (PIP3). Зв'язування PIP3 впливає на ВТК, який індукує фосфорилування фосфоліпази С, яка, у свою чергу, гідролізує PIP2, фосфатидилінозитол, з утворенням двох вторинних месенджерів, інозитолтрифосфату (IP3) і діацилгліцерину (DAG), які далі регулюють активність подальших білків у ході передачі сигналів В-клітинами.

Інгібітор тирозинкінази Брутона (ВТК) включає в себе ібрутиніб. Ібрутиніб поставляється на ринок Pharmasuclics, Inc і Johnson & Johnson's Janssen Pharmaceutical (торгова назва Імбрувіка, також званий PCI-32765). На даний час ібрутиніб маркований як засіб для лікування пацієнтів із мантийноклітинною лімфомою (MCL), що раніше отримали щонайменше один курс терапії, хронічним лімфоцитарним лейкозом (CLL), що раніше отримали щонайменше один курс терапії, хронічним лімфоцитарним лейкозом і делецією 17р. і пацієнтів із макроглобулінемією Вальденстрема. Ібрутиніб має формулу 1-[(3R)-3-[4-аміно-3-(4-феноксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл]-1-піперидиніл]-2-пропен-1-он і таку структуру:



"Інгібітор BCL-2" являє собою клас лікарських засобів, що інгібують антиапоптозний білок при В-клітинній лімфомі-2 (Bcl-2) і тих, що ведуть до програмованої клітинної загибелі клітин. Інгібітор BCL-2 включає в себе венетоклак. Венетоклак поставляється на ринок Abbvie та Genentech (торгова назва ВЕНКЛЕКСТА™, також відомий як GDC-0199, ABT-199 та RG7601). На даний венетоклак маркований як засіб для лікування пацієнтів із хронічним лімфоцитарним лейкозом (CLL) та делецією 17р, виявленою за допомогою затвердженого FDA тесту, які раніше отримали щонайменше один курс терапії. "Венетоклак" описаний у патентах США № 8,546,399 та № 9,174,982, обидва з яких включені в цей документ у повному обсязі за допомогою посилання. Формула венетоклаксу являє собою

4-(4-[[2-(4-хлорофеніл)-4,4-диметил-1-циклогексен-1-іл]метил]-1-піперазиніл)-N-({3-нітро-4-[[тетрагідро-2H-піран-4-ілметил]аміно]феніл}сульфоніл)-2-(1H-піроло[2,3-b]піридин-5-ілокси)бензамід і має таку структуру:



Варіанти здійснення

В інших варіантах здійснення цей винахід стосується анти-CD19 антитіла для застосування в лікуванні пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл, менше або дорівнює 90 клітин/мкл, менше або дорівнює 80 клітин/мкл, менше або дорівнює 70 клітин/мкл, менше або дорівнює 60 клітин/мкл, або менше або дорівнює 50 клітин/мкл.

В інших варіантах здійснення цей винахід стосується анти-CD19 антитіла для застосування в лікуванні пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні становить менше 100 клітин/мкл, менше 90 клітин/мкл, менше 80 клітин/мкл, менше 70 клітин/мкл, менше 60 клітин/мкл або менше 50 клітин/мкл.

В інших варіантах здійснення цей винахід стосується анти-CD19 антитіла для застосування в лікуванні пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні становить від 1 до максимум 100 клітин/мкл, від 10 до максимум 100 клітин/мкл, від 20 до максимум 100 клітин/мкл, від 30 до максимум 100 клітин/мкл, від 40 до максимум 100 клітин/мкл, від 50 до максимум 100 клітин/мкл, від 60 до максимум 100 клітин/мкл, від 70 до максимум 100 клітин/мкл, або від 80 до максимум 100 клітин/мкл.

В інших варіантах здійснення цей винахід стосується застосування анти-CD19 антитіла для лікування пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні становить менше 100 клітин/мкл, менше 90 клітин/мкл, менше 80 клітин/мкл, менше 70 клітин/мкл, менше 60 клітин/мкл або менше 50 клітин/мкл.

В інших варіантах здійснення цей винахід стосується застосування анти-CD19 антитіла для лікування пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні становить максимум 100 клітин/мкл, максимум 90 клітин/мкл, максимум 80 клітин/мкл, максимум 70 клітин/мкл, максимум 60 клітин/мкл, максимум 50 клітин/мкл.

В інших варіантах здійснення цей винахід стосується застосування анти-CD19 антитіла для лікування пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні становить від 1 до максимум 100 клітин/мкл, від 10 до максимум 100 клітин/мкл, від 20 до максимум 100 клітин/мкл, від 30 до максимум 100 клітин/мкл, від 40 до максимум 100 клітин/мкл, від 50 до максимум 100 клітин/мкл, від 60 до максимум 100 клітин/мкл, від 70 до максимум 100 клітин/мкл, або від 80 до максимум 100 клітин/мкл.

У варіанті здійснення анти-CD19 антитіло для застосування в лікуванні пацієнтів із гемобластозом містить варіабельну ділянку важкого ланцюга з послідовністю

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTTYNEK
FQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 7)

та варіабельну ділянку легкого ланцюга з послідовністю

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTLYWFQQKPGQSPQQLLIYRMSNLNSGVP
DRFSGSGSGTEFTLTISLSEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 8)

або варіабельну ділянку важкого ланцюга та варіабельну ділянку легкого ланцюга, які щонайменше на 80 %, щонайменше на 90 %, щонайменше на 95 %, щонайменше на 96 %, щонайменше на 97 %, щонайменше на 98 % або щонайменше на 99 % ідентичні варіабельній ділянці важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO: 7 і варіабельній ділянці легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO: 8.

У варіанті здійснення анти-CD19 антитіло для застосування в лікуванні пацієнтів із

гемобластозом містить варіабельну ділянку важкого ланцюга з послідовністю

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEK
FQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYCCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:
7)

5 та варіабельну ділянку легкого ланцюга з послідовністю

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTLYWVWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVP
DRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 8)

або варіабельну ділянку важкого ланцюга та варіабельну ділянку легкого ланцюга, які
щонайменше на 80 %, щонайменше на 90 %, щонайменше на 95 %, щонайменше на 96 %, 10
щонайменше на 97 %, щонайменше на 98 % або щонайменше на 99 % ідентичні варіабельній
ділянці важкого ланцюга SEQ ID NO: 7 і варіабельну ділянку легкого ланцюга SEQ ID NO: 8, при
цьому анти-CD19 антитіло містить ділянку HCDR1, що містить послідовність SYVMH (SEQ ID
NO: 1), ділянку HCDR2, що містить послідовність NPYNDG (SEQ ID NO: 2), ділянку HCDR3, що
містить послідовність GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), ділянку LCDR1, що містить
15 послідовність RSSKSLQNVNGNTLY (SEQ ID NO: 4), ділянку LCDR2, що містить послідовність
RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), і ділянку LCDR3, що містить послідовність MQHLEYPIT (SEQ ID NO:
6). В іншому варіанті здійснення ділянка важкого ланцюга анти-CD19 антитіла містить
амінокислоти 239D і 332E, причому нумерація Fc відповідає EU-індексу, представленому в
Kabat.

20 У додатковому варіанті здійснення анти-CD19 антитіло для лікування пацієнтів із
гемобластозом містить важкий ланцюг із послідовністю

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEK
FQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYCCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL
25 GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPMLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 11)

і легкий ланцюг із послідовністю

30 DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTLYWVWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVP
DRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE
VTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 12)

або важкий ланцюг і легкий ланцюг, які щонайменше на 80 %, щонайменше на 90 %, 35
щонайменше на 95 %, щонайменше на 96 %, щонайменше на 97 %, щонайменше на 98 % або
щонайменше на 99 % ідентичні важкому ланцюгу з послідовністю SEQ ID NO: 7 і легкому
ланцюгу з послідовністю SEQ ID NO: 8.

У додатковому варіанті здійснення анти-CD19 антитіло для лікування пацієнтів із
гемобластозом містить важкий ланцюг із послідовністю

40 EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEK
FQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYCCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK
45 ALPAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPMLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 11)

і легкий ланцюг із послідовністю

50 DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTLYWVWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVP
DRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE
VTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 12)

або важкий ланцюг і легкий ланцюг, які щонайменше на 80 %, щонайменше на 90 %, 55
щонайменше на 95 %, щонайменше на 96 %, щонайменше на 97 %, щонайменше на 98 % або
щонайменше на 99 % ідентичні важкому ланцюгу з послідовністю SEQ ID NO: 7 і легкому
ланцюгу з послідовністю SEQ ID NO: 8, при цьому анти-CD19 антитіло містить ділянку HCDR1,
що містить послідовність SYVMH (SEQ ID NO: 1), ділянку HCDR2, що містить послідовність
NPYNDG (SEQ ID NO: 2), ділянку HCDR3, що містить послідовність GTYYYGTRVFDY (SEQ ID
NO: 3), ділянку LCDR1, що містить послідовність RSSKSLQNVNGNTLY (SEQ ID NO: 4), ділянку
LCDR2, що містить послідовність RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), і ділянку LCDR3, що містить
60 послідовність MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6). В іншому варіанті здійснення ділянка важкого

ланцюга анти-CD19 антитіла містить амінокислоти 239D і 332E, причому нумерація Fc відповідає EU-індексу, представленому в Kabat.

В інших варіантах здійснення цей винахід стосується анти-CD19 антитіла для лікування пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл, менше або дорівнює 90 клітин/мкл, менше або дорівнює 80 клітин/мкл, менше або дорівнює 70 клітин/мкл, менше або дорівнює 60 клітин/мкл, або менше або дорівнює 50 клітин/мкл. В одному варіанті здійснення цього винаходу у зазначених пацієнтів із гемобластозом після зазначеного лікування

(i) виживаність без прогресування (PFS) становить щонайменше 8 місяців, щонайменше 9 місяців, щонайменше 10 місяців, щонайменше 11 місяців, щонайменше 12 місяців, щонайменше 13 місяців, щонайменше 14 місяців, щонайменше 15 місяців, щонайменше 16 місяців, щонайменше 17 місяців, щонайменше 18 місяців, щонайменше 19 місяців, щонайменше 20 місяців, щонайменше 24 місяці, щонайменше 30 місяців, щонайменше 36 місяців, щонайменше 42 місяці, щонайменше 48 місяців або щонайменше 54 місяці;

(ii) частота об'єктивних відповідей (ORR) становить щонайменше 30 %, щонайменше 40 %, щонайменше 50 %, щонайменше 60 %, щонайменше 70 %, щонайменше 80 % або щонайменше 80 %;

(iii) тривалість відповіді (DoR) становить більше щонайменше 10 місяців, щонайменше 12 місяців, щонайменше 14 місяців, щонайменше 16 місяців, щонайменше 18 місяців, щонайменше 20 місяців, щонайменше 24 місяців, щонайменше 30 місяців, щонайменше 36 місяців, щонайменше 42 місяці, щонайменше 48 місяців або щонайменше 54 місяці;

(iv) загальна виживаність (OS) становить щонайменше 10 місяців, щонайменше 12 місяців, щонайменше 14 місяців, щонайменше 16 місяців, щонайменше 18 місяців, щонайменше 20 місяців, щонайменше 24 місяці, щонайменше 30 місяців, щонайменше 36 місяців, щонайменше 42 місяці, щонайменше 48 місяців або щонайменше 54 місяці; або

(v) є комбінація одного або більше із зазначеного вище. В іншому варіанті здійснення цього винаходу зазначене анти-CD19 антитіло застосовують у комбінації з фармацевтичним агентом, як описано в цьому документі.

