



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **123697** (13) **C2**
(51) МПК

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

<p>(21) Номер заявки: а 2017 06786</p> <p>(22) Дата подання заявки: 02.12.2015</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 20.05.2021</p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 62/087,442</p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 04.12.2014</p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: US</p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: 25.06.2018, Бюл.№ 12</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 19.05.2021, Бюл.№ 20</p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ PCT/US2015/063371, 02.12.2015</p> <p>(72) Винахідник(и): Доші Парул (US), Данет-Денуаер Гвен (US), Дос Сантос Седрик (US), Сасер Емі (US), Шань Сяочуань (US)</p> <p>(73) Володілець (володільці): ЯНССЕН БАЙОТЕК, ІНК., 800/850 Ridgeview Drive, Horsham, PA 19044, United States of America (US)</p>	<p>(74) Представник: Бочаров Максим Анатолійович, реєстр. №367</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2012096612 A1, 05.07.2012 ANONYMOUS, "Multiple Daratumumab abstracts to be presented at EHA", від 22.05.2014 [Інтернет-публікація] URL: http://www.arraydiagnostica.com/multiple-daratumuma b-abstracts-to-be-presented-at-eha (знайдено 20.06.2017) GENMAB, "Genmab announces Daratumumab and ofatumumab data to be presented at american society of hematology annual meeting (ASH)" від 06.11.2014 [Інтернет-публікація] URL: http://files.shareholder.com/downloads/AMDA-KPIBN/6117647030x0x792407/8E64DB18-E417-4B38-837D-9368DACE9698/i06%20ASH%20Abstracts%20MR_061114_uk.pdf (знайдено 15.03.2018) ANONYMOUS, "Janssen to demonstrate breadth of oncology portfolio with 42 clinical data presentations at the 2014 American society of hematology (ASH) Annual Meeting (NYSE:JNJ)" від 06.11.2014 [Інтернет-публікація] URL: http://www.investor.jnj.com/releasedetail.cfm?releaseid=881181 (знайдено 15.03.2018)</p>
--	--

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ГОСТРОГО МІЄЛОЇДНОГО ЛЕЙКОЗУ ШЛЯХОМ ЗАСТОСУВАННЯ АНТИТІЛА ДО CD38

(57) Реферат:

Винахід належить до способу лікування гострого мієлоїдного лейкозу антитілом до CD38.

UA 123697 C2

Галузь техніки, до якої відноситься винахід

Цей винахід стосується способів лікування гострого мієлоїдного лейкозу антитілами до CD38.

Рівень техніки

5 CD38 являє собою мембранний білок типу II, з активністю АДФ-рибозилциклази, що каталізує утворення циклічної АДФ-рибози (сADPR) вторинних месенджерів і адениннуклеотидфосфату ніотинової кислоти (NAADP) з NAD і NADP відповідно. CD38 опосередковує мобілізацію кальцію і регулює внутрішньоклітинні рівні NAD і стосується або бере участь у різних фізіологічних функціях (Funaro et al., J Immunology 145:2390-6, 1990; Terhorst et al., Cell 771-80, 1981; Guse et al., Nature 398:70-3, 1999; Adriouch et al., 14:1284-92, 2012; Chiarugi et al., Nature Reviews 12:741-52, 2012; Wei et al., WJBC 5:58-67, 2014)

10 Гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ) є гетерогенним гематологічним розладом, що характеризується клональною експансією мієлоїдних бластів в кістковому мозку, периферичній крові та інших тканинах. Незважаючи на недавній прогрес, поточне лікування ГМЛ залишається незадовільним з рівнем 5-річного безрецидивного виживання нижче за ніж 30 %.

15 Таким чином, існує необхідність у ефективних видах лікування ГМЛ.

Суть винаходу

Одним із варіантів втілення даного винаходу є спосіб лікування пацієнта, що має гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ), що включає введення пацієнту, який цього потребує, антитіл до CD38 протягом часу, достатнього для лікування ГМЛ.

20 Одним варіантом втілення винаходу є спосіб лікування пацієнта, який має гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ), що включає введення пацієнтові, який цього потребує, антитіла до CD38, яке конкурує за зв'язування з CD38 з антитілом, яке містить варіабельну область важкого ланцюга (VH) із SEQ ID №: 4 і варіабельну область легкого ланцюга (VL) із SEQ ID №: 5 протягом часу, достатнього для лікування ГМЛ.

25 Короткий опис рисунків

На фігурі 1A показаний індукований даратумумабом апоптоз за відсутності поперечних зв'язків в клітинній лінії NB-4 ГМЛ. PI: йодид пропідія.

30 На фігурі 1B показаний індукований даратумумабом апоптоз у присутності поперечних зв'язків в клітинній лінії NB-4 ГМЛ. PI: йодид пропідія.

На фігурі 2A показана ефективність даратумумабу в отриманому від пацієнта ксенотрансплантаті (PDX) ГМЛ моделі 3406, виміряну за використанням зменшення у відсотках (%) лейкозних CD45⁺CD33⁺ клітин в кістковому мозку (KM), селезінці (СЕЛ) і периферичній крові (ПК). Ctrl: без обробки; IgG1: ізотипічний контроль; Dara: даратумумаб. Значення p вказані на фігурі (ізотипічний контроль відносно даратумумабу).

35 На фігурі 2B показана ефективність даратумумабу в отриманому від пацієнта ксенотрансплантаті (PDX) ГМЛ моделі 7577, виміряну за використанням зменшення у відсотках (%) лейкозних CD45⁺CD33⁺ клітин в кістковому мозку (KM), селезінці (СЕЛ) і периферичній крові (ПК). Ctrl: без обробки; IgG1: ізотипічний контроль; Dara: даратумумаб. ns: не має значення. ***p<0,001

40 На фігурі 2C показана ефективність даратумумабу в отриманому від пацієнта ксенотрансплантаті (PDX) ГМЛ моделі 8096, оцінену за використанням зменшення у відсотках (%) лейкозних CD45⁺CD33⁺ клітин в кістковому мозку (KM), селезінці (СЕЛ) і периферичній крові (ПК). Ctrl: без обробки; IgG1: ізотипічний контроль; Dara: даратумумаб. ns: не має значення. *p<0.05

45 На фігурі 3A показана ефективність даратумумабу в отриманому від пацієнта ксенотрансплантаті (PDX) ГМЛ 3406 моделі, оцінена за зниженням загального лейкозного навантаження в кістковому мозку (кількість CD45⁺CD33⁺ клітин в чотирьох кістках). Ctrl: без обробки; IgG1: ізотипічний контроль; Dara: даратумумаб. Не було відзначено жодної суттєвої різниці (p> 0,01) в лейкозному навантаженні кісткового мозку між Ctrl і Dara. Показане значення р співвідношення ізотипічного контролю відносно груп лікування даратумумабом.

50 На фігурі 3B показана ефективність даратумумабу в отриманому від пацієнта ксенотрансплантаті (PDX) ГМЛ 3406 моделі, оцінена за зниженням загального лейкозного навантаження в селезінці (кількість CD45⁺CD33⁺ клітин в селезінці). Ctrl: без обробки; IgG1: ізотипічний контроль; Dara: даратумумаб. Показано значення р співвідношення ізотипічного контролю відносно груп лікування даратумумабом

55 На фігурі 3C показана ефективність даратумумабу в отриманому від пацієнта ксенотрансплантаті (PDX) ГМЛ 3406 моделі, оцінена за зниженням загального лейкозного навантаження в периферичній крові (кількість CD45⁺CD33⁺ клітин в мкл крові). Ctrl: без обробки;

IgG1: ізотипічний контроль; Dara: даратумумаб. Зазначене значення p співвідношення ізотипічного контролю відносно груп лікування даратумумабом

На фігурі 4A показана викликана даратумумабом знижувальна регуляцію експресії CD38 на поверхні в отриманому від пацієнта ксенотрансплантаті (PDX) ГМЛ моделі 3406 в кістковому мозку (КМ), селезінці (СЕЛ) і периферичній крові (ПК) після 5 тижнів лікування з даратумумабом. Ctrl: без обробки; IgG1: ізотипічний контроль; Dara: даратумумаб. Значення p вказані на фігурі (ізотипічний контроль відносно даратумумабу).

На фігурі 4B показане викликане даратумумабом зниження відсоткового значення CD38-позитивних лейкоцитів у отриманому від пацієнта ксенотрансплантаті (PDX) ГМЛ моделі 3406 в кістковому мозку (КМ), селезінці (СЕЛ) і периферичній крові (ПК) після 5 тижнів лікування з даратумумабом. Ctrl: без обробки; IgG1: ізотипічний контроль; Dara: даратумумаб. Значення p вказані між ізотипічним контролем відносно груп лікування даратумумабом.

На фігурі 5A показана ефективність даратумумабу (dara) окремо або в комбінації з дакогеном (DAC) або цитарабіном і доксорубіцином (хіміотерапія) для зниження лейкозного навантаження в моделі ксенотрансплантату на основі клітин, зібраних у пацієнта (PDX) (PDX) моделі 3406 в кістковому мозку. Лейкозне навантаження було оцінено в % CD45⁺CD33⁺ клітин. Ctrl: ізотипічний контроль. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. ns: не має значення.

На фігурі 5B показана ефективність даратумумабу (dara) окремо або в комбінації з дакогеном (DAC) або цитарабіном і доксорубіцином (хіміотерапія) для зниження лейкозного навантаження в моделі ксенотрансплантату на основі клітин, зібраних у пацієнта (PDX) (PDX) моделі 3406 в селезінці. Лейкозне навантаження було оцінено в % CD45⁺CD33⁺ клітин. Ctrl: ізотипічний контроль. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. ns: не має значення.

На фігурі 5C показана ефективність даратумумабу (dara) окремо або в комбінації з дакогеном (DAC) або цитарабіном і доксорубіцином (хіміотерапія) для зниження лейкозного навантаження в моделі ксенотрансплантату на основі клітин, зібраних у пацієнта (PDX) (PDX) моделі в периферичній крові. Лейкозне навантаження було оцінено в % CD45⁺CD33⁺ клітин. Ctrl: ізотипічний контроль. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. ns: не має значення.

На фігурі 6A показаний ефект даратумумабу (dara) окремо або в комбінації з дакогеном (DAC) або цитарабіном і доксорубіцином (хіміотерапія) на експресію CD38 на CD45⁺CD33⁺ бластах ГМЛ кісткового мозку в отриманому від пацієнта ксенотрансплантаті (PDX) моделі 3406. Лейкозне навантаження було оцінено в % CD45⁺CD33⁺ клітин. Ctrl: ізотипічний контроль. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. ns: не має значення. MFI: середня інтенсивність флуоресценції.

На фігурі 6B показаний ефект даратумумабу (dara) окремо або в комбінації з дакогеном (DAC) або цитарабіном і доксорубіцином (хіміотерапія) на експресію CD38 на CD45⁺CD33⁺ бластах ГМЛ селезінки в отриманому від пацієнта ксенотрансплантаті (PDX) моделі 3406. Лейкозне навантаження було оцінено в % CD45⁺CD33⁺ клітин. Ctrl: ізотипічний контроль. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. ns: не має значення.

На фігурі 6C показаний ефект даратумумабу (dara) окремо або в комбінації з дакогеном (DAC) або цитарабіном і доксорубіцином (хіміотерапія) на експресію CD38 на CD45⁺CD33⁺ бластах ГМЛ периферичної крові в отриманому від пацієнта ксенотрансплантаті (PDX) моделі 3406. Лейкозне навантаження було оцінено в % CD45⁺CD33⁺ клітин. Ctrl: ізотипічний контроль. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. ns: не має значення.

Детальний опис винаходу

«CD38» відноситься до білка CD38 людини (синоніми: АДФ-рибозилциклаза 1, цАДФ-гідролаза 1, циклічна АДФ-рибоза-гідролаза 1). CD38 людини має амінокислотну послідовність, наведену в SEQ ID NO: 1

У контексті цього документа термін «антитіла» використовується в широкому значенні й включає молекули імуноглобуліну, у тому числі моноклональні антитіла, у тому числі мишачі, людські, адаптовані до людини, гуманізовані й химерні моноклональні антитіла, фрагменти антитіл, біспецифічні або мультиспецифічні антитіла, димерні, тетрамерні або мультимерні антитіла й одноланцюгові антитіла.

Імуноглобуліни можна віднести до п'яти основних класів, а саме IgA, IgD, IgE, IgG і IgM, залежно від амінокислотної послідовності константного домену важких ланцюгів. IgA і IgG додатково поділяють на ізотипи IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 і IgG4. Легкі ланцюги антитіл будь-якого виду хребетних можна віднести до одного з двох чітко відмінних типів, а саме каппа (κ) і лямбда (λ), на основі амінокислотних послідовностей їхніх константних доменів.

Термін «фрагменти антитіл» стосується частини молекули імуноглобуліну, яка зберігає антигензв'язуючий сайт важких ланцюгів і/або легких ланцюгів, наприклад областей, що визначають комплементарність, важких ланцюгів (HCDR) 1, 2 і 3, областей, що визначають комплементарність, легких ланцюгів (LCDR) 1, 2 і 3, варіабельної області важких ланцюгів (VH)

або варіабельної області легких ланцюгів (VL). Фрагменти антитіла включають фрагмент Fab, одновалентний фрагмент, що складається з доменів VL, VH, CL і CHI; фрагмент F(ab)₂, двовалентний фрагмент, що містить два фрагменти Fab, зв'язаних дисульфідним містком у шарнірній ділянці; фрагмент Fd, що складається з доменів VH і CHI; фрагмент Fv, що складається з доменів VL і VH єдиного плеча антитіла; фрагмент доменного антитіла dAb (Ward et al (1989) Nature 341:544-546), який складається з домену VH. Домени VH і VL можуть бути сконструйовані й зв'язані один з одним за допомогою синтетичного лінкера з утворенням різних типів конструкцій одноланцюгових антитіл, де домени VH/VL паруються внутрішньомолекулярно або міжмолекулярно в тих випадках, коли домени VH і VL експресуються окремими конструкціями одноланцюгових антитіл з утворенням одновалентного антигензв'язуючого сайту, наприклад одноланцюговим Fv (ScFv) або діатілом. описані, наприклад, у міжнародних публікаціях PCT №№ WO1998/44001, WO1988/01649, WO1994/13804 і WO1992/01047. Ці фрагменти антитіла отримують з використанням добре відомих фахівцям у цій галузі способів, і проводять скринінг цих фрагментів на корисність у такий самий спосіб, що й для повнорозмірних антитіл.

Фраза «виділене антитіло» означає антитіло або фрагмент антитіла, який по суті не містить інших антитіл, що мають різні антигенні властивості (наприклад, виділене антитіло, яке специфічно зв'язується з CD38, є по суті вільним від антитіл, які специфічно зв'язуються з антигенами крім CD38 людини). Однак виділене антитіло, яке специфічно зв'язується з CD38, може мати перехресну реактивність до інших антигенів, таких як ортологи людського CD38, наприклад CD38 *Macaca fascicularis* (яванського макака). Крім того, виділене антитіло може по суті не містити іншого клітинного матеріалу й/або хімічних речовин.

Варіабельна область антитіла складається з області «каркаса», що переривається трьома «антигензв'язуючими сайтами». Антигензв'язуючі сайти визначаються з використанням різних термінів: Області, що визначають комплементарність (CDR), три у VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) і три у VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3), на основі варіабельності послідовностей (Wu and Kabat J Exp Med 132:211-50, 1970; Kabat et al Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991), «гіперваріабельні області», HVR або HV, три у VH (H1, H2, H3) і три у VL (L1, L2, L3), відносяться до областей варіабельних доменів антитіл, які мають гіперваріабельну структуру за визначенням Chothia і Lesk (Chothia and Lesk Mol Biol 196:901-17, 1987). Інші терміни включають IMGT-CDR (Lefranc et al., Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003) і «використання залишку, який визначає специфічність» (SDRU) (Almagro, Mol Recognit 17:132-43, 2004). Міжнародна база даних ImMunoGeneTics (IMGT) (<http://www.imgt.org>) пропонує стандартизовану нумерацію й визначення антигензв'язуючих сайтів. Відповідність між визначеннями CDR, HV і IMGT описана в публікації Lefranc et al., Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003.

У контексті цього документа «залишки Chothia» є залишками VL і VH антитіл, пронумерованих відповідно до Al-Lazikani (Al-Lazikani et al, J Mol Biol 273:927-48, 1997).

«Каркас» або «каркасні послідовності» - це інші послідовності варіабельної області, крім тих, які визначено як антигензв'язуючі сайти. Оскільки антигензв'язуючі сайти можна визначити за допомогою різних термінів, як описано вище, точна амінокислотна послідовність у каркасі залежить від того, як визначено антигензв'язуючий сайт.

«Гуманізоване антитіло» стосується антитіла, у якому антигензв'язуючі сайти отримані з видів не людського походження, а каркаси варіабельної області отримано з послідовностей імуноглобуліну людини. Гуманізовані антитіла можуть включати заміщення в областях каркасів, так що каркас може не бути точною копією експресованого людського імуноглобуліну або генних послідовностей зародкової лінії.

«Адаптовані до людини» антитіла або «адаптовані до каркаса людського походження» антитіла (HFA) стосуються гуманізованих антитіл, адаптованих згідно зі способами, описаними в публікації патенту США № US2009/0118127. Адаптовані до людини антитіла гуманізують шляхом відбору акцепторних каркасів людини на основі максимальної схожості CDR і FR, сумісності довжини й схожості послідовностей петель CDR1 і CDR2 і частини петель CDR3 легкого ланцюга.

Термін «людське антитіло» означає антитіло, що має варіабельні області важкого й легкого ланцюгів, у яких каркас і антигензв'язуючі сайти отримані з послідовностей людського походження. Якщо антитіло містить константну область, цю константну область також отримують із послідовностей людського походження.

Людське антитіло містить варіабельні області важкого або легкого ланцюга, які «отримані з» послідовностей людського походження, якщо варіабельні області антитіла отримують із системи, у якій використовуються гени імуноглобулінів зародкової лінії людини або

перебудованих імуноглобулінів. Такі системи включають бібліотеки генів імуноглобулінів людини, продемонстровані на фатові, і трансгенних тварин не людського походження, наприклад мишей з локусами імуноглобуліну людини, як описано в цьому документі. Людське антитіло може містити амінокислотні відмінності порівняно з послідовностями імуноглобуліну зародкової лінії або перебудованого імуноглобуліну внаслідок, наприклад, природних соматичних мутацій або навмисного введення заміщень у каркасні або антигензв'язуючі сайти. Зазвичай амінокислотна послідовність людського антитіла принаймні приблизно на 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична амінокислотній послідовності, що кодується геном імуноглобуліну зародкової лінії або перебудованого імуноглобуліну. У деяких випадках людське антитіло може містити консенсусні каркасні послідовності, отримані з аналізу людської каркасної послідовності, наприклад, як описано в публікації Knappik et al., J Mol Biol 296:57-86, 2000), або синтетичну HCDR3, введenu в бібліотеки генів імуноглобулінів людини, продемонстровані на фатові, наприклад, як описано в публікації Shi et al., J Mol Biol 397:385-96, 2010 і міжнародній патентній публікації № WO2009/085462). Антитіла, у яких антигензв'язуючі сайти отримано з видів не людського походження, не включені у визначення терміну «людське антитіло».