В інших варіантах здійснення цей винахід стосується анти-CD19 антитіла для лікування пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні становить менше 100 клітин/мкл, менше 90 клітин/мкл, менше 80 клітин/мкл, менше 70 клітин/мкл, менше 60 клітин/мкл або менше 50 клітин/мкл. В одному варіанті здійснення цього винаходу у зазначених пацієнтів із гемобластозом після зазначеного лікування

(i) виживаність без прогресування (PFS) становить щонайменше 8 місяців, щонайменше 9 місяців, щонайменше 10 місяців, щонайменше 11 місяців, щонайменше 12 місяців, щонайменше 13 місяців, щонайменше 14 місяців, щонайменше 15 місяців, щонайменше 16 місяців, щонайменше 17 місяців, щонайменше 18 місяців, щонайменше 19 місяців, щонайменше 20 місяців, щонайменше 24 місяці, щонайменше 30 місяців, щонайменше 36 місяців, щонайменше 42 місяці, щонайменше 48 місяців або щонайменше 54 місяці;

(ii) частота об'єктивних відповідей (ORR) становить щонайменше 30 %, щонайменше 40 %, щонайменше 50 %, щонайменше 60 %, щонайменше 70 %, щонайменше 80 % або щонайменше 80 %;

(iii) тривалість відповіді (DoR) становить більше щонайменше 10 місяців, щонайменше 12 місяців, щонайменше 14 місяців, щонайменше 16 місяців, щонайменше 18 місяців, щонайменше 20 місяців, щонайменше 24 місяців, щонайменше 30 місяців, щонайменше 36 місяців, щонайменше 42 місяці, щонайменше 48 місяців або щонайменше 54 місяці;

(iv) загальна виживаність (OS) становить щонайменше 10 місяців, щонайменше 12 місяців, щонайменше 14 місяців, щонайменше 16 місяців, щонайменше 18 місяців, щонайменше 20 місяців, щонайменше 24 місяці, щонайменше 30 місяців, щонайменше 36 місяців, щонайменше 42 місяці, щонайменше 48 місяців або щонайменше 54 місяці; або

(v) є комбінація одного або більше із зазначеного вище. В іншому варіанті здійснення цього винаходу зазначене анти-CD19 антитіло застосовують у комбінації з фармацевтичним агентом, як описано в цьому документі.

В інших варіантах здійснення цей винахід стосується анти-CD19 антитіла для лікування пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл, менше або дорівнює 90 клітин/мкл, менше або дорівнює 80 клітин/мкл, менше або дорівнює 70 клітин/мкл, менше або дорівнює 60 клітин/мкл, або менше або дорівнює 50 клітин/мкл, і при цьому вказане анти-CD19 антитіло покращує одну або більше з таких характеристик:

- (i) виживаність без прогресування (PFS),
- (ii) частота об'єктивних відповідей (ORR),
- (iii) тривалість відповіді (DoR),
- (iv) загальна виживаність (OS),
- (v) час до прогресування (TTP).

В інших варіантах здійснення одна або більше із зазначених характеристик від (i) до (v) поліпшені в порівнянні з лікуванням, яке включає анти-CD20 антитіло. У додатковому варіанті здійснення одна або більше із зазначених характеристик від (i) до (v) поліпшені в порівнянні з лікуванням, яке включає в себе анти-CD20 антитіло та хіміотерапевтичний засіб. У додатковому варіанті здійснення зазначене анти-CD20 антитіло являє собою ритуксимаб або його біоаналог. У додаткових варіантах здійснення одна або більше із зазначених характеристик від (i) до (v) поліпшені в порівнянні з лікуванням, яке включає анти-CD20 антитіло і одне або більше з циклофосфаміду, адриаміцину, вінкристину або преднізону. У додатковому варіанті здійснення одна або більше із зазначених характеристик від (i) до (v) поліпшені порівняно з лікуванням, яке включає в себе R-CHOP.

В інших варіантах здійснення цей винахід стосується анти-CD19 антитіла для лікування пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні становить менше 100 клітин/мкл, менше 90 клітин/мкл, менше 80 клітин/мкл, менше 70 клітин/мкл, менше 60 клітин/мкл або менше 50 клітин/мкл, і при цьому введення зазначеного анти-CD19 антитіла призводить до підвищення виживаності без прогресування (PFS), підвищення частоти об'єктивних відповідей (ORR), збільшення тривалості відповіді (DoR), підвищення загальної виживаності (OS) або збільшення часу до прогресування (TTP).

В інших варіантах здійснення цей винахід стосується анти-CD19 антитіла для лікування пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл, менше або дорівнює 90 клітин/мкл, менше або дорівнює 80 клітин/мкл, менше або дорівнює 70 клітин/мкл, менше або дорівнює 60 клітин/мкл, або менше або дорівнює 50 клітин/мкл, і при цьому введення зазначеного анти-CD19 антитіла призводить до підвищення виживаності без прогресування (PFS) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла, підвищення частоти об'єктивних відповідей (ORR) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла, збільшення тривалості відповіді (DoR) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла, підвищення загальної виживаності (OS) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла або збільшення часу до прогресування (TTP) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла.

В інших варіантах здійснення цей винахід стосується анти-CD19 антитіла для лікування пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл, менше або дорівнює 90 клітин/мкл, менше або дорівнює 80 клітин/мкл, менше або дорівнює 70 клітин/мкл, менше або дорівнює 60 клітин/мкл, або менше або дорівнює 50 клітин/мкл, і при цьому введення зазначеного анти-CD19 антитіла призводить до підвищення виживаності без прогресування (PFS) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла та хіміотерапевтичного засобу, підвищенню частоти об'єктивних відповідей (ORR) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла та хіміотерапевтичного засобу, збільшенню тривалості відповіді (DoR) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла та хіміотерапевтичного засобу, підвищення загальної виживаності (OS) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла та хіміотерапевтичного засобу або збільшення часу до прогресування (TTP) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла та хіміотерапевтичного засобу. У додатковому варіанті здійснення зазначене анти-CD20 антитіло являє собою ритуксимаб або його біоаналог. У додаткових варіантах здійснення зазначений хіміотерапевтичний засіб містить один або більше з циклофосфаміду, адриаміцину, вінкристину або преднізону.

В інших варіантах здійснення цей винахід стосується анти-CD19 антитіла для лікування пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл, менше або дорівнює 90 клітин/мкл, менше або дорівнює 80 клітин/мкл, менше або дорівнює 70 клітин/мкл, менше або дорівнює 60 клітин/мкл, або менше або дорівнює 50 клітин/мкл, і при цьому введення зазначеного анти-CD19 антитіла призводить до підвищення виживаності без прогресування (PFS) у порівнянні з введенням R-CHOP, підвищення частоти об'єктивних відповідей (ORR) у порівнянні з введенням R-CHOP, збільшення тривалості відповіді (DoR) у порівнянні з введенням R-CHOP, підвищення загальної виживаності (OS) у порівнянні з введенням R-CHOP або збільшення часу до прогресування (TTP) у порівнянні з введенням R-CHOP.

В одному варіанті здійснення згідно з цим винаходом запропоновано анти-CD19 антитіло,

причому зазначене анти-CD19 антитіло вводять у концентрації 12 мг/кг.

У додатковому варіанті здійснення анти-CD19 антитіло вводять один раз на тиждень, один раз на два тижні або один раз на місяць. У додатковому варіанті здійснення анти-CD19 антитіло вводять один раз на тиждень протягом перших 3 місяців і один раз на два тижні протягом щонайменше наступних 3 місяців. У додатковому варіанті здійснення анти-CD19 антитіло вводять один раз на тиждень протягом перших 3 місяців і один раз на два тижні протягом щонайменше наступних 3 місяців. В іншому варіанті здійснення анти-CD19 антитіло вводять один раз на тиждень протягом перших 3 місяців, один раз на два тижні протягом наступних 3 місяців і один раз на місяць у подальшому. В іншому варіанті здійснення анти-CD19 антитіло вводять один раз на тиждень протягом перших 3 місяців, один раз на два тижні протягом наступних 3 місяців і один раз на місяць в подальшому.

Комбінації

Згідно з цим винаходом запропоновано анти-CD19 антитіло для лікування пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні становить менше 100 клітин/мкл, причому зазначене анти-CD19 антитіло застосовується у комбінації з одним або більше фармацевтичними агентами. В одному варіанті здійснення цього винаходу зазначене анти-CD19 антитіло застосовують у комбінації з фармацевтичним агентом. В іншому варіанті здійснення цього винаходу зазначене анти-CD19 антитіло застосовують у комбінації з одним або більше додатковими фармацевтичними агентами або додатковим фармацевтичним агентом. В одному аспекті зазначений фармацевтичний агент являє собою додатковий фармацевтичний агент.

В одному варіанті здійснення цього винаходу зазначений фармацевтичний агент являє собою біологічний або хіміотерапевтичний засіб. В іншому варіанті здійснення цього винаходу зазначений фармацевтичний агент являє собою терапевтичне антитіло або фрагмент антитіла, азотистий іприт, аналог пурину, аналог талідоміду, інгібітор фосфоінозитид-3-кінази, інгібітор BCL-2 або інгібітор тирозинкінази Брутона (BTK). В іншому варіанті здійснення зазначений фармацевтичний агент являє собою ритуксимаб, R-CHOP, циклофосфамід, хлорамбуцил, урамустин, іфосфамід, мелфалан, бендамустин, меркаптопурин, азатіоприн, тіогуанін, флударабін, талідомід, леналідомід, помалідомід, іделалісіб, дувелісіб, копанлісіб, ібрутиніб або венетоклакс.

В іншому варіанті здійснення згідно з цим винаходом запропоновано анти-CD19 антитіло для застосування в лікуванні пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл, і при цьому зазначеної анти-CD19 антитіло застосовується в комбінації з ритуксимабом, R-CHOP, циклофосфамідом, хлорамбуцилом, урамустином, іфосфамідом, мелфаланом, бендамустином, меркаптопурином, азатіоприном, тіогуаніном, флударабіном, талідомідом, леналідомідом, помалідомідом, іделалісібом, дувелісібом, копанлісібом, ібрутинібом або венетоклаксом. У додатковому варіанті здійснення згідно з цим винаходом запропоновано анти-CD19 антитіло для лікування пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл, і при цьому зазначене анти-CD19 антитіло застосовується у комбінації з бендамустином.

Показання та пацієнти

Згідно з цим винаходом запропоновано анти-CD19 антитіло для лікування пацієнтів із гемобластозом, причому у зазначених пацієнтів число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл, і при цьому у зазначеного пацієнта з гемобластозом є хронічний лімфоцитарний лейкоз (CLL), неходжкінська лімфома (NHL), дрібноклітинна лімфоцитарна (SLL) або гострий лімфобластний лейкоз (ALL). В іншому варіанті здійснення у зазначеного пацієнта з гемобластозом є неходжкінська лімфома. В інших варіантах здійснення неходжкінська лімфома вибрана з групи, що складається з фолікулярної лімфоми, дрібноклітинної лімфоцитарної лімфоми, лімфоми з лімфоїдної тканини слизових оболонок, лімфоми маргінальної зони, дифузної В-великоклітинної лімфоми, лімфоми Беркітта і мантийноклітинної лімфоми. В інших варіантах здійснення неходжкінська лімфома являє собою рецидивуючу або рефрактерну дифузну В-великоклітинну лімфому (r-r DLBCL). В іншому варіанті здійснення у зазначеного пацієнта з гемобластозом є дифузна В-великоклітинна лімфома, і він не підлягає високодозній хіміотерапії (HDC) та/або аутотрансплантації стовбурових клітин (ASCT). В іншому варіанті здійснення у зазначеного пацієнта з гемобластозом рецидивуюча або рефрактерна дифузна В-великоклітинна лімфома (r-r DLBCL), і він не підлягає високодозній хіміотерапії (HDC) та/або аутотрансплантації стовбурових клітин (ASCT).

В іншому варіанті здійснення у зазначеного пацієнта з гемобластозом є дифузна В-великоклітинна лімфома, причому пацієнт вибраний на основі одного або більше з таких критеріїв:

1. Вік ≥ 18 років

2. Гістологічно підтверджений діагноз згідно з класифікацією Всесвітньої організації охорони здоров'я (BOO3, 2008 р.): DLBCL NOS, THRLBCL, EBV-позитивна DLBCL, складна лімфома з DLBCL компонентом і рецидивом DLBCL після лікування DLBCL, захворювання трансформоване з раніше поставленого діагнозу лімфоми низьким ступенем злоякісності (тобто захворювання, що повільно розвивається, як-от фолікулярна лімфома, лімфома маргінальної зони) в DLBCL з рецидивом DLBCL після лікування DLBCL.

3. Необхідно надати свіжу тканину пухлини для підтвердження гістопатологічного висновку центральною лабораторією в якості додатка для участі у дослідженні. При неможливості отримання зразка свіжої тканини пухлини для цієї мети надають архівний зразок тканини пухлини, залитої в парафін, отриманий ≤ 3 років до скринінгу для цього протоколу.

4. Пацієнти повинні мати:

1. рецидивуючу або рефрактерну DLBCL;

2. щонайменше одне вогнище захворювання з можливістю двовимірного вимірювання. У вогнищі ураження на вихідному рівні найбільший поперечний діаметр повинен становити $\geq 1,5$ см, а найбільший перпендикулярний діаметр - $\geq 1,0$ см. Вогнище ураження повинен бути PET-позитивним при скануванні;

3. раніше отримували щонайменше одну, але не більше трьох ліній системної терапії для лікування DLBCL. Щонайменше одна попередня лінія терапії має включати CD20-таргетну терапію.