Виділені гуманізовані антитіла можуть бути синтетичними. Людські антитіла можуть бути отримані з використанням систем, таких як фаговий дисплей, що включає синтетичні CDR і/або синтетичні каркаси, або можуть піддаватись мутагенезу *in vitro* для покращення властивостей антитіл.

У контексті цього документа термін «рекомбінантне антитіло» включає всі антитіла, які отримані, експресовані, створені або виділені заснованими на рекомбінації способами, такі як антитіла, виділені з організму тварини, наприклад, миші або щура, що є трансгенними або трансхромосомними для генів імуноглобуліну людини, або з гібридами, отриманої від них (додатково описано нижче), антитіла, виділені з клітини-хазяїна, трансформованої для експресії антитіла, антитіла, виділені з рекомбінантної комбінаторної бібліотеки антитіл, і антитіла, отримані, експресовані, створені або виділені будь-якими іншими способами, які включають сплайсинг послідовностей генів імуноглобуліну людини з іншими послідовностями ДНК, або антитіла, отримані *in vitro* з використанням обміну Fab-фрагментів, наприклад, біспецифічні антитіла.

У контексті цього документа термін «моноклональне антитіло» стосується препарату молекул антитіл єдиної молекулярної композиції. Композиція моноклональних антитіл демонструє одну специфічність і афінність зв'язування з конкретним епітопом або, у разі біспецифічного моноклонального антитіла, подвійну специфічність зв'язування з двома різними епітопами.

У контексті цього документа термін «епітоп» означає частину антигена, з якою специфічно зв'язується антитіло. Епітопи, як правило, складаються з хімічно активних (наприклад, полярних, неполярних і гідрофобних) поверхневих скупчень функціональних груп, таких як амінокислоти або бічні ланцюги полісахаридів, і можуть мати специфічні тривимірні структурні характеристики, а також специфічні характеристики зарядів. Епітоп може складатися з суміжних і/або несуміжних амінокислот, які утворюють конформаційну просторову одиницю. Для несуміжного епітопа амінокислоти з різних частин лінійної послідовності антигена опиняються в безпосередній близькості в 3-вимірному просторі в результаті складання білкової молекули.

Термін «різновид» у цьому документі стосується поліпептиду або полінуклеотиду, який відрізняється від еталонного поліпептиду або еталонного полінуклеотиду однією або більшою кількістю модифікацій, наприклад заміщень, інсерцій або делецій.

Термін «синергія», «синергізм» або «синергічний» означає, що спостерігається більший ефект, ніж очікуваний адитивний ефект комбінації.

У контексті цього документа термін «у комбінації з» означає, що описані два або більше терапевтичні засоби можна ввести суб'єктові разом у вигляді суміші, одночасно у вигляді окремих агентів або послідовно у вигляді окремих агентів у будь-якому порядку.

Терміни «лікувати», «лікування» або «терапія» відносяться до терапевтичного лікування, об'єктом якого є уповільнення (зменшення) небажаної фізіологічної зміни або захворювання, як-то, розвиток, розширення або поширення пухлини або пухлинних клітин, або для забезпечення корисного або бажаного клінічного результату під час лікування. Сприятливі або бажані клінічні результати включають полегшення симптомів, зменшення ступеня захворювання, стабілізацію (тобто відсутність погіршення) стану захворювання, затримку або уповільнення прогресування захворювання, покращення або тимчасове полегшення стану захворювання й ремісію (часткову або повну), які можна виявити або не можна виявити. «Лікування» також може означати збільшення тривалості життя у порівнянні з очікуваною тривалістю життя пацієнта за відсутності

лікування. Пацієнти, які потребують лікування, включають тих, хто вже має небажану фізіологічну зміну або захворювання, а також тих, хто схильний до такої фізіологічної зміни або захворювання.

«Інгібує ріст» (наприклад, стосовно клітин, таких як пухлинні клітини) означає вимірне зменшення росту клітин *in vitro* або *in vivo* після контактування з терапевтичним засобом або комбінацією терапевтичних або лікарських засобів порівняно з ростом тих самих клітин у відповідних контрольних умовах, добре відомих фахівцям у цій галузі. Інгібування росту клітин *in vitro* або *in vivo* може становити принаймні приблизно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 99% або 100%. Інгібування росту клітин може відбуватися за допомогою різних механізмів, наприклад, шляхом антитілозалежної клітинноопосередкованої цитотоксичності (АЗКЦ), антитілозалежного клітинного фагоцитозу (АЗКФ), комплементзалежної цитотоксичності (КЗЦ), апоптозу, некрозу, пригнічення ферментативної активності CD38 або інгібування проліферації клітин.

Термін «терапевтично ефективна кількість» стосується кількості, ефективною в дозах і протягом періодів часу, необхідних для досягнення бажаного терапевтичного результату. Терапевтично ефективна кількість може змінюватися залежно від таких факторів, як стан захворювання, вік, стать, маса тіла пацієнта й здатність терапевтичного засобу або комбінації терапевтичних засобів викликати бажану відповідь у індивідуума. Ілюстративні показники ефективного терапевтичного засобу або комбінації терапевтичних засобів включають, наприклад, покращення стану здоров'я пацієнта, зниження пухлинного навантаження, зупинку або вповільнення росту пухлини й/або відсутність метастазування ракових клітин у інші місця в організмі.

Одним варіантом втілення винаходу, описаним у цьому документі й у деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, є спосіб лікування пацієнта, який має гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ), що включає введення пацієнтові, який цього потребує, антитіла до CD38 протягом часу, необхідного для лікування ГМЛ.

Ще одним варіантом втілення винаходу, описаним у цьому документі й у деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, є спосіб лікування пацієнта, який має гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ), що включає введення пацієнтові, який цього потребує, антитіла до CD38, яке конкурує за зв'язування з CD38 з антитілом, яке містить варіабельну область важкого ланцюга (VH) із SEQ ID №: 4 і варіабельну область легкого ланцюга (VL) із SEQ ID NO: 5 протягом часу, достатнього для лікування ГМЛ.

Іншим варіантом втілення винаходу, описаним у цьому документі й у деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, є спосіб лікування пацієнта, який має гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ), що включає введення пацієнтові, який цього потребує, антитіла до CD38, яке зв'язується з областю SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID №: 2) і областю EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) людського CD38 (SEQ ID NO: 1) протягом часу, достатнього для лікування ГМЛ.

Антитіло до CD38 зв'язується з областю SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID №: 2) і областю EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) людського CD38 (SEQ ID NO: 1) коли антитіло зв'язує щонайменше 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 або 14 залишків в межах SEQ ID №: 2 і SEQ ID NO: 3. У деяких варіантах втілення, розкритих у цьому документі, включених у перераховані нижче пронумеровані варіанти втілення, антитіло до CD38 зв'язує принаймні одну амінокислоту в області SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID №: 2) і принаймні одну амінокислоту в області EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) людського CD38 (SEQ ID NO: 1). У деяких варіантах втілення, розкритих у цьому документі, включених у перераховані нижче пронумеровані варіанти втілення, антитіло до CD38 зв'язує принаймні дві амінокислоти в області SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID №: 2) і принаймні дві амінокислоти в області EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) людського CD38 (SEQ ID NO: 1). У деяких варіантах втілення, розкритих у цьому документі, включених у перераховані нижче пронумеровані варіанти втілення, антитіло до CD38 зв'язує принаймні три амінокислоти в області SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID №: 2) і принаймні три амінокислоти в області EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) людського CD38 (SEQ ID NO: 1). У деяких варіантах втілення, розкритих у цьому документі, включених у перераховані нижче пронумеровані варіанти втілення, антитіло до CD38 зв'язує щонайменше залишки KRN в області SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID №: 2) і щонайменше залишки VQLT (SEQ ID №: 14) у області EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) людського CD38 (SEQ ID NO: 1).

Прикладом антитіла, що зв'язується з областю SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID NO: 2) і областю EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) людського CD38 (SEQ ID NO: 1) або мінімально із залишками KRN і VQLT (SEQ ID NO: 14), як показано вище, є даратумумаб (див. міжнародну патентну публікацію № WO2006/0998647). Даратумумаб містить амінокислотні послідовності VH

і VL, показані в SEQ ID №: 4 і 5 відповідно, CDR важкого ланцюга HCDR1, HCDR2 і HCDR3 із SEQ ID NO: 6, 7 і 8 відповідно і CDR легкого ланцюга LCDR1, LCDR2 і LCDR3 із SEQ ID NO: 9, 10 і 11 відповідно, і має підтип IgG1/κ. Амінокислотна послідовність важкого ланцюга даратумумабу продемонстрована в SEQ ID NO: 12, а амінокислотна послідовність легкого ланцюга продемонстрована в SEQ ID NO: 13.

Одним варіантом втілення винаходу, описаним у цьому документі й у деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, є спосіб лікування пацієнта, який має гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ), що включає введення пацієнтові, який цього потребує, антитіла до CD38, яке конкурує за зв'язування з CD38 з антитілом, яке містить варіабельну область важкого ланцюга (VH) і варіабельну область легкого ланцюга (VL) із SEQ ID №№: 4 і 5 відповідно, протягом часу, достатнього для лікування ГМЛ.

Іншим варіантом втілення винаходу, описаним у цьому документі й у деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, є спосіб лікування пацієнта, який має гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ), що включає введення пацієнтові, який цього потребує, антитіла до CD38, що містить CDR важкого ланцюга HCDR1, HCDR2 та HCDR3 з SEQ ID №№: 6, 7 і 8 відповідно і CDR легкого ланцюга LCDR1, LCDR2 і LCDR3 із SEQ ID NO: 9, 10 та 11, відповідно, протягом часу, достатнього для лікування ГМЛ.

SEQ ID NO: 1

MANCEFSVPVSGDKPCCRLSRRAQLCLGVSLVLILVVVLAVVVPRWRQQWSGPGTTKR
FPETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQT
VPCNKILLWSRIKDLAHQFTQVQRDMFTLEDTLGLYLADDLTWCGEFNTSKINYQSCP
DWRKDSCNNPVSFVWKTVSRRFAEAACDVVHVMLNGSRKIFDKNSTFGSVEVHNLQ
PEKVQTLEAWVIHGGREDSRDLCDPTIKELESIIISKRNIFSCCKNIYRPDKFLQCVKNP
EDSSCTSEI

SEQ ID NO: 2

SKRNIQFSCCKNIYR

SEQ ID NO: 3

EKVQTLEAWVIHGG

SEQ ID NO: 4

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSA
ISGSGGGTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDK
ILWFGEPVFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 5

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD
ASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQ
GTKVEIK

SEQ ID NO: 6

SFAMS

SEQ ID NO: 7

AISGSGGGTTYADSVKG

SEQ ID NO: 8

DKILWFGEPVFDY

SEQ ID NO: 9

RASQSVSSYLA

SEQ ID NO: 10

DASNRAT

SEQ ID NO: 11

QQRSNWPPTF

SEQ ID NO: 12

EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGGT
YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDKILWFGPEVFDYWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP
CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 13

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPA
RFGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVCLLNFPYFREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTL
TLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 14

VQLT

- Антитіла можна оцінювати щодо їхньої конкуренції з даратумумабом, що має VH із SEQ ID №: 4 і VL із SEQ ID NO: 5, за зв'язування з CD38 з використанням відомих способів *in vitro*. В ілюстративному способі клітини CHO, які рекомбінантно експресують CD38, можна інкубувати з неміченим даратумумабом протягом 15 хв за 4 °C із подальшою інкубацією з надлишком флуоресцентно-міченого досліджуваного антитіла протягом 45 хв за 4 °C. Після промивання у ФСБ/БСА флуоресценцію можна виміряти за допомогою проточної цитометрії з використанням стандартних способів. В іншому ілюстративному способі позаклітинну частину людського CD38 можна нанести як покриття на планшет для аналізу ELISA. Протягом приблизно 15 хвилин можна додавати надлишок неміченого даратумумабу, після чого можна додати біотинільовані досліджувані антитіла. Після промивання у ФСБ/твіні зв'язування досліджуваного біотинільованого антитіла можна виявити з використанням стрептавідину, кон'югованого з пероксидазою хрому (HRP), і провести детекцію сигналу з використанням стандартних способів. Цілком очевидно, що в конкурентних аналізах даратумумаб може бути міченим, а досліджуване антитіло — неміченим. Досліджуване антитіло конкурує з даратумумабом, якщо даратумумаб інгібує зв'язування досліджуваного антитіла або досліджуване антитіло інгібує зв'язування

даратумумабу на 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95% або 100%. Епітоп досліджуваного антитіла можна визначити додатково, наприклад, шляхом пептидного картування або аналізів захисту від обміну водню/дейтерію з використанням відомих способів або шляхом визначення кристалічної структури.

- 5 Антитіла, які зв'язуються з тією ж областю на CD38, що й даратумумаб, можуть бути отримані, наприклад, шляхом імунізації мишей пептидами, які мають амінокислотні послідовності, представлені в SEQ ID №: 2 і 3, з використанням стандартних способів і як описано в цьому документі. Антитіла можна додатково оцінювати, наприклад, шляхом аналізу конкуренції між даратумумабом і досліджуваним антитілом за зв'язування з CD38 з
- 10 використанням добре відомих способів *in vitro*, як описано вище.

Інші приклади антитіл до CD38, які можна використовувати в будь-якому варіанті винаходу з описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, являють собою VH і VL із SEQ ID №: 15 і 16 відповідно й описане в патенті США № 7,829,693. VH і VL mAb003 можуть експресуватися як

15 IgG1/κ.

SEQ ID NO: 15

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAFSWVRQAPGGGLEWMGRVIPFLGI
ANSAQKFQGRVTITADKSTSTAY
MDLSSLRSEDTAVYYCARDIAALGPFDYWGQGTLLTVSSAS

SEQ ID NO: 16

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVP
SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSYPRTFGQGTKVEIK;

mAb024, що містить послідовності VH та VL із SEQ ID №№: 17 і 18 відповідно, описане в патенті США № 7,829,693. VH і VL mAb024 можуть експресуватися як IgG1/κ.

SEQ ID NO: 17

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIYPHDS
ARYSPSFQGGVTFSSADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHVGWGSRYWYFDLWG
RGTLLTVSS

SEQ ID NO: 18

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIYDASNRATGIPA
RFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK;

MOR-202 (MOP-03087), що містить послідовності VH і VL з SEQ ID №: 19 і 20 відповідно, описане в патенті США № 8,088,896. VH і VL MOR-202 можуть експресуватися як IgG1/κ.

SEQ ID NO: 19

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMNWVRQAPGKGLEWVSGISGDPSN
TYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLPLVYTGFAWYWGQGT
LTVSS

SEQ ID NO: 20

DIETLQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRHYYVYWYQQKPGQAPVLVIYGDSKRPSGIPE
RFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQTYTGASLVFGGGTKLTVLGQ;

Ізатуксимаб; що містить послідовності VH та VL із SEQ ID №№: 21 і 22 відповідно, описане в патенті США № 8,153,765. VH і VL ізатуксимабу можуть експресуватися як IgG1/κ.

SEQ ID NO 21:

QVQLVQSGAEVAKPGTSVKLSCKASGYTFTDYWMQWVKQRPGQGLEWIGT
IYPGDGDTGYAQKFQGKATLTADKSSKTVYMHLSLASEDSAVYYCARGD
YYGSNSLDYWGQGTSTVTVSS

SEQ ID NO: 22:

DIVMTQSHLSMSTSLGDPVSITCKASQDVSTVVAWYQQKPGQSPRRLIYS
ASYRYIGVPDRFTGSGAGTDFTFTISSVQAEDLAVYYCQQHYSPPYTFGG
GTKLEIK.

Інші приклади антитіл до CD38, які можна використовувати у способах винаходу, описані в міжнародній патентній публікації № WO05/103083, міжнародній патентній публікації № WO06/125640, міжнародній патентній публікації № WO07/042309, міжнародній патентній публікації № WO08/047242 або міжнародній патентній публікації № WO 14/178820.

Одним варіантом втілення винаходу, описаним у цьому документі й у деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, є спосіб лікування пацієнта, який має гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ), що включає введення пацієнтові, який цього потребує, антитіла до CD38, яке містить варіабельну область важкого ланцюга (VH) і варіабельну область легкого ланцюга (VL) із SEQ ID №№: 15 і 16 відповідно, протягом часу, достатнього для лікування ГМЛ.

Одним варіантом втілення винаходу, описаним у цьому документі й у деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, є спосіб лікування пацієнта, який має гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ), що включає введення пацієнтові, який цього потребує, антитіла до CD38, яке містить варіабельну область важкого ланцюга (VH) і варіабельну область легкого ланцюга (VL) із SEQ ID №№: 17 і 18 відповідно, протягом часу, достатнього для лікування ГМЛ.

Одним варіантом втілення винаходу, описаним у цьому документі й у деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, є спосіб лікування пацієнта, який має гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ), що включає введення пацієнтові, який цього потребує, антитіла до CD38, яке містить варіабельну область важкого ланцюга (VH) і варіабельну область легкого ланцюга (VL) із SEQ ID №№: 19 і 20 відповідно, протягом часу, достатнього для лікування ГМЛ.

Одним варіантом втілення винаходу, описаним у цьому документі й у деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, є спосіб лікування пацієнта, який має гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ), що включає введення пацієнтові, який цього потребує, антитіла до CD38, яке містить варіабельну область важкого ланцюга (VH) і варіабельну область легкого ланцюга (VL) із SEQ ID №№: 21 і 22 відповідно, протягом часу, достатнього для лікування ГМЛ.

Fc-фрагмент антитіла може опосередковувати ефекторні функції антитіла, такі як антитілозалежна клітинноопосередкована цитотоксичність (АЗКЦ), антитілозалежний клітинний фагоцитоз (АЗКФ) або комплементзалежна цитотоксичність (КЗЦ). Така функція може бути опосередкована зв'язуванням ефекторного (-их) домену (-ів) Fc із Fc-рецептором на імунній клітині з фагоцитарною або літичною активністю або зв'язуванням ефекторного (-их) домену (-ів) Fc з компонентами системи комплементу. Зазвичай ефект (-и), опосередкований (-и) Fc-зв'язувальними клітинами або компонентами комплементу, призводить (-ять) до інгібування й/або виснаження клітин-мішеней, наприклад клітин, що експресують CD38. Ізотипи IgG людини IgG1, IgG2, IgG3 і IgG4 проявляють різну здатність до здійснення ефекторних функцій. АЗКЦ може бути опосередкована IgG1 і IgG3, АЗКФ може бути опосередкований IgG1, IgG2, IgG3 і IgG4, а КЗЦ може бути опосередкована IgG1 і IgG3.

В описаних у цьому документі способах і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 має ізотип IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4.

В описаних у цьому документі способах і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 індукує знищення клітин ГМЛ, що експресують CD38, *in vitro* шляхом апоптозу.

Антитіла до CD38, які використовуються в способах, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, можуть індукувати знищення клітин ГМЛ *in vitro* шляхом апоптозу. Способи оцінки апоптозу добре відомі й включають, наприклад, забарвлення аннексином IV з використанням стандартних способів. Антитіла до CD38, які використовуються в способах винаходу, можуть індукувати апоптоз у приблизно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% або 100% клітин.

В описаних у цьому документі способах і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 індукує знищення клітин ГМЛ, що експресують CD38, шляхом АЗКЦ.

В описаних у цьому документі способах і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 індукує знищення клітин ГМЛ, що експресують CD38, *in vitro* шляхом КЗЦ.

В описаних у цьому документі способах і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 індукує знищення клітин ГМЛ, що експресують CD38, шляхом АЗКФ.

В описаних у цьому документі способах і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 індукує знищення клітин ГМЛ, що експресують CD38, *in vitro* шляхом АЗКЦ і КЗЦ.

«Антитілозалежна клітинна цитотоксичність», «антитілозалежна клітинноопосередкована цитотоксичність» або «АЗКЦ» є механізмом індукції загибелі клітин, який залежить від взаємодії покритих антитілами клітин-мішеней з ефекторними клітинами, які мають літичну активність, такими як природні клітини-кілери, моноцити, макрофаги й нейтрофіли, через Fc-гамма-рецептори (FcγR), що експресуються на ефекторних клітинах. Наприклад, NK-клітини експресують рецептор FcγRIIIa, тоді як моноцити експресують рецептори FcγRI, FcγRII і FcγRIIIa. Загибель покритої антитілами клітини-мішені, наприклад клітин, що експресують CD38, відбувається в результаті активності ефекторних клітин внаслідок секреції мембранних пороформуючих білків і протеаз. Для оцінки АЗКЦ-активності антитіла до CD38 антитіло можна додавати до клітин, що експресують CD38, у комбінації з імунними ефекторними клітинами, які можуть бути активовані комплексами антиген-антитіло, що призводить до цитолізу клітини-мішені. Зазвичай цитоліз виявляють за вивільненням з лізованих клітин мітки (наприклад, радіоактивних субстратів, флуоресцентних барвників або природних внутрішньоклітинних білків). Приклади ефекторних клітин для таких аналізів включають мононуклеарні клітини периферичної крові (МКПК) і NK-клітини. Приклади клітин-мішеней включають клітини Дауді (ATCC® CCL-213™) або пухлинні клітини В-клітинного лейкозу або лімфоми, що експресують CD38. В ілюстративному аналізі клітини-мішені мітять 20 мкКі ⁵¹Cr протягом 2 годин і ретельно промивають. Концентрацію клітин-мішеней можна доводити до 1x10⁶ клітин/мл і додавати різні концентрації антитіл до CD38. Аналізи починають додаванням клітин Дауді у співвідношенні ефекторні клітини: клітини-мішені 40: 1. Після інкубації протягом 3 год за 37 °C аналізи зупиняють шляхом центрифугування, і вивільнення ⁵¹Cr з лізованих клітин вимірюють у сцинтиляційному лічильнику. Відсоток клітинної цитотоксичності можна розрахувати як % максимального лізису, який можна індукувати додаванням 3% хлорної кислоти до клітин-мішеней. Антитіла до CD38, які використовуються в способах винаходу, можуть індукувати АЗКЦ на приблизно 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% або 100% порівняно з контролем (лізис клітин індукують 3 % хлорною кислотою).

«Антитілозалежний клітинний фагоцитоз» (АЗКФ) відноситься до механізму видалення покритих антитілами клітин-мішеней шляхом поглинання фагоцитарними клітинами, такими як макрофаги або дендритні клітини. АЗКФ можна оцінити з використанням моноцитарних макрофагів як ефекторних клітин і клітин Дауді (ATCC® CCL-213™) або пухлинних клітин В-клітинного лейкозу або лімфоми, що експресують CD38, як клітин-мішеней, сконструйованих для експресії зеленого флуоресцентного білка (GFP) або іншої міченої молекули. Співвідношення ефекторні клітини: клітини-мішені може становити, наприклад, 4: 1. Ефекторні клітини можна інкубувати з клітинами-мішенями протягом 4 годин з антитілом до CD38 або без нього. Після інкубації клітини можна відокремити з використанням акутази. Макрофаги можуть бути ідентифіковані з використанням антитіл до CD11b і CD14, зв'язаних із флуоресцентною міткою, а відсоток фагоцитозу можна визначати на основі % флуоресценції GFP у макрофагах CD11⁺CD14⁺ з використанням стандартних способів. Антитіла до CD38, які використовуються в способах винаходу, можуть індукувати АЗКФ за приблизно 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% або 100%.

«Комплементзалежна цитотоксичність» або «КЗЦ» відноситься до механізму індукції загибелі клітин, у якому Fc-ефекторний домен антитіла, зв'язаного з мішенню, зв'язується з компонентом C1q комплементу й активує його, що, у свою чергу, активує каскад комплементу, призводячи до загибелі клітини-мішені. Активація комплементу може також призвести до відкладення компонентів комплементу на поверхні клітини-мішені, що полегшує АЗКЦ шляхом зв'язування рецепторів комплементу (наприклад, CR3) на лейкоцитах. КЗЦ клітин, що експресують CD38, можна вимірювати, наприклад, шляхом висіву клітин Дауді в кількості 1x10⁵ клітин/ямка (50мкл/ямка) у середовище RPMI-B (RPMI з додаванням 1 % бичачого сироваткового альбуміну (БСА)), додавання в ямки 50 мкл антитіла до CD38 у кінцевій концентрації 0-100 мкг/мл, інкубування реакційної суміші протягом 15 хв за кімнатної температури, додавання в ямки 11 мкл змішаної людської сироватки й інкубування реакційної суміші протягом 45 хв за 37 °C. Відсоток (%) лізованих клітин можна визначити за допомогою аналізу сортування клітин з активацією флуоресценції (FACS) як % забарвлених йодидом пропідіуму клітин з використанням стандартних способів. Антитіла до CD38, які

використовуються в способах винаходу, можуть індукувати КЗЦ за приблизно 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% або 100%.

Здатність моноклональних антитіл індукувати АЗКЦ може бути підвищена шляхом конструювання їхнього олігосахаридного компонента. IgG1 або IgG3 людини є N-глікозилізованими на Asn297 із більшістю гліканів у добре відомих біантенарних формах G0, G0F, G1, G1F, G2 або G2F. Антитіла, отримані за допомогою несконструйованих клітин CHO, як правило, мають вміст фукози гліканів приблизно принаймні 85%. Видалення корової фукози з олігосахаридів типу біантенарних комплексів, приєднаних до Fc-областей, підвищує АЗКЦ антитіл через покращення зв'язування FcγRIIIa без впливу на зв'язування антигена або активність КЗЦ. Такі моноклональні антитіла можна отримати з використанням різних способів, описаних як такі, що призводять до успішної експресії антитіл із відносно високим рівнем дефукозилювання, які несуть Fc-олігосахариди типу біантенарного комплексу, наприклад контролю осмоляльності культури (Konno et al, Cytotechnology 64:249-65, 2012), застосування варіанта Lee 13 клітинної лінії CHO як клітинної лінії-хазяїна (Shields et al., J Biol Chem 277:26733-26740, 2002), застосування варіанта EB66 клітинної лінії CHO як клітинної лінії-хазяїна (Olivier et al, MAbs;2(4), 2010; електронна публікація до виходу з друку; PMID:20562582), застосування щурячої гібридомної клітинної лінії YB2/0 як клітинної лінії-хазяїна (Shinkawa et al, J Biol Chem 278:3466-3473, 2003), введення малих інтерферуючих РНК, зокрема проти гена α 1,6-фукозилтрансферази (FUT8) (Mori et al., Biotechnol Bioeng 88:901-908, 2004) або коекспресії β -1,4-N-ацетилглюкозамінілтрансферази III і α -манозидази II комплексу Гольджи або ефективного інгібітора альфа-манозидази I кіфунезину (Ferrara et al, J Biol Chem 281:5032-5036, 2006; Ferrara et al, Biotechnol Bioeng 93:851-861, 2006; Xhou et al, Biotechnol Bioeng 99:652-65, 2008). АЗКЦ, викликану антитілами до CD38, які використовуються в способах винаходу й у деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, можна посилювати шляхом певних заміщень у Fc-фрагментах антитіл. Прикладами заміщень є, наприклад, заміщення в положеннях амінокислот 256, 290, 298, 312, 356, 330, 333, 334, 360, 378 або 430 (нумерація залишків згідно з індексом EU), як описано в патенті США № 6,737,056.

У деяких описаних у цьому документі способах і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіла до CD38 містять заміщення у Fc-фрагментах антитіл.

У деяких описаних у цьому документі способах і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіла до CD38 містять заміщення у Fc-фрагментах антитіл у позиціях амінокислот 256, 290, 298, 312, 356, 330, 333, 334, 360, 378 або 430 (нумерація залишків згідно з індексом EU).

У деяких описаних у цьому документі способах і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіла до CD38 має біантенарну гліканову структуру з умістом фукози від приблизно 0% до приблизно 15%, наприклад 15%, 14%, 13%, 12%, 11% 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, % або 0%.

У деяких описаних у цьому документі способах і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіла до CD38 має біантенарну гліканову структуру з умістом фукози приблизно 50%, 40%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11% 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% або 0%.

Заміщення у Fc і зниження вмісту фукози можуть підвищувати активність АЗКЦ антитіла до CD38.

«Вміст фукози» означає кількість моносахариду фукози в ланцюзі цукрів у Asn297. Відносна кількість фукози являє собою відсоток фукозовмісних структур, пов'язаних з усіма глікоструктурами. Її можна охарактеризувати й визначити кількісно декількома способами, наприклад: 1) з використанням часопротіної матрично-активованої лазерної десорбції/іонізації (MALDI-TOF) зразків, оброблених N-глікозидазою F (наприклад, комплексних, гібридних і оліго-й високоманозних структур), як описано в міжнародній патентній публікації № WO2008/077546; 2) шляхом ферментативного вивільнення гліканів Asn297 із подальшою дериватизацією й виявленням/кількісним визначенням за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) або надпродуктивної рідинної хроматографії (НПРХ) з флуоресцентною детекцією й/або ВЕРХ-МС (НПРХ-МС); 3) аналізом інтактних білків нативних або ослаблених mAb з обробкою або без обробки гліканів Asn297 ферментом Endo S або іншим ферментом, що розщеплює зв'язок між першим і другим моносахаридами GlcNAc, залишаючи фукозу прикріпленою до першого GlcNAc; 4) розщепленням mAb на складові пептиди за допомогою ферментативного розщеплення (наприклад, трипсином або ендопептидазою Lys-C) і наступним розділенням, виявленням і кількісним визначенням за допомогою ВЕРХ-МС (НПРХ-МС); або 5) відділенням

олігосахаридів mAb від білка mAb за допомогою специфічного ферментативного деглікозилювання з використанням PNGase F на Asn 297. Олігосахариди, вивільнені в такий спосіб, можуть бути мічені флуорофором, розділені й ідентифіковані з використанням різних взаємодоповнюючих способів, які забезпечують: точну характеристику гліканових структур за допомогою матрично-активованої лазерної десорбції/іонізації (MALDI) мас-спектрометрії шляхом порівняння експериментальних мас з теоретичними масами, визначення ступеня сіалування шляхом іонообмінної ВЕРХ (GlycoSep C), розділення й кількісного визначення форм олігосахаридів згідно із критеріями гідрофільності за допомогою нормофазної ВЕРХ (GlycoSep N) і розділення й кількісного визначення олігосахаридів способом високоефективного капілярного електрофорезу з лазерно-індукованою флуоресценцією (HPCE-LIF).

У контексті цієї заявки «низький рівень фукози» або «низький вміст фукози» стосується антитіл з вмістом фукози в діапазоні приблизно 0%-15%.

У контексті цього документа «нормальний рівень фукози» або «нормальний вміст фукози» стосується антитіл з вмістом фукози приблизно вище 50%, як правило, приблизно вище 60%, 70%, 80% або вище 85%.

Антитіла до CD38, які використовуються в способах, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, можуть індукувати знищення клітин ГМЛ *in vitro* шляхом модуляції ферментативної активності CD38. CD38 являє собою багатофункціональний ектофермент з активністю АДФ-рибозилциклази, що каталізує утворення циклічної АДФ-рибози (цАДФР) і АДФР із НАД CD38 також каталізує обмін нікотинамідних груп НАДФ⁺ із ніотиною кислотою (у кислому середовищі) з отриманням НКАДФ⁺ (аденіндинуклеотидфосфат ніотинової кислоти). Модуляцію ферментативної активності CD38 людини антитілом до CD38, яке використовується в способах винаходу, можна виміряти в аналізі, описаному в Graeff et al, J. Biol. Chem. 269, 30260-30267 (1994). Наприклад, субстрат нікотинамідгуанідинуклеотиду НГД⁺ можна інкубувати з CD38, і модуляцію вироблення циклічної ГДФ-рибози (цГДФР) можна відстежувати спектрофотометрично за довжини хвилі збудження 340 нм і довжини хвилі емісії 410 нм у різні моменти часу після додавання антитіла в різних концентраціях. Інгібування синтезу цАДФР можна визначити відповідно до способу ВЕРХ, описаного в Munshi et al, J. Biol. Chem. 275, 21566-21571 (2000). Антитіла до CD38, які використовуються в способах винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, можуть інгібувати ферментативну активність CD38 на принаймні приблизно 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% або 100%.

У деяких способах винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 містить послідовності областей, що визначають комплементарність, важкого ланцюга (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) і 3 (HCDR3) із SEQ ID NO: 6, 7 і 8 відповідно.

У деяких способах винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 містить послідовності областей, що визначають комплементарність, легкого ланцюга (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) і 3 (LCDR3) із SEQ ID NO: 9, 10 і 11 відповідно.

У деяких способах винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 містить послідовності областей, що визначають комплементарність, важкого ланцюга (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) і 3 (HCDR3) із SEQ ID NO: 6, 7 і 8 відповідно й послідовності областей, що визначають комплементарність, легкого ланцюга (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) і 3 (LCDR3) із SEQ ID NO: 9, 10 і 11 відповідно.

У деяких способах винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 містить варіабельну область важкого ланцюга (VH) із SEQ ID NO: 4 і варіабельну область легкого ланцюга (VL) із SEQ ID NO: 5.

У деяких способах винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 містить важкий ланцюг із SEQ ID NO: 12 і легкий ланцюг із SEQ ID NO: 13.

У деяких способах винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 містить важкий ланцюг, який містить амінокислотну послідовність, що на 95%, 96%, 97%, 98% або 99% ідентична послідовності з SEQ ID NO: 12, і легкий ланцюг, який містить амінокислотну послідовність, що на 95%, 96%, 97%, 98% або 99% ідентична послідовності з SEQ ID NO: 13.

Антитіла, які по суті є ідентичними антитілу, що містить важкий ланцюг із SEQ ID NO: 12 і легкий ланцюг із SEQ ID NO: 13, можна використовувати в способах винаходу. Термін «по суті ідентичні» означає, що дві амінокислотні послідовності важкого ланцюга або легкого ланцюга антитіла, які порівнюють, є однаковими або мають «несуттєві відмінності». Несуттєві відмінності - це заміщення 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 або 15 амінокислот у послідовності важкого ланцюга або легкого ланцюга антитіла, які не мають негативного впливу на властивості антитіла. Відсоток ідентичності можна визначити, наприклад, шляхом попарного вирівнювання з використанням налаштувань за замовчуванням модуля AlignX Vector NTI v.9.0.0 (Invitrogen, м. Карлсбад, штат Каліфорнія, США). Послідовності білка згідно з цим винаходом можна використати як послідовність запиту для здійснення пошуку в публічно доступних або патентних базах даних, наприклад, для визначення споріднених послідовностей. Типовими програмами, які використовують для здійснення таких пошуків, є програми XBLAST або BLASTP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) або комплект GenomeQuest™ (GenomeQuest, м. Уестборо, штат Массачусетс, США) з використанням налаштувань за замовчуванням. Приклади заміщень, які можуть бути виконані в антитілах до CD38, які використовуються в способах винаходу, являють собою, наприклад, консервативні заміщення амінокислотою, яка має аналогічний заряд, гідрофобні або стереохімічні характеристики. Для покращення властивостей антитіл, наприклад стабільності або афінності, або для покращення ефекторних функцій антитіл можуть також бути виконані консервативні заміщення. Можуть бути виконані 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 або 15 амінокислотних заміщень, наприклад, у важкому або легкому ланцюзі антитіла до CD38. Крім того, будь-який нативний залишок у важкому або легкому ланцюзі може бути також заміщений аланіном, як було описано раніше для аланінскануючого мутагенезу (MacLennan et al, Acta Physiol Scand Suppl 643:55-67, 1998; Sasaki et al, Adv Biophys 35:1-24, 1998). Фахівці в цій галузі можуть визначити бажані заміщення амінокислот на момент, коли такі заміщення є бажаними. Амінокислотні заміщення можна провести, наприклад, за допомогою ПЛР-мутагенезу (патент США № 4,683,195). Бібліотеки різновидів можна отримувати з використанням добре відомих способів, наприклад з використанням випадкових (NNK) або не випадкових кодонів, наприклад DVK-кодонів, які кодують 11 амінокислот (Ala, Cys, Asp, Glu, Gly, Lys, Asn, Arg, Ser, Thr, Trp), і скринінгу бібліотек на різновиди з бажаними властивостями. Отримані варіанти можуть бути протестовані на їхнє зв'язування з CD38, їхню здатність індукувати апоптоз або модулювати *in vitro* ферментативну активність CD38 з використанням способів, описаних у цьому документі.

В описаних у цьому документі способах і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 може зв'язуватися з CD38 людини з різними афінностями (Kd). В одному варіанті втілення відповідно до винаходу і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 зв'язується з CD38 із Kd, що дорівнює або є меншою ніж приблизно 1×10^{-8} М, наприклад, 5×10^{-9} М, 1×10^{-9} М, 5×10^{-10} М, 1×10^{-10} М, 5×10^{-11} М, 1×10^{-11} М, 5×10^{-12} М, 1×10^{-12} М, 5×10^{-13} М, 1×10^{-13} М, 5×10^{-14} М, 1×10^{-14} М або 5×10^{-15} М, або будь-який діапазон або значення в цьому діапазоні, що визначене за допомогою поверхневого плазмонного резонансу або способом KipExA, який використовують фахівці в цій галузі. Один приклад афінності дорівнює або є меншим ніж 1×10^{-8} М. Інший приклад афінності дорівнює або є меншим ніж 1×10^{-9} М.

У деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 є біспецифічним антитілом. Області VL і/або VH існуючого антитіла до CD38 або області VL і VH, ідентифіковані *de novo*, як описано тут, можуть бути сконструйовані в біспецифічні повнорозмірні антитіла. Такі біспецифічні антитіла можна створити шляхом модуляції взаємодій CH3 в антитілі Fc з отриманням біспецифічних антитіл з використанням методик, таких як ті, що описані в патенті США № 7,695,936; міжнародній патентній публікації № WO04/111233; публікації патенту США № US2010/0015133; публікації патенту США № US2007/0287170; міжнародній патентній публікації № WO2008/119353; публікації патенту США № US2009/0182127; публікації патенту США № US2010/0286374; публікації патенту США № US2011/0123532; міжнародній патентній публікації № WO2011/131746; міжнародній патентній публікації № WO2011/143545; або публікації патенту США № US2012/0149876.