4. ECOG від 0 до 2.

5. Пацієнти після невдалої ASCT або пацієнти, на думку дослідника, на даний час не підлягають HDC з подальшою ASCT.

6. При скринінгу пацієнти повинні відповідати таким лабораторним критеріям:

a) АЧН $\geq 1,5 \times 10^9/\text{л}$ (за винятком випадків ураження кісткового мозку внаслідок DLBCL);

b) тромбоцити $\geq 90 \times 10^9/\text{л}$ (за винятком випадків ураження кісткового мозку внаслідок DLBCL) та відсутність тривалої кровотечі;

c) загальний білірубін сироватки $\leq 2,5 \times \text{ВГН}$, за винятком випадків, зумовлених синдромом Жильєбера (або картини, що вказує на синдром Жильєбера) або документованого ураження печінки лімфомаю. Пацієнти із синдромом Жильєбера або документованим ураженням печінки при лімфомі можуть бути включені, якщо вміст загального білірубину у них становить $\leq 5 \times \text{ВГН}$;

d) АЛТ, АСТ та ЛФ $\leq 3 \times \text{ВГН}$ або $< 5 \times \text{ВГН}$ у випадках документованого ураження печінки лімфомаю;

e) вміст креатиніну сироватки $\leq 2,0 \times \text{ВГН}$ або кліренс креатиніну, розрахований за допомогою стандартної формули Кокрофта-Голта (Cockcroft & Gault, 1976), повинен становити ≥ 40 мл/хв.

7. Перед включенням жінок із дітородним потенціалом (FCBP) їм необхідно підтвердити негативний тест на вагітність. FCBP необхідно розпочати прийом вискоєфективного контрацептивного засобу без перерви протягом дослідження та 3, 6 або 12 місяців після останньої дози MOR00208, BEN або RTX, відповідно, залежно від того, що пізніше. FCBP має утримуватися від годування груддю та донорства крові або ооцитів протягом дослідження та 3, 6 або 12 місяців після останньої дози MOR00208, BEN або RTX, відповідно, залежно від того, що було скасовано пізніше. Обмеження, пов'язані з донорством крові, також застосовуються щодо жінок без дітородного потенціалу.

8. Чоловіки, які ведуть статеве життя з FCBP, повинні застосовувати вискоєфективний засіб бар'єрної контрацепції без перерви протягом дослідження та 3, 6 або 12 місяців після останньої дози MOR00208, BEN або RTX, відповідно, залежно від того, що було скасовано пізніше. Чоловіки повинні утримуватися від донорства крові або сперми протягом дослідження та 3, 6 або 12 місяців після останньої дози MOR00208, BEN або RTX, відповідно, залежно від того, що було скасовано пізніше.

9. На думку дослідника, пацієнти:

a) повинні мати можливість дотримуватися всіх процедур дослідження, прийом ліків та обстеження;

b) повинні мати можливість розуміти і давати поінформовану згоду;

c) не повинні вважатися можливо ненадійними та/або несхильними до співпраці.

В іншому варіанті здійснення винаходу у зазначеного пацієнта з гемобластозом є дифузна В-великоклітинна лімфома, причому пацієнт виключений на основі одного або більше з таких

критеріїв:

1. Пацієнти, які мають: будь-який інший гістологічний тип лімфоми, включно з, наприклад, первинною медіастинальною (тимічною) В-великоклітинною лімфомою (PMBL) або лімфомою Беркітта, первинною рефрактерною DLBCL, пацієнти з встановленою генетикою DLBCL "подвійного/потрійного удару", ураження ЦНС лімфомою на даний час або в анамнезі.

2. Пацієнти, що перенесли широке оперативне втручання менше ніж за 30 днів до 1-го дня введення дози.

3. Пацієнти, які за 14 днів до 1-го дня введення дози:

а) не припинили отримувати CD20-таргетну терапію, хіміотерапію, променеву терапію, протипухлинну терапію в межах дослідження або іншу терапію, спрямовану проти лімфоми;

б) прищеплювались живими вакцинами;

с) потребували парентеральної антибіотикотерапії у зв'язку з активними супутніми системними інфекціями.

4. Пацієнти, які:

а) на думку дослідника, не відновилися повністю від побічних токсичних ефектів попередніх курсів терапії, великих хірургічних втручань або значних травматичних ушкоджень;

б) раніше лікувалися за допомогою CD19-таргетної терапії або BEN;

с) мають в анамнезі випадки важких алергічних реакцій на сполуки, схожі за біологічною або хімічною композицією з MOR00208, RTX, мишачими білками або BEN, або з ексципієнтами, що містяться в досліджуваних лікарських формах;

д) перенесли ASCT протягом періоду ≤ 3 місяців до підписання бланка інформованої згоди. У пацієнтів із більш тривалим анамнезом застосування ASCT перед включенням в дослідження мають бути повністю відновлені гематологічні показники;

е) раніше перенесли алотрансплантацію стовбурових клітин;

ф) одночасно отримують інші види протипухлинного чи експериментального лікування.

5. Злоякісні новоутворення, крім DLBCL, в анамнезі, за винятком випадків, коли пацієнт не хворів протягом ≥ 3 років до скринінгу. Винятки з обмеження за часом ≥ 3 років включають анамнез за такими захворюваннями:

а) базально-клітинна карцинома шкіри;

б) плоскоклітинна карцинома шкіри;

с) карцинома in situ шийки матки, молочної залози та сечового міхура;

д) випадкова гістологічна знахідка раку передміхурової залози (Tumour/Node/Metastasis [TNM] стадія T1a або T1b).

6. Пацієнти з:

а) позитивним аналізом крові на гепатит В та/або С;

б) встановленою позитивною серологічною реакцією на ВІЛ або активною вірусною інфекцією ВІЛ в анамнезі;

с) ознаками активних, тяжких неконтрольованих системних інфекцій чи сепсису;

д) ознаками тяжкого імунodefіцитного стану або такими в анамнезі;

е) ознаками тяжкої печінкової недостатності (вміст загального білірубіну сироватки > 3 мг/дл), жовтяниці, за винятком випадків, спричинених синдромом Жильєра або документованим ураженням печінки лімфомою, або такими в анамнезі;

ф) ознаками клінічно значущого захворювання серцево-судинної системи, порушення мозкового кровообігу, захворювання ЦНС та/або іншого захворювання, яке, на думку дослідника, виключає можливість участі пацієнта у дослідженні або знижує ймовірність надання їм інформованої згоди або такими в анамнезі.

Спосіб лікування

Згідно з цим винаходом запропонований спосіб лікування пацієнтів із гемобластозом шляхом введення анти-CD19 антитіла, причому у зазначених пацієнтів число НК-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл, менше або дорівнює 90 клітин/мкл, менше або дорівнює 80 клітин/мкл, менше або дорівнює 70 клітин/мкл, менше або дорівнює 60 клітин/мкл, або менше або дорівнює 50 клітин/мкл.

Згідно з цим винаходом запропонований спосіб лікування пацієнтів із гемобластозом шляхом введення анти-CD19 антитіла, причому у зазначених пацієнтів число НК-клітин у периферичній крові на вихідному рівні становить менше 100 клітин/мкл, менше 90 клітин/мкл, менше 80 клітин/мкл, менше 70 клітин/мкл, менше 60 клітин/мкл або менше 50 клітин/мкл.

В іншому варіанті здійснення цей винахід стосується фармацевтичних композицій, які містять анти-CD19 антитіло, як описано у цьому документі, для застосування в лікуванні гемобластозу. В іншому варіанті здійснення цей винахід стосується застосування зазначених фармацевтичних композицій, що містять анти-CD19 антитіло, як описано в цьому документі, для

приготування медичного препарату для лікування гемобластозу. В іншому варіанті здійснення цей винахід стосується застосування зазначеної фармацевтичної композиції, що містить анти-CD19 антитіло, як описано в цьому документі, для лікування гемобластозу. В іншому варіанті здійснення зазначений гемобластоз являє собою хронічний лімфоцитарний лейкоз (CLL), неходжкінську лімфому (NHL), дрібноклітинну лімфоцитарну лімфому (SLL) або гострий лімфобластний лейкоз (ALL). В іншому варіанті здійснення зазначений гемобластоз являє собою неходжкінську лімфому. В інших варіантах здійснення неходжкінська лімфома вибрана з групи, що складається з фолікулярної лімфоми, дрібноклітинної лімфоцитарної лімфоми, лімфоми з лімфоїдної тканини слизових оболонок, лімфоми маргінальної зони, дифузної В-великоклітинної лімфоми, лімфоми Беркітта і мантийноклітинної лімфоми. В інших варіантах здійснення неходжкінська лімфома являє собою рецидивуючу або рефрактерну дифузну В-великоклітинну лімфому (г-г DLBCL). В іншому варіанті здійснення у зазначеного пацієнта з гемобластозом є дифузна В-великоклітинна лімфома, і він не підлягає високодозній хіміотерапії (HDC) та/або аутоотрансплантації стовбурових клітин (ASCT).

В іншому аспекті в цьому документі запропонований спосіб лікування гемобластозу у пацієнта, причому у зазначеного пацієнта число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл, менше або дорівнює 90 клітин/мкл, менше або дорівнює 80 клітин/мкл, менше або дорівнює 70 клітин/мкл, менше або дорівнює 60 клітин/мкл, або менше або дорівнює 50 клітин/мкл, причому спосіб включає введення фармацевтичної композиції, що містить терапевтично ефективну кількість анти-CD19 антитіла, як описано в цьому документі. В одному варіанті здійснення зазначений пацієнт є резистентним, без відповіді або без адекватної відповіді на лікування однієї та не більше трьох попередніх ліній терапії, включно з однією таргетною терапією анти-CD20 антитілами (наприклад, антитілом ритуксимаб). У додатковому варіанті здійснення зазначений пацієнт не підлягає високодозній хіміотерапії та аутоотрансплантації стовбурових клітин. У переважному варіанті здійснення зазначений пацієнт є людиною. В альтернативних аспектах зазначений пацієнт являє собою гризуна, як-от щур або миша. В іншому варіанті здійснення зазначений пацієнт страждає на гемобластоз, як-от неходжкінська лімфома. В інших варіантах здійснення неходжкінська лімфома вибрана з групи, що складається з фолікулярної лімфоми, дрібноклітинної лімфоцитарної лімфоми, лімфоми з лімфоїдної тканини слизових оболонок, лімфоми маргінальної зони, дифузної В-великоклітинної лімфоми, лімфоми Беркітта і мантийноклітинної лімфоми. В інших варіантах здійснення неходжкінська лімфома являє собою рецидивуючу або рефрактерну дифузну В-великоклітинну лімфому (г-г DLBCL).

В іншому аспекті згідно з цим винаходом запропоновано застосування анти-CD19 антитіла у виробництві медичного препарату для застосування в лікуванні пацієнта з гемобластозом, причому у зазначеного пацієнта число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл, менше або дорівнює 90 клітин/мкл, менше або дорівнює 80 клітин/мкл, менше або дорівнює 70 клітин/мкл, менше або дорівнює 60 клітин/мкл, або менше або дорівнює 50 клітин/мкл.

В іншому аспекті згідно з цим винаходом запропоновано застосування анти-CD19 антитіла у виробництві медичного препарату для застосування у лікуванні гемобластозу. В іншому варіанті здійснення цей винахід стосується застосування зазначеного анти-CD19 антитіла, як описано в цьому документі, для приготування медичного препарату для лікування гемобластозу. В іншому варіанті здійснення цей винахід стосується застосування зазначеної фармацевтичної композиції, що містить анти-CD19 антитіло, як описано в цьому документі, для лікування гемобластозу. В іншому варіанті здійснення зазначений гемобластоз являє собою хронічний лімфоцитарний лейкоз (CLL), неходжкінську лімфому (NHL), дрібноклітинну лімфоцитарну лімфому (SLL) або гострий лімфобластний лейкоз (ALL). В іншому варіанті здійснення зазначений гемобластоз являє собою неходжкінську лімфому. В інших варіантах здійснення неходжкінська лімфома вибрана з групи, що складається з фолікулярної лімфоми, дрібноклітинної лімфоцитарної лімфоми, лімфоми з лімфоїдної тканини слизових оболонок, лімфоми маргінальної зони, дифузної В-великоклітинної лімфоми, лімфоми Беркітта і мантийноклітинної лімфоми. В інших варіантах здійснення неходжкінська лімфома являє собою рецидивуючу або рефрактерну дифузну В-великоклітинну лімфому (г-г DLBCL). В іншому варіанті здійснення у зазначеного пацієнта з гемобластозом є дифузна В-великоклітинна лімфома, і він не підлягає високодозній хіміотерапії (HDC) та/або аутоотрансплантації стовбурових клітин (ASCT).