Наприклад, біспецифічні антитіла згідно з цим винаходом можна отримувати *in vitro* у безклітинному середовищі шляхом введення асиметричних мутацій у області CH3 двох моноспецифічних гомодимерних антитіл і утворення біспецифічного гетеродимерного антитіла з двох вихідних моноспецифічних гомодимерних антитіл у відновних умовах, щоб забезпечити ізомеризацію дисульфідного зв'язку відповідно до способів, описаних у міжнародній патентній РСТ № WO2011/131746. У цих способах перше моноспецифічне двовалентне антитіло

(наприклад, антитіло до CD38) і друге моноспецифічне двовалентне антитіло сконструйовані так, щоб мати певні заміщення в домені CH3, які сприяють стабільності гетеродимера; антитіла інкубують разом у відновних умовах, необхідних для забезпечення ізомеризації дисульфідного зв'язку в залишках цистеїну в шарнірній ділянці; таким чином створюють біспецифічне антитіло шляхом обміну Fab-плечей. Умови інкубації оптимально можуть бути відновлені до невідновних. Прикладами відновлюючих агентів, що можуть використовуватися, є 2-меркаптоетиламін (2-MEA), дитіотреїтол (DTT), дитіоеритритол (DTE), глутатіон, трис(2-карбоксіетил)фосфін (TCPEP), L-цистеїн і бета-меркаптоетанол, переважно відновлюючий агент вибирають із групи, що складається з: 2-меркаптоетиламіну, дитіотреїтолу й трис(2-карбоксіетил)фосфіну. Наприклад, можна використовувати інкубування протягом принаймні 90 хв за температури принаймні 20 °C за присутності принаймні 25 мМ 2-MEA або за присутності принаймні 0,5 мМ дитіотреїтолу за pH у діапазоні 5-8, наприклад за pH 7,0 або за pH 7,4.

Прикладами мутацій в області CH3, які можна використовувати в першому важкому ланцюзі й у другому важкому ланцюзі біспецифічного антитіла, є K409R і/або F405L.

Додатковими біспецифічними структурами, у які можна вбудувати області VL і/або VH антитіл за цим винаходом, є, наприклад, імуноглобуліни з подвійним варіабельним доменом (DVD) (міжнародна патентна публікація № WO2009/134776) або структури, які включають різноманітні димеризаційні домени для поєднання двох плечей антитіла з відмінною специфічністю, такі як «лейцинова застібка» або колагенові димеризаційні домени (міжнародна патентна публікація № WO2012/022811, патент США № 5,932,448; патент США № 6,833,441). DVD - це повнорозмірні антитіла, які містять важкий ланцюг зі структурою VH1-лінкер-VH2-CH і легкий ланцюг зі структурою VL1-лінкер-VL2-CL; де лінкер є необов'язковим.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 кон'юговане з токсином. Способи кон'югації й відповідні токсини є добре відомими.

Діагностування ГМЛ проводиться лікарем у відповідності з керівними принципами, доступними, наприклад, відповідно до класифікації ГМЛ Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВОЗ) (Brunner et al., World Health Organization Classification of Tumors, 3, pp77-80; eds. Jaffe et al., Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues) і відповідно до основних принципів, доступних, наприклад, в Національній всеосяжній мережі раку (http://_www_nccn.org_professionals/_physician_gls/_f_guidelines_asp#site). Класифікація ВОЗ включає в себе клінічні особливості, цитогенетичні характеристики, імунофенотип, морфологію і генетику з метою визначення біологічно однорідних підгруп, які мають терапевтичне та прогностичне значення, і поділяє ГМЛ на чотири основних підтипи: ГМЛ з рецидивуючими генетичними аномаліями, ГМЛ з мультилінійною дисплазією, пов'язані з терапією ГМЛ та не віднесені до інших категорій ГМЛ.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення ГМЛ являє собою ГМЛ з щонайменше однією генетичною аномалією.

ГМЛ може бути пов'язаний з транслокацією між хромосомами 8 і 21, транслокацією або інверсією в хромосомі 16, транслокацією між хромосомами 15 та 17, або змінами в хромосомі 11.

Загальними хромосомними перебудовами, пов'язаними з ГМЛ, є транслокації t(8; 21)(q22; Q22) (ГМЛ1/ЕТО), INV (16) (p13; q22) або t(16; 16)(p13; q22); (CBFβ/MYH11) або t(15; 17)(q22; q12); (PML/RARA). Пацієнти з такими сприятливими хромосомними транслокаціями можуть бути більш сприйнятливі до лікування і домогтися більш повної ремісії (CR).

У деяких варіантах втілення, описаних в даному документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку пронумерованих варіантів втілення, перерахованих нижче, ГМЛ пов'язаний з транслокацією між хромосомами 8 і 21, транслокацією або інверсією в хромосомі 16, транслокацією між хромосомами 15 та 17, або змінами в хромосомі 11.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, ГМЛ пов'язаний з хромосомною аномалією t(8; 21)(q22; Q22) (ГМЛ1/ЕТО), INV (16) (p13; q22) або t(16; 16)(p13; q22); (CBFβ/MYH11) або t(15; 17)(q22; q12); (PML/RARA).

Соматичні мутації різних генів були ідентифіковані як такі, що стосуються патогенезу АМЛ. Вони включають в себе мутації в пов'язаній з FMS тирозинкіназі 3 (FLT3), нуклеофозміні (NPM1), ізоцитратдегідрогеназі 1 (IDH1), ізоцитратдегідрогеназі 2 (IDH2), ДНК (цитозин-5)-метилтрансферазі-3 (Dnmt3a), ССАТ/енхансер-зв'язуючому білку альфа (CEBPA), допоміжним фактором U2 1 низькомолекулярної ядерної РНК (U2AF1), білку enhancer of zeste 2 (EZH2), що є підодиноцею комплексу polycomb repressive complex 2, структурному змісті хромосом 1A

(SMC1A) і структурному змісті хромосом 3 (SMC3) (The Cancer Genome Atlas Research Network; N Engl J Med 368:2059-74, 2013).

Активация мутацій в гені FLT3 були описані приблизно у 20-30 % нововиявлених хворих з діагностованим ГМЛ. До них відносяться Flt3-ITD, внутрішні мутації тандемних дуплікацій в результаті дублікації і тандемної вставки частин коломембранного домену гена FLT3 (Schnittger et al., Blood 100:59-66, 2002) і мутації D835 в домені кінази FLT3. Пацієнти з мутаціями FLT3-ITD, судячи з даних, мають знижену загальну виживаність (OS) з підвищеною частотою рецидивів (Kottaridis et al., Blood 98: 1752-9, 2001; Yanada et al, Leukemia 19: 1345-9, 2005).

Мутації в IDH1 і IDH2 присутні у близько 15 % нововиявлених хворих з діагностованим ГМЛ. Мутації IDH1 включають заміни R132H, R132X (X є будь-якою амінокислотою) і R100Q/R104V/F108L/R119Q/I130V, а мутації IDH2 включають заміни R140Q і R172. Мутації IDH1/2 пов'язані з поганим прогнозом, за винятком мутації IDH2^{R140Q}, що пов'язана з дещо тривалішим виживанням (Molenaar et al, Biochim Biophys Acta 1846: 326-41, 2014). Частота мутацій IDH1/2 збільшується з прогресуванням захворювання (Molenaar et al., Biochim Biophys Acta 1846: 326-41, 2014).

У деяких варіантах втілення, приведених в даному документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення ГМЛ пов'язаний з однією або декількома мутаціями в пов'язаній з FMS тирозинкіназі 3 (FLT3), нуклеофозміні (NPM1), ізоцитратдегідрогеназі 1 (IDH1), ізоцитратдегідрогеназі 2 (IDH2), ДНК (цитозин-5)-метилтрансферазі-3 (Dnmt3a), CCAAT/енхансер-зв'язуючому білку альфа (CEBPA), допоміжним фактором U2 1 низькомолекулярної ядерної РНК (U2AF1), білку enhancer of zeste 2 (EZH2), що є підоддиницею комплексу polycomb repressive complex 2, структурному змісті хромосом 1A (SMC1A) і структурному змісті хромосом 3 (SMC3).

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, ГМЛ пов'язаний з однією або декількома мутаціями в пов'язаній з FMS тирозинкіназі 3 (FLT3).

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, ГМЛ пов'язаний з FLT3-ITD.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, ГМЛ пов'язаний з однією або декількома мутаціями в ізоцитратдегідрогеназі 1 (IDH1) або ізоцитратдегідрогеназі 2 (IDH2).

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, перерахованих нижче, ГМЛ пов'язаний з мутаціями R132H, R132X або R100Q R104V/F108L/R119Q/I130V в ізоцитратдегідрогеназі 1 (IDH1).

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, ГМЛ пов'язаний з мутаціями R140Q та R172 в ізоцитратдегідрогеназі 2 (IDH2).

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, ГМЛ являє собою ГМЛ з мультилінійною дисплазією.

ГМЛ, пов'язаний з мультилінійною дисплазією, характеризується дисплазією в двох або більше мієлоїдних клітинних лініях і підвищенням кількості бластів в крові або в кістковому мозку щонайменше на 20%.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення ГМЛ являє собою ГМЛ, пов'язаний з терапією.

ГМЛ, пов'язаний з терапією, є результатом попередньої хіміотерапії та/або променевої терапії, і може статися через кілька років після контакту з мутагенною речовиною. Більше 90% пацієнтів з ГМЛ, пов'язаним з терапією, демонструють хромосомні аномалії, в тому числі в хромосомах 5 і/або 7.

Хромосомні перебудови можуть бути ідентифіковані з використанням добре відомих способів, наприклад флуоресцентної гібридизації in situ, каріотипування, аналізу саузерн-блот або секвенування.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, ГМЛ являє собою недиференційований ГМЛ (M0), ГМЛ з мінімальним дозріванням (M1), ГМЛ з дозріванням (M2), гострий мієломоноцитарний лейкоз (M4), гострий моноцитарний лейкоз (M5), гострий

еритроїдний лейкоз (M6), гострий мегакаріобластний лейкоз (M7), гострий базофільний лейкоз, гострий панмієлоз з фіброзом або мієлоїдною саркомою.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення ГМЛ знаходиться в ремісії.

ГМЛ в ремісії, як правило, характеризується клітинним мозком з нормальним клітинним вмістом з менш ніж 5% бластів, нормальними показниками периферичної крові з кількістю тромбоцитів $> 100000/\text{мм}^3$ і кількістю нейтрофілів $> 1000/\text{мм}^3$.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення ГМЛ являє собою рефрактерний або рецидивуючий ГМЛ.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення пацієнт отримувач ідарубіцин, цитарабін або гідроксисечовину.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення ГМЛ являє собою ГМЛ у дорослих.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення ГМЛ являє собою ГМЛ у дітей.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 вводять для стимулювання ремісії, як терапію після настання ремісії або як підтримуючу терапію.

Різні якісні й/або кількісні способи можуть бути використані для визначення того, чи стався у пацієнта рецидив, чи є пацієнт резистентним, чи розвинулась у нього резистентність або чи є він схильним до розвитку резистентності до лікування препаратом або терапевтичним засобом. Симптоми, які можуть бути пов'язані з рецидивом і/або резистентністю, включають, наприклад, погіршення або відсутність покращення стану здоров'я пацієнта, збільшення розміру або навантаження пухлини, підвищення кількості ракових клітин, зупинення або сповільнення зниження росту пухлини або пухлинних клітин і/або розповсюдження ракових клітин у організмі з однієї локалізації в інші органи, тканини або клітини. Повернення або погіршення різних симптомів, пов'язаних із пухлиною, також може бути ознакою того, що в пацієнта стався рецидив/, розвинулась резистентність або він є схильним до розвитку резистентності до препарату або іншого терапевтичного засобу. Симптоми, пов'язані з раком, можуть варіюватися залежно від типу раку. Наприклад, симптоми, пов'язані з ГМЛ, можуть включати в себе слабкість, втому, запаморочення або відчуття холоду, головні болі, часті носові кровотечі, надмірне утворення синців або кровоточивість ясен.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 вводять у комбінації з щонайменше одним додатковим терапевтичним засобом.

Для лікування ГМЛ можуть використовуватись препарати на основі цитарабіну (цитозинарабіозиду або Ara-C) і/або антарцикліну, такі як доксорубіцин, даунорубіцин, дауноміцином, ідарубіцин і мітоксантрон. Інші хіміотерапевтичні лікарські засоби, які можуть бути використані для лікування ГМЛ, включають гідроксисечовину (Hydrea®), децитабін (Dacogen®), кладрибін (Leustatin®, 2-CdA), флударабін (Rudara®), топотекан, етопозид (VP-16), 6-тіогуанін (6-TG), кортикостероїдні препарати, такі як преднізолон або дексаметазон (Decadron®), метотрексат (MTX), 6-меркаптопурин (6-MP) або азацитидин (Vidaza®).

Інші препарати, які можуть бути використані для лікування ГМЛ, являють собою повністю-транс-ретиноеву кислоту (ПТРК), третиніоїн або Vesanoid® і триоксид миш'яку (ATO, Trisenox®). ПТРК і триоксид миш'яку можуть бути використані для лікування гострого промієлоцитарного лейкозу.

У деяких варіантах втілення антитіло до CD38 вводять пацієнту в поєднанні з цитарабіном, даунорубіцином/дауноміцином, ідарубіцином, мітоксантроном, гідроксисечовиною, децитабіном, кладрибіном, флударабіном, топотеканом, етопозидом, 6-тіогуаніном, кортикостероїдами, преднізоном, дексаметазоном, метотрексатом, 6-меркаптопурином або азацитидіном.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, антитіло до CD38 вводять пацієнту у комбінації з децитабіном.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, антитіло до CD38 вводять пацієнту у комбінації з цитарабіном та доксирубіцином.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення суб'єкт отримуватиме або буде отримувати променеву терапію.

Променева терапія може являти собою зовнішню дистанційну променеву терапію, променеву терапію з модульованою інтенсивністю (IMRT), сфокусоване випромінювання, а також будь-яку форму радіохірургії, включаючи гамма-ніж, кібер-ніж, лінійний прискорювач і інтерстиціальне випромінювання (наприклад, імплантоване радіоактивне «насіння», балонну систему GliaSite), і/або хірургії.

Орієнтовані методи випромінювання, які можуть бути використані, включають стереотаксичну радіохірургію, фракційну стереотаксичну радіохірургію та променеву терапію модульованої інтенсивності (MRT). Цілком очевидно, що стереотаксична радіохірургія включає точну доставку випромінювання до пухлинної тканини, наприклад, пухлину головного мозку, уникаючи при цьому навколишньої непухлинної нормальної тканини. Доза радіації, що застосовується при використанні стереотаксичної радіохірургії, може коливатись в межах, як правило, від 1 Гр до приблизно 30 Гр, і може включати в себе проміжні діапазони, в тому числі, наприклад, дози від 1 до 5, 10, 15, 20, 25 та до 30 Гр. Через неінвазивні пристрої фіксації, стереотаксичне випромінювання не має обов'язково бути доставлене за один сеанс лікування. План лікування може бути надійно дубльований протягом декількох днів, таким чином, дозволяючи доставити численні фракційні дози радіації. При використанні для лікування пухлини з плином часу, метод радіохірургії називається «фракційна стереотаксична радіохірургія» або FSR. На противагу цьому радіохірургія відноситься до лікування за один сеанс. Фракційна стереотаксична радіохірургія може привести до високого терапевтичного співвідношення, тобто, високої швидкості загибелі пухлинних клітин при низькому впливі на нормальні тканини. Пухлини і нормальна тканина по-різному реагують на високі разові дози радіації в порівнянні з впливом кількох менших доз радіації. Поодинокі великі дози радіації можуть вбити більше нормальної тканини, ніж кілька менших доз випромінювання. Відповідно, дещо менші дози радіації можуть вбити більше пухлинних клітин, менше зачіпаючи нормальну тканину. Доза радіації, що застосовується при використанні фракційного стереотаксичного випромінювання, може коливатись в межах, як правило, від 1 Гр до приблизно 50 Гр, і може включати в себе проміжні діапазони, в тому числі, наприклад, дози від 1 до 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 та до 50 Гр в гіпофракційних дозах. Також можуть бути використана променева терапія з модульованою інтенсивністю (MRT). IMRT є розширеним режимом високоточної тривимірної конформної променевої терапії (3DCRT), який використовує керовані комп'ютером лінійні прискорювачі для постачання точних доз радіації до злоякісної пухлини або конкретних областей всередині пухлини. У 3DCRT профіль кожного пучка випромінювання має форму, що відповідає профілю мішені з боку випромінювання променя (BEV), з використанням багатопелюсткового коліматора (MLC), в результаті чого отримується декілька променів. IMRT дозволяє створити дозу радіації, що більш точно відповідає тривимірній (3-D) формі пухлини, шляхом модуляції інтенсивності пучка випромінювання в декількох невеликих об'ємах. Відповідно, IMRT дозволяє спрямувати більш високі дози радіації в області пухлини при мінімізації дози, направленої до оточуючих нормальних критичних структур. IMRT покращує здатність більш точно спрямувати лікувальний обсяг до пухлини увігнутої форми, наприклад, коли пухлина обгорнута навколо вразливої структури, такої як спинний мозок, великий орган або кровоносна судина.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення пацієнту буде проведена трансплантація гемопоетичних стовбурових клітин (ТГСК).

У деяких варіантах втілення цього винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення, ТГСК являє собою алогенетичну, аутологічну або ізогенну трансплантацію, при якій донор є близнюком. Аутологічна ТГСК включає вилучення ГСК у пацієнта і заморожування зібраних ГСК. Після мієлоабляції збережені ГСК пацієнта пересаджуються пацієнтові. Алогенна ТГСК включає ГСК, отримані а алогенного донора ГСК, який має тип HLA, який відповідає такому у пацієнта.

«Трансплантація гемопоетичних стовбурових клітин» є трансплантацією стовбурових клітин крові, отриманих з кісткового мозку (в даному випадку, відомому як трансплантація кісткового мозку), з крові (наприклад, периферичної крові і пуповинної крові) або з амніотичної рідини.

«Проведення трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин» означає, що хворому вже проведена, проводиться або проводитиметься ТГСК.

У деяких варіантах втілення цього винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення пацієнту був повністю проведений курс хіміотерапії та/або променевої терапії до початку ТГСК.

Пацієнтам міг бути повністю проведений курс хіміотерапії та/або променевої терапії до початку ТГСК (в якості так званої підготовки перед трансплантацією), щоб викоринити всі або деякі з кровотворних клітин пацієнта перед трансплантацією. При проведенні ТГСК пацієнту також можуть бути введені імунодепресанти. Зразкова терапія при проведенні підготовки перед трансплантацією — високі дози мелфалану (див., наприклад, Skinner et al., Ann Intern Med 140:85-93, 2004; Gertz et al., Bone Marrow Transplant 34: 1025-31, 2004; Perfetti et al., Haematologica 91:1635-43, 2006). Променева терапія, що може бути використана в терапії перед трансплантацією, може бути виконана відповідно до широко відомих протоколів в цій області. Променева терапія може бути проведена одночасно, послідовно або окремо відносно терапії антитілами до CD38.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення пацієнт, який має ГМЛ, є гомозиготним за фенілаланіном у позиції 158 CD 16 (генотип FcγRIIIa-158F/F) або гетерозиготним за валіном і фенілаланіном у позиції 158 CD 16 (генотип FcγRIIIa-158F/V). CD16 також відомий як рецептор Fc гамма IIIa (FcγRIIIa) або ізоформа III-A рецептора Fc-області низькоафінного імуноглобуліну гамма. Було продемонстровано, що поліморфізм валіну/фенілаланіну (V/F) у позиції залишку 158 білка FcγRIIIa впливає на афінність FcγRIIIa до IgG людини. Рецептор з поліморфізмом FcγRIIIa-158F/F або FcγRIIIa-158F/V демонструє знижене залучення Fc і, таким чином, знижену АЗКЦ порівняно з FcγRIIIa-158V/V. Відсутність або низька кількість фукози в людських N-зв'язаних олігосахаридах покращує здатність антитіл індукувати АЗКЦ за рахунок покращеного зв'язування антитіл з людським FcγRIIIa (CD 16) (Shields et al, J Biol Chem 277:26733-40, 2002). Пацієнтам можна виконати аналіз на поліморфізм FcγRIIIa з використанням звичайних способів.

У винаході також запропоновано спосіб лікування пацієнта, який має ГМЛ, що включає введення пацієнтові, який цього потребує, антитіла до CD38, яке зв'язується з областю SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID №: 2) і областю EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) людського CD38 (SEQ ID NO: 1) при якому пацієнт є гомозиготним за фенілаланіном у позиції 158 CD 16 або гетерозиготним за валіном і фенілаланіном у позиції 158 CD 16.

У винаході також запропоноване антитіло до CD38, для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, у випадку, якщо пацієнт має мутацію в пов'язаній з FMS тирозинкіназі 3 (FLT3).

У винаході також запропоноване антитіло до CD38, для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, у випадку, якщо пацієнт має мутацію FLT3-ITD.

У винаході також запропоноване антитіло до CD38, для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, у випадку, якщо пацієнт має мутацію в ізоцитратдегідрогеназі 2 (IDH2).

У винаході також запропоноване антитіло до CD38, для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, у випадку, якщо пацієнт має мутацію R140Q в ізоцитратдегідрогеназі 2 (IDH2).

У винаході також запропоноване антитіло до CD38 для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, у випадку, якщо пацієнт має мутацію в ДНК (цитозин-5)-метилтрансферазі-3 (Dnmt3a).

У винаході також запропоноване антитіло до CD38 для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, у випадку, якщо пацієнт має мутацію R882H в ДНК (цитозин-5)-метилтрансферазі-3 (Dnmt3a).

У винаході також запропоноване антитіло до CD38, для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, в комбінації з другим терапевтичним агентом, у випадку, якщо пацієнт має мутацію в пов'язаній з FMS тирозинкіназі 3 (FLT3).

У винаході також запропоноване антитіло до CD38, для застосування при лікуванні пацієнта, який має ГМЛ, в комбінації з другим терапевтичним агентом, у випадку, якщо пацієнт має мутацію FLT3-ITD.

У винаході також запропоноване антитіло до CD38, для застосування при лікуванні пацієнта, який має ГМЛ, в комбінації з другим терапевтичним агентом, у випадку, якщо пацієнт має мутацію в ізоцитратдегідрогеназі 2 (IDH2).

У винаході також запропоноване антитіло до CD38, для застосування при лікуванні пацієнта, який має ГМЛ, в комбінації з другим терапевтичним агентом, у випадку, якщо пацієнт має мутацію R140Q в ізоцитратдегідрогеназі 2 (IDH2).

У винаході також запропоноване антитіло до CD38, що містить VH з послідовністю SEQ ID №: 19 і VL із SEQ ID NO: 20 для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, у випадку, якщо пацієнт має мутацію FLT3-ITD.

5 У винаході також запропоноване антитіло до CD38, що містить VH з послідовністю SEQ ID №: 19 і VL із SEQ ID NO: 20 для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, у випадку, якщо пацієнт має мутацію в ізоцитратдегідрогеназі 2 (IDH2).

У винаході також запропоноване антитіло до CD38, що містить VH з послідовністю SEQ ID №: 19 і VL із SEQ ID NO: 20 для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, у випадку, якщо пацієнт має мутацію R140Q в ізоцитратдегідрогеназі 2 (IDH2).

10 У винаході також запропоноване антитіло до CD38, що містить VH з послідовністю SEQ ID №: 19 і VL із SEQ ID NO: 20 для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, у випадку, якщо пацієнт має мутацію в ДНК (цитозин-5)-метилтрансферазі-3 (Dnmt3a).

У винаході також запропоноване антитіло до CD38, що містить VH з послідовністю SEQ ID №: 19 і VL із SEQ ID NO: 20 для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, у випадку, якщо пацієнт має мутацію R882H в ДНК (цитозин-5)-метилтрансферазі-3 (Dnmt3a).

15 У винаході також запропоноване антитіло до CD38, що містить VH з послідовністю SEQ ID №: 21 і VL із SEQ ID NO: 22 для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, у випадку, якщо пацієнт має мутацію в пов'язаній з FMS тирозинкіназі 3 (FLT3).

У винаході також запропоноване антитіло до CD38, що містить VH з послідовністю SEQ ID №: 21 і VL із SEQ ID NO: 22 для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, у випадку, якщо пацієнт має мутацію FLT3-ITD.

20 У винаході також запропоноване антитіло до CD38, що містить VH з послідовністю SEQ ID №: 21 і VL із SEQ ID NO: 22 для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, у випадку, якщо пацієнт має мутацію в ізоцитратдегідрогеназі 2 (IDH2).

25 У винаході також запропоноване антитіло до CD38, що містить VH з послідовністю SEQ ID №: 21 і VL із SEQ ID NO: 22 для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, у випадку, якщо пацієнт має мутацію R140Q в ізоцитратдегідрогеназі 2 (IDH2).

У винаході також запропоноване антитіло до CD38, що містить VH з послідовністю SEQ ID №: 21 і VL із SEQ ID NO: 22 для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, у випадку, якщо пацієнт має мутацію в ДНК (цитозин-5)-метилтрансферазі-3 (Dnmt3a).

30 У винаході також запропоноване антитіло до CD38, що містить VH з послідовністю SEQ ID №: 21 і VL із SEQ ID NO: 22 для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, у випадку, якщо пацієнт має мутацію R882H в ДНК (цитозин-5)-метилтрансферазі-3 (Dnmt3a).

Введення/фармацевтичні композиції

35 У способах винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіла до CD38 можуть бути забезпечені у відповідних фармацевтичних композиціях, які містять антитіло до CD38 і фармацевтично прийнятний носій. Носій може являти собою розріджувач, ад'ювант, наповнювач або носій, з яким уводять антитіло до CD38. Такі носії можуть бути рідинами, такими як вода й олії, у тому числі олії з нафти, тваринного, рослинного або синтетичного походження, такі як арахісова олія, соєва олія, мінеральна олія, кунжутна олія тощо. Наприклад, можна використовувати 0,4 % фізіологічний розчин і 0,3 % гліцин. Ці розчини повинні бути стерильними й не містити жодних твердих частинок. Їх можна стерилізувати за допомогою загальноприйнятих, добре відомих способів стерилізації (наприклад, фільтрації). Композиції можуть містити фармацевтично прийнятні допоміжні речовини, необхідні для наближення до фізіологічних умов, такі як агенти, що коригують pH, і буферні агенти, стабілізуючі агенти, загущувачі, ковзні агенти й барвники тощо. Концентрація молекул або антитіл згідно з цим винаходом у такій фармацевтичній композиції може змінюватися в широких межах, тобто від менш ніж приблизно 0,5 %, звичайно до принаймні приблизно 1 %, до 15 або 20 % за масою, і

40 буде вибрана в першу чергу виходячи з необхідної дози, об'ємів рідини, в'язкості тощо залежно від вибраного конкретного способу введення. Відповідні носії й композиції включно з іншими білками людини, наприклад сироватковим альбуміном людини, описані, наприклад, у публікації Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, Troy, D.B. ed., Lipincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA 2006, Part 5, Pharmaceutical Manufacturing pp 691-1092, див. особливо

45 pp. 958-989.

50

55

Спосіб введення антитіла до CD38 у способах винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення може бути будь-яким відповідним способом, таким як парентеральне введення, наприклад внутрішньошкірне, внутрішньом'язове, внутрішньоочеревинне, внутрішньовенне або

підшкірне, легеневе, через слизові оболонки (пероральне, інтраназальне, інтравагінальне, ректальне) або іншими засобами, визнаними фахівцями й добре відомими в цій галузі.

Антитіло до CD38 у способах винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення можна вводити пацієнтові будь-яким відповідним способом, наприклад, парентерально шляхом внутрішньовенної (в/в) інфузії або болюсної ін'єкції, внутрішньом'язово, або підшкірно, або внутрішньоочеревинно. Внутрішньовенну (в/в) інфузію можна, наприклад, вводити протягом 15, 30, 60, 90, 120, 180 або 240 хвилин або впродовж 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 або 12 годин.

Доза, яку вводять пацієнтові з ГМЛ, є достатньою, щоб полегшити або принаймні частково зупинити захворювання, що підлягає лікуванню («терапевтично ефективна кількість»), і може іноді становити від 0,005 мг до приблизно 100 мг/кг, наприклад, від приблизно 0,05 мг до приблизно 30 мг/кг або від приблизно 5 мг до приблизно 25 мг/кг, або приблизно 4 мг/кг, приблизно 8 мг/кг, приблизно 16 мг/кг або приблизно 24 мг/кг, або, наприклад, приблизно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10 мг/кг, але може бути навіть вищою, наприклад, приблизно 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 або 100 мг/кг.

Можна також вводити фіксовану одиничну дозу, наприклад 50, 100, 200, 500 або 1000 мг, або доза може ґрунтуватися на площі поверхні тіла пацієнта, наприклад 500, 400, 300, 250, 200 або 100 мг/м². Зазвичай для лікування ГМЛ можна вводити від 1 до 8 доз (наприклад, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 або 8), але можна вводити 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 або більше доз.

Введення антитіла до CD38 у способах винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення можна повторювати через один день, два дні, три дні, чотири дні, п'ять днів, шість днів, один тиждень, два тижні, три тижні, один місяць, п'ять тижнів, шість тижнів, сім тижнів, два місяці, три місяці, чотири місяці, п'ять місяців, шість місяців або довше. Повторні курси лікування також можливі як довготривале введення. Повторне введення може бути в тій самій дозі або в іншій дозі. Наприклад, антитіло до CD38 у способах винаходу можна вводити в дозі 8 мг/кг або 16 мг/кг з інтервалом один тиждень протягом 8 тижнів з наступним введенням у дозі 8 мг/кг або 16 мг/кг кожні два тижні протягом додаткових 16 тижнів з наступним введенням у дозі 8 мг/кг або 16 мг/кг кожні чотири тижні шляхом внутрішньовенної інфузії.

У способах винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіла до CD38 можна вводити як підтримуючу терапію, наприклад, один раз на тиждень протягом періоду 6 місяців або більше.

Наприклад, антитіла до CD38 у способах винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення можуть бути забезпечені у вигляді добової дози в кількості приблизно 0,1-100 мг/кг, наприклад, 0,5, 0,9, 1,0, 1,1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 або 100 мг/кг на добу принаймні в один із днів 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 або 40 або, альтернативно, принаймні в один із тижнів 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 або 20 після початку лікування (або в будь-якій комбінації перерахованого) з використанням однократних або розділених доз кожні 24, 12, 8, 6, 4 або 2 години (або будь-якої комбінації перерахованого).

У способах винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіла до CD38 також можна вводити профілактично з метою зниження ризику розвитку раку, затримки початку наступного виникнення події прогресування раку й/або зменшення ризику рецидиву на стадії ремісії раку. Це може бути особливо корисним у пацієнтів, у яких важко визначити місце знаходження пухлини, присутність якої відома відповідно до інших біологічних факторів.

У способах винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення антитіло до CD38 можна ліофілізувати для зберігання, а безпосередньо перед використанням розводити у відповідному носії. Доведено, що ця методика є ефективною при використанні звичайних білкових препаратів, і можна використовувати добре відомі методики ліофілізації й відновлення.

Антитіло до CD38 у описаних в цьому документі способах винаходу й у деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення можна вводити в комбінації з повністю транс-ретиноєвою кислотою (ПТРК).

ПТРК може бути запропонована в дозі 45 мг/м² на добу перорально або 25 мг/м² на добу перорально.

Антитіло до CD38 у способах винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення можна вводити в комбінації з дакогеном.

5 Дакоген може бути введений протягом щонайменше 4 циклів, що повторюються кожні 6 тижнів в кількості 15 мг/м² в/в протягом 3 годин, які повторюються кожні 8 годин протягом 3-х днів. В якості альтернативи, дакоген можна вводити 20 мг/м² в/в протягом 1 години щодня протягом 5 днів, цикл має бути повторений кожні 4 тижні.

10 Антитіло до CD38 у способах винаходу, описаних у цьому документі, і в деяких варіантах втілення з усіх без винятку перерахованих нижче пронумерованих варіантів втілення можна вводити в комбінації з цитарабіном та доксорубіцином.

Цитарабін може бути введений в кількості від 2 до 3 г/м² в/в протягом 1-3 годин кожні дванадцять годин, загалом може бути введено до 12 доз.

Доксорубіцин може бути введений в кількості від 40 до 60 мг/м² в/в кожні 21-28 днів, або від 60 до 75 мг/м² β/водін раз на 21 день.

15 Антитіло до CD38 можна вводити разом з будь-якою формою променевої терапії, включаючи зовнішню дистанційну променеву терапію, променеву терапію з модульованою інтенсивністю (IMRT) і будь-яку форму радіохірургії, включаючи гамма-ніж, кібер-ніж, лінійний прискорювач і інтерстиціальне випромінювання (наприклад, імплантоване радіоактивне «насіння», балонну систему GHaSite), і/або хірургії.

20 Хоча винахід описано в загальних рисах, варіанти втілення винаходу будуть додатково описані в наведених нижче прикладах, які не слід розглядати як такі, що обмежують обсяг формули винаходу.

Додаткові варіанти втілення винаходу

25 Нижче наведені деякі додаткові варіанти втілення винаходу відповідно до розкриття, наведеного в іншому місці цього опису. Наведені вище особливості варіантів втілення винаходу, які описані як такі, що відносяться до винаходу, розкритого в цьому документі, також відносяться до всіх без винятку цих додаткових пронумерованих варіантів втілення. 1. Антитіла до CD38 для застосування в лікуванні пацієнта, який має гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ).

30 2. Антитіла до CD38 для застосування при лікуванні пацієнта, що має ГМЛ, в комбінації з другим терапевтичним агентом, який відрізняється тим, що другий терапевтичний агент

а. необов'язково являє собою цитарабін, даунорубіцин, ідарубіцин, мітоксантрон, гидроксисечовину, децитабін, кладрибін, флударабін, топотекан, етопозид 6-тіогуанін, кортикостероїди, преднізолон, дексаметазон, метотрексат, 6-меркаптопурин, азацитидин, триоксид миш'яку чи повністю транс-ретиноеву кислоту; і/або

35 б. збільшує поверхневу експресію CD38.

3. Комбінація антитіла до CD38 з повністю транс-ретиноевою кислотою для застосування в лікуванні пацієнта, який має ГМЛ.

4. Комбінація антитіла до CD38 з децитабіном для застосування в лікуванні пацієнта, який має ГМЛ.

40 5. Комбінація антитіла до CD38 з цитарабіном та/або доксорубіцином для застосування в лікуванні пацієнта, який має ГМЛ.

6. Антитіло до CD38 для застосування відповідно до варіанту втілення 1 або 2 або комбінація відповідно до варіантів втілення 3-5, у випадку, коли антитіло до CD38 конкурує за зв'язування з CD38 з антитілом, яке містить варіабельну область важкого ланцюга (VH) із SEQ ID №: 4 і варіабельну область легкого ланцюга (VL) із SEQ ID NO: 5.

45 7. Антитіло до CD38 для застосування відповідно до варіантів втілення 1, 2 або 6, або комбінація відповідно до варіантів втілення 3-6, у випадку, коли антитіло до CD38 індукує знищення клітин ГМЛ, що експресують CD38, шляхом апоптозу.

8. Антитіло до CD38 для застосування відповідно до варіанту втілення 1, 2, 6 або 7, або комбінація відповідно до варіантів втілення 3-7, у випадку, коли антитіло до CD38 зв'язується з областю SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID №: 2) і областю EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) людського CD38 (SEQ ID NO: 1).

9. Антитіло до CD38 для застосування відповідно до варіанту втілення 1, 2, 6—8, або комбінація відповідно до варіантів втілення 3-8, у випадку, коли антитіло до CD38:

55 а. має ізотип IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4;

б. має біантенарну гліканову структуру із вмістом фукози приблизно 50%, 40%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 14%, 13%, 12 %, 11 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1% або 0 %; або

60 в. містить заміщення в позиціях амінокислот 256,290,298,312, 356, 330,333, 334, 360, 378 або 430 Fc-фрагмента антитіла, де нумерація залишків відповідає індексу EU.

10. Антитіло до CD38 для застосування відповідно до варіанту втілення 1, 2, 6-9, або комбінація відповідно до варіантів втілення 3-9, де антитіло до CD38 містить:

а. послідовності областей, що визначають комплементарність, важкого ланцюга (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) і 3 (HCDR3) із SEQ ID NO: 6, 7 і 8 відповідно;

б. послідовності областей, що визначають комплементарність, легкого ланцюга (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) і 3 (LCDR3) із SEQ ID NO: 9, 10 і 11 відповідно;

с послідовності HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 та LCDR3 з номерами SEQ ID NO: 6, 7, 8, 9, 10 і 11, відповідно;

д. варіабельну область важкого ланцюга (VH) із SEQ ID №: 4 і варіабельну область легкого ланцюга (VL) із SEQ ID NO: 5;

е. важкий ланцюг, який містить амінокислотну послідовність, що на 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична послідовності із SEQ NO №: 12, і легкий ланцюг, який містить амінокислотну послідовність, що на 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична послідовності з SEQ ID NO: 13; або

ф. важкий ланцюг із SEQ ID №: 12 і легкий ланцюг із SEQ ID NO: 13.