У деяких варіантах здійснення анти-CD19 антитіло, як описано в цьому документі, вводять внутрішньовенно. В інших аспектах анти-CD19 антитіло, як описано в цьому документі, вводять підшкірно, всередину суглоба або в спинномозковий канал.

Спосіб

Згідно з цим винаходом запропонований спосіб вибору пацієнта з гемобластозом з очікуваною користю від терапевтичного введення анти-CD19 антитіла, причому зазначений спосіб включає такі етапи:

- 5 а) забезпечення зразку крові, одержаної від зазначеного пацієнта, до лікування за допомогою зазначеного анти-CD19 антитіла,
- б) визначення числа NK-клітин у периферичній крові, та
- с) вибір пацієнта залежно від числа NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл.

10 У варіанті здійснення цього винаходу спосіб додатково включає в себе такий етап:

- d) лікування вибраного пацієнта за допомогою анти-CD19 антитіла.

Згідно з цим винаходом запропонований спосіб вибору пацієнта з гемобластозом з очікуваною користю від терапевтичного введення анти-CD19 антитіла в комбінації з фармацевтичним агентом, причому зазначений спосіб включає такі етапи:

- 15 а) забезпечення зразку крові, одержаної від зазначеного пацієнта, до лікування за допомогою зазначеного анти-CD19 антитіла,
- б) визначення числа NK-клітин у периферичній крові, та
- с) вибір пацієнта залежно від числа NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл.

20 У варіанті здійснення цього винаходу спосіб додатково включає в себе такий етап:

- d) лікування вибраного пацієнта за допомогою анти-CD19 антитіла.

Згідно з цим винаходом запропонований спосіб вибору пацієнта з гемобластозом з очікуваною користю від терапевтичного введення анти-CD19 антитіла, причому зазначений спосіб включає такі етапи:

- 25 а) забезпечення зразку крові, одержаної від зазначеного пацієнта, до лікування за допомогою зазначеного анти-CD19 антитіла,
- б) визначення числа NK-клітин у периферичній крові, та
- с) вибір пацієнта залежно від числа NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл.

30 У варіанті здійснення цього винаходу спосіб додатково включає в себе такий етап:

- d) лікування вибраного пацієнта за допомогою анти-CD19 антитіла.

Згідно з цим винаходом запропонований спосіб вибору пацієнта з гемобластозом з очікуваною користю від терапевтичного введення анти-CD19 антитіла в комбінації з фармацевтичним агентом, причому зазначений спосіб включає такі етапи:

- 35 а) забезпечення зразку крові, одержаної від зазначеного пацієнта, до лікування за допомогою зазначеного анти-CD19 антитіла,
- б) визначення числа NK-клітин у периферичній крові, та
- с) вибір пацієнта залежно від числа NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл.

40 У варіанті здійснення цього винаходу спосіб додатково включає в себе такий етап:

- d) лікування вибраного пацієнта за допомогою анти-CD19 антитіла.

В одному варіанті здійснення цього винаходу зазначений фармацевтичний агент, введений у комбінації із зазначеним анти-CD19 антитілом, являє собою біологічний або хіміотерапевтичний засіб. В іншому варіанті здійснення цього винаходу зазначений фармацевтичний агент являє собою терапевтичне антитіло або фрагмент антитіла, азотистий іприт, аналог пурину, аналог талідоміду, інгібітор фосфоінозитид-3-кінази, інгібітор BCL-2 або інгібітор тирозинкінази Брутона (BTK). В іншому варіанті здійснення зазначений фармацевтичний агент являє собою ритуксимаб, R-CHOP, циклофосфамід, хлорамбуцил, урамустин, іфосфамід, мелфалан, бендамустин, меркаптопурин, азатіоприн, тіогуанін, флударабін, талідомід, леналідомід, помалідомід, іделалісиб, дувелісиб, копанлісиб, ібрутиніб або венетоклакс.

Згідно з цим винаходом запропонований спосіб визначення пацієнта з гемобластозом з очікуваною користю від терапевтичного введення анти-CD19 антитіла, причому зазначений спосіб включає такі етапи:

- 55 а) забезпечення зразку крові, одержаної від зазначеного пацієнта, до лікування за допомогою зазначеного анти-CD19 антитіла,
- б) визначення числа NK-клітин у периферичній крові, та
- с) вибір пацієнта залежно від числа NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл.

60 У варіанті здійснення цього винаходу спосіб додатково включає в себе такий етап:

d) лікування вибраного пацієнта за допомогою анти-CD19 антитіла.

Згідно з цим винаходу запропонований спосіб лікування гемобластозу шляхом введення анти-CD19 антитіла пацієнту з гемобластозом, причому зазначений пацієнт був вибраний згідно зі способом, що включає такі етапи:

5 а) забезпечення зразку крові, одержаної від зазначеного пацієнта, до лікування за допомогою зазначеного анти-CD19 антитіла,

b) визначення числа NK-клітин у периферичній крові, та

c) вибір пацієнта залежно від числа NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл.

10 У варіанті здійснення цього винаходу спосіб додатково включає в себе такий етап:

d) лікування вибраного пацієнта за допомогою анти-CD19 антитіла.

Згідно з цим винаходом запропонований спосіб вибору пацієнта з гемобластозом з очікуваною користю від терапевтичного введення анти-CD19 антитіла, причому зазначений спосіб включає такі етапи:

15 а) забезпечення зразку крові, одержаної від зазначеного пацієнта, до лікування за допомогою зазначеного анти-CD19 антитіла,

b) визначення числа NK-клітин у периферичній крові, та

c) вибір пацієнта залежно від числа NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл.

20 У варіанті здійснення цього винаходу спосіб додатково включає в себе такий етап:

d) лікування вибраного пацієнта за допомогою анти-CD19 антитіла.

В іншому варіанті цього винаходу очікувана користь від терапевтичного введення анти-CD19 антитіла являє собою підвищення виживаності без прогресування (PFS), підвищення частоти об'єктивних відповідей (ORR), збільшення тривалості відповіді (DoR), підвищення загальної виживаності (OS) або збільшення часу до прогресування (TTP), або їх комбінацію.

25 В іншому варіанті здійснення винаходу очікувана користь від терапевтичного введення анти-CD19 антитіла являє собою підвищення виживаності без прогресування (PFS) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла, підвищення частоти об'єктивних відповідей (ORR) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла, збільшення тривалості відповіді (DoR) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла, підвищення загальної виживаності (OS) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла або збільшення часу до прогресування (TTP) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла, або їх комбінацію.

В іншому варіанті здійснення цього винаходу очікувана користь від терапевтичного введення анти-CD19 антитіла являє собою

35 (i) загальну виживаність (PFS) тривалістю щонайменше 8 місяців, щонайменше 9 місяців, щонайменше 10 місяців, щонайменше 11 місяців, щонайменше 12 місяців, щонайменше 13 місяців, щонайменше 14 місяців, щонайменше 15 місяців, щонайменше 16 місяців, щонайменше 17 місяців, щонайменше 18 місяців, щонайменше 19 місяців або щонайменше 20 місяців;

40 (ii) частота об'єктивних відповідей (ORR) становить щонайменше 30 %, щонайменше 40 %, щонайменше 50 %, щонайменше 60 %, щонайменше 70 %, щонайменше 80 % або щонайменше 80 %;

45 (iii) тривалість відповіді (DoR) становить більше щонайменше 10 місяців, щонайменше 12 місяців, щонайменше 14 місяців, щонайменше 16 місяців, щонайменше 18 місяців, щонайменше 20 місяців, щонайменше 24 місяців, щонайменше 30 місяців, щонайменше 36 місяців, щонайменше 42 місяці, щонайменше 48 місяців або щонайменше 54 місяці;

(iv) загальна виживаність (OS) становить щонайменше 10 місяців, щонайменше 12 місяців, щонайменше 14 місяців, щонайменше 16 місяців, щонайменше 18 місяців, щонайменше 20 місяців, щонайменше 24 місяці, щонайменше 30 місяців, щонайменше 36 місяців, щонайменше 42 місяці, щонайменше 48 місяців або щонайменше 54 місяці; або

50 (v) є комбінація одного або більше із зазначеного вище. В іншому варіанті здійснення цього винаходу зазначене анти-CD19 антитіло застосовують у комбінації з фармацевтичним агентом, як описано в цьому документі.

В іншому варіанті здійснення цього винаходу очікувана користь від терапевтичного введення анти-CD19 антитіла являє собою підвищення виживаності без прогресування (PFS) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла та хіміотерапевтичного засобу, підвищення частоти об'єктивних відповідей (ORR) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла та хіміотерапевтичного засобу, збільшення тривалості відповіді (DoR) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла та хіміотерапевтичного засобу, підвищення загальної виживаності (OS) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла та хіміотерапевтичного засобу або збільшення часу до прогресування (TTP) у порівнянні з введенням анти-CD20 антитіла та хіміотерапевтичного

засобу. У додатковому варіанті здійснення зазначене анти-CD20 антитіло являє собою ритуксимаб або його біоаналог. У додаткових варіантах здійснення зазначений хіміотерапевтичний засіб містить один або більше з циклофосфаміду, адриаміцину, вінкристину або преднізону.

5 В іншому варіанті здійснення цього винаходу очікувана користь від терапевтичного введення анти-CD19 антитіла являє собою підвищення виживаності без прогресування (PFS) у порівнянні з введенням R-CHOP, підвищення частоти об'єктивних відповідей (ORR) у порівнянні з введенням R-CHOP, збільшення тривалості відповіді (DoR) у порівнянні з введенням R-CHOP, підвищення загальної виживаності (OS) у порівнянні з введенням R-CHOP або збільшення часу до прогресування (TTP) у порівнянні з введенням R-CHOP.

10 В іншому варіанті здійснення цього винаходу зазначена очікувана користь від терапевтичного введення анти-CD19 антитіла являє собою поліпшення однієї або більше з таких характеристик:

- (i) виживаність без прогресування (PFS),
- 15 (ii) частота об'єктивних відповідей (ORR),
- (iii) тривалість відповіді (DoR),
- (iv) загальна виживаність (OS),
- (v) час до прогресування (TTP).

20 В іншому варіанті здійснення зазначене поліпшення однієї або більше характеристик від (i) до (v) представлені в порівнянні з лікуванням, яке включає анти-CD20 антитіло. У додатковому варіанті здійснення зазначене поліпшення однієї або більше характеристик від (i) до (v) представлені в порівнянні з лікуванням, яке включає анти-CD20 антитіло і хіміотерапевтичний засіб. У додатковому варіанті здійснення зазначене анти-CD20 антитіло являє собою ритуксимаб або його біоаналог. У додатковому варіанті здійснення винаходу зазначене поліпшення однієї або більше характеристик від (i) до (v) представлені в порівнянні з лікуванням, яке включає анти-CD20 антитіло і одне або більше з циклофосфаміду, адриаміцину, вінкристину або преднізону. У додатковому варіанті здійснення зазначене поліпшення однієї або більше характеристик від (i) до (v) представлені в порівнянні з лікуванням, яке включає в себе R-CHOP.

30 У варіанті здійснення цього винаходу у зазначеного пацієнта з гемобластозом згідно із зазначеним способом вибору пацієнта з гемобластозом з очікуваною користю від терапевтичного введення анти-CD19 антитіла є хронічний лімфоцитарний лейкоз (CLL), неходжкінська лімфома (NHL), дрібноклітинна лімфоцитарна лімфома (SLL) або гострий лімфобластний лейкоз (ALL). У додатковому варіанті здійснення у зазначеного пацієнта з гемобластозом є неходжкінська лімфома, яка вибрана з групи, що складається з фолікулярної лімфоми, дрібноклітинної лімфоцитарної лімфоми, лімфоми з лімфоїдної тканини слизових оболонок, лімфоми маргінальної зони, лімфоми маргінальної зони, дифузної В-великоклітинної лімфоми, лімфоми Беркітта і мантийноклітинної лімфоми. У додатковому варіанті здійснення у зазначеного пацієнта з гемобластозом є рецидивуюча або рефрактерна дифузна В-великоклітинна лімфома (r-r DLBCL).