11. Антитіла до CD38 для застосування відповідно до варіантів втілення 1, 2, 6-10, або комбінація відповідно до варіантів втілення 3-10, у випадку, коли ГМЛ супроводжується щонайменше однією генетичною аномалією, ГМЛ супроводжується мультилинійною дисплазією, ГМЛ являє собою ГМЛ, пов'язаний з терапією, недиференційований ГМЛ, ГМЛ з мінімальним дозрівання, ГМЛ з дозріванням, гострий мієломоноцитарний лейкоз, гострий моноцитарний лейкоз, гострий еритроїдний лейкоз, гострий мегакаріобластний лейкоз, гострий базофільний лейкоз, гострий панмієлоз з фіброзом або мієлоїдну саркому.

12. Антитіло до CD38 для застосування відповідно до варіантів втілення 1, 2, 6-11, або комбінація відповідно до варіантів втілення 3-11, у випадку, коли антитіло до CD38 вводять для стимулювання ремісії, після настання ремісії або як стимулюючу терапію.

13. Антитіла до CD38 для застосування відповідно до варіантів втілення 1, 2, 6-12, або комбінація відповідно до варіантів втілення 3-12, у випадку, коли щонайменше однією генетичною аномалією є транслокація між хромосомами 8 і 21, транслокація або інверсія в хромосомі 16, транслокація між хромосомами 15 та 17, зміни в хромосомі 11, або мутації в пов'язаний з FMS тирозинкіназі 3 (FLT3), нуклеофозміні (NPM1), ізоцитратдегідрогеназі 1 (G6PD), ізоцитратдегідрогеназі 2 (IDH2), ДНК (цитозин-5)-метилтрансферазі-3 (Dnmt3a), ССААТ/енхансер-зв'язуючому білку альфа (CEBPA), допоміжним фактором U2 1 низькомолекулярної ядерної РНК (U2AF1), білку enhancer of zeste 2 (EZH2), що є підоддиницею комплексу polycomb repressive complex 2, структурному змісті хромосом 1A (SMC1A) і структурному змісті хромосом 3 (SMC3).

14. Антитіло до CD38 для застосування відповідно до варіанту втілення 1, 2, 6-13, або комбінація відповідно до варіантів втілення 3-13, у випадку, коли щонайменше однією генетичною аномалією є транслокація t(8; 21)(q22; Q22), інверсія inv(16)(p13; Q22), транслокація t(16; 16)(p13; Q22), транслокація t(15; 17)(q22; q12), мутація FLT3-BIT, мутації R132H або R100Q/R104V/F108L/R119Q/I130V в IDH1 або мутації R140Q або R172 в IDH2.

15. Антитіло до CD38 для застосування відповідно до варіанту втілення 1, 2, 6-14 або комбінація відповідно до варіантів втілення 3-14, у випадку, коли антитіло до CD38 і щонайменше один терапевтичний засіб вводять одночасно, послідовно або окремо.

16. Антитіло до CD38 для застосування відповідно до варіанту втілення 1, 2, 6-15, або комбінація відповідно до варіантів втілення 3-15, у випадку, коли:

а. пацієнта додатково лікують або лікували з застосуванням променевої терапії; або

б. пацієнтові проводили трансплантацію гемопоетичних стовбурових клітин.

Приклади

Приклад 1. Ефективність даратумумабу в клітинних лініях ГМЛ

Кілька клітинних ліній ГМЛ були використані для оцінки поверхневої експресії CD38 і можливої ефективності даратумумабу в індукції знищення клітин ГМЛ. Експресія білків, що інгібують комплемент (CIP) CD46, CD55 і CD59 в клітинних лініях ГМЛ, була досліджена для оцінки можливої кореляції між експресією CIP і КЗЦ.

Способи

АЗКЦ

Аналізи АЗКЦ in vitro проводили з використанням ліній пухлинних клітин ГМЛ і моноклеарних клітин периферичної крові (МКПК) в якості ефекторних клітин при співвідношенні 50:1. Сто мкл цільових клітин (пухлинних клітин) (1×10^4 клітин) додавали в лунки 96-лункових U-донних планшетів. Додаткові 100 мкл додавали з додаванням антитіла або без додавання антитіла, і планшети інкубували протягом 30 хвилин при кімнатній температурі (КТ)

перед додаванням ефекторних клітин (МКПК). Сімдесят п'ять мкл МКПК при концентрації $6,66 \times 10^6$ клітин/мл додавали в лунки планшетів, і планшети інкубували при 37 °C протягом 6 годин. Планшети центрифугували при 250 g протягом 4 хв, з кожної лунки вибирали 50 мкл супернатанту і вимірювали лізис клітин з використанням аналізу CellTiter-Glo® (Promega).

5 КЗЦ

Цільові клітини збирали і доводили до концентрації 80×10^4 клітин/мл. Дванадцять мкл цільових клітин вносили в лунки 96-лункового планшета і до клітин додавали розчин послідовно розведених антитіл. Лунки інкубували протягом 15 хвилин, після чого додавали людську сироватку з високим вмістом комплементу у кінцевій концентрації 10%. Реакційну суміш інкубували протягом 21/2 годин при 37 °C і вимірювали лізис клітин з використанням аналізу CellTiter-Glo® (Promega).

10 Апоптоз

Один мл цільових клітин (5×10^5 клітин/мл) додавали в лунку 24-лункового планшета разом з тестовим антитілом (1 мкг/мл) в присутності або за відсутності кролячого анти-hulgG (10 мкг/мл; F(ab')₂ Fcy-специфічні). Клітини інкубували протягом 22 годин (5 % CO₂, 37 °C). Потім клітини збирали (1000 обертів на хвилину, 5 хв) і двічі промивали в ФСБ (1000 обертів на хвилину, 5 хвилин). Клітини ресуспендували в 250 мкл буфера для зв'язування (набір для апоптозу з вмістом анексину-V, BD Biosciences) відповідно до інструкції виробника, з подальшим аналізом способом проточної цитометрії.

20 Вимірювали як ранній, так і пізній апоптоз (Q2 і Q3 на фігурі 1A і фігурі 1B),

Поверхнева експресія CD38, CD46, CD55 і CD59

Експресію рецепторів аналізували з використанням проточної цитометрії. Кількість рецепторів CD38 на клітину була оцінена з використанням набору MESF з використанням мічених фікоеритрином антитіл до CD38 (R&D Systems). Кількості рецепторів були обчислені в
25 такий спосіб: Специфічне MESF/ABC = MESF/ABC (тестове антитіло) - MESF/ABC (антитіло ізотипічного контролю).

Поверхнева експресія CD46, CD55 і CD59 була виявлена за допомогою забарвлених ФІТЦ антитіл до людського CD46, забарвлених фікоеритрином антитіл до людського CD55 і забарвлених фікоеритрином антитіл до людського CD59 (Beckton Dickinson), виражених через
30 середню інтенсивність флуоресценції (MFI).

Результати

На Фіг. 1 показані результати експериментів. На Фіг. 1 показані репрезентативні результати проточної цитометрії даратумумаб-індукованого апоптозу в клітинній лінії NB-4 без зшиваючого антитіла (Фіг. 1A) або з ним (Фіг. 1B). У цій клітинній лінії даратумумаб індукує апоптоз в
35 однаковій мірі незалежно від наявності зшиваючого агента (19,2 % проти 18,3 %).

У клітинних лініях ГМЛ даратумумаб не викликає значного АЗКЦ або КЗЦ; замість цього; даратумумаб індукує знищення клітин ГМЛ шляхом апоптозу. Крім того, не спостерігалось прямої кореляції між експресією CD38 і ступенями АЗКЦ і КЗЦ. Рівні комплементу білків-інгібіторів комплементу (CIP) (CD46, CD55 і CD59) були оцінені для визначення того, чи
40 впливають такі білки на КЗЦ у відповідь на даратумумаб, але жодної прямої кореляції між експресіями КЗЦ і СГР не спостерігалось.

Таблиця 1.

Лінія клітин	CD38#/клітина	CD46 MFI	CD55 MFI	CD59 MFI	Апоптоз	КЗЦ	АЗКЦ
HL-60	64,50	НД	НД	НД	НД	НД	НД
Kasumi-1	120,2	НД	НД	НД	НД	НД	НД
ML-2	1 253,27	21,53	195,2	0,98	5 %	0 %	6,30 %
MOLM-13	5 634,29	35,53	173,2	9,45	10-15 %	0 %	9,40 %
MOLM-16	52 461,11	42,18	886,4	350,42	20-30 %	5 %	18,20 %
MV-4-11	5 700,05	207,17	395,42	43,94	10-12 %	0 %	2,30 %
NB4	9 370,73	58,25	345,4	66,2	18 %	4 %	18,30 %
THP-1	39 488,19	58,7	375	27,1	5-7 %	5 %	11,30 %
NB: не виконували							
MFI: середня інтенсивність флуоресценції.							

Приклад 2. ПТРК індукує експресію CD38 на клітинах ГМЛ

Вплив ПТРК на поверхневу експресію CD38 оцінювали на лінії клітин ГМЛ NB-4. Пухлинні клітини інкубували при 37 °C протягом 24 годин в присутності або за відсутності 10 нмоль або 100 нмоль ПТРК. Після 24-годинної інкубації клітини збирали і фарбували для забарвлення CD38. Індуковане ПТРК ~10-кратне збільшення рецепторів CD38 в клітинній лінії NB-4. Поверхневу експресію CD38 оцінювали за допомогою FACS з використанням мічених фікоеритрином антитіл CD38 (R&D Systems) (таблиця 2).

Таблиця 2.

Лікування	забарвлені фікоеритрином CD38 молекули/клітини
ДМСО	17238
10 нмоль ПТРК	185737
100 нмоль ПТРК	210570

Приклад 3. Ефективність даратумумабу на моделі ксенотрансплантату на основі клітин, зібраних у пацієнта (PDX).

Способи

У дослідженні використовували моделі пухлин ГМЛ 3406, ГМЛ 7577 і ГМЛ 8096 на основі клітин пацієнтів.

Модель ГМЛ3406: Пухлинні клітини пацієнта були позитивними на FLT-3ITD. Пацієнт мав у анамнезі справжню поліцитемію і отримував ідарубіцин/цитарабін в ході індукційної хіміотерапії. Пацієнт також отримував Hudrea® (гідроксисечовина).

Модель ГМЛ 7577. Лейкозні клітини були зібрані у 69-річного чоловіка з ГМЛ (підтип FAB M5). У пацієнта був нормальний каріотип і наступні мутації: GON2 (R140Q); FLT3-ITD; Dnmt3a R882H, NPM1, вставки CEBPA (ОНП). Пацієнт мав у анамнезі справжню поліцитемію і отримував ідарубіцин/цитарабін в ході індукційної хіміотерапії. Пацієнт також отримував Hudrea® (гідроксисечовина).

Модель ГМЛ 8096. Лейкозні клітини були зібрані у 21-річного чоловіка з ГМЛ (підтип FAB M2). Кількість лейкоцитів становила $20 \times 10^9/\text{л}$, 70 % яких були бластними клітинами. Пацієнт мав нормальний каріотип з TP53, FLT3, NPM1 дикого типу і вставками 570-587, 3GCACCC> 4GCACCC в екзоні 1 CEBPA. Пацієнт мав у анамнезі справжню поліцитемію і отримував

ідарубіцин/цитарабін в ході індукційної хіміотерапії. Пацієнт також отримував Hudrea® (гідроксисечовина).

5 мільйонів мононуклеарних клітин ГМЛ були позбавлені Т-клітин і пересаджені через хвостову вену опроміненим сублетальними дозами мишам лінії NSG віком 6-8 тижнів (n = 10 на групу). Через 4-6 тижнів після приживлення у кожної миші збирали аспірати кісткового мозку і аналізували їх з використанням проточної цитометрії для визначення рівня лейкозу (% людських клітин CD45⁺ CD33^{+/~}). На основі рівнів приживлення миші були рандомізовані і отримали або IgG1, або даратумумаб (DARA, попереднє введення по 0,5 мг/кг). Через 24 години мишам або нічого не вводили (Ctrl), або протягом 5 послідовних тижнів вводили DARA або IgG1 окремо (внутрішньочеревно, 10 мг/кг один раз на тиждень). Через 2-3 дні після останнього введення мишей забивали і збирали для аналізу кістковий мозок, селезінку, периферичну кров і плазму. Аналіз способом проточної цитометрії проводили для оцінки відсотку людських клітин CD45⁺CD33⁺ в КМ, СЕЛ і ПК трьох пацієнтів з ГМЛ, чії клітини були введені мишам лінії NSG (модель ГМЛ 3406: Фіг. 2А модель ГМЛ 7577; Фіг. 2В, модель ГМЛ 8096: Фіг. 2С) і абсолютної кількості людських клітин CD45⁺CD33⁺ в кістковому мозку (Фіг. 3А), селезінці (Фіг. 3В) і периферичній крові (Фіг. 3С) одного репрезентативного пацієнта з ГМЛ.

Результати

На фігурах 2А, 2В і 2С показана ефективність даратумумабу на моделі ГМЛ 3406, моделі ГМЛ 7577 і моделі ГМЛ 8096, відповідно, оцінка була заснована на зниженні відсотка лейкозних клітин CD45⁺CD33⁺ в кістковому мозку, селезінці або периферичній крові. Даратумумаб зменшив навантаження пухлини в селезінці і периферичній крові в моделі ГМЛ 3406 (Фіг. 2А), в периферичній крові в моделі ГМЛ 7577 (фігура 2В), а також в селезінці в моделі ГМЛ 8096 (Фіг. 2С).

Ефективність даратумумабу також оцінювали шляхом вимірювання викликаного даратумумабом зниження загального лейкозного навантаження в кістковому мозку (Фіг. 3), селезінці (Фіг. 3В) і крові (Фіг. 3С) в моделі ГМЛ 3406. Даратумумаб значно знизив загальне лейкозне навантаження в моделі ГМЛ 3406 в селезінці (Фіг. 3В) і в периферичній крові (Фіг. 3С). Приклад 4. Вплив даратумумабу на експресію CD38 на бластах ГМЛ

Вплив даратумумабу на експресію CD38 на лейкозних бластах оцінювали на одній репрезентативній моделі ГМЛ, описаній в прикладі 3, після 5 тижнів лікування з використанням даратумумабу, або ізотипічному контролі з використанням мічених фікоеритрином антитіл до CD38 (R&D Systems).

Результати

На Фіг. 4 показано, що лікування даратумумабом знижує експресію CD38 на лейкозних бластах (позитивні клітини CD45⁺CD33⁺) в кістковому мозку, селезінці і периферичній крові. На Фіг.4В показано, що відсоток CD38-позитивних бластів ГМЛ був знижений після 5 тижнів лікування.

Приклад 5. Ефективність комплексного лікування з даратумумабом на моделі ксенотрансплантату на основі клітин, зібраних у пацієнта (PDX).

Ефективність даратумумабу в поєднанні з дакогеном або цитарабіном і доксорубіцином оцінювали через 5 тижнів лікування.

5 мільйонів мононуклеарних клітин ГМЛ були позбавлені Т-клітин і пересаджені через хвостову вену мишам лінії NSG віком 6-8 тижнів (n = 10 на групу). Через 4-6 тижнів після приживлення у кожної миші збирали аспірати кісткового мозку і аналізували їх з використанням проточної цитометрії для визначення рівня лейкозу (% людських клітин CD45⁺ CD33^{+/~}). На основі рівнів приживлення миші були рівним чином рандомізовані і отримували або IgG1, або DARA (попереднє введення по 0,5 мг/кг). Через 24 години миші отримували тільки IgG1 (внутрішньочеревно, 10 мг/кг) один раз на тиждень протягом п'яти тижнів, тільки DARA (внутрішньочеревно, 10 мг/кг) один раз на тиждень протягом п'яти тижнів, тільки децитабін (DAC) (0,5 мг/кг/день, внутрішньочеревно протягом 3 послідовних днів) протягом п'яти тижнів, DAC + DARA (кожен тиждень DAC три дні поспіль та потім DARA через два дні), комбінацію цитарабіну (в/в, 50 мг/кг) і доксорубіцину (в/в, 1,5 мг/кг) (три дні поспіль доксорубіцин (в/в, 1,5 мг/кг) плюс цитарабін (50 мг/кг) протягом 3-х днів) з або без DARA. Через 2-3 дні після останнього введення мишей забивали і збирали для аналізу кістковий мозок, селезінку, периферичну кров і плазму. Аналіз шляхом проточної цитометрії проводили для оцінки відсотку людських клітин CD45⁺CD33⁺ в кістковому мозку (Фіг. 5А), селезінці (Фіг. 5В) і периферичній крові (Фіг. 5С) одного пацієнта з ГМЛ, чії клітини були введені мишам лінії NSG.

Експресію CD38 (виражену у вигляді середньої інтенсивності флуоресценції, MFI) оцінювали в кістковому мозку (Фіг. 6А), селезінці (Фіг. 6В) і периферичній крові (Фіг. 6С) після 5 тижнів лікування зазначеними препаратами.

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> Doshi, Parul
 Danet-Desnoyers, Gwenn
 Dos Santos, Cedric
 Sasser, Amy
 Shan, Xiaochuan

<120> Антитіла до CD38 для лікування гострого мієлоїдного лейкозу
 <130> 0148.2018-048

<140> PCT/US15/063371
 <141> 2015-12-02

<150> 61/087442
 <151> 2014-12-04

<160> 22

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
 <211> 300
 <212> Білок
 <213> Homo sapiens

<400> 1

Met Ala Asn Cys Glu Phe Ser Pro Val Ser Gly Asp Lys Pro Cys Cys
 1 5 10 15

Arg Leu Ser Arg Arg Ala Gln Leu Cys Leu Gly Val Ser Ile Leu Val
 20 25 30

Leu Ile Leu Val Val Val Leu Ala Val Val Val Pro Arg Trp Arg Gln
 35 40 45

Gln Trp Ser Gly Pro Gly Thr Thr Lys Arg Phe Pro Glu Thr Val Leu
 50 55 60

Ala Arg Cys Val Lys Tyr Thr Glu Ile His Pro Glu Met Arg His Val
 65 70 75 80

Asp Cys Gln Ser Val Trp Asp Ala Phe Lys Gly Ala Phe Ile Ser Lys
 85 90 95

His	Pro	Cys	Asn	Ile	Thr	Glu	Glu	Asp	Tyr	Gln	Pro	Leu	Met	Lys	Leu	100	105	110	
Gly	Thr	Gln	Thr	Val	Pro	Cys	Asn	Lys	Ile	Leu	Leu	Trp	Ser	Arg	Ile	115	120	125	
Lys	Asp	Leu	Ala	His	Gln	Phe	Thr	Gln	Val	Gln	Arg	Asp	Met	Phe	Thr	130	135	140	
Leu	Glu	Asp	Thr	Leu	Leu	Gly	Tyr	Leu	Ala	Asp	Asp	Leu	Thr	Trp	Cys	145	150	155	160
Gly	Glu	Phe	Asn	Thr	Ser	Lys	Ile	Asn	Tyr	Gln	Ser	Cys	Pro	Asp	Trp	165	170	175	
Arg	Lys	Asp	Cys	Ser	Asn	Asn	Pro	Val	Ser	Val	Phe	Trp	Lys	Thr	Val	180	185	190	
Ser	Arg	Arg	Phe	Ala	Glu	Ala	Ala	Cys	Asp	Val	Val	His	Val	Met	Leu	195	200	205	
Asn	Gly	Ser	Arg	Ser	Lys	Ile	Phe	Asp	Lys	Asn	Ser	Thr	Phe	Gly	Ser	210	215	220	
Val	Glu	Val	His	Asn	Leu	Gln	Pro	Glu	Lys	Val	Gln	Thr	Leu	Glu	Ala	225	230	235	240
Trp	Val	Ile	His	Gly	Gly	Arg	Glu	Asp	Ser	Arg	Asp	Leu	Cys	Gln	Asp	245	250	255	
Pro	Thr	Ile	Lys	Glu	Leu	Glu	Ser	Ile	Ile	Ser	Lys	Arg	Asn	Ile	Gln	260	265	270	
Phe	Ser	Cys	Lys	Asn	Ile	Tyr	Arg	Pro	Asp	Lys	Phe	Leu	Gln	Cys	Val	275	280	285	
Lys	Asn	Pro	Glu	Asp	Ser	Ser	Cys	Thr	Ser	Glu	Ile					290	295	300	

<210> 2
 <211> 14
 <212> Білок
 <213> Homo sapiens

<400> 2

Ser Lys Arg Asn Ile Gln Phe Ser Cys Lys Asn Ile Tyr Arg
 1 5 10

<210> 3
 <211> 14
 <212> Білок
 <213> Homo sapiens

<400> 3

Glu Lys Val Gln Thr Leu Glu Ala Trp Val Ile His Gly Gly
 1 5 10

<210> 4
 <211> 122
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Варіабельна ділянка важкого ланцюга антитіла

<400> 4

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 5
<211> 107
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Варіабельна ділянка легкого ланцюга антитіла

<400> 5

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 6

<211> 5
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> HCDR1 антитіла

<400> 6

Ser Phe Ala Met Ser
 1 5

<210> 7
 <211> 17
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> HCDR2 антитіла

<400> 7

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 8
 <211> 13
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> HCDR3 антитіла

<400> 8

Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 9
 <211> 11
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> LCDR1 антитіла

<400> 9

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 10

<211> 7

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR2 антитіла

<400> 10

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 11

<211> 10

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR3 антитіла

<400> 11

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr Phe
1 5 10

<210> 12

<211> 452

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Важкий ланцюг антитіла

<400> 12

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly Lys
450

<210> 13
<211> 214
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Легкий ланцюг антитіла

<400> 13

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 14
<211> 4
<212> Білок
<213> Homo sapiens

<400> 14

Val Gln Leu Thr
1

<210> 15
<211> 122
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Варіабельна ділянка важкого ланцюга антитіла

<400> 15

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Phe Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Val Ile Pro Phe Leu Gly Ile Ala Asn Ser Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Asp Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Asp Ile Ala Ala Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120

<210> 16
<211> 107
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Варіабельна ділянка легкого ланцюга антитіла

<400> 16

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 17
<211> 122
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Варіабельна ділянка важкого ланцюга антитіла

<400> 17

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro His Asp Ser Asp Ala Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Phe Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Val Gly Trp Gly Ser Arg Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu Trp
100 105 110

Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 18
<211> 107
<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Варіабельна ділянка легкого ланцюга антитіла

<400> 18

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 19

<211> 120

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Варіабельна ділянка важкого ланцюга антитіла

<400> 19

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Gly Asp Pro Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Pro Leu Val Tyr Thr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 20
<211> 109
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Варіабельна ділянка легкого ланцюга антитіла

<400> 20

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Leu Arg His Tyr Tyr Val
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gly Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu

```

65              70              75              80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Thr Gly Gly Ala Ser Leu
      85              90              95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
      100              105

<210> 21
<211> 120
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Варіабельна ділянка важкого ланцюга антитіла

<400> 21

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Ala Lys Pro Gly Thr
1              5              10              15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
      20              25              30

Trp Met Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
      35              40              45

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50              55              60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Lys Thr Val Tyr
65              70              75              80

Met His Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
      85              90              95

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100              105              110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115              120

```


<210> 22
 <211> 107
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Варіабельна ділянка легкого ланцюга антитіла

 <400> 22

 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Leu Ser Met Ser Thr Ser Leu Gly
 1 5 10 15

 Asp Pro Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Val
 20 25 30

 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile
 35 40 45

 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ile Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 50 55 60

 Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
 65 70 75 80

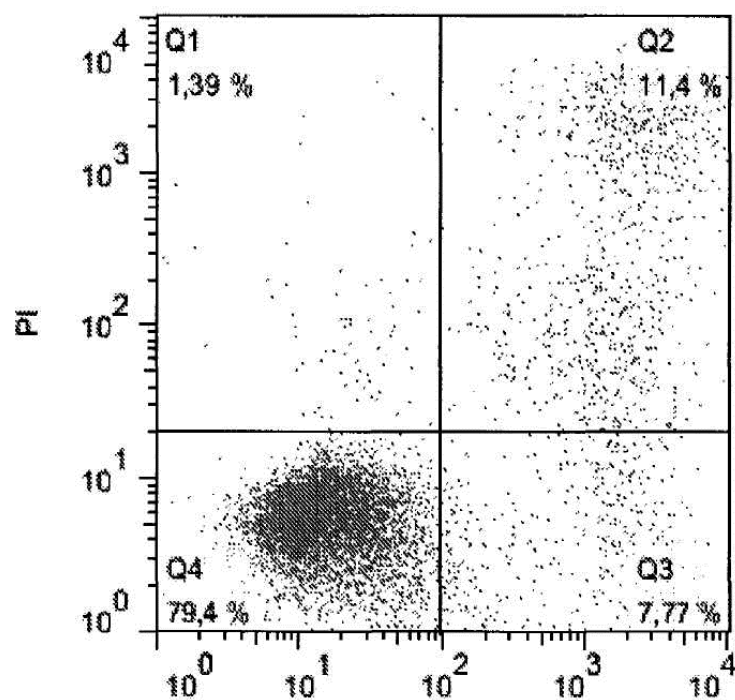
 Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr
 85 90 95

 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

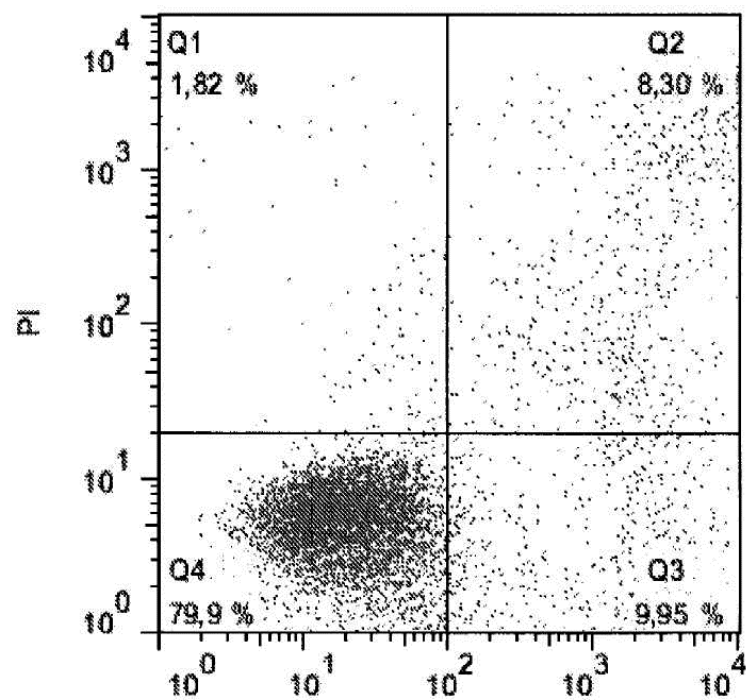
ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 1. Спосіб лікування пацієнта, що має рефрактерний або рецидивуючий гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ), що включає введення пацієнту, який цього потребує, антитіла до CD38 протягом часу, достатнього для лікування ГМЛ, де антитіло до CD38 містить послідовності областей, що визначають комплементарність, важкого ланцюга (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) і 3 (HCDR3) із SEQ ID NO: 6, 7 і 8 відповідно й послідовності областей, що визначають комплементарність, легкого ланцюга (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) і 3 (LCDR3) із SEQ ID NO: 9, 10 і 11 відповідно.
- 10 2. Спосіб за п. 1, де пацієнт отримував ідарубіцин, цитарабін або гідроксисечовину.
3. Спосіб за п. 1 або 2, де антитіло до CD38 зв'язується з областю SKRNIQFSCCKNIYR (SEQ ID NO: 2) і областю EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) людського CD38 (SEQ ID NO: 1).
- 15 4. Спосіб за будь-яким з пп. 1-3, де антитіло до CD38 індукує знищення клітин ГМЛ, що експресують CD38, шляхом апоптозу.
5. Спосіб за будь-яким з пп. 1-4, де антитіло до CD38 має ізотип IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4.

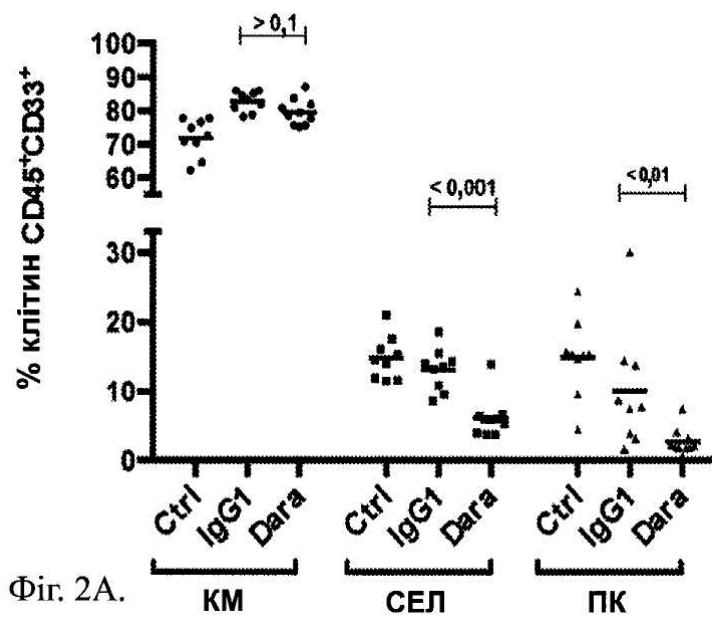
6. Спосіб за будь-яким з пп. 1-4, де антитіло до CD38 містить варіабельну область важкого ланцюга (VH) із SEQ ID NO: 4 і варіабельну область легкого ланцюга (VL) із SEQ ID NO: 5.
7. Спосіб за п. 6, де антитіло до CD38 містить важкий ланцюг із SEQ ID NO: 12 і легкий ланцюг із SEQ ID NO: 13.
- 5 8. Спосіб за будь-яким з пп. 1-7, де рефрактерний або рецидивуючий ГМЛ являє собою ГМЛ, що супроводжується щонайменше однією генетичною аномалією, ГМЛ, що супроводжується мультиплінійною дисплазією, ГМЛ, що являє собою ГМЛ, пов'язаний з терапією, недиференційований ГМЛ, ГМЛ з мінімальним дозріванням, ГМЛ з дозріванням, гострий мієломоноцитарний лейкоз, гострий моноцитарний лейкоз, гострий еритроїдний лейкоз, гострий мегакаріобластний лейкоз, гострий базофільний лейкоз, гострий панмієлоз з фіброзом або мієлоїдною саркомою.
- 10 9. Спосіб за п. 8, де щонайменше однією генетичною аномалією є транслокація між хромосомами 8 і 21, транслокація або інверсія в хромосомі 16, транслокація між хромосомами 15 та 17, зміни в хромосомі 11, або мутації в пов'язаній з FMS тирозинкіназі 3 (FLT3), нуклеофозміні (NPM1), ізоцитратдегідрогеназі 1 (IDH1), ізоцитратдегідрогеназі 2 (IDH2), ДНК (цитозин-5)-метилтрансферазі-3 (Dnmt3a), CCAAT/енхансер-зв'язуючому білку альфа (CEBPA), допоміжному факторі U2 1 низькомолекулярної ядерної РНК (U2AF1), білку enhancer of zeste 2 (EZH2), що є підоддиницею комплексу polycomb repressive complex 2, структурному змісті хромосом 1A (SMC1A) і структурному змісті хромосом 3 (SMC3).
- 15 10. Спосіб за п. 8, де щонайменше однією генетичною аномалією є транслокація t(8; 21)(q22; q22), інверсія inv(16)(p13; q22), транслокація t(16; 16)(p13; q22), транслокація t(15; 17)(q22; q12), мутація FLT3-BIT, мутації R132H або R100Q/R104V/F108L/R119Q/I130V в IDH1 або мутації R140Q або R172 в IDH2.
- 20 11. Спосіб за будь-яким з пп. 1-10, де антитіло до CD38 вводять для стимулювання ремісії, після настання ремісії або як стимулюючу терапію.
- 25 12. Спосіб за будь-яким з пп. 1-11, де антитіло до CD38 вводять в комбінації з щонайменше одним другим терапевтичним агентом.
13. Спосіб за п. 12, де щонайменше один другий терапевтичний агент являє собою цитарабін, даунорубіцин, ідарубіцин, мітоксантрон, гідроксисечовину, децитабін, кладрибін, флударабін, топотекан, етопозид 6-тіогуанін, кортикостероїди, преднізолон, дексаметазон, метотрексат, 6-меркаптопурин, азациитидин, тріоксид миш'яку чи повністю транс-ретиноеву кислоту.
- 30 14. Спосіб за п. 12, де щонайменше один другий терапевтичний агент являє собою повністю транс-ретиноеву кислоту, цитарабін, децитабін або доксорубіцин.
15. Спосіб за будь-яким з пп. 11-14, де антитіло до CD38 і щонайменше один другий терапевтичний агент вводять одночасно.
- 35 16. Спосіб за будь-яким з пп. 11-14, де антитіло до CD38 і щонайменше один другий терапевтичний агент вводять послідовно або окремо.
17. Спосіб за будь-яким з пп. 11-16, де щонайменше один другий терапевтичний агент збільшує поверхневу експресію CD38 на клітинах ГМЛ.
- 40 18. Спосіб за будь-яким з пп. 1-17, де пацієнта додатково лікують або лікували із застосуванням променевої терапії.
19. Спосіб за будь-яким з пп. 1-18, де пацієнту проводиться трансплантація гемопоетичних стовбурових клітин (ТГСК).
20. Спосіб за п. 19, де ТГСК є алогенетичною.
- 45 21. Спосіб за п. 19, де ТГСК є аутологічною або ізогенною.
22. Спосіб за п. 20 або 21, де ТГСК включає трансплантацію стовбурових клітин крові, отриманих з кісткового мозку, крові або амніотичної рідини.



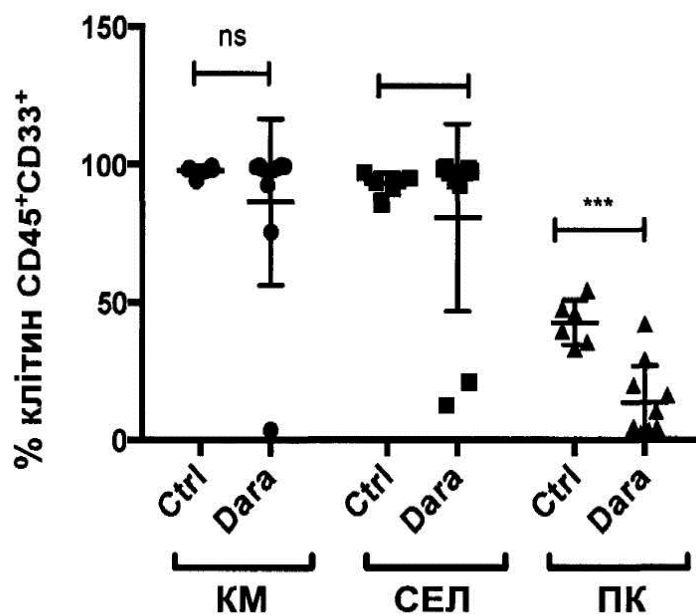
Фіг. 1А Аннексін V: FITC



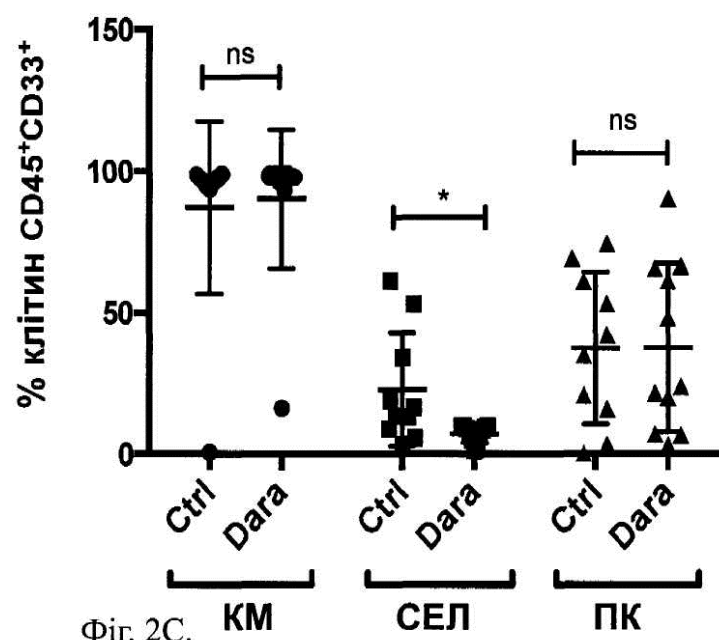
Фіг. 1В Аннексін V: FITC



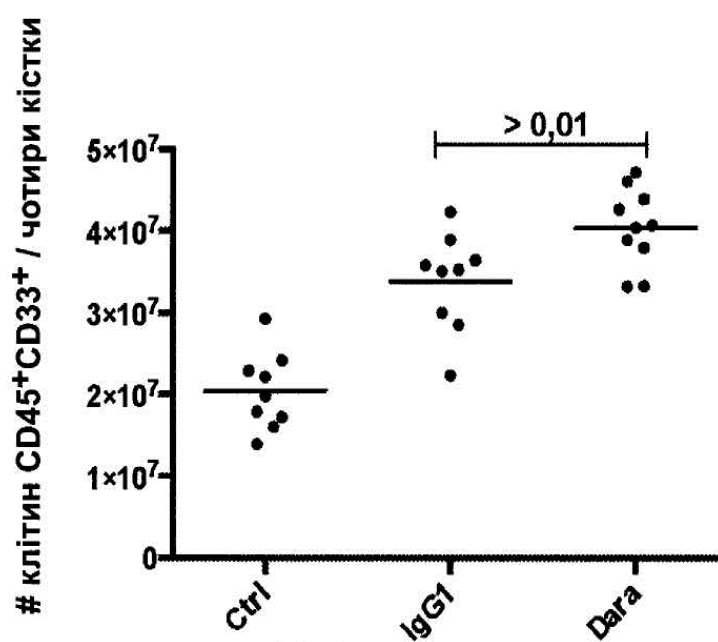
Фіг. 2А.