45 У додатковому варіанті здійснення цього винаходу анти-CD19 антитіло згідно зі способом вибору пацієнта з гемобластозом з очікуваною користю від терапевтичного введення анти-CD19 антитіла містить ділянку HCDR1, що включає послідовність SYVMH (SEQ ID NO: 1), ділянку HCDR2, що включає в себе послідовність NPYNDG (SEQ ID NO: 2), ділянку HCDR3, що включає в себе послідовність GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), ділянку LCDR1, що включає в себе послідовність RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), ділянку LCDR2, що включає в себе послідовність RMSNLNS (SEQ ID NO: 5) і ділянку LCDR3, що включає в себе послідовність MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6). В іншому варіанті здійснення зазначене анти-CD19 антитіло

50 містить варіабельну ділянку важкого ланцюга з послідовністю
EVQLVESGGGLVLPKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTTYNEK
FQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 7)

та варіабельну ділянку легкого ланцюга з послідовністю
55 DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFGQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVP
DRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 8).

У додатковому варіанті здійснення зазначене анти-CD19 антитіло містить важкий ланцюг з послідовністю

60 EVQLVESGGGLVLPKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTTYNEK
FQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVF

PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPEEKTKSKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
5 TPPMLDSDGSEFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 11)

і легкий ланцюг із послідовністю

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVP
DRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNNFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE
10 VTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 12)

В іншому варіанті здійснення анти-CD19 антитіло для лікування пацієнтів із гемобластозом містить варіабельну ділянку важкого ланцюга та варіабельну ділянку легкого ланцюга, які щонайменше на 80 %, щонайменше на 90 %, щонайменше на 95 %, щонайменше на 96 %, щонайменше на 97 %, щонайменше на 98 % або щонайменше на 99 % ідентичні варіабельній ділянці важкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO: 7 і варіабельній ділянці легкого ланцюга з послідовністю SEQ ID NO: 8.

У варіанті здійснення анти-CD19 антитіло для лікування пацієнтів із гемобластозом містить варіабельну ділянку важкого ланцюга та варіабельну ділянку легкого ланцюга, які щонайменше на 80 %, щонайменше на 90 %, щонайменше на 95 %, щонайменше на 96 %, щонайменше на 97 %, щонайменше на 98 % або щонайменше на 99 % ідентичні варіабельній ділянці важкого ланцюга SEQ ID NO: 7 і варіабельну ділянку легкого ланцюга SEQ ID NO: 8, при цьому анти-CD19 антитіло містить ділянку HCDR1, що містить послідовність SYVMH (SEQ ID NO: 1), ділянку HCDR2, що містить послідовність NPYNDG (SEQ ID NO: 2), ділянку HCDR3, що містить послідовність GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), ділянку LCDR1, що містить послідовність RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), ділянку LCDR2, що містить послідовність RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), і ділянку LCDR3, що містить послідовність MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6). В іншому варіанті здійснення ділянка важкого ланцюга анти-CD19 антитіла містить амінокислоти 239D і 332E, причому нумерація Fc відповідає EU-індексу, представленому в Kabat.

У додатковому варіанті здійснення анти-CD19 антитіло для лікування пацієнтів із гемобластозом містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, які щонайменше на 80 %, щонайменше на 90 %, щонайменше на 95 %, щонайменше на 96 %, щонайменше на 97 %, щонайменше на 98 % або щонайменше на 99 % ідентичні важкому ланцюгу з послідовністю SEQ ID NO: 7 і легкому ланцюгу з послідовністю SEQ ID NO: 8.

У додатковому варіанті здійснення анти-CD19 антитіло для лікування пацієнтів із гемобластозом містить важкий ланцюг і легкий ланцюг, які щонайменше на 80 %, щонайменше на 90 %, щонайменше на 95 %, щонайменше на 96 %, щонайменше на 97 %, щонайменше на 98 % або щонайменше на 99 % ідентичні важкому ланцюгу SEQ ID NO: 7 і легкому ланцюгу SEQ ID NO: 8, при цьому анти-CD19 антитіло містить ділянку HCDR1, що містить послідовність SYVMH (SEQ ID NO: 1), ділянку HCDR2, що містить послідовність NPYNDG (SEQ ID NO: 2), ділянку HCDR3, що містить послідовність GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), ділянку LCDR1, що містить послідовність RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), ділянку LCDR2, що містить послідовність RMSNLNS (SEQ ID NO: 5), і ділянку LCDR3, що містить послідовність MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6). В іншому варіанті здійснення ділянка важкого ланцюга анти-CD19 антитіла містить амінокислоти 239D і 332E, причому нумерація Fc відповідає EU-індексу, представленому в Kabat.

У додатковому варіанті здійснення згідно з цим винаходом запропонований набір, що включає засоби для визначення числа NK-клітин у периферичній крові пацієнта з гемобластозом, який повинен отримувати терапію з анти-CD19 антитілом.

У додатковому варіанті здійснення цей винахід стосується застосування числа NK-клітин у периферичній крові в якості біомаркера для прогнозування чутливості пацієнта з гемобластозом до лікування за допомогою анти-CD19 антитіла. В інших варіантах здійснення число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні менше або дорівнює 100 клітин/мкл, менше або дорівнює 90 клітин/мкл, менше або дорівнює 80 клітин/мкл, менше або дорівнює 70 клітин/мкл, менше або дорівнює 60 клітин/мкл, або менше або дорівнює 50 клітин/мкл. В інших варіантах здійснення число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні становить від 1 до максимум 100 клітин/мкл, від 10 до максимум 100 клітин/мкл, від 20 до максимум 100 клітин/мкл, від 30 до максимум 100 клітин/мкл, від 40 до максимум 100 клітин/мкл, від 50 до максимум 100 клітин/мкл, від 60 до максимум 100 клітин/мкл, від 70 до максимум 100 клітин/мкл, або від 80 до максимум 100 клітин/мкл.

У додатковому варіанті здійснення цей винахід стосується застосування числа NK-клітин у

периферичній крові в якості біомаркера для прогнозування чутливості пацієнта з гемобластозом до лікування за допомогою анти-CD19 антитіла. В інших варіантах здійснення число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні становить менше 100 клітин/мкл, менше 90 клітин/мкл, менше 80 клітин/мкл, менше 70 клітин/мкл, менше 60 клітин/мкл, або менше 50 клітин/мкл. В інших варіантах здійснення число NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні становить від 1 до максимум 100 клітин/мкл, від 10 до максимум 100 клітин/мкл, від 20 до максимум 100 клітин/мкл, від 30 до максимум 100 клітин/мкл, від 40 до максимум 100 клітин/мкл, від 50 до максимум 100 клітин/мкл, від 60 до максимум 100 клітин/мкл, від 70 до максимум 100 клітин/мкл, або від 80 до максимум 100 клітин/мкл.

Послідовності антитіла

Таблиця 1

	SEQ ID NO:	Амінокислоти
HCDR1	SEQ ID NO: 1	SYVMH
HCDR2	SEQ ID NO: 2	NPYNDG
HCDR3	SEQ ID NO: 3	GTYYYGTRVFDY
LCDR1	SEQ ID NO: 4	RSSKSLQNVNGNTYLY
LCDR2	SEQ ID NO: 5	RMSNLNS
LCDR3	SEQ ID NO: 6	MQHLEYPIT
VH	SEQ ID NO: 7	EVQLVESGGGLVLPKPGGSLKLSKAAS GYFTFSYVMHWVRQAPGKGLEW IGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSD KSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCAR GTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSS
VL	SEQ ID NO: 8	DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSS KSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQ LLIYRMSNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTISL EPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK
Константний домен важкого ланцюга	SEQ ID NO: 9	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDW LNGKEYCKVSNKALPAPKEKTKTKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPML DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Константний домен легкого ланцюга	SEQ ID NO: 10	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPRQAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
Важкий ланцюг	SEQ ID NO: 11	EVQLVESGGGLVLPKPGGSLKLSKAASGYFTFS YVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDK SISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYY GTRVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVL TVVHQDWLNGKEYCKVSNK ALPAPKEKTKTKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPML DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Легкий ланцюг	SEQ ID NO: 12	DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSK SLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLL IYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISL EPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNFPYFPAKQVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
---------------	------------------	---

Демонстраційні приклади

ADCC-активність MOR00208 та ритуксимабу в клітинних лініях DLBCL, MCL та CLL при різних співвідношеннях Е:Т.

- 5 Приклад 1. Характеристика експресії CD19 та CD20 на досліджуваних клітинних лініях.
Способи та аналіз даних

У цьому дослідженні для підрахунку числа мічених фікоеритрином (PE) анти-CD19 та анти-CD20 антитіл, зв'язаних з однією клітиною, застосовували систему QuantiBRITE™ відповідно до інструкцій виробника. Система QuantiBRITE™ заснована на застосуванні чотирьох наборів гранул, покритих молекулами PE з різними рівнями попереднього калібрування, які застосовували для кореляції значень середньої інтенсивності флуоресценції (MFI) із числом молекул PE на одну гранулу. За кожним окремим видом клітини показник MFI, виміряний після забарвлювання міченими антитілами PE, підставляли у формулу лінійної регресії для підрахунку відповідних значень числа зв'язаних антитіл на одну клітину (ABC). Значення ABC безпосередньо корелюють з числом молекул CD19 і CD20 на кожній клітині, оскільки біоліганди з антитілами CD19-PE (біоліганд № 302208; клон H1B19) і CD20-PE (біоліганд № 302306; клон 2H7) несуть на собі тільки одну молекулу PE на кожне антитіло. При співвідношенні маркування флуорохром/білок (F/P) 1:1 значення MESF (молекули еквівалентного розчинного флуорохрому) відповідають значенням ABC відповідно до рівняння $MESF/ABC = \text{ефективні F/P}$. Для конвертування значень MFI значення ABC застосовували програмне забезпечення GraphPad PRISMTM.

Результати

Були проаналізовані рівні експресії CD19 та CD20 на клітинах Toledo (DLBCL), MEC-1 (CLL) та JVM-2 (MCL). Для визначення рівнів експресії CD19 та CD20 на досліджуваних клітинних лініях В-клітинної пухлини застосовували систему QuantiBRITE™ у комбінації з міченими PE анти-CD19 та анти-CD20 антитілами. Для DLBCL на клітинній лінії Toledo рівні експресії CD19 і CD20 становили 35721 і 28008 зв'язаних антитіл на клітину (ABC) (таблиця 1). Експресія CD19 і CD20 на клітинах MEC-1 (CLL) визначена в кількості 60 925 і 71 320 ABC, тоді як клітини JVM-2 (MCL) показали рівні експресії CD19 у кількості 26 157, а рівні експресії CD20 - у кількості 15 540 ABC.

Таблиця 1

Значення ABC CD19 та CD20 для клітин JVM-2 (MCL), Toledo (DLBCL) та MEC-1 (CLL)

Клітинна лінія	CD19 ABC	CD20 ABC
Toledo	35 721	28 008
MEC-1	60 925	71 320
JVM-2	26 157	15 540

Приклад 2. Аналізи ADCC-активності при різних співвідношеннях Е:Т.

Способи та аналіз даних

- 35 Антитілозалежна клітинно-опосередкована цитотоксичність (ADCC) являє собою імунологічний цитотоксичний ефекторний механізм, який, головним чином, залежить від взаємодії антитіл із Fc-рецепторами на NK-клітинах. ADCC запускається, коли антитіло зв'язується із специфічним антигеном на поверхні клітин-мішеней, наприклад, CD19 або CD20 на пухлинних клітинах, і Fc-фрагмент антитіла взаємодіє з Fc-рецепторами на ефекторних клітинах, як-от NK-клітини. Ця взаємодія активує ефекторні клітини, і внаслідок вивільнення перфोरину та гранзимів індукується лізис клітин-мішеней.

Мононуклеарні клітини периферичної крові (PBMC) для приготування ефекторних клітин отримували з цільної крові здорових добровольців шляхом її центрифугування в градієнті

щільності з роздільним розчином Biocoll та пробірками SepMate. Далі отримують NK-клітини з PBMC за допомогою набору MACS відповідно до протоколу виробника. До інкубування з антитілами та ефекторними NK-клітинами одну клітинну лінію CLL (MEC-1), одну клітинну лінію MCL (JVM-2) та одну клітинну лінію DLBCL (Toledo) забарвлювали за допомогою 1 мкмолью сукцинімідилового естеру карбоксифлуоресцеїну (CFSE) протягом 3 хвилини при кімнатній температурі.

В експериментах ADCC, 2×10^4 клітин-мішеней DLBCL, MCL або CLL на лунку інкубували з NK-клітинами як ефекторні клітини при різних співвідношеннях ефектор-мішень (Е:Т) і з MOR00208 або ритуксимабом при концентрації 10 мкг/мл протягом 2 годин при температурі 37 °C та 5 % насиченні CO₂. Неспецифічний NK-клітинно-опосередкований лізис пухлинних клітин визначали інкубуванням NK-клітин із клітинами-мішенями за відсутності антитіл.