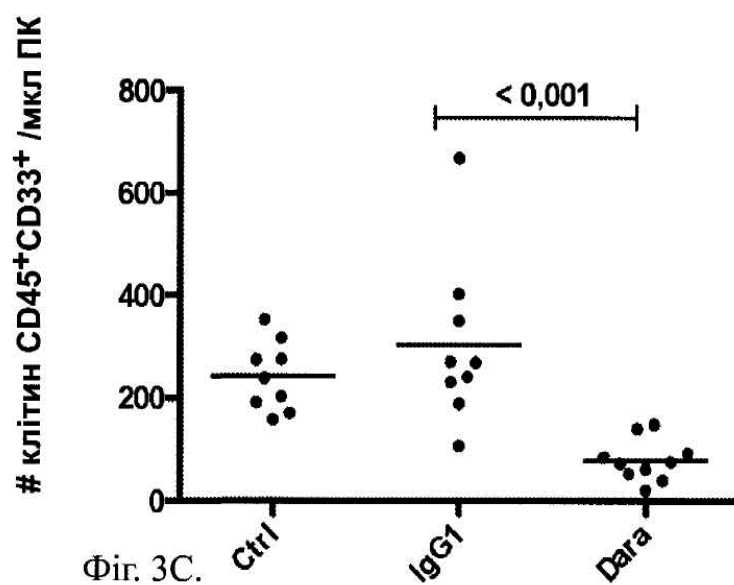
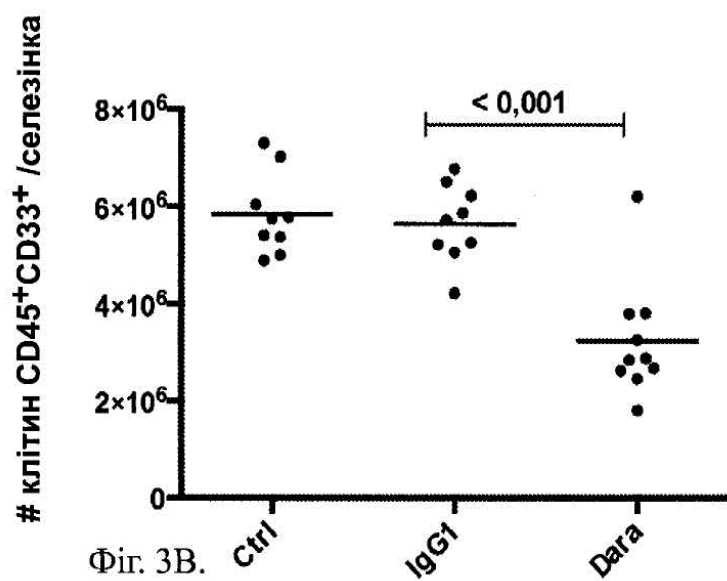
Фіг. 2В.

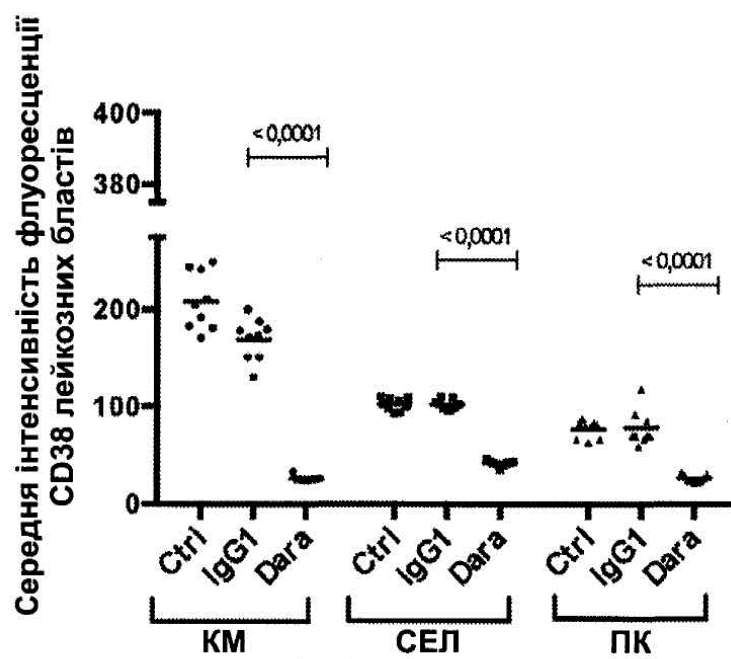


Фіг. 2С.

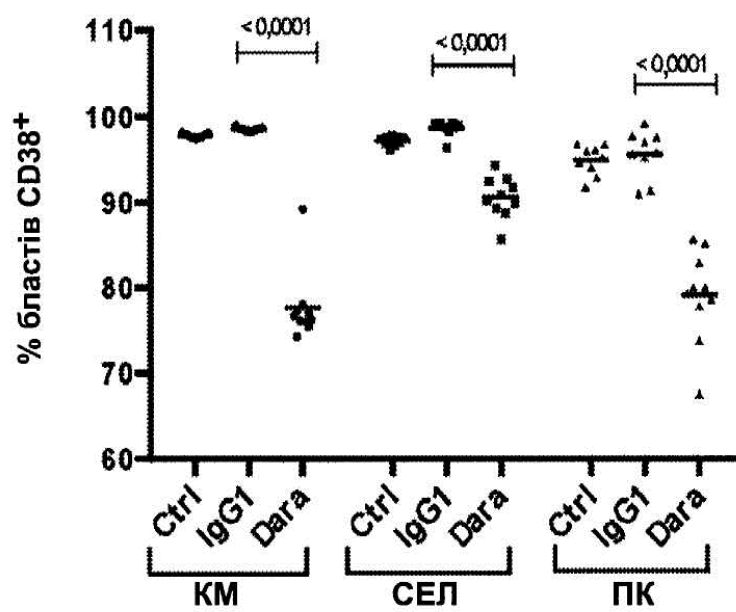


Фіг. 3А.

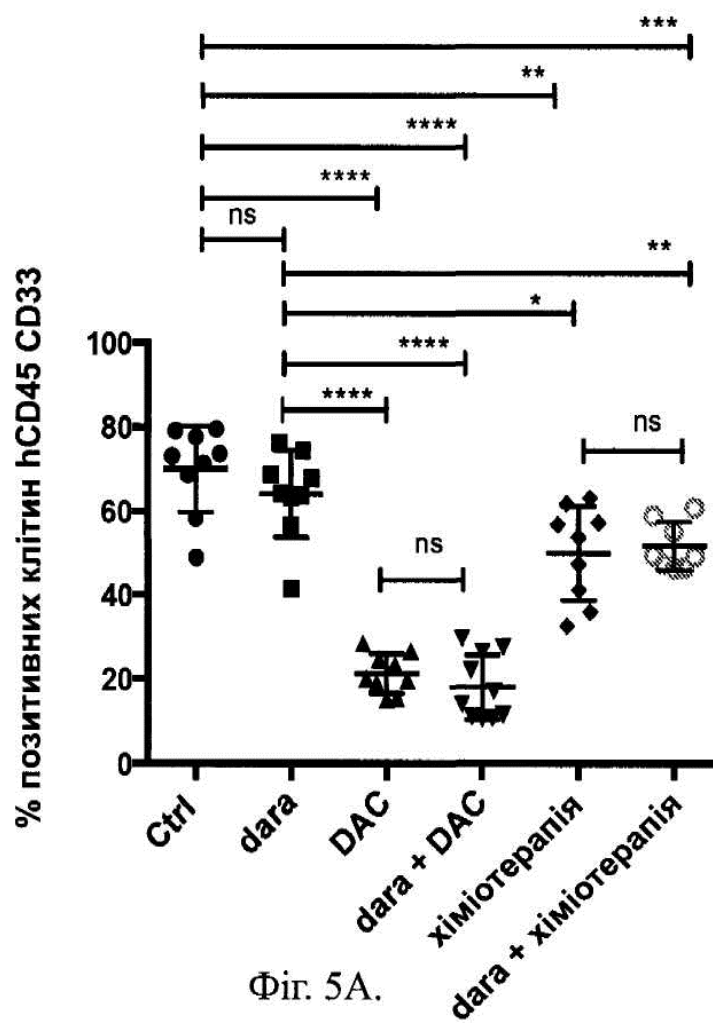


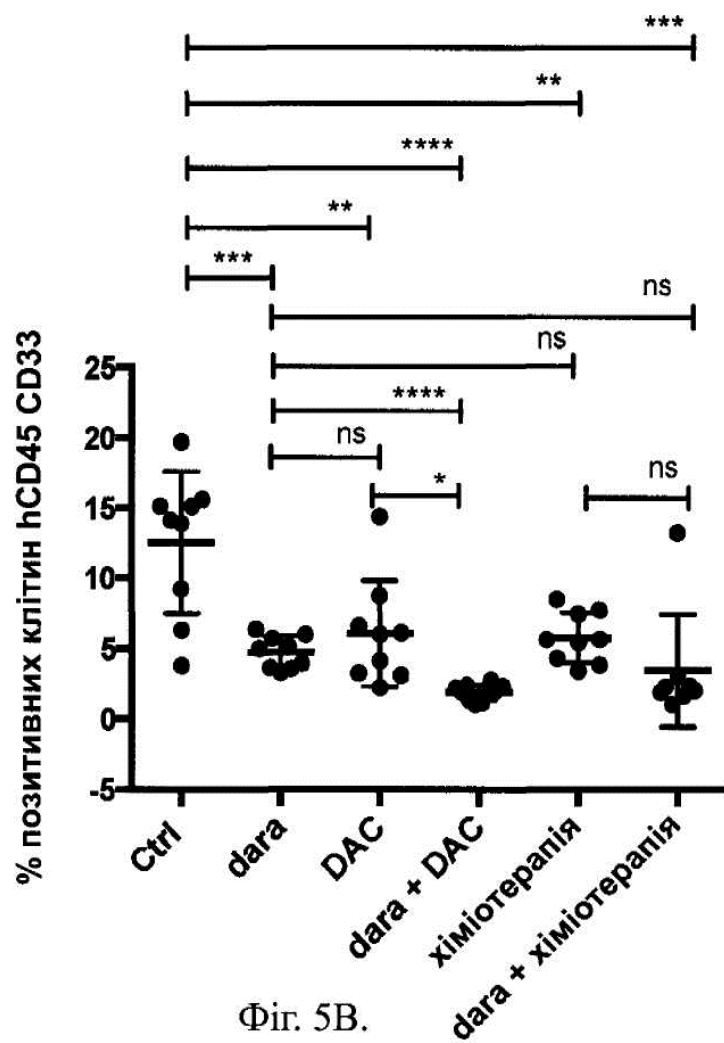


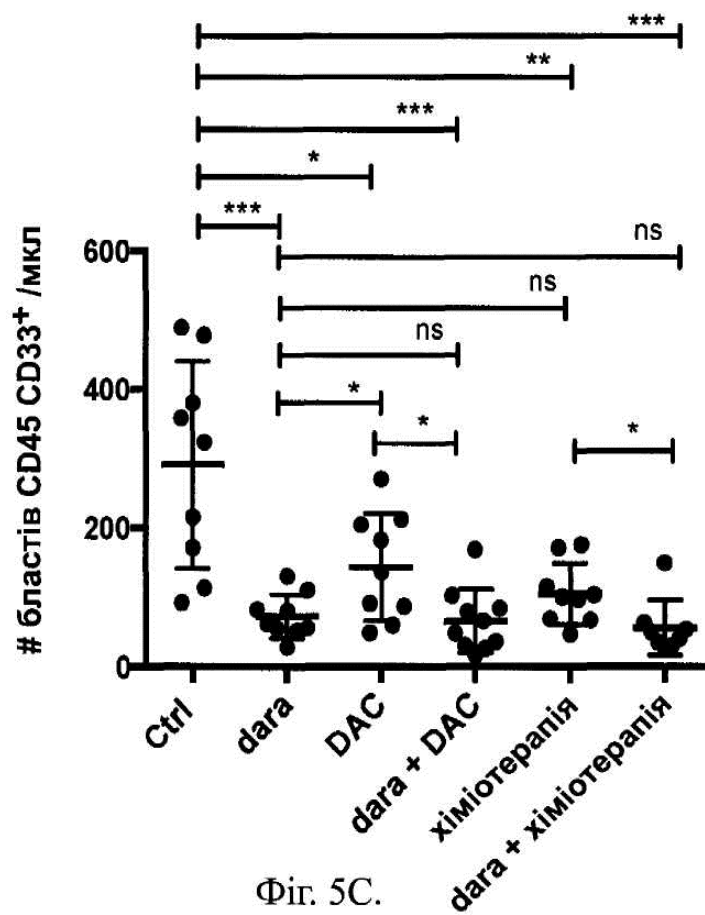
Фиг. 4A.



Фиг. 4B.







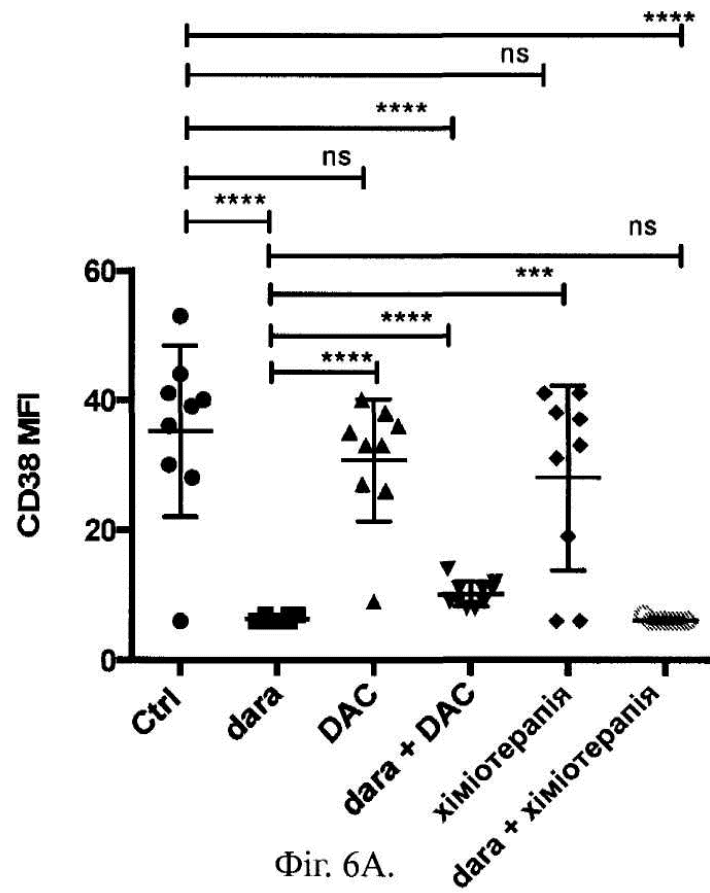
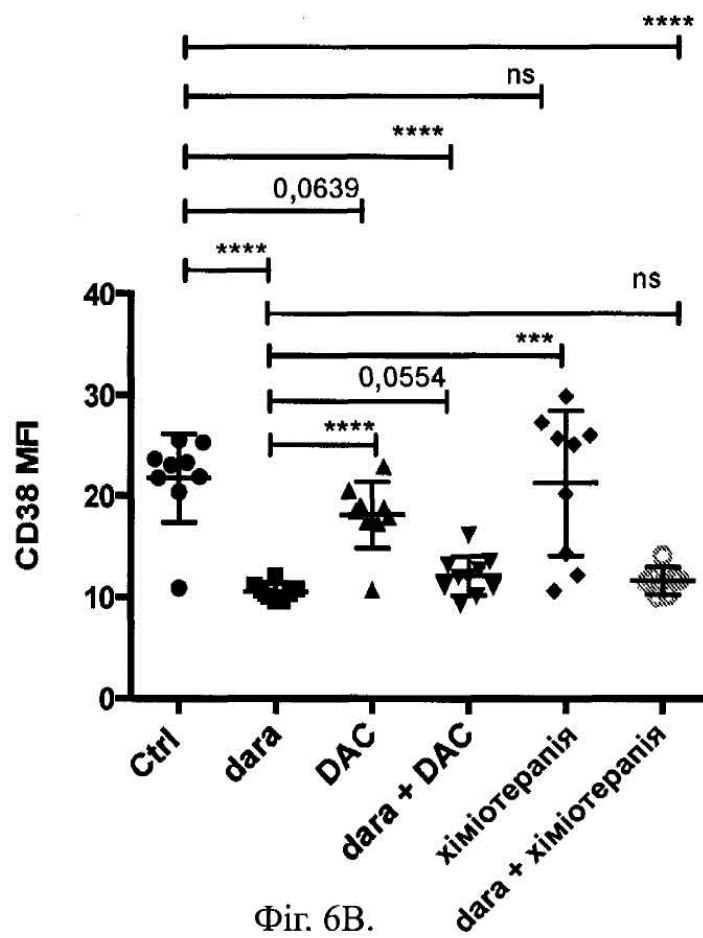
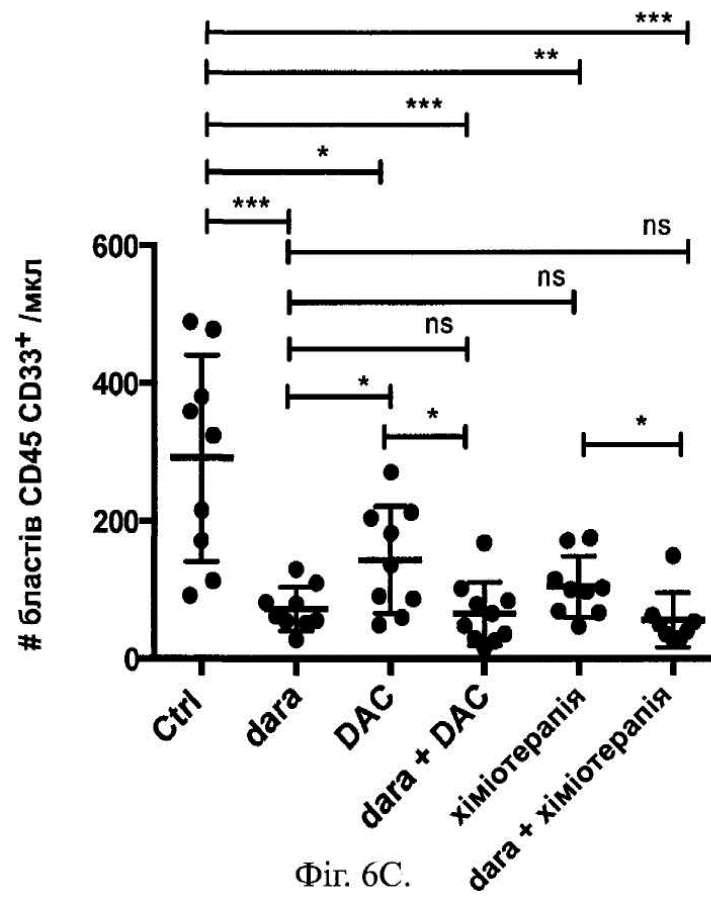


Fig. 6A.





Фіг. 6C.