Для вимірювання лізису клітин-мішеней використовували аналіз на основі проточної цитометрії, підраховуючи мертві та живі клітини за допомогою 4',6-діамідин-2-феніліндолю (DAPI), інтеркалюючого барвника ДНК, який не проникає через мембрани і вбудовується в ДНК тільки мертвих клітин із ушкодженими клітинними мембранами, тоді як інтактні мембрани живих клітин не пропускають його всередину клітини. Перед вимірюванням клітин FACS забарвлювали DAPI при кінцевій концентрації 1 мкг/мл та інкубували протягом 10 хвилин у льоду.

Вихідні дані збирали за допомогою інструменту FACS Verse та аналізували за допомогою програмного забезпечення FlowJo. Клітинні популяції були відсортовані на живі (DAPI-негативні) та мертві клітини-мішені (DAPI-позитивні). Дані були експортовані до Microsoft Excel® для підрахунку відсотку мертвих клітин та відсотку специфічного лізису за допомогою таких рівнянь:

$\% \text{ мертвих клітин} = \text{мертві клітини-мішені} / (\text{мертві клітини-мішені} + \text{живі клітини-мішені}) \times 100$ (зразок)

$\% \text{ специфічного лізису} = \% \text{ мертвих клітин} - \% \text{ мертвих клітин, які виявляються при контролі впливу NK-клітин на клітини-мішені (масова частка антитіла)}$.

Аналіз даних проводили за допомогою пакета програм для статистичної обробки даних R та R Studio (версія 1.0.153 RStudio, Inc). Для кожного окремого експерименту були узагальнені % показники специфічного лізису, виміряного тричі, з обчисленням середнього геометричного значення та його стандартного відхилення. Крім того, співвідношення специфічного лізису розраховували від % значень специфічного лізису шляхом нормування до медіанного значення ритуксимабу. Для візуалізації розраховували середнє геометричне значення та його 95 % довірчий інтервал. Довірчий інтервал середнього геометричного значення розраховували за методикою бутстрап-повторної вибірки з 1000 повторами.

Для узагальнення даних всіх експериментів клітинної лінії співвідношення специфічного лізису у кожного донора комбінували в ході двоступінчастого процесу. По-перше, із значень, отриманих при трьох паралельних вимірах в ході окремих експериментів, було виведено середнє геометричне значення. Далі середні геометричні значення окремих експериментів комбінували з одним середнім геометричним значенням при відповідному співвідношенні Е:Т, отриманому у окремого донора. При кожному співвідношенні Е:Т медіану та її довірчий інтервал розраховували за допомогою методики бутстрап-повторної вибірки з 10 000 повторами на основі узагальнених середніх геометричних значень окремих донорів (R Core Team 2017; Davison and Hinkley 1997; Wickham 2017).

Результати

ADCC-активність анти-CD19 антитіла з посиленою Fc-ділянкою MOR00208 та анти-CD20 антитіла ритуксимабу відносно клітин Toledo (DLBCL), MEC-1 (CLL) та JVM-2 (MCL) визначали після 2-годинного інкубування з NK-клітинами, отриманими від здорових людей-донорів.

Протипухлинну активність MOR00208 та ритуксимабу оцінювали при співвідношеннях Е:Т 0,1:1, 0,3:1, 1:1, 3:1 та 6:1 при концентрації антитіла 10 мкг/мл. Співвідношення Е:Т в межах від 0,1:1 до 6:1 були обрані як низькі та високі співвідношення в аналізі. Найнижче співвідношення (1 NK-клітина на 10 пухлинних клітин; співвідношення 0,1:1) було встановлено мінімально різним сигналом ADCC в такому *in vitro* аналізі. Верхня межа (6 NK-клітин на 1 пухлинну клітину; 6:1) була вибрана при співвідношенні, при якому досягався максимальний лізис в умовах такого *in vitro* аналізу.

На фіг. 1 показані репрезентативні результати, отримані в окремому експерименті для кожної лінії клітин-мішеней, представлені у вигляді % специфічного лізису, а на фіг. 2 показано співвідношення специфічного лізису MOR00208, нормованого до ритуксимабу.

На фіг. 1 показаний результат одного репрезентативного аналізу специфічного клітинного лізису в клітинах MEC-1, опосередкованого MOR00208 (чорний) або ритуксимабом (білий) у присутності NK-клітин протягом 2-годинного аналізу при температурі 37 °C. При співвідношеннях Е:Т 3:1 і 6:1 середні рівні специфічного лізису в клітинах MEC-1 становили від

40 до 65 % при опосередкуванні MOR00208 і 34–60 % при опосередкуванні ритуксимабом. В ілюстрованому аналізі ADCC специфічний лізис клітин JVM-2, опосередкований MOR00208, порівняно з ритуксимабом також був збільшений при співвідношеннях Е:Т 3:1 та 6:1 у межах між 46 та 56 % проти 39 та 48 %. Специфічний лізис клітин Toledo виявився схожим для MOR00208 і ритуксимабу при вищих співвідношеннях Е:Т зі значеннями приблизно 60 %. Специфічний лізис клітин MEC-1, опосередкований ритуксимабом, при низькому співвідношенні Е:Т 0,1:1 складав 3 %, тоді як MOR00208 продемонстрував специфічний лізис 6 %. Подібні дані були виявлені в клітинах JVM-2 зі збільшеним специфічним лізисом клітин при MOR00208 (3,4 %) порівняно з ритуксимабом (0,5 %), і в клітинах Toledo зі збільшеним лізисом клітин при MOR00208 (8 %) порівняно з ритуксимабом (3 %) при співвідношенні Е:Т 0,1:1.

Співвідношення специфічного лізису при застосуванні MOR00208 (чорний трикутник) і ритуксимабу (коло) з медіанним значенням ритуксимабу виявилось збільшеним від 1,9 до 6,9 разів для всіх репрезентативних експериментів з окремим вивченням ADCL з клітинними лініями DLBCL, MCL і CLL при співвідношеннях Е:Т 0,1:1 (фіг. 2). При вищих співвідношеннях Е:Т 3:1 і 6:1 специфічний лізис досяг рівня насичення (див. фіг. 1), при цьому відзначалася лише мінімальна відмінність у співвідношенні специфічного лізису MOR00208 у порівнянні з ритуксимабом (фіг. 2). Усі експериментальні значення оцінювали за допомогою трьох паралельних вимірювань. Загалом підбір співвідношень Е:Т був проведений в аналізах ADCC з трьома клітинними лініями В-клітинної пухлини та NK-клітин від 61 зразку крові, отриманого від 33 здорових донорів крові. ADCC-активність MOR00208 та ритуксимабу оцінювали на клітинах JVM-2 від 8 донорів та на клітинах Toledo від 10 донорів у двох незалежних експериментах на кожен донорський матеріал. Клітини MEC-1 від 8 донорів випробовували у двох незалежних експериментах, а ще від 9 донорів - в одиничних експериментах.

На фіг. 3 показано співвідношення специфічного лізису, нормованого до ритуксимабу, для всіх експериментів, проведених із кожною клітинною лінією. Тут кожне коло або трикутник відображає середнє геометричне значення двох незалежних експериментів, проведених у трьох паралельних випробуваннях із NK-клітинами від одного окремого донора крові. Співвідношення специфічного лізису, що в 5,3 або 2,5 рази перевищує таке для MOR00208, нормованого до ритуксимабу, виявлено в клітинах JVM-2 або Toledo при співвідношенні Е:Т 0,1:1, що показано як медіана багатьох донорів (фіг. 3). NK-клітини окремих донорів продемонстрували 20- або 30-разове збільшення співвідношення специфічного лізису MOR00208 порівняно з ритуксимабом при найнижчому співвідношенні Е:Т, наприклад, у донора 296 з клітинами-мішенями JVM-2 або у донора 299 з клітинами-мішенями Toledo (дані не наведені). У клітинах MEC-1 цей ефект виявився слабшим із середнім збільшенням співвідношення специфічного лізису MOR00208, що в 1,6 рази перевищує таке ритуксимабу при співвідношенні Е:Т 0,1:1 в результаті численних аналізів ADCC з NK-клітинами, отриманими від 17 різних донорів. При високих співвідношеннях Е:Т збільшення співвідношення специфічного лізису MOR00208 порівняно з ритуксимабом виявилось менш вираженим для всіх випробуваних клітинних ліній В-клітинної пухлини, хоча при більш низьких співвідношеннях Е:Т MOR00208 явно мав перевагу ритуксимабу. Необхідно відзначити, що довірчі інтервали MOR00208, як показано на фіг. 3, не перекривалися довірчими інтервалами ритуксимабу, за винятком випадків із клітинами Toledo при співвідношенні Е:Т 6:1, що в цілому свідчить про правильність спостережень про перевагу MOR00208 над ритуксимабом. На завершення слід зазначити, що співвідношення специфічного лізису збільшувалося в напрямку низьких співвідношень Е:Т і виявилось найбільш вираженим для клітин JVM-2 і Toledo, хоча порівняний ефект спостерігався для клітин MEC-1.

Моноклональне антитіло MOR00208 націлене на CD19 антиген на поверхні В-клітин і має дві мутації (S239D та I332E) на Fc-ділянці для посилення антитілозалежної клітинно-опосередкованої цитотоксичності. ADCC є основним механізмом знищення злоякісних клітин, переважно опосередкованого інфільтрацією пухлини NK-клітинами. Bhat та Watzl у 2007 р. показали, що за присутності ритуксимабу відбувається збільшення серійного знищення NK-клітин із максимальним ефектом при низьких співвідношеннях Е:Т 0,05:1, 0,1:1 та 0,2:1. Крім того, повідомлялося про те, що посилення Fc-ділянки антитіл призводить до збільшення серійного знищення NK-клітин порівняно з непоміченою версією CD33-специфічного антитіла (Romain et al. 2014 р.). Тут продемонстровано збільшене співвідношення специфічного лізису MOR00208, нормованого до ритуксимабу, при низькому співвідношенні Е:Т 0,1:1 з однією клітинною лінією, отриманою від DLBCL, однією від MCL і однією від CLL, опосередкованого NK-клітинами, від 1,6 до 5,3 рази перевершує широкий спектр здорових донорів. Співвідношення специфічного лізису збільшувалося в напрямку низьких співвідношень Е:Т і виявилось найбільш вираженим для клітин JVM-2 і Toledo, хоча порівняна тенденція спостерігалася для клітин MEC-1. При більш високих співвідношеннях Е:Т 3:1 і 6:1 опосередкований MOR00208 специфічний

лізис виявився схожим на такий у ритуксимабу при насичених концентраціях антитіла в 10 мкг/мл.

Збільшений специфічний лізис MOR00208 у порівнянні з ритуксимабом при низьких співвідношеннях Е:Т був підтверджений на свіжих NK-клітинах, отриманих від 33 здорових донорів, у 61 незалежному експерименті з клітинами Toledo, JVM-2 та MEC-1. Ці результати вказують на збільшене серійне знищення NK-клітин при низьких співвідношеннях Е:Т і доводять, що MOR00208 збільшив протипухлинну активність у пацієнтів із DLBCL, MCL і CLL з низьким числом NK-клітин. На завершення відзначимо, що ADCC-активність MOR00208 продемонструвала найбільш виражену перевагу щодо ритуксимабу в умовах, коли кількість NK-клітин обмежена. Види терапії, що включають застосування MOR00208, є, таким чином, більш переважними для пацієнтів із низьким NKCC на вихідному рівні в порівнянні зі стандартом лікування (наприклад, ритуксимабом).

Приклад 3. Підрахунок Т-клітин та NK-клітин.

В якості прикладу підрахунок Т-клітин і NK-клітин у периферичній крові може бути проведений згідно з такою процедурою:

Т-клітини являють собою вид лімфоцитів (підвид білих кров'яних клітин), які відіграють центральну роль у клітинно-опосередкованому імунитеті. Їх можна відрізнити від інших лімфоцитів, таких як В-клітини та NK-клітини, за присутністю на поверхні Т-клітинних рецепторів.

Природні клітини-кілери або NK-клітини являють собою вид цитотоксичних лімфоцитів, вкрай важливих для вродженої імунної системи. NK-клітини швидко реагують на клітини, заражені вірусом, діючи близько 3 днів після інфікування, а також реагують на формування пухлини. Зазвичай імунні клітини знаходять головний комплекс гістосумісності (МНС), представлений на поверхні інфікованих клітин, стимулюючи вивільнення цитокіну, викликаючи лізис або апоптоз. Однак NK-клітини унікальні, оскільки вони здатні розпізнавати уражені клітини без антитіл і МНС, значно прискорюючи імунну реакцію.

Матеріали та способи

TriTest CD3 FITC/CD16+CD56 PE/CD45 PerCP (з пробірками TruCOUNT), BD Biosciences, Кат: 340403 (США); 342442 (Європа). Піпетори та наконечники для піпеток для доставки 20 мкл, 50 мкл та 450 мкл, Gilson Inc. Розчини, що лізують, FACS, BD Biosciences, Кат: 349202.

Інструменти: проточний цитометр, вортекс-міксер.

Відомості про проточну цитометрію:

Цільну кров забарвлюють антитілами, міченими флуорохромом (TriTEST), які специфічно зв'язуються з поверхневими антигенами лейкоцитів. Клітини перетинають лазерний промінь та розсіюють світло лазера. Забарвлені клітини флуоресціюють. Ці сигнали розсіювання та флуоресценції, зареєстровані за допомогою інструмента, дають інформацію про розмір клітин, складність їх внутрішньої структури та відносну інтенсивність флуоресценції. Реагенти TriTEST випускають флуоресценцію, що дозволяє здійснити прямий флуоресцентний гейтинг популяції NK-клітин і Т-лімфоцитів для зниження контамінації нелізованими або ядровмісними червоними кров'яними клітинами у воротах.

Забарвлювання

Пробірку TruCOUNT для кожного зразка пацієнта маркують ідентифікаційним номером зразку. На дно пробірки піпеткою відміряють 20 мкл реагенту TriTEST CD3/CD16+CD56/CD45. На дно пробірки відміряють піпеткою 50 мкл добре перемішаної антикоагульованої цільної крові. Антикоагульовану кров (ЕДТК), яку зберігали при кімнатній температурі (20–25 °C), необхідно забарвити протягом 24 годин після вилучення та провести її аналіз протягом 6 годин після забарвлення (зберігати при кімнатній температурі та у захищеному від світла місці). Пробірку акуратно струшують на вортексі для перемішування її вмісту. Пробірку протягом 15 хвилин інкубують у темному місці за кімнатної температури (20–25 °C). У пробірку додають 450 мкл 1X FACS лізуючого розчину. Пробірку знову струшують на вортексі та інкубують протягом 15 хвилин у темному місці при кімнатній температурі (20–25 °C).

При застосуванні пробірок TruCOUNT певний обсяг зразку забарвлюється безпосередньо у пробірці TruCOUNT. Ліофілізований осад у пробірці розчиняється, вивільняючи певну кількість флуоресцентних гранул. Під час аналізу абсолютна кількість (клітин/мкл) позитивних клітин у зразку може бути встановлена шляхом порівняння клітинних об'єктів із гранулярними об'єктами.

Проточна цитометрія

Клітини добре струшують на вортексі (при низькій швидкості) зменшення агрегації перед проведенням через проточний цитометр.

Аналізи даних

На точковій діаграмі проводять візуальну порівняльну оцінку CD45 та SSC. Лімфоцити

представлені у вигляді яскравої компактної популяції клітин із SSC від низького до середнього ступеню. Моноцити (M) та гранулоцити (G) представлені окремими популяціями. Аналіз завершують після того, як клітинні популяції моноцитів та лімфоцитів демонструють чітке розділення.

5 Лімфоцити спочатку "формують ворота" як CD45-позитивна клітинна популяція з низьким SSC. Попередньо виділяють CD16/CD56 та CD3. Т-клітини (T) мають виглядати у вигляді компактного яскравого CD3-позитивного кластера. NK-клітини (NK) повинні виглядати у вигляді компактного яскравого CD16/CD56-позитивного кластера. Після закінчення гейтингу можна підрахувати Т- і NK-клітини.

10 Підрахунки гранулярних об'єктів здійснюють за допомогою графіка CD16/CD56 у порівнянні з CD3 без попереднього виділення будь-якої обмеженої ділянки. Гранули мають бути представлені у вигляді PE/FITC двічі позитивного кластера.

Підрахунок абсолютних кількостей

15 Абсолютне число (клітин/мкл крові) Т-клітин або NK-клітин у зразку встановлюється шляхом порівняння об'єктів клітин із гранулярними об'єктами. Аналіз даних можна проводити за допомогою Either MultiSET або вручну (за допомогою CellQuest або іншого програмного забезпечення). Для підрахунку вручну (#) отриманих позитивних клітинних об'єктів ділять на число (#) отриманих гранулярних об'єктів, після чого помножують на (загальна кількість об'єктів TruCOUNT (залежить від партії), поділена на об'єм зразку цільної крові 50 мкл). Результат являє собою абсолютну кількість клітин на мікролітр.

Рівняння:

число об'єктів в обмеженому окні

$$\frac{\text{число об'єктів в обмеженому окні, що містять клітинну популяцію (Т або NK)}}{\text{число об'єктів в обмеженому окні}} \times \frac{\text{# всіх гранул TruCOUNT}}{50 \text{ мкл цільної крові}} = \text{# кліток/мкл крові}$$

содержащем клеточную популяцию Т или NK

содержащем клеточную популяцию гранул

Приклад:

51667 общего числа

$$25 \quad \frac{2709 \text{ полученных Т-клеток}}{10000 \text{ полученных гранул}} \times \frac{51667 \text{ общего числа гранул в пробирке}}{50 \text{ мкл}} = 280 \text{ Т-клеток/мкл крови}$$

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> MORPHOSYS AG

30

<120> АНТИ-CD19-ТЕРАПІЯ У ПАЦІЄНТІВ З ОБМЕЖЕНОЮ КІЛЬКІСТЮ ПРИРОДНИХ КЛІТИН-КІЛЕРІВ

<130> MS301/EP-PROV

<140> EP 19172495.4

35

<141> 03.05.2019

<160> 13

<170> PatentIn версія 3.5

<210> 1

<211> 5

40

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело

<223> /примітка=«Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид»

45

<400> 1

Ser Tyr Val Met His

1 5

<210> 2

50

<211> 6

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> джерело
 <223> /примітка=«Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид»
 <400> 2
 5 Asn Pro Tyr Asn Asp Gly
 1 5
 <210> 3
 <211> 12
 <212> БЛОК
 10 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка=«Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид»
 15 <400> 3
 Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 4
 <211> 16
 20 <212> БЛОК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка=«Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид»
 25 <400> 4
 Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr
 1 5 10 15
 <210> 5
 30 <211> 7
 <212> БЛОК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 35 <223> /примітка=«Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид»
 <400> 5
 Arg Met Ser Asn Leu Asn Ser
 1 5
 40 <210> 6
 <211> 9
 <212> БЛОК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 45 <221> джерело
 <223> /примітка=«Опис штучної послідовності: Синтетичний пептид»
 <400> 6
 Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Ile Thr
 50 1 5
 <210> 7
 <211> 121
 <212> БЛОК
 <213> Штучна послідовність
 55 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка=«Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид»
 <400> 7
 60 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 5 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 10 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 15 115 120
 <210> 8
 <211> 112
 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність
 20 <220>
 <221> джерело
 <223> /примітка=«Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид»
 <400> 8
 25 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val
 20 25 30
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 30 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Asn Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
 65 70 75 80
 35 Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 85 90 95
 Leu Glu Tyr Pro Ile Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 9
 40 <211> 330
 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <221> джерело
 45 <223> /примітка=«Опис штучної послідовності: Синтетичний
 поліпептид»
 <400> 9
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 50 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 55 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 60 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
5 130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
10 Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
15 210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
20 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
25 290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330
30 <210> 10
<211> 107
<212> БЛОК
<213> Штучна послідовність
<220>
35 <221> джерело
<223> /примітка=«Опис штучної послідовності: Синтетичний
поліпептид»
<400> 10
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
40 1 5 10 15
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45
45 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
50 85 90 95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105
<210> 11
<211> 451
55 <212> БЛОК
<213> Штучна послідовність
<220>
<221> джерело
<223> /примітка=«Опис штучної послідовності: Синтетичний
60 поліпептид»

<400> 11
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 5 20 25 30
 Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 10 Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Thr Arg Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 15 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 20 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 25 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 30 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 260 265 270
 Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
 290 295 300
 40 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 45 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 50 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 55 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450
 60 <210> 12

<211> 219
 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 5 <221> джерело
 <223> /примітка=«Опис штучної послідовності: Синтетичний поліпептид»
 <400> 12
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 10 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Gln Asn Val
 20 25 30
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 15 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Asn Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
 65 70 75 80
 Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Met Gln His
 20 85 90 95
 Leu Glu Tyr Pro Ile Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 25 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 30 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 35 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 13
 <211> 556
 <212> БІЛОК
 40 <213> Homo sapiens
 <400> 13
 Met Pro Pro Pro Arg Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Leu Thr Pro Met
 1 5 10 15
 Glu Val Arg Pro Glu Glu Pro Leu Val Val Lys Val Glu Glu Gly Asp
 45 20 25 30
 Asn Ala Val Leu Gln Cys Leu Lys Gly Thr Ser Asp Gly Pro Thr Gln
 35 40 45
 Gln Leu Thr Trp Ser Arg Glu Ser Pro Leu Lys Pro Phe Leu Lys Leu
 50 50 55 60
 Ser Leu Gly Leu Pro Gly Leu Gly Ile His Met Arg Pro Leu Ala Ile
 65 70 75 80
 Trp Leu Phe Ile Phe Asn Val Ser Gln Gln Met Gly Gly Phe Tyr Leu
 85 90 95
 Cys Gln Pro Gly Pro Pro Ser Glu Lys Ala Trp Gln Pro Gly Trp Thr
 55 100 105 110
 Val Asn Val Glu Gly Ser Gly Glu Leu Phe Arg Trp Asn Val Ser Asp
 115 120 125
 Leu Gly Gly Leu Gly Cys Gly Leu Lys Asn Arg Ser Ser Glu Gly Pro
 130 135 140
 60 Ser Ser Pro Ser Gly Lys Leu Met Ser Pro Lys Leu Tyr Val Trp Ala

145 150 155 160
 Lys Asp Arg Pro Glu Ile Trp Glu Gly Glu Pro Pro Cys Leu Pro Pro
 165 170 175
 Arg Asp Ser Leu Asn Gln Ser Leu Ser Gln Asp Leu Thr Met Ala Pro
 5 180 185 190
 Gly Ser Thr Leu Trp Leu Ser Cys Gly Val Pro Pro Asp Ser Val Ser
 195 200 205
 Arg Gly Pro Leu Ser Trp Thr His Val His Pro Lys Gly Pro Lys Ser
 210 215 220
 10 Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp Arg Pro Ala Arg Asp Met Trp
 225 230 235 240
 Val Met Glu Thr Gly Leu Leu Leu Pro Arg Ala Thr Ala Gln Asp Ala
 245 250 255
 Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly Asn Leu Thr Met Ser Phe His Leu
 15 260 265 270
 Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu Trp His Trp Leu Leu Arg Thr Gly
 275 280 285
 Gly Trp Lys Val Ser Ala Val Thr Leu Ala Tyr Leu Ile Phe Cys Leu
 290 295 300
 20 Cys Ser Leu Val Gly Ile Leu His Leu Gln Arg Ala Leu Val Leu Arg
 305 310 315 320
 Arg Lys Arg Lys Arg Met Thr Asp Pro Thr Arg Arg Phe Phe Lys Val
 325 330 335
 Thr Pro Pro Pro Gly Ser Gly Pro Gln Asn Gln Tyr Gly Asn Val Leu
 25 340 345 350
 Ser Leu Pro Thr Pro Thr Ser Gly Leu Gly Arg Ala Gln Arg Trp Ala
 355 360 365
 Ala Gly Leu Gly Gly Thr Ala Pro Ser Tyr Gly Asn Pro Ser Ser Asp
 370 375 380
 30 Val Gln Ala Asp Gly Ala Leu Gly Ser Arg Ser Pro Pro Gly Val Gly
 385 390 395 400
 Pro Glu Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu Glu
 405 410 415
 Asp Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Leu Gly Gln Asp Gln Leu
 35 420 425 430
 Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu Gly
 435 440 445
 Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn Glu
 450 455 460
 40 Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu Ser
 465 470 475 480
 Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu Gly
 485 490 495
 Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Ile Leu Tyr Ala Ala Pro Gln
 45 500 505 510
 Leu Arg Ser Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp Ala
 515 520 525
 Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala Trp
 530 535 540
 50 Gly Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Thr Arg
 545 550 555

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 55 1. Анти-CD19 антитіло для застосування в лікуванні гемобластозу у суб'єкта-людини, причому у суб'єкта-людини кількість НК-клітин у периферичній крові на вихідному рівні становить менше ніж 50 НК-клітин/мкл, і причому анти-CD19 антитіло містить ділянку HCDR1, що містить послідовність SYVMH (SEQ ID NO: 1), ділянку HCDR2, що містить послідовність NPYNDG (SEQ ID NO: 2), ділянку HCDR3, що містить послідовність GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), ділянку LCDR1, що містить послідовність RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), ділянку LCDR2, що
- 60

містить послідовність RMSNLNS (SEQ ID NO: 5) і ділянку LCDR3, що містить послідовність MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6).

2. Анти-CD19 антитіло для застосування за п. 1, де гемобластоз є резистентним, без відповіді або без адекватної відповіді на лікування таргетною терапією анти-CD20 антитілом.

5 3. Анти-CD19 антитіло для застосування за п. 2, де анти-CD20 антитілом таргетної терапії є ритуксимаб.

4. Анти-CD19 антитіло для застосування за будь-яким із попередніх пунктів, де анти-CD19 антитіло містить варіабельну ділянку важкого ланцюга з послідовністю

10 EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTTYNEKFQG
RVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 7)

та варіабельну ділянку легкого ланцюга з послідовністю

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRF
SGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 8).

15 5. Анти-CD19 антитіло для застосування за будь-яким із попередніх пунктів, де анти-CD19 антитіло містить константну ділянку важкого ланцюга, яка містить амінокислоти 239D і 332E, причому нумерація Fc відповідає EU-індексу, наданому в Kabat.

6. Анти-CD19 антитіло для застосування за будь-яким із попередніх пунктів, де анти-CD19 антитіло містить важкий ланцюг, який містить послідовність

20 EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTTYNEKFQG
RVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLA

PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV

DVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYCKCKVSNKALP
APEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP

25 MLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 11),
і легкий ланцюг, який містить послідовність

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRF
SGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS

30 VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHKVYACEVT
HQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 12).

7. Анти-CD19 антитіло для застосування за будь-яким із попередніх пунктів, де зазначене анти-CD19 антитіло вводять у комбінації з одним або більше додатковими фармацевтичними агентами, вибраними з групи, яка складається з ритуксимабу, R-CHOP, циклофосфаміду, хлорамбуцилу, урамустину, іфосфаміду, мелфалану, бендамустину, меркаптопурина, азатіоприну, тіогuanіну, флударабіну, талідоміду, леналідоміду, помалідоміду, іделалісибу, дувелісибу, копанлісибу, ібрутинібу і венетоклаксу.

8. Анти-CD19 антитіло для застосування за будь-яким із попередніх пунктів, де зазначений гемобластоз являє собою неходжкінську лімфому.

9. Анти-CD19 антитіло для застосування за п. 8, де неходжкінська лімфома вибрана з групи, що складається з фолікулярної лімфоми, дрібноклітинної лімфоцитарної лімфоми, лімфоми з лімфоїдної тканини слизових оболонок, лімфоми маргінальної зони, дифузної В-великоклітинної лімфоми, лімфоми Беркіта і мантийноклітинної лімфоми.

10. Анти-CD19 антитіло для застосування за п. 8, де неходжкінська лімфома являє собою рецидивуючу або рефрактерну дифузну В-великоклітинну лімфому (г-г DLBCL).

45 11. Анти-CD19 антитіло для застосування за п. 8, де неходжкінська лімфома являє собою рецидивуючу або рефрактерну фолікулярну лімфому.

12. Анти-CD19 антитіло для застосування за будь-яким із пп. 1-7, де зазначений гемобластоз являє собою хронічний лімфоцитарний лейкоз.

13. Анти-CD19 антитіло для застосування за будь-яким із пп. 1-7, де зазначений гемобластоз являє собою гострий лімфобластний лейкоз.

50 14. Спосіб вибору пацієнта з гемобластозом з очікуваною користю від терапевтичного введення анти-CD19 антитіла, причому зазначений спосіб включає в себе такі етапи:

а) забезпечують зразок крові, одержаної від зазначеного пацієнта, до лікування за допомогою зазначеного анти-CD19 антитіла,

55 б) визначають кількість NK-клітин у периферичній крові у зразку крові, і

с) вибирають пацієнта на основі того, що кількість NK-клітин у периферичній крові на вихідному рівні становить менше ніж 50 NK-клітин/мкл,

причому анти-CD19 антитіло містить ділянку HCDR1, що містить послідовність SYVMH (SEQ ID NO: 1), ділянку HCDR2, що містить послідовність NPYNDG (SEQ ID NO: 2), ділянку HCDR3, що

60 містить послідовність GTYYYGTRVFDY (SEQ ID NO: 3), ділянку LCDR1, що містить

послідовність RSSKSLQNVNGNTYLY (SEQ ID NO: 4), ділянку LCDR2, що містить послідовність RMSNLNS (SEQ ID NO: 5) і ділянку LCDR3, що містить послідовність MQHLEYPIT (SEQ ID NO: 6).

15. Спосіб за п. 14, де анти-CD19 антитіло містить варіабельну ділянку важкого ланцюга з послідовністю

EVQLVESGGGLVHPGGSLLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQG
RVTISDDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 7)

та варіабельну ділянку легкого ланцюга з послідовністю

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRF
SGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 8).

16. Спосіб за п. 14 або 15, де анти-CD19 антитіло містить константну ділянку важкого ланцюга, яка містить амінокислоти 239D і 332E, причому нумерація Fc відповідає EU-індексу, наданому в Kabat.

17. Спосіб за будь-яким із пп. 14-16, де анти-CD19 антитіло містить важкий ланцюг, який містить послідовність

EVQLVESGGGLVHPGGSLLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQG
RVTISDDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGPPQDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
DVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKALP
APEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
MLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 11),

і легкий ланцюг, який містить послідовність

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRF
SGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS
VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT
HQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 12).

18. Спосіб за будь-яким із пп. 14-17, де зазначений гемобластоз являє собою неходжкінську лімфому.

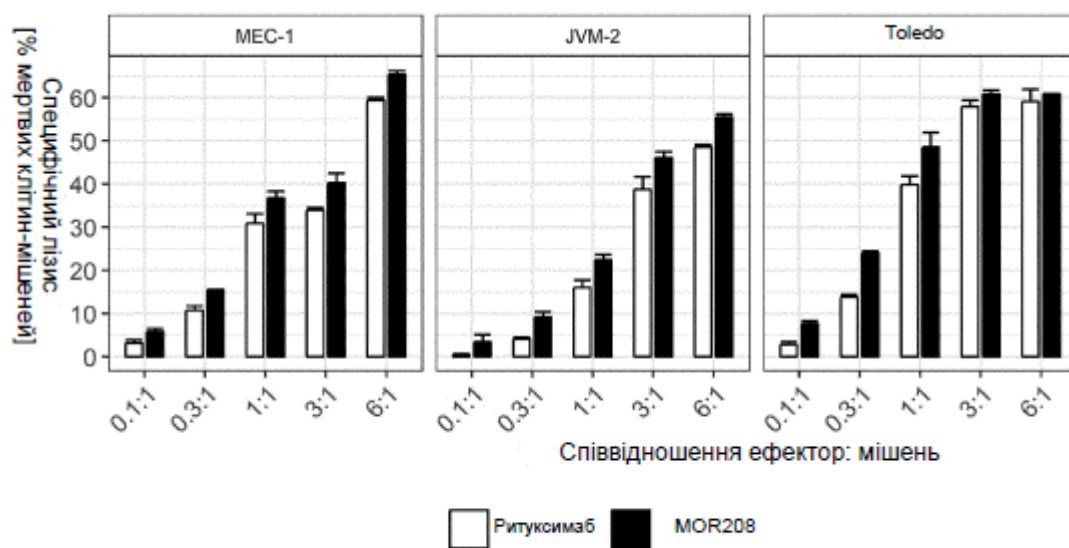
19. Спосіб за п. 18, де неходжкінська лімфома вибрана з групи, що складається з фолікулярної лімфоми, дрібноклітинної лімфоцитарної лімфоми, лімфоми з лімфоїдної тканини слизових оболонок, лімфоми маргінальної зони, дифузної В-великоклітинної лімфоми, лімфоми Беркіта і мантийноклітинної лімфоми.

20. Спосіб за п. 18, де неходжкінська лімфома являє собою рецидивуючу або рефрактерну дифузну В-великоклітинну лімфому.

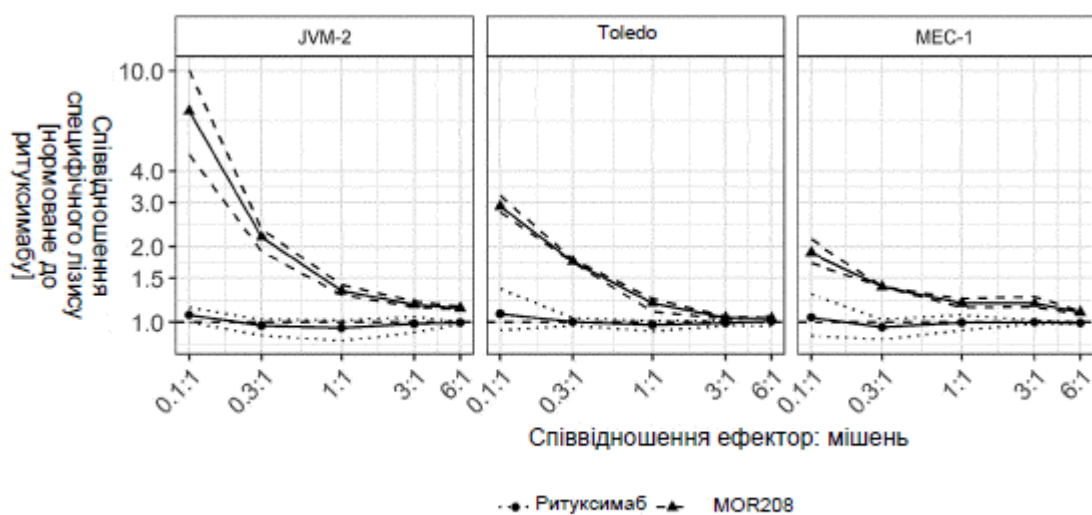
21. Спосіб за п. 18, де неходжкінська лімфома являє собою рецидивуючу або рефрактерну фолікулярну лімфому.

22. Спосіб за будь-яким із пп. 14-17, де зазначений гемобластоз являє собою хронічний лімфоцитарний лейкоз.

23. Спосіб за будь-яким із пп. 14-17, де зазначений гемобластоз являє собою гострий лімфобластний лейкоз.



Фіг. 1



Фіг. 2

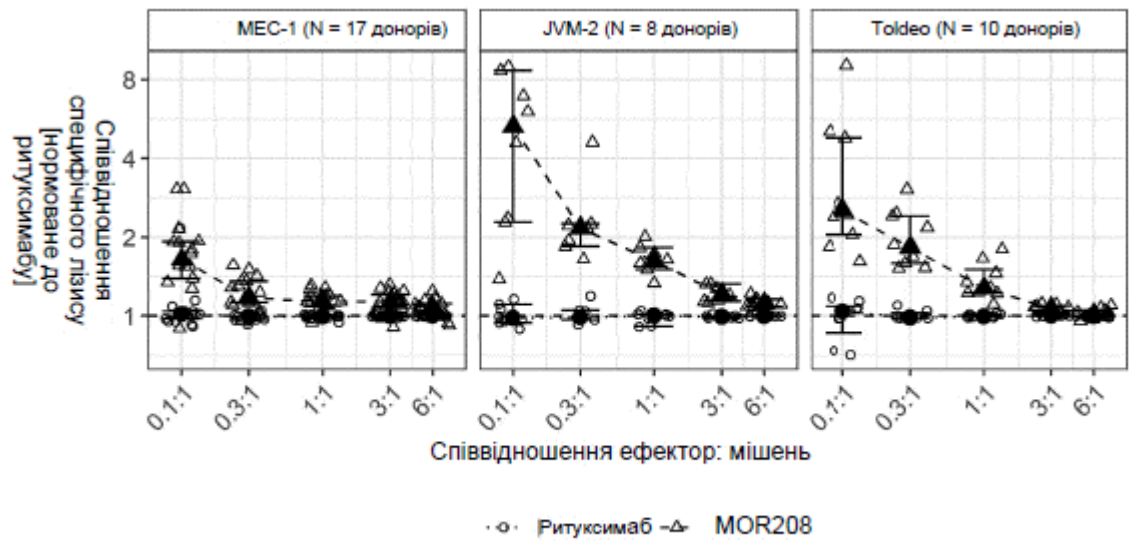


Fig. 